

***Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae) TÜRÜNÜN BAZI
FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN, ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN
VE UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUNUN BELİRLENMESİ**

Emine KOÇ

FARMASÖTİK BOTANİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Turan ARABACI

Yüksek lisans Tezi – 2019

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae) TÜRÜNÜN BAZI
FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN, ANTİOKSİDAN KAPASİTESİNİN
VE UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUNUN BELİRLENMESİ**

Emine KOÇ

**Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turan ARABACI**

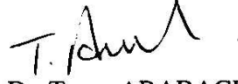
Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TYL-2017-684 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2019**

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Emine KOÇ'un "Hypericum thymopsis Boiss.(Hypericaceae) Türünün Bazı Fenolik Bileşiklerinin, Antioksidan Kapasitesinin ve Uçucu Yağ Kompizosyonunun Belirlenmesi"** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30/04/2019



Prof. Dr. Turan ARABACI
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Şanlı KABAKTEPE
Malatya Turgut Özal Üniversitesi
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Narin SADIKOĞLU
İnönü Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2019 tarih ve 2019/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hypericaceae (Guttiferae) ile İlgili Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyasının Betimi	3
2.2. <i>Hypericum</i> (Guttiferae) Cinsi ile İlgili Genel Bilgiler.....	3
2.2.1. <i>Hypericum</i> Cinsinin Ülkemizdeki Durumu.....	3
2.2.2. <i>Hypericum</i> Cinsinin Betimi.....	4
2.2.3. <i>Hypericum thymopsis</i> Boiss. Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.2.4. <i>Hypericum</i> Cinsinin Farmasötik Botanik Özellikleri.....	5
2.3. <i>Hypericum</i> Cinsi ile İlgili Yapılmış Kimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları.....	5
2.3.1. <i>Hypericum</i> Cinsinin Kimyasal Özellikleri.....	5
2.3.2. <i>Hypericum</i> Cinsinin Uçucu Yağının Özellikleri.....	8
2.3.3. <i>Hypericum</i> Cinsinin Antioksidan Özellikleri.....	8
2.3.3.1. Antioksidan Çalışmalarla İlgili Genel Bilgiler.....	8
2.3.3.2. Antioksidan Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler.....	10
2.3.3.3. <i>Hypericum</i> Cinsinin Antioksidan Etkiler ile ilgili yapılmış çalışmalar.....	11
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Bitki Materyalinin Temini.....	14
3.2. Morfolojik incelemeler.....	14
3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	15
3.4. Antioksidan Çalışmalar.....	15
3.4.1. ABTS Metodu.....	15
3.4.2. DPPH Metodu.....	16
3.5. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi.....	16
3.6. Uçucu Yağ Analizi.....	17
3.7. İstatistik Çalışmalar.....	18
4. BULGULAR	19

4.1. Morfolojik Bulgular.....	19
4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları.....	22
4.3 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesine ait Bulgular.....	23
4.4. Uçucu Yağ Analiz Bulguları.....	25
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33
EKLER	40
EK.1. ÖZGEÇMİŞ	40
EK.2. Etik Kurul Onayı Gerekmeyeğine Dair Yazı.....	41

TEŐEKKÜR

Bu araştırmanın başlangıcından bitimine kadar her aşamasında çok değerli bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Turan ARABACI'ya,

Çalışma boyunca laboratuvarlarını kullanıma aan Eczacılık Fakóltesinin değerli elemanlarına,

Çalışma esnasında herbaryumunun imkânlarından yararlanmamı sağlayan INU herbaryumu sorumlularına,

GC/MS ve HPLC analizlerini gerçekleştirdiğimiz İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi sorumlularına,

Çalışmaya maddi yönden kaynak sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje Numarası: TYL-2017-684),

Ayrıca benden desteklerini esirgemeyen değerli AİLEM'e,

Teőekkürlerimi sunarım.

ÖZET

***Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae) Türünün Bazı Fenolik Bileşiklerinin, Antioksidan Kapasitesinin ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi**

Amaç: Bu tezin amacı Türkiye’de endemik bir tür olan *Hypericum thymopsis* türünün morfolojik özelliklerinin, bazı fenolik bileşiklerinin, antioksidan kapasitesinin ve uçucu yağ kompozisyonunun belirlenmesidir.

Materyal ve Metot: Bitki materyalleri gerçekleştirilen arazi çalışmaları ile toplanmıştır. Morfolojik çalışmalar örnekler üzerinde karakter analizleri ve ölçümler ile yapılmıştır. Antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılmıştır. Fenolik bileşiklerin belirlenmesi HPLC analiz yöntemi ile yapılmıştır. Uçucu yağ analizi 3 farklı popülasyona ait örnekler üzerinde, GC/MS analiz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Morfolojik incelemelerde bazı popülasyona ait örneklerin türün betimine göre gövdesinin daha uzun (15-20 cm), yapraktaki şeffaf gland sayısının daha fazla (c.50), sepalinin daha büyük (2-2.5 x 1 mm) ve sepal gland sayısının daha fazla (8 adet) olduğu gibi farklılıklar tespit edilmiştir. Örneklerinin IC₅₀ değerleri incelendiğinde, DPPH yönteminde en yüksek antioksidan etkiyi çiçek ekstreleri göstermiştir. ABTS yönteminde en güçlü radikal süpürme kapasitesini TA3004 nolu örneğin yaprak ekstresi göstermiştir (87.42 µg/ml). Ana bileşenler α-Pinen, Spatulenol ve Limonen olarak belirlenmiştir. Bitkinin yaprak ekstresinde 7.040 mg/kg rutin, 4.463 mg/kg quersetin, çiçek ekstresinde ise 1.992 mg/kg hiperisin, 11.213 mg/kg rutin ve 4.250 mg/kg kersetin olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Morfolojik farklılıklar türün betiminin genişletilmiş sınırları içinde değerlendirilmiştir. *Hypericum thymopsis* türün antioksidan özelliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Uçucu yağ analizi ile türün farklı kemotipleri belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin içerdiği bazı fenolik madde miktarları tayin edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: DPPH, Guttiferae, *Hypericum*, Hiperisin, Kersetin.

ABSTRACT

Essential Oil Composition, Antioxidant Capacity and some Phenolic Compounds of *Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae)

Aim: The aim of this thesis is determination of morphological properties, essential oil composition, antioxidant capacity and some phenolic compounds of the *Hypericum thymopsis* which is endemic in Turkey.

Material and Method: Plant materials were collected during the field studies. Morphological studies are made by character analysis and measurements on samples. DPPH and ABTS methods were used to determine the antioxidant activities. Phenolic compounds are determined by HPLC analysis method. Essential oil analysis is performed by GC/MS analysis method on the samples of three different populations.

