



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

SARI KANTARON (*Hypericum perforatum L.*) FENOLİKLERİNİN
KAREKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

BİRGÜL BURUNKAYA
YÜKSEK LİSANS



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

SARI KANTARON (*Hypericum Perforatum L.*) FENOLİKLERİNİN
KAREKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

BİRGÜL BURUNKAYA
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
Prof. Dr. Haşim KELEBEK

ADANA 2020

Bu tezde yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm bilgiler için atıf verdiğimi ve kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

[İmza]

Birgöl BURUNKAYA

ÖZET

SARI KANTARON (*Hypericum perforatum L.*) FENOLİKLERİNİN KAREKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

Birgül BURUNKAYA

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Mayıs 2020, 61 sayfa

Bu çalışmada sarı kantaron (*Hypericum Perforatum L.*) bitkisinin farklı çözümler (etanol, metanol, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının fenolik bileşik, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Fenolik bileşikler, yüksek performanslı sıvı kromatografisine bağlı elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (HPLC-DAD-ESI-MSⁿ) kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktların antioksidan potansiyelleri DPPH ve ABTS metodları kullanılarak ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bitkilerin antimikrobiyal etkisi ise agar kuyu difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda 22 adet fenolik bileşik tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir. Hazırlanan ekstraktlarda klorojenik asit grubu bileşiklerden neoklorojenik asit, flavan-3-ol grubu bileşiklerden epikateşin, fenolik asit grubu bileşiklerden kaffeik asit, naftodiantronlar grubu bileşiklerden hiperisin ve flavonoid grubu bileşiklerden hiperosid baskın bileşikler olarak saptanmıştır. Genel olarak çalışmamızda metanol ve etanol ekstraktlarında tanımlanan bileşik sayısının ve miktarının ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su ekstraktlarına göre daha fazla olduğu görülmüştür. Antioksidan kapasite analiz sonuçlarında en yüksek içerik metanol ekstraktlarında ve en düşük içerik ise ayçiçek yağı ekstraktlarında saptanmıştır. Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları incelendiğinde ise sarı kantaron bitkisinin ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkisi gözlemlenmezken, metanol, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktları antimikrobiyal etki göstermiştir. Test edilen mikroorganizmalara karşı en düşük antimikrobiyal aktivite, su ile hazırlanan bitki ekstraktında gözlemlenmiştir. Tüm sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, etanol ve metanol ile hazırlanan ekstraktlarda

tanımlanan fenolik bileşik sayısının ve miktarının daha fazla olduğu, antioksidan potansiyelin diğerk ekstraktlara oranla daha yüksek saptandığı sonucuna varılmıştır. Tüm test mikroorganizmalarına karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite etanol ve metanol ekstraktlarında saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sarı kantaron, *Hypericum perforatum* L. fenolik bileşikler, antioksidan kapasite, agar kuyu difüzyon yöntemi, LC-DAD-ESI-MS/MS



ABSTRACT

THE CHARACTERIZATION OF ST. JOHN'S WORT (*HYPERICUM PERFORATUM L.*) PHENOLICS AND THE DETERMINATION OF THEIR ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL POTENTIALS

Birgöl BURUNKAYA

Master of Science, Food Engineering Department

Advisor: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

May 2020, 61 pages

In this study the extracts of St.John's Wort (*Hypericum Perforatum L.*) plant are obtained by using several solvents (ethanol, methanol, sunflower oil, olive oil and water) and the phenolic compound, antioxidant and antimicrobial effects of these extracts have been examined. Phenolic compounds have been determined by using high performance-liquid chromatography based-electronic ionization mass spectrometer (HPLC-DAD-ESI-MSn). The antioxidant potentials of the extracts have been investigated in details by making use of the DPPH and ABTS methods. The antimicrobial effect of the St.John's Wort plant has been explored by the method of agar well diffusion. As a result of the analysis made, 22 fenolic components have been defined. As far as the extracts which have been prepared are concerned; neoclorogenic acid-a compound of clorogenic acid group, epicatechin-a compound of flavan-3-ol group, caffeic acid-a compound of fenolic acid group, hypericin- a compound of naftodianthro and hyperosoid- a compound of flavonoids have been determined as the dominant compounds. During the study it has been observed in general that the number and amount of compounds defined in methanol and ethanol extracts is more than those in the sunflower oil, olive oil and water extracts. The antioxidant capacity analysis results have shown that, the highest content is in methanol extracts whereas the lowest content is in sunflower oil. When the outcomes of the antimicrobial activity analysis is examined; the extracts of *Hypericum Perforatum L.* which have been prepared with sunflower oil and olive

oil did not yield any inhibition effect on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* microorganisms where as the extracts that have been prepared with methanol, ethanol and water showed antimicrobial effects. The lowest antimicrobial activity has been observed in the plant extract which was prepared with water.

When the entire results are assessed in general, it is seen that the number and amount of compounds is higher in the extracts that are prepared with ethanol and methanol, as well as the antioxidant potential has been fixed relatively higher in comparison to the other extracts. Among the microorganisms which were subject to testing, the highest antimicrobial activity was observed in ethanol and methanol extracts.

Key Words: St. John's Wort, *Hypericum perforatum* L., phenolic compounds, antioxidant capacity, agar well diffusion method, LC-DAD-ESI-MS/MS

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, araştırma konumum belirlenmesinde, deneysel çalışmamın yürütülmesinde değerli fikirleri ile bana yol gösteren, beni yönlendiren, manevi desteğini benden esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Haşim Kelebek'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez jürimde bulunan sayın Prof. Dr. Serkan SELLİ ve sayın Prof. Dr. Mehmet Sertaç ÖZER hocalarıma değerli bilgi ve görüşleri için teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, manevi desteklerini benden esirgemeyen canım eşim Adem BURUNKAYA'ya, canım kızlarım İdil BURUNKAYA ve İnci BURUNKAYA'ya çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Konu ve Kapsam	2
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal	18
3.2. Kimyasallar	19
3.3. Yöntem	19
3.3.1. Toplam Fenolik Madde Analizi	20
3.3.2. Fenolik Bileşiklerin HPLC ve LC-MS/MS ile Analizleri	21
3.3.3. Antioksidan Kapasite Analizleri	23
3.3.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri	25
3.3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. Sarı Kantaron Bitkisinin Toplam Fenolik Madde Miktarları	27
4.2. Sarı Kantaron Bitkisinin Fenolik Bileşimlerindeki Değişim	28
4.2.1.Klorojenik Asitler.....	30
4.2.2.Flavanoller.....	30
4.2.3.Fenolik Asitler.....	31
4.2.4. Naftodiantronlar	32
4.2.5.Flavanoidler.....	32
4.3.Sarı Kantaron Bitkisinin Antioksidan Kapasite Bulguları	36
4.4.Sarı Kantaron BitkisininAntimikrobiyal Aktivite Bulguları	37
5. SONUÇLAR	42
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Sarı kantaron (<i>Hypericum Perfaratum L.</i>) bitkisi ve yağı.....	2
Şekil 3.1. Analizlerde kullanılan sarı kantaron bitkisi.....	19
Şekil 3.2. Analizlerde kullanılan ekstraktların hazırlanma aşamaları	20
Şekil 3.3. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	21
Şekil 3.4. DPPH ve ABTS yöntemlerinde ölçümü yapılan örnekler.....	24
Şekil 3.5. DPPH yönteminde Trolox ile elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	24
Şekil 3.6. ABTS yönteminde Trolox ile elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	25
Şekil 3.7. Antimikrobiyal aktivite analizi için örneklerin hazırlanması.....	26
Şekil 3.8. Antimikrobiyal aktivite analizi için ekim yapılan örnekler.....	26
Şekil 4.1. Sarıkantaron bitkisinin toplam fenolik madde dağılımı.....	27
Şekil 4.2. Sarı kantaron bitkisinin fenolik bileşiklerinin dağılımı	28
Şekil 4.3. Sarı kantaron bitkisine ait LC-MS/MS ile kaydedilen kromatogramlar	29
Şekil 4.4. Sarı kantaron bitkisinde belirlenen bazı bileşiklere ait LC-MS/MS ile Kaydedilen spektrumlar.....	29
Şekil 4.5. Fenolik Bileşikler için temel bileşen analiz (PCA) sonuçları.....	35
Şekil 4.6. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri.....	41
Şekil 4.7. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri.....	41
Şekil 4.8. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mikroorganiz- masına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri.....	41

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Sarı kantaron bitkisinin fenolik bileşimleri.....	34
Tablo 4.2. Sarı kantaron bitkisinin antioksidan kapasite analiz sonuçları	36
Tablo 4.3. Sarı kantaron bitkisinin antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları	38



KISALTMALAR

ABTS	:	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
DAD	:	Diyot array detektör
DPPH	:	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FA	:	Fenolik asitler
FLO	:	Flavonoller
FLV	:	Flavonoidler
FRAP	:	Ferrik indirgeyici antioksidan gücü
G	:	Gram
Gli	:	Glikozit
H-TAA	:	Hidrofilik antioksidan aktivite
HP-AY	:	<i>Hypericum perforatum</i> ayçiçek yağı
HP- EtOH	:	<i>Hypericum perforatum</i> etanol
HP-MetOH	:	<i>Hypericum perforatum</i> metanol
HP-SU	:	<i>Hypericum perforatum</i> su
HP-ZY	:	<i>Hypericum perforatum</i> zeytinyağı
KA	:	Klorojenik asitler
LAB	:	Laktik asit bakterileri
NAPH	:	Naphthodianthronlar
NF-κB	:	Nükleer faktör-kappa B
QS	:	Antiquorum algılama
PCA	:	Temel bileşen analizleri
RID	:	Refraktif indeks detektörü
RP-HPLC	:	Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SEAP	:	Plasental alkalın fosfataz
STZ	:	Streptozotosin
Trolox	:	(+/-) 6 hidroksi-2,5,7,8- tetrametil- kroman-2-karboksilik asit

1. GİRİŞ

Günümüzde literatüre kayıtlı 20,000'den fazla çeşidi bulunan ve son zamanların en çok ilgi çeken araştırma konularından olan tıbbi aromatik bitkiler, ormancılık, ziraat, kimya, gıda, aroma, nötrasotik, fitofarmasotik ve kozmetik gibi bir çok farklı endüstrinin odağı haline gelmiştir (Ernst, 2003). Bu tıbbi bitkilerin 500 kadarının tarımının yapıldığı, farklı nedenlerle kullanılan tıbbi bitkilerin çok azının farmakopelerde kayıtlı olduğu bilinmektedir. Ülkemizde bu kapsamda kayıtlı bitki sayısı 140 dolayındadır. Bu miktar Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında oldukça düşük bir rakamdır. Türkiye ilaç endüstrisinin mamul üretimi ve hammadde üretim kapasitesinin kullanımı oldukça düşüktür. Ülkemizde 1995 yılında 566 milyon dolar değerinde gerçekleşen hammadde ithalatı 2000 yılında 828 milyon dolara yükseldiği ve bu ithalatta zaman zaman büyük güçlüklerle karşılaştığı da bildirilmektedir. Bu nedenlerle kendi doğal bitkisel potansiyelimizden yararlanabilmek oldukça önemlidir (Benli ve Yiğit, 2005; Toroğlu ve Çenet, 2006).

Gıda üretiminde bitkilerin tatlandırıcı, renklendirici, antioksidan ve koruyucu özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bu bitkilerin antioksidan, antimikrobiyal gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda üretiminde kullanılmasında artış görülmektedir (Toker ve ark., 2015). Aromatik bitkilerin önemi artmakta ve birçok alanda kullanımı devam etmekte olup, bitki ve baharatların doğal antioksidan kaynağı olarak kullanımlarını araştıran çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalar araştırılan bitkilerin güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösteren kimyasal bileşiklere sahip olduğunu göstermektedir. (Göktaş ve Gıdık, 2019; Dorman ve ark., 1995; Tomaino ve ark., 2005; Faydalıoğlu ve ark., 2013; Yaşar ve ark., 2016). Bitkilerin yapısında yer alan uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri araştırılarak tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme imkânlarının fayda sağlayabileceği ifade edilmektedir (Kırbağ ve Bağcı, 2000).

Yapay antioksidan ve koruyucuların yerine kullanılabilecek, bitkisel kaynaklı doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi üzerine ilgi gün geçtikçe artmaktadır. *Hypericum* cinsi *Clusiaceae* familyası ve *Hypericaceae* alt familyası içerisinde yer alıp dünyada 400 civarı türü kapsamaktadır. Sarı kantaron olarak da bilinen *Hypericum Perforatum* L. bu türlerden biri olarak bitkiler aleminde yer almaktadır. Yaprakları sapsız, oval ve doğrusal olan *Hypericum Perforatum* L. çok yıllık, sarı çiçekli bir bitki olup, tüysüz,

dik, genellikle tabanda odunsu bir yapıya sahiptir. Sarı kantaron Haziran-Eylül aylarını kapsayan yaz mevsimi boyunca çiçek açmaktadır (Şekil 1.1). Yetiştği bölgeye göre yara otu, bin bir delik otu, püren, kan otu, koyun kıran, kılıç otu, kuzu kıran ve mayasıl otu gibi isimlendirilen *Hypericum Perforatum* L., dünyada St. John bitkisi olarak bilinmektedir. Dünyanın ılıman ve tropikal bölgelerinde geniş bir dağılım gösteren bu bitki deniz seviyesinden 2500 m'ye kadar olan alanlarda doğal olarak yetişmektedir. Sarı kantaron ülkemizde Marmara, Karadeniz, Ege, Orta ve Doğu Anadolu, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde doğal olarak yetişmektedir (Güner ve ark., 2000; Altan ve ark., 2015).



Şekil 1.1.Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) bitkisi ve yağı

Hypericum kökenli ilaçların kullanımı Avrupa da büyük ölçüde tercih edilmektedir ve Amerika'da da her geçen gün popüleritesinde artış görülmektedir (Kasper ve Dienel, 2002; Lecrubier ve ark., 2002). *H. perforatum* L. türü başta olmak üzere *Hypericum* türlerinin son 30 yıldır yoğun bir şekilde farmakoloji ve kimya alanında araştırılmakta olup, bu bitkilerin tıbbi özellikleri ve koruyucu etkileriyle ilgili bilimsel çalışmalara her geçen gün bir yenisi eklenmektedir. Ancak dünya literatürünün aksine bu türler ile ilgili ülkemiz şartlarında yürütülen çalışmaların sayısı az denebilecek kadardır.

1.1. Konu ve Kapsam

Antibiyotiklere dirençliliğin ortaya çıkması ve doğal kaynaklı ilaçlarda görülmeyen yan etkilerin sentetik ilaçlarda yüksek olması, bilim adamlarını doğal kaynaklı araştırmalara yoğunlaştırmıştır. Araştırmacılar bakteri, fungus, virüs ve parazitlerin neden olduğu hastalıklara karşı geniş spektrumlu yeni antibiyotikleri geliştirmek için çalışmalar sürdürmektedir. Bilindiği gibi uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı ilaç direncinin oluşumuna neden olmaktadır. Patojen mikroorganizmalardaki çoklu ilaç direnci

enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişi güzel alınmasına bağlı olarak gelişmektedir. Bu nedenle araştırmacılar çoklu direnç geliştiren bakterilere karşı yeni antimikrobiyal maddeler geliştirmeye çalışmaktadır (Doğan ve ark., 2010). Bitkisel kaynaklı antimikrobiyal bileşikler diğer antibiyotiklerden farklı mekanizmalar yoluyla bakterilerin üremesini engellemektedir (Talib ve Mahasneh, 2010). Son yıllarda bitkiler ile ilgili araştırmalarda önemli bir artış söz konusudur (Eloff, 1998). Yapılan çalışmalarda bitkilerin *in vitro* mikrobiyal direnci giderdiği ve antibiyotiklerle sinerjik olarak etkileştiği saptanmıştır (Abascal ve ark., 2002; Joana Gil-Chávez ve ark., 2013).

Bitkisel kökenli bileşiklerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması bu alandaki yapılan araştırmaların en önemli aşamasıdır. Çünkü kullanılan yöntemler bileşiklerin profilini, yapısal değişimini ve ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda bitkisel materyallerden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücü solvent, ekstraksiyon süresi, sıcaklığı, çözücü-materyal oranı gibi çeşitli faktörlerin etkileri saptanmaya çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda ekstraksiyonun verimliliği üzerine çözünürlük, kütle transferi ve matriks etkisinin etkili olduğu bildirilmektedir. Araştırmanın hedefini oluşturan bileşiğin polaritesi, çözücü seçimi için en önemli faktördür (Goli ve ark., 2005; Akal, 2019). Ekstraksiyon verimini çalışmada kullanılan materyallerin özellikleri de etkilemektedir. Materyalin parçacık boyutunun küçük olması yüzey alanını arttırarak ve difüzyon yolunu kısaltarak ekstraksiyon veriminde artış sağlamaktadır (Bosiljkov ve ark. 2017). Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen çeşitli ekstraksiyon yöntemleri ile solvent kullanımının ve ekstraksiyon süresinin azaltılmasının yanısıra ekstrakt verimin de arttırılması amaçlanmıştır. Geleneksel solvent ekstraksiyonu, bitki materyallerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan metottur (Barba ve ark., 2016). Ancak, tüketicilerin gün geçtikçe minimal işlenmiş ürünlere talebi çeşitli ekstraksiyon yöntemlerinin arayışlarını ortaya çıkarmıştır (Galanakis, 2013).

Bitki polifenollerini yapısal olarak çok çeşitlidir, bu nedenle pratik olarak tüm fenolikler için uygun bir ekstraksiyon yöntemi geliştirmek oldukça zordur (Robards, 2003; Naczki ve Shahidi, 2004). Polifenolik bileşiklerin çözünürlüğü ve çözücüye difüzyonu, oldukça geniş bir spektrumda farklılık gösteren polimerizasyon derecelerine bağlıdır. Dolayısıyla çözücü seçimi ekstraksiyon sürecinde en önemli aşamalardan biridir. Yapılan çalışmalarda bitki fenoliklerinin ekstraksiyonunda metanol, etanol, propanol, aseton, etil asetat,

dimetilformamid, bunların birbirleriyle ve su ile karışımları en sık kullanılan çözücüler olarak bildirilmiştir (Escribano-Bailon ve Santos-Buelga, 2002).

Ülkemiz *Hypericum* türleri bakımından önemli bir merkez olup mevcut 96 türün 46'sı endemik olarak yetişmektedir (Güner ve ark., 2012; Baytop, 1999). *Hypericum Perforatum* L. *Hypericum* türleri içerisinde en yaygın ve popüler olanıdır. *Hypericum Perforatum* L. bitkisinden elde edilen ürünler klasik antidepresan ilaçların yerine ikame olarak kullanıldığında depresyon tedavisinin maliyetini önemli ölçüde düşürdüğü ifade edilmektedir (Solomon ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda özellikle zengin fenolik içeriğiyle sarı kantaronun açık yaralar, yanıklar, morarmalar, şişmeler gibi dermatolojik hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Saddiqe ve ark., 2010; Wölfler ve ark., 2014). 8000'den fazla bileşiğin oluşturduğu fenolikler sınıfı, bitkilerde doğal olarak meydana gelen ikincil metabolitlerdir. Fenolikler, serbest radikal süpürücü özellikleriyle literatürde antioksidan, antimutajenik ve antikanser etkileri bildirilmiştir. İnsan sağlığı için oldukça yararlı olan fenolik bileşiklerin bu özellikleri genellikle yüksek antioksidan kapasiteleriyle ilişkilendirilmektedir (Kelebek, 2016). Çeşitli çevresel faktörlerden meydana gelen serbest radikaller, oldukça hassas yapıya sahip hücrelerin yapısını bozmak ve DNA içeriğine zarar vermek suretiyle birçok farklı önemli hastalıklara sebep olabilmektedirler. Hücreler bu serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan maddelere ihtiyaç duyarlar ve bu antioksidan maddeler, oksidasyonu başlatan serbest radikalleri nötralize ederek hücrelere zarar veren etkisini ortadan kaldırırlar (Valentao ve ark., 2003; Tenore ve ark., 2015; Sharpe ve ark., 2016).

Hypericum perforatum L. bakteriyel ve viral enfeksiyonların, çürüklerin tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılmıştır. Aynı zamanda sarılık, safra kesesi taşları, karaciğer kanseri ve tüberküloz gibi hastalıkların da tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Çelen ve ark., 2008). Polifenoller grubu bileşikler içerisinde yer alan flavonoidler ve fenolik asitler gibi birçok farklı fenolik bileşiğine sahip olduğu bildirilen *Hypericum perforatum* L., bu bileşiklerin sağladığı doğal antioksidan özellik sayesinde birçok fitokimyasal çalışmaya konu olmuştur (Jürgenliemk ve Nahrstedt, 2001; Silvave ark., 2008). Ayrıca bir çok gıdanın oksidasyonunu önlemede önemli bir alternatif olan bu fenolik bileşikler bu bitkide önemli miktarlarda bulunmaktadır (Sánchez-Muniz ve ark., 2012; Becker ve ark., 2016).

