



**SARI KANTARON (*Hypericum perforatum* L.) YAĞI
STANDARDİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Betül Rukiye ÇİÇEK

Eskişehir 2021

SARI KANTARON (*Hypericum perforatum* L.) YAĞI
STANDARDİZASYONU

Betül Rukiye ÇİÇEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Gökalp İŞCAN
(İkinci Danışman: Doç. Dr. Fatih GÖĞER)

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Haziran 2021

ÖZET

SARI KANTARON (*Hypericum perforatum* L.) YAĞI STANDARDİZASYONU

Betül Rukiye ÇİÇEK

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2021

Danışman: Prof. Dr. Gökâl İŞCAN

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Fatih GÖĞER)

Hypericum perforatum L. (Hypericaceae) dünyanın birçok bölgesinde tedavi amaçlı kullanılan, üzerinde çok sayıda araştırmanın yapıldığı önemli tıbbi bitkilerden biridir. Ülkemizde doğal olarak yetişen bu tür yöresel olarak binbirdelik otu, kan otu, kılıç otu, kuzu kıran, mayasıl otu, yara otu ve kuzu kıran adıyla bilinir. Özellikle yara iyileştirici etkilerinden dolayı, bitkiden maserasyon yolu ile elde edilen yağın kullanımı oldukça yaygındır. Yağ maserasyonunda geleneksel olarak bitkinin çiçekli dal uçları 45 gün zeytinyağı dolu cam kaplarda, direkt güneş ışığında bekletilir. Masere yağın etkili bileşikleri, stabilitesi, yöntem ve kullanılan yağa göre değişen bileşimi ve karakteristik yakut kırmızısı rengi halen araştırılmakta ve literatürde çelişkili sonuçlara ulaşılmaktadır.

Çalışmamızda iki farklı yöntemle sarı kantaron çiçeklerinin 8 farklı soğuk sıkım yöntemiyle elde edilmiş sabit yağda (aspir, ayçiçeği, ceviz, kanola, keten, susam, tatlı badem ve zeytin) ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Halk arasında en çok uygulanan yöntem olan yaz aylarında cam kavanozlarda güneş ışığı altında 45 gün maserasyona bırakılması yanında yine aynı yağlarda çiçeklerin 2 saat süresince ılık su banyosunda dijesyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örneklerin kolorimetrik olarak kırmızı renk şiddeti, maseratlardaki hiperforin ve hiperisin miktarları ve maseratların bazı cilt patojenlerine karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Etkiler karşılaştırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Sarı kantaron yağı, *Hypericum perforatum* L., Hiperforin, Maserasyon, SK/KS.

ABSTRACT

STANDARDIZATION OF ST. JOHN'S WORT (*Hypericum perforatum* L.) OIL

Betül Rukiye ÇİÇEK

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2021

Supervisor: Prof. Dr. Gökalg İŞCAN

(Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih GÖĞER)

Hypericum perforatum L. (Hypericaceae) is one of the most important medicinal plants used for therapeutic purposes in many parts of the world. This species, which grows naturally in our country, is locally known as binbirdelik otu, kan otu, kılıç otu, mayasıl otu, yara otu and kuzu kıran. Especially because of its wound healing properties, the use of oil obtained from the plant by maceration method is quite common. In oil maceration traditionally, the flowering branches of the plant are kept in glass containers filled with olive oil for 45 days in direct sunlight. The effective compounds of this oil, its stability, composition varying according to the method and oil used, and its characteristic ruby red color are still being investigated and conflicting results have been reached in the literature.

In our study, St. John's Wort flowers were extracted using two different methods, from 8 different cold-pressed oil (safflower, sunflower, walnut, canola, flax, sesame, sweet almond and olive). The most common method among the people in the summer, the flowers were left to maceration in glass jars under sunlight for 45 days and in the same oils, digestion of the flowers was carried out in a warm water bath for 2 hours. The red color intensity of the samples obtained, the amount of hyperforin in the maserates and the antimicrobial effects of the oils against skin pathogens were investigated colorimetrically. The effects are compared.

Anahtar Sözcükler: St. John's Wort Oil, *Hypericum perforatum* L., Hyperforin, Maceration, LC/MS.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmaları boyunca tüm anlayış ve sabrı ile bana destek olan, engin tecrübe ve bilgilerini benimle cömertce paylaşan, her adımda yolumu açan değerli danışman hocam Prof. Dr. Gökâlî İŞCAN'a,

Deneyler sırasında bilgilerini ve emeklerini benden esirgemeyen, güler yüzü ile her zaman yol gösteren kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Fatih GÖĞER'e,

Bitkinin teşhisi ve toplanmasında destek olan hocalarım Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE ve Öğr. Gör. Nagehan SALTAN'a,

Laboratuvar çalışmalarımızda ve analizlerde destek olan Uz. Biol. Süleyman YUR'a,

Bitkinin ayıklanmasında yardımcı olan fakültemiz temizlik görevlilerine,

Fikirleri ile yardımcı olan ve manevi desteğini her daim hissettiğim sevgili arkadaşım Burak ARAP'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerinden faydalandığım tüm Farmakognozi Anabilim Dalı'nın kıymetli hocalarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
FINAL APPROVAL FOR THESIS	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vii
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND.....	
RULES	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
GÖRSELLER DİZİNİ	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	4
2.1. <i>Hypericum perforatum</i> 'un Botanik Özellikleri.....	4
2.2. <i>Hypericum perforatum</i> Geleneksel Kullanımı	7
2.3. <i>Hypericum perforatum</i> 'un Biyolojik Aktif Bileşenleri	11
2.3.1. Naftodiantronlar.....	14
2.3.2. Floroglusinoller.....	18
2.3.3. Flavonoidler	21
2.3.4. Proantosiyanidinler ve prosiyanidinler	23
2.3.5. Tanenler	23
2.3.6. Uçucu yağlar	23

2.3.7. Aminoasitler.....	25
2.3.8. Fitoöstrojenler	25
2.3.9. Ksanton türevleri.....	25
2.3.10. Kumarinler	25
2.3.11. Epoksantrofiller.....	25
2.3.12. Diğer maddeler	25
2.4. <i>Hypericum perforatum</i> 'un Bazı Farmakolojik Etkileri	26
2.4.1. Antidepresan etki	26
2.4.2. Yara iyi edici ve antiinflamatuvar etki.....	26
2.4.3. Antikanser, antitümoral ve antioksidan etki	28
2.4.4. Antiviral etki.....	29
2.4.5. Diğer etkiler	29
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER.....	31
3.1. Bitkisel Materyal.....	31
3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Standart Maddeler	31
3.3. Kullanılan Cihaz ve Apareyler	32
3.4. Kuru ve Yaş Bitkisel Materyalde Hiperforin/Hiperisin Miktar Tayini	33
3.5. Maserasyon.....	34
3.6. Antimikrobiyal Etki Testleri	36
3.6.1. Test örneklerinin hazırlanması	36
3.6.2. Agar difüzyon yöntemi.....	37
3.6.3. Mikrodilüsyon testi	38
3.7. Maseratların Kolorimetrik Ölçümü	38
3.8. Sıvı Kromatografisi/Külte Spektrometresi ile Hiperforin ve Hiperisin Miktar Tayini.....	38
4. BULGULAR	41

4.1. Kuru ve Yaş Bitkisel Materyalde Hiperisin ve Hiperforin Miktar Tayini	41
4.2. Antimikrobiyal Etki Testleri	41
4.2.1 Agar difüzyon deneyi	41
4.2.2. Mikrodilüsyon testi	44
4.3. Spektrofotometrik Olarak Renk Şiddetinin Ölçülmesi.....	44
4.4. Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi ile Hiperforin ve Hiperisin Miktar Tayini Sonuçları	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	54
KAYNAKLAR	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Hiperforin içeren yarı saydam cep, hiperisin içeren koyu salgı cebi	7
Şekil 2.2. Hiperisin ve psödohiperisin.....	14
Şekil 2.3. Protohiperisin ve psödoprotohiperisin.....	15
Şekil 2.4. İzohiperisin ve siklopsödohiperisin.....	15
Şekil 2.5. Bitkinin yaprağında MALDI-IMS analizi.....	16
Şekil 2.6. Hiperforin ve adhiperforin.....	18
Şekil 2.7. Kersetin ve heterozitleri	22
Şekil 2.8. Yara iyileşme evreleri.	27
Şekil 3.1. Hiperforin kalibrasyon grafiği.....	40
Şekil 3.2. Hiperisinin kalibrasyon grafiği.....	40
Şekil 4.1. Maserat ve kontrollerin antibakteriyal etkisi.....	44
Şekil 4.2. Maseratların absorbands değerleri	45
Şekil 4.3. 15. gündeki hiperforin miktarı	48
Şekil 4.4. 30. gündeki hiperforin miktarı	48
Şekil 4.5. 45. gündeki hiperforin miktarı	48
Şekil 4.6. Su banyosu dijesyonunda hiperforin miktarları	49
Şekil 4.7. Aspir yağı maseratında hiperforin miktarı	50
Şekil 4.8. Ayçiçek yağı maseratında hiperforin miktarı.....	50
Şekil 4.9. Ceviz yağı maseratında hiperforin miktarı.....	51
Şekil 4.10. Kanola yağı maseratında hiperforin miktarı	51
Şekil 4.11. Keten yağı maseratında hiperforin miktarı.....	52
Şekil 4.12. Susam yağı maseratında hiperforin miktarı.....	52
Şekil 4.13. Tatlı badem yağı maseratında hiperforin miktarı.....	53
Şekil 4.14. Zeytin yağı maseratında hiperforin miktarı	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Hypericum perforatum</i> 'un taksonomik olarak sınıflandırılması	4
Tablo 2.2. <i>H. perforatum</i> L. bileşimi	12
Tablo 2.3. <i>H. perforatum</i> L. uçucu yağ çalışmaları	24
Tablo 2.4. <i>Hypericum</i> türlerinde aktiviteden sorumlu bileşikler	30
Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan çözücü/kimyasal madde ve markaları	32
Tablo 3.2. Deneyler kullanılan cihaz/aparey ve markaları	32
Tablo 3.3. Maserasyon süresince 45 günlük gündüz/gece sıcaklık ortalamaları... ..	35
Tablo 3.4. Antimikrobiyal testlerde örneklerin uygulanma şekilleri	37
Tablo 3.5. SK/KS akış programı	39
Tablo 4.1. Bitkinin ekstre verimi, hiperforin ve hiperisin miktarı	41
Tablo 4.2. Yağın uygulanma şekli ve ölçülebilir inhibisyon zonu oluşumu.....	42
Tablo 4.3. Maseratların disk difüzyon etki testi sonuçları	43
Tablo 5.1. Farklı kaynaklarda bitki çiçeğinde bulunan hiperisin	55
Tablo 5.2. Kullanılan yağların ortalama yağ asidi profilleri	57

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 1.1. <i>Hypericum</i> cinsinin Türkiye'deki yayılışı	2
Görsel 2.1. <i>Hypericum perforatum</i>	6
Görsel 2.2. <i>H. perforatum</i> yaprakları	6
Görsel 2.3. <i>H. perforatum</i> 'da uçucu bileşikler taşıyan guddecikler	7
Görsel 2.4. Kantaron çayı, tentürü, ekstre örneği	10
Görsel 2.5. <i>Hypericum perforatum</i> yaprakları	17
Görsel 2.6. Bitkiye kırmızı rengi veren hiperisin bileşiği.....	16
Görsel 3.1. Deneylerde kullanılan <i>H. perforatum</i> 'un çiçekli dal uçları	31
Görsel 3.2. Shimadzu ABSciex 3200 Q trap LC- MS/MS sistemi	33
Görsel 3.3. Bitkisel materyalin çözücü ekstraksiyonu	33
Görsel 3.4. Sırası ile (A1-A8) içerisinde <i>Hypericum perforatum</i> çiçekli dal uçları	34
Görsel 3.5. Kullanılan sabit yağlar soldan sağa; aspir, ayçiçek, ceviz, kanola, keten,..... susam, tatlı badem, zeytinyağı	35
Görsel 3.6. Su banyosunda dijesyon yöntemi	36
Görsel 3.7. Sırası ile maseratların absorpsiyon çözeltileri	38
Görsel 4.1. <i>S. aureus</i> 'a karşı oluşan inhibisyon zonları	42
Görsel 4.2. Yağların ve maseratların renkleri	46

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpro-pionik asit
ATCC	: American Type Culture Collection
CHCl ₃	: Kloroform
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DAD	: Diode Array Detector
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EMA	: European Medicines Agency
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
İPA	: İzopropil Alkol
k.a.	: Kuru Ağırlık
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
LC-MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LC-DAD-MS	: Sıvı Kromatografisi- Fotodiyot Dizi Dedektörü - Kütle Spektrometresi
LOD	: Limit of Detection
LOQ	: Limit of Quantity
MALDI-IMS	: Matrix - Assisted Laser Desorption / Ionization - İmaning Mas Spectrometry
MAO	: Monoamin Oksidaz
MeOH	: Metanol

MHA	: Mueller Hilton Agar
MHB	: Mueller Hilton Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
NIRS	: Near İnfrared Spectrum
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
PDA	: Patates Dekstroz Agar
RP-HPLC	: Ters Faz-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
Sk	: Sarı Kantaron
SK-KS	: Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometresi
SSRI	: Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

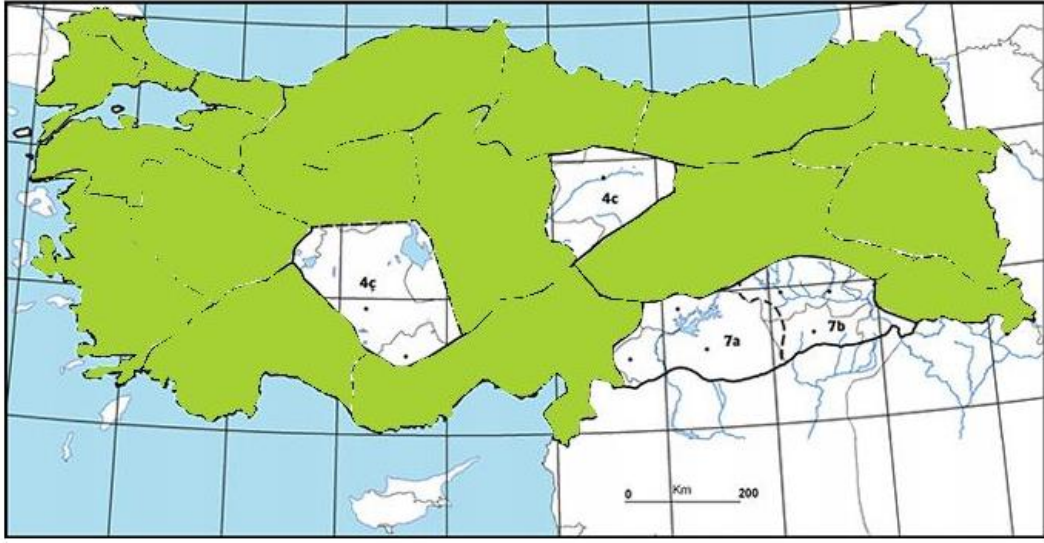
Hypericum L. cinsine ait türler dünyanın birçok yerinde çeşitli şekillerde yara iyi edici, bakterisit, iltihap giderici, idrar söktürücü ve yatıştırıcı etkilerinden dolayı uzun yıllardır tedavi için kullanılmaktadırlar (Çırak ve Kevseroğlu, 2004). Ekvator'dan İskandinav ülkelerine kadar farklı coğrafyalarda yayılış gösteren 500'e yakın *Hypericum* türü bulunmaktadır (Crockett ve Robson, 2011). Türkiye'de 20 seksiyon altında 49'u endemik 107 takson (doğal 96 tür) bulunmaktadır (Dündar, 2018; Ersoy, 2020).

Bu türler içerisinde *Hypericum perforatum* L. (Sarı Kantaron) en yaygın olanıdır. Günümüzde Çin, Rusya ve Sibirya vb. ülkeler başta olmak üzere dünyanın değişik bölgelerinde bitkinin tarımı yapılmaktadır (Şatana ve Arslan, 2012).

Sarı kantaron (Sk) Türkiye'de Marmara, Karadeniz, Akdeniz, Ege, Doğu Anadolu ve kısmen de Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yayılış göstermektedir (Davis, 1967; Güner vd., 2000). Yöresel olarak kan otu, kılıç otu, kuzu kıran, binbirdelik otu, mayasıl otu, yara otu ve İngilizcede St. John's Wort adıyla bilinen sk, Hypericaceae familyasına dahildir. Bitkinin İngilizce adının, Hristiyanlık inancında bir aziz olarak kabul edilen St. John'un (John the Baptist) doğduğu zaman olan Haziran ayında altın renkli çiçeklerini açması nedeniyle bu azize atfen verildiği düşünülmektedir (Hawken, 1997).

Latince adı, "ikonanın üstünde" anlamındadır ve kötü ruhları kovduğu inancı vardır. 24 Haziran günü, bitkinin Kuzey Yarımküre'de çiçek açtığı tarihtir ve St. John (Aziz Yahya) bayramı olarak bilinir. Bu nedenle bitki, İngilizcede "St. John's wort" yani "Aziz Yahya otu" adıyla anılır (Başer, 2007). *Hypericum* L. türleri bakımından yurdumuz önemli bir gen merkezidir (Şatana ve Arslan, 2012) (Şekil 1.1).

Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetişen çok yıllık bir bitkidir. Orta Avrupa'nın Alpin bölgelerinde geleneksel tıpta en sık kullanılan bitkilerden birisidir (Hawken, 1997). Bu tür son 30 yıldan beri klinik ve prelink anlamda çalışılmaktadır. Günümüzde de orta dereceli depresyon tedavisinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Bitkiden hazırlanan farklı formlardaki antidepresif farmakolojik ürünlerin yıllık satış değerinin 2013 yılında Avrupa pazarlarında 100 milyon doları ABD'de ise 500 milyon doları aştığı, dünya genelinde ise 1 milyar dolara yaklaştığı bildirilmektedir. *Hypericum* ürünlerinin standart antidepresan ilaçların yerine kullanıldığında depresyon tedavisinin maliyetini önemli ölçüde düşürdüğü bilinmektedir (Solomon vd., 2013).



Görsel 1.1. *Hypericum* cinsinin Türkiye'deki yayılışı (http-1).

Sarı kantaron yağında floroglusinol türevlerinden hiperforin, adhiperforin ve furohiperforin bulunmaktadır. Naftodiantronlardan protohiperisin ve psodöprotohiperisin kendilerinden daha kararlı yapıda bulunan hiperisine ve psödohiperisine dönüştüğü düşünülmektedir (Altan vd., 2015). Yapılan birçok farmakolojik çalışmayla *H. perforatum* yağında bulunan bu maddenin antienflamatuvar ve antimikrobiyal etkilerinin varlığı kanıtlanmıştır. Bu etkiyle birlikte masere yağ yara ve yanık tedavisinde asırlardır kullanılmaktadır. Bu etkilerden başka depresyon tedavisinde de kullanılan bitki ve ekstrelerinin antikanser, antioksidan, antitümoral ve antiviral etkileri de mevcuttur (Schempp vd., 2002).

Sarı kantaron yağının elde edilmesi için geleneksel olarak çoğunlukla taze *H. perforatum* bitkisinin çiçekli dal uçları, 15-45 gün boyunca güneş ışığında, zeytin yağı içinde ağzı kapaklı cam kavanozlarda maserasyona bırakılmaktadır (Baytop, 1999). Ülkemizde de çoğunlukla bu yöntem uygulanmaktadır.

Çalışmamızda sarı kantaron yağının elde edilmesinde kullanılan maserasyon yönteminin bazı parametrelerinde değişiklikler yapılarak etken madde miktarı ve biyolojik aktivitesinde farklılık olup olmadığı incelenmiştir. Bu amaçla taze çiçekler, zeytin yağı da dahil 8 farklı soğuk sıkım sabit yağ içerisinde masere edilmiştir. Maserasyon aşaması iki farklı yöntemle yapılmıştır. İlki geleneksel yönteme göre yaz aylarında 45 gün, cam kavanozlarda güneş ışığı altında maserasyon ile yapılmıştır. İkinci yöntemde (Baytop, 1999) daha hızlı bir şekilde masere yağın elde edilebilmesi için sıcak su banyosunda 2 saat dijesyon şeklinde gerçekleştirilmiştir. Maserasyon ile elde edilen örneklerde

kolorimetrik olarak kırmızı rengin şiddeti, elde edilen tüm örneklerde ise hiperisin ve hiperforin miktarları belirlenmiştir. Ayrıca antimikrobiyal etkisi olduğu bilinen bu yağın farklı yöntemlerle elde edilen örneklerinden antimikrobiyal testler yapılarak, biyolojik etkileri taranmıştır.



2. KAYNAK BİLGİSİ

Bu bölümde *H. perforatum* ile ilgili botanik özellikler, bitkinin kimyasal bileşimi, halk arasında kullanımı kaynaklar taranarak özetlenmiştir.

2.1. *Hypericum perforatum*'un Botanik Özellikleri

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

Divisio	Spermatophyta
Subdivisio	Angiospermae
Clasis	Dicotyledoneae
Subclasis	Magnolipsida
Ordo	Theales
Familya	Hypericaceae (Eskiden; Clusiaceae)
Genus (Cins)	<i>Hypericum</i> L.
Species (Tür)	<i>Hypericum perforatum</i> L.

Hypericum cinsi, Hypericaceae familyasına dâhildir (eskiden Clusiaceae). Familyanın 400'ü aşkın tür sayısı ile en geniş cinsini oluşturmaktadır (Curtis and Levsten, 1990, http-10).

Hypericaceae familyası genellikle herdem yeşil veya kışın yaprağını döken, çalı veya çoğunlukla otsu bitkilerden oluşur. İçinde uçucu yağ içeren yarı saydam, hiperisin ve hiperforin gibi önemli bileşikler taşıyan siyah kırmızı renkli salgı ceplerine sahiptir. Yapraklar basit, karşılıklı nadiren daireseldir. Çiçek kurulu uçta, bazen simoz, nadiren yaprak koltuklarında veya bir çiçeklidir. Çanak yapraklar (2-) 4-5 ve taç yapraklar (3-) 4-5 adet ve serbesttir. Stamenler serbest, demetsi veya bazen tabanda bileşiktir. Ovaryum üst durumlu ve 3-5 gözlüdür. Meyve üzüksü veya kapsül şeklindedir. Tohumlarda besi dokusu (endosperm) yoktur (Robson, 1966; Akkemik, 2014).

Hypericum L. cinsi çok yıllık otsu ve çalımsıdır. Yapraklar perfoliat veya değil, nadiren aurikulat her zaman yarısaydam noktalı olup sepaller ve petallar 5,5 serbest, petallar genellikle sarı, stamenler 5 grup halindedir ve petallerin önündedir. Ovaryum 3,5 veya tek lokuluslu, çok ovüllüdür. Meyvesi pestisid kapsula veya nadiren bakkadır. Kapsulanın üzerinde boyuna çizgiler veya enine kabartılar bulunur. Cins, genellikle İran, Turan ve Akdeniz bölgelerinde yayılış göstermektedir (Robson, 1966; Baytop, 1974).

H. perforatum' un tür özellikleri ise; yapraklar basit ve oppozit, nadiren alternattır, eliptik-dikdörtgen veya doğrusal, 5-35 mm, dar oval veya mızrak şeklinde, sesil ve her

zaman yarısaydam noktalıdır. Stipula bulunmaz. Çiçekler beş parçalı petaller altın sarısı renkli, kenarları siyah benekli guddeler ile çevrilidir, genellikle aktinomorf ve hermafrodittir. Periant, dekussat 2-6 arasında sepal ile sayısı 4-12 adet arasında değişen petallerden meydana gelir. Çok sayıda stamen taşır. Ginekeum, 3-5 veya daha çok sayıda karpelden oluşan tek bir pistilden ve yine 3-5 veya daha çok sayıda lokulus taşıyan ovaryumdan oluşur ve sinkarptır. Meyve septisit/lokulusit kapsül veya drupa tipindedir (Foster ve Duke, 1990; Robson, 1966).

Bitkide salgı ceplerinin görünümü ve dağılışı türlerin sistematik konumunun belirlenmesinde önemlidir. Cepler organ çevresinde olduğu zaman marjinal, çevrenin yakınında olduğu zaman intermarjinal, çevreden uzakta olduğunda ise süperfisial olarak tanımlanırlar (Davis vd., 1967).

Gövde 10-110 cm, dik, dallar ile birlikte yükselici, çok yıllık ve otsudur. Bütün Türkiye ve Avrupa'da yabani olarak yetişir. Tarla yol orman kıyılarında, tepelerde ve çayırarda olup Temmuz ayından Eylül ayına kadar çiçeklenir (Robson, 1966).

Kimyasal içerikleri bakımından da önemli bitki gruplarındandır. Uçucu yağları nedeniyle tat ve koku endüstrisinde hammadde kaynağıdır. İçerdiği hiperisin, hiperforin, flavonoidler ve çeşitli fenolik bileşikler nedeniyle de birçok çalışmaya konu olmuştur (Kitanov, 2001; Başer vd., 2001). Uçucu yağlar özellikle tür içi ve türler arası taksonomik seviyelerin belirlenmesi, coğrafik ve tür içi varyasyonların belirlenmesi bakımlarından oldukça faydalı sonuçlar vermektedir (Bağcı ve Babaç, 2003).