Results: The specimens belonging to some population shows differences such as; longer stem length (15-20 cm), more translucent glands number in the leaf (c.50), larger sepals (2-2.5 x 1 mm) and the more sepal gland number (8 gland) in morphological examination. The highest antioxidant effect is showed by floral extracts in the DPPH method, according to IC₅₀ values in the examined samples. The most powerful radical scavenging capacity in the ABTS method is showed by leaf extract of sample TA3004 (87.42 µg/ml). The major components are determined as α -Pinene, Spathulenol and Limonene. In leaf extract 7.040 mg/kg routine, 4.463 mg/kg quersetin, in floral extract 1.992 mg/kg hyperisin, 11.213 mg/kg routine and 4.250 mg/kg quercetin is determined.

Conclusion: Morphological differences are evaluated within the extended circumscribe of the description of the species. The antioxidant properties of *Hypericum thymopsis* is given first time in this study. Different chemotypes of species are determined with essential oil analysis. In addition, some phenolic contents of the samples are determined.

Key Words: DPPH, Guttiferae, Hypericin, Hypericum, Quercetin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat)
BHA	: 2-terciyer-bütül-4-hidroksi-anisol
BHT	: 3,5-di-terciyer-butül-4-hidroksi-toluen
BM	: British Museum of Natural History herbaryumu
DAD	: Diyot dizinli dedektör
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DPPH	: 2.2.-Difenil-1-pikrilhidrazil
EK	: Emine Koç
GC/MS	: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektroskopisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC₅₀	: %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonları
K	: Kew herbaryumu
LC-MS	: Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
TA	: Turan Arabacı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 3.1. Ekstredeki çözgen (metanol) rotavaporda uçurularak uzaklaştırılması.....15	
Şekil 3.2. Clavenger tipi aparat ile distile edilen uçucu yağın görüntüsü (TA 3017 nolu örnek).....17	
Şekil 4.1. <i>Hypericum thymopsis</i> Boiss. türünün Tip örneği (Herbaryum K).....19	
Şekil 4.2. TA 3004 nolu örneğin A: Genel görünüşü, B-C: Çiçekler (foto: T. ARABACI).....20	
Şekil 4.3 TA 3004 nolu örneğin A: Yaprak alt yüzey, B: Yaprak üst yüzey C: Çiçek (Ölçü: 1 mm).....20	
Şekil 4.4. TA 3014 nolu örneğin genel görünüşü (foto: T. ARABACI).....21	
Şekil 4.5. TA 3017 nolu örneğin A: Yaprak üst yüzey, B: Yaprak alt yüzey C: Çiçek (Ölçü: 1 mm).....21	
Şekil 4.6. Antioksidan çalışmalarda kullanılan bitki ekstraları.....22	
Şekil 4.7. Hiperforin standartına ait kalibrasyon eğrisi.....23	
Şekil 4.8. Hiperisin standartına ait kalibrasyon eğrisi.....23	
Şekil 4.9. Rutin standartına ait kalibrasyon eğrisi.....24	
Şekil 4.10. Kersetin standartına ait kalibrasyon eğrisi.....24	
Şekil 4.11. TA 3017 nolu örneğin yaprağına ait HPLC kromatogramı (R: Rutin, Q: Kersetin).....25	
Şekil 4.12. TA 3017 nolu örneğin çiçeğine ait HPLC kromatogramı (HS: Hiperisin, R: Rutin, Q: Kersetin).....25	

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Tez kapsamında çalışılan örnekler ve bu örneklerin ait olduğu türler, toplayıcı numaraları ve lokaliteleri.....	14
Tablo 4.1. <i>Hypericum</i> örneklerinin IC ₅₀ değerleri (µg/ml).....	22
Tablo 4.2. Çalışılan örneklerde tayin edilen fenolik bileşiklerin konsantrasyonları (mg/kg).....	25
Tablo 4.3. Çalışılan örneklerin yüzde yağ verimleri.....	26
Tablo 4.4. <i>Hypericum thymopsis</i> türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerine ait toprak üstü kısımlarının uçucu yağının analiz sonuçları.....	26
Tablo 5.1. TA 3004 numaralı örneğin TA 3014 ve TA 3017 numaralı örnekler ile olan farklılıkları.....	29
Tablo 5.2. <i>Hypericum thymopsis</i> türünün 3 farklı örneklerine ait uçucu yağının ana bileşenleri ve yüzdesi.....	31
Tablo 5.3. <i>Hypericum thymopsis</i> türünün uçucu yağının kimyasal kompozisyonu ile ilgili yapılmış çalışmalar.....	31

1. GİRİŞ

Türkiye Florası bitki çeşitliliği ve endemik tür sayısı ile oldukça önemli bir yapıya sahiptir. Bu bitki çeşitliliğinin sebepleri arasında iklim, topoğrafik yapı, jeolojik ve jeomorfolojik özellikler, üç kıtanın ve üç farklı bitki coğrafyasının (Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz bitki coğrafyası bölgeleri) kesiştiği yerde bulunması sayılabilir.

Ilıman iklim kuşağında bulunması sebebiyle ülkemiz florası cins ve tür sayısı bakımından zengindir. Bazı taksonların (cins, tür, seksiyon) gen merkezi olarak kabul edilmektedir (*Alyssum* L., *Astragalus* L., *Salvia* L., *Phlomis* L., *Verbascum* L., *Veronica* L., *Centaurea* L., *Anthemis* L., *Achillea* L. gibi). Buzul döneminde taşınan relik, enklav ve endemik türlere sahiptir (1)

Türkiye Florası ile ilgili yazılmış en kapsamlı eser “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” isimli eserdir. Bu flora kitabı P.H. Davis editörlüğünde 1965 ve 1988 yılları arasında yazılan ve ek cildi ile birlikte tamamı 10 cilt olan bir eserdir (2-3). Bu eserde 8793 bitki türüne yer verilmiştir. Bu esere 2. Ek cilt (11. Cilt) ise 2000 yılında yayınlanmış ve ülkemiz bitki tür sayısı 9222’ye ulaşmıştır (4). Daha sonra 2012 yılında yayınlanan “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” adlı eserde ülkemiz bitkileri toplam 154 familya, 1220 cins, 9753 tür ve 1985 alttür olarak verilmiştir. Bu türlerin 13’ü Kibritotu, 76’sı Eğrelti, 22’si Açıktohumlu, 9642’si ise Kapalıtohumludur. Alttürlerin ise 6’sı Eğrelti, 19’u Açıktohumlu, 1960’ı Kapalıtohumludur. Mevcut 9753 türün 3035’i alttürlerin ise 500 tanesi endemiktir (5). Son zamanlarda yayınlanan yeni türlerle bu sayı artmaya devam etmektedir.