Türkiye *Hypericum* türleri bakımından bir merkez konumunda olup, mevcut 89 türün 43'ü dünyada yalnızca ülkemiz coğrafyasında bulunmaktadır. Özellikle son 20 yıldır bu bitkiler tür ayırt etmeksizin doğal floradan ihraç edilmek üzere toplanmaktadır. Endemik türler başta olmak üzere *Hypericum* türünün birçoğunun doğal populasyonları hızla azalmaktadır. Bu nedenle ülkemiz için göz ardı edilen *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiklerinin tespit edilerek farmakolojik, kimyasal özelliklerinin ortaya konması ve kültüre alınarak hem korunmaları hem de seri üretilebilmeleri ile ilgili bilimsel çalışmalara çok ihtiyaç duyulmaktadır (Çırak ve Kurt, 2014).

Bu çalışmada ülkemizde yetişen sarı kantaron bitkisinin sahip olduğu fenolik bileşikler LC-MS/MS cihazı ile karakterize edilmiştir. Çalışmada, ayrıca sarı kantaron bitkisinin antioksidan potansiyeli ise ABTS ve DPPH yöntemleri ile tespit edilmiştir. Sarı kantaronunda bulunan fenoliklerin farklı yöntemler kullanılarak ekstraksiyonu ve karakterizasyonu yapılarak bunların insan patojeni mikroorganizmalar üzerindeki etkileri agar kuyu difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar uluslararası düzeyde yapılan çalışmalarla kıyaslanarak sarı kantaron bitkisinin karakteristik özellikleri saptanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Günümüzde sağlıklı yaşamak adına doğal olarak hazırlanmış bitkisel ürünlerin tüketimi uzun yıllardır insanların beslenmesinde yer almaktadır. Bitkisel ürünler aynı zamanda “Gıda Takviyesi” olarak da tanımlanmaktadır. Gıdaların yararlı özellikleri (antioksidan, besinsel lif vb.) insanlar tarafından keşfedildikçe, gıda takviyelerinin sağlıklı olmak adına tüketimi her geçen gün artmaktadır. Özellikle meyve ve sebzelerin yapısında bulunan antioksidanların, fenolik maddelerin insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri bilinmektedir (Atalay ve Erge, 2018). Günümüzde sarı kantaron bitkisi farklı şekillerde (çay, yağ v.b) tüketilmekte olup ancak sarı kantaronun fenolik bileşik içeriklerini, antioksidan kapasitesini ve antimikrobiyal etkisini konu alan çalışmalar oldukça azdır.

Conceicao ve ark. (2006) *Hypericum perforatum* L bitkisinden Colletotrichum Gloeosporioides (CG) yöntemi ile elde ettikleri süspanse hücre kültürlerinin (HP)) metanolik ekstraktlarını hazırlayarak fenolik bileşiklerini HPLC-DAD ve HPLC- DAD-MS/MS ile analiz etmişlerdir. Conceicao ve arkadaşları CG seçicisiyle ortaya çıkan HP kültürlerinde,

ksanton birikiminde önemli bir artış gözlemlediklerini, ksantonların biyotik strese karşı savunma mekanizmasının bir bileşeni olarak önemli olduğunu savunmuşlardır.

Yapılan bir çalışmada Parzhanova ve ark. (2018) Bulgaristan'nın Rodop Dağı'ndan toplanan kekik (*Thymus vulgaris* L), St John's wort (*Hypericum perforatum* L), pamuk devedikeni (*Onopordum acanthium*), yaygın alıç (*Crataegus monogyna*) ve ardıç (*Juniperus communis*) bitkilerinin antioksidan potansiyellerini değerlendirmek ve biyoaktif maddelerini belirlemek amacıyla su, % 50 etanol ve % 70 etanol olmak üzere üç tip ekstrakt hazırlamışlardır. Çalışma materyali olan bu beş tıbbi bitkinin toplam fenol içeriği, toplam flavonoidleri, toplam klorofilleri, toplam karotenoidleri ve toplam fruktanları analiz edilmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivitesi, DPPH ve FRAP metotları ile araştırılmıştır. Araştırılan tıbbi bitki örneklerinden % 50 etanol ile hazırlanan ekstraktlar yüksek oranda toplam fenoller içerdiği ve toplam fenollerin St John's wort, kekik özleri ve alıç çiçek özlerinde (180-220 mg GAE / g kuru özüt) baskın olduğu bildirilmiştir. *Hypericum perforatum* L. bitkisinin toplam fenolik madde miktarı % 50 etanol ekstraktlarında 200 mg GAE / g olarak saptanırken, tüm ekstraktlarının yüksek antioksidan potansiyele (1251-2196 m M TE / g) sahip olduğu, gıda ve kozmetik ürün elde edilmesinde bu faydalı bitkinin değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

Sarıkürkçü ve ark. (2020) Türkiye'de halk ilaçları olarak kullanılan üç farklı bitkinin(*Aesculus hippocastanum*, *Olea europaea* ve *Hypericum perforatum*) su ekstraktlarının Sıvı kromatografi-elektrosprey tandem kütle spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) ile fenolik profillerini, DPPH ve FRAP yöntemleriyle antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla çalışma yapmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre *H. perforatum*'un sulu ekstraktının toplam fenolik, flavonoid ve saponin içeriğinin en yüksek seviyeleri gösterdiğini, protokatesik asit, vanilik asit, verbascoside, hesperidin, hyperoside, apigenin 7-hekzosidler ve kuersetin bileşiklerinin bu türde yaygın olarak bulunduklarını, çalışmada kullanılan bitkilerin yararlı olmaları nedeniyle gıda takviyesi ve ilaç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Sarıkürkçü ve arkadaşları sarı kantaron ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarını 181,02 mgGAE/g, flavonoid miktarını 66,73 mg REs/g, saponin miktarını 336,31 QAEs/g olarak saptamışlardır.

Yunanistan'da Zeliou ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada *H. perforatum*, *H. perfoliatum*, *H. triquetrifolium* ve *H. Empetrifolium* türlerinin metanol ekstraktları uçucu yağları ve biyoaktif maddeleri açısından GC-MS, LC-HRMS, LC-DAD-MS ve HPLC-DAD metotları kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca, bu taksonların genetik profilleri de araştırılmıştır. Altmış üç uçucu olmayan bileşik, çoğunluğunda floroglucinoller ve yüzden

fazla (113) sesqui ve mono terpen uçucuları saptanmıştır. Ana polar bileşenlerin konsantrasyonunun numuneler arasında büyük farklılıklar gösterdiği yapılan çalışma sonucunda bildirilmiştir. Sarı kantaronda en baskın fenolik bileşik Hyperoside (38,84 mg/g kuruağırlık-KA) saptanmış olup, bunu miktarsal olarak klorojenik asit (35,53 mg/g KA) ve izokuersitrin (20,40 mg/g KA) izlemiştir.

Chimshirova ve ark. (2019) Bulgaristan'da yetişen *Hypericum perforatum*'u Temmuz 2015'de toplayarak geleneksel yöntemle kurutup, etanol ile ekstraktlarını hazırlamışlardır. Elde ettikleri ekstraktlarda Folin Ciocalteu yöntemi (FCM) ile toplam fenolik madde miktarı ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite potansiyellerini araştırmışlardır. Kurutulan ve öğütülen örnekler 2 g tartılmış, 20 ml etanol (%50) eklenmiştir. En iyi verimi elde etmek için gerekli optimum koşulları saptamak adına ekstraktlara dokuz farklı süre (2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 ve 120 dakika) uygulanarak manyetik karıştırıcı ile karıştırma işlemi uygulanmıştır. Ayrıca depolama süresinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik verimi üzerine etkisini incelemek amacıyla örnekler koyu cam şişeler içinde ev tipi buzdolabında 0°C - 4°C dokuz ay süreyle saklanmıştır. Çalışma sonucunda ekstraktlardaki toplam fenoliklerin 10,20-53,84 mg GAE/g arasında değiştiği, depolama öncesi ve sonrası elde edilen bulgularda anlamlı bir farklılığın olmadığı, *Hypericum perforatum* bitkisinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, fenolik bileşiklerinin geniş polarite aralığı gösterdiği bildirilmiştir.

Maslennikov ve ark. (2013) aralarında *Hypericum perforatum* L. bitkisinin de bulunduğu (31 familya ve 66 tür) tıbbi bitkilerin etanol ekstraktlarında toplam fenolik madde ve toplam antioksidan içeriğini spektrofotometrik yöntemle incelemişlerdir. Araştırma sonucunda *Hypericum perforatum* L. bitkisinde toplam antioksidan (TAC) (2.24 mg/g) ve toplam fenolik madde (TPC) (11.9 mg/g) miktarları belirlenmiş olup, doğal polifenollerle zenginleştirilmiş gıda maddeleri üretildiğinde beslenme maliyetlerinin ve ürün hazırlama sürelerinin azalacağı bildirilmiştir.

Seyrekoğlu ve Temiz (2020) Amasya ilimizden toplanan *Hypericum perforatum* L. bitkisinin antioksidan kapasitesini ve toplam fenolik içeriklerini incelemek amacıyla beş farklı konsantrasyonda (A; % 70EtOH - % 30H₂O, B; % 50EtOH - % 50H₂O, C; % 30EtOH - % 70H₂O, D; % 100EtOH ve E; H₂O% 100H₂O), beş farklı sıcaklık (30, 40, 50, 60 ve 70 ° C) ile beş farklı süre (30, 40, 50, 60 ve 70 dakika) uygulayarak örnekler hazırlamışlardır. Kantaron bitkisi gölgede oda sıcaklığı koşullarında kurutulmuş olup, ultrasonik yöntemle ekstrakte

edilmiştir. Çalışmada fenolik içerikler Singleton ve Rossi (1965) yöntemi kullanılarak, antioksidan kapasite ise DPPH yöntemi ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek radikal temizleme faaliyeti ve toplam fenolik madde miktarı % 70 EtOH - % 30 H₂O ile hazırlanan ekstraktlarda (toplam fenolik madde: 265,43g/kg GAE, DPPH aktivite değeri: 124,478 IC₅₀) ve % 50 EtOH - % 50 H₂O kullanılarak elde edilen ekstraktlarda (toplam fenolik madde: 262,43g/kg GAE, DPPH aktivite değeri: 171,377 IC₅₀) saptanmıştır. Sıcaklık arttıkça toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitenin arttığı, karıştırma süresinin 50 dakika uygulanması ile fenolik madde (262,567 g/kg GAE) ve antioksidan kapasitede (100,003 IC₅₀) en yüksek içeriğin saptandığı bildirilmiştir.

Tusevski ve ark. (2019) Makedonya’da yetişen *Hypericum perforatum* L. bitkisinin kökleri (RO), çiçeklenmeyen sürgünleri (NFS) ile çiçeklenen sürgünlerinde (FS) fenolik madde bileşimi ve antioksidan aktivitesini değerlendirmek amacıyla çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada antioksidan kapasite DPPH, CUPRAC, PM (Phosphomolybdenum assay) ve RP (Reducing Power) yöntemleri kullanılarak ve fenolik bileşikler ise spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre fenolik madde miktarı en fazla çiçeklenen sürgünlerde (107,38 mg/g GAE) saptanırken en yüksek antioksidan içerik ise çiçeksiz sürgünlerde (1865 µM Askorbik Asit/g) RP yöntemiyle saptanmıştır. Tusevski ve arkadaşları gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda *Hypericum perforatum* L. bitkisinin mükemmel fenolik ve flavonoid kaynağı olduğunu raporlamışlardır.

Raziq ve ark. (2011) tarafından Pakistan’da yetişen *Hypericum monogynum* ve *Hypericum perforatum* türlerinin petrol eteri, kloroform, etil asetat, aseton, saf metanol, %80 metanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarında DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan potansiyelleri ve Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenolik madde miktarı araştırılmıştır. Test edilen örnekler arasında % 80 metanolik ve saf metanolik fraksiyonlar her iki bitkide de iyi antioksidan aktivite göstermiştir. *Hypericum perforatum* L. bitkisinde en yüksek fenolik içerikler sırasıyla saf metanol (7512 mg / 100 g), etil asetat (7234 mg / 100 g), kloroform (6513 mg / 100 g), % 80 metanol (6451 mg/100g), aseton (4523 mg/100g) ve su (2135 mg/100g) ekstraktlarında saptanmış olup petrol eterinde saptanmamıştır. En yüksek antioksidan aktivite ise saf metanol ve %80 metanol ekstraktlarında tespit edilmiştir.

Yapılan bir diğerk çalışmada Skerget ve ark. (2005) Akdeniz bölgesine özgü beş bitki materyalini (zeytin ağacı (*Olea europaea*) yaprağı, St. John'un wort (*Hypericum perforatum*), alıç (*Crataegus laevigata*), kekik (*Origanum vulgare*) ve defne yaprağı (*Laurus nobilis*)) fenolik bileşenleri açısından incelemişlerdir. En yüksek fenolik madde içeriğı (191 g/kg GAE), flavonoid miktarı (1479 mg/kg) ve kuersetin miktarı (1451 mg/kg) *Hypericum perforatum*'da tespit edilmiştir.

Zdunic ve ark., (2017) Sırbistan'da yetişen yedi *hypericum* türünün % 70 etanol ekstraktlarında fenolik bileşiklerini yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanarak belirlemişler ve antioksidan özellikleri ise FRAP, DPPH ve ABTS yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar, DPPH yöntemiyle *Hypericum perforatum* türünün etanolik özütlerinde antioksidan kapasite miktarını 20.5 µg/mL, toplam flavonoid miktarını ise 52.3 mg/g olarak saptamışlardır.

Avşar ve ark. (2018) Mersin bölgesinde yetişen *Lavandula officinalis* ve *Hypericum perforatum* bitkilerinin ekstraktlarının kimyasal bileşimlerini Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile analiz etmişlerdir. Antioksidan aktivite deneyleri için, radikal etki testlerinde 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) radikali kullanmışlardır. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus pneumoniae*, mikroorganizmaları kullanarak difüzyon yöntemi (EMB) ile belirlemişlerdir. Araştırmacılar, ekstraktların önemli antioksidan ve antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ekstraktlar kozmetik krem formüllerinde koruyucu olarak da kullanılarak 6 ay süreli yapılan ölçümlerinde kremlerin antibakteriyel aktivite potansiyelinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Mir ve ark. (2019) tarafından *Hypericum perforatum* L. bitkisinin *in vitro* olarak serbest radikal süpürücü etkisinin araştırıldığı bir çalışma sonucunda, ekstraktlardaki antioksidan kapasitenin konsantrasyonla doğru orantılı etki gösterdiği, örneklerin lipid peroksidasyonunu engellediğı, güçlü süperoksit anyon giderici ve hidroksil etkili olduğu bildirilmiştir.

Sun ve ark. (2018) Çin'in Kangxian eyaletinde yetişen *Hypericum perforatum* bitkisinin farklı hasat zamanlarındaki (tomurcuk, çiçek ve meyve aşamalarında) bitki örneklerinde flavonoid ve polifenol seviyelerini yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile antioksidan

kapasitelerini ise 1,1-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemleriyle araştırmışlardır. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre *Hypericum perforatum* L. bitkisindeki flavonoidler ve polifenollerin, antioksidan kapasitede önemli rol oynadığını rapor etmişlerdir.

Klemow ve ark. (2010) kantaron bitkisinin toprak üstü kısımları naftodiantron, floroglusinoller, flavonoidler, biflavonlar, fenilpropanlar ve proantosiyanidinleri önemli ölçüde içerdiğini, bu bileşikler dışında ayrıca, tanen, ksanton, uçucu yağlar ve amino asitleri de düşük miktarlarda içerdiğini ifade etmişlerdir.

Zheleva-Dimitrova ve ark. (2010) Bulgaristan'da yetişen on üç *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. Butillenmiş hidroksitoluen ve askorbik asit, pozitif kontroller olarak kullanılmış, *H. cerastoides*, *H. perforatum* ve *H. Maculatum*'un metanolik özütlerinin en yüksek antioksidan aktiviteler gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Deveci ve ark. (2016) yaptıkları derleme çalışmada günlük hayatımızda daha çok tercih edilen ve fenolik bileşikler bakımından zengin yeşil çay, ısırgan otu, aloe vera, kekik, nane, dağ çayı, sarı kantaron ve biberiye bitkilerindeki etken maddeleri ve antioksidan etkileri hakkında bilgi vermişlerdir. *Hypericum perforatum* L. bitkisinin ülkemizde geniş yayılış alanına sahip olduğu, yapısında %6.5-15 kateşin ve proantosiyanidinler, %2 flavonoidler, %0.05-1.0 uçucu yağ, %0.05-0.15 naftodiantronlar, steroller, vitaminler (A ve C) bulunduğunu belirtmişlerdir.

Konyalıoğlu ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada, *H. perforatum*, *H. triquetrifolium* ve *H. Empetrifolium* türlerinin ekstraktlarında antioksidan aktivitelerini araştırmış ve bu türlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir. *Hypericum* ekstraktlarının civciv eritrosit örnekleri ile inkübe ettiklerini sonrasında civciv eritrositlerine ait katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismütaz (SOD) aktivitelerini spektrofotometrik yöntemlerle belirlediklerini, ölçümleri kontrol nitrik oksit (NO) ile yaptıklarını ve yapılan çalışma sonucunda antioksidan etkisinin sarı kantaron bitkisinde olduğu gibi diğer iki *Hypericum* türünün de aynı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Tuncel ve Yılmaz'ın (2010) Kaz Dağları'ndan toplanan ve bir kısmı endemik olan 10 bitki türünün fenolik asit kompozisyonlarını belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada *Hypericum perforatum* L. bitkisinde protokateşik asit 14.31 mg/g, kafeik asit 45.30 mg/g, klorojenik asit 10.89 mg/g, *p*-kumarik asit 2.88 mg/g, *o*-kumarik asit 260.87 mg/g, rosmarinik asit 181.55 mg/g bileşiklerini tespit etmişlerdir.

Saddiye ve ark. (2010) *Hypericum Perforatum* L.'nin antibakteriyel aktivitesinin araştırdığı derleme çalışmasında sarı kantaron bitkisinden hazırlanan çeşitli preparatların, merhemlerin, kremlerin ve özütlerin ve bu türden ayrıştırılan bileşiklerin, antidepresan, yara iyileştirici, antiviral ve antimikrobiyal ve farmakolojik etkilere sahip olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan literatür taraması sonucu, kantaron bitkisinin Gram-pozitif'e karşı Gram-negatif bakterilere göre daha yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve alkollü ekstraktların (metanolik/etanolik) sulu ekstraktlardan daha güçlü aktiviteye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Naftodiantronları, sarı kantaron bitkisinin karakteristik temel bileşiklerinden, kırmızımsı renginden ve fototoksik potansiyelinden sorumlu bileşikler olarak tanımlamış olup, bu gruptaki en önemli bileşenlerin de hiperisinler olduğunu, ayrıca bitkiden ayrıştırılan diğer naftodiantronların psödohiperisin, protohiperisin ve psödoprotohiperisin olduğunu vurgulamışlardır.

Thiede ve Walper (1994) domuz karaciğerinden *in vitro* hazırlanan MAO (mono amin oksidaz) ve COMT (kateşol-O-metiltransferaz) aktivitesi üzerine hiperisin, hipericum toplam ekstraktı ve hipericum fraksiyonlarının etkisini araştırdıkları çalışmada hipericum özütünün biyogenik aminlerin katabolizmasından sorumlu enzim olan MAO'yı, ve COMT'ı inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Repcak ve Martonfi (1997) *Hypericum perforatum* L. çiçeğinin esas kısımlarında naftodiantronlar, asilfloroglusinoller ve flavonoidlerin yerinin belirlenmesi amacıyla HPLC ile çalışmışlardır. HPLC uygulaması sonucunda; rutin sepal ekstraktlarında ortalama % 1.6, petal ekstraktlarında ortalama % 0.5, pistil ekstraktlarında ortalama % 0.7, stamen ekstraktlarında ortalama % 0.4, kuersetin sepal ekstraktlarında ortalama % 3.6, petal ekstraktlarında ortalama % 1.9, pistil ekstraktlarında ortalama % 1.6, stamen ekstraktlarında ortalama % 2.2 oranında tespit edilmiştir.