Hypericum cinsinin Türkiye'de en yaygın temsil edilen türleri, *Hypericum perforatum* L., (Sarı Kantaron) başta olmak üzere *H. triggetrifolium*, *H. calycinum* (Büyük çiçekli binbirdelik otu), *H. empetrifolium* Willd. (püren, sarı püren), *H. scabrum* L. (mayasıl otu, kepirotu), *H. tedrapetum* F.'dir (Baytop, 1974; Davis, 1978).

Türkiye Florası'ndan farklı olarak yapılan en son çalışma olan N.K.B. Robson'ın "Hypericum'un Monografisi" (Robson, 2010) adlı eserinde *Hypericum* cinsi 30 seksiyonla temsil edildiği belirtilmiştir. Bu seksiyonlar *Campyloporus*, *Psorophytum*, *Ascyreia*, *Takasagoya*, *Androsaemum*, *Inodora*, *Bupleuroides*, *Hypericum*, *Olympia*, *Campylopus*, *Origanifolia*, *Drosocarpium*, *Oligostema*, *Thasia*, *Crossophyllum*, *Hirtella*, *Taeniocarpium*, *Coridium*, *Myriandra*, *Webbia*, *Arthrophyllum*, *Triadenioides*, *Heterophylla*, *Adenotrias*, *Humifusoideum*, *Adenosepalum*, *Elodes*, *Brathys*, *Spachium*'dur.



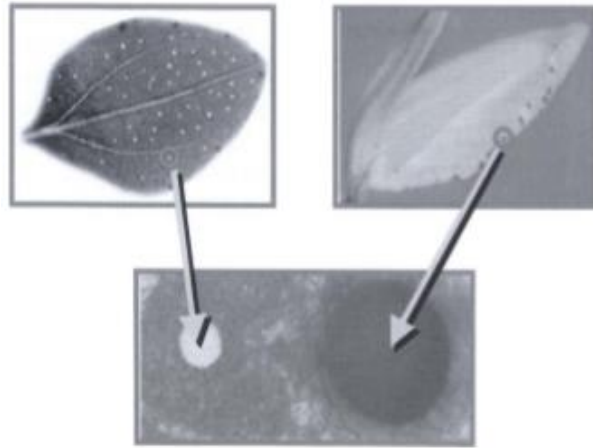
Görsel 2.1. *Hypericum perforatum*

Bitki Türkiye şartlarında Mart ayında havaların ısınmaya başlamasıyla birlikte toprak üzerinde yeşermeye başlar. Haziranın ikinci yarısından Ağustos'a kadar bu bitki çiçeklenmeye devam eder. Temmuz başından itibaren kapsül tipinde meyveler oluşur. Önceleri yeşil, olgunlukta ise kahverengi olan bu kapsüller Ağustos başından itibaren olgunlaşır ve çatlayarak tohum döker (Çırak vd., 2004). Bitki daha ziyade vejetatif üreme eğilimindedir (Qu vd., 2010).

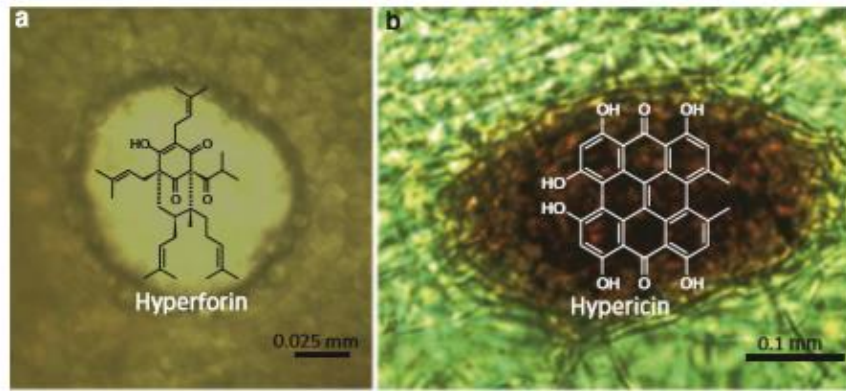
Bitkilerin içerdiği uçucu yağ kompozisyonlarının türler arasında göstermiş olduğu varyasyonların cins içi ve türler arası kemotaksonomik ilişkilerin ortaya konması bakımlarından önemlidir. *Hypericum* cinsinin çoğu türünün vejetatif organlarındaki siyah guddeler cinsin sınıflandırmasında ayırt edici özellik olarak araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır (Kitanov, 2001).



Görsel 2.2. *H. perforatum* yaprakları (<http-2>).



Görsel 2.3. *H. perforatum*'da uçucu bileşikler taşıyan guddeler (Avato, 2005).



Şekil 2.1. Hiperforin içeren yarı saydam cep, hiperisin içeren koyu salgı cebi (http-3).

H. perforatum'un yapraklarına ışık altında bakıldığında salgı guddeleri, çok miktarda parlak noktalar halinde görülür. Tür epiteti olan “*perforatum*” ışık geçirgenliğini sağlayan bu minik deliklerin yaprakta bulunmasına atfen verilmiştir (Görsel 2.2. 2.3). Yapraklardaki şeffaf bu salgı cepleri uçucu bileşikleri de içermektedir. Bitki bu özelliğinden dolayı ‘binbirdelik otu’ olarak da adlandırılır (Dehe, 1993).

2.2. *Hypericum perforatum* Geleneksel Kullanımı

H. perforatum geleneksel olarak halk arasında kullanılan önemli tıbbi bitkilerden biridir. Antik Yunanlılar zamanından beri *Hypericum* türleri birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Tarihte önemli hekimlerden olan Galen, Dioscorides ve

Hipokrat tarafından bu bitki idrar söktürücü, yara iyi edici, adet bozukluğu tedavilerinde ve bağırsak rahatsızlıklarında sık sık tercih edilmiştir (Redvers vd., 2001).

Yapılan araştırmalarla bu tıbbi bitkinin antitümör, antiviral, antidepresan, antibakteriyel, antiinflamatuvar, analjezik ve hepatoprotektif etkileri olduğu belirlenmiştir (Potacka, 2003). Dâhilen ağrı kesici, yatıştırıcı, parazit düşürücü, ülser tedavi edici, haricen özellikle zeytinyağında masere edilen yağı yara iyileştirici olarak ülkemizde de sıkça kullanılmaktadır (Baytop, 1974).

Tarih boyunca insanlar sarı kantaronu ruhsal sıkıntı, hafif depresyon, yorgunluk ve bitkinlik tedavisi için kullanmışlardır. Bitkinin ekstreleri, depresyonu yatıştırmada doğal teröpatik ajanlar arasında öne çıkar (Üstün, 1998). Ayrıca etki mekanizmasının diğer antidepresanların etki mekanizmalarından farklı olduğu düşünülmektedir. Nörokimyasal etkisinin santral sinir sisteminde *H. perforatum* 'a birçok düzenleyicinin cevap vermesi ya da enzimatik aktivite mekanizmasının inhibisyonu şeklinde olduğu ileri sürülmüştür. Antidepresan etkinin; içerdiği hiperisinler, hiperforinler ve flavanoitlerden kaynaklı olduğu varsayılmaktadır (Wirz vd., 2000).

Antidepresif etkide kullanılan günlük dozdaki hiperisin, sk yağının bilinen yan etkinin aksine deride fototoksositeye yol açmaz. Bazı klinik çalışmalara göre kantaron, hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde hali hazırda bilinen sentetik antidepresanlar kadar etkilidir (Gaster ve Holroyd, 2000).

Hypericum türlerinin özellikle sulu ekstraktı idrar yolu enfeksiyonu, diyabet, nevralji, kalp hastalıkları, gastrit, hemoroit ve ülser gibi birçok hastalığa karşı tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Yeşilada vd., 1995). Yara iyileştirici ve iltihap giderici etkiler monograflarda *H. perforatum* ekstrelerinin ve toprak üstü bitki kısımlarının depresyon, ülser, hazımsızlık, karın ağrıları, yanıklar, bakteriyel enfeksiyonlar, migren, eklem iltihapları, baş ağrısı, siyatik tedavilerinde ve cilt hastalıklarının tedavisinde etkili olduğu kayıtlıdır (Anonymous, 1999; Kaçar ve Azkan, 2010).

Çeşitli *Hypericum* türlerinin yapraklarından hazırlanan metanol ekstrelerinin çeşitli tiplerdeki yaralara uygulandığı, yara iyileştirici merhemlerle karıştırılarak iyi sonuçlar elde edildiği bilinmektedir (Baytop, 1999). Ülkemizde geleneksel olarak halk arasında zeytinyağı içerisine bitkinin çiçeklerinin konulup güneşte bekletilerek elde edilen yağ yara iyileştirici olarak haricen uygulanmaktadır (Mukherjee vd., 2000). 1618 yılında yazılan Londra Farmakopesinde sarı kantaronun çiçeklerinden elde edilen yağdan ve faydalarından bahsedilmiştir (Hobbs, 1996). Almanya, Fransa ve İngiltere'den

Amerika'ya göç eden kişiler bitkinin tanınmasına katkı sağlamışlardır. Daha sonra yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Saddiqe vd., 2010).

Saljic (1975)'in çalışmasına göre *H. perforatum* çiçeğinden elde edilen ekstrenin katıldığı merhem birinci derece yanıkta kullanıldığında 48 saatlik zaman diliminde iyileşme gerçekleşmiştir. Daha şiddetli yanıklarda ise merhem iyileşme hızını diğer tedavi metotlarına göre 3 kat artırmıştır. Benzer şekilde, sezaryenle doğum yapmış 24 hasta üzerinde yürütülen bir klinik çalışmada aynısafa (*Calendula officinalis*) ve sk yağı karışımının (30:70) yara iyileştirici etkisi buğday tohumu yağı ve plasebo ile karşılaştırılmıştır. Dört haftalık uygulama sonunda plasebo ve buğday tohumu yağı uygulanan hastalarda ameliyat kesiğinde %16 kapanma gözlenirken aynısafa ve kantaron yağı karışımı uygulanan hastaların yaralarında %38 kapanma olmuştur (Lavagna vd., 2001). Sk ile aynısafa yağ karışımının etki oranının plasebodan ve buğday rohumu yağından daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

Yara iyileşmesini bozan olumsuz faktörlerin en başında enfeksiyon gelmektedir. Yaradaki enfeksiyon nedeniyle kontraksiyonun (büzülmenin) önlendiği, açığa çıkan toksin ve enzimlerin; fibrin ve büyüme/iyileşme faktörlerini parçaladığı, bunun da kollajen yapımını olumsuz etkilediği düşünülmektedir (Aygün, 2008). Sk'un yağlı maseratlarının ana bileşenleri hiperisin, hiperforin, hiperozit, rutin, izokersitrin ve epikateşindir. Ayrıca yağlı maseratın yara iyileştirici ve yangı önleyici özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Süntar vd., 2010). Yapılan diğer çalışmalarda bitkinin yara iyileştirici özelliğinin, fibroblastik aktiviteyi ve kollajen sentezini artırmasından kaynaklandığı da tespit edilmiştir (Öztürk vd., 2007).

Bu bölümde kullanım biçimlerinden bazıları hakkında kısaca bilgi verilecektir.

Kantaron Çayı; bitkide çiçeklenme seviyesinin yoğun olduğu Haziran-Temmuz aylarında toplanan bitkiler gölgede kurutulur. 1 tatlı kaşığı dolusu kuru bitki, 200 cc hacminde kaynamış suya eklenir. 3-4 dakika demlendikten sonra süzülerek günde en fazla 2-3 bardak içilebilir. Kantaron çayı mide ağrılarında ve bağırsak rahatsızlıklarında kullanılır (Sezik vd., 2001). Bu çay aynı zamanda bronşit gibi solunum yolu rahatsızlıklarına da iyi gelir. Yetişkinler için tek doz 2 g, günlük doz 4 g ölçüsünde olmalıdır (Görsel 2.4.) (EMA, 2009).



Görsel 2.4. Kantaron çayı ([http-4](#)), tentürü ([http-5](#)), ekstre örneği ([http-6](#)).

Kantaron Dekoksiyonu; bitkinin kurutulmuş toprak üstü kısımları yaklaşık 10-15 dakika suyla kaynatılır, süzildükten sonra sıcak ya da soğuk olarak içilir (Çırak ve Kurt, 2014).

Kantaron Tentürü; 1 litre konyağın içine, güneşte kurutulmuş ve ince kıyılmış 2 avuç bitki (sap, yaprak ve çiçek) eklenir. Şişe 14 gün boyunca güneşte bekletilir ve arada bir çalkalanır. Süre sonunda süzülür ve elde edilen tentür koyu renkli şişelere aktararak, serin ortamlarda saklanır (Aydemir, 2015).

Kantaron Ekstresi; özellikle Avrupa ve Amerika'da çay yerine, bitkinin çiçek, yaprak ve saplarından elde edilen ve kapsül şeklinde satılan ekstresi kullanılmaktadır. Bu ürünler T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın izniyle ithal edilmiş olup %0,3 hiperisin içeren 300 miligramlık kapsüller halinde sunulmaktadır. Bu kapsüllerden günde 3 kez yemeklerle birlikte 1 kapsül alınabilir. Orta dereceli depresyon tedavisinde endikedir (Aydemir, 2015).

Kantaron Yağı; hazırlamak için geleneksel olarak yaklaşık 100 gr kantaron çiçekli dal uçları 250 g zeytinyağı ile birlikte cam bir şişeye konulur. Hazırlanan karışım birkaç günde bir çalkalanarak 15-45 gün güneş ışığında bekletilir. Süre dolduktan sonra pamuktan süzülür. Ülkemizde de yağ maserasyonunda geleneksel olarak bu yöntem uygulanmaktadır (Baytop, 1999).

Daha az tercih edilen diğer bir yöntemde ise su banyosu kullanılmaktadır. Bir kabın içine yaklaşık 100 g kantaron çiçeği ve 1000 g zeytinyağı konulur. Karışım ara sıra çalkalanarak iki saat boyunca su banyosunda tutulur. Maserat pamuktan süzülür. Bu yöntemle de kantaron yağı geleneksele göre çok daha çabuk hazırlanmaktadır, ancak ülkemizde pek yaygın değildir. Kantaron yağı hazırlamak için taze ya da kurutulmuş sarı kantaron çiçekleri kullanılabilir (Baytop, 1999).

Anlatılan bu iki yöntemin haricinde tohumlardan da yağ hazırlanmaktadır. Bunun için tohumlar 1/10 zeytinyağı içinde bir hafta bekletilerek süzülür. Tohumdan elde edilen bu yağ da güneş yanıklarında kullanılmaktadır (Çırak ve Kurt, 2014).

2.3. *Hypericum perforatum*’un Biyolojik Aktif Bileşenleri

Hypericum türleri başta nafrodiantronlar, floroglusinoller, flavanoitler tıbbi etkiden sorumlu olmak üzere bunlardan başka organik asitler, uçucu yağlar, tanenler, aminoasitler gibi birçok sekonder metabolitler (Tablo 2.2.) içerir (Sezik vd., 2001). Drog olarak kullanılan *Hypericum*’da bulunan bu biyoaktif ajanların bitkide bulunma oranları bitkinin yetiştiği bölgedeki güneş ışığının miktarı ve kalitesine, mevsimine, toplandığı bölgeye, toplandığı tarihe bağlıdır (Linde vd., 1996; Murch vd., 2003).

Tablo 2.2. *H. perforatum* kimyasal bileşimi

Naftodiantron (%0,06-0,4)	Floroglusinol (%0,2-4,0)	Flavanoit (%2,0-4,0)	Fenolik	Aminoasit	Uçucu yağ (%0,1-0,25)
Hiperisin	Hiperforin	Hiperozid	Kaffeik asit	GABA	<i>n</i> -alkanol, <i>n</i> -alkanel
Psödohiperisin	Adhiperforin	Rutin	Klorojenik asit	Glutamin	Alfa ve beta pinen,
Protohiperisin	Lösosianidin	Kersitrin	Ferulik asit	Lözin	Limonene
Protopsödohiperisin	Hiperozid	Izokersitrin	İzoferulik asit	Lizin	Karyofilin
Siklohiperisin	Furanohiperforin	Kersetin	<i>p</i> -kumarik asit	Ornitin	Myrcene
Skirin	Xanthone	Amentoflavon (I3',II8biapigenin)	<i>p</i> -hidroksi benzoik asit	Prolin	Humulin
İzohiperisin	-	Kampferol	Vanilik asit	Tionin	-
-	-	Luteolin	Hyperfolin	-	-
(Hostettmann ve Wolfender, 2005)	(Altan vd., 2015)	(Hostettmann ve Wolfender, 2005)	(Linde vd., 1996)	(Gaedcke, 2003)	(Yıldırım vd., 2009)

Tablo 2.3. (Devam) *H. perforatum* kimyasal bileşimi

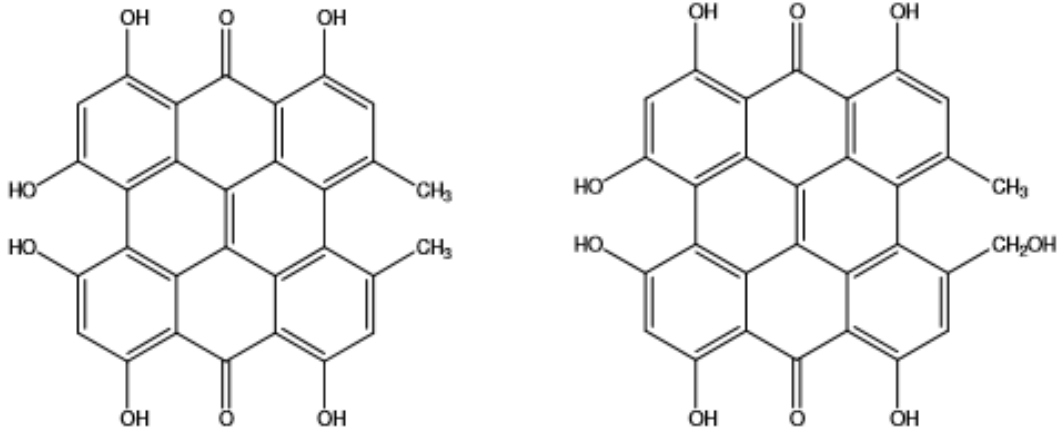
Fitoöstrojen	Kumarin	Ksanton	Proantosiyamid ve prosiyanidin	Karotenoitler	Diğer organik asitler
B- sitosterol	Umbellifon	Noratiriol	Kateşin	Lutein	İzovalerianik asit
Genistein	Skopoletin	-	Epikateşin (di-tri-tetra ve polimerleri)	Filobafin	Nikotinik asit
(Mazza ve Oomah, 1998)	(Linde vd., 1996; Mills ve Bone, 2000)	(Gaedcke, 2003)	(Gaedcke, 2003)	Pektin	Laurik
				C vitamini	Miristik asit
				Kolin	Palmitik ve stearik asit
				(Linde vd., 1996)	(Linde vd., 1996)

2.3.1. Naftodiantronlar

Nafrodiantronlar, *Hypericum perforatum* bitkisinin kırmızı rengi ve fototoksik özelliklerinden sorumlu olan bileşiklerdir. Bu grubun en önemli bileşeni hiperisindir. Diğer nafrodiantron türevleri hiperisine benzer yapıda psödohiperisin, protohiperisin, psödoprotohiperisin, izohiperisin ve siklopsödohiperisinlerdir (Saddiqe vd., 2010). Bu maddeler bitkinin daha çok çiçek ve tomurcuklarında bulunurlar (Gaedcke, 2003).

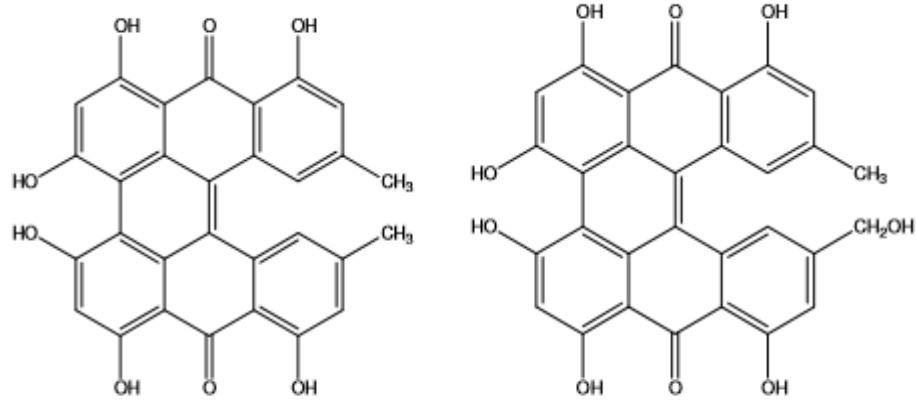
Toplam hiperisin, naftodiantron yapısında olan psödohiperisin ve izohiperisin ile birlikte bitkide % 0,06–0,4'lük bir orana sahiptir (EMA, 2009). Hiperisin, piridin ve diğer organik bazlarda kırmızı renkli fluoresans özellikli çözelti verecek şekilde çözünür. Genellikle birçok organik çözücünde çözünmez. Hiperisin alkali sulu çözücülerde çözünür; pH 11,5'un altında çözelti kırmızı, pH 11,5'un üzerinde ise yeşil renklidir (kırmızı fluoresanslıdır) (Vandenbogaerde vd., 1998).

Hiperisin aslında 1830 yılında Buchner tarafından keşfedilmesine rağmen, bu bileşik ismini olarak ilk defa Cerny adlı bilim adamı tarafından 1911 yılında almıştır. Cerny molekülün formülünü $C_{16}H_{10}O_5$ olarak sunmuştur (Hostettmann ve Wolfender 2005). Bileşiğin kimyasal yapısı 1953 yılında Brockmann ve Sanne tarafından "10,11-dimetil1,3,4,6,8,12-hekzahidroksinaftodiantron" olarak aydınlatılmıştır (Brockmann ve Sanne, 1953).



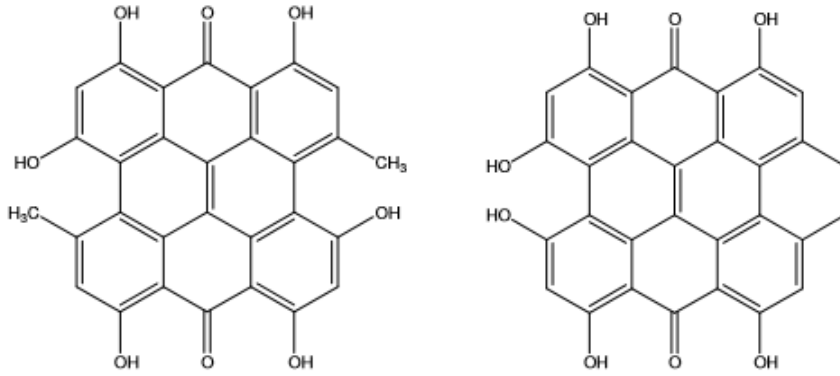
Şekil 2.2. Hiperisin (solda) ve psödohiperisin (sağda) (Saddiqe vd, 2010).

Bitkide hiperisinin yanında psödohiperisin varlığı da bilinmektedir (Şekil 2.2.). Ekstrenin güneş ışığına maruziyeti sonrasında, hiperisin ve psödohiperisinin, sırasıyla protohiperisin ve psödoprotohiperisin'e dönüştüğü düşünülmektedir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. *Protohiperisin (solda) ve psödoprotohiperisin (sağda)*

Bunların yanı sıra, bitkide diğer naftodiantron türevleri olan izohiperisin ve siklopsödohiperisin varlığı da bildirilmiştir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. *İzohiperisin (solda) ve siklopsödohiperisin (sağda)*

Sk için drogtaki hiperisin oranı, hasat zamanı, biçim yüksekliği ve özellikle genotipe bağlı olarak değişebilmektedir (Bomme, 1997; Dehe, 1993).

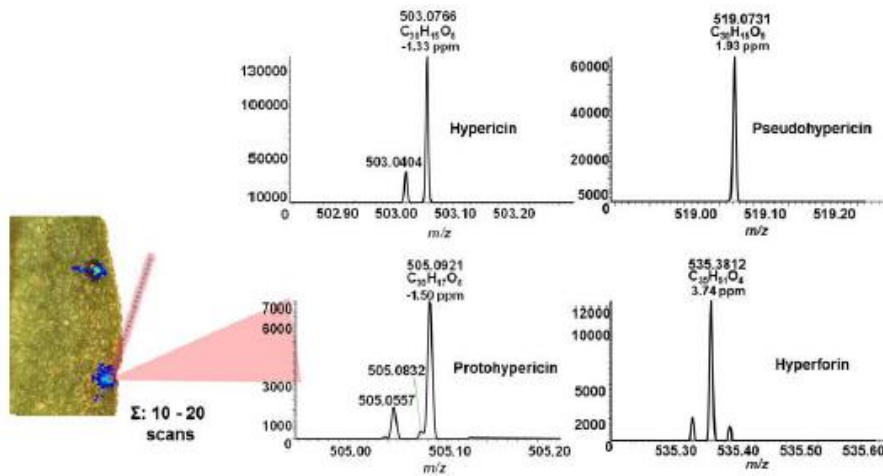
Etken madde olan hiperisinin antidepresan ve anksiyolitik etkisi olduğu düşünülmüştür. Etki mekanizmasıyla ilgili yapılan birkaç çalışmada sentetik antidepresanlara (SSRI ve MAOI) benzediği ve sigma reseptörlerine afinitesinin olduğu ortaya çıkmıştır (Bennat vd., 1998). *In vitro* araştırmalarda antidepresan özelliğinin monoamin oksidaz (MAO) enzimini inhibe ederek ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Suzuki vd., 1984). Avrupa ve Amerika'da içinde hiperisin olan ilaçlar doktorlar tarafından depresyon tedavisinde sıkça tercih edilmektedir (Walker vd., 2001).