Böyle zengin bir floristik yapıya sahip olan ülkemizde bitkilerin halk ilacı olarak kullanımını da büyük bir önem arz etmektedir. Adana’da yaşayan Dioscorides tarafından 1. yüzyılda yazılan “De Materia Medica” adlı eserde 500 kadar tıbbi bitkinin tarifi verilmekte ve tedavi özellikleri anlatılmaktadır. Bu kitap Anadolu tıbbi bitkileri ile ilgili yazılmış o zamanki en önemli kaynaktır (6). Ülkemiz bitkilerinin halk arasında kullanımına dair etnobotanik çalışmalar ise yoğun bir şekilde artarak devam etmektedir. Ülkemizde yapılmış etnobotanik çalışmaların toplam sayısı bir eserde 1420 olarak verilmektedir (7). Türkiye’de bitkiler halk arasında gıda, şifa, yakacak, hayvansal yem, el sanatları gibi temel kullanım alanına sahiptirler. Türkiye’de tıbbi bitki olarak kullanılan bitkilerin sayısı 1000’in üzerindedir (7).

Halk arasında “Kantaron” olarak bilinen *Hypericum* L. cinsi üyeleri geleneksel ve modern tıpta dünya genelinde yaygın bir kullanıma sahiptir. Özellikle *Hypericum*

perforatum L. türü kanser, AIDS, vb. hastalıkların tedavisinde kullanılan potansiyel bir bitkidir. Ayrıca dünyanın pek çok yerinde antidepresan olarak kullanılmaktadır (8). Haricen yara iyi edici ve antiseptik olarak kullanılmaktadır (6). *Hypericum scabrum* L. türünün antiülser aktiviteye sahip olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (9). *Hypericum* türlerinin antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antinosiseptive ve sitotoksik özellikleri ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır (10-15).

Bu tezin amacı Türkiye’de endemik bir tür olan *Hypericum thymopsis*’in morfolojik özelliklerinin, bazı fenolik bileşiklerini, antioksidan kapasitesini ve uçucu yağ kompozisyonunu belirlemektir.

Tezin amaçları şu şekilde sıralayabiliriz;

1. İncelenen örneklerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve türün mevcut betimi ile olan farklılıkların ya da benzerliklerin karşılaştırılması,
2. Türün içerdiği fenolik bileşiklerden hiperisin, hiperforin, kersetin ve rutin miktarlarının kromatografik cihazlarla belirlenmesi,
3. Türün antioksidan kapasitesinin DPPH ve ABTS süpürme yöntemleri kullanılarak belirlenmesi,
4. GC/MS analizi ile de bitkinin uçucu yağının kimyasal kompozisyonun tespit edilmesi ve mevcut çalışmalarla karşılaştırılarak kemotiplerin belirlenmesi,
5. Elde edilen bilimsel sonuçları değerlendirerek uluslararası saygın dergilerde nitelikli yayınlar yapmak temel hedeflerimizdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hypericaceae (Guttiferae) ile İlgili Genel Bilgiler

Familyanın *Cratoxylum* Blume, *Eliea* Cambess., *Harungana* Lamarck, *Hypericum* L., *Lianthus* N.Robson, *Santomasia* N.Robson, *Thornea* Breedlove & McClintock, *Triadenum* Rafinesque ve *Vismia* Vand. olmak üzere toplam 9 cinsi bulunmaktadır (16). Familya yaklaşık 700 tür ile bilinmektedir (17). Ülkemizde familyanın sadece *Hypericum* cinsi yayılış göstermektedir (18).

2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyasının Betimi

Genellikle otsu, bazen çalı şeklinde bitkilerdir. Yaprak veya çiçekleri hiperisin içeren siyah ya da kırmızı guddeli (glandlı) veya uçucu yağ içeren şeffaf renkli guddelidir. Yapraklar karşılıklı ya da dairesel dizilişli, nadiren alternat; basit ve stipulasızdır. Petaller 5 adet ya da daha çok, serbest, tomurcukta burulmuş. Sepaller 5 adet ya da daha çok, tomurcukta imbrikat dizilişlidir. Stamenler demetler halinde veya çok sayıda. Ovaryum üst durumlu, plasenta eksensel veya yanal. Tohumlar endospermasızdır. Meyve genellikle kapsula nadiren, bakka ya da drupadır. (19).

2.2. *Hypericum* (Guttiferae) Cinsi ile İlgili Genel Bilgiler

Hypericum (Guttiferae) türleri çalı ya da otsu formlara sahip bitkiler olup, yeryüzünde ılıman kuşakta yayılış gösteren yaklaşık 450 türü bulunmaktadır (20). Yaygın olarak “kantaron” ismi ile bilinmesine karşın, değişik yörelerde “sarı kantaron”, “binbirdelikotu”, kılıçotu”, “kanotu”, “mayasılotu”, “kuzukıran”, “tentürotu”, “ülserotu” ve “yaraotu” gibi isimleri ile de bilinirler (21).

2.2.1. *Hypericum* Cinsinin Ülkemizdeki Durumu

Cinsin “Türkiye Florası” adlı eserde 69 türü yer almaktadır (18). Aynı eserin I. ek cildinde 8, II. Ek cildinde ise 3 tür Türkiye Florası için yeni kayıt olarak eklenmiş ve ülkemizdeki tür sayısı 80’e ulaşmıştır (3-4). Bu türler 20 seksiyon altında yer almaktadır. Bu seksiyonlar: *Hypericum* sect. *Eremanthe* (Spach.) Endl., *Androsaemum* (Duham.) Endl., *Inodorum* Stef., *Bupleuroides* Stef., *Arthrophyllum* Jaub. & Spach., *Triadenioides* Jaub. & Spach., *Heterophyllum* Robson, *Triadenia* (Spach) R. Keller, *Drosanthe* (Spach.) Endl., *Taeniocarpum* Jaub. & Spach., *Coridium* Spach., *Adnosephalum* Spach., *Drosocarpium* Spach., *Oligostema* (Boiss.) Stef., *Thasia* Boiss.,

Crossophyllum Spach., *Olympia* (Spach.) Endl., *Campylopus* (Spach.) Endl. ve *Origanifolia* Stef'dir.

En son 2012 yılında yazılan Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) adlı eserde cinsin 96 tür (46'sı endemik) ile ülkemizde yayılış gösterdiği tespit edilmiştir (22).

2.2.2. *Hypericum* Cinsinin Betimi

***Hypericum* L., Sp. Pl. 2:783 [1753]. / Kantaron**

Çiçekler çift eşeyli. Sepaller 5 adet. Petaller 5 adet, genellikle sarı, bazen hafif kırmızı ya da kırmızı damarlı, nadiren nektaryum uzantılı. Stamenler 5 demet halinde, petale bağlı, serbest yada 4 tanesi 2 çift halinde sepale bağlı birleşik demet şeklinde, her birinde yaklaşık 3-125 adet, nadiren steril demetler mevcut. Ovaryum 3-5 gözlü ya da her bir plasentada 2 ya da çok sayıda ovül içeren kısmen ya da tamamen 1 gözlü. Stilus 3-5 adet serbest, ince. Meyveler kapsül, septumlarından açılır, genellikle duvarında reçineli salgılı ya da veziküllü, ya da nadiren açılmayan etli (18).