Kelebek ve ark. (2019) farklı demleme süreleriyle elde edilen kantaron çayının fenolik bileşikleri ve antioksidan kapasitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Fenolik bileşiklerin ve hiperisin analizlerinde LC-DAD-ESI-MS/MS, antioksidan kapasite potansiyeli analizlerinde DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) metodunu kullanmışlardır. Çalışmada, kantaron çayında klorojenik asit, kriptoklorojenik asit, protokateşik asit, kaffeik asit, kuersitrin, kuersetin, izokuersetin, luteolin, hiperisin ve hiperforin bileşiklerini belirlemişlerdir. Demleme süresine bağlı olarak bu bileşiklerin miktarlarının arttığını, kantaron çayının yüksek antioksidan potansiyelinin olduğunu ve antioksidan potansiyeli ile fenolik asitlerin ve flavonoidlerin yüksek korelasyonlar gösterdiğini saptamışlardır.

El-Sherbiny ve ark. (2003) sıçanlarda akut scopolamin (1.4 mg/kg) uygulamasıyla indüklenen öğrenme ve hafıza bozukluğunun, değişen beyin oksidatif stres durumu ile ilişkili olup olmadığını ve *Hypericum perforatum L.*'nin antioksidan etkisini araştırmışlardır. Antioksidan aktivite gösteren düşük dozlarda *Hypericum* özütünün, yüksek beyin oksidatif durumu sergileyen demans hastaları için değerli olabileceği sonucuna varmışlardır. Antidepresan etkisi olan *Hypericum* özütünün, bazı antidepresan ilaçlardan daha iyi bir alternatif olabileceğini bildirmişlerdir.

Wei ve ark. (2009) HPLC yöntemi ile flavonoidlerin analizini gerçekleştirdiği çalışma sonucunda *Hypericum perforatum L.*'nin ham ekstraktının, hiperosid (quercetin-3- β -D-galaktopiranosid), izokersitrin (quercetin-3- β -D-glukopiranosid), miquelianin (quercetin-3- β -D-glukopiranosid), kuersitrin (quercetin-3- α -L-ramnopiranosid), avikularin (quercetin-3- α -L-arabinosid), quercetin, vb.) bileşiklerini saptamışlardır.

Deveci (2014) tarafından Elazığ ve çevresinde doğal olarak yetişen *Hypericum perforatum L.*'ye ait bitki örnekleri 7 farklı lokasyondan çiçeklenme döneminde toplanarak flavonoid potansiyeli yaprak ve çiçeklerinden ekstrakte edilerek HPLC yöntemiyle analiz edilmiştir. Çiçek ve yaprakların flavonoidler bakımından önemli potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Çiçekte ve yaprakta mirsetin, morin, kuersetin ve kamferol bileşikleri belirlenmiştir. Çiçekteki mirsetin 0.0035-0.02 $\mu\text{g/gr}$, morin 0.007-0.062 $\mu\text{g/gr}$, kuersetin 0.033-0.0915 $\mu\text{g/gr}$, kamferolün 0.6175-2.1045 $\mu\text{g/gr}$, yapraktaki mirsetin 0.013-0.0705 $\mu\text{g/gr}$, morin 7-881 $\mu\text{g/gr}$, kuersetin 0.0055-0.052 $\mu\text{g/gr}$, kamferolün 0.0205-1.7165 $\mu\text{g/gr}$ olarak belirlenmiştir.

Hypericum perforatum'a ait yapılan analizler sonucunda çiçek ve yaprağın rutin bakımından önemli bir kaynak olduğu belirtilmiştir.

Vinicius ve ark. (2013) gebe kadınlara güvenle uygulanabilen, gebelik sırasında depresif bir bozukluğa bağlı duygudurum ve anksiyete bozuklukları riskini azaltan depresyon için etkili bir tedavinin tanımlanması amacıyla Çin'den ithal ettikleri % 0.3 hiperisin içeren standart bir kuru *Hypericum perforatum* L. özünü hamile sıçanlarda kullanarak çalışmalar yapmışlardır. *Hypericum perforatum* L. ile gebelik sırasında sıçanların tedavi edildiğini, çoğunlukla gebelik sırasında depresyon ile başlatılan post-partum depresif ve anksiyete semptomlarının gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Çelen ve ark. (2008) Muğla'da yetişen *Hypericum Perforatum* L. bitkisinin antimikrobiyal etkisini agar difüzyon yöntemi ile toplam fenolik içeriğini Folin-Ciocalteu yöntemiyle araştırmışlardır. Su ile ekstraksiyon yapılan örneklerde toplam fenolik madde miktarını 33.01 mg GA / g, asetonla ekstraksiyon yapılan örneklerde 150.44 mg GA / g, metanolle ekstrakte edilen örneklerde 191 mg GA/g olarak tespit etmişlerdir. Antimikrobiyal analizler sonucunda *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* türü organizmalar fenolik ekstrakta daha az direnç gösterdiğini, su ekstraksiyonu ile elde edilen fenolik bileşiklerin *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* mikroorganizmalarına karşı inhibitör etki oluştuğunu bildirmişlerdir.

Şimşek (2013) Kilis yöresinde yaygın olarak yetişen *Sideritis libanotica* subsp. *linearis* Labill, *Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum capitatum* Choisy bitkilerinin toprak üstü kısımlarını, metanolle ekstrakte ederek disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteler açısından araştırmıştır. Çalışma sonucunda ekstrelelere karşı *Staphylococcus aureus* suşunun en fazla duyarlı olduğunu, Fungus suşlarının ise daha dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Tanideh ve ark. (2014) *Hypericum perforatum* L.'nin tedavi edici etkinliğini araştırmak üzere yaptıkları çalışma sonucunda oral veya topikal olarak uygulanan *H. perforatum* özütünün, sıçanlarda kemoterapiye bağlı gelişen oral mukozitin iyileşmesini hızlandığını, antimikrobiyal olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır.

Schwob ve ark. (2002) yaptığı çalışmada, *Hypericum perforatum*'un toprak üstü kısımlarında uçucu yağların nicel ve nitel değişimlerini incelemişlerdir. Bitki materyali türlerin yaşam

döngülerinin farklı dönemlerinde (vejetatif, tomurcuklanma, çiçeklenme ve meyve oluşumu dönemlerinde) toplanmıştır. Güneydoğu Fransa'dan altı bölgeden toplanan *Hypericum perforatum* L.'nin toprak üstü kısımlarında uçucu yağların bileşimini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Bu uçucu yağlarda 29 ila 41 bileşik tanımlamışlardır. Analiz edilen tüm yağlarda, seskiterpen hidrokarbonlar ve oksijen içeren seskiterpenler ana bileşik sınıfları olarak saptanmıştır. Test edilen her popülasyonun uçucu yağında β -karyofenilen, karyofilen oksit, (E) - β -farnesen, γ -cadinen, δ -cadinen, *ar*-curcumene, *cis*-kalamenen, dallı tetradekanol, spathulenol, nerolidol, α -cadinol, 2-metildodekan, dodekanol ve bir tanımlanmamış bileşik olmak üzere toplam on dört bileşik farklı oranlarda tespit edilmiştir.

Bayram ve ark. (2002) Muğla ilinde kantaron bitkisinin tarımsal ve teknolojik özellikleri ile hiperisin miktarının belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre; Sarı kantaron bitkisinin hiperisin oranını üst droglardan elde edilen öğütülmüş materyalde %0.215- %0.290 düzeyinde bulunduğunu saptamışlardır.

Vajs ve ark. (2003) *Hypericum perforatum* bitkisinin antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmada bitki örneklerini Sırbistan'ın güneydoğusunda Ozren Dağı'ndan toplanmıştır. Antimikrobiyal aktivite için Gram pozitif bakterileri olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, spor oluşturan *Bacillus subtilis* BGA (Merck), Gram negatif bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve maya olarak *Candida albicans* ATCC 24433 kullanılarak agar difüzyon kuyu yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Etkin maddelerden (hiperforin ve türevleri olan deoksihiperforin, furohiperforin, furoadhiperforin, furohiperforin A, piranohiperforin) hiçbirisi gram negatiflere karşı etki göstermezken, furohiperforinin, *Staphylococcus aureus*'a karşı aktivite gösterdiği saptanmıştır. Piranohiperforin, *Candida albicans*'a karşı önemli etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Morteza-Semnani ve ark. (2003) İran'da yetişen *Hypericum perforatum*'dan elde edilen metanol ekstraktın analjezik etkisini araştırmış ve çalışmanın sonucunda, anti-nosiseptif etkinin H. perforatum ekstraktının prostaglandin sentezini inhibe etmesiyle ilgili olduğunu vurgulamışlardır.

Abdelhadi ve ark. (2015) Cezayir'de yetişen *Hypericum perforatum* L' den yağını izole etmek için çözücü içermeyen mikrodalga ekstraksiyon (SFME) yöntemini kullanmışlardır. Elde

edilen yağın antioksidan kapasitesi, DPPH ve FRAP yöntemleri ile araştırılmıştır. Mikrodalga ekstraksiyon yönteminin yüksek ekstraksiyon verimliliği açısından avantajlar sunduğu ve yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip ekstraktlar elde edildiği bildirilmiştir.

Avato ve ark. (2004) İtalya'nın Indena (Milano, İtalya) ve Aboca (Sansepolcro, Arezzo, İtalya) eyaletlerinden temin ettikleri *Hypericum perforatum* L. bitkisinin metanol, petrol eteri ve etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini ve fenolik bileşiklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda etanolik ekstraktların Gram (+) pozitif bakterilerde oldukça etkili olduklarını bildirmişlerdir. HPLC analizi ile ekstraktların ana bileşenleri olarak flavonoidler, hiperisinler ve hiperforinleri saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde edilen sonuçların St John's Wort bitkisinin antimikrobiyal kullanımına aktif olarak katkıda bulunacağını ve enfekte yaralara karşı topikal bir ilaç olarak geleneksel kullanımda yer alabileceğini bildirmişlerdir.

Mukherjee ve ark. (2002) tarafından Hindistan'da yetişen iki farklı *Hypericum* çeşidinin (*Hypericum mysorens* ve *Hypericum patulum*) yaprak ve saplarının petrol eter, aseton, kloroform ve metanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile altı farklı bakteri ve mantar suşuna karşı etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda her iki türün hem kök hem de yaprak ekstraktlarının çok geniş bir antibakteriyel spektrumuna sahip olduğu bildirilmiştir.

Radulovic ve ark. (2007) Balkanlarda yetişen dokuz *Hypericum* türünü *in vitro* antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri ve antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır. Araştırmacılar, elde edilen sonuçlar ışığında *Hypericum* türünün çok güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösterdiğini, geleneksel tıpta kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Milosevic ve ark. (2006) *Hypericum perforatum* bitkisinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin seviyesini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada tüm test mikroorganizmalarına karşı etanol ekstraktlarında yüksek antibakteriyel aktivite gözlemlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivite analizleri disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

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).

İtalya'da yetişen yedi *Hypericum* türünün (*H. perforatum* L. subsp. *perforatum*, *H. perforatum* L. subsp. *veronense* (Schrank) Ces., *H. Montanum* L., *H. hyssopifolium* Chaix, *H. hirsutum* L., *H. hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson, *H. tetrapterum* Fr) iki Gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*) ve iki Gram-negatif bakteriye (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı Kirby-Bauer agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri *in vitro* olarak araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *Hypericum perforatum* ekstraktlarının Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı etkili olduklarını geleneksel tıpta yaraları ve hastalıkları tedavi etmede kullanılabileceğini, antimikrobiyal aktiviteden hiperisin ve hiperforinin sorumlu olabileceğini savunmuşlardır (Cecchini ve ark. 2007).

Duman ve Sevimli (2008) *Hypericum perforatum* L., *Hypericum scabrum* L. ve *Hypericum kotschyanum* bitkilerinden elde edilen kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerini, yedisi Gram (+) pozitif [*Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus faecalis*-klinik izolat, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Streptococcus salivarius* RSHE 606] ve üç Gram (-) negatif [*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*-klinik izolat] bakterilere karşı disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan örneklerin Gram (+) bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, araştırmada kullanılan Gram (-) bakteri türlerine karşı ise hiçbir antibakteriyel etkiye sahip olmadıklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bir diğer araştırmada bazı endemik *Hypericum* türlerinin (*H. thymbrifolium*, *H. spectabile*, *H. Pseudolae* ve *H. neurocalycinum*, *H. malatyanum*) ve *H. perforatum*'un çeşitli mikroorganizmalara karşı mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiştir. Tüm ekstraktların test edilen Gram pozitif mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Orhan ve Kartal (2015) ve ark., 2019).

Cellarova ve ark. (1994) sarı kantaron bitkisinin hiperisin içeriğini spektrofotometri ile belirlemek amacıyla araştırma yapmışlardır. Hiperisin içeriği bir spektrofotometre (Shimadzu UV3000) ile 592 nm'de metanol ekstraktlarında belirlenmiştir. Araştırmacılar çiçek ve yaprakların kuru ağırlığının % 0.03'ü ile % 0.3'ünü hiperisin ve psödohiperisinden oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Haeberlain ve ark. (1992) psödohiperisin temel naftodiantron bileşiği olup, *H. perforatum* L.'de hiperisine göre 2-4 kat daha fazla miktarda bulunduğunu belirtmişlerdir. *H. perforatum* özütünün kırmızı renginin psödohiperisinin bir oksidasyon ürünü olan siklopsödohiperisinden oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Morales ve Lozoya (1994) kuersetin tarafından indüklenen gevşeme, KCI ile depolarize edilmiş aort halkaları ve Ca^{2+} bağımlı aort kontraksiyonu üzerinde yapmış oldukları çalışmada flavonol glikozitlerin spazmolitik etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Çırak ve ark. (2007) Kuzey Türkiye'nin farklı yerlerinden alınan *H. perforatum*'un kimyasal ve morfolojik bileşimini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada hiperisin, klorojenik asit ve flavonoid (rutin, hiperosid, apigenin-7-O-glukozit, kuersitrin ve kuersetin) içeriklerine bakılmıştır. Bölgelere bağlı olarak önemli kimyasal ve morfolojik varyasyonlar tespit etmişlerdir. Bölgelere bağlı olarak hiperisin 0.44-2.82 mg/g kuru ağırlık (KA), klorojenik asit 0.0-1.86 mg/g KA, rutin 0.0-8.77 mg/g KA, hiperosid 5.41-22.28 mg/g KA, kuersitrin 1.64-3.98 mg/g KA ve kuersetin 1.01-1.76 mg/g kuru ağırlık arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada, hiperisin içeriğinin yapraktaki koyu renk ile pozitif, ancak yaprak alanı ile negatif yönlü korelasyon gösterdiği ve incelenen diğer morfolojik özellikler ile biyoaktif maddeler arasında korelasyon saptanmadığı bildirilmiştir.

Brolis ve ark. (1998) *Hypericum perforatum*'un flavonoid, naftodiantron ve floroglucinol bileşenlerinin tanımlanması amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemini kullanmışlardır. Araştırmacılar, klorojenik asit, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, rutin, hiperosid, I3, II8-biapigenin, psödohiperisin, hiperisin, hiperforin ve hiperforin bileşiklerini sulu bir fosforik asit-asetonitril-metanol taşıyıcı fazları kullanılarak 50 dakikalık süre içerisinde analiz etmişlerdir. Bileşiklerin miktarsal sonuçları rutin cinsinden verilmiştir.

Napoli ve ark. (2018) Sicilya’da yetişen 11 farklı *Hypericum* türünün antioksidan kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmada DPPH yöntemiyle en etkili türler olarak sırasıyla *Hypericum perforatum*, *H. androsaemum*, *H. tetrapterum* ve *H. Calycinum* olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada sarı kantaronda (*Hypericum Perforatum* L.) bulunan fenolik bileşiklerin farklı solventler kullanılarak ekstraksiyonu yapılarak elde edilen ekstraktlardaki fenolik bileşiklerin karakterizasyonu, antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda ekstarktlardaki fenolik bileşikler LC-DAD-MS/MS cihazı ile karakterize edilmiş ve antioksidan potansiyel ise ABTS ve DPPH yöntemleri ile tespit edilmiştir. Kantaron bitkisinin antimikrobiyal etkisi agar kuyu difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan kantaron bitkileri 8 Haziran 2019 tarihinde Adana ilinin Pozantı ilçesinin Akçatekir Yaylası’ndan (doğal olarak yetişen *Hypericum Perfaratum* L. bitkisinin taze çiçekli bitkileri) bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan sarı kantaron bitkisinin yetiştiği arazi 1390 m rakımda, 37° 20' 17.6" Kuzey enlemi ve 34° 47' 37.8" Doğu boylamı arasında, bulunmaktadır. Pozantı ilçesinde dağlık ve yüksek alanların fazla olması nedeniyle karasal iklim hakimdir.

Adana-Ankara E-90 oto yolunun 90'ıncı kilometresinde yolun her iki yakasında çok geniş bir alana yayılan Akçatekir Yaylası, Pozantı ilçesine 17 km uzaklıkta bulunmaktadır. Pozantı ilçesinde bulunan yaylaların sulak alanlarında kantaron otu, kekik, yavşan otu, yabani sarımsak, yabani çay, yabani nane ve çiğdem gibi bitkiler doğal olarak yetişmekte olup, bu bitkiler yöre halkı tarafından beslenme, tedavi, boya, aromatik koku, süs amaçlı tüketilmektedir (Koruyucu, 2016). Şekil 3.1’de Analizlerde kullanılan sarı kantaron bitkisinin fotoğrafı verilmiştir.



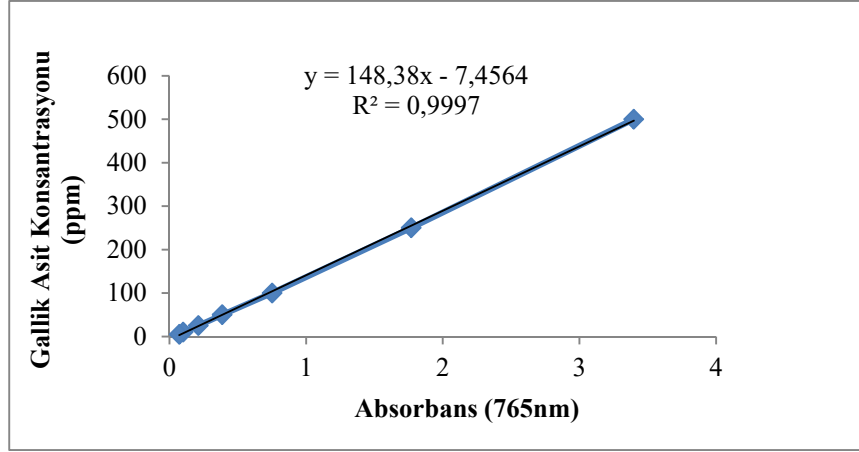
Şekil 3.1. Analizlerde kullanılan sarı kantaron bitkisi

3.2. Kimyasallar

Metanol (HPLC grade), formik asit, sodyum karbonat ve hidroklorik asit Merck (Darmstat, Almanya) firmasından; gallik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, epikateşin, kuersetin, Folin-Ciocalteu, kafeik asit ve o-kumarik asit Sigma Chemical Co. (St. Louis, ABD) firmasından temin edilmiştir. DPPH (2,2-diphenyl-1-Picrylhydrazyl), ABTS [2,2 -azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit)] ve Troloks ((+/-)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-chroman-2-karboksilik asid) Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, ABD) firmasından ve etanol Riedel de Haen Co. (Seelze, Almanya) firmasından temin edilmiştir. HPLC ve LC-MS/MS analizlerinde mobil fazların hazırlanmasında Elga Purelab Option-Q marka saf su cihazından sağlanan 18.2 M Ω -cm ultra saf su kullanılmıştır. Standart çözeltiler ve diğer hassas çözeltiler günlük olarak hazırlanmıştır.

3.3. Yöntem

Kantaron bitkisi örneklerinde ekstraksiyon öncesinde 45°C’de etüvde sabit ağırlığa ulaşınca kadar kurutma işlemi yapılmıştır. Kurutulmuş kantaron bitkileri daha sonra öğütülerek zeytinyağı, ayçiçek yağı, metanol, etanol ve su kullanılarak ultrasonik su banyosunda ekstraksiyonlar hazırlanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.3. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

3.3.2. Fenolik Bileşiklerin HPLC ve LC-MS/MS ile Analizleri

Farklı yöntemler kullanılarak elde edilen ekstraktlarda fenolik bileşikler oldukça hassas bir yöntem olan LC-MS/MS ile tanımlanmıştır. Sarı kantaron ekstraktlarının fenolik bileşik analizleri Kelebek ve ark. (2017) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar 0.45µm'lik membran filtrelerden geçirilerek HPLC'ye enjekte edilerek fenolik bileşik profilleri belirlenmiştir. Bu ekstraktlar ayrıca antioksidan kapasite analizlerinde ve antimikrobiyal analizlerde de kullanılmıştır.