Görsel 2.5. *Hypericum perforatum* yaprakları (<http-7>).

Bitki ve çiçek yapraklarının özellikle kenarlarında yoğun olarak bulunan koyu bezeler biraz ovulduğunda kırmızı renk açığa çıkar. “Kan otu” ismini bu özelliğinden dolayı almıştır. Bu kırmızı renk hiperisin kaynaklıdır. Bitki fazla tüketildiğinde hiperisin kaynaklı ışığa karşı duyarlılık oluşur. Bu sebeple küçükbaş hayvanlarda olan zehirlenmeler sebebiyle bitkiye halk arasında “kuzukıran” ismi de verilmiştir. Hiperisin bu koyu renkli salgı ceplerinde bulunmaktadır (Çırak ve Kurt, 2014).

Kusari ve arkadaşlarının yapraklardaki salgı cepleri üzerinde yaptığı bir çalışmanın MALDI-IMS analiz sonuçları Şekil 2.6.’da verilmiştir. Yapraktaki siyah-kırmızı renkli salgı bezlerinde hiperisin ve türevlerinden psödohiperisin, protohiperisin tespit edilmiştir. Daha açık renkli saydam olan salgı bezinde ise hiperforin tespiti gözlemlenmiştir (Kusari vd., 2015).



Şekil 2.5. Bitkinin yaprağında MALDI-IMS analizi (Kusari vd., 2015)



Görsel 2.6. Bitkiye kırmızı rengi veren hiperisin bileşiği (<http-8>).

Maserattaki kırmızı rengin genellikle hiperisin ve türevlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Fakat son zamanlarda, yağın kırmızı rengi ve floresansından I3,II8-biapigenin ile 1,3,6,7 tetrahidroksiksanton adlı bileşiklerin de sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Hostettmann ve Wolfender, 2005).

Hiperisinin antimikrobiyal etkileri dışında çeşitli farmakolojik etkileri bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada hiperisinin tümör hücreleri ve virüsler üzerinde güçlü bir fotodinamik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu fotodinamik etki ışığa bağlı artar (Potacka, 2003; Betty ve Trikojus, 1943).

Hiperisin ve psödohiperisin protein kinaz C salgılanmasını önleyerek memelilerde hücrelerin gereğinden fazla büyümesini engellerler. Bu durum bileşenlerin antiretroviral özelliğe sahip olmasına sebep olabilir (Takahashi vd., 1989).

Bunlara ek olarak hiperisinin tümör hücresindeki ölüm mekanizmasını nasıl harekete geçirdiği henüz tam olarak açığa kavuşturulamamıştır. Sadece antitümör etkinin fotosensitizer özelliğinden kaynaklandığı bilinmektedir. Hiperisinin düşük dozlarda antiproliferatif yani çoğalım önleyici etki gösterdiği, yüksek dozlarda ise apoptozis ve nekroz yoluyla tümör hücrelerini yok ettiği düşünülmektedir (Agostinis vd., 2002).

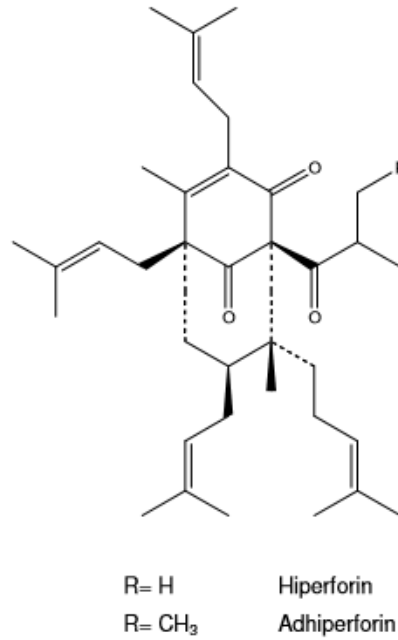
Hiperisin ve psödohiperisin DNA ve RNA virüslerine karşı antiviral etkide oldukça etkindir. Bu maddelerin HIV virüsünün yayılışının önlenmesinde de oldukça etkin olduğu bildirilmiştir (Meruelo vd., 1988; Vlietinck vd., 1998).

Kantaronun gastrointestinal rahatsızlıklar, halsizlik, konfüzyon, baş dönmesi, ağız kuruluğu, saç dökülmesi, manik bozukluk, hiperaktivite, irritasyon, alerji, ışığa duyarlılık gibi istenmeyen olaylara neden olabildiği bildirilmektedir. Örneğin ışığa duyarlılık hiperisin maddesinin yan etkisindendir (Hostettmann ve Wolfender, 2005).

2.3.2. Floroglusinoller

Floroglusinol türevlerinin en bilinenleri hiperforin, furohiperforin ve adhiperforindir. Droğun yaşına bağlı olarak floroglusinol türevleri %0,2-4 arasındadır. Çalışmalarda %1,5 ile 2,4 arasında hiperforin içeriğinden söz edilir. Oral olarak günlük alınan hiperforin miktarı en fazla 1 mg olmalıdır (EMA, 2009).

Hiperforinin lateral pozisyonda bir metil grubunun eklenmesiyle oluşan madde adhiperforin'dir. Diğer floroglisinol türevleri ise furanohiperforin, hiperozid ve lösosianindir (Bilia vd., 2002; Linde vd., 1996). Floroglusinoller bitkinin çiçeklerinde, taze tomurcuklarında ve karpellerinde bulunurlar (Gaedcke, 2003).



Şekil 2.6. Hiperforin ve adhiperforin (Saddiqe vd, 2010).

Hiperforin, sarı kantaronun yapraklarında ve çiçeklerinde bulunan biyoaktif bileşiktir. Kaynaklarda yaprak ve çiçeklerin kuru ağırlıklarının yaklaşık %4'ünü hiperforin ve türevlerinin oluşturduğu söylenmektedir. Floroglusinol iskelet ve lipofilik izopren zincirine sahiptir. Işıkla birlikte kolayca bozulabilen bir bileşik olduğu için hiperforin ile çalışılması zordur. Hiperforin hava oksidasyonuna eğilimlidir ve çoğu çözücü içinde kararsızdır (Cervo vd., 2002).

Hiperforin yüksek oranda lipofilik, sıcaklığa duyarlı, fotodegradasyona hassas ve *n*-hekzan gibi apolar çözücülerde hızla parçalanabilen bir yapıya sahiptir (Cui vd., 2002;

Vandenbogaerde vd., 1998). Bunun için yapılan çalışmalara göre; karbondioksit ekstraksiyonunu takiben, metanolde çözüldükten sonra Yüksek Hız-Karşı Akım Kromatografisi (High Speed-Counter Current Chromatography) tekniği ile izole edilip 20°C’de depolanması gerekmektedir. Bileşiğin dayanıksız olmasının sebebi ise yapısındaki enol şeklindeki β -dikarbonil grubunun bulunmasıdır (Beerhues, 2002). Ancak yapılan çalışmalar sonucunda hiperforin’in disikloheksil amonyum tuzunun kimyasal olarak kararlı olduğu da bulunmuştur (Erdelmeier, 1998).

Hiperforinin kristal formu ratlar üzerinde yapılan antidepresan etki araştırmalarında, kanserli hücrelerin yayılımı ve metastazını önlemede başarılı olduğu kaydedilmiştir (Cervo vd., 2002; Dona vd., 2004).

Hypericum perforatum’un enfeksiyonlara karşı geleneksel kullanımındaki antibakteriyel etkisi uzun zamandır bilinmektedir (Gaind ve Ganjoo, 1959). Hiperforin 1971-1975 yılları arasında Rus araştırmacılar tarafından bulunmuş, üzerinde çalışılmış ve antibakteriyel özelliği o yıllarda tespit edilmiştir. Aynı grup tarafından bileşiğin kristal yapısı elde edilerek konfigürasyonu X-ışını analizi ile kesinleştirilmiştir (Brondz vd., 1983). Hiperforin, kimyasal yapı olarak humulon ve lupulonla benzer olmasına rağmen, sadece sk’da bulunan bir bileşiktir. Kimyasal olarak kararlı olmaması hiperforin üzerinde yapılan birçok çalışmanın süresini uzatmaktadır. (Özcan, 2015; Escop, 2018;).

Schempp ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre bitki içerdiği hiperforin maddesinden dolayı *Staphylococcus aureus* ve diğer gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etki göstermiştir ancak Gram-negatif bakterilere veya *Candida albicans*’a karşı büyüme inhibitörü etkisi göstermemiştir (Schempp vd., 1999). Daha sonra yapılan çalışmalarda bitkinin alkolik ekstrelerinin sulu ekstrele göre daha etkin olduğu; *Hypericum* ekstrelerinin sergilediği antibakteriyel etkinin büyük ölçüde hiperforin ve hiperisinlerden kaynaklandığı, Gram-pozitif bakterilere karşı Gram-negatiflerden daha güçlü olduğu bildirilmiştir (Keles vd., 2001; Tolkunova vd., 2002).

Hypericum perforatum’un yağda çözünen ekstrelerinin, yüzeysel yara, sıyrık, yanık ve deri iltihabındaki uygulamalarda iltihabı azaltarak iyileştirici etkisi olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Maisenbacher ve Kovar, 1992). Diğer taraftan, hiperforin bu güne kadar bildirilen en güçlü siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenaz inhibitörlerini doğal olarak içeren bileşiklerden biridir (Albert vd., 2002). Bu ikili inhibitör etki sk’un tedaviyle ilgili bulgularını ve hiperforinin iltihaplı deri hastalıklarında bölgesel uygulamalar için kullanılmasını açıklayabilir. Son zamanlarda, hiperforinin lökositlerin iltihap önleyici

etkisine, reaktif oksijen türlerinin inhibisyonuna ve elastaz enziminin salınımına da yardım ettiği rapor edilmiştir (Feisst ve Werz, 2004). Hiperforinin, çeşitli epidermal hücrelere lenfosit etkisi göstererek T lenfositlerin artışı üzerinde etkili olduğu da bilinmektedir (Schempp vd., 2000).

Hiperforin yağda çözündüğü için, merkezi sinir sistemine nüfuz etmesi beklenir. Birçok antidepresan ilaç bir ya da daha fazla nörotransmitter (çoğunlukla serotonin) maddenin fazla veya az alınımını engellemek için seçici bir inhibitör olarak davranır. Bu engellemede hiperforin taşıyıcı proteinlerin bağlama noktalarında yarışmalı inhibitör olarak rol oynar. Serotonin, dopamin, noradrenalin, GABA ve Glutamat'ın alınımını engellemede iyi bir inhibitör olarak etki gösterir (Di Carlo vd., 2001; Muller, 2003; Chatterjee vd., 1998)

Nörotransmitter alınımını engellemede değişik taşıyıcı proteinlerinin ortak bir noktası vardır, bunların hepsi sürücü güç olarak sodyum gradientini kullanır, hiperforin ise sodyum gradientini azaltarak engelleyici proteinleri inhibe eder (Singer vd., 1999; Muller vd., 2001).

Ayrıca hiperforin GABA, NMDA ve AMPA reseptörleri aracılığı ile tepkiyi dolaylı olarak engeller, presinaptik kalsiyum kanallarının açılmasını düzenler ve intersinaptik alana nörotransmitterlerin salınımına öncülük etmektedir (Di Carlo vd., 2001).

Hiperforinin β -amiloit öncül proteinleri üzerine özel bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Froestl vd., 2003). Alzheimer hastalarının amloit plakları içinde ekstraselüler β -amiloitlerin büyük çapta birikimi ve kümelenmesi bilinen bir gerçektir (Selkoe, 1994). Hiperforin, amiloit öncülü proteinlerin üzerinde hızlı bir etkiye sahiptir, intraselüler protein öncülü konsantrasyonu azaltır ve sekresyon oranını artırır. Mevcut bilgiler hiperforinin aslında β -sekretaz'lar üzerinde etkisi olduğunu göstermektedir, bu etkiyi de göz ardı etmemek gerekir (Froestl vd., 2003). Alzhemier hastalarında hiperforinin α -sekretaz/ β -sekretaz oranlarının artması üzerinde potansiyel önleyici rolü olup olmadığı araştırılmaktadır.

Sarı kantaron ekstrelerinin hafif ve orta dereceli depresyon hastalarının tedaviye verdiği tepki bakımından plaseboya göre çok daha etkili olduğunu bildiren birçok çalışma vardır (Lehrl ve Woelk, 1993; Hübner vd., 1994; Hansgen ve Vesper, 1996; Laakmann vd., 1998; Philipp vd., 1999; Kalb vd., 2001; Lecrubier vd., 2002; Kasper vd., 2006; 2008a,b).

Yapılan birçok çalışmada antikarsinojenik, antiproliferant, proapoptotik, antiinvazif ve antimetastatik etkilerine dayanarak hiperforinin antineoplastik etkisi yani kanser hücrelerini öldürme potansiyeli olduğunu gösterilmiştir (Schempp vd., 2002). Hiperforin; epitel hücresi kanseri, kötü huylu tümör, kötü huylu beyin tümörü, fibroblasttan türeyen tümör, ilik kanserini içeren memeli kanser hücre hatlarında da yayılmayı önleyici yani antiproliferant etki göstermiştir. Aynı zamanda hiperforinin tümör hücrelerinde apoptosisi arttırdığı da gösterilmiştir (Schempp vd., 2002; Hostanska vd., 2003; Dona vd., 2004).

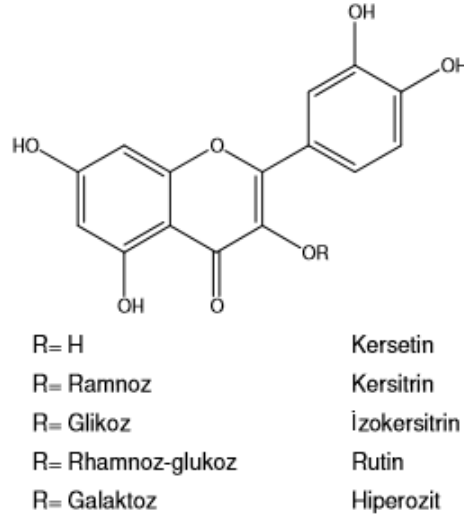
Yapılan ilk çalışmalarda hiperforin, tümör hücrelerinde apoptosis sırasında mitokondrial membranların geçirgenlik potansiyelini hızlı bir şekilde azaltmıştır. Morfolojik olarak değişimlere sebep olarak geçirgenliği etkiler ve mitokondriden sitokrom C salınımını sağlamaktadır (Schempp vd., 2002). 2005'te yapılan bir çalışmada ise hiperforinin *in vitro* ve *in vivo* ortamda anjiogenesi inhibe ettiği ispatlanmıştır (Martinez ve Pedova vd., 2005).

Hiperforinin alerjik ve iltihaplı hastalıklarda inhibitör etkileri de belirlenmiştir. (Feisst ve Werz, 2004). Ayrıca bu etkilerden başka hiperforinin antimalariyal etkisi de vardır (Verotta vd., 2007).

Hiperforin kolayca oksitlendiğinden, ancak azot atmosferinde saklanabilir ve bitki matrisi içinde iken oksitlenmez. Yani, kuru drog ve ekstrede hiperforin, yanında bulunan antioksidan maddelerin etkisiyle bozulmadan kalır (Başer, 2007).

2.3.3. Flavonoidler

Hypericum perforatum içerisinde bulunan bu bileşikler, sarı renkli olmaları nedeniyle Latince “sarı” anlamına gelen “flavus” sözcüğünden türetilerek “flavonoid” adını almışlardır (Bors vd., 1990). Sk içinde bu grupta bulunan flavonoller: kempferol, luteolin, mirisetin, kersetindir. Flavonol glikozitleri grubuna dâhil olanlar ise hiperin, kersitrin, izokersitrin, amentoflavon (I3', II8-biapigenin), luteolin ve rutindir (Hostettmann ve Wolfender, 2005).



Şekil 2.7. Kersetin ve heterozitleri (Yetkin, 2008)

Flavonoitler bitkinin çiçek ve yapraklarında bulunurlar (Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996). Kersitrinin *in vitro* ortamda MAO-A'ı inhibe ederek antidepresan etkide görevli olduğu bildirilmiştir. Rutin de antidepresandır (Linde vd., 1996; Noldner ve Schotz, 2002). Kersitrin aynı zamanda bitkinin hem fototoksik aktivitesinin kontrolünde hem de bitkide antienflamatuar aktivitede rol almaktadır (Wilhelm vd., 2001). Antienflamatuar aktiviteyi protein kinaz C'yi inhibe ederek, lipopolisakkarit ve sitokinleri azaltarak göstermektedir (Tedeschi vd., 2003; Sanchez-Mateo vd., 2006). Kersetin ve apigeninin bazı tümör hücrelerinin büyümesini baskıladığı ve apoptozisi indüklediği 2004 yılında Roscetti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir (Roscetti vd., 2004).

Amentoflavonun serotonin geri emilim inhibitörü olduğu için amentoflavon yapıda olan 3', 8''-biapigenin maddesi ve hiperozidin bitkinin sedatif etkisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Berghöfer ve Hölzl, 1989). 3',8''-biapigenin *in vitro* ortamda benzodiazepin reseptörlerine bağlanma aktivitesi göstermektedir. Ayrıca sedatif, antienflamatuar, antioksidan etkilerinin olduğu, ülser gelişimini inhibe ettiği ve yara iyileştirmede etkili olduğu gösterilmiştir (Mazza ve Oomah, 1998; Mills ve Bone, 2000; Hammer vd., 2007).

Yapılan analitik çalışmalar, *H. perforatum* örneklerinde hiperisin, hiperforin ve flavonoitlerin miktar tayinlerinde genellikle diyot array (diode array detector, DAD), floresans, elektrokimyasal ve ultraviyole (UV) gibi değişik detektörlerle donatılmış ters faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile elektron-sprey ve nükleer

magnetik rezonans (NMR) gibi çeşitli tipte detektörler taşıyan sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) yöntemleri tercih edilmektedir (Piperopoulos vd., 1997; Tatsis vd., 2007). Ayrıca, kapiller elektroforez, yakın infrared reflektans spektroskopisi (near-infrared reflectance spectroscopy, NIRS), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ve ince tabaka kromatografisi densitometresi gibi yöntemlerle de hiperisin ve hiperforin miktar tayinleri yapılmıştır (Kartning ve Göbel, 1992; Seger vd., 2004).

2.3.4. Proantosiyanidinler ve prosiyanidinler

Sk'da bulunan proantosiyanidinler ve prosiyanidinler; kateşinin dimer, trimer, tetramer ve polimerleri ile epikateşindir. Bitkinin sapında, meyvelerinde ve yapraklarında bulunur (Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996). Kateşinin antioksidan etkisi vardır (Mazza ve Oomah, 1998).

2.3.5. Tanenler

Tanenler bitkinin yaprakları, sapı ve meyvelerinde bulunurlar (Gaedcke, 2003). Antidiyareik ve antioksidan etkiden sorumludurlar. Ayrıca kan dindirici ve damar büzücü etkileri vardır. Bunlarla birlikte bitkiye yara iyi edici etkide destek olurlar (Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998). Tümör hücrelerinde de büyümeyi inhibe ettikleri ve apoptozisi indükledikleri bilinmektedir (Roschetti vd., 2004).

2.3.6. Uçucu yağlar

Sarı kantaronda bulunan uçucu yağlar arasında ana bileşenler çoğunlukla kullanılan kısım, toplama mevsimi ve lokaliteye göre değişmektedir (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Deveci, 2014). α ve β -pinen, β -mirsen, limonen, α ve β -selinen, α -verbenol, β -karyofilen, 2-metil oktan, n -dekan, n -tetradekanol, n -undekan, n -nonan, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan, geraniol, β -farnesen, humulen ve germakren D gibi terpenler tespit edilmiştir (Brondz vd., 1983; Linde vd., 1996; Yıldırım vd., 2009, Deveci, 2014).

Tablo 2.3.'de bazı ülkelerden toplanan *H. perforatum* içerisinde bulunan uçucu yağ bileşimi, oranları ve verimleri verilmiştir.

Tablo 2.4. *H. perforatum* uçucu yağ çalışmaları

Bileşikler (% bağıl yüzde bileşimi)	Bitki organı	Bitki kökeni	Uçucu yağ verimi %	Kaynaklar
α -pinen (61,7), 3-karen (7,5), β -karyofilen (5,5), mirsen (3,6), kadalın (3,2), β -pinen (3)	Çiçekli dal uçları, kurutulmuş	Türkiye	0,19% w/w k.a.*	Cakir vd. 2005
β -karyofilen (4,1-5,9), δ -muurolne (5,0-9,6), β -selinen (5,1-19,6), α -selinene (4,1-10,4), δ -kadinen(3,0-4,9), spathulenol(2,3-5,1), karyofilen oksit (6,0-12,2)	Toprak üstü, Kurutulmuş	Türkiyenin kuzeyi	0,04-0,5% w/w k.a.*	Çırak vd. 2010
dimetilheptan (0,6-6,6), α -pinen (1,1-6,9), β -karyofillen (5,1-19,1), β -farnesen (tr-8,2), germakren D (4,5-31,5), spatulenol (3,9-8,5), karyofilen oksit (6,1-35,8), α -kadinol (2,2-6,2)	Toprak üstü, kurutulmuş	Litvanya	0,1-0,4% w/w k.a.*	Mockute vd. 2003 (var. <i>angustifolium</i>)
β -karyofillen (0,64-19,2), 10-metil-1-undeken (0-14,6), 1-tetradekanol (5,08-23,75), palmitik asit (0-10,27), <i>n</i> -eikosan (0-30,86)	Toprak üstü, Kurutulmuş	Tunus, Sırbistan	0,03-1,93% w/w k.a.*	Mimica Dukic vd. 1998 (var. <i>perforatum</i>)
α -pinen (23,6-2,1), β -karyofillen (3,7-10,0), germakren D (5,1-13,4)	Toprak üstü, Kurutulmuş	Portekiz	0,1-0,5% w/w k.a.*	Nogueira vd. 1999
2-metiloktan (16,4), α -pinen(11)	Çiçekli dal uçları, kurutulmuş	İtalya	0,02% w/w k.a.*	Chialva vd. 1981
germakren D (23,0), β -karyofilen(14,0), bisiklogermakren (5,0), karyofilen oksit (4,0) spatulenol (4,0)	Toprak üstü, Kurutulmuş	Türkiye	0,18% w/w	Alan vd. 2010

*k.a.:kuru ağırlık *w/w:ağırlıkça yüzde

Bitkideki uçucu yağ oranı %0,1 ile %0,25 arasındadır (EMA, 2009). Bitkinin sedatif, antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin bir kısmı da uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır (Mills ve Bone, 2000; Gudzc vd., 2002; Couladis vd., 2003; Cakir vd., 2005; Alan, 2010).

H. perforatum ve cinsin diğer türlerinin hidroalkolik ekstraktları, antiviral, antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, anksiyolitik ve antikonvülsan ajanlar olarak araştırılmıştır (Linde vd., 1996).

2.3.7. Aminoasitler

Sk'da bulunan aminoasitler; GABA, sistein, glutamin, ornitin, lözin, lizin, tironin ve prolindir. Aminoasitler genellikle bitkinin çiçek ve yapraklarında bulunurlar (Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996).

2.3.8. Fitoöstrojenler

Bitkide tespit edilen fitoöstrojenler; genistein ve β -sitosterol'dür. Bu maddelerin kolesterol düşürücü etkileri mevcuttur (Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998).

2.3.9. Ksanton türevleri

Bitkide bulunan ksanton; noratirioldür. Sk'un kök ve çiçeklerinde bulunur (Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996). Diüretik ve kardiyotonik etkisi bilinmektedir. Çalışmalar sonucunda in vitro ortamda MAO-A inhibitörü oldukları kanıtlanmıştır (Cass, 1998; Mills ve Bone, 2000). Ayrıca ksantonlar antidepresan, antiviral, antimikrobiyal, kardiyotonik ve diüretik etkiye de yardımcıdırlar (Kitanov ve Blinova, 1987; Hölzl vd., 1989).

2.3.10. Kumarinler

Bitkide mevcut bulunan kumarinler; umbellifon ve skopoletindir. Umbellifonun antienflamatuar ve analjezik etkisi vardır. Kumarinlerin MAO-B inhibitörü oldukları bilinmektedir (Linde vd., 1996; Mills ve Bone, 2000).

2.3.11. Epoksantrofiller

Bitkinin yanık iyi edici özelliğinin kaynağı epoksantrofillerdir (Linde vd., 1996).