2.2.3. *Hypericum thymopsis* Boiss. Hakkında Genel Bilgiler

Hypericum thymopsis Boiss. türünün betimi ve yayılışı aşağıda verilmiştir (18).

Sinonim: Thymopsis aspera Jaub. & Spach, Il1. Or. 1: 72, t. 37 (1842).

***Hypericum thymopsis* Boiss., Diagn. ser. 2(1): 109 (1853). (Darende Kantaronu)**

Lektotip: (Turkey) in Cappadocica ad Euphratem, *Aucher* 893 (foto. BM! G, foto K!) (Şekil 4.1).

Gövde 3-11 cm, dik, bazen sürünücü ve tabanda köklenir, tüysüz, tabana doğru dallanmış salgı taşıyan uzantılı skabrit. Ana gövde üzerindeki yapraklar 6-18 mm, lineer, alta doğru kıvrık, yuvarlak ya da hemen hemen tepecikli, tüysüzden dalgalı-papillalı'ya kadar, donuk mavimsi yeşil ya da değil. Çiçek düzeni Yalancı şemsiye (korimbus), 3'den yaklaşık 22 çeçekliye kadar, ya da çiçekler tek. Sepaller lanseolat'dan oblong-eliptiğe kadar, akut'dan yuvarlağa kadar, tabanda 1/2-2/3 de birleşik, sapsız ya da sapsıza yakın guddeli (gland). Petaller 5-7 mm, siyah guddesiz. Kapsül yaklaşık 4 mm, yumurtamsı, hafifçe gagalı ya da değil.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz.

Yetiştirme ortamı: Kalkerli tepe kenarları ve lavlar.

Türkiye Florası Kayıtları: B5 Kayseri: Aslan Da., *Bal.* 955. B6 Malatya: Darende üzeri, 1500 m, *D.* 27854. Kahramanmaraş: Elbistan Darende arası, *Post* 1906: 94. Sivas: Böğrüdelik Kangal arası, 1500 m, *Hub.-Mor.* 13313.

Dünyadaki Yayılışı: Türkiye'ye Endemik. İran-Turan elementi.

2.2.4. *Hypericum* Cinsinin Farmasötik Botanik Özellikleri

Hypericum türlerinin üzerinde biri koyu, diğeri şeffaf olmak üzere 2 farklı tipte salgı cepleri bulunmaktadır. Koyu olanlar siyahtan kırmızıya kadar bir renge sahip olup, naphthodiantron (hiperisin, pseudohiperisin vb.) içermektedir. Bu glandların sayısı bitkide naftodiantron miktarı ile doğru orantılıdır. Şeffaf olan diğer salgı cepleri, şeffaftan amber rengine kadar olup şizogenik hücreler arasında uçucu yağ ve floroglusinol (hiperforin) içermektedir. Bu salgılar ışıқта noktacıklar şeklinde parlak. Glandlar yaprak, sepal, petallerin üzerinde ya da kenarında bulunurlar (16).

Hypericum türleri Haziran'dan Eylül ayına kadar çiçeklenebilen bitkilerdir. Boyları 1 metreye kadar olabilir. Bitkinin tepe kısımlarında yer alan çiçekli dal uçları "Hyperici herba" drog adıyla kullanılmaktadır. Avrupa Farmakopesi'nde, sarı kantaron herbası (*Hyperici herba*) ve ayarlı sarı kantaron kuru ekstresi (*Hyperici herbae extractum siccum quantificatum*) olarak yer alır (23). *Hypericum perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarına ait sulu ekstralarının idrar yolları, inflamasyonlar, diabet, nevralsi, kalp hastalıkları, gastrit, hemoroid ve peptik ülserle karşı halk arasında kullanımının olduğu bildirilmiştir (24). Kurutulmuş ham drog dekoksiyon halinde; toz edilmiş drog veya ekstre kapsül, tablet, tentür veya damla şeklinde kullanılmaktadır. Topikal olarak yağ, infüzyon, kompresör, jel veya merhem şeklinde uygulanır (21).

2.3. *Hypericum* Cinsi ile İlgili Yapılmış Kimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları

2.3.1. *Hypericum* Cinsinin Kimyasal Özellikleri

Hypericum cinsi çok çeşitli biyolojik olarak aktif sekonder metabolitler içerir. Bu aktif fenolik madde içeriği nedeniyle uzun yıllardır geleneksel ve modern tıpta kullanılmaktadır (25). *Hypericum* cinsinin içerdiği fenolikler: naftodiantronlar (*hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin ve protopseudohiperisin*), floroglusinoller (*hiperforin ve adhiperforin*), flavonoidler (*rutin, hiperosid, isokersitrin, kersitrin, kersetin, astilbin, mikuelianin*), tanenler (*kateşin ve epikateşin*), ksantonlar, uçucu

yağlar, fenolik asitler, proantosiyanidinler (*prosiyanidin B2*) ve biflavonoidler (*biapigenin ve amentoflavon*)'dir (26, 27)

Naftodiantronlar: yaprak ve çiçeklerdeki delik görünümlü guddelerde bulunan ve bitkinin yağına kırmızı rengini veren bileşenlerdir. Bu bileşenler büyükbaş hayvanlarda fazla yenildiğinde deride güneş ışığına hassasiyete neden olur. Bu durum hiperisizm olarak ifade edilir (23). *Hypericum* cinsinin türlerinde en fazla bulunan naftodiantronlar hiperisin ve psuedohiperisindir. Pseudohyperisin *Hypericum* cinsinin türlerinde bulunan başlıca naftodiantrondur ve bitki çeşidine bağlı olarak, hiperisinden 2-4 kat daha yüksek seviyelerde bulunur (27). Hiperisin ise bitkinin sahip olduğu birçok farmakolojik etkiden sorumlu ana bileşendir. Hiperisin antidepresan, antiviral, antitümöral, anksiyolitik, anti-proliferatif gibi etkilere sahiptir (28, 29). Ayrıca Hiperisin, doğada bulunan en güçlü doğal fotosensitizördür. Hiperisinin uzun dalga boyunda güçlü bir emilime sahip olması, karanlıkta düşük toksisitesi, belirli tümör seçiciliği ve konakçı hematorporfirinlere göre daha yüksek temizleme oranı gibi spesifik özellikleri vardır. Bu nedenle fotodinamik terapi ile kanser tedavisine kullanılan potansiyel bir bileşiktir (30). Hiperisin'in antidepresan etki mekanizmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda sentetik antidepresanlardan monoamin oksidaz (MAO) inhibitörü ve seçici serotonin geri alım (SSRI) inhibitörlerine benzediği bulunmuştur (28). Ayrıca hiperisin ve psödohiperisinin her ikisi de protein kinaz C'yi inhibe eder ve memeli hücrelerine karşı antiproliferatif etki gösterirler. Hiperisin ve pseudohiperisin her iki bileşik viral enfeksiyonlar sırasında hücrelerin protein kinaz C ile fosforilasyonu inhibe eder. Bu inhibisyon memeli hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteyi açıklamaktadır (31). Hiperisin ve pseudohiperisin, İnfluenza virüsü, Herpes simpleks virüsü ve HIV virüsü gibi retroviral enfeksiyonları inhibe ettiği bulunmuştur (32).