LC-MS/MS koşulları: Ekstraktların fenolik bileşiklerinin belirlenmesinde Diyot Array Dedektörlü Agilent 1100 HPLC kullanılmıştır. Sistem ikili pompa (G1312 B, 1260 Bin pompa), degazer (G1322 A, 1260) ve oto örnekleyici (G1367 E, 1260 HIP ALS) içermektedir. Bileşiklerin ayırımı, ters faz C-18 Phenomenex Luna kolon (4.6 mm x 250 mm, 5µm) (Torrance, California, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz ise iki solventten oluşmaktadır: Solvent A: su/formik asit (99:1; v/v) ve Solvent B: asetonyitril (99:1; v/v). Örneklerin fenol bileşiklerinin belirlenmesinde çift pompalı ve diyot array dedektörlü “Agilent 1100” marka yüksek performanslı sıvı kromatografisi (LC) sistemine bağlanmış tandem kütle spektrometresi (MS/MS) ve elektro-sprey iyonizasyon (ESI) probu ile donatılmış LC-MS/MS sistemiyle aşağıda belirtilen cihaz şartlarında gerçekleştirilmiştir.

Analizlerde kullanılan HPLC koşulları:

Kolon: C-18 Phenomenex Luna kolonda (4.6 mm x 250 mm, 5µm)

Enjeksiyon miktarı: 20 µL

Taşıyıcı faz: Solvent A: su/formik asit (99:1; v/v) ve Solvent B: asetonyitril (99:1; v/v).

Akış hızı: 0.9 mL/dak.

Dalga boyu: 280, 320 ve 360 nm

Dedektör tipi: Diyot array dedektör

Fenolik bileşiklerin LC-MS/MS analizlerinde kullanılan elüsyon sistemi şu şekildedir:

Süre (Dakika)	% A	% B
0	100	0
10	100	0
40	95	5
58	85	15
80	75	25
103	50	50
107	0	100
116	0	100
120	10	0

Fenolik bileşiklerin tanımlanmasın LC-MS/MS kullanılarak negatif iyonizasyon modunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, kapiller sıcaklık 400°C, kapiler voltaj -3V, nebulizer gaz akışı 1.75 L /dakika, çözünme gaz akışı 1 L/dakika ve sprej voltaj 5 kV olarak seçilmiştir. Çalışmada 100 - 2000 amu kütle aralığında tarama yapılmıştır. Sarı kantaron bitkisindeki fenolik bileşiklerin tanımlanması LC-DAD-MS/MS cihazında elde edilen alıkonma zamanları, max/min dalga boyları, ana ve fragment iyonlar, kütle spektrumları, standart olarak kullanılan bileşiklerin alıkonma zamanları, spektrumları ve konu ile ilgili yapılmış literatür verilerinden yararlanılarak yapılmıştır.

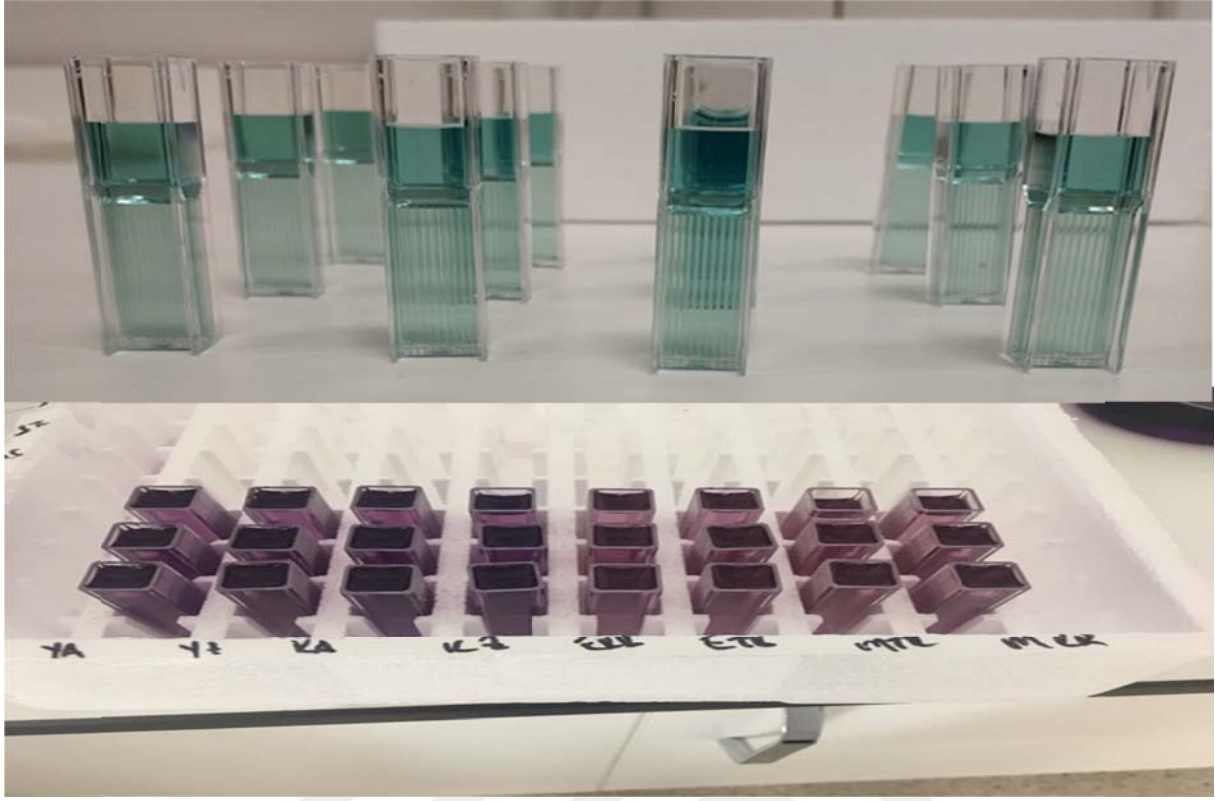
Fenol bileşiklerinin miktarlarının saptanması amacıyla, her bir standart madde için beş farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanarak HPLC'ye enjekte edilmiştir. Her bir bileşik için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu bileşiklerin hazırlanmasında sarı kantaron bitkisinde bulunan konsantrasyonları içerecek şekilde standart bileşikler kullanılarak hazırlanmış ve bu bileşikler için 0.995'in üzerinde regresyon katsayıları (r^2) elde edilmiştir. Standart olmayan bileşiklerin miktarsal analizlerinde ise yapısal olarak benzerlik gösteren maddelerin kalibrasyonu kullanılmıştır. Tespit sınırları (LOD) ve kantitatif (LOQ), sırasıyla 3 ve 10 sinyal-gürültü oranlarında (S/N) hesaplanmıştır. Metodun performansını belirlemek için, doğrusalılık, tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ), tekrarlanabilirlik, geri kazanım ve doğruluk parametreleri incelenmiştir ve istatistiksel değerlendirmeleri yapılmıştır. Geri

kazanım oranları %83-105, LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla 0.3-2.5 µg/mL ile 0.1-5.8 µg/mL aralığında belirlenmiştir.

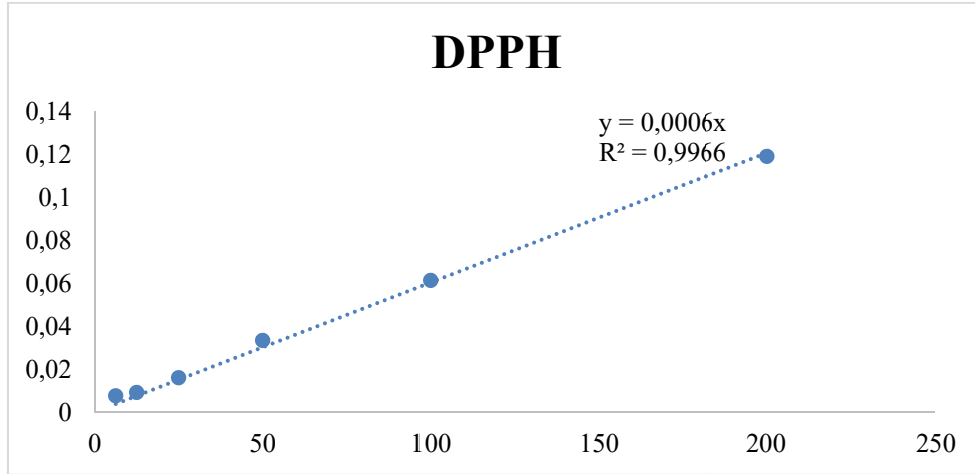
3.3.3. Antioksidan Kapasite Analizleri

Sarı kantarondaki antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleriyle belirlenmiştir (Şekil 3.4). Serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH (2,2, difenil 1-pikri hidrazil) kullanılarak ve metanol içerisinde gerçekleşen reaksiyonun zamana karşı değişiminin 515 nm’de UV-Vis (Agilent–Cary 60) spektrofotometredeki ölçüm sonuçlarına göre yapılmıştır (Brand-Williams ve ark., 1995; Kelebek ve ark., 2009). Elde edilen absorbans değerleri Trolox standart eğim çizelgesi (Şekil 3.5) ile hesaplanmıştır.

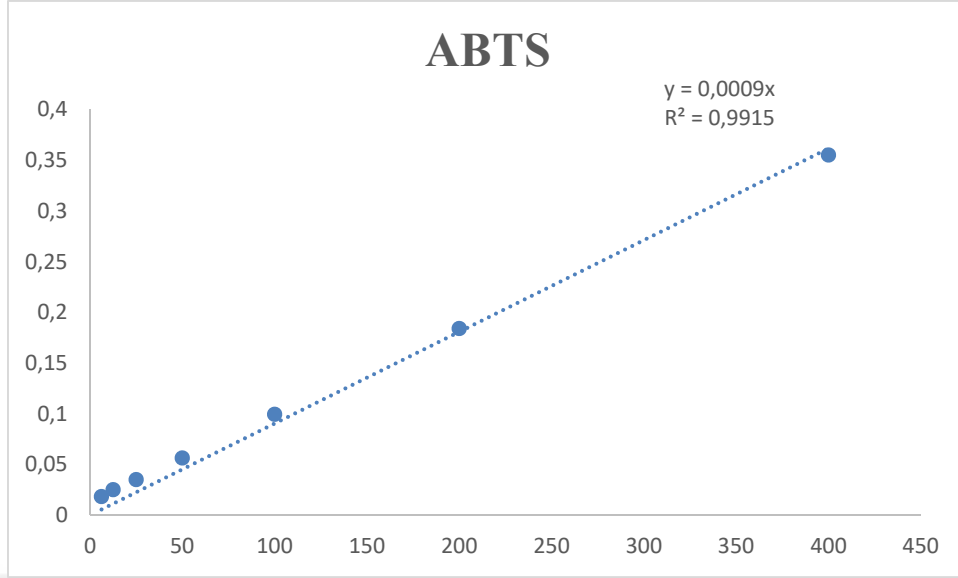
ABTS yöntemi Saafi ve ark. (2009)’nın metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem için 7 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) 2.45 mM potasyum bisülfat ile karıştırılarak karanlık ortamda 12-16 saat bekletilerek daha sonra bu solüsyon sodyum asetat (pH 4.5) tamponu ile spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda 0.700 ± 0.01 absorbans olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra seyreltilmiş örneklerden 20 µL alınarak üzerine 2.98 mL tampon karıştırılmış ve 10 dakika sonra spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri Trolox (10–100 mM/L) standart eğim çizelgesi ile hesaplanarak sonuçlar mmol/L trolox cinsinden ifade edilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri Trolox standart eğim çizelgesi (Şekil 3.6) ile hesaplanarak sonuçlar mmol TE/100g cinsinden ifade edilmiştir (Saafi ve ark. 2009). Şekil 3.4’de DPPH ve ABTS yöntemlerinde ölçümü yapılan örneklerin fotoğrafı verilmiştir.



Şekil 3.4. DPPH ve ABTS yöntemlerinde ölçümü yapılan örnekler



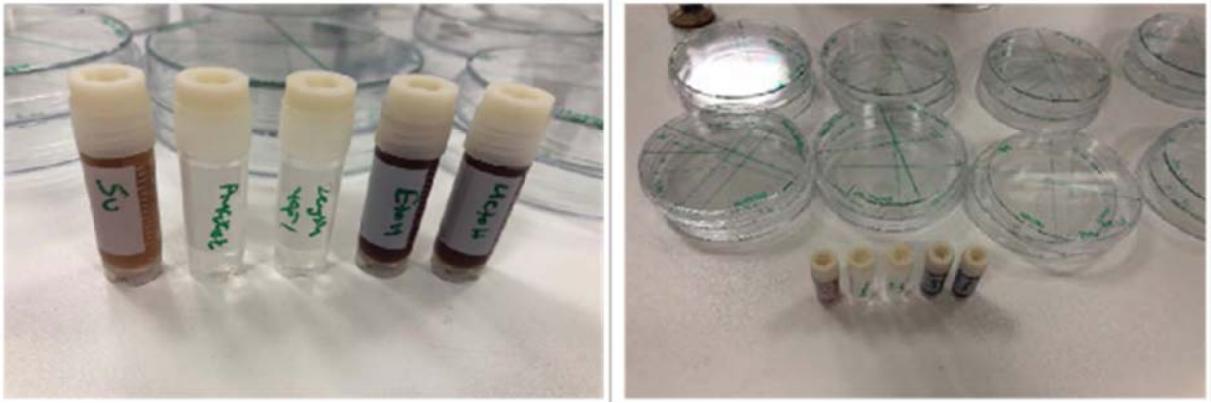
Şekil 3.5. DPPH yönteminde Trolox ile elde edilen kalibrasyon eğrisi



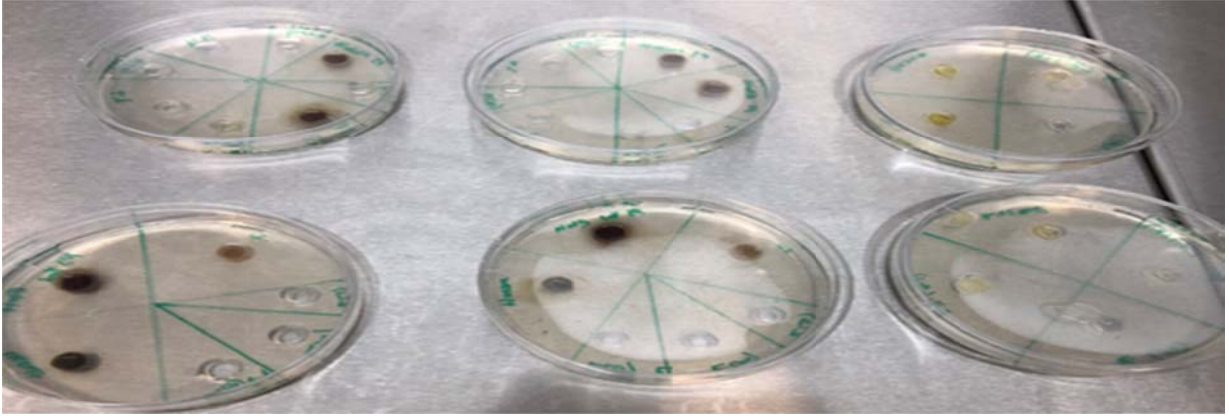
Şekil 3.6. ABTS yönteminde Trolox ile elde edilen kalibrasyon eğrisi

3.3.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri

Sarı kantaron ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizlerinde *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bu bakteriler triptik soy agar üzerinde 35°C’de 18-24 saat inkübasyon sonunda aktifleştirilerek ve bakteri çözeltilisinin bulanıklığı 0.5 McFarland birimi olacak şekilde % 0.9 konsantrasyonda steril tuzlu su çözeltilisi kullanılarak ayarlanmıştır ve takiben 1:10 yada 1:100 oranında sulandırılarak 10⁶ KOB / ml elde edilecek şekilde ayarlanmıştır. 0.5 McFarland birimine denk olan bakteri sayısı triptik soy agar besiyerine ekim yapılarak ve 35°C’de 18-24 saat inkübasyon sonucunda belirlenmiştir. Bakteri kültürleri %1 oranında olacak şekilde 45-50°C’ye soğutulan Muller Hinton Agar içerisine inokule edilecek ve steril plakalar içerisine dökülmüştür. Ekstraktlar 0.22 µm gözenek çapındaki membran filtrelerden geçirilerek ve 50 µl alınarak katılaştıran besiyeri üzerinde açılan 7-8 mm çapında açılan kuyucuklar içerisine eklenmiştir. 35°C’de 24 saatlik inkübasyon sonunda kuyucuk etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür (Öztürk ve ark. 2015). Analizlerde pozitif kontrol olarak kloramfenikol, negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır. Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.7’ de antimikrobiyal aktivite analizi için örneklerin hazırlanması ve Şekil 3.8’ de ise antimikrobiyal aktivite analizi için ekim yapılan örnekler ile ilgili fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 3.7. Antimikrobiyal aktivite analizi için örneklerin hazırlanması



Şekil 3.8. Antimikrobiyal aktivite analizi için ekim yapılan örnekler

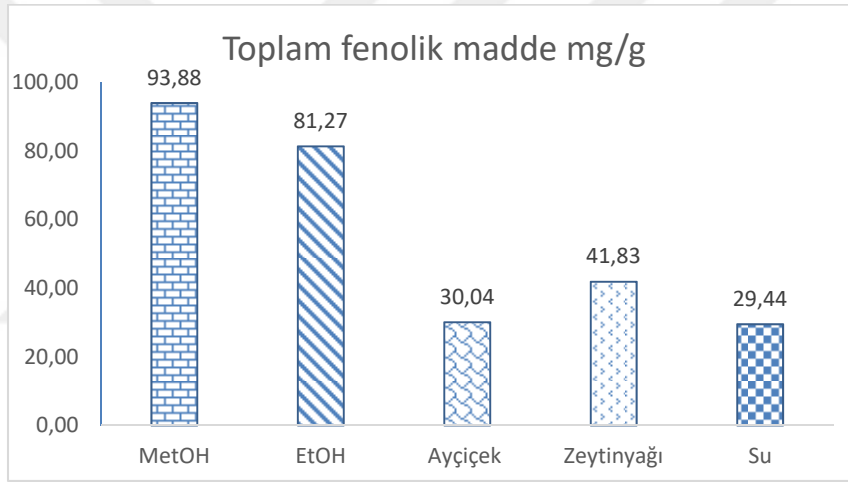
3.3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Farklı yöntemler kullanılarak ekstraksiyonu hazırlanan sarı kantaron bitkisinin analiz sonuçları uluslararası literatürlerle karşılaştırılmış ve elde edilen veriler, SPSS 20 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) yardımıyla % 95 güven seviyesinde ($p \leq 0.05$) varyans analizine tabi tutulmuş ve Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, önemli bulunan farklılıklar incelenmiştir. Ayrıca, XLSTAT 2015 (Addinsoft, New York City, NY, USA) paket programı kullanılarak verilere temel bileşen analizleri uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sarı Kantaron Bitkisinin Toplam Fenolik Madde Miktarları

Sarı kantaron bitkisinin toplam fenolik madde içeriği 93,88-29,44mg/100g arasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Solventlere bağlı olarak oluşan farklılıklar istatistiksel yönden önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. En yüksek içerik (93,88 mg/100g) metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Bunu miktarsal olarak etanol ile elde edilen ekstrakt (81,27 mg/100g) izlemiştir. En düşük içerik ise su ile elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Örnekler kıyaslandığında tespit edilen toplam fenolik madde miktarındaki azalma etanol ile elde edilen ekstraktlarda %14 oranında ve ayçiçek yağı ile elde edilen ekstraktlarda %68 civarında olmuştur.