2.3.12. Diğer maddeler

Bitkide bulunan diğer maddeler; fenolik karboksilik asitler (kaffeik, klorojenik, ferulik, *p*-kumarik, isoferulik ve gentisik asit), diğer organik asitler (isovalerianik, laurik, nikotinik, miristik, palmitik ve stearik asitler), karotenoidler (leutein, luteoksanthin, violaksanthin, filobafin, *cis*-thorliksanthin, tirollikromon, vitamin C, kolin, pektin ve rodandır (Linde vd., 1996). Kumarik, kaffeik ve ferulik asitler bitkinin antioksidan, antimikrobiyal, antiviral aktivitesinden sorumludur (Nahrstedt ve Butterweck, 1997;

Skergert vd., 2005). Karotenoidlerin ve fenolik maddelerin yara iyi edici etkileri vardır (Süntar vd., 2010). Polifenollerin mononükleer fagositlerin aktivitesini güçlendirici etkisi olduğu belirlenmiştir (Cass, 1998; Linde vd., 1996).

2.4. *Hypericum perforatum*' un Bazı Farmakolojik Etkileri

Bu bölümde sarı kantaron bitkisi etkileri yanında özellikle masere yağının farmakolojik etkileri daha detaylı incelenmiştir.

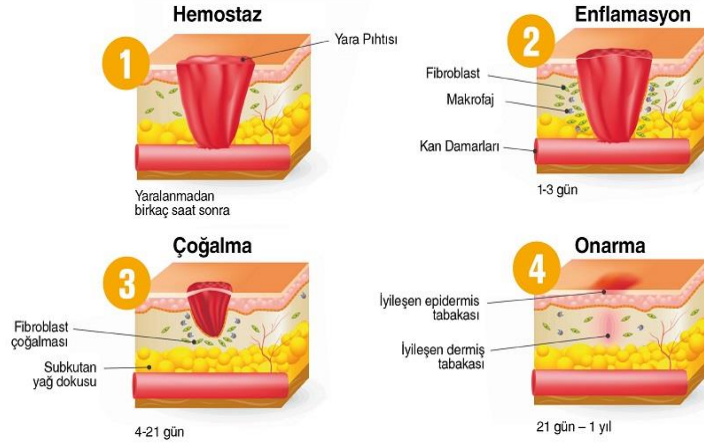
2.4.1. Antidepresan etki

Hypericum ekstresi üzerinde yapılan çalışmalarda antidepresan aktivitenin olduğu yıllardır bilinmektedir. 2000'li yıllarla birlikte yapılan çalışmalarda bu etkiden hiperisinin yanında hiperforinin de sorumlu olduğu açığa kavuşturulmuştur. Majör etki bu iki maddeden kaynaklanmaktadır. Hiperforinin serotonik geri emilim inhibitörü etkileri yanında GABA ve L-glutamat reuptake inhibisyonu etkileri de ispatlanmıştır. Ayrıca bitkide bulunan ksanton türevi noratiriol, kumarin türevi umbellifon, flavanoidlerden kersitrin ve rutin de antidepresan etkide yardımcı rol oynar (Westerhoff vd., 2002). Bitkinin içeriğinde bulunan melatonin de bu etkiye bir miktar katkı sağlamaktadır (Murch vd., 2003).

2.4.2. Yara iyi edici ve antiinflamatuar etki

Yara, yumuşak dokuları oluşturan yapıların herhangi bir kesici, delici ve buna benzer cisimler ile normal anatomik durumunda değişiklik oluşması devamında bu doku fonksiyonlarının bozulmasıdır (Karasu ve Bakır, 2008; Yanık, 2012). Yara oluştuktan sonra vücutta iyileşme süreci başlar.

Yara iyileşmesinin başarılı bir şekilde tamamlanmasında kollajen proteininin önemi büyüktür. Vücutta bolca bulunan kollajen dokuyu kuvvetlendirip desteklemektedir. Yapısındaki temel aminoasitlerden olan hidroksiprolindir yara tedavisi için önemli bir belirteçtir (Nayak vd., 2009).



Şekil 2.8. Yara iyileşme evreleri (<http-9>).

Süntar ve arkadaşları *H. perforatum*'un antienflamatuar etki gösterdiğini, enfeksiyona direnci artırdığını rapor etmiştir. Antienflamatuar bu etki fibroblast göçünü artırdıklarından ve kollajen sentezindeki artıştan kaynaklanmaktadır (Öztürk vd., 2007; Süntar vd., 2010).

Sk'un bitki özütünün *in vitro* olarak antibakteriyel aktivitesinden ötürü geleneksel tıpta, özellikle yara tedavisinde, deri hastalıkları ve bulaşıcı hastalıklarının tedavisinde kullanımını destekleyen bir dizi çalışma mevcuttur (Brondz vd., 1982; Tolkunova vd., 2002). Bir çalışmada sk ekstresi içeren merhemın yanık iyileşme süresini kısalttığına ve antiseptik etkinlik gösterdiğine değinilmektedir (Saddiqe vd., 2010). Rapora göre geleneksel yöntemlerle yapılan tedavilerle kıyaslandığında merhem ile tedavi edilen birinci derece yanıklar 48 saat içinde iyileşmiş, ikinci ve üçüncü derece yanıklar ise keloid (deride fibröz hiperplastik yara izi) bırakmadan üç kat daha hızlı iyileşmiştir (Süntar ve vd., 2010)

H. perforatum ekstrelerinin yalnız başına veya bazı bitki ekstreleriyle kombine halde topikal olarak kullanımında gösterdiği yara iyileştirici aktivite genellikle fareler üzerinde denenmiştir (Prisacaru vd., 2013; Sayar vd., 2014). *In vitro* olarak fibroblast hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar vardır (Dikmen vd., 2011; Hostanska vd., 2012). 2017 yılında ise İtalya'da ilk kez atlar üzerinde bir çalışma yapılmıştır (Elisabetta vd., 2017). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar da mevcuttur (Süntar vd., 2010; Mainetti ve Carnevalli, 2013; Wölfe vd., 2014). Bu çalışmalarda oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

İnsanoğlu tarih boyunca yaraların hızlı ve sağlıklı bir biçimde iyileşmesi amacı sarı kantaron bitkisinden maserasyon ile elde edilen yağı da kullanmıştır (Greenson vd., 2001).

Litaratür taramalarında *H. perforatum*, *in vivo* ve *in vitro* ortamda *Staphylococcus aureus*'a karşı sülfonilamidden daha etkili olduğu bulunmuştur. Kaynaklara göre etkili olduğu diğer gram pozitif ve gram negatif bakteriler; *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998; Mills ve Bone, 2000).

Bir başka çalışmada ise, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.*, *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve beta-hemolitik streptokoklar üzerinde hiçbir antibakteriyel etkinliğinin olmadığı gözlenmiştir (Şengül vd., 1991). Hiperforin Gram-negatif bakterilere veya *Candida albicans*'a karşı inhibitör etkisi göstermemiştir (Schempp vd., 1999).

Bitki ekstresinde antibakteriyel ve yara iyi edici etki hiperforin ve ksanton türevi olan, fenolik asitlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca antibakteriyel etkiden noratiriol ve uçucu yağlar da sorumludur (Ladeira vd., 2009). Yara iyileştirici etkilerden antienflamatuvar özelliğinden dolayı hiperisin, kersitrin ve I3', II8-biapigenin ile birlikte karotenoidler ve epoksantrofiller de sorumludur (Hammer vd., 2007). Tanenler damar büzücü ve kan dindirici etkisinden dolayı bitkiye yara iyileştirici etkide destek olmaktadır (Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998).

Başka bir çalışmada, *H. perforatum*'un çiçekli dal uçlarından masere edilen zeytinyağı özütü *in vivo* eksizyon ve insizyon modelleri ile yaralara uygulanmıştır. Yağın yara iyileşmesi aktivitesi değerlendirilmiştir. Sonuçlarda bitkinin zeytin yağı özütünün eksizyon ve sirküler insizyon yöntemlerinde belirtilen oranlarda önemli bir iyileştirici etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Süntar ve vd., 2010).

2.4.3. Antikanser, antitümoral ve antioksidan etki

Hiperisin ve hiperforinin farklı kanser türlerinde programlı hücre ölümüne sebep olarak kanser oluşumu ve gelişimini önlediği belirlenmiştir (Hostanska vd., 2003; Schempp vd., 2002). Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalarda sk'un bu etkilerinde içerdiği flavanoidlerden kersetin başta olmak üzere apigenin, hiperozit, fenolikler ve katesinin sorumlu olduğu ortaya çıkarılmıştır (Martarelli vd., 2004; Kintzios, 2006). Bitkide bulunan tanenlerin de antioksidan etkisi olduğu bilinmektedir (Mazza ve Oomah, 1998).

2.4.4. Antiviral etki

Hypericum türleri geleneksel tıpta kabakulak, hepatit, bağırsak tümörleri gibi viral kökenli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Andrade vd., 1998; Ishiaguro vd., 1998). Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nün çalışmalarına göre *Hypericum* türlerinden elde edilen bazı metabolitler oldukça güçlü antiviral etkiler göstermektedir (Mckee vd., 1998; Fuller vd., 1999). Özellikle hiperisin ve psödohiperisin daha güçlü antiviral etkinliğe sahiptir (Schmitt vd., 2001). Ayrıca bu etkide ksanton türevlerinden noratiriol ve fenolik asitlerin görevi vardır (Nahrstedt ve Butterweck, 1997).

2.4.5. Diğer etkiler

Hypericum perforatum ekstrelerinde görülen diğer etkilerden sorumlu olan etken maddeleri şöyle sıralayabiliriz. Analjezik etki için kumarin türevlerinden umbellifon; sedatif etki için flavanoitlerden amentoflavon (I3', II8-biapigenin), hiperozid, uçucu yağlar ve kateşin (Berghöfer ve Hölzl, 1989); diüretik etkiden sorumlu olan ksanton türevi noratiriol; kardiyotonik etkide yine noratiriol, fenolik asitler ve tanenler (Nahrstedt ve Butterweck, 1997); antidiyareik etkide yine tanenler (Linde vd., 1996); antifungal etkide ise uçucu yağların etkisi görülmektedir (Ladeira vd., 2009).

Bunlardan genel olarak anlaşılmalıdır ki bir bitkide hiçbir etken madde tek bir biyoaktiviteden tek başına sorumlu olmamakla birlikte birkaç etkide görevlidir. Bu durumun tam tersi de geçerlidir. Yani hiçbir biyoaktivite için bir etken madde tek başına sorumlu değildir. Bu durumda sinerji söz konusudur. Birlikte olduklarında daha güçlü etki ortaya çıkmaktadır. Örneğin hiperforin ve hiperisinin sinerjistik aktivitesinin yanı sıra, flavanoitler ve biflavonlar gibi diğer bileşenlerin varlığı geleneksel preparatların neden güçlü etkinlik gösterdiğini açıklayabilir.

Tablo 2.5. *Hypericum* türlerinde aktiviteden sorumlu bileşikler

Aktiviteleri	Bileşikler	Kaynaklar
Antidepresan	Hiperforin, Hiperisin, Noratiriol, Umbellifon, Kersitrin ve Rutin, Melatonin	Öztürk vd, 2007; Wirz vd., 2000; Gaster ve Holroyd, 2000
Antibakteriyel	Hiperforin, Hiperisin, Noratiriol, Fenolikler, Uçucu yağlar	Saddiqe, 2010; Brondz vd., 1982; Tolkunova vd., 2002
Antienflamatuar	Hiperisin, Kersitrin, Amentoflavon (I3', II8-biapigenin), Umbellifon	Linde vd., 1996; Mills ve Bone, 2000
Yara iyi edici	Hiperforin, I3', II8-biapigenin, Fenolik asitler, Kerotonoitler, Epoksantrofiller, Tanenler	Çırak ve Kurt, 2014; Öztürk vd., 2007; Süntar vd., 2010
Analjezik	Umbellifon	Berghöefer ve Hölzl, 1989
Sedatif	I3', II8-biapigenin, hiperozid, uçucu yağlar	Gudzic vd., 2002; Couladis vd., 2003
Antiviral	Hiperisin, Psödohiperisin, Noratiriol, Fenolikler	Schmitt vd., 2001; Nahrstedt ve Butterweck, 1997
Antikanser	Hiperforin, Hiperisin, Kersetin, Apigenin, Hiperozid, Fenolikler, Kateşin	Martarelli vd., 2004; Schempp vd., 2002
Kardiyotonik etki	Noratiriol, Fenolik asitler	Nahrstedt ve Butterweck, 1997
Antidiyareik	Tanenler	Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998
Diüretik	Noratiriol	Nahrstedt ve Butterweck, 1997
Antifungal	Uçucu yağlar	Saddiqe ve diğerleri, 2010

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Bu başlık altında deneysel çalışmalarda kullanılan bitkisel materyal, standart maddeler, besi ortamları, kimyasal maddeler, reaktifler, çözücüler, cihazlar, apareyler ve kullanılan yöntemler detaylı olarak sunulmuştur.

3.1. Bitkisel Materyal

Eskişehir, Yukarı Kalabak köyü çevresinden toplanan (Temmuz 2019) örnekler 2 saat içinde araç tipi soğutucuda laboratuvara getirilerek, ayıklanmış ve ekstre edilene dek -85°C de saklanmıştır. Bir kısmı gölgede kurumaya bırakılmıştır. Toplanan *Hypericum perforatum* Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda muhafaza edilmektedir (ESSE No: 15520). Örneklerin sadece gövdesinden ayrılan çiçekli dal uçları kullanılmıştır (Görsel 3.1).



Görsel 3.1. Deneylerde kullanılan *H. perforatum* 'un çiçekli dal uçları

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Standart Maddeler

Maseraşyon işlemleri için soğuk sıkım yöntemi ile elde edilen ticari 8 farklı sabit yağ kullanılmıştır. Bunlar; aspir (A1), ayçiçek (A2), ceviz (A3), kanola (A4), keten (A5), susam (A6), tatlı badem (A7) ve zeytinyağıdır (A8). Keten yağı Dikmaksan (Antalya), diğer yağlar Zadevital (Konya) firmasından temin edilmiştir.

Çalışmalarda kullanılan kimyasal madde ve çözücüler ile bunların markaları aşağıdaki listede belirtilmiştir. Tablo 3.1.'de yer alan çözücüler örnek hazırlamada, ekstraksiyonda, antimikrobiyal testlerde ve SK/KS (Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi) yöntemi için mobil fazların hazırlanmasında kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan çözücü/kimyasal madde ve markaları

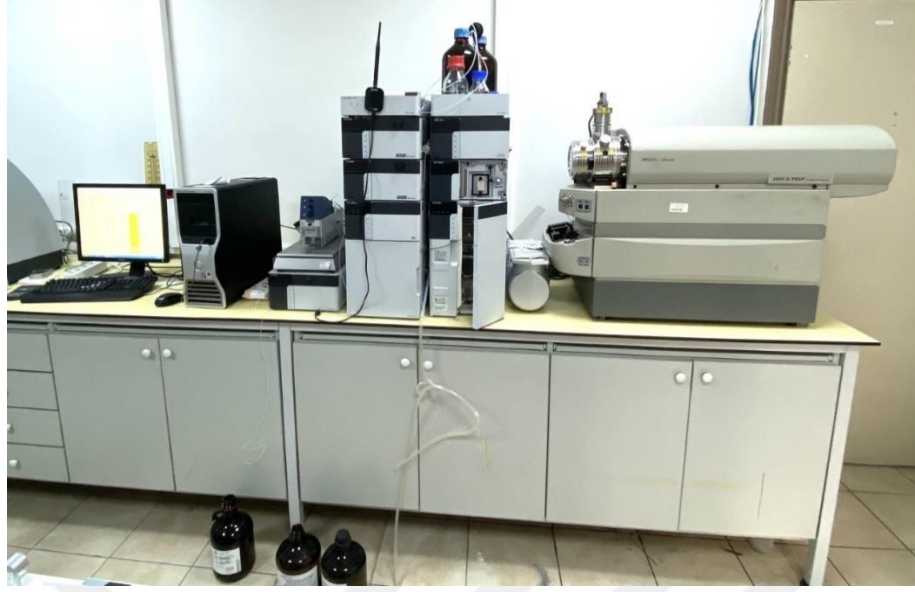
Çözücü/Kimyasal Madde/Besiyeri	Marka
Hiperforin tuzu (Dicyclohexylammonium)	Sigma-Aldrich
Hiperisin	Sigma-Aldrich
Metanol	Merck
Kloroform	VWR
İzopropil Alkol	Merck
Tween 20	Merck
Dimetil sülfoksit	Merck
%0,85 NaCl çözeltisi	Sigma-Aldrich
Mueller-Hinton Agar (MHA)	Sigma Aldrich
Mueller-Hinton Broth (MHB)	Sigma Aldrich
Patates Dekstroz Agar (PDA)	Sigma Aldrich
Kloramfenikol	Sigma Aldrich
Ketokonazol	Merck
Hint yağı	Merck

3.3. Kullanılan Cihaz ve Aparentler

Deneylerde kullanılan cihaz ve aparentlere ilişkin bilgiler Tablo 3.2.' de verilmiştir.

Tablo 3.2. Deneyler kullanılan cihaz/aparent ve markaları

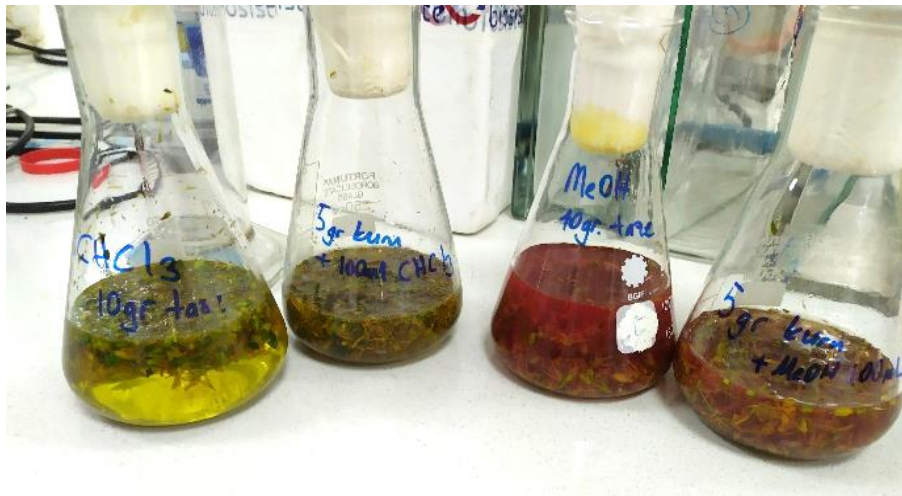
Kullanılan Cihaz ve Aparentler	Marka
Sıvı Kromatografi/Kütle Spektrometresi	Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS
Steril Kabin	Nükleon
Vortex	Ika
Etüv	Incucell
Ultrasonik Su Banyosu	Bandelin Sonorex
McFarland Densitometre	Biosan
Ultrasonik Su Banyosu	Elma, S100H
Rotavapor Sistemi	Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
Hassas Terazı	Metler Toledo, NewClassic MS
Spektrofotometre	Shimadzu UV 1700



Görsel 3.2. Shimadzu ABSciex 3200 Q trap SK-KS/KS sistemi

3.4. Kuru ve Yaş Bitkisel Materyalde Hiperforin/Hiperisin Miktar Tayini

Bitkisel materyaldeki hiperforin ve hiperisin tayini için, toplanan materyalin bir kısmı gölgede kurutulduktan sonra, diğer kısmı da taze şekilde metanol ve kloroform ile ayrı ayrı ekstre edilmiştir. 24 saat boyunca ağzı pamukla kapalı erlen içinde oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda ışık görmemesi için alüminyum folyo ile sarılarak ekstraksiyona bırakılmıştır. Ekstreler süzülüp rotavaporda yoğunlaştırılmıştır (Görsel 3.3.).



Görsel 3.3. Bitkisel materyalin çözücü ekstraksiyonu



Görsel 3.5. Kullanılan sabit yağlar soldan sağa; aspir, ayçiçek, ceviz, kanola, keten, susam, tatlı badem, zeytinyağı (A1-A8)

Devlet Meteoroloji Enstitüsünden temin edilen maserasyonun yapıldığı günlerdeki Eskişehir ili günlük ortalama en düşük ve en yüksek sıcaklıkları da Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3. Maserasyon süresince 45 günlük gündüz/gece sıcaklık ortalamaları (1 Ağustos-15 Eylül)

Gün	En yüksek/En düşük sıcaklık	Gün	En yüksek/En düşük sıcaklık	Gün	En yüksek/En düşük sıcaklık
1	34/18°C	16	29/17°C	31	29/11°C
2	31/15°C	17	28/15°C	32	32/15°C
3	32/13° C	18	23/13°C	33	30/14°C
4	28/14° C	19	27/10°C	34	29/15°C
5	26/11°C	20	26/13°C	35	27/13°C
6	28/10°C	21	24/15°C	36	27/12°C
7	30/10°C	22	29/18°C	37	28/10°C
8	32/10°C	23	30/17°C	38	27/11°C
9	33/13°C	24	32/15°C	39	29/9°C
10	33/13°C	25	33/14°C	40	30/10°C
11	32/13°C	26	33/15°C	41	28/12°C
12	34/12°C	27	32/14°C	42	27/13°C
13	33/11°C	28	30/13°C	43	26/12°C
14	36/14°C	29	31/13°C	44	32/15°C
15	34/21°C	30	28/14°C	45	30/14°C

İkinci maserasyon yöntemi olarak su banyosunda yine taze çiçekler kullanılarak daha hızlı ekstraksiyon yöntemi olan dijesyon seçilmiştir (Baytop, 1999). 10 g bitkisel materyal ve 40 g baz yağ olacak şekilde (1:4) hazırlanan karışım, ağzı folyo ile kapalı beherlerde 2 saat boyunca su banyosunda 45°C’de dijesyona bırakılmıştır. Erlenler ara sıra cam bagetle karıştırılmış, deney sonunda pamuktan süzülerek kapaklı falkon tüplerde -20°C’de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir (Görsel 3.6.).



Görsel 3.6. Su banyosunda dijesyon yöntemi

Her iki yöntemle elde edilen susuz maseratlar izopropil alkolde çözüldükten sonra membran filtreden süzülerek SK/KS (Sıvı Kromatografisi/Kütle spektrometresi) sistemi kullanılarak hiperisin ve hiperforin miktarları belirlenmiştir.

3.6. Antimikrobiyal Etki Testleri

Elde edilen maseratların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi için yara enfeksiyonları etmenlerinden Gram (+) bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) ve *Candida albicans* (ATCC 90028) test mikroorganizmaları olarak seçilmiştir. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesinde agar difüzyon yöntemi (Koneman vd., 1997) ve kısmen modifiye edilmiş sıvı mikro dilüsyon yöntemi (CLSI M7/A7) kullanılmıştır.

3.6.1. Test örneklerinin hazırlanması

H. perforatum maseratlarının antibakteriyal ve antifungal etkisini test edebilmek için öncelikle yağın ve bileşimindeki maddelerin hidrofilik karakterdeki agarlı besi yerine

kolay difüze olabilmesi için uygun çözücü sisteminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için doğrudan uygulamalar yanında, antimikrobiyal etkisi düşük uygun bir homojen çözücü sistemi eldesi için çeşitli denemeler yapılmıştır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. Antimikrobiyal testlerde örneklerin uygulanma şekilleri

Uygulama Şekilleri	
1.	Kâğıt disklere (6mm) yağlardan doğrudan 20 µL emdirilmiştir
2.	Yağların her birinden petride açılan kuyucuklarına doğrudan 40 µL pipetleme
3.	10 µL kantaron yağı: 5000 µL çözücüde [% 0,5'lik Tween 80:DMSO]
4.	100 mg kantaron yağı 1 mL İzopropil alkol (İPA)
5.	Kantaron yağı: Hint yağı: Distile Su (5:4:160)
6.	Kantaron yağı: %5 Tween 20 (1:40)

3.6.2. Agar difüzyon yöntemi

Staphylococcus aureus için besi yeri Mueller Hinton Agar (MHA), *Candida albicans* için Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanılmıştır. Besi yerleri 13 cm çaplı steril plastik petri kaplarına aseptik şartlar altında tam olarak 20'şer mL olacak şekilde dökülmüş ve donması beklenmiştir. -85°C'de saklanan kültürler 1 gün önceden canlandırılmıştır. Gecelik kültürlerden Mueller Hinton Broth besi yerinde mikroorganizma süspansiyonları McFarland No: 0,5'e göre (bakteri için 1×10^8 KOB/ml; mayalar için 1×10^6 KOB/ml) ayarlanmıştır. Bu süspansiyonlardan agarlı petrilere steril eküvyon çubuğu ile aşılama yapılarak, agar yüzeylerinin kuruması beklenmiştir. 6mm çaplı steril kork-borer ile her petriye eşit aralıklarla kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara 40 µL örnek pipetlenmiştir. Bu çalışmaya paralel olarak 6mm çapında kağıt diskler de kullanılmıştır. 15, 30 ve 45 gün sonunda elde edilen maseratlar, su banyosunda dijesyona bırakılan örnekler ve yine aynı şartlarda bekletilen sabit yağlar da test edilmiştir. Standart antimikrobiyal ajan olarak kloramfenikol ve ketokonazol kullanılmıştır. Çözücü ile uygulanan deney setlerinde çözücü kontrolü de yapılmıştır.