Floroglusinol: *Hypericum* cinsi türlerinin ekstrelerinin en önemli kimyasal bileşiği hiperforin olup sadece çiçek ve meyvelerde, %2-4.5 oranlarında bulunur. Hiperforin kolayca oksitlenebilir özelliktedir. Oksidasyonunu önlemek için -700 °C azot atmosferinde saklanmalıdır. Bitki matrisi içinde iken (kuru drog ve ekstrede) yanında bulunan antioksidan maddelerin etkisiyle oksitlenmeden kalabildiği bildirilmiştir (23). Hiperforin antidepresan, antibiyotik ve antitümöral gibi farmakolojik etkileri olduğu bildirilmiştir (33). Hiperforin in vitro olarak çeşitli nörotransmitterleri inhibe etme veya modüle etme etkileri bulunmuştur. Hiperforin; serotonin, norepinefrin, dopamin, sentetik L-glutamat ve GABA (Gama Amino Bütirik Asit) 'nın sinaptik geri alımını inhibe ettiği gösterilmiştir (34). Hiperforinin antidepresan etkisine ek olarak, in vivo

anksiyolitik, in vitro antioksidan, antisiklooksijenaz-1 ve antikarsinojenik etkiler gibi farmakolojik etkileri gösterilmiştir. *Hypericum* cinsinin türlerinde bulunan diğer önemli floroglusinol ise bir ilave metil grubu taşıyan adhiperforindir. Ekstraktlarda hiperforinden 10 kat daha düşük seviyelerde bulunan adhiperforinin hiperforinle aynı inhibitör profile sahip olduğu ve hiperforin kadar güçlü antidepresan etki gösterdiği bildirilmiştir (35).

Flavonoidler: fotosentez yapan hücrelerin tüm dokularında bulunan doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerin bir sınıfıdır (36). Hücre özsuyunda serbest ya da glikozitlere bağlı olarak bulunabilirler. Glikozitlere bağlı olan flavonoidler rutin, hiperozit (hiperin), kersitrin ve isokersitrindir. Rutin ve hiperozit (hiperin) bitkinin flavonoidleri arasında baskın olanlardır (37). Son çalışmalarda bitkiden mikuelianin (kersetin 3-O-glukuronit) ve astilbin (taksifolin 3-O-ramnopiranozit) izole edilmiştir (38). Glikozitlere bağlı olmayan (serbest) flavonoidler; kemferol, luteolin, mirsetin ve kersetin'dir (37, 39). Flavonoidlerin antioksidan, antikanserojenik, vazodilatör, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antialerjik, immün uyarıcı ve antiviral gibi farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (40, 41). Flavonoidler sahip oldukları hidroksil grupları ile peroksil radikallerine karşı koyarak yüksek antioksidan aktivite gösterirler (40). *Hypericum* cinsine ait türlerde bulunan flavonoidler: rutin, hiperosit, isokersitrin, kersetin ve kersitrin'dir (42). Rutinin antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve anti-alerjik gibi farmakolojik özellikleri bildirilmiştir. Bununla birlikte, güncel araştırmalar, kanser, diyabet, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi çeşitli kronik hastalıkların tedavisi için çoklu spektrum farmakolojik faydalarını göstermiştir (43). Kersetin tümör nekroz faktörü tarafından indüklenen antiviral aktiviteyi aktive ettiği bildirilmiştir (37). Kersetin, osteoporoz, belirli kanser türleri, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar ve aynı zamanda yaşlanmaya karşı koruyucu özellikte olan önemli bir antioksidandır (36).

Biflavonlar: biflavonlar sadece çiçeklerde ve tomurcuklarda bulunur (39). *Hypericum* cinsinin türlerinde 3 çeşit biflavon teşhis edilmiştir. Bunlar; I3, II8-biapigenin, I3'.II8-biapigenin (amentoflavon) ve 6', 8''-dikersetin'dir (31, 37). Amentoflavon'un antiinflamatuvar, antiülserojenik ve yara iyileştirici aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (44).

Proantosiyanidinler: bu bileşenler tanenler olarak bilinirler (31). *Hypericum* cinsinin türlerinde dimerik, trimerik ve tetramerik prosiyanidinler bulunmuştur (45). Proantosiyanidinlerin antioksidan, antiviral ve antimikrobiyal etkiler gibi çeşitli biyolojik etkileri bildirilmiştir fakat antidepresan etkisi bildirilmemiştir (37).

2.3.2. *Hypericum* Cinsinin Uçucu Yağının Özellikler

Uçucu yağlar; hastalıklara karşı koruma, hastalıkları önleme ve tedavi etme özelliği olan bileşiklerdir. Günümüzde sahip oldukları biyoaktif etkilerden dolayı tedavideki önemleri giderek artmaktadır (46). Çalışmalar infüzyon yağının antienflamatuvar aktivite gösterdiğini ve ex vivo uygulandığında epitelyal doku üretiminin uyarılması yoluyla yara iyileşmesini hızlandırdığını ve oral yoldan alındığında gastroprotektif etkileri olduğunu göstermiştir (47). Uçucu yağlar *Hypericum* cinsinin türlerinde yaprakları ve çiçekleri üzerindeki şeffaf renkli guddeler içerisinde bulunur. *Hypericum* cinsi türlerinin uçucu yağ verimi genellikle % 1'den azdır. Genellikle % 0.1-%0.25 kadardır (37). *Hypericum* cinsi türlerinin uçucu yağların içeriği, tam çiçeklenme aşamasında %0.35 çiçeklenmeden önce %0.12 ve meyvede iken, %0.18 olarak bulunmuş, çiçeklenme aşamasında en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. *Hypericum* cinsinin türlerinde en fazla bulunan uçucu yağ bileşenleri monoterpenler (α -pinen, β -pinen, limonen ve mirsen), seskiterpenler (β -karyofilin ve karyofilinoksit)'dir (47). *Hypericum* uçucu yağı terpenoidler ile birlikte alifatik bileşikler içerir (2-metil oktan, n-nonan, n-dekan, n-undekan, n-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan). Yapılan çalışmalarda çiçek ve yapraklardaki biosentezlerinde farklar olduğu belirtilmiştir. Elde edilen verilerde; yapraklardan elde edilen uçucu yağlarda β -karyofilin ve karyofilinoksit'in konsantrasyonunun çiçeklerden elde edilen yağlardakine kıyasla fazla olduğu, buna karşın çiçeklerden elde edilen uçucu yağlarda ise dodekanol, spatulenol, viridiflorol, karotol ve tetradekanol'ün fazla olduğu belirlenmiştir (31).