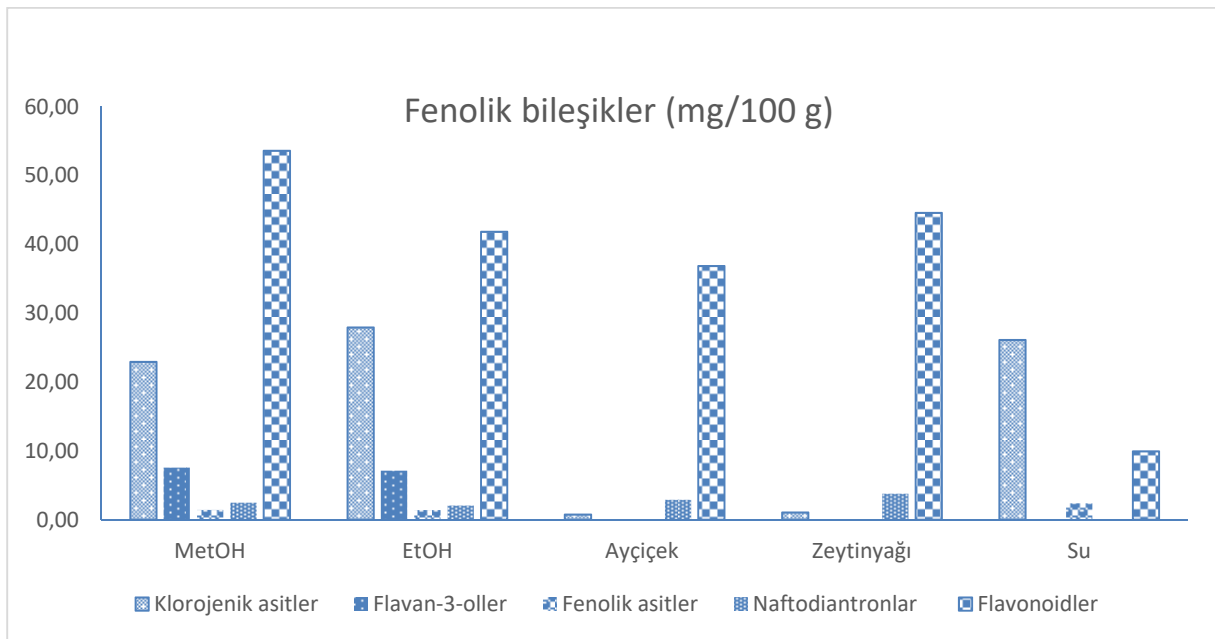
Şekil 4.1. Sarı kantaron bitkisinin toplam fenolik madde dağılımı

Raziq ve ark. (2011) *H. Perforatum* ve *H. Monogynum* türlerinin farklı solventleri kullanarak hazırladıkları ekstraktlarında en yüksek toplam fenolik madde miktarını saf metanol (7512 mg / 100 g) ekstraktlarında, en düşük miktarı ise su ile elde edilen ekstraktlarda (2135 mg/g) tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar Raziq ve arkadaşlarının çalışmasındaki sonuçlar ile miktarsal olarak benzerlik göstermese de solventler bakımından (en yüksek içerik metanollü ekstraktlarda, en düşük içerik ise su ile elde edilen ekstraktlarda) Şekil 4.1' de görüldüğü üzere benzerlik göstermektedir. Marrelli ve ark. (2014) İtalya'da dört farklı yükseklikten toplanan *Hypericum Perforatum* L. örneğinin toplam fenolik madde miktarını araştırdıkları çalışma sonucunu 27,87 mg/g-41,77 mg/g arasında saptamıştır. Öztürk ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonucunda sarı kantaron bitkisinin toplam fenolik madde miktarı en fazla etil asetat ile hazırlanan ekstraktlarda (443,43 mg GAE/g) saptanmış

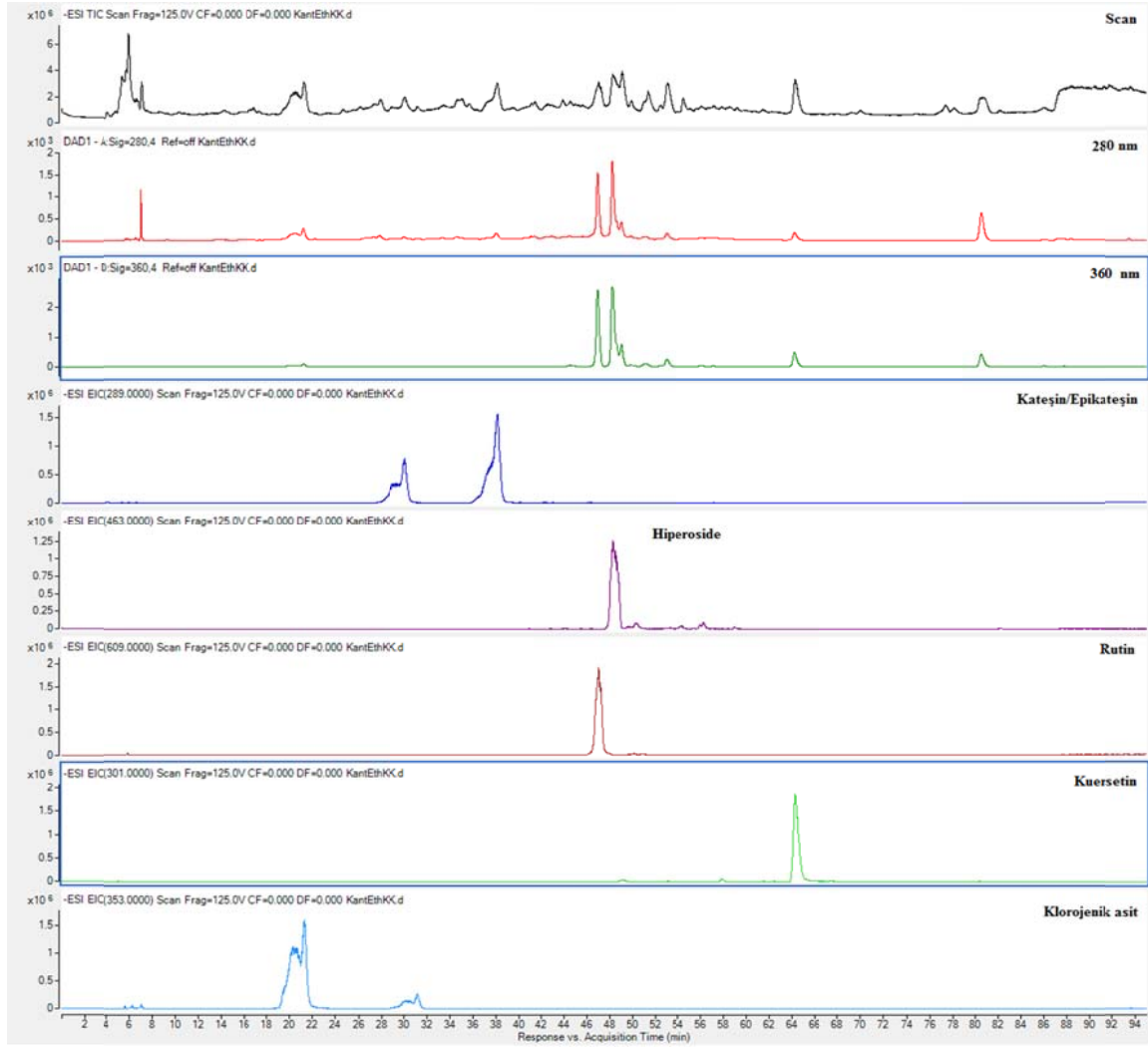
olup ve bunu miktarsal olarak sırasıyla metanol (328,70 mg GAE/g) ve su (271,91 mg GAE/g) ekstraktları izlemiştir. Chimshirova ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada *Hypericum perforatum* ekstraktlarındaki toplam fenoliklerin 10,20 mg/g-53,84 mg/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda sarı kantaron bitkisinin toplam fenolik madde miktarı 200 mg GAE/g (Parzhanova ve ark., 2018), 181,02 mg GAE/g (Sarıkürkçü ve ark.,2020), 265,43 g/kg (Seyrekoğlu ve Temiz 2020), 191 g/kg (Skerget ve ark. 2005) tespit edilmiştir.

4.2. Sarı Kantaron Bitkisinin Fenolik Bileşimlerindeki Değişim

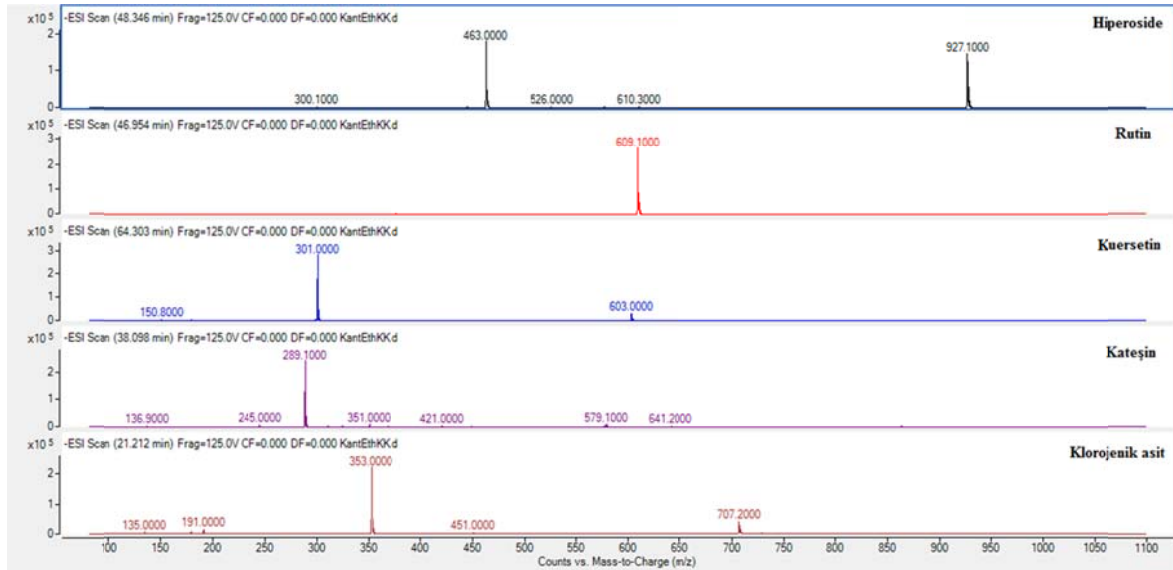
Sarı kantaron bitkisinde LC-DAD-ESI-MS/MS cihazı yardımıyla altısı klorojenik asit, ikisi flavanol, üçü fenolik asit, ikisi naphthodianthronlar ve dokuzu flavonoidler olmak üzere toplamda 22 adet bileşik tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir. Sarı kantaron bitkisinin fenolik bileşiklerinin dağılımları şekil 4.2’ de verilmiştir. Bu bileşiklerin toplam miktarı 37.63-85.55 mg/g arasında değişmiştir. Sarı kantaron bitkisine ait LC-MS/MS ile kaydedilen kromatogramlar ve spektrumlar Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Orhan ve Kartal (2015) sarı kantaronu çalışmamıza benzer şekilde klorojenik asit, rutin, hiperozit, kersitrin, kuersetin ve biapigenin, psödohiperisin, hiperisin, hiperforin ve adhiperforin bileşiklerini tanımlamışlardır.



Şekil 4.2. Sarı kantaron bitkisinin fenolik bileşiklerinin dağılımları



Şekil 4.3. Sarı kantaron bitkisine ait LC-MS/MS ile kaydedilen kromatogramlar



Şekil 4.4. Sarı kantaron bitkisinde belirlenen bazı bileşiklere ait LC-MS/MS ile kaydedilen spektrumlar

4.2.1. Klorojenik Asitler

Farklı çözümler kullanılarak elde edilen ekstraktların yapısında neoklorojenik asit (353 m/z), klorojenik asit (353 m/z), kriptoklorojenik asit (353 m/z), *trans* 4-*o*-*p*-kumarilkuinik asit (353 m/z), *cis* 5-*O*-*p*-kumarilkuinik asit (353 m/z), *trans* 5-*O*-*p*-kumarilkuinik asit (353 m/z) olmak üzere 6 adet klorojenik asit grubu bileşik tanımlanmıştır. Belirlenen bu bileşiklerin toplam miktarı 0.74-27.91 mg/g arasında değişmiştir (Tablo 4.1). En yüksek içerik etanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Bunu miktarsal olarak sıcak su ile elde edilen ekstrakt (26.09 mg/g) izlemiştir. En düşük içerik ise ayçiçek yağı ile elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Neoklorojenik asit klorojenik asitler arasında baskın olan bileşik olarak tanımlanmıştır. Bu bileşiğin miktarı etanol ile elde edilen ekstraktlarda en yüksek (14.26 mg/g) olarak saptanmış ve bunu miktarsal olarak sırasıyla metanol (12.59 mg/g), sıcak su (11.68 mg/g), ayçiçek (0.67 mg/g) ve zeytinyağı (0.65 mg/g) ekstraktları izlemiştir. Solventlere bağlı olarak oluşan farklılıklar istatistiksel yönden önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Silva ve ark. (2008) *Hypericum perforatum* L. bitkisinin etanolik ekstraktının fenolik bileşiklerini HPLC-DAD/HPLC-MS yöntemi ile tanımladıkları çalışmada neoklorojenik asit miktarını 2880 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit etmişlerdir.

Klorojenik asit neoklorojenik asit sonrasında baskın olan diğer bileşiktir. Bu bileşiğin miktarı 0.05-8.11 mg/g arasında değişmiş ve neoklorojenik asite benzer bir değişim göstererek en yüksek içeriğe etanol ile elde edilen ekstraktlarda ulaşılmıştır. Bu bileşiğin solventlere bağlı olarak değişen miktarı istatistiksel yönden ($p < 0.05$) önemli bulunmuştur. Kalogeropoulos ve ark. (2010) Kuzey Yunanistan'da yapmış oldukları çalışmada *Hypericum perforatum* L. bitkisinin metanolik ekstraktlarda klorojenik asit miktarını 1.36 mg/g olarak saptamışlardır. İnsanların beslenmesinde klorojenik asit oldukça fazla yer almakta olup birçok çalışmada antioksidan ve antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Kang ve Lee, 2014). Farklı çalışmalarda, klorojenik asit ve kuersetinin fenoliklerin yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Chen ve ark. 2013, Almeida ve ark. 2011, Gopalakrishnan ve ark. 2016).

4.2.2. Flavanoller

Çalışmada flavanol grubu bileşiklerden kateşin (289 m/z) ve epikateşin (289 m/z) olmak üzere iki adet flavanol yapısında bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler su ile hazırlanan ekstraktlarda saptanmazken metanol ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarda toplam miktarları sırasıyla 7.58 mg/g ve 7.13 mg/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Kalogeropoulos ve ark. (2010) GC-MS

HPLC ile *Hypericum perforatum* L. bitkisinin metanolik ekstraktlarında epikateşin miktarını 118.9 mg/g ve kateşin miktarını ise 8.70 mg/g olarak saptamışlardır.

4.2.3. Fenolik Asitler

Sarı kantaron bitkisinden su, etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktlardan fenolik asit yapısında kafeik asit (179 m/z), protokateşik asit (153 m/z) ve ferulik asit (193 m/z) olmak üzere 3 adet fenolik asit tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin tanımlaması negatif iyonizasyon modu kullanılarak yapılmıştır. Fenolik asitler negatif iyon modunda karboksilik asit grubundan bir CO₂ grubunun kaybıyla ayrışması ve [M-H-44]⁻ fragman iyonu üretmesiyle karakterize edilmektedir. Ferulik asitin tanımlanmasında ise CO₂ grubunun ayrılmasının yanısıra [M-H-15]⁻ anyon kökü sağlayan CH₃ grubunun kaybına bağlı bir fragman iyon gözlenmektedir. Fenolik asitlerin UV spektrumları bileşiklerin kimyasal yapılarıyla doğrudan ilişkili olduğundan bileşiklere bağlı olarak farklılıklar göstermiştir.

Fenolik asitlerin toplam miktarı ayçiçek ve zeytinyağı ile elde edilen ekstraktlarda saptanmazken diğer ekstraktlarda miktarı 1.40 ile 2.30 mg/g arasında değişmiştir (Tablo 4.1). En yüksek içerik su ile elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Fenolik bileşiklerin toplam miktarındaki farklılık istatistiksel yönden önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Fenolik asitler içerisinde baskın olan bileşik kafeik asit olarak saptanmış ve bunu miktarsal olarak ferulik ve protokateşik asit izlemiştir. Tuncel ve Yılmaz (2010) *Hypericum perforatum* L. bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstraktlarında protokateşik asit 14.31 mg/100g, kafeik asit 45.30 mg/100g, klorojenik asit 10.89 mg/100 g, *p*-kumarik asit 2.88 mg/100g, *o*-kumarik asit 260.87 mg/100g, rozmarinik asiti 181.55 mg/100g olarak tespit etmişlerdir. Hosni ve ark. (2010) Tunus'ta *H. perforatum*, *H. perforatum* ve *H. Ericoides* türlerinin metanolik ekstraktlarında RP-HPLC-DAD yöntemiyle tanımladıkları 15 adet fenolik bileşik arasında *H. perforatum* ekstraktına ait 0,7 mg/g ferulik asit tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da metanolik ekstraktlarda 0,54 mg/g ferulik asit saptanmış olup Hosni ve arkadaşlarının çalışmasındaki bulgulara yakın sonuç elde edilmiştir. Bitkilerde yaygın olarak fenilalaninin deaminasyonu ve hidroksilasyonu ile ortaya çıkan kafeik asitin (Mobin ve ark., 2014) su ekstraktlarında toplam fenolik asit miktarı diğer örneklere göre daha yüksek (2,39mg/g) olduğu saptanmıştır.

4.2.4. Naftodiantronlar

Çalışmada sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarından naftodiantronlar grubundan hiperisin (503.5 m/z) ve protohiperisin (505.6 m/z) olmak üzere iki fenolik bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler *Hypericum* cinsine ait olan tipik bileşiklerdir. Bitkinin yoğun kırmızı renginden ve fototoksik özelliklerinden sorumludur. Bu gruptaki en önemli bileşik hiperisinlerdir. Bitkiden izole edilen diğer naftodiantron türevleri psödohiperisin, protohiperisin ve psödoprototyperisinidir. Kararsız yapıları nedeniyle protohiperisin ve psödoprototyperisin daha kararlı ürünler olan, hiperisin ve psödohiperisine dönüşürler. Bu bileşiklerin toplam miktarı 0.10-3.78 mg/g arasında değişmiştir (Tablo 4.1). Zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarda en yüksek içerik ve su ile hazırlanan örneklerde ise en düşük içerik saptanmıştır. Bu grup bileşiklerin oranlarına bakıldığında hiperisinin baskın olduğu ve toplam naftodiantronun toplam miktarına benzer şekilde yağ ile yapılan ekstraktlarda daha yüksek olarak saptanmıştır. Zdunic ve ark. (2017) yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemini kullanarak *H. perforatum* bitkisinin etanolik özütlerinde 2,0 mg/g hiperisin tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Orhan ve Kartal (2015) *H. perforatum*'daki hiperisin miktarını 16 $\mu\text{g/g}$ tespit etmişlerdir. Hiperisin içeriklerinin Orhan ve Kartal (2015) yaptıkları çalışmada Avrupa Farmakopesi tarafından istenen miktarlara uygun olduğunu rapor etmişlerdir. Naftodiantronlar grubundan hiperisin benzeri bileşikler güçlü antiviral etkiye sahiptirler (Meruelo ve ark. 1988).

4.2.5. Flavanoidler

Flavanoidler *H. perforatum*'un % 2-4 arasında değişen oranla, aktif biyolojik bileşiklerinin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Bu bileşikler, biyogenik aminlerin katabolizmasından sorumlu enzim olan monoamin oksidaz A'yı, ve katekol-O-metiltransferazı inhibe etmektedir. Sparenberg ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar flavonoid aglikonların (kuersetin, kaempferol ve luteolin) bu inhibasyonda yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Sparenberg ve ark., 1993; Altan ve ark., 2015). Sarı kantaron bitkisinin temel biyoaktif bileşenleri olarak flavonoidler, çalışmada önemli miktarlarda tespit edilmiştir. Kuersetin-3-b-D-galaktopiranozit (Hiperosid) (463 m/z), kuersetin-3-b-D-glukopiranozit (isoquercitrin) (463 m/z), kuersetin-3-b-D-glukopiranozit (miquelianin) (477 m/z) hiperosidin asillenmiş türevi (505 m/z), kuersetin-3-a-L-rhamnopiranozit(kuersitrin) (447 m/z), kuersetin (301 m/z), rutin (309 m/z), luteolin hexoside ve I3,II8-Biapigenin olmak üzere toplam 9 adet bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin miktarı 9.82 mg/g ile 51.12 mg/g arasında değişmiştir (Tablo 4.1). Toplam flavonid miktarı metanol>zeytinyağı>etanol>ayçiçek yağı>su ekstraktları

şeklinde sıralama göstermiştir. Kullanılan solventler toplam flavonoid bileşikleri miktarını istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) ölçüde değiştirmiştir.