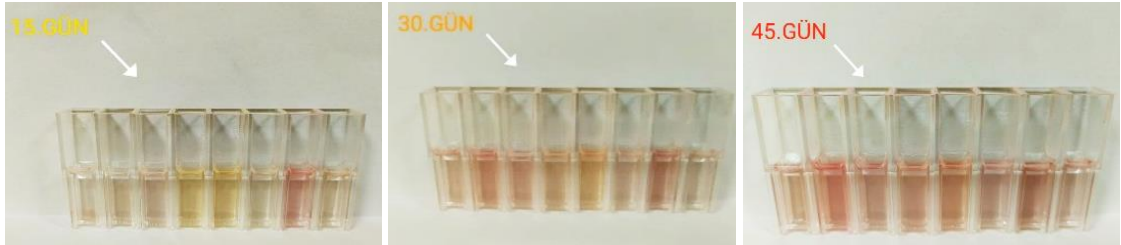
3.6.3. Mikrodilüsyon testi

Disk difüzyon testinde etki görülen *S. aureus* patojenine karşı tüm maseratların MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerinin hesaplanabilmesi için CLSI-M7/A7 mikrodilüsyon testi uygulanmıştır. Bu testte örnekler disk difüzyon testinde sonuç veren çözücü sistemi kullanılarak uygulanmış, paralel şekilde deney tamamlanmıştır. 25 µL Kantaron yağı %20'lik Tween20 içinde çözülmüştür.

3.7. Maseratların Kolorimetrik Ölçümü

Kantaron yağının karakteristik kırmızı renginin farklı sabit yağlarda farklı şiddetlerde ve tonlarda olduğu bilinmektedir (Heinrich vd., 2017). Bu bilgiden yola çıkılarak denediğimiz sabit yağlarda meydana gelen kırmızı rengin şiddeti spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.

Her bir maserat için 580 nm'de ölçüm yapılmıştır. Sağlıklı ölçüm yapabilmek için 15, 30 ve 45. günlere ait maseratlar ile bu maseratlarda kullanılan sabit yağlardan alınan 100 µL örnekler, 1000 µL İzopropil alkol (İPA)'da çözülerek ölçümler yapılmıştır (Görsel 3.7.).



Görsel 3.7. Sırası ile maseratların 1/10 IPA içindeki çözeltileri

3.8. Sıvı Kromatografisi/Külte Spektrometresi ile Hiperforin ve Hiperisin Miktar Tayini

Sistem	: Shimadzu 20A HPLC - ABSciex 3200 Q trap MS/MS
Metod	: ESI Negatif İyonlaşma Metodu
Kolon	: GL Science Intersil ODS 4.6 × 250, 5 µ
Kolon Sıcaklığı	: 35°C
Hareketli Faz	: (A) Su: Metanol (95:5) 5 Mm Amonyum Format, %0.01 Formik Asit (B) Metanol 5 Mm Amonyum Format, %0.01 Formik Asit

Akış Hızı : 0.3 mL/dk
Enjeksiyon hacmi : 1 µL
Akış programı : Akış programı (Tablo 3.5.)

Tablo 3.5. SK/KS akış programı

Zaman(dk)	B kons
0.01	5
2	80
5	90
12	100

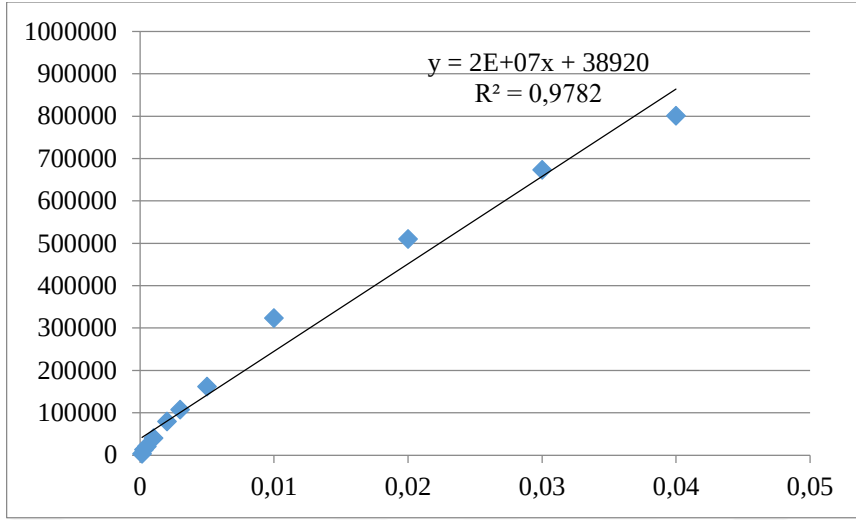
Tüm yağ örneklerinin 0,5 g'ı 4,5 mL kloroform:metanol (4:6) karışımı ile çözülmüş, filtre edildikten sonra SK-KS/KS sistemi ile analiz edilmiştir. Hiperforin miktar tayini için m/z 535 [M-H]⁻ iyonunun m/z 383 [M-H]⁻ parçalanma iyonu kullanılmış diğer parçalanma ürünleri olan m/z 315 ve m/z 313 varlığı da madde doğrulaması için kullanılmıştır. Hiperisin için ise m/z 503 [M-H]⁻ iyonunun 405 [M-H]⁻ parçalanma iyonu miktar tayininde kullanılırken m/z 361 iyonu doğrulama amacıyla kullanılmıştır.

Standartları 2-propanol içinde hazırlanan çözeltileri 0,15 µg/mL, 0,30 µg/mL, 0,50 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL olacak şekilde verilmiştir. Hiperforin için kalibrasyon eğrisinde tüm noktalar kullanılırken hiperisin için 3 µg/mL'den yüksek standartlar kalibrasyon eğrisinde kullanılmamış, ağırlıkça kalibrasyon eğrisi tercih edilmiştir.

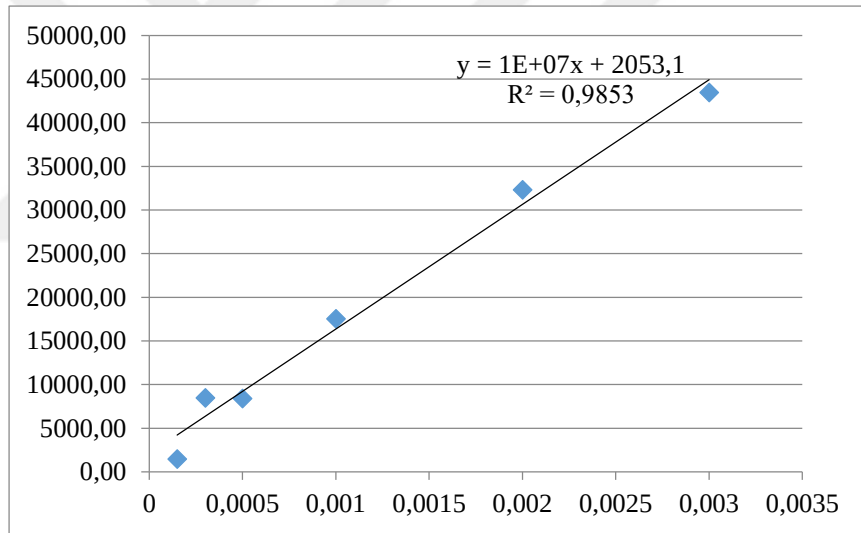
Analiz işlemlerinde geri kazanımları belirlemek için 0,5 g zeytinyağına 200 µg hiperforin ve 100 µg hiperisin ayrı ayrı eklenmiş ve yukarıda anlatılan ekstraksiyon metodu uygulanmıştır.

Şekil 3.1.'de hiperforinin, Şekil 3.2.'de hiperisinin kalibrasyon grafikleri verilmiştir. Geri kazanım hiperforin için %50, hiperisin için %40 olarak bulunmuştur.

Hiperforin için LOD: 9,05 µg/mL LOQ: 27,42 µg/mL, Hiperisin için LOD: 0,7 µg/mL LOQ: 2,31 µg/mL olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Hiperforin kalibrasyon grafiği



Şekil 3.2. Hiperisinin kalibrasyon grafiği

4. BULGULAR

4.1. Kuru ve Yaş Bitkisel Materyalde Hiperisin ve Hiperforin Miktar Tayini

Taze ve kuru bitkisel materyal, maserasyon deneylerine başlanmadan önce hiperforin ve hiperisin miktarı bakımından incelenmiştir.

Miktar tayini için kuru ve yaş materyal metanol ve kloroform ile ayrı ayrı ekstre edilmiştir. Bitkisel materyalin ekstre verimi, kuru ekstraler içindeki hiperforin ve hiperisin oranları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Bitkinin ekstre verimi, hiperforin ve hiperisin miktarı

Ekstre	Ekstre verimi %	% hiperforin	% hiperisin
Taze materyal / MeOH (10 g)	3,47	5,2	0,988
Taze materyal / CHCl ₃	2,69	0,03	0,022
Kuru materyal / MeOH (5 g)	15,49*	10,9*	0,707
Kuru materyal / CHCl ₃	5,71	7,3	0,003

Rotavapor ile çözücüsünden kurtarılan ekstraler, amber vial içinde +4°C'de saklanmıştır. Daha sonra ekstraler hiperforin ve hiperisin miktar tayini SK-KS (Sıvı Kromatografisi/Kütle spektrofotometresi) ile analiz edilmiştir. Gölgede 4-5 gün içerisinde kurutulan materyalden elde edilen MeOH ekstresinin en yüksek ekstre verimine ve hiperforin oranında sahip olduğu görülmüştür. Ancak yaş materyaldeki su miktarı (yaklaşık %80) hesaba katıldığında %5,2 olarak bulunan hiperforin oranı ekstre edilebilen materyal oranına göre hiperforinin yaş materyalde bir miktar daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun saptanması için daha detaylı çalışma gerekmektedir.

Geleneksel yöntemde yaş veya kuru biçimde materyal kullanılmakla birlikte, kuru çiçeklerin kullanılması sonucunda daha büyük miktarda droğun ekstraksiyonda kullanılabileceği, böylelikle maseratta daha yüksek oranda hiperforin oranı elde edilebileceği anlaşılmaktadır.

4.2. Antimikrobiyal Etki Testleri

4.2.1 Agar difüzyon deneyi

Hazırlanan tüm maseratların agar difüzyon ile etkili oldukları saptananların sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile antibakteriyal etkileri incelenmiştir. Uygulanan testlerde maseratların homojen şekilde çözülebilmesi için farklı sistemler denenmiş (Tablo 4.2.),

kullanılan çözücüler de ayrıca kontrol olarak test edilmiştir. Tween 20 ile çözülerek uygulanan test grubunda ölçülebilir zonlar meydana gelmiştir. Diğer tüm testler bu sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.2. Yağın uygulanma şekli ve ölçülebilir inhibisyon zonu oluşumu

NO	Uygulama şekli	Sonuç
1.	Kağıt diskle emdirilmiş 20 µL yağ	İnhibisyon zonu yok
2.	Kuyucuklara 40 µL yağ	İnhibisyon zonu yok
3.	10 µL yağ: 5000 µL (% 0,5 Tween 80 : DMSO; 1:1)	İnhibisyon zonu yok
4.	100 mg yağ:1 mL İPA	İnhibisyon zonu yok
5.	Maserat: Hint yağı: Distile su (5:4:160)	İnhibisyon zonu yok
6.	Maserat: % 5 Tween 20 (1:40)	Ölçülebilir zon var*

*6mm'den büyük zon çapı

Çözücü kontrollü yapılan tüm deneylerde *C. albicans*'a karşı standart ajanlar dışında inhibisyon gözlenmemiştir. *S. aureus*'un kullanıldığı deneylerde ise çeşitli derecelerde inhibitör etkiler belirlenmiştir (Görsel 4.1.). Gün ışığında 45. gün ve su banyosunda 2 saatlik dijesyona ait sonuçlar Tablo 4.3.'de verilmiştir.



Görsel 4.1. *S. aureus*'a karşı oluşan inhibisyon zonları (45. gün maseratları)

Tablo 4.3. Maseratların disk difüzyon etki testi sonuçları

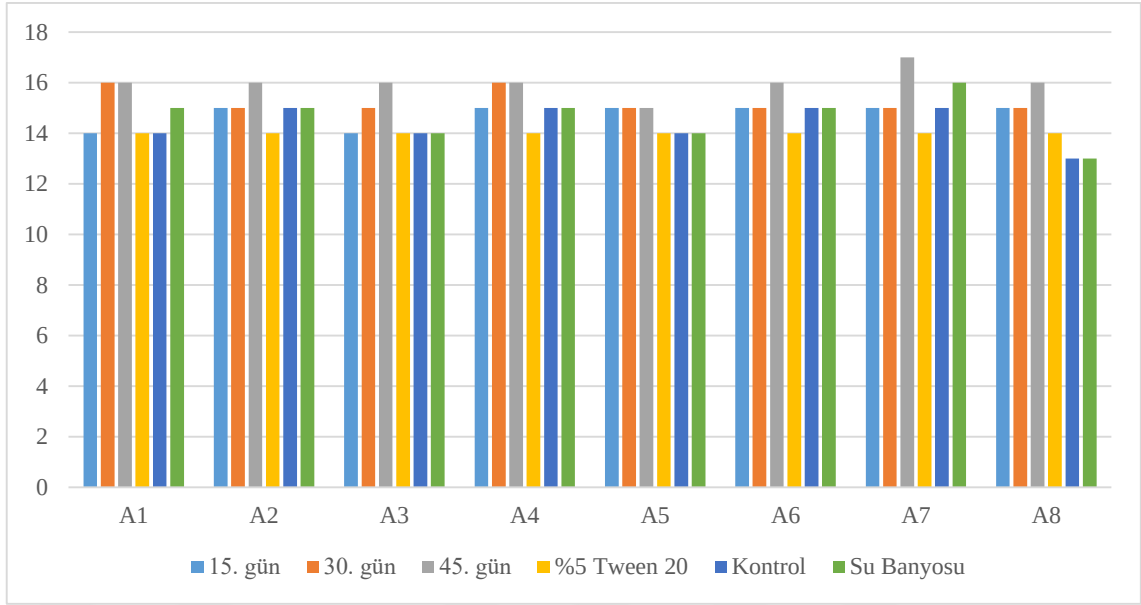
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
15. gün	14 mm	15 mm	14 mm	15 mm	15 mm	15 mm	15 mm	15 mm
30. gün	16 mm	15 mm	15 mm	16 mm	15 mm	15 mm	15 mm	15 mm
45. gün	16 mm	16 mm	16 mm	16 mm	15 mm	16 mm	17 mm	16 mm
Su Banyosu	15 mm	15 mm	14 mm	15 mm	14 mm	15 mm	16 mm	13 mm
Yağ Kontrolü*	14 mm	15 mm	14 mm	15 mm	14 mm	15 mm	15 mm	13 mm
%5 Tween 20	14 mm	14 mm	14 mm	14 mm	14 mm	14 mm	14 mm	14 mm

(A1; aspir, A2; ayçiçek, A3; ceviz, A4; kanola, A5; keten, A6; susam, A7; tatlı badem, A8; zeytinyağı)
Yağ Kontrolü*: 45 gün bekletilen sabit yağ kontrol grubu (%5 Tween 20 de çözöldü)

Ölçölen zon çaplarına göre %5 Tween 20'den daha büyük inhibisyon zonu verenlerin sonuçları dikkate alınmış ve değeriendirilmiştir. Maserasyonda kullanılan yağların kendileri de test edilmiş 13-15 mm arasında zon çapları meydana getirmişlerdir. Denenen tüm maseratların özellikle 45 gün bekletilenlerin zon çaplarının hem kontrollere hem de 15 ve 30. günlere göre daha yüksek etkiye sahip oldukları görölmüşür. Yağların 15. günde çözücöleri ile aynı etkide olduğu, maserasyon süresi uzadığında etkinin bir miktar arttığı görölmektedir. Yağları kendi içinde değeriendirildiğinde 17 mm zon çapı ile en iyi etkinin 45 gün masere edilen tatlı badem yağında olduğu görölmüşür Aynı çalışmada standart ajan Kloramfenikol uygulanmış (1,6 mg/mL) *S. aureus*'a karşı 35 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Su banyosunda 2 saatte gerçekiştirilen dijesyon sonunda elde edilen maseratlar ve kontrol grupları da aynı şekilde test edilmiştir.

Şekil 4.1.'de göröldüğü üzere su banyosundada elde edilen sarı kantaron yağları arasında en büyük zon çapı yine tatlı badem yağında (16 mm) görölmüşür. Diğer tüm maseratlar, kontrol grubu olarak kullanılan çözücü yağları ile (aspir ve badem dışında) aynı etkiyi göstermiştir.



Şekil 4.1. Maserat ve kontrollerin antibakteriyal etkisi (zon çapları, mm)

(A1; aspir, A2; ayçiçek, A3; ceviz, A4; kanola, A5; keten, A6; susam, A7; tatlı badem, A8; zeytinyağı)

4.2.2. Mikrodilüsyon testi

Agar difüzyon testi sonuçlarına göre maseratların *C. albicans* üzerinde antifungal etkisi gözlenmediğinden, bu test yalnızca *S. aureus*'a karşı yapılmıştır.

Bu amaçla %2,5 oranında %5 Tween 20 (v/v) içerisinde çözülerek hazırlanan maserat stok solüsyonu, önceden içine 100 µL Mueller-Hinton Broth (MHB) pipetlenmiş 96 kuyucuklu mikrotitrasyon petrilere aktarılmış, çift katlı seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Tüm kuyucuklara CLSI protokolüne göre hazırlanan mikroorganizma süspansiyonundan pipetlenmiştir. 37°C'de 24 saat sonunda inhibisyon olan kuyucuklar belirlenmiştir. Standart olarak kloramfenikol kullanılmış, sterilizasyon ve çözücü kontrolleri de deneye dâhil edilmiştir.

Standart bir antibakteriyel ve sterilite kontrollü yapılan deney sonucunda sadece ayçiçek, ceviz, keten, tatlı badem ve zeytinyağında MİK değeri %1,25 (v/v) olarak belirlenirken, çözücü kontrolünde inhibisyon görülmemiştir. Kloramfenikol *S. aureus*'u 0,5 µg/mL (MİK) dozda inhibe etmiştir.

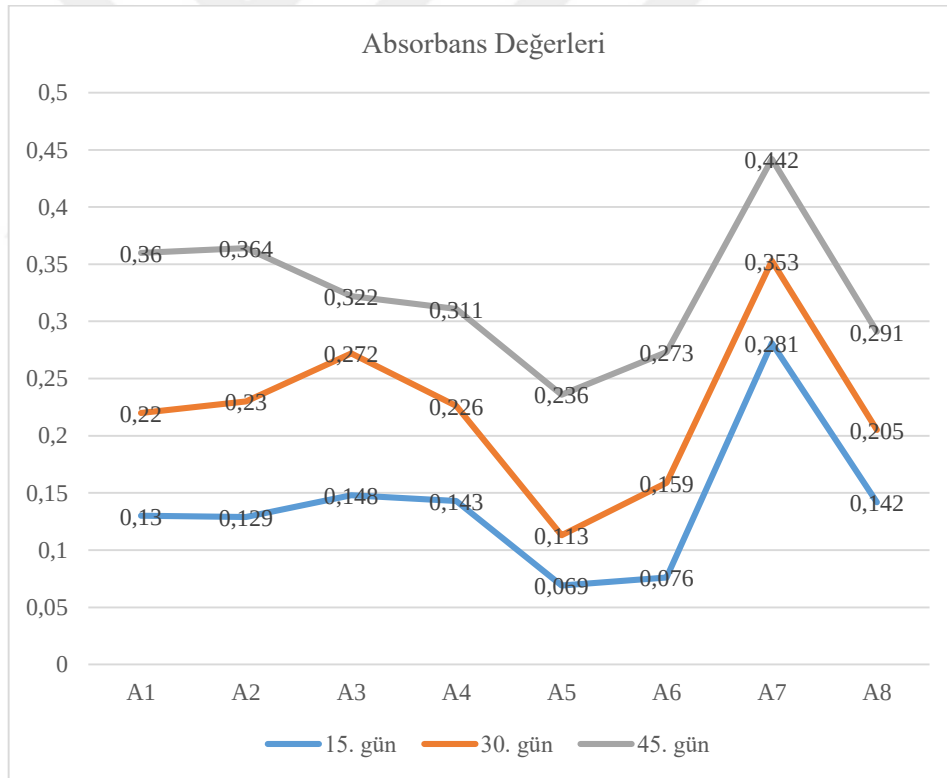
4.3. Spektrofotometrik Olarak Renk Şiddetinin Ölçülmesi

Maserasyon sonucu elde edilen her bir yağın renginde gözle görünür şekilde farklılıklar saptanmıştır. Çözeltilerin absorbe ettiği ışık miktarından yararlanarak,

spektrofotometre cihazında bu yağların absorbens değerleri ölçülmüştür. Yağların 1/10 oranında IPA içerisinde çözülerek ölçümleri yapılmıştır.

Tablo 4.4. Maseratların 580 nm absorbens değerleri

Maserat	15. gün	30. gün	45. gün
A1 - Aspir Yağı	0,130	0,220	0,360
A2 - Ayçiçek Yağı	0,129	0,230	0,364
A3 - Ceviz Yağı	0,148	0,272	0,322
A4 - Kanola Yağı	0,143	0,226	0,311
A5 - Keten Yağı	0,069	0,113	0,236
A6 - Susam Yağı	0,076	0,159	0,273
A7 -Tatlı Badem Yağı	0,281	0,353	0,442
A8 -Zeytinyağı	0,142	0,205	0,291



Şekil 4.2. Maseratların absorbens değerleri (nm)

Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi; tüm yağlarda maserasyon süresi uzadıkça kırmızı rengin şiddetinin arttığı görülmektedir. Her üç örnekleme sonucunda da tüm yağlar içerisinde tatlı badem yağının 580 nm'de verdiği absorbens değerleri 0,281, 0,353 ve 0,442 nm şeklindedir. Bu maseratin en koyu kırmızı renge sahip olduğu görülmüştür.



Görsel 4.2. Yağların ve maseratların renkleri (A1-8)

4.4. Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi ile Hiperforin ve Hiperisin Miktar Tayini Sonuçları

Bilindiği üzere sk masere yağı için geleneksel olarak çiçeklerin sabit yağ ile 15 ile 45 gün kadar çeşitli sürelerde masere edilmektedir. Değişen maserasyon süresi ve farklı baz yağlar ile elde edilen maseratlardaki hiperforin ve hiperisin miktarları karşılaştırmak için 15. 30. ve 45. günlerde alınan örnek 8 farklı maserat üzerinde çalışılmıştır. Ayrıca dijesyon ile elde edilen ürünlerdeki miktarlar da belirlenmiştir.

Masere kantaron yağlarında hiperisinin miktarı ppm seviyesinde saptanabilmektedir. EMA'ya göre yağda hiperisinin hiç olmaması belirtilirken, İsviçre Farmakopesi %0.005 oranını belirtmiştir. Hiperisinin genellikle gün ışından etkilenecek türevlerine dönüştüğü düşünülmekte olup, yağdaki hiperisin miktarının yağın standardizasyonu ve tıbbi açıdan önemi bulunmamaktadır. Çalışmamızda taze materyalde yapılan bu testler yağlarda da uygulanmış ve belli miktarlarda hiperisine rastlanmıştır. Aspir ve ceviz maseratında hiperisin sadece 45. günde tespit edilirken, ayçiçek maseratında 30. günde ölçülen hiperisin miktarının 45. günde azaldığı görülmüştür. Kanola ve keten maseratlarında ise tam tersine 30. günde ölçülen hiperisin miktarının 45. günde arttığı görülmüştür. 15. günde hiperisin ölçülebilen tek maserat susam yağıdır. Benzer şekilde tatlı bademde sadece 30. günde ölçülebilen hiperisin 45. günde gözlemlenememiştir. Zeytinyağı maseratında hiperisin saptanmamıştır.

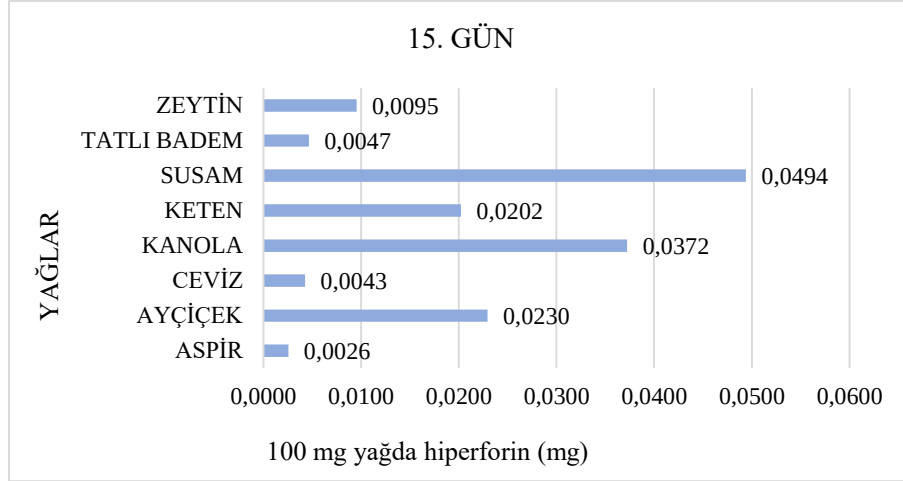
Gün ışığında gerçekleştirilen deneylere göre genellikle su banyosu sonuçlarının hiperisin miktarlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu veri hiperisinin sıcak ve aydınlık ortamda uzun süre beklediğinde parçalandığı bilgisini desteklemektedir.