2.3.3. *Hypericum* Cinsinin Antioksidan Özellikleri

2.3.3.1. Antioksidan Çalışmalarla İlgili Genel Bilgiler

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftleşmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan, kolayca elektron alışverişine girebilen, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlığına sahip çok etkin moleküllerdir. Bu moleküllere reaktif oksijen türleri (ROS) de denilmektedir (48, 49). Serbest radikaller, hidroksil radikali (OH \cdot), süperoksit radikali (O $_2$ \cdot^-), hidrojen peroksit (H $_2$ O $_2$), peroksil radikali (RO $_2$ \cdot) ve singlet oksijeni (O $_2$ 1) gibi radikallerdir (36). Biyolojik sistemler, UV, kimyasal oksidanlar, hava kirliliği ya da endojen etmenler (aerobik solunum ve aktif fagositoz) gibi çeşitli nedenlerle üretilen serbest radikallere maruz kalırlar (50). Bu radikaller türleri DNA onarım sürecini engeller, mutasyonları indükler, belirli tümör baskılayıcı genleri etkisiz

hale getirir. Ayrıca diğ er hücre bileş enleri olan proteinler, enzimler ve membran lipitlerine zarar verirler (51). Serbest radikallerin sebep oldu ğ u oksidatif stresin yok edilmesinde organizmalara yardımcı olan makro moleküllerinin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere ise antioksidanlar denilmektedir. Antioksidanlar, biyolojik sistemlerde do ğ al olarak bulunmakta, gı dalarla dış arı dan alınmakta ya da sentetik olarak üretilebilmektedir (52). Do ğ ada bulunan birçok bitki türü üretti ğ i sekonder metabolitler nedeniyle geniş antioksidan aktivite göstermektedir. Bu bileş enlerden flavonlar, isoflavonlar, flavanoidler, antosiyaninler, kumarin lignanlar, kateş inler ve isokateş inler en fazla antioksidan aktiviteye sahip olanlardır (53). Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri; serbest radikallere elektron transfer etme, antioksidan enzimleri aktive etme, oksidazları inhibe etme, alfa-tokoferolü indirgeme kapasitelerinden kaynaklanmaktadır (41). Serbest radikallerin sebep oldu ğ u yaş lanma, hepatit, kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler gibi hastalıklara karşı antioksidanlar açısından zengin gı daların tüketiminin koruma sağ ladı ğ ı bildirilmektedir (53). Bu nedenle günümüzde antioksidan özelli ğ e sahip türlerin tespiti oldukça önemli bir yer edinmeye başlamış tır. *Hypericum* cinsinin türlerinin iç erdikleri fenolik bileş ikler nedeniyle geniş antioksidan aktivite gösterdi ğ i bildirilmiştir (40, 41). Antioksidanların diğ er bir grubu olan sentetik antioksidanlar ise do ğ al antioksidanların yalnız ca bir analogunu (tipini) oluştururlar ve do ğ al antioksidanları taklit edecek şekilde geliştirilirler (54). Sentetik antioksidanlar; gıda, polimerler ve kozmetik ürünlerinde yaygın olarak kullanılırlar. Sentetik antioksidanlar ucuzdur, yüksek düzeyde stabilizeye sahiptir ve güçlü antioksidan aktivite gösterirler. Ancak son yapılan çalış malarda sentetik antioksidanların hem in vitro hem de in vivo çalış malarda toksikolojik etkileri gösterdi ğ i bildirilmiştir (55). Bu nedenle özellikle gı dalarla alınabilecek do ğ al antioksidanların tespiti ve kullanımını daha da önem kazanmıştır (52). Antioksidan çalış malarda standart olarak kullanılan antioksidanlardan bazıları ve özellikleri şöyledir:

Gallik Asit (3, 4, 5-trihidroksibenzoik asit): Do ğ al olarak oluş an, düşük moleköl ağı rlıklı bir trifenolik bileş iktir. Güçlü bir antioksidan ve etkili bir apoptoz indükleyici bir ajandır (56).

α -tokoferol (vitamin E): Do ğ al bir antioksidandır ve vitamin E'nin biyolojik olarak aktif bir formudur. Hidroksil grubuna sahip aromatik halkadan oluş ur. Aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur. Antioksidan özellik bu gruptan kaynaklanır. Temel görevi bitkilerdeki yağ ların oksidasyonunu engelleyerek bitkiyi oksidatif hasara karşı korumaktır. Canlı organizmalarda yağ da kolayca

çözünebildiğinden ince bağırsaktan kolayca emilir. Hücre zarında bulunan protein ve lipidlere bağlanarak zarları serbest radikallerden korur (57).

Troloks: vitamin E'nin suda çözünen analogudur. Yüksek antioksidan etkisinden dolayı Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite ve oksijen radikal antioksidan kapasite analizlerinde pozitif kontrol olarak kullanılan bir bileşiktir (58).

BHT (3,5-di-terseyer-butil-4-hidroksi-toluen): Fenolik bileşik olup sentetik bir antioksidandır. En fazla kullanılan sentetik antioksidanlardandır (55).

BHA (2-terseyer-bütül-4-hidroksianisol): Fenolik bileşik grubuna sahip sentetik bir antioksidandır (55). Beyaz, mumsu katı bir yapıya sahiptir. Hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünebilir fakat suda çözünemeyen bir antioksidandır. Gıda endüstrisinde besinleri oksidatif bozunmadan korumak ve saklama sürelerini uzatmak için kullanılır (54).

2.3.3.2. Antioksidan Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler

Antioksidan çalışmalarda kullanılan tayin yöntemlerinden bazıları şunlardır:

Elektron Transfer (ET) Yöntemleri: Bu yöntemler reaksiyon karışımındaki bileşenler olan antioksidan ve oksidan ile ilişkilidir. Oksidan antioksidandan bir elektron alır ve bu oksidanda renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi, antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır (50). Elektron transfer yöntemleri; toplam Folin-Ciocalteu ayırıcı ile toplam Fenolik yöntemi (FCR), Troloks eşiti antioksidan kapasite (TEAC), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP), oksidan olarak bakır (II) kullanan toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemini içermektedir (59).

Hidrojen Atomu Transfer (HAT) temelli yöntemler: HAT temelli yöntemlerde azo bileşiklerin bozulması ile peroksil radikali oluşur. Antioksidan ve substrat, üretilen peroksil radikal için rekabet eder (60). Peroksil radikali tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir (50). Bu yöntemler oksijen radikal absorban kapasite (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve krosin beyazlatma yöntemlerini içermektedir (59).

DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) Yöntemi: Bu metot ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (61). Sanchez ve arkadaşları tarafından değiştirilerek kullanılmaya başlanmıştır DPPH ticari olarak elde edilebilen stabil organik nitrojen radikalidir (41). Bu yöntem de temel olarak antioksidan tarafından DPPH serbest radikale proton transferi reaksiyonu 517 nm'de absorbanın

azalmasına neden olur. Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır (59). DPPH radikali metanolik çözeltide okside formunda yaklaşık 520 nm de maksimum absorbansa sahip bir kimyasaldır. DPPH yönteminin avantajları basit, hızlıdır doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Yalnızca UV-GB spektrofotometresine ihtiyaç duyar. Çok sayıda örnek analizi mikropilaka kullanılarak yapılabilir. Işığa, oksijene ve kirliliğe olan hassasiyeti ise bu metodun dezavantajlarıdır (50).

ABTS veya TEAC (Trolox Eşiti Antioksidan Kapasite) Yöntemi: ilk defa Miller ve arkadaşları tarafından raporlanmış (Miller ve ark., 1993) olup sonrasında Re ve arkadaşları tarafından da geliştirilmiştir (62). Yöntem gıda örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Yöntem radikal katyon formunda üretilen ABST⁺ (2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat)'nin absorbansının antioksidan tarafından engellenmesine dayanmaktadır (59). Maksimum absorbsiyon TEAC'ın karakteristik dalga boyu 660, 734 ve 820 nm'de yapar (52). Hem lipofilik bileşenlere hem de hidrofilik bileşenlere uygulanabilir. Antioksidanlar hidrojen peroksit ilavesinden önce eklendiğinde, antioksidanlar hidrojen peroksit tarafından oluşturulan radikalleri temizler ve ABTS⁺ radikal katyonunun oluşumunu geciktirerek absorbans inhibisyon yüzdesini artırır (60). ABTS⁺ çözeltisi seyreltilir ve yaklaşık 10 dakika içinde absorbansı ölçüldükten sonra 1 ml çözeltiler ile farklı konsantrasyonlardaki ekstraktların ilk karışımları ölçülür. Trolox, referans standart olarak kullanılır (52).

Avantajları: Uygulaması kolaydır, ABTS⁺ radikali hem sulu hem de organik çözücülerde çözünebilir, düşük redoks potansiyeline sahiptir (0.68 V), geniş bir pH aralığında kararlıdır. TEAC reaksiyonları otomatikleştirilebilir ve mikropilakalara sürekli akış sistemine adapte edilebilir (50).

Dezavantajları: TEAC reaksiyonunun bitiş noktasına ulaşması uzun bir zaman alabilir. Böylece, kısa süreli bir bitiş noktasının kullanılması (4-6 dakika), reaksiyon tamamlanmadan önce okuma yapılmasına ve daha düşük TEAC değerleri bulunmasıyla sonuçlanabilir ve biyolojik sistemlerde bulunmaması ve bu sistemlerdeki radikallere benzememesi de diğer bir dezavantajdır (59).

2.3.3.3. *Hypericum* Cinsinin Antioksidan Etkiler ile ilgili yapılmış çalışmalar

H. perforatum ve *H. tetrapterum* tohumları metanol ekstraktlarının serbest radikal süpürme kapasitesi, DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Her iki *Hypericum* türü de *H.*

perforatum (IC₅₀ 8.7 mg/1) ve *H. tetrapterum* (IC₅₀ 3.0 mg/1), Troloks'a (IC₅₀ 6.6 mg/1) kıyasla iyi DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi sergilemiştir (63).

H. japonicum türünün Kersetin-7-ramnosit (K7R)'nin antioksidan aktivitesinin değerlendirildiği in vitro deneylerde, antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için DPPH, ABTS ve FRAP testleri kullanılmış. Sonuçlarda K7R'yi doğal bir antioksidan kaynağı olarak belirlenmiş. Ayrıca aynı çalışmada K7R'nin hepatoprotektif aktivitesi, karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenen karaciğer hasarında değerlendirilmiş. K7R'nin gelecekte karaciğer hasarının tedavisi için kullanılabileceği belirtilmiştir (41).

H. perforatum fenolik içeriği ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmada bitkinin fenolik içeriklerinin miktar tayini LC-MS yöntemi ile yapılmış. Antioksidan aktivite tayini ise DPPH yöntemi ile yapılmıştır. LC-MS analizlerinde 6 çeşit flavonoid 4 naftodiantron ve 4 floroglusinol tespit edilmiştir. *H. perforatum*'un DPPH yöntemi ile analiz edilen fraksiyonların çoğunluğu, sentetik antioksidanlara (BHT, BHA) kıyasla önemli antioksidan aktivite göstermiştir. Antioksidan aktivite flavonoidlere ve fenolik asitlere atfedilmiştir (25).

H. perforatum ve *Matricaria chamomilla* türlerinin fenolik bileşiklerin içeriği, LC-MS / MS yöntemi ile ekstraktların antioksidan aktivite CUPRAC ve Folin-Ciocalteu testi belirlenmiştir. Rutin ve apigenin, *M. chamomilla* su ekstraktındaki önemli flavonoidler iken, *H. perforatum* su özlerinin baskın fenolik bileşikleri rutin, kateşin ve klorojenik asit olarak saptanmıştır. *H. perforatum* önemli ölçüde antioksidan etki göstermiştir (64).

Hypericum retusum AUCHER'in antioksidan, antikanser, antikolinesteraz, anti-genotoksik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada; çiçek, meyve ve tohum metanol ekstrelerinin fenolik içerikleri HPLC yöntemi ile serbest radikal temizleme aktivitesi DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Çiçek ve tohum metanol ekstreleri kontrol olarak BHT'ye karşı yakın aktivite göstermiştir (65).

Çin'in güneybatısında endemik olan *H. stellatum* kimyasal bileşenlerini analizi ve antioksidan etkileri çalışılmıştır. *H. stellatum*'un kimyasal bileşimi Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC-Q-TOF-MS) ile saptanmış. *H. stellatum*'dan on yedi bileşik UPLC-Q-TOF-MS verileri kullanılarak tanımlanmıştır. Antioksidan aktivite DPPH testi ve Folin-Ciocalteu yöntemleri ile belirlenmiştir. Yüksek toplam fenolik içeriğe sahip etanol ekstreleri belirgin antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (66).

Ordu ilinde 10 yenilebilir bitkinin özleri (*Arum maculatum* L., *H. orientale* L., *Ornithogalum sigmoideum* Freyn ve Sint., *Silene vulgaris* Garcke var. *macrocarpa*, *Plantago lanceolata* L., *Achillea millefolium* L. subsp. *pannonica*, *Rumex crispus* L., *Orduda* yetişen *Rumex acetosella* L., *Capsella bursa-pastoris* L., *Coronopus squamatus* Asch.) çalışmada farklı çözücülerle (ayrı ayrı heksan, etanol ve su) hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz, antiaflatoksijenik ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite CUPRAC ve ABTS yöntemi ile saptanmıştır. Sonuçta *H. orientale* L.'nin etanol ekstrelerinin CUPRAC ve ABTS ug / mL IC₅₀ değerleri sırasıyla 67.65 ug/mL, 54.92 ug/mL bulunmuştur. Standart olarak kullanılan BHA'nın CUPRAC ve ABTS ug/mL IC₅₀ değerleri sırasıyla 1.45 ve 1.18 ug / mL'dir (67).