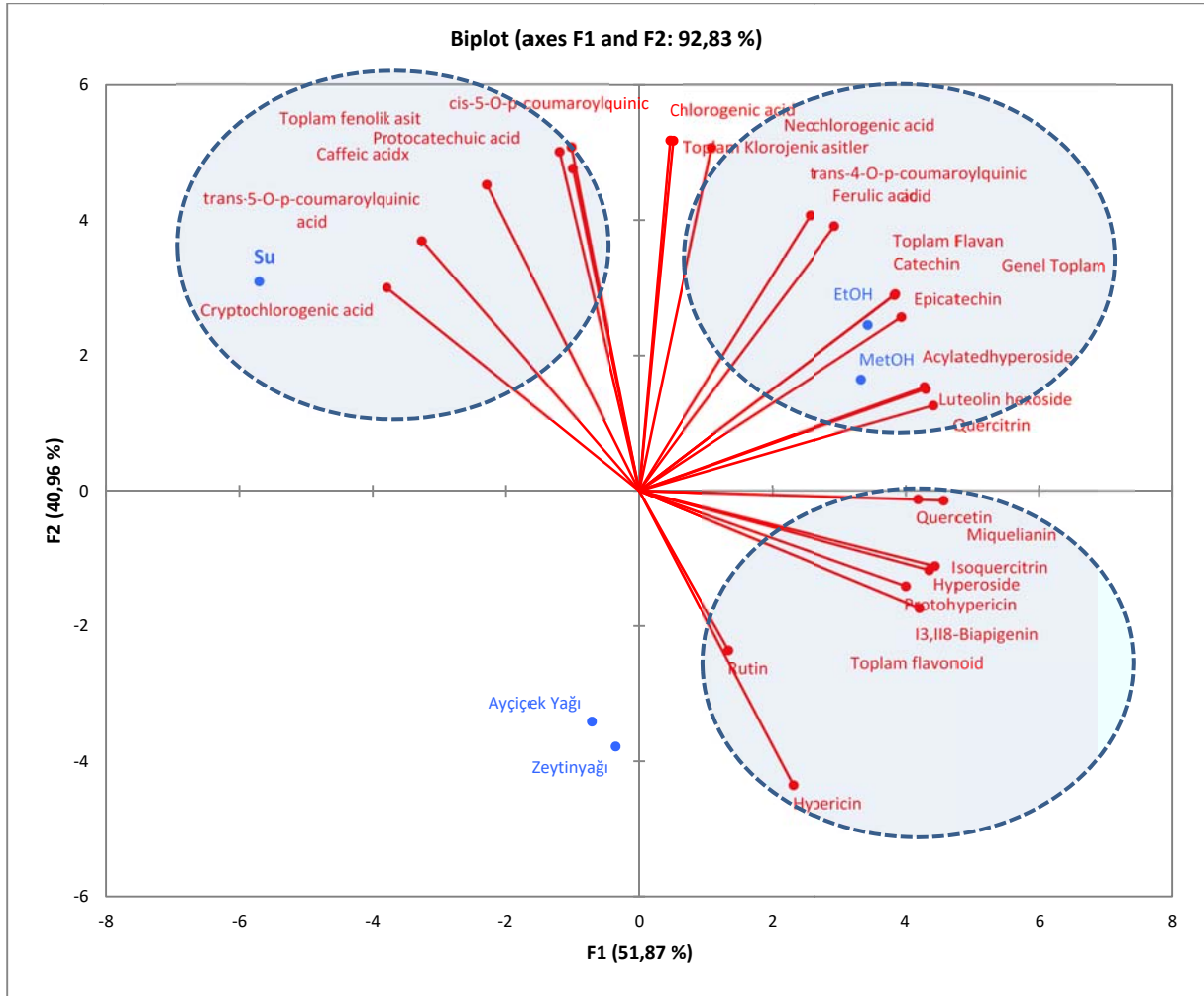
Bu bileşiklerden sarı kantaron bitkisinde en yüksek miktarda rutin, daha sonra kuersetin-3-b-D-galaktopiranozit (Hiperoside), kuersetin-3-b-D-glukopiranozit (isokuersitrin) bileşikleri tespit edilmiştir. Metanol ekstraktı ile yapılan analiz sonuçlarına göre flavonoidlerden rutin 15.06 mg/g ve kuersetin-3-b-D-galaktopiranozit (Hiperosid) 12.48 mg/g olarak saptanmıştır. Çırak ve ark. (2007) yaptığı çalışmada, sarı kantaronunda rutin miktarını 0.0 - 8.77 mg/g arasında; Verma ve ark., (2008) 5.63-23.77 mg/g, Hosni ve ark. (2010) metanol ile hazırladığı ekstraktlarda 0.8 mg/g olarak tespit etmişlerdir. Kantaron bitkisinde rutin ve hiperozit bileşikleri temel flavonoidler olarak bildirmişlerdir (Altan ve ark., 2015). Wu ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada rutin miktarını 1.376-8.256 µ/ml olarak saptamışlardır. Deveci (2014) yaptığı çalışmada kantaron bitkisinin çiçeğindeki rutin miktarını 5.29– 10.16 µg/g, yapraktaki rutin miktarı ise 2.93-10.56 µg/g olarak tespit etmişlerdir. Rutin bileşiğinin antioksidan ve antibakteriyel etkisinin olduğu bildirilmiştir. Zdunic ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada sarı kantaronun etanolik ekstraktlarında baskın olan grubu bizim çalışmamızda olduğu gibi flavonoidler oluşturmuş olup toplam 52.3 mg/g olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda yapılan analizler sonucunda etanol ekstraktında 14.02 mg/g hiperozit, 10.46 mg/g isokuersitrin, 3.75 mg/g kuersitrin, 3.43 mg/g kuersetin ve 2,61 mg/g I3,II8-Biapigenin saptanırken Zdunic ve arkadaşları 15.5 mg/g hiperozit, 7.2 mg/g isokuersitrin, 3.9 mg/g kuersitrin, 5.8 mg/g kuersetin ve 2.9 mg/g I3,II8-Biapigenin saptamışlardır. Yaptığımız çalışma sonucu elde edilen fenolik bileşik miktarları Zdunic ve arkadaşlarının tespit ettikleri miktarlar ile benzerlik göstermektedir. Hiperozit miktarı yapılan çalışmalar sonucunda 21.8 mg/g (Hosni ve ark. 2010), 8.7 mg/kg (Filippini ve ark. 2010), 7.6-9.3 mg/kg (Sagratini ve ark. 2008), 13.7-41.6 mg/g (Verma ve ark. 2008) tespit edilmiştir. Silva ve ark. (2005) çalışmalarında *Hypericum perforatum* L bitkisinin etanolik ekstraktlarının hiperisin, hiperforin ve türevleri, rutin, hiperozid, kuersetin, flavonoller ve flavonlar içerdiğini, bu bileşiklerin önemli bir antioksidan kaynağı olabileceğini bildirmişlerdir.

Tablo 4.1. Sarı Kantaron Bitkisinin fenolik bileşimleri (mg/g)

Bileşikler	Molekül formülü	[M-H] ⁻	MS/MS iyonları	HP-MetOH Ekstraktı	HP-EtOH Ekstraktı	HP-AY Ekstraktı	HP-ZY Ekstraktı	HP-Su(12 dk) Ekstraktı
Klorojenik asitler (KA)								
Neoklorojenik asit(trans-5-O-Kaffeilkuinik asit)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353	191, 179, 135	12,59±0,52 ^b	14,26±0,59 ^a	0,67±0,03 ^d	0,65±0,03 ^d	11,68±0,49 ^c
Klorojenik asit(3-O- Kaffeilkuinik asit)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353	191	6,85±0,36 ^b	8,11±0,43 ^a	0,05±0,00 ^c	0,37±0,02 ^c	7,79±0,32 ^a
Kriptoklorojenik asit(4-O- Kaffeilkuinik asit)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353	191, 173, 135	0,16±0,01 ^b	0,19±0,01 ^b	0,00±0,00 ^c	0,01±0,00 ^c	2,96±0,12 ^a
trans 4-O-p-Kumaroylkuinik asit	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	337	191, 173, 163,155	2,50±0,13 ^b	4,46±0,23 ^a	0,01±0,00 ^d	0,01±0,00 ^d	1,45±0,06 ^c
cis 5-O-p-Koumaroylkuinik asit	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	337	191, 173, 163,155, 137	0,59±0,03 ^b	0,64±0,03 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,98±0,04 ^a
trans 5-O-p-Kumaroylkuinik asit	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	337	191, 173, 163,155, 137	0,24±0,01 ^b	0,26±0,01 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	1,24±0,05 ^a
Toplam KA				22,93±1,07^c	27,92±1,31^a	0,74±0,03^d	1,05±0,04^d	26,09±1,09^b
Flavan-3-oller (FLO)								
Kateşin*		289	245, 205, 179	2,54±0,13 ^a	2,49±0,13 ^a	0,01±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
Epikateşin*		289	245, 205, 179	5,04±0,27 ^a	4,63±0,24 ^b	0,02±0,00 ^c	0,03±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c
Toplam FLO				7,58±0,40^a	7,13±0,38^b	0,03±0,00^c	0,05±0,00^c	0,00±0,00^c
Fenolik asitler (FA)								
Kaffeik asit	C ₉ H ₈ O ₄	179	135	0,73±0,04 ^c	0,85±0,04 ^b	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	2,01±0,08 ^a
Protokateşik asit	C ₇ H ₆ O ₄	153	109	0,18±0,01 ^b	0,10±0,01 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,22±0,01 ^a
Ferulik asit	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193	134	0,54±0,03 ^a	0,45±0,02 ^b	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,17±0,01 ^c
Toplam FA				1,45±0,08^b	1,40±0,07^b	0,00±0,00^c	0,00±0,00^c	2,39±0,10^a
Naftodiantronlar (Naft)								
Hipericin	C ₃₀ H ₁₆ O ₈	503,5	-	2,16±0,11 ^c	1,69±0,09 ^d	2,55±0,11 ^b	3,57±0,15 ^a	0,07±0,00 ^c
Protohipericin	C ₃₀ H ₁₈ O ₈	505,6	-	0,32±0,02 ^b	0,37±0,02 ^a	0,36±0,01 ^a	0,21±0,01 ^c	0,03±0,00 ^d
Toplam Naph				2,48±0,13^c	2,06±0,11^d	2,91±0,12^b	3,78±0,16^a	0,10±0,00^e
Flavonoidler (FLV)								
Kuersetin-3-b-D-galaktopiranozit(Hiperoside)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463	301	12,48±0,66 ^b	14,02±0,74 ^a	9,29±0,39 ^c	11,72±0,49 ^b	2,79±0,12 ^d
Kuersetin-3-b-D-glukopiranozit(İsoquercitrin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463	301	9,05±0,48 ^b	10,46±0,55 ^a	6,45±0,27 ^c	9,00±0,38 ^b	1,65±0,07 ^d
Kuersetin -3-b-D-glukopiranozit(Miquelianin)	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	477	301	4,45±0,23 ^a	3,78±0,20 ^b	2,70±0,11 ^c	2,75±0,11 ^c	0,81±0,03 ^d
Hyperosidin asillenmis türevi	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	505	463, 301	0,45±0,02 ^b	0,52±0,03 ^a	0,27±0,01 ^c	0,16±0,01 ^d	0,08±0,00 ^e
Luteolin hexoside				0,69±0,04 ^b	0,83±0,04 ^a	0,42±0,02 ^c	0,27±0,01 ^d	0,13±0,01 ^e
Kuersetin-3-a-L-rhamnopyranozit(Quercitrin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447	301	3,25±0,17 ^b	3,75±0,20 ^a	1,97±0,08 ^c	1,45±0,06 ^d	0,59±0,02 ^e
Kuersetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301	179, 151	2,34±0,12 ^b	3,43±0,18 ^a	1,42±0,06 ^c	2,41±0,10 ^b	0,43±0,02 ^d
Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609	301	15,06±0,79 ^a	0,36±0,02 ^c	9,13±0,38 ^c	10,24±0,43 ^b	2,74±0,11 ^d
I3,I18-Biapigenin				3,35±0,18 ^a	2,61±0,14 ^b	2,30±0,10 ^c	2,79±0,12 ^b	0,62±0,03 ^d
Toplam FLV				51,12±2,69^a	39,76±2,09^b	33,85±1,42^c	40,78±1,7^b	9,82±0,41^d
Genel Toplam				85,55±4,36^a	78,27±3,96^b	37,63±1,57^d	45,66±1,90^c	38,41±1,60^d

^{a-d} Aynı satırdaki farklı üstel harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). öd önemli bir fark olmadığını göstermektedir. HP: *Hypericum perforatum* L.

Ayçiçeği yağı ile yapılan ekstraktlarda tespit edilen toplam fenolik bileşik miktarının (37.63 mg/g) önemli bir kısmını (33.85 mg/g) flavonoidler oluşturmuştur. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda flavonoid grubundan en baskın bileşikler hiperozit (9.29 mg/g) ve rutin (9.13 mg/g) olarak tespit edilmiştir. 2.55 mg/g hiperisin ve 0.36 mg/100g protohiperisin tespit edilmiştir. Ayçiçeği yağı ekstraktlarında fenolik asitlere hiç rastlanmamıştır.



Şekil 4.5. Fenolik bileşikler için temel bileşen analiz (PCA) sonuçları

Farklı solventler ile hazırlanan ekstraktların fenolikler bakımından sınıflandırılmasında temel bileşen analizleri (PCA) kullanılmıştır. Fenolik bileşikler için PCA modeli, toplam varyansın % 92,83'ünü açıklayan üç temel bileşenle oluşturulmuştur (Şekil 4.5). PC1% 51.87 ve PC2 toplam varyansın % 40.96'sını oluşturmuştur. Analizlerde üç temel grup oluşmuştur. Grafiğin sol üst tarafı su ile elde edilen ekstraktı içermektedir. Bu grup *trans*-5-O-p-kumarilkuinik asit, *cis*-5-O-p-kumarilkuinik asit, toplam fenolik asit, kriptpklorojenik asit, kaffeik ve

protokateşik asit ile karakterize olmuştur. Grafiğin sağ üst tarafında ise etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktlar grup oluşturmıştır. Bu grup klorojenik asit, neoklorojenik asit, toplam klorojenik asit, kateşin, epikateşin, ferulik asit, *trans*-4-O-p-kumarilkuinik asit, luteolin heksozit ve kuersitrin ile karakterize olmuştur. Grafiğin sağ alt kısmında ise yağ ile elde edilen ekstraktlar toplanmış ve bu grup hiperisit, rutin, hiperisin, kuersetin, izokuersitrin ve toplam flavonidlerce karakterize olmuştur.

4.3. Sarı Kantaron Bitkisinin Antioksidan Kapasite Bulguları

Sarı kantaron bitkisinden elde edilen ekstraktlardaki antioksidan kapasite potansiyeli DPPH ve ABTS yöntemleriyle saptanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.2’de verilmiştir. Sarı kantaron bitkisindeki antioksidan kapasitenin DPPH yöntemiyle yapılan analiz sonuçlarının 16.81-40.77 µm Trolox/g arasında değiştiği saptanmıştır. Farklı çözücüler kullanılarak ekstraktların hazırlanması antioksidan kapasite potansiyelini istatistiksel yönden önemli ($p<0.05$) düzeyde farklılığa yol açmıştır. DPPH fenolik bileşiklerin radikal süpürücü faaliyetlerinin araştırılması için yararlı reaktiftir (Lebeau ve ark., 2000). ABTS yöntemindeki elde edilen antioksidan kapasite sonuçları ise 22.46-53.61 µm Trolox /g aralığında saptanmıştır.

Tablo 4.2. Sarı kantaron bitkisinin antioksidan kapasite analiz sonuçları (µm Trolox /g)

	HP-MetOH Ekstraktı	HP-EtOH Ekstraktı	HP-AY Ekstraktı	HP-ZY Ekstaktı	HP-Su(12 dk) Ekstaktı
DPPH					
(µm Trolox /g)	40,77±2,18 ^a	37,13±1,98 ^b	16,81±0,78 ^c	20,83±0,95 ^d	24,21±0,80 ^c
ABTS					
(µm Trolox /g)	53,61±2,84 ^a	48,87±2,58 ^b	22,46±1,02 ^c	27,68±1,24 ^d	30,97±1,04 ^c

^{a-d} Aynı satırdaki farklı üstel harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir ($p<0.05$). HP: *Hypericum Perfaratum* L.

Tablo 4.2.’de görüldüğü üzere en yüksek içerik metanol ekstraktlarında ve en düşük içerik ise ayçiçek yağı ekstraktlarında saptanmıştır. Altun ve ark. (2013) ülkemizde yetiştirilen *Hypericum perforatum* L. bitkisinin etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan etkilerinin kolinesteraz ve tirozinaz inhibasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre metanol ekstraktının en yüksek etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. Orhan ve Kartal (2015) yaptıkları çalışmada, Eskişehir ilinde yetişen *H.*

perforatum'un topraküstü kısımlarından elde edilen metanol ekstraktları ile hiperozit ve hiperforin'in antioksidan aktivitesini, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü, metal-şelasyon ve demir-indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemleriyle, değerlendirmişlerdir. Erdoğan ve ark. DPPH yöntemiyle yapılan analiz sonuçlarında *H. Perforatum* L. antioksidan aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Kalogeropoulos ve ark. (2010) Kuzey Yunanistan'da *Hypericum perforatum* bitkisinin metanolik ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini araştırdıkları çalışmada antioksidan potansiyeli DPPH yöntemi ile 890.2 mg Trolox/g olarak saptamıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada *Hypericum perforatum* L.'nin Sırbistan'da yetişen yedi *hypericum* türünün etanol ekstraktlarında antioksidan potansiyellerini FRAP (3,7 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mg}$), DPPH (20.5 EC50 $\mu\text{g/mL}$) ve ABTS (1.02 mmolTrolox/g) yöntemleriyle saptamışlardır (Zdunic ve ark., 2017). Söz konusu çalışmada sarı kantaron bitkisinin etanol ekstraktlarında DPPH ve ABTS yöntemleriyle elde edilen antioksidan aktivite analiz sonuçları çalışmamızda elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir. *İnvivo* ve *invitro* olarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar sarı kantaronun etanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin bitkinin yapısında bulunan rutin, hiperosid, quercitrin ve quercetinin bileşikleri ile orantılı değiştiğini saptamışlardır (Zou ve ark., 2004). Literatürde yer alan çeşitli çalışmalarda sarı kantaronun yüksek antioksidan aktivitesinin sebebi yapısındaki fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Sagratini ve ark., 2008, Conforti ve ark., 2005, Radulovic ve ark., 2007).

4.4. Sarı Kantaron Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivite Potansiyeli

Sarı kantaron bitkisinin metanol, etanol, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su ile hazırlanan ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizlerinde *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda *Hypericum perforatum* L. ekstraktlarında saptanan antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları Tablo 4.3'de verilmiştir.

Ekstraktlar	Zon Çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i> **	<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **
HP-MetOH Ekstraktı	13.85±0.11	13.52±0.44	13.20±0.54
HP-EtOH Ekstraktı	12.50±0.39	14.08±0.37	14.97±0.44
HP-Su(12 dk) Ekstraktı	10.23±0.59	9.76±0.26	9.22±0.46
HP-AY Ekstraktı	-	-	-
HP-ZY Ekstaktı	-	-	-

Tablo 4.3. Sarı kantaron bitkisinin antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları.

(-) : Zon oluşumu gözlemlenmedi, *gram (+)pozitif bakteriler, **gram(-) negatif bakteriler. HP: Hypericum Perforatum L.

Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları incelendiğinde sarı kantaron bitkisinin ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkisi gözlemlenmezken, metanol, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktları antimikrobiyal etki göstermiştir. Test edilen mikroorganizmalara karşı en düşük antimikrobiyal aktivite su ile hazırlanan bitki ekstraktında gözlemlenmiştir. Mazandarani ve ark. (2007) disk difüzyon yöntemi ile *H. perforatum* ve *H. androsaemum* türlerinin antibakteriyal aktivitesini araştırdıkları çalışmada sulu ekstraktlarda tüm test mikroorganizmalarına karşı zayıf antibakteriyal etki gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Saddiç ve ark. (2010), *Hypericum Perforatum* L.'nin antibakteriyel aktivitesinin araştırdığı derleme çalışmasında kantaron bitkisinin Gram (+) bakterilere karşı Gram (-) bakterilere kıyasla daha yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve alkollü ekstraktların (metanolik/etanolik) sulu ekstraktlardan daha güçlü aktiviteye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Metanol ve etanol ekstraktları ise mikroorganizmalar üzerinde birbirine yakın inhibisyon etki göstermiştir. Metanol ile hazırlanan ekstrakt test edilen tüm mikroorganizmalar üzerinde benzer antimikrobiyal etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Radulovic ve ark. (2007) Balkanlarda yetişen dokuz *Hypericum* türünün (*H. Barbatum*, *H. hirsutum* L., *H. linarioides* bosse, *H. maculatum* crantz, *H. olympicum* L., *H. perforatum* L., *H. richeri*, *H. rumeliacum* ve *H. tetrapterum*) metanol ekstraktlarının disk difüzyon yöntemi ile

antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar ve sonuç olarak *Escherichia coli* ye göre *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* zerinde hemen hemen aynı antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar Radulovic ve ark. (2007)'nın araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Etanol ile hazırlanan ektstraktın mikroorganizmalara karşı inhibisyon etkisinde ise belirgin bir fark olmamasına rağmen, etanol ekstraktı *Escherichia coli* ye göre *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* zerinde daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Sarı kantaron bitkisinin metanol ekstraktlarının oluşturduğu inhibasyon zonlarının çap ölçüm sonuçları ve etkili oldukları mikroorganizmalar sırasıyla; 13,85 mm zon çapı ile *Escherichia coli*, 13,52 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* ve 13,20 mm zon çapı ile *Pseudomonasa euroginasa* 'dır. Brezilya'nın güneyinde yetişen altı *Hypericum* türünün metanolik özütlerinin antimikrobiyal aktivitesinin Agnol ve arkadaşları (2003) tarafından araştırıldığı bir çalışmada en aktif antimikrobiyal etkinin *Staphylococcus aureus* zerinde gözlemlendiği bildirilmiştir. Conforti ve ark. (2005) İtalya'da yetişen metanol ekstraktının antibakteriyel aktivitesini araştırdıkları bir çalışmada *Hypericum perforatum* L'un ilk sırada *Staphylococcus aureus* yer almak üzere Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Meral ve Karabay (2002) *Hypericum perforatum* L'un metanol ekstraktlarının Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATTC 29213, *Staphylococcus aureus* 6538/P, *Staphylococcus epidermis* ATTC 12228 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve Gram negatif (*Pseudomonasa euroginasa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 29998 ve *Escherichia coli* ATCC 25922) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerini inceledikleri bir araştırmada metanol ekstraktlarının tüm test mikorrganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen veriler literatürde belirtilen bu veriler ile uyumludur.

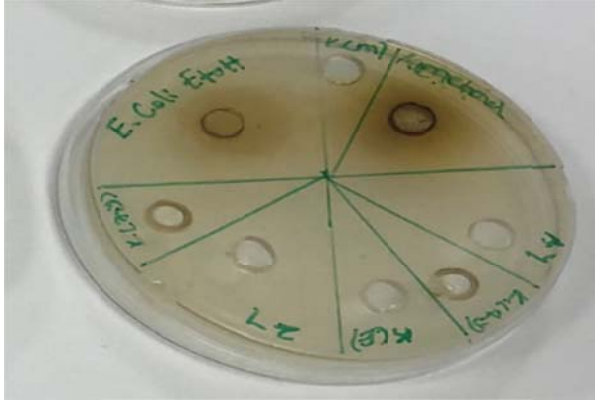
Etanol ekstraktlarının oluşturduğu inhibasyon zonlarının çap ölçüm sonuçları ve etkili oldukları mikroorganizmalar sırasıyla; 12,50 mm zon çapı ile *Escherichia coli*, 14,08 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* ve 14,97 mm zon çapı ile *Pseudomonasa euroginasa* 'dır. Duman ve Sevimli (2008) *Hypericum perforatum* L., *Hypericum scabrum* L. ve *Hypericum kotschyanum*'dan elde edilen kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerini 10 bakteri türü (*Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus*

ATCC 6538, Staphylococcus epidermidis ATCC 12228, Streptococcus fecal/s-klinik izolat, Streptococcus mutans NCTC 10449, Streptococcus pneumoniae ATCC 10015, Streptococcus salivarius RSHE 606, Escherichia coli ATCC 29998, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Klebsiella pneumoniae-kWnlk izolat) üzerindeki etkisini disk difüzyon metoduyla araştırmışlardır. Araştırma sonucunda etanol özütlerinin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir.

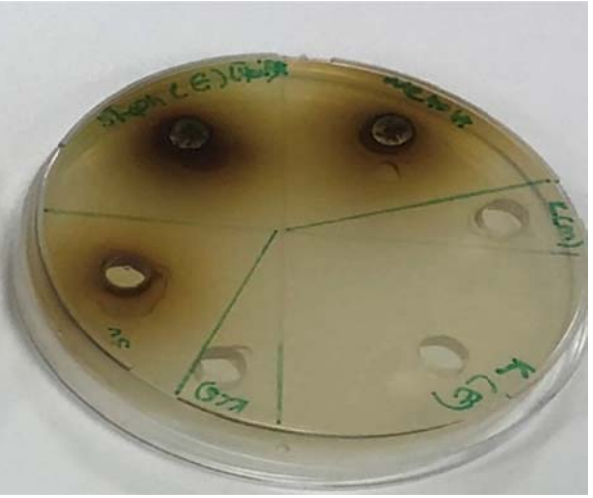
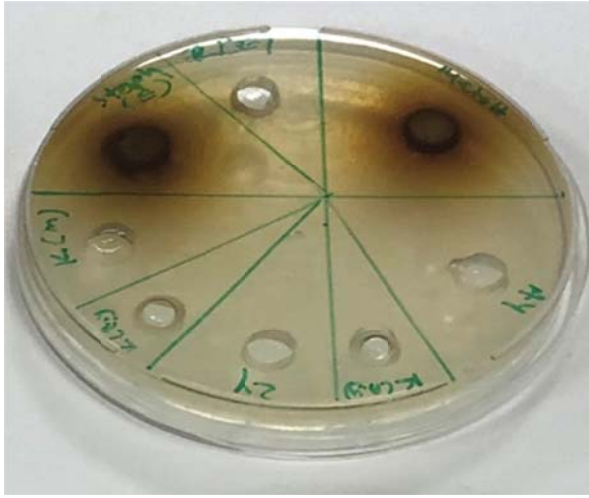
Su ekstraktlarının oluşturduğu inhibasyon zonlarının çap ölçüm sonuçları ve etkili oldukları mikroorganizmalar sırasıyla; 10,23 mm zon çapı ile *Escherichia coli*, 9,26 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* ve 9,22 mm zon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa* 'dır.

Etanol ekstraktlarının 14.08 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* ve 14.97 mm zon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa* 'da tüm örnekler arasında en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiği gözlemlenmiştir. Dadgar ve ark. (2006) sarı kantaron bitkisinin etanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* üzerinde su ekstraktından daha fazla antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Susamış (2019) yüksek lisans tez çalışmasında *H. perforatum* uçucu yağının *S. aureus* üzerinde iyi bir antimikrobiyal etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Gül (2019), yüksek lisans tez çalışmasında *Hypericum perforatum* L. bitki özütlerinin antimikrobiyal etkinlik testlerini kuyu difüzyon yöntemi ile araştırmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre *Hypericum perforatum* L.'nin antibakteriyel özellik gösterdiğini ve bu bitki özütünden elde edilen el kremlerinin bakteri oluşumunu önlediğini tespit etmişlerdir.

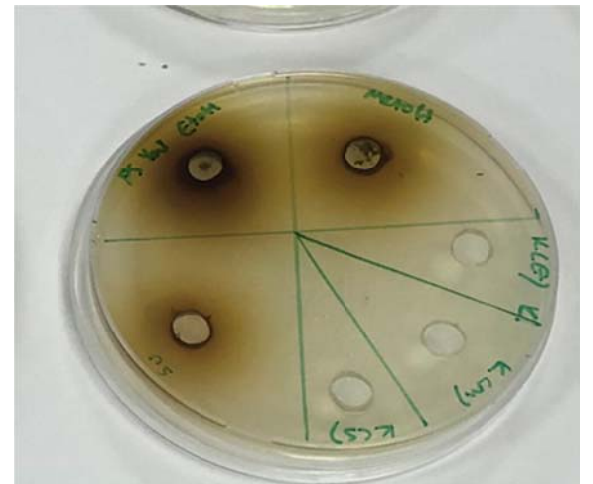
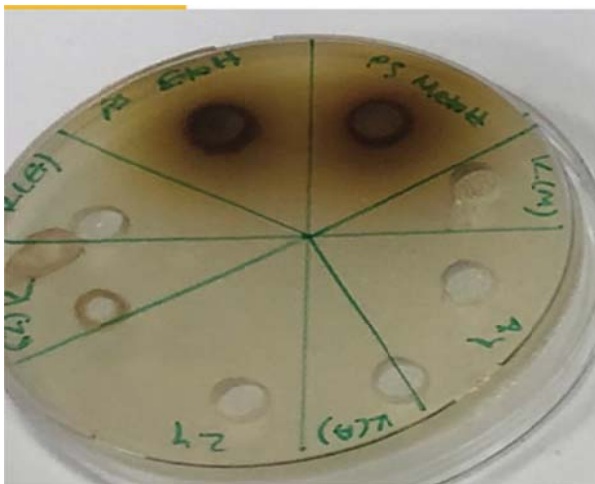
Escherichia coli üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktivite metanol ekstraktında (13,85 mm) bulunurken, bu değeri sırasıyla etanol ekstraktı (12,50 mm) ve su ekstraktı (10,23 mm) takip etmiştir (Tablo 4.5). Şimşek (2013) *H. perforatum* L. metanol ekstraktını 2 farklı miktarda (10µl-50µl) disk difüzyon yöntemi ile *E. coli* ATCC-8739 bakterisi üzerinde antibakteriyel aktivitesini incelenmiş ve 10 µl olarak hazırlanan disklerde *H. perforatum* L.'un 10mm çapında zon oluşturduğunu, 50 µl olarak hazırlanan disklerde, *H. perforatum* L.'un 11 mm çapında zon oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Bitki özütlerine ait bakterilerin zon çaplarının görüntüleri ise Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8' de verilmiştir.



Şekil 4.6. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının *Escherichia coli* mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri.



Şekil 4.7. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri



Şekil 4.8. Sarı kantaron bitkisinin ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon çapları görüntüleri

5. SONUÇLAR

Çalışmamızda ülkemizde yetişen sarı kantaron (*Hypericum Perforatum* L.) bitkisinin aynı süre ve sıcaklıklar uygulanarak zeytinyağı, ayçiçek yağı, metanol, etanol ve su ile ekstraksiyonları hazırlanarak fenolik bileşik içerikleri LC-DAD-MS/MS ile karakterize edilmiş, antioksidan kapasite potansiyeli, antimikrobiyal etkisi ve toplam fenolik madde miktarı araştırılmıştır.

- Sarı kantaron bitkisinin toplam fenolik madde içeriği, en yüksek miktarda metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır. Bunu miktarsal olarak etanol ile elde edilen ekstraktlar izlemiş olup, en düşük içerik ise su ile elde edilen ekstraktlarda saptanmıştır.
- Fenolik maddelerin ekstraksiyonu anlamında metanol ve etanolün en iyi sonuçları verdiği, naftodiantronların elde edilmesi amacıyla yağ ve yağ bazlı ekstraksiyonların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.
- Sarı kantaron bitkisinden LC-DAD-ESI-MS/MS cihazı yardımıyla 22 adet fenolik bileşik tanımlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlarda; klorojenik asit grubu bileşiklerden neoklorojenik asit, flavan-3-ol grubu bileşiklerden epikateşin, fenolik asit grubu bileşiklerden kaffeik asit, naftodiantronlar grubu bileşiklerden hiperisin ve flavonoid grubu bileşiklerden hiperosid baskın bileşikler olarak saptanmıştır.
- Fenolik bileşiklerin toplam miktarı metanol ile hazırlanan ekstraktlarda en yüksek bulunmuş ve bunu zeytinyağı, etanol, su ve ayçiçek yağı ile elde edilen ekstraktlar izlemiştir.
- Su ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarda klorojenik asitlerin, etanol ve metanol ile hazırlanan ekstraktlarda flavan-3-ollerin, su ile hazırlanan ekstraktlarda fenolik asitlerin, zeytin ve ayçiçek yağı ile hazırlanan ekstraktlarda ise naftodiantronların baskın olduğu saptanmıştır. Genel olarak çalışmamızda metanol ve etanol ekstraktlarında tanımlanan bileşik sayısının ve miktarının ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su ekstraktlarına göre daha fazla olduğu görülmüştür.
- Yapılan analizler sonucunda sarı kantaron bitkisindeki antioksidan kapasitenin DPPH yöntemiyle yapılan analiz sonuçlarının 16.81-40.77 µm Trolox/g arasında değiştiği saptanmıştır. ABTS yöntemindeki elde edilen antioksidan kapasite

sonuçları ise 22.46-53.61 µm Trolox /g aralığında saptanmıştır. Antioksidan kapasite analiz sonuçlarında en yüksek içerik metanol ekstraktlarında ve en düşük içerik ise ayçiçek yağı ekstraktlarında saptanmıştır.

- Metanol ve etanol ekstraktlarında DPPH VE ABTS yöntemleriyle antioksidan potansiyel diğer ekstraktlara oranla daha yüksek saptanmış olup fenolik bileşiklerde elde edilen sonuçlarla benzerlik görülmüştür.
- Antimikrobiyal aktiviteler agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları incelendiğinde sarı kantaron bitkisinin ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkisi gözlemlenmezken, metanol, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktları antimikrobiyal etki göstermiştir. Test edilen mikroorganizmalara karşı en düşük antimikrobiyal aktivite su ile hazırlanan bitki ekstraktında gözlemlenmiştir.
- Tüm sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; etanol ve metanol ile hazırlanan ekstraktlarda tanımlanan fenolik bileşik sayısının ve miktarının daha fazla olduğu, antioksidan potansiyelin diğer ekstraktlara oranla daha yüksek saptandığı, bütün test mikroorganizmaları üzerinde birbirine yakın ve en fazla inhibisyon etkisinin gözlemlendiği sonucuna varılmıştır.
- Gerek içerdiği zengin fenolik bileşikler ve antioksidan maddeler açısından gerekse gösterdiği antimikrobiyal aktiviteler açısından kıymetli olan sarı kantaron bitkisinin insan sağlığı ve beslenmesinde gıda takviyesi olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu yapılan analizler sonucunda anlaşılmıştır. Sarı kantaron bitkisini geleneksel alternatif tıpta tedavi edici olarak kullanılabilmek için yapılan çalışmalar artırılmalıdır. Gıdalarda oksidasyonu önlemede alternatif olarak önemli yer tutan fenolik bileşiklerin sarı kantaron bitkisinde bol miktarda bulunması, bu bitkinin gıda üretimlerinde koruyucu olarak kullanılabilmesi için değerlendirilmelidir. Ülkemizde doğal olarak yetişen sarı kantaron bitkisinin yapısındaki yararlı bileşikler açısından gıda sektöründe hak ettiği yeri alabilmesi için mutlaka araştırılması ve içerdiği zengin bileşiklerin verimli bir şekilde orta çıkarılması sağlığımız için önemlidir.

Sarı kantaron bitkisinden toplam fenolik madde ve antioksidan bakımından zengin ekstrakt elde edilmesi istendiğinde; çözücü olarak metanol ve etanol, fenolik asitler bakımından zengin ekstrakt elde edilmesi istendiğinde çözücü olarak su, naftodiantronlar bakımından zengin ekstrakt elde edilmesi istendiğinde çözücü olarak ayçiçek yağı ve zeytinyağı gibi yağ bazlı solventler kullanılması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abascal, K., Herbalist, J. D. ve Yarnell, E. (2002). Herbs and Drug Resistance, Part: 1-Herbs and Microbial Resistants To Antibiotics, Potential of Botanical In Drug-Resistant Microbes. *Alternative and Complementary Therapies*, 1, 237-241.
- Abdelhadi, M., Meullemiestre, A., Gelicus, A., Hassani, A. ve Rezzoug, S. (2015). Intensification of Hypericum perforatum L. oil isolation by solvent-free microwave extraction. *Chemical engineering research and design* 93, 621–631.
- Agnol, R.D., Ferraz, A., Bernardi, A. P., Albring, D., Nör, Sarmiento, C., L., Lamb, L., Hass, M., Poser, G. ve Schapoval, E. S. (2003). Antimicrobial activity of some Hypericum species. *Phytomedicine*, 10, 511–516.
- Akal, G. (2019). Siyah Havuç Posasından Antosiyanin Ekstraksiyonu, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi.
- Almeida, J. S., Benvegnú, D. M., Boufleur, N., Reckziegel, P., Barcelos, R. C. S., Coradini, K., ... Beck, R. C. R. (2011). Hydrogels containing rutin intended for cutaneous administration: efficacy in wound healing in rats. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 38(7), 792–799.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M.H. ve Alpaslan, C. (2015). Effect of St. John's Wort (Hypericum Perforatum) on Wound Healing. *Archives Medical Review Journal*, 24(4), 578-591.
- Altun, M. L., Sever Y.B., Orhan, İ.E. ve Çitoglu, G.S. (2013). Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of Hypericum perforatum L. (St. John's wort). *Industrial Crops and Products*, 43, 87– 92.
- Atalay, D. ve Erge, H.S. (2018). Gıda Takviyeleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Food and Health*, 4(2), 98-111.

- Avato, P., Raffo, F., Guglielmi, G., Vitali C. ve Rasota, A. (2004). Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. *Phytoterapy Research*, 18, 230-232.
- Avşar, G., Yüksel, D., Emen, F., M., Demirdöğen, R.,E., Yeşilkaynak, T. Ve Kahrıman, L. (2018). Supercritical Carbondioxide Extraction of Lavandula Officinalis (Lavender) and Hypericum Perforatum (Centaury) Plants Grown in Mersin Region: Investigation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts and Usage as Cosmetic Preservatives in Creams. *JOTCSA (Journal Of The Turkish Chemical Society)*, 5,3, 1215-1220.
- Barba, F.J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A.S. ve Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci Technol*, 49:96-109.
- Bayram, E., Arabacı, O. ve Çakmak, H.E., (2002). Bornova ekolojik koşullarında Hypericum Perforatum L. Klonlarının Agronomik Özelliklerinin ve Hypericin Oranlarının Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39,3, 41-48.
- Baytop, T. (1988). Farmakognazi ders kitabı İst.Ünv.Yay.No:2003. Ecz.Fak.No:19 İstanbul.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Nobel Tıp Yayınevi. 2. Baskı. İstanbul, s. 256.
- Becker, L., Zaiter, A., Petit, J., Zimmer, D., Karam, M.C., Baudelaire, E., Scher, J. ve Dicko, A. (2016). Improvement of antioxidant activity and polyphenol content of Hypericum perforatum and Achillea millefolium powders using successive grinding and sieving. *Industrial Crops and Products*, 87, 116-123.
- Benli, M. ve Yiğit, N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (Thymus vulgaris) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3, 8, 1-8.
- Bosiljkov, T., Dujmic, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brncic, M., Zlatic, E., Radojic Redovnikovic, I. ve Jokic, S. (2017). Natural deep eutectic solvents and

- ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing*, 102, 195-203.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. ve Berset, C. (1995). Antioxidative Activity of Phenolic Composition of Commercial Extracts of Sage and Rosemary. *LWT Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Brolis, M., Gabetta, B., Fuzzati, N., Pace, R., Panzeri, F. ve Peterlongo, F. (1998). Identification by high-performance liquid chromatography-diode array detection mass spectrometry and quantification by high performance liquid chromatography UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. *Journal of Chromatography A*, 825, 1, 9-16.
- Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M.M., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Vittori, S., Lucarini, D. ve Maggi, F. (2007). Antimicrobial Activity of Seven *Hypericum* Entities from Central Italy. *Planta Med*, 73, 564-566.
- Čellárová, E., Kimáková, K., Halušková, J., ve Daxnerová, Z. (1994). The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica*, 14(3), 267–274.
- Chen, W.C., Liou, S.S., Tzeng, T.F., Lee, S.L. ve Liu, I.M. (2013). Effect of Topical Application of Chlorogenic Acid on Excision Wound Healing in Rats. *Planta Medica*, 79(08), 616–621.
- Chimshirova, R., Karsheva, M., Diankov, S. ve Hinkov, I. (2019). Extraction Of Valuable Compounds From Bulgarian St. John's Wort (*Hypericum Perforatum* L.). Antioxidant Capacity And Total Polyphenolic Content. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 54, 5, 952-961.
- Conceição Luis, F.R., Ferreres, F., Tavares Rui M. ve Dias Alberto C.P. (2006). Induction of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. cells by *Colletotrichum gloeosporioides* elicitation. *Phytochemistry* 67, 149–155.