Zeytinyağı maseratlarının hiç birinde hiperisin ölçülememiştir. Maseratlarda belirlenen hiperisin miktarları Tablo 4.3.'de verilmiştir.

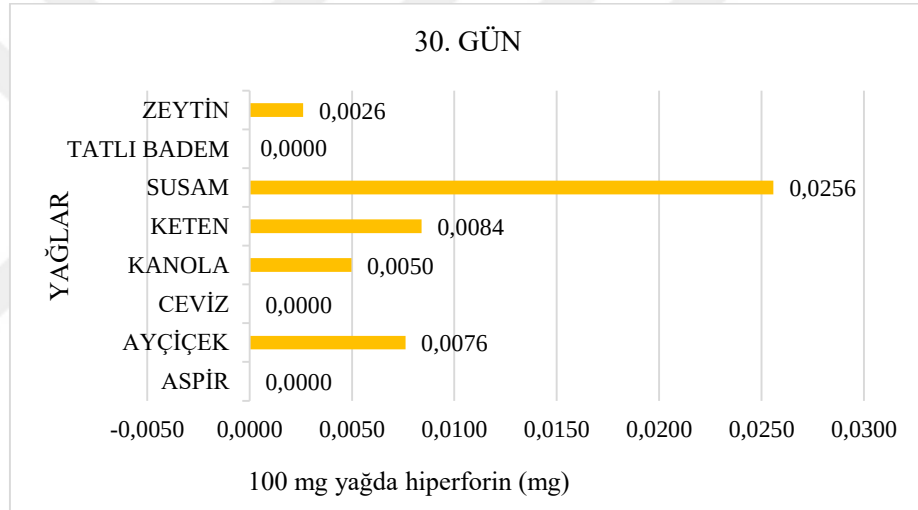
Tablo 4.3. Maseratlarda bulunan hiperisin miktarı (1 kg yağda mg, ppm)

Hiperisin	15. Gün	30. Gün	45. Gün	Su Banyosu
A1 -Aspir Yağı	-	-	1,8509	8,9420
A2 -Ayçiçek Yağı	-	3,4423	0,8377	12,9730
A3 -Ceviz Yağı	-	-	0,4761	4,7663
A4 -Kanola Yağı	-	0,7424	1,1507	4,9565
A5 -Keten Yağı	-	0,5350	1,0680	0,7790
A6 -Susam Yağı	0,4346	1,1067	-	2,4577
A7 -Tatlı Badem Yağı	-	0,01906	-	1,3465
A8 -Zeytinyağı	-	-	-	-

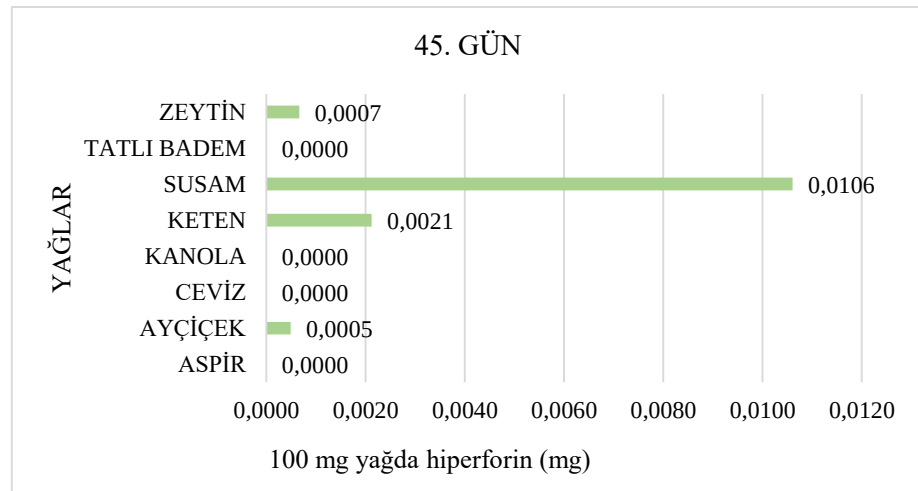
Apolar karakterdeki bir floroglusinol türevi olan hiperforinin maseratlardaki miktarları, kullanılan farklı baz yağlar ve maserasyon sürelerine göre farklılıklar göstermiştir. Gün ışığı maseratlarının 15, 30 ve 45. gün örneklerinde dikkat çekici seviyede susam yağının en yüksek hiperforine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.3.-4.5.). 15. günde alınan örneklerin ölçümleri arasında 100 mg yağ içinde 0,0494 mg (%0,05) ile en yüksek hiperforin oranı yine susam yağında ölçülmüştür. En düşük hiperforin ise 100 mg yağda 0,0026 mg ile aspir yağında ölçülmüştür. 15 gün maserasyonunda hiperforin miktarları en yüksekten en düşüğe doğru sırası ile Susam yağı (0,0494 mg), kanola yağı (0,0372 mg), ayçiçek yağı (0,0230 mg), keten yağı (0,0202 mg), zeytinyağı (0,0095 mg), tatlı badem yağı (0,0047 mg), ceviz yağı (0,0043 mg), aspir yağı (0,0026 mg)'dir.



Şekil 4.3. 15. gündeki hiperforin miktarı (mg)



Şekil 4.4. 30. gündeki hiperforin miktarı (mg)

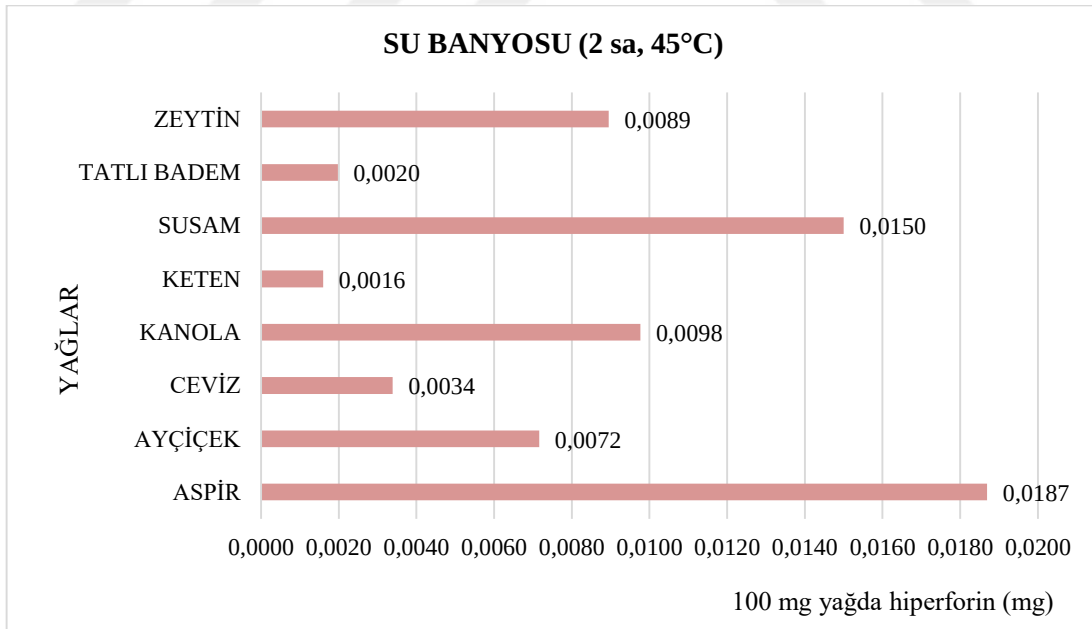


Şekil 4.5. 45. gündeki hiperforin miktarı (mg)

30. günde aspir, ceviz ve tatlı badem yağlarında hiperforin miktarlarının dedekte edilebilir limitin altına düşmüştür. 15. günde 0,0494 mg olan susam maseratındaki hiperforin miktarı 0,0256 mg'a düşmüştür.

45. günde alınan örneklerin ölçümlerinde susam yağındaki hiperforin %50 oranında azalarak 0,0160 mg'a düşerken, diğer yağlarda da büyük oranda düşme görülmüştür.

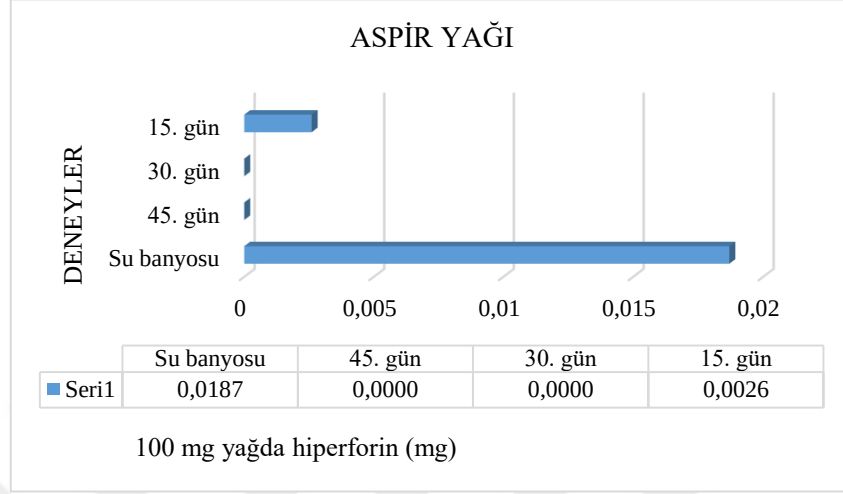
Dijesyon ile hazırlanan maseratların ölçümlerinde ise diğer yağlarla karşılaştırıldığında 100 mg yağ içinde 0,0187 mg ile en yüksek hiperforin oranı aspir yağında ölçülmüştür. En düşük hiperforin ise 100 mg yağda 0,0016 mg ile keten tohumu yağında ölçülmüştür. Bu yöntemde hiperforin miktarları büyükten küçüğe doğru; Aspir yağı (0,0187 mg), susam yağı (0,0150 mg), kanola yağı (0,0098 mg), zeytinyağı (0,0089 mg), ayçiçek yağı (0,0072 mg), ceviz yağı (0,0034 mg), tatlı badem yağı (0,0020 mg), keten yağı (0,0016 mg) olarak belirlenmiştir. Susam yağı aspiden sonra ikinci sırada hiperforin oranına sahip maserattır. 2 saatlik maserasyon sonunda belirlenen hiperforin miktarlarının 15 günlük gün ışığı maserasyonuna göre oldukça düşük olduğu, ancak 45 günlük maserasyona daha yakın miktarlarda olduğu görülmüştür (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Dijesyon maseratlarında hiperforin miktarları (mg)

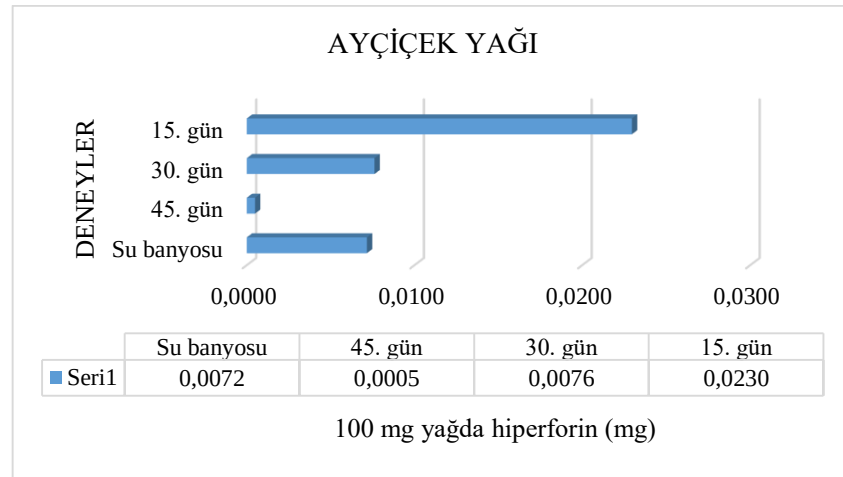
Her bir yağ kendi içerisinde değerlendirildiğinde, aspir yağı ile su banyosu dijesyonun yüksek oranda hiperforin (0,0187 mg) taşıdığı görülmüştür. Geleneksel

yöntemde ise 15. günde 100 mg aspir yağında 0,0026 mg hiperforin saptanmıştır. 30 ve 45. günlerde ise hiperforin detekte edilebilir limitin altında kalmıştır (Şekil 4.7.).



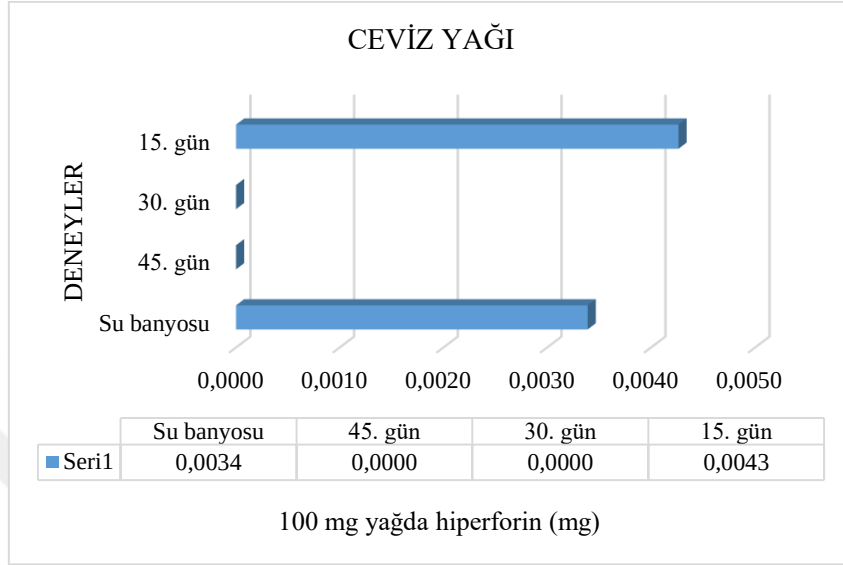
Şekil 4.7. Aspir yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Ayçiçek yağı için; hiperforin miktarı 0,0230 mg ile 15. günde tespit edilmiştir. 30. ve 45. günlerde hiperforin miktarı 0,0076 mg ve 0,005 mg'dır. Su banyosunda 100 mg ayçiçek yağındaki hiperforin miktarı 30. gün deneyine yakın ve 0,0072 mg'dır (Şekil 4.8.).



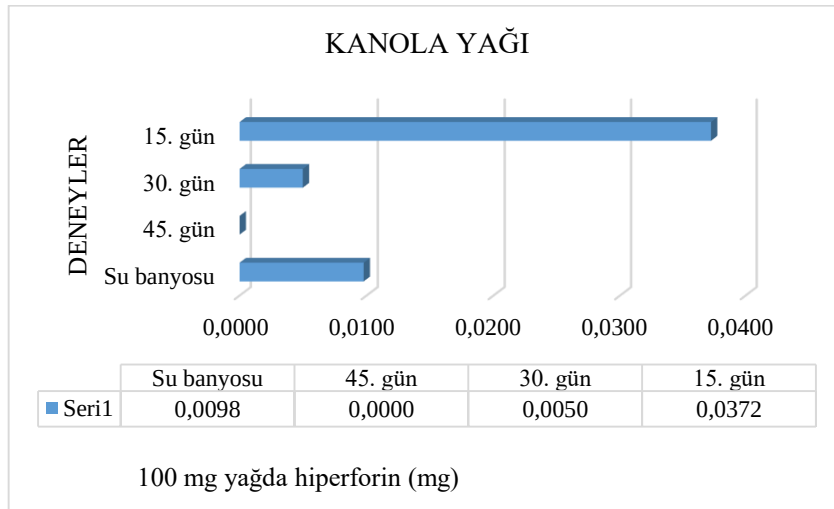
Şekil 4.8. Ayçiçek yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Ceviz yağı maseratı hiperforin miktarı 15. gün 0,0043 mg olarak ölçülmüştür. Daha sonra 30 ve 45 gün boyunca masere edilen yağlarda hiperforin LOD altındadır. Su banyosunda 100 mg ceviz yağında hiperforin miktarı 0,0034 mg'dır (Şekil 4.9.).



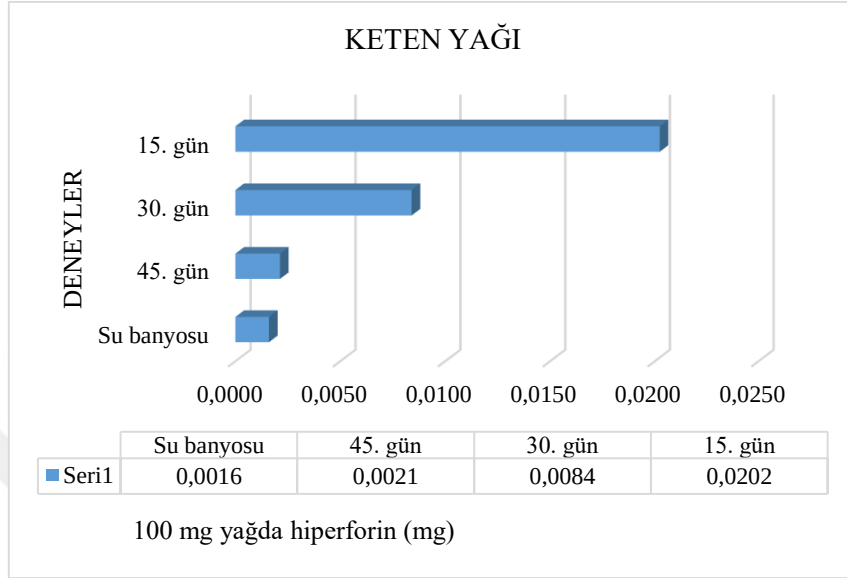
Şekil 4.9. Ceviz yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Kanola yağı hiperforin miktarı 15. gün 0,0372 mg 30. Günde, 0,0050 mg'a düşmüştür. 45. günde ise hiperforin LOD altındadır. Su banyosunda 100 mg kanola yağına geçen hiperforin miktarı 0,0098 mg'dır (Şekil 4.10.).



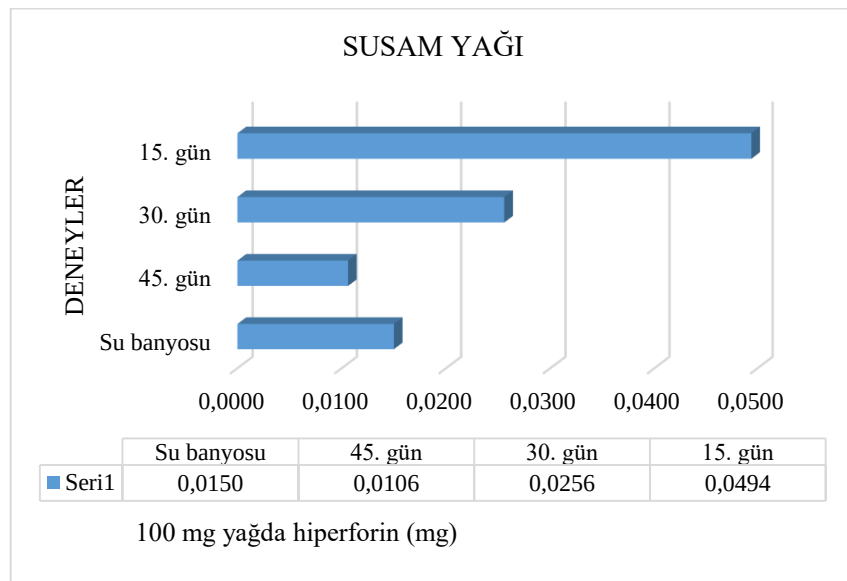
Şekil 4.10. Kanola yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Keten tohum yağı maseratında hiperforin miktarı 0,0202 mg ile 15. günde tespit edilmiştir. 30. ve 45. günlerde sırası ile 0,0084 mg ve 0,0021 mg olarak belirlenmiştir. Su banyosunda diğer maseratlarla göre düşük miktarda 0,0016 mg ölçülmüştür (Şekil 4.11.).



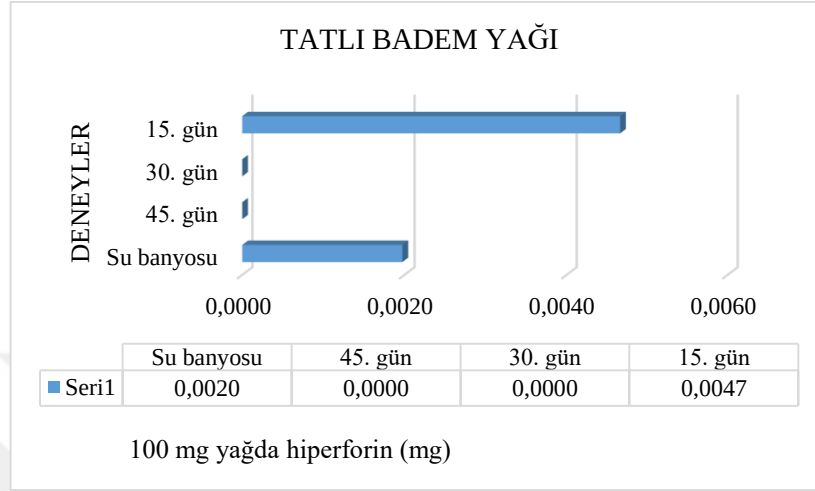
Şekil 4.11. Keten yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Susam yağı hiperforin miktarı 0,0494 mg ile 15. günde tespit edilmiştir. 30. ve 45. 0,0256 mg ve 0,0106 mg, su banyosunda 45. güne göre biraz daha yüksek 0,0150 mg'dır (Şekil 4.12.).



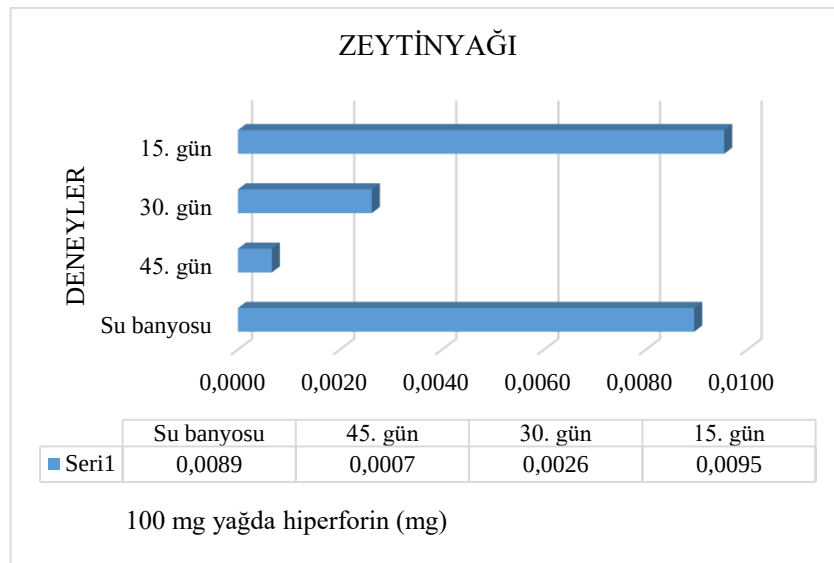
Şekil 4.12. Susam yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Tatlı badem yağında hiperforin 15. günde 0,0047 mg, 30 ve 45 günlerde LOD altındadır. Su banyosunda ise 15. gün maseratının yaklaşık yarısı kadar ve 0,0020 mg'dır (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Tatlı badem yağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

Geleneksel olarak en çok kullanılan zeytinyağı maseratında 15, 30 ve 45. günlerde hiperforin miktarı 0,0095 mg, 0,0026 mg ve 0,0007 mg olarak belirlenmiştir. Su banyosunda ise hiperforin miktarı gün ışığında 15 gün maserasyon ile elde edilen yağ ile benzer olarak 0,0089 mg'dır (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Zeytinyağı maseratında hiperforin miktarı (mg)

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamız kapsamında yöresel olarak Sarı kantaron veya Binbirdelik otu, İngilizcede ise St. John's wort adıyla bilinen *Hypericum perforatum* L.,'nin maserasyonu ile elde edilen kantaron yağı preparatının bileşimini etkileyen bazı faktörler incelenerek, bu yağın üretiminde ve standardize edilmesinde kullanılabilecek önemli verilere ulaşılmıştır.

Geleneksel olarak kantaron yağı dünyanın pek çok bölgesinde birbirine yakın yöntemler ile masere edilmektedir. En çok zeytin ve ayçiçek yağları bu amaçla kullanılır. Taze veya gölgede kurutulmuş çiçekler, değişen oranlarda sabit yağ ile değişen sürelerde masere edilmektedir. Elde edilen yağın belli bir kalite standardı yoktur. Kullanılan zeytinyağının kalitesi, sarı kantaron çiçeklerinin özellikleri (toplanma zamanı, coğrafya, etkin bileşiklerin miktarı), maserasyon ortamı (gölgede/güneşte) ve süresi elde edilen yağın kalitesinde başlıca etkenlerdendir.

Çalışmamızda ülkemizde en çok kullanılan güneş ışığında maserasyon yöntemi denenmiştir. Yörelere arasında farklarla maserasyon süresi, 15, 30 veya 45 gün olarak değişmektedir. Çalışmamızda her üç maserasyon süresinde de kontroller yapılmıştır. Ayrıca Prof. Dr. Turhan BAYTOP'un "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün" kitabında bahsettiği 2 saat süren ılık maserasyon yöntemi de denenmiş, etken madde içerikleri kontrol edilmiştir.

Uçlardan 4-5 cm kadar kesilen çiçekli dal uçlarının bir kısmı gölgede kurutulmuş, diğer kısım da -85°C de saklanmıştır. Yapılan metanol ve kloroform ekstraksiyonu sonucunda yaş ve kuru materyalin ekstraksiyon verimi ile hiperisin ve hiperforin miktarları ortaya konmuştur. Aynı miktardaki taze materyalden kuru materyale göre ¼ oranında daha az verim elde edilmiştir. Burada taze bitkinin taşıdığı %70-80 aralığındaki su bu duruma sebep olmaktadır. Metanolün, kloroforma göre daha yüksek verimle ekstraksiyon etme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, kuru materyalin metanol ekstraktlarındaki hiperforin miktarının doğal olarak susuz bitkisel kütlenin daha fazla ekstre edilebilir olmasından dolayı yüksek oranda olduğu görülmüştür. Su miktarı hesaba katılmadığında yaş ve kuru materyal arasında hiperforin bakımından büyük bir fark olmadığı görülmekle birlikte, bu konuda daha detaylı çalışmalar yapılarak ekstraksiyonda kuru veya yaş bitkiden hangisinin tercih edilmesi gerektiği net olarak ortaya koyulmalıdır. Kuru materyalin ağırlık ve hacim olarak, taze materyale göre

avantajlı olması bakımından kuru materyal kullanımı daha zengin maserat eldesini sağlayacaktır.

Çalışmamızda, maserasyonda kullanılan bitkisel materyal doğadan toplanmış olmakla birlikte standart kaynaklarda verilen hiperforin ve hiperisin oranlarına uygundur. Avrupa Farmakopesi, Hyperici herba monografında kaba bir teşhisle spektrofotometrik olarak hiperisin üzerinden hesaplanmış %0,08 oranında hiperisin ve türevleri olması gerektiği bildirilmiştir (Escop, 2018). Kullandığımız bitkide hiperisin oranı taze materyalde %0,9, kuru materyalde %0,7 olarak tespit edilmiştir.

Ceylan ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada spektrofotometrik olarak Türkiye’de farklı lokasyonlarda (Uşak, Aydın, Ödemiş, İzmir ve çevreleri) yetişen sarı kantaronlarda hiperisin miktarları %0,08-0,313 aralığında tespit edilmiştir. 2001 yılında Bursa’nın farklı yüksekliklerinden toplanan *H. perforatum* bitkilerinin çiçeklenme başlangıcı ve çiçeklenme zamanında hiperisin miktarları karşılaştırılmıştır. Çiçeklenme başlangıcında ortalama hiperisin %0,14, çiçeklenme zamanında hiperisin %0,15 olarak belirlenmiştir.

Benzer çalışmalarda belirlenen sarı kantaron çiçeklerinde hiperisin miktarları ve kaynakları Tablo 5.1.’de verilmiştir. Tayin yöntemi ve materyal farklılıkları birbirinden çok farklı sonuçların bulunmasına sebep olmaktadır.

Tablo 5.1. Farklı kaynaklarda bitkinin çiçeğinde bulunan hiperisin (%)

Kaynak	Hiperisin
Hölzl (1989)	%0,05-0,3
Southwell ve Campbell (1991)	%0,004-0,215
Walker vd. (2001)	% 0,04-0,19
Çakmak ve Bayram (2003)	%0,132-0,308
Ceylan vd. (2005)	%0,09-0,270
Amir Nia (2005)	%0,099-0,299
Çırak (2006)	%0-0,215
Isacchi vd. (2008)	%0,039

EMA-HMPC raporuna göre (2009); bitkinin toplanma zamanı, toprak özellikleri, iklim koşulları, yükseklik, droğun saklanma koşulları ve genotipik özelliklerine bağlı olarak değişmekle birlikte hiperforin ve türevlerinin genellikle %0,2-4,0 aralığında

olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda kullanılan taze ve kuru bitkisel materyalde bu oranın üzerinde hiperforin saptanmıştır.

Geleneksel olarak ağzı kapalı cam şişe veya kavanozlarda zeytinyağı içinde 15-45 gün güneş ışığında bazen de gölgede maserasyona bırakılan *H. perforatum* bitkisi, çalışmamızda benzer şekilde ancak farklı sabit yağlarda ekstre edilerek, maseratlarıdaki hiperisin ve hiperforin oranları incelenmiştir. Benzer bir çalışmaya literatürde rastlanmış olmakla birlikte (Heinrich vd., 2017) bu çalışmada kullanılan sabit yağların ülkemizde ulaşılması zor ve pahalı olması bizi bu çalışmaya itmiştir. Deney için kullanılan sabit yağlar ülkemizde yetişen bitkilerin tohumlarından elde edilebilecek, kolayca ulaşılabilir yağlardan seçilmiş olup bunlar aspir yağı, ayçiçek yağı, ceviz yağı, kanola yağı, keten yağı, susam yağı, tatlı badem yağı ve zeytinyağıdır.

Yapılan maserasyonlar sonucunda 15, 30 ve 45'nci günlerde elde edilen maseratlar ile dijesyon yöntemi ile elde edilen örneklerin renk şiddetleri, hiperisin ve hiperforin miktarları ve antimikrobiyal etkileri karşılaştırılmıştır.

Yapılan görsel kalitatif incelemeler sonucunda en kırmızı yağın her üç örnekleme zamanında da badem yağı olduğu gözlenmiştir. Bu bulgunun kantitatif olarak ifade edilmesi için spektrofotometrede 580 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Badem yağı maseratının, 0,442 nm ile en yüksek absorbanza sahip olduğu görülmüştür. Bu bulgumuzun daha önce yapılan benzer bir çalışma ile (Heinrich vd., 2017) uyumlu olduğu görülmüştür. Yakut kırmızı renkten sorumlu bileşiklerin ne olduğu ile ilgili literatürde çelişkili bulgular mevcuttur. Bazıları dayanıksız olan protohiperisinin hiperisin ve psödohiperisine dönüşerek bu rengi verdiğini rapor ederken (Hostettmann ve Wolfender, 2005), bazıları hiperisinin yağda hiç bulunmadığını bildirmekte (EMA, 2008), bazı kaynaklarda da bu rengin kırmızı renkli biflavonoidlerden olduğu öne sürülmektedir (Hostettmann ve Wolfender, 2005).

Farklı yağların oluşturduğu kırmızı renklerdeki farklılıkların yağ asidi profilleriyle ilgili olabileceği düşünülmüş, ancak Tablo 5.2. 'de görüldüğü gibi en şiddetli yakut kırmızı rengi veren tatlı badem ve yine koyu kırmızı renge sahip Ayçiçek yağı maseratının yağ asidi profilleri arasında bir benzerlik görünmemektedir.

Tablo 5.2.*Kullanılan yağların ortalama yağ asidi profilleri (%)*(Şimşek ve Gülsoy, 2016; http-11; http-12).

	Yağ asidi %			
	Palmitik	Stearik	Oleik	Linoleik
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Maserat				
A1 - Aspir	5,3-8,0	1,9-2,9	8,4-21,3	67,8-83,2
A2 - Ayçiçek	5,0-7,6	2,7-6,5	14,0-39,4	48,3-74,0
A3 - Ceviz	5,24-7,62	2,56-3,67	21,18-40,20	43,94- 60,12
A4 - Kanola	1,5-6,0	0,5-3,1	8,0-60,0	11,0-23,0
A5 - Keten	6,5-7,5	3,4-4,6	18,5-22,6	14,2-17,0
A6 - Susam	7,9-12,0	4,8-6,1	35,9-42,3	41,5-47,9
A7 - Tatlı Badem	3,0-9,0	1,0-3,0	60,0-86,0	20,0-30,0
A8 - Zeytinyağı	7,5-20	0,5-5,0	55,0-83,0	3,5-21,0

Kantaron yağının yara sağaltımındaki etkisi EMA tarafından onaylanmıştır. Antibakteriyal, antienflamatuvar, analjezik ve astrenjan etkileri ile yara iyileşme süreçlerini desteklemektedir. Yapılan bazı çalışmalar fibroblastların kolajen üretimini arttırdığını ispatlamıştır (Öztürk vd., 2007). Yapılan bazı çalışmalarda da yağdaki hiperforinin antienflamatuvar (Koeberle, 2011) ve fibroblast aktivasyonunda etkisi (Wölflle vd., 2014) olduğu gösterilmiştir.

Masere yağlarda eser miktarda hiperisin bulunmakla birlikte (zeytinyağında %0,005), masere yağın asıl yara iyi edici etkilerinin hiperforin ve türevlerinden (adhiperforin, furohiperforin) ayrıca eser miktardaki flavonollerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Ladeira vd., 2009; Linde vd., 1996; Mazza ve Oomah, 1998).

Antidepresan etkileri yanında, yara ve hafif yanıkların tedavisinde etkili olan bu antibakterial floroglusinol türevinin maseratlardaki miktarının, maseratın etkisini doğrudan etkileyeceği düşünüldüğünden çalışmamızda hiperforin miktarı üzerinde önemle durulmuştur. Homolog yapıları olan adhiperforin ve furanohiperforin ile ilgili yeterince çalışma mevcut değildir. Bu maddelerin de biyolojik etkilerinin de çalışılması gereklidir.

Yaptığımız miktar tayinlerinde; geleneksel olarak en çok tercih edilen zeytinyağı maseratlarında hiperforin miktarının 15-30-45. günlerde sırasıyla %0,0095, %0,0026, %0,0007 gibi diğer yağlar göre düşük oranlarda olduğu görülmüştür. Aynı günlerde susam yağında sırasıyla %0,05, %0,025, %0,01 oranında hiperforin saptanmıştır. Susam yağı çalışmada denenen tüm yağlar arasında dikkat çekici şekilde en yüksek hiperforin oranında sahip maserat olarak belirlenmiştir. Bu durum susam yağının maserasyon amacıyla kullanılabilecek önemli bir yağ olduğunu bize göstermiştir. Susam yağının çeşitli farmasötik preparatlara biyoaktiviteyi koruyucu amaçlarla ilave edildiği bilinmektedir. Taşıdığı lignanlar ve tokoferoller ile bileşimindeki maddeleri radikal oksijen türlerinden koruduğu gösterilmiştir (Pathak vd, 2014). Son yıllarda tedavi etkinliğinden dolayı kullanılan kannabinoidlerin taşıyıcısı olarak susam yağı tercih edilmektedir (Bills ve Manicke, 2020). Bu veriler bize susam yağı maseratında sinerjik etkili kuvvetli antioksidan bileşikler ile hiperforinin korunmuş olabileceğini göstermektedir.

Aspir, ceviz, kanola ve en yoğun kırmızı renge sahip tatlı badem yağının 45. gün örneklerinde hiperforine rastlanmamıştır. Tüm yağlarda maserasyon süresi uzadıkça hiperforin miktarının azaldığı görülmektedir. Hiperforinin diğer homologlarına dönüştüğü düşünülmektedir.

Dijesyon yöntemi olarak denenen yöntemde 2 saat sonunda aspir yağının diğer tüm yağlardan daha yüksek oranda hiperforin (%0,0187) taşıdığı saptanmıştır. Susam yağı % 0,015 hiperforin içeriği ile ikinci sıradadır. Hiperforin miktarı bakımından aspir yağının sarı kantaronun dijesyonunda bir baz yağ olarak kullanılabileceği görülmektedir. Aspir yağının yağ asidi bileşimine bakıldığında linoleik asit miktarının en yüksek sabit yağ olması dikkat çekicidir.

2007 yılında Isacchi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *H. perforatum* 'un yağ maserasyonu için zeytinyağı kullanılarak çeşitli sürelerde maserasyonlar denlenmiştir (Isacchi vd., 2008). Buna göre, 28 gün, güneş ışığında bekletilerek elde edilen 100 mg masere yağda; taze çiçeklerde % 0,026, kuru çiçeklerde % 0,016 oranında hiperforin saptanmıştır. Kurutulmuş çiçeklerin 3 gün 50 °C'de yapılan maserasyonunda oran bu %0,006 olarak belirlenmiştir.

Orhan vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli *H. perforatum* zeytinyağı maseratlarının analizleri yapılmıştır. 21 adet yağ LC–DAD–MS sistemi ile analiz edilmiştir. Geleneksel yöntemle elde edilen 10 adet yağın sadece 4'ünde

hiperforine rastlanmıştır (0,977-2,399 µg/g), hazır alınan 11 yağdan sadece birinde hiperforin tespit edilmiştir (0,677 µg/g). Aynı çalışmada tüm yağlarda psödohiperisin (0,135-3,280 ug / g) ve hiperisin (0,277-6,634 ug / g) varlığı gözlenmiştir (Orhan, 2013).

Yapılan benzer bir çalışmada 12 farklı sabit yağda maserasyon denemeleri yapılmış, 25 g bitki 100 g yağda, 50°C sıcaklıkta 7 gün boyunca masere edilmiştir. Tokoferol içerikleri de kontrol edilerek maserasyon öncesi ve sonrasında belirgin bir fark bulunamamıştır. 7 gün sonunda yapılan ekstraksiyonda en yüksek hiperforin miktarı 36,7 mg/100 g (%0,036) makadamyaya yağında saptanmıştır. Aynı çalışmada susam ve zeytinyağı maseratlarında hiperforin oranı 15 mg/100 g (%0,015) olarak belirlenmiştir (Heinrich vd., 2017).

Çalışmamız kapsamında yara iyi edici etkinin önemli bir parçası olan antimikrobiyal etki çalışması agar difüzyon ve mikro dilüsyon yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Gram (+) bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) ve *Candida albicans* (ATCC 90028) test mikroorganizmaları olarak seçilmiştir. Agar difüzyon deneyi bir ön tarama testi olarak düşünülerek agara açılan kuyucuklar ve diske emdirilen maseratlar ile denenmiş, ancak inhibisyon zonu gözlenmemiştir. Yağlı maseratın agarlı ortama yeterince difüze olamadığı düşünülerek çeşitli çözücü sistemleri kullanılmış, %5'lik Tween20'nin homojen bir yağ çözeltisi oluşturduğu yapılan çeşitli denemeler ile bulunmuştur. Bu çözücüde çözünen maserat (%2,5), çözücünün kendisi ve standart antimikrobiyaller ile test gerçekleştirilmiştir. *C. albicans*'a karşı herhangi bir inhibisyon zonu gözlenmemiş, *S. aureus*'a karşı 14-17 mm aralığında zonlar saptanmıştır. Çözücü sistemi 14 mm çapında zonlar oluşturmuştur. Maseratların yanında baz yağlar da kontrol edilmiş, 13-15 mm aralığında zon çapları oluşmuştur. Maseratın etkili olduğunu söyleyebilmek için her iki kontrolün üzerinde zon çapları oluşturması gereklidir. Tüm maseratlar 45. günlerinde kontrole göre daha yüksek etki göstermiştir. Maserasyon süresi uzadıkça hiperforin miktarı azalmakla birlikte antimikrobiyal etkinin bir miktar arttığı görülmektedir. Tarama testinde etki gösteren ekstreler mikrodilüsyon testinde değerlendirilmiş, ayçiçek, ceviz, keten, tatlı badem ve zeytinyağında minimum inhibisyon konsantrasyonu %1,25 olarak belirlenmiştir.

2019 yılında Grujovic vd.'nin yaptığı çalışmada 18 farklı bakteri suşu üzerinde disk difüzyon yöntemi ile *H. perforatum* maseratlarının antibakteriyel aktiviteleri test edilmiştir. 12 bakteride 14-24 mm aralığında inhibisyon zonu ölçülmüştür. *S. aureus* için bu çalışmada inhibisyon zonu 20 mm olmuştur (Grujovic vd., 2019). Çalışmanın

mikrodilüsyon yönteminden elde edilen sonuçlarına göre, test edilen maseratın *S. aureus*'a karşı %50 dilüsyonda etkili olduğu görülmüştür (Grujovic vd., 2019). Lyles vd. (2017) tarafından yapılan benzer bir çalışmada zeytinyağı kantaron maseratında MİK değeri %0,5 olarak bulunmuştur (h/h).

Hiperforinin çeşitli çalışmalarda kantaron yağının antibakteriyel etkili bileşeni olduğu söylene de genellikle ışık ve ısı nedeniyle zaman içinde türevlerine dönüşmektedir. Bozunma süresi kısa olduğu içi hafif eskimiş yağ maseratında bulunmamaktadır. Ancak benzer çalışmalarda etkinin sadece hiperisin veya hiperforinden kaynaklanmadığı yağ içerisinde karışım halde bulunan floroglusinol, naftodiantron ve flavonoidlerin sinerjik olarak etkili olduğu rapor edilmiştir (Wölfler vd., 2014).

Yapılan çeşitli çalışmalarda bitkinin alkolik ekstrelerinin sulu ekstrelerle göre daha etkin olduğu; *Hypericum* ekstrelerinin sergilediği antibakteriyel etkinin büyük ölçüde hiperforin ve hiperisinlerden kaynaklandığı, gram-pozitif bakterilere karşı gram-negatiflerden daha güçlü olduğu deneylerle kanıtlanmıştır (Keles vd., 2001; Tolkunova vd., 2002; Escop, 2018).

2010 yılında yapılan bir çalışmaya göre sk yağlarının farklı oranlarda (%30, %40, %50 oranlarında) katıldığı merhemlerde dermal veya vajinal uygulamalar ile 6 farklı bakteri suşuna karşı antibakteriyel etki değerlendirilmiştir. *Lactobacillus acidophilus* haricinde *Streptococcus pyogenes* (iki suşları), *Streptococcus viridans*, *Micrococcus luteus* ve *Moraxella catarrhalis*'e karşı hazırlanan merhemlerin normal vajinal florayı bozmadan inhibisyon oluşturdıkları saptanmıştır. Çalışma sonucunda merhem formülasyonundaki maserat miktarının artırılmasıyla antibakteriyel etkinin arttığı görülmüştür (Peeva- Naumovska vd., 2010).

Çalışmamız sarı kantaron maserasyonunda kullanılabilecek uygun yağları ve en uygun sürenin belirlenmesini amaçlayıp, hedefine büyük ölçüde ulaşmıştır. Ancak elde edilen veriler bu masere yağın standardize edilebilmesi için çok sayıda parametre olduğunu bize göstermiştir. Öncelikle Farmakope kalitesinde Hyperici herba kullanılarak, yağ asidi profili ile sabunlaşmayan biyoaktif bileşen profili aydınlatılmış standart susam yağları ile bu çalışmanın tekrarlanması ve hiperforin ve türevlerinin miktar tayinlerinin ortaya konması ve standardize edilmesi gerekmektedir. Ülkemizde yoğun biçimde ancak hiçbir standarda sahip olmayan bitki materyali ve zeytinyağları ile kontrolsüz olarak kullanılan bu kıymetli preparatın etken maddeleri bakımından standart hale getirilerek tedaviye sokulması için ileri çalışmalarımız devam edecektir.

KAYNAKLAR

- Agostinis, P., Vantieghem, A., Merlevede, W. (2002). Hypericin in cancer treatment: more light on the way. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34(3), 221-41.
- Akkemik, Ü. (Editör). 2014. *Türkiye'nin Doğal Egzotik Ağaç ve Çalıları II*. Ankara: Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, s.25.
- Alan, S., Demirci, B., Iscan, G., Kose, Y. B., & Baser, K. H. C. (2010). Composition and Anticandidal Activity of the Essential Oil of *Hypericum perforatum* L. *Asian Journal of Chemistry*, 22(2), 13-15.
- Albert, D., Zundorf, I., Dingermann, T., Muller, W.E., Steinhilber, D., Werz, O. (2002). Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5lipoxygenase, *Biochemical Pharmacology*, 64 (12), 1767–1775.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M.H., Alpaslan, C. (2015). Sarı Kantaronun (*Hypericum perforatum*) Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(4), 578-591.
- Amir, R.N., Emine, B. (2005). Geliştirilmiş Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Klonlarının Bazı Agronomik ve Teknolojik Özellikleri. Ege Üniversitesi: *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(3), 11-22
- Aydemir, K. (2015). Sarı Kantaron Ekstraktının Dondurma Üretiminde Kullanılması. T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 24-25-68.
- Andrade, M.R., Almeida, E.X., Conserva, L.M. (1998). Alkyl chromone and other compounds from *Clusia nemorosa*. *Phytochemistry*, 47(7), 1431–1433.
- Anonymous. (1999). World Health Organization (WHO) Monographs on Selected Medicinal Plants, vol. 2, Geneva
- Avato, P. (2005). P. Survey on the *Hypericum* Genus. In: Secondary Metabolites and Bioactivity. *Studies in Natural Products Chemistry*, (30), 603-634
- Aygün, G. (2008). Ülkemizde Hastane Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi: Güncel Durum, *Türk Klinik Mikrobiyolojisi ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, s. 56.
- Bağcı, E., Babaç, T. (2003). A Morphometric and Chemosystematic Study on the *Abies* (Fir) Miller Species in Turkey, *Acta Botanica Gallica*, 150 (3), 355-367.
- Başer, K.H.C. (2007) Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.). *Bağbahçe*, (13) 28-29.
- Başer, K.H.C., Demirci, B., Kırimer, N., Satil, F., Tümen G. (2001). The essential oils of *Thymus migricus* and *T. fedtschenkoi* var. from Turkey, *Flavour and Fragrance Journal*, (17), 41-45.

- Baytop, T. (1974). Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ders Kitabı No:19, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*. No:2003.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*. (2. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Yayınevi.
- Beerhues, L. (2002). Hyperforin. *Phytochemistry*, 67, 2201-2207.
- Behm, B., Babilas, P., Landthaler, M., Schreml, S. (2012). Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 26, 812-820.
- Berghöefer, R., and Höelzl, J. (1989). Isolation of (amentoflavone) from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 55, 90-91.
- Betty, R.C., Trikojus, V.M. (1943). Hypericin and non-flourescent photosensitive pigment from St. John Wort. *Experimental Biology and Medicine*, 21, 175-182.
- Bilia, A.R., Gallori, S., Vincieri, F.F., (2002). St. John's Wort and depression: efficacy, safety and tolerability an update. *Life Sciences*, 70 (26), 3077–3096.
- Bills, B., & Manicke, N. (2020). Using sesame seed oil to preserve and preconcentrate cannabinoids for paper spray mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 31(3), 675-684.
- Bombardelli, E., Morazzoni, P. (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 56, 43-68.
- Bomme, U. (1997). Produktionstechnologie von johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). *Zeitschrift für Arznei und Gewürzpflanzen*, 2, 127-134
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran, M. (1990). Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzimology*, 186, 343-355.
- Brockmann, H., Sanne, W. (1953) Zur Biosynthese des Hypericins. *Naturwissenschaften*, 40, 509-510.
- Brondz, I., Greibrokk, T., Groth, P., Aasen, A. (1983) The absolute configuration of hyperforin, an antibiotic from *Hypericum perforatum* L., based on the crystal structure determination of its parabromobenzoate ester. *Acta Chemica Scandinavica*, 37, 263-65.
- Brondz, I., Greibrokk, T., Groth, P.A., Aasen, J. (1982). The relative stereochemistry of hyperforin an antibiotic from *Hypericum perforatum* L. *Tetrahedron Letters*, 23, 1299-300.
- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H., Kaya, E. (2005). Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 245-256.

- Cass, H. (1998). *St. John's Wort: Nature's Blues Buster*, (1. Baskı). New York: Avery Publishing Group.
- Cervo, L., Rozio, M., Ekalle-Soppo, C.B., Guiso, G., Morazzoni, P., Caccia, S. (2002). Role of hyperforin in the antidepressant-like activity of *Hypericum perforatum* extracts, *Psychopharmacology*, 164 (4), 423–428.
- Ceylan, A., Bayram, E., Arabacı, O., Marquard, R., Özay, N., Geren, H. (2005). Ege Bölgesi Florası Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Populasyonlarında Uygun Kemotiplerin Belirlenmesi ve Islahı, *Ege Üniversitesi: Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(3), 33-44
- Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A., Muller, W.E. (1998). Hyperforin as a possible antidepressant component of *hypericum* extracts. *Life Sciences*, 63, 499-510.
- Chialva, F., Gabri, G., Liddle, P.A., Ulian, F. (1981). Indagine sulla composizione dell' olio essenziale di *Hypericum perforatum* L. e di *Teucrium chamaedrys* L. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.*, 63, 286-288.
- CLSI (NCCLS) M7-A7. (2006). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, Seventh Edition.
- Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). (2009). Assessment report on *Hypericum perforatum* L., Herba, EMEA/HMPC/745582/2009.
- Couladis, M., Chinou, I.B., Tzakou, O., Petrakis, P.V. (2003). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hypericum rumeliacum* subsp. *apollinis* (Boiss. & Heldr.). *Phytotherapy Research*, 17, 152-154.
- Crockett, S.L. ve Robson, N.K.B. (2011). Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5 (Special Issue 1), 1-13.
- Cui, Y., Gurley, B., Ang, C.Y.W., Leahey, J. (2002). Determination of hyperforin in human plasma using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, 780, 129-135.
- Curtis, J.D. ve Levsten, N.R. (1990). Internal secretory structure in *Hypericum*: *Hypericum perforatum* L. and *H. balearicum* L. *New Phytologist*, 114, 571-580.
- Çakmak, E.H. ve Bayram, E. (2003). Muğla Orijinli Sarı Kantaron (*H. perforatum* L.) Populasyonlarının Bazı Agronomik ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi: Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1),57-64.