- Conforti, F., Statti, G. A., Tundis, B., Bianchi, A., Agrimonti, C., Sacchetti, G., Andreotti, E., Menichini, F. ve Poli, F. (2005). Comparative chemical composition and variability of biological activity of methanolic extracts from *Hypericum perforatum* L. *Natural Product Research*, 19(3), 295,303.
- Çelen, G., Özkan, S., ve Ayhan, F., (2008). The phenolic compounds from *Hypericum perforatum* and their antimicrobial activities. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 36,4, 339-345.
- Çırak, C., Radusiene J., Karabük, B. ve Janulis, V. (2007). Variation of bioactive substances and morphological traits in *Hypericum perforatum* populations from Northern Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 403-409.
- Çırak, C., ve Kurt, D., (2014). Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri ve Kullanım Alanları, *Anadolu, J. of AARI* 24, 38 – 52.
- Dadgar, T., Asmar, M., Saifi, A., Mazandarani, M., Bayat, H., Moradi, A., Bazueri, M. ve Ghaemi, E. (2006). Antibacterial activity of certain medicinal plants against methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5, 861–866.
- Deveci, A. (2014). *Hypericum Perforatum* L. (Sarı Kantaron) (Hypericaceae) Bitkisinin Morfolojik, Kimyasal (Uçucu Yağ Ve Flavonoid) Varyasyonlarının Araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*.
- Deveci, H., Nur, G., Kırpık, M., Harmankaya, A. ve Yıldız, Y. (2016). Fenolik Bileşik İçeren Bitkisel Antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9, 26-32.
- Doğan, N. M., Cansaran, A., Acar, G. ve Öztekin, M. (2010). Antimicrobial Activity of Extracts of Some Plants From Amasya (Turkey). *Advanced Biomedical Research*, 1, 86-90.

- Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Noble, R.C. ve Surai, P. (1995). Evaluation in vitro plant essential oils as natural antioxidants. *Journal of Essential Oil Research*, 7,6, 645-651.
- Duman, R. veSevimli, A. (2008). H. perforatum L.,H. scabrum L. ve H. kotschyanum Boiss. Ekstrelerinin Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi* 2,31, 27-33.
- Eloff, J. (1998). A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Medica*, 64(08), 711–713.
- El-Sherbiny, D. A., Khalifa, A. E., Attia, A. S. ve Eldenshary, E. S., (2003). Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brainoxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 76,525-533.
- Ernst, E., (2003) ed. Hypericum:The Genus Hypericum. CRC Press.
- Escribano-Bailon, M.T. ve Santos-Buelga, C. (2003). Polyphenols extraction from foods. In: Methods in Polyphenol Analysis (edited by C. Santos-Buelga veWilliamson G). Pp. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 1–16.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. (2013). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *EÜFBED-Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6,2, 233-265.
- Filippini, R., Piovan, A., Borsarini, A. ve Caniato, R. (2010). Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of Hypericum perforatum. *Fitoterapia* 81(2), 115–119.
- Galanakis, C.M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food Bioprod Process*, 91(4), 575-579.

- Goli, A.H., Barzegar, M. ve Sahari, M.A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chem*, 92(3), 521-525.
- Gopalakrishnan, A., Ram, M., Kumawat, S., Tvean, S. ve Kumar, D. (2016). Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by increasing levels of VEGF ve TGF- β 1. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54, 187–195.
- Göktaş, E. ve Gıdık, B.(2019). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları, *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2,1,136-142.
- Gül, Ç. (2019). Mersin Bölgesinde Yetişen *Hypericum Perforatum* L.(Kantaron), *Urtica Dioica* L. (Isırgan Otu) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) Bitkilerinden Süperkritik Ekstraksiyon Yöntemiyle Elde Edilen Özütlerin Antioksidan Ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi Fen Bilimleri Enstitüsü Mersin Üniversitesi, 79s.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, ve Baser Khc, (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh University Press*, 92-94.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç., M. T., (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*.
- Haeberlain, H., Tschiersch,Kp., Stock, S., ve Hoelzl, J. (1992). St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.): Part I. Identification of an additional naphthodianthrone. *Pharmazeutische Zeitung Wissenschaft*, 137, 169-74.
- Hosni, K., Msaâda, K., Taârit, M. B., Hammami, M., ve Marzouk, B. (2010). Bioactive components of three *Hypericum* species from Tunisia: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 31(1), 158–163.

- Joana Gil-Chávez, G., Villa, J. A., Fernando Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E. M., ve González-Aguilar, G. A. (2013). Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 5–23.
- Jürgenliemk, G. ve Nahrstedt, A. (2002). Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*, *Planta Medica*, 68(01), 88-91.
- Kalogeropoulos, N., Yannakopoulou, K., Gioxari, A., Chiou, A., ve Makris, D. P. (2010). Polyphenol characterization and encapsulation in β -cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 882–889.
- Kang, J.W. ve Lee, S.M. (2014). Protective effects of chlorogenic acid against experimental reflux esophagitis in rats. *Biomolecules ve Therapeutics*, 22(5), 420–425.
- Kasper, S., ve Dienel, A. (2002). Cluster Analysis Of Symptoms During Antidepressant Treatment With *Hypericum Extract* In Mildly To Moderately Depressed Out-Patients. A Metaanalysis Of Data From Three Randomized, Placebocontrolled Trials. *Psychopharmacology* 164, 301-308.
- Kelebek, H. (2016). LC-DAD–ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227-238.
- Kelebek H, Selli S. ve Kola O. (2017). Quantitative determination of phenolic compounds using LC-DAD-ESI-MS/MS in cv. Ayvalik olive oils as affected by harvest time. *Food Measure* 11, 226–235.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbaş, A. ve Cabaroğlu, T. (2009). HPLC Determination Of Organic Acids, Sugars, Phenolic Compositions And Antioxidant Capacity Of Orange Juice

And Orange Wine Made From A Turkish Cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91, 187-192.

Kelebek, H., Sevindik, O. ve Selli, S. (2019). LC-DAD-ESI-MS/MS-based phenolic profiling of St John's Wort Teas and their antioxidant activity: Eliciting infusion induced changes. *Journal of Liquid Chromatography veRelated Technologies*, 1–7.

Kırbağ, S. ve Bağcı, E. (2000). Picea abies (L.) Karst. ve Picea orientalis (L.) Link uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma, *Journal of Qafqaz University*, 3,1, 183-190.

Klemow Km, Bartlow A., Crawford J., Kocher N., Shah J.ve Ritsick M. (2010). Medical attributes of St. John's Wort (Hypericum perforatum). In Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects, 2nd ed (Eds IFF Benzie, S Wachtel-Galor S), Boca Raton (FL), CRC Press, 211-238.

Konyalıoğlu, S., Elgin Meral, G.,ve Kılınç, E. (2002).Üç Hypericum Türünün Nitrik Oksite Maruz Bırakılmış Cıvıv Eritrositine Ait Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. *Türkiye Klinikleri J Med Res*, 20,1, 32-6.

Koruyucu, N. (2016). Adana İline Bağlı Pozantı İlçesinin Yayla Turizmi Açısından İncelenmesi, Lisans Bitirme Tezi, Fen Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 55 s.

Lebeau, J., Furman, C., Bernier, J.-L., Duriez, P., Teissier, E., ve Cotellet, N. (2000). Antioxidant properties of di-tert –butylhydroxylated flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(9), 900– 912.

Lecrubier, Y., Clerc, G., Didi, R., ve Kieser, M. (2002). Efficacy of St. John's Wort Extract WS 5570 in Major Depression: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *American Journal of Psychiatry*, 159(8), 1361–1366.

- Mazandarani, M., Yassaghi, S., Rezaei, M.B., Mansourian, A.R. ve Ghaemi, E.O. (2007). Ethnobotany and Antibacterial Activities of Two Endemic Species of *Hypericum* in North-East of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6, 354-358.
- Marrelli, M., Conforti, F., Toniolo, C., Nicoletti, M., Statti, G. ve Menichini, F. (2014). *Hypericum perforatum*: Habitatın kimyasal bileşim, foto-kaynaklı sitotoksosite ve antiradikal aktivite üzerindeki etkileri. *Farmasötik Biyoloji*, 52 (7), 909–918.
- Maslennikov, P. V., Chupakhina, G. N., ve Skrypnik, L. N. (2013). The content of phenolic compounds in medicinal plants of a botanical garden (Kaliningrad oblast). *Biology Bulletin*, 41(2), 133–138.
- Meral, G.E. ve Karabay, N. Ü. (2002). In vitro antibacterial activities of three *Hypericum* speicies from west Anatolia. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, Special Issue, 6-10.
- Meruelo, D. Lavie, G. ve Lavie D. (1988). Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Medical Sciences*, 85, 5230-5234.
- Milosevic, T. ve Solujic, S. (2006). Antimicrobial Activity Of The *Hypericum Perforatum* L. *Plant Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia*. 25, 2, 127–130.
- Mir M.Y., Kamili A.N., Hassan Q.P., Rafi S., Parray J.A. ve Jan S. (2019). In vitro Regeneration and Free Radical Scavenging Assay of *Hypericum perforatum* L. *National Academy Science Letters*, 42, 161–167.
- Mobin, M., Wu, C.-H., Tewari, R. K., ve Paek, K.-Y. (2014). Studies on the glyphosate-induced amino acid starvation and addition of precursors on caffeic acid accumulation and profiles in adventitious roots of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(1), 291–301.

- Morales, M.A., ve Lozoya, X. (1994). Calcium-antagonist effects of quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Med*, 60, 313-317.
- Morteza-Semnani, K., Mahmoudi, M., Saeedi, M. ve Javanmardi, A. (2003). Analgesic activity of Iranian *Hypericum perforatum*. *Toxicology Letters*, 144, 88.
- Naczki, M. ve Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95–111.
- Napoli E., Siracusa L., Ruberto G., Carrubba A., Lazzara S., Speciale A., Cimino F., Saija A. ve Cristani M. (2018). Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species, A comparative study. *Phytochemistry*, 152, 162-173.
- Orhan, E. I. ve Kartal, M. (2015). LC-DAD-MS-Assisted Quantification of Marker Compounds in *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) and its Antioxidant Activity. *Turk J Pharm Sci* 12(3), 279-286.
- Özkan, E., E., Çelik, Ö., B. Ve Mat A. (2019). Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from Anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *Journal of Research in Pharmacy*, 23,1, 114-119.
- Öztürk, I., Çalışkan, O., Tornuk, F., Özcan, N., Yalcin, H., Baslar, M., ve Sagdic, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 144–151.
- Öztürk, N., Tuncel, M. ve Erkara Potoğlu, İ. (2009). Phenolic compounds and antioxidant activities of some *Hypericum* species: A comparative study with *H. Perforatum*. *Pharmaceutical Biology*, 47(2), 120–127.
- Parzhanova, A.B. Petkova, N.Tr., Ivanov, I. G. ve Ivanova, S. D., (2018). Evaluation of Biologically Active Substance and Antioxidant Potential of Medicinal Plants Extracts

- for Food and Cosmetic Purposes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(7), 1804-1809.
- Pulok, K., Mukherjee, G.S., Saritha, B. ve Suresh, B. (2002) Antimicrobial Potential of Two Different Hypericum Species Available in India. *Phytother. Res.* 16, 692–695.
- Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G. Melcerovic, A. S., Spiteller, M. ve Asakawa, Y. (2007). Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine Hypericum species from the Balkans. *Food Chemistry* 103, 15–21.
- Radusienea, J., Judzientiene, A. ve Bernotiene, G. (2005). Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 113–124.
- Raziq, N., Muhammad, N., , Chishti, K.A., Saeed, M., Rahman, S. ve Khan, H. (2011). Correlation of the antioxidant capacity with the phenolic contents of *Hypericum monogynum* and *Hypericum perforatum*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(16), 1872-1876.
- Repcak, M. ve Martonfi, P. (1997). The Localization of Secondary Substances in *Hypericum perforatum* Flower. *Biologia, Bratislava*, 52, 91-94.
- Robards, K. (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1000, 657–691.
- Saafi, E.B., Arem, A.E., Issaoui, M., Hammami, M. ve Achour, L. (2009). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Four Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruit Varieties Grown in Tunisia. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2314–2319.
- Saddique, Z, Naeem I, ve Maimoona A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 511-21.

- Sagrati, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Ozturk, N., Ozturk, Y. ve Maggi, F.(2008). Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from Central Italy. *Fitoterapia*, 79, 210–213.
- Sánchez-Muniz, F.J., Olivero-David, R., Triki, M., Salcedo, L., González-Muñoz, M. J., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero F. ve Benedi, J. (2012). Antioxidant activity of *Hypericum perforatum* L. extract in enriched n-3 PUFA pork meat systems during chilled storage. *Food Research International*, 8,2, 909-915.
- Sarıkürkçü C.,Locatelli, M., Tartaglia, A., Ferrone, V., Juszczak, A. M., Özer, M. S., Tepe B. ve Tomczyk, M. (2020). Enzymeand Biological Activities of the Water Extracts from the Plants *Aesculushippocastanum*, *Oleaeuropaea* and *Hypericum perforatum* That Are Used as Folk Remedies in Turkey. *Molecules*, 25(5), 1202.
- Saroglou, V., Marin, P. D., Rancic, A., Veljic, M. ve Skaltsa, H.(2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia, *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 146-152.
- Seyrekoğlu, F. ve Temiz, H. (2020). Effect of Extraction Conditions on the Phenolic Content and DPPH Radical Scavenging Activity of *Hypericum perforatum* L. *Turkish Journal of Agriculture – Food Scienceand Technology*, 8(1), 226-229.
- Schwob I., Bessiere J.-M., ve Viano J. (2002).Composition of the essential oils of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. *C R Biologies* 325, 781-785.
- Sharpe, E., Hua, F., Schuckers, S., Andreescu, S. ve Bradley, R. (2017). Effects of brewing conditions on the antioxidant capacity of twenty-four commercial green tea varieties. *Food Chemistry*, 192, 380-387.
- Silva, A. B., Ferreres, F., Malva, J. O. ve Dias, A. C. P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *H. Perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, 90, 157–167.

- Silva, B. A., Malva, J. O., ve Dias, A. C. P. (2008). St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts and isolated phenolic compounds are effective antioxidants in several in vitro models of oxidative stress. *Food Chemistry*, 110(3), 611–619.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A. R., Simonic, M., ve Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191–198.
- Solomon, D., J. Adams, ve N. Graves. (2013). Economic evaluation of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) for the treatment of mild to moderate depression. *Journal of Affective Disorders* 148, 228-234.
- Sparenberg, B., Demisch J, ve Holzl, J. (1993). Untersuchungen über die antidepressiven Wirkstoffe von Johanniskraut. *Pharm Ztg Wiss*, 138, 239-54.
- Sun, P., Kang, T., Xing, H., Zhang, Z., Yang, Y., Zhang, J., Pare, P., W. ve Li, M. (2018). Phytochemical Changes in Aerial Parts of *Hypericum perforatum* at Different Harvest Stages. *Records of Natural Products*, 13,1, 1-9.
- Susamış, M. (2019). Sivas Bölgesinde Yetişen Sarı Kantaron Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, 55s.
- Şimşek, İ. Y. (2013). Kilis Yöresinde Yetişen Bazı Tıbbi Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, 47s.
- Talib, W., ve Mahasneh, A. (2010). Antimicrobial, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of Jordanian Plants Used in Traditional Medicine. *Molecules*, 15(3), 1811–1824.
- Tanideh, N., Namazi, F., Andisheh, T. A., Ebrahimi, H. ve Hosseinabadi, K. O. (2014). Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of

- Hypericum perforatum extract on induced oral mucositis in golden hamsters. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43, 10, 1286-1292.
- Tenore, G.C., Daglia, M., Ciampaglia, R. ve Novellino, E. (2015). Exploring the nutraceutical potential of polyphenols from black, green and white tea infusions—an overview. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16(3), 265-271.
- Thiede, H.-M. ve Walper, A. (1994). Inhibition of MAO and COMT by Hypericum Extracts and Hypericin. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7, 54–56.
- Toker, R., Gölükçü, M. ve Tokgöz, H. (2015). Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Gıda Sanayisinde Kullanım Alanları. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 4,15,54-59.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, ve Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical comparison of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89(49), 549-554.
- Toroğlu, S. ve Çenet, M. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanımları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metotlar. *KSÜ Fenve Mühendislik Dergisi*, 9, 2, 12-20.
- Tuncel, N.B. ve Yılmaz, N. (2010). Kaz Dağları'ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Belirlenmesi. *Akademik Gıda Dergisi*, 8, 18-23.
- Tusevski, O., Todorovska, M., Spasenovski, M. ve Simic, S.G. (2019). Antioxidant activity and phenolic compounds in Hypericum perforatum L. Wild growing plant collected in the Republic of Macedonia. *Biologica Nyssana*, 10(2), 159-168.
- Vajs, V., Vugdelija, S., Trifunovi, S., Karadi, I., Jurani, N., Macura, S. ve Milosavljevi, S. (2003). Further degradation product of hyperforin from Hypericum Perforatum (St. John's Wort), *Fitoterapia*, 74, 439-444.

- Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., ve Bastos, M. L. (2003). Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small Centaury (*Centaureum erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Phytomedicine*, 10(6-7), 517–522.
- Verma, V., Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Hussain, M.A., Ahmad, S.M., Ziebach, T., Qazi, G.N. ve Spiteller, M. (2008). Phenolic constituents and genetic profile of *Hypericum perforatum* L. from India. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 201–206.
- Vinicius, A. V., Leandro, V. C., Lorena, R. S., Martha, O. G., Vera, M. P. ve Cassia, S. S. (2013). Evaluation of postpartum behaviour in rats treated with *Hypericum perforatum* during gestation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23,5, 796-801.
- Wei, Y., Xie, Q., Dong, W. ve VeIto, Y. (2009). Separation of epigallocatechin and flavonoids from *Hypericum perforatum* L. by high-speed counter-current chromatography and followed by preparative liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, A1216, 4313-4318.
- Williams, F. B., Sander, L. C., Wise, S. A. ve Girard, J. (2006). *Journal of Chromatography A*. American University, Washington, USA, 1115, 93–102.
- Wölflle, U., Seelinger, G. ve Schempp, C. M. (2014). Topical Application of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*, 80, 109-120.
- Wu, Y., Zhou, SD., ve Li, P. (2002). Determination of flavonoids in *Hypericum perforatum* by HPLC analysis. Yao xue xue bao, *Acta Pharmaceutica Sinica* 37, 280-282.
- Zdunic, G., Godjevac, D., Savikin, K. ve Petrovic S. (2017). Comparative Analysis of Phenolic Compounds in Seven *Hypericum* Species and Their Antioxidant Properties. *Natural Product Communications*, 12,11,1805-1811.

- Yaşar, S., Demir, F. ve Karatepe Y. (2016). Bazı maki türlerinin kimyasal içeriği ve fenolik ekstraktifleri üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Forestry*, 17,2, 187-193.
- Zeliou, K., Kouli, E.-M., Papaioannou, C., Koulakiotis, N. S., Iatrou, G., Tsarbopoulos, A., Papasotiropoulos, V. ve Lamari, F. N. (2020). Metabolomic fingerprinting and genetic discrimination of four *Hypericum* taxa from Greece. *Phytochemistry*, 112290.
- Zheleva-Dimitrova, D., Nedialkov, P. ve Kitanov, G., (2010). Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (22), 74.
- Zou, Y., Lu, Y., ve Wei, D. (2004). Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5032–5039.

ÖZGEÇMİŞ

15.05.1978 Ceyhan/Adana doğumluyum. İlköğretimimi Büyükmangıt Köyü İlkokulun'da, ortaöğretimimi Yaltır Kardeşler Ortaokulu'nda, lise eğitimimi Ceyhan Sağlık Meslek Lisesi'nde tamamladım. Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden 2002 yılında mezun oldum. 1998 yılında hemşire olarak atandığım Sağlık Bakanlığında halen görev yapmaktayım. 2010-2013 yılları arasında Adana Devlet Hastanesi'nde Başhemşire Yardımcısı, 2013 – 2014 yılları arasında Adana Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde Kalite Yönetim Birim Sorumlusu, 2014 – 2015 yılları arasında Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İş Sağlığı ve Güvenliği Birim Sorumlusu, 2015 -2018 yılları arasında Adana İli Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği ve Adana İl Sağlık Müdürlüğü'nde Uzman olarak görev yaptım. Evli ve 2 kız çocuk annesiyim. 2018 yılında Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.