- Çırak, C. (2006). Hypericin in *Hypericum lydium* Boiss Growing in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 897-899.
- Çırak, C. ve Kevseroğlu, K. (2004). Kantaron bitkisinin eski çağlardan günümüze kullanım şekilleri ile modern tıptaki yeri ve önemi. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 19, 74-84.
- Çırak, C. ve Kurt, D. (2014) Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri. *Anadolu*, 24 (1), 42-58.
- Çırak, C., Ayan, A., Kevseroğlu, K. (2004). The effects of light and some presoaking treatments on germination rate of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) seeds. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 182-186.
- Çırak, C., Bertoli, A., Pistelli, L., Seyis, F. (2010). Essential oil composition and
- Davis, P.H. (1967). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburg: Edinburg University Press.
- Davis, P.H. (1978). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburg: Edinburg University Press.
- Dehe, M. (1993). Johanniskraut in mehrjaerigen Anbau (*Hypericum perforatum* L). Versuchtbericht Heil-und Gewarzpflanzen. Staatl. Lehr-und Versuchsansta für Landw. Weinbau und Gartenbau Ahrweiler, 11, 14-16.
- Deveci, A. (2014) *Hypericum perforatum* L. bitkisinin morfolojik, kimyasal (uçucu yağ ve flavonoid) varyasyonlarının araştırılması. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., Izzo, A.A. (2001). St John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22 (6), 292–297.
- Dikmen, M., Öztürk, Y., Sagratini, G. (2011). Evaluation of the wound healing potentials of two subspecies of *Hypericum perforatum* on cultured NIH3T3 fibroblasts, *Phytotherapy Research*, 25, 208-214.
- Dona, M., Dell'Aica, I., Pezzato, E., Sartor, L., Calabrese, F., Della Barbera, M., Donella-Deana, A., Appendino, G., Borsarini, A., Caniato, R., Garbisa, S. (2004). Hyperforin inhibits cancer invasion and metastasis, *Cancer Research*, 64 (17), 6225–6232
- Dündar, E. (2018) *Hypericum perforatum* L. türünün genetik varyasyonu ve uçucu yağ bileşenlerinin toprak koşulları ile ilişkisi. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Elisabetta, G., Chiara, C., Gaetano, S., Maria, R., Maria, L. (2017). Evaluation of wound healing activity of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) in horses. *Comparative Clinical Pathology*, 26(3), 611-615.
- Erdelmeier, C.A.J. (1998). Hyperforin, possibly the major non-nitrogenous secondary metabolite of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 31, 2-6.
- Ersoy, E., Özkan, E.E., Boğa, M., Mat, A. (2020). Evaluation of in vitro biological activities of three *Hypericum* species (*H. calycinum*, *H. confertum*, and *H. perforatum*) from Turkey. *South African Journal of Botany*, 130, 141-147.
- ESCOP Monographs. (2018). *Hyperici Herba* (St. John's Wort) (2. Baskı). <https://escop.com/hyperci-herba-st-johns-wort-online-consultation/> (Erişim tarihi: 01.10.2021)
- Feisst, C., Werz, O. (2004). Suppression of receptor-mediated Ca²⁺ mobilization and functional leukocyte responses by hyperforin. *Biochemical Pharmacology*, 67 (8), 1531–1539.
- Foster, S., Duke, J.A. (1990). *A Field Guide to Medicinal Plants: Eastern and Central North America*. Houghton Mifflin Company, New York.
- Froestl, B., Steiner, B., Müller, W.E. (2003). Enhancement of proteolytic processing of the beta-amyloid precursor protein by hyperforin. *Biochemical Pharmacology*, 66 (11), 2177–2184.
- Fuller, R.W., J. W. Blunt, J. L. Boswell, J. H. Cardellina, and M. R. Boyd. (1999). Guttiferone F, the first prednylated benzophenone from *Allanblackia stuhlmannii*. *Journal of Natural Products*, 62 (1), 130–132.
- Gaedcke, F. (2003). St John's Wort herb extracts, *Hypericum*, The Genus *Hypericum*, (E. Ernst Ed.). Taylor & Francis, London, UK, 51, 52.
- Gaind, K.N., Ganjoo, T.N. (1959). Antibacterial principle of *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Pharmacy*, 21, 172–175.
- Gaster, B., Holroyd, J. (2000). St John's wort for depression: a systematic review. *Archives of Internal Medicine*, 24, 160 (2), 152-6.
- Greeson, J.M., Sanford, B., Monti, D.A. (2001). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153 (4), 402-414.

- Grujovic, M., Mladenovic, K.G., Comic, L. (2019). In vitro evaluation of antimicrobial and antibiofilm activity of Oleum Hyperici: An original product from Goc Mountain (Serbia). *Kragujevac Journal of Science*, 41, 97-106.
- Gudzic, B., D. Djokovic, V. Vajs, R. Palic, and G. Stojanovic. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hypericum maculatum* Crantz. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 392-394.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim T., ve Başer, K.H.C. (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement 2). *Edinburgh University Press*, 11,71-72.
- Hammer, K.D., Hillwig, M.L., Solco, A.K., Dixon, P.M., Delate, K., Murphy, P.A., Wurtele, E.S., Birt, D.H. (2007). Inhibition of prostoglandin E(2) production by antiinflammatory *Hypericum perforatum* extracts and constituents in RAW264.7 Mouse Macrophage Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7323-31.
- Hänsgen, K.D. ve Vesper, J. (1996). Antidepressive wirksamkeit eines hochdosierten *Hypericum*extraktes. *Münchener Medizinische Wochenschrift*, 138, 29–33.
- Hawken, C.M. (1997). St. John's Wort. Woodland Publishing, Pleasant, Grove, Utah.
- Heinrich, M., Vikuk, V., Daniels, R., Stintzing, F.C., Kammerer D.R. (2017). Characterization of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) macerates prepared with different fatty oils upon processing and storage. Germany. *Phytochemistry Letters*, (20), 470–480
- Hobbs, Ch. (1996). St. John's wort. *Herbalgram*, (35),18-32.
- Hostanska, K., J. Reichling, S. Bommer, M. Weber, and R. Saller. (2003). Hyperforin a constituent of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56, 121–132.
- Hostanska, K., Rostock, M., Melzer, J., Baumgartner, S., Saller, R. (2012). A homeopathic remedy from arnica, marigold, St. John's Wort and comfrey accelerates in vitro wound scratch closure of NIH3T3 fibroblasts. *Complement and Alternative Medicine*, 12, 100-109.
- Hostettmann, K. ve Wolfender, J.L. (2005). *St. John's wort and its active principles in depression and anxiety* (Müller W.E. Ed.). Germany: Birkhauser Verlag.

- Hölzl, J., L. Demisch, and B. Gollnik. (1989). Investigation about antidepressive and moodchanging effects of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 55, 640-645.
- Hübner, W.D., Lande, S., Podzuweit, H. (1994). *Hypericum* treatment of mild depressions with somatic symptoms. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 1, 12-14.
- Isacchi, B., Bergonzi, M.C., Carnevali F, van der Esch SA, Vincieri FF, Bilia AR. (2008). Analysis and stability of the constituents of St. John's wort oils prepared with different methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45, 756-761.
- Kaçar, O. ve N. Azkan. (2010). Tıbbi bitki olarak sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) ve halk sağlığındaki yeri, *Dünya Gıda Dergisi*, 1, 82-89.
- Kalb, R., Trautmann-Sponsel, R. D. and Kieser, M. (2001). Efficacy and tolerability of *Hypericum* extract WS 5572 versus placebo in mildly to moderately depressed patients. A randomized doubleblind multicenter clinical trial. *Pharmacopsychiatry*, 34, 96-103.
- Karasu, A., Bakır, B. (2008). Yara ve yara iyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14(1), 36-43.
- Kartning, T. ve Göbel, I. (1992). Determination of hypericin and pseudohypericin by thin-layer chromatography-densitometry. *Journal of Chromatography A*, 609, 423-426.
- Kasper, S., Anghelescu, I. G., Szegedi, A., Dienel, A. and Kieser, M. (2006). Superior efficacy of St John's wort extract WS 5570 compared to placebo in patients with major depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-center trial [ISRCTN77277298]. *BMC Medicine*, 4, 13-14.
- Kasper, S., M. Gastpar, W. E. Müller, H. P. Volz, A. Dienel, M. Kieser, and H. J. Möller. (2008). Efficacy of St. John's wort extract WS 5570 in acute treatment of mild depression: a reanalysis of data from controlled clinical trials. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 258, 59-63.
- Kasper, S., Volz, H. P., Möller, H. J., Dienel, A. and Kieser, M. (2008). Continuation and long-term maintenance treatment with *Hypericum* extract WS 5570 after recovery from an acute episode of moderate depression a double-blind, randomized, placebo controlled long-term trial. *European Neuropsychopharmacology*, 18, 803-813.
- Keles, O., Seyyal, A.K., Bakirel, T. and Alpınar, K. (2001). Screening of some Turkish plants for antibacterial activity. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 559-565.

- Kintzios, S.E. (2006). Terrestrial Plant-Derived Anticancer Agents and Plant Species Used in Anticancer Research. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25, 79–113
- Kitanov, G. M., and K. F. Blinova. (1987). Modern state of the chemical study of species of the genus *Hypericum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 23, 151–166.
- Kitanov, G.M. (2001), Hypericin and pseudohypericin in some *Hypericum* L. species. *Biochem. Syst. Ecol.*, 29, 171-178.
- Koeberle, A., Rossi, A., Bauer, J., Dehm, F., Verotta, L., Northoff, H., Werz, O. (2011). Hyperforin, an anti-inflammatory constituent from St. John's wort, inhibits microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and suppresses prostaglandin E2 formation in vivo. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 6-7.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C. (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott-Raven Pub, Philadelphia, USA, 785-856.
- Kusari, S., Sezgin, S., Nigutova, K., Cellarova, E., Spiteller, M. (2015). Electronic Supplementary Material: Electronic Supplementary Material Spatial chemo-profiling of hypericin and related phytochemicals in *Hypericum* species using MALDI-HRMS imaging. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, <https://www.researchgate.net/publication/280738296/> (Erişim tarihi: 09.05.2021)
- Laakmann, G., Schule, C., Baghai, T., Kieser, M. (1998). St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiatry*, 31 (1), 54–59.
- Ladeira A.M, Silva, G.B., Raggi, L., Young, M.C.M., Agripino, D.G., Lima, M.E.L., Paulo., R.H.M., (2009). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil of *Hypericum cordatum*. *Journal of Essential Oil Research*, 21, 558-560.
- Lavagna, S.M., Secci, D., Chimenti, P., Bonsignore, L., Ottaviani, A., Bizzarri, B., (2001). Efficacy of *Hypericum* and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Farmaco*, 56, 451-453.
- Lecrubier, Y., Clerc, G., Didi, R., 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, 1361–1366.
- Lehrl, S. ve Woelk, H. (1993). Ergebnisse von messungen der kognitiven leistungsfähigkeit bei patienten unter der therapie mit johanniskraut. *Nervenheilkunde*, 12, 281-284.

- Linde, K., Ramirez, G., Mulrow, C.D., Pauls, A., Weidenhammer, W., Melchart, D. (1996). St. John's Wort for depression an overview and meta-analysis of randomized clinical trials. *British Medical Journal*, 313 (7052), 253–258.
- Lyles, J.T., Kim, A., Nelson, K., Bullard-Roberts, A.L., Hajdari, A., Mustafa, B., Quave, C.L. (2017). The Chemical and Antibacterial Evaluation of St. John's Wort Oil Macerates Used in Kosovar Traditional Medicine. *Frontiers in Microbiology*, 8, 16-39.
- Mainetti, S. ve Carnevalli, F. (2013). An experience with paediatric burnwounds treated with a plant-derived wound therapeutic. *Journal of Wound Care*, 22, 681-689.
- Maisenbacher, P. ve Kovar, K.A., (1992). Analysis and stability of *Hyperici* oleum, *Planta Medica*, 58 (4), 351–354.
- Martínez-Poveda, B., Quesada, A.R., Medina, M.A., (2005). Hyperforin, a bioactive compound of St. John's wort, is a new inhibitor of angiogenesis targeting several key steps of the process. *International Journal of Cancer*, 117 (5), 775–780.
- Mazza, G. ve Oomah, B.D. (1998). Herbs, Botanicals, and Teas, CRC Press. *Florida*, 133, 134, 142–145.
- Mckee, T.C., Covington, C.D., Fuller, R.W., Bokesh, H.R., Young, S., Cardellina, J.H., Kadushin, M.R., Soejarto, D.D., Stevens, P.F., Cragg, G.M., Botd, M.R. (1998). Pyranocoumarins from tropical species of the genus *Calophyllum*: a chemotaxonomic study of extracts in the National Cancer Institute collection. *Journal of Natural Products*, 61(10), 1252–1256.
- Meruelo, D., Lavie, G. and Lavie, D. (1988). Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85, 5230–5234.
- Mills, S., Bone K. (2000). *Principles and Practices of Phytotherapy* (2. Baskı). London: Churchill Livingstone.
- Mimica-Dukic, N., Ivanec-Tumbas, I., Igic, R., Popovic, M., Gasic, O. (1997). The content and composition of essential oil of *Hypericum perforatum* from Serbia. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 8, 26-28
- Mockute, D., Bernotiene, G., Judžentienė, A. (2003). Volatile compounds of the aerial parts of wild St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) plants. *Chemija*, 14, 108-111.

- Mukherjee, P.K, Verpoorte, R, Suresh, B. (2000). Evalution of in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family; Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70, 315-321.
- Muller, W.E. (2003). Current St John's wort research from mode of action to clinical efficacy. *Pharmacological Research*, 47 (2), 101–109.
- Muller, W.E., Singer, A., Wonnemann, M., (2001). Hyperforin-antidepressant activity by a novel mechanism of action. *Pharmacopsychiatry*, 34 (Suppl 1), 98–102.
- Murch, S.J., Haq, K., Rupasinghe, V., Saxena, P. K. (2003). Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 49, 251–257.
- Nahrstedt, A. ve Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30, 129–134.
- Nayak, S.B., Sandiford, S., Maxwell, A. (2009). Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morina citrifolia* L. leaf. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 6(3), 351-356.
- Nogueira, T., Duarte, F., Tavares, R., Curto, M.J.M., Capelo, J., Freitas, A.C. (1999). Comparative study of the aromas of *Hypericum* L. species from Portugal using olfactoscopy. *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 195-199.
- Noldner, M. ve Schotz, K. (2002). Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Medica*, 68, 57-80.
- Overview Of Comments Received on Community Herbal Monograph On *Hypericum perforatum* L., Herba, EMEA/HMPC/101304/2008
- Orhan I.E., Kartal M., Gulpinar A.R. , Cos P., Matheeußen A., Maes L., Tasdemir D. (2013). Assessment of antimicrobial and antiprotozoal activity of the olive oil macerate samples of *Hypericum perforatum* and their LC-DAD-MS analyses. *Food Chemistry*, 138, 870-875.
- Özcan, A. (2015). *Konya ekolojik şartlarında yetiştirilen sarı kantaron'un farklı hasat zamanları ve kurutma yöntemlerinin verim ve bazı kalite özellikleri üzerine etkileri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Öztürk, N., Korkmaz, S., Öztürk, Y. (2007). Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 33-39.
- Pathak, N., Rai, A. K., Kumari, R., & Bhat, K. V. (2014). Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 146-148.
- Peeva-Naumovska, V., Panovski, N., Grdanovska, T., Fredro-Kumbaradzi, E. (2010). Formulations of St. John's Wort oil ointment and evaluation of its antibacterial effect. *Frontiers in Microbiology*, 8, 16-39.
- Philipp, M., Kohlen, R. and Hiller, K.O. (1999). *Hypericum* extract versus imipramine or placebo in patients with moderate depression: randomised multicenter study of treatment for eight weeks. *BMJ*, 319, 1534–1538.
- Piperopoulos, G., Lotz, R., Wixforth, A., Schmierer, T., Zeller, K.P. (1997). Determination of naphthodiantrones in plant extracts from *Hypericum perforatum* L. by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 695, 309-316.
- Potacka, J. (2003). The chemistry, pharmacology and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomedicine*, 1, 61-73.
- Prisacaru, A.I., Andritoiu, C., Andriescu, C. (2013). Evaluation of the wound-healing effect of a novel *Hypericum perforatum* ointment in skin injury, *Journal of Morphology Embryology*, 54, 1053.
- Qu, L., Widrechner, M.P., Rigby, S.M. (2010). Analysis of breeding systems, ploidy, and the role of hexaploids in three *Hypericum perforatum* L. populations. *Industrial Crops and Products*, 32, 1-6.
- Redvers, A., Laugharne, R., Kanagaratnam, G., Srinivasan, G. (2001). How many patients self-medicate with St John's wort? *Psychiatr Bull*, 25, 254-256.
- Robson, N.K.B. (1966). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement 2). *Edinburgh University Press*, 355-401
- Robson, N.K.B. (1977). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae): 1. Infrageneric classification. *Bulletin of the Natural History Museum Botany*, 5(6), 291–355.
- Robson, N.K.B. (2010). About this volume the monograph of *Hypericum* by Norman Robson Phytotaxa. *Editorial*, 4, 1-4

- Roscetti, G., Franzese, O., Comandini, A., Bonmasar, E. (2004). Cytotoxic activity of *Hypericum perforatum* L. on K562 erythroleukemic cells: differential effects between methanolic extract and hypericin. *Phytotherapy Research*, 18, 66–72.
- Saddiqe, Z., Naeen, I., Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 511-521.
- Saljic, J. (1975). Ointment for the treatment of burns. *German Offensive*, 2, 20-22.
- Sanchez-Mateo, C.C., Bonkanka, C.X., Hernández-Pérez, M., Rabanal, R.M. (2006). Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *Journal of Ethnopharmacology* 107, 1-6.
- Sayar, H., Gergerlioglu, N., Seringec, N., Ozturk, P., Bulbuloglu, E., Karabay, G. (2014). Comparison of efficacy of topical phenytoin with hypericin in second-degree burn wound healing: an experimental study in rats. *Medical Science Monitor Basic Research*, 20, 36-37.
- Schempp, C.M., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon, J.C. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and Gram-positive bacteria. *Lancet*, 353 (9170), 2129.
- Schempp, C.M., Winghofer, B., Ludtke, R., Simon-Haarhaus, B., Schopf, E., Simon, J.C. (2000). Topical application of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and of its metabolite hyperforin inhibits the allostimulatory capacity of epidermal cells. *British Journal of Dermatology*, 142 (5), 979–984.
- Schempp, C.M., Kirkin, V., Simon-Haarhaus, B., Kersten, A., Kiss, J., Termeer, C.C., Gilb, B., Kaufmann, T., Borner, C., Sleeman, J.P., Simon, J.C. (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, 21 (8), 1242–1250
- Schmitt, A.C., Ravazzolo, A.P. and Von Poser, G.L. (2001). Investigation of some *Hypericum* species native to Southern of Brazil for antiviral activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 239–245.
- Seger, C., Römpf, H., Sturm, S., Haslinger, E., Schmidt, P.C., Hadacek, F. (2004). Characterization of supercritical fluid extracts of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) by HPLC–MS and GC–MS. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21, 453-463.
- Selkoe, D.J. (1994). Normal and abnormal biology of the beta-amyloid precursor protein. *Annual Review of Neuroscience*, 17, 489–517

- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey 10: Folk medicine in central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 95-115.
- Singer, A., Wonnemann, M., Muller, W.E. (1999). Hyperforin, a major antidepressant constituent of St. John's Wort, inhibits serotonin uptake by elevating free intracellular Na^+ . *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290 (3), 1363–1368.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, 89, 191–198.
- Solomon, D., Adams, J., Graves, N. (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.
- Southwell, I.A. ve M.H., Campbell. (1991). Hypericin Content Variation in *Hypericum perforatum* in Australia. *Phytochemistry*. 30, 475-478.
- Suzuki, O., Katsumata, Y., Oya, M., Bladt, S., Wanger, H. (1984). Inhibition of monoamine oxydase by hypericin. *Planta Medica*, 50, 272-274.
- Süntar, I., Akkol, E.K., Yılmaz, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., Yeşilada, E. (2010). Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2), 468-477.
- Şatana, A. ve Arslan, B. (2012). Türkiye'de *Hypericum* L. Türlerinin Yayılışı Ve Farmakolojik Özellikleri, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Tokat: Gaziosmanpaşa Üniversitesi, s. 105
- Şengül, M., Aydın, S., Öztürk, N., Öztürk, Y., Başer, K. H. C. (1991). *Hypericum perforatum* L.'un antimikrobiyel aktivitesi üzerine bir çalışma, Bildiriler Kitabı, IX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, 230–234.
- Şimşek, M., Gülsoy, E. (2016). Ceviz ve içerdiği yağ asitlerinin insan sağlığı açısından önemi üzerine yapılan bazı çalışmalar. Iğdır Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 6(4), 9-15.
- Takahashi, I., Nakanishi, S., Kobayashi, E., Nakano, H., Suzuki, K., Tamaoki, T. (1989). Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: possible relation to their antiretroviral activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 165, 7-12.

- Tatsis, E.C., Boeren, S., Exarchou, V., Troganis, A.N., Vervoort, J., Gerothanassis, I.P. (2007). Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. *Phytochemistry*, 68, 383-393.
- Tedeschi, E., Menegazzi, M., Margotto, D., Suzuki, H., Forstermann, U., Kleinert, H. (2003). Anti-inflammatory actions of St. John's wort: inhibition of human inducible nitric-oxide synthase expression by down-regulating signal transducer and activator of transcription-1alpha (STAT-1alpha) activation, *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 307 (1), 254–261.
- Tolkunova, N.N., Cheuva, E.N. and Bidyuk, A.Y. (2002). Effect of medicinal plant extracts on microorganism development. *Pishchevaya Promyshlennost*, 8, 70–71.
- Üstün, Ç. (1998). *Santral sinir sistemi üzerine etkili tıbbi bitkilerin tarihsel süreç içinde ve günümüzde tedavideki yeri*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Vandenbogaerde, A.L., Kamuhabwa, A., Delay, E., Himpen, B.E., Merlevede, W.J., De Witte, P.A. (1998). Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 45, 87-94.
- Verotta, L., Appendino, G., Bombardelli, E. and Brun, R. (2007). In vitro antimalarial activity of hyperforin, a prenylated acylphloroglucinol. A structure–activity study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 1544–1548.
- Vlietinck, A.J., De Bruyne, T., Apers, S., Pieters, L.A. (1998). Plant derived leading compounds chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV-1) infection. *Planta Medica*, 64, 97–109.
- Voss, A., Verweij, P.E. (1999) Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort. *The Lancet*, 354, 9180.
- Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D., Vance, N. (2001). Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the Northwestern United States. *Canadian Journal of Botany*, 79, 1248-1255.
- Westerhoff, H., Getz, W.M., Bruggeman, F., Hofmeyr, J.H.S., Rohwer, J.M., Snoep, J.L. (2002). ECA: Control in Ecosystems. *Molecular Biology Reports*, 29, 113–117.
- Wilhelm, K.P., Biel, S., Siegers, C.P. (2001). Role of flavonoids in controlling the phototoxicity of *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomedicine*, 8 (4), 306–309.

- Wirz, A., Simmen, V., Herlmann, J., Calis, I., Meier, B., Sticher, D. (2000). Bisanthraquinone plicocides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-I receptors. *Phytochemistry*, 55, 941-947.
- Wölflle, U., Seelinger, G., Schempp C.M. (2014). Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*), *Planta medica*, 80(02/03), 109-120
- Yanık, K. (2012). *Travma. In: Veteriner Genel Cerrahi*, Medipres Matbaacılık, s. 301332.
- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, 46, 133–152
- Yetkin G. Türkiye’de satılan ticari kantaron yağı üzerinde fitoterapötik yönden araştırmalar (Yüksek lisans tezi). Ankara, Gazi Üniversitesi, 2008.
- http-1: <http://www.bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=7870&t=1>
(Erişim tarihi: 14.05.2021).
- http-2: <https://docplayer.biz.tr/5995979-Onemli-tibbi-bitkiler-olarak-hypericum-turleri.html>
(Erişim trihi: 19.07.2020)
- http-3: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-319-32004-5_13-1
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-4: <https://yemek.com/sozluk/kantaron-cayi/>
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-5: <https://www.karahanogluciftligi.com/urun/sari-kantaron-tenturu-50ml>
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-6: <https://solgar.com.tr/urun/stjohns-wort/4149>
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-7: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=dbireyj0zLml6GuWqKb6LQ&no=m9sTabxe0XUzfyyxIZWBuA>
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-8: https://yemekresimli.com/indx.html?utm_content=kantaron+ya%C4%9F%C4%B1+kanser
(Erişim trihi: 11.10.2020)
- http-9: <http://hmyo.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/438/2019/03/Yara-iyile%C5%9Fmesi-fizyolojisi-ve-iyile%C5%9Fme-fazlar%C4%B1.pdf>
(Erişim trihi: 15.10.2020)

http-10: <http://www.theplantlist.org>

(Erişim tarihi: 08.05.2021)

http-11: <https://bezmialem.edu.tr/fitoterapi/PublishingImages/tatli-badem.pdf>

(Erişim tarihi: 01.06.2021)

http-12: <http://www.fao.org/3/y2774e/y2774e04.htm>

(Erişim tarihi: 01.06.2021)