H. lydiium etanol ekstrelerinin antioksidan, mutajenik ve antimutagenik aktivitesi değerlendirildiği çalışmada; antioksidan aktivite, DPPH yöntemi ile, toplam antioksidan aktivite b-karoten-linoleik asit ağartmasının inhibisyonu ile ve ekstraktın fenolik bileşeni Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlenmiştir. Ekstrenin DPPH'nin (IC₅₀ 0.165 ± 0.23mg / mL) etkili bir temizleyici olduğu ve b-karoten-linoleik asit ağartmasını (IC₅₀ 0.39 ± 0.11mg / mL) önlediği bulunmuştur (51).

H. retusum bitkisinin toprak üstü kısımlarının farklı çözücülerde (petrol eter, hegzan, etilasetat ve metanol) hazırlanan ekstrelerinin antioksidan etkileri araştırılmıştır. Antioksidan aktivite; Folin & Ciocalteu reaktifi yöntemi, DPPH radikalini, hidroksi radikalini söndürme, indirgeme gücü ve metal şelatlama aktiviteleri ölçülerek belirlenmiştir. *H. retusum*'un özütleri DPPH radikal sisteminde antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlara göre *H. retusum*'un yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (68).

Kazdağı'nda yetişen 8 *Hypericum* L. türünün (*H.perforatum*, *H.perfoliatum*, *H. kazdaghensis* Gemici&Leblebici (Endemik), *H. olympicum* L., *H. tetrapterum* Fries., *H. calycinum* L., *H. triquetrifolium* Turra, *H.montbretii* Spach) yaprak, çiçek ve gövde kısımlarının metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile çalışılmıştır. Çalışılan türlerin tümünün radikal süpürücü etki açısından doku tipine ve doza bağlı olarak farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. *H. Perforatum*'un diğer türlere oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Doku tipine göre elde edilen verilerde ise yaprak metanol ekstrelerinin, çiçek ve gövde ekstrelerine oranla daha yüksek radikal süpürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (69).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyalinin Temini

Hypericum thymopsis türüne ait bitki materyalleri yapılan literatür araştırmaları sonucu gerçekleştirilen arazi çalışmaları ile toplandı. *H. perforatum* türüne ait örnekler ise İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesinden temin edildi. Türlerin teşhisleri “Flora of Turkey and the East Eagen Island” adlı eser temel alınarak ve ilgili literatürlerden faydalanılarak gerçekleştirildi (2-4). Ayrıca Kew herbaryumu (K) ve British Museum of Natural History herbaryumunda (BM) bulunan tip örneklerinin fotoğrafları incelendi. Tez kapsamında çalışılan örnekler ve bu örneklerin ait olduğu türler, toplayıcı numaraları ve lokaliteleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Tez kapsamında çalışılan örnekler ve bu örneklerin ait olduğu türler, toplayıcı numaraları ve lokaliteleri.

N Takson	Toplayıcı	Lokalite
o	numarası	
1 <i>Hypericum thymopsis</i>	TA 3004	B6 Malatya: Malatya Hekimhan arası, ebiş geçidi, derin topraklı alanlar, <i>Quercus</i> alılığı açıklıkları, 1050 m, 15.vi.2016
2 <i>H. thymopsis</i>	TA 3014	B7 Sivas: Gürün Gökpinar arası, 3-5 km, kayalık step, 1620 m, 15.vi.2016
3 <i>H. thymopsis</i>	TA 3017	B7 Malatya: Darende- Gürün arası, 11. km, kayalık uçurum kenarları, 1500 m, 15.vi.2016
4 <i>H. s perforatum</i>	EK 1001	B7 Malatya: İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi 15.vi.2017

3.2. Morfolojik incelemeler

Morfolojik alışmalar herbaryum örnekleri üzerinde karakter analizleri ve ölçümler ile yapıldı. Bitki boyu, yaprak boyu gibi büyük yapılar cetvelle, yaprak yüzeyi, sepal, petal ve kapsül yapıları gibi küçük parçalar ise steromikroskop altında milimetrik cetvelle ölçüldü. Her bir karakter için, yaklaşık 20 adet ölçüm yapıldı. Ölçümler yazılırken önce boy (yükseklik) sonra en (genişlik) belirtilmiş ve aralarına (×) işareti konulmuştur. Alt ve üst sınır aralarına ise (-) işareti konulmuştur.

3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Ekstraksiyon işlemi metanol ile gerçekleştirildi. Kurutulmuş bitki örneklerinin yapraklarından 10 gr, çiçeklerinden 5 gr alınarak üzerlerine sırası ile 100 mL ve 50 mL metanol eklendi ve 24 saat bekletildi. Bu işlem her örnek için 2 tekrarlı olarak yapıldı. Karışım mikrofiltreden (0.45 µm) geçirilerek partiküllerinden arındırıldı. Elde edilen ekstredeki çözügen (metanol) rotavaporda uçurularak uzaklaştırıldı (Şekil 3.1). Ekstreler kullanılıncaya kadar buzdolabında saklandı. ABTS yöntemi için metanol yerine etanol kullanıldı.



Şekil 3.1. Ekstredeki çözügen (metanol) rotavaporda uçurularak uzaklaştırılması.

3.4. Antioksidan Çalışmalar

Antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde DPPH ve ABTS yöntemleri uygulandı. Hazırlanan bitki ekstreleri bu çalışmada kullanıldı.

3.4.1. ABTS Metodu

ABTS radikal kation süpürme kapasitesi R_e vd.'ye göre yapılmıştır (62). Bir erlen içerisinde 0.1 M, pH 7.4 olan fosfat tamponu içerisinde 2mM ABTS (2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat)) çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiliye 2.45 mM potasyum persulfat ($K_2S_2O_8$) ilave edilerek oda sıcaklığında 12 saat karıştırıcıda karıştırılarak ABTS radikali üretildi. Bitki ekstrelerinden 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, µg/ml

seyreltik çözeltiler oluşturuldu. 96 kuyucuklu mikropate içerisine 3 tekrarlı olarak 50 µl ABTS solüsyonu ve 150 µl bitki ekstresi eklendi. Standart olarak aynı oranda sırasıyla BHA (2-terciyer-bütül-4-hidroksianisol), BHT (3,5-di-terciyer-butül-4-hidroksi-toluen), Gallik asit (3, 4, 5-trihidroksibenzoik asi)t, Troloks ((±)-6-Hidroksi 2,5,7,8-tetrametillkroman-2-karboksilik asit), α-Tokoferol kullanılmıştır. 30 dakika karanlık ortamda inkübe edildikten sonra 734 nm’de absorbans değerleri okundu. ABTS indirgeme oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri kalibrasyon eğrisinden lineer regression ile hesaplanacaktır.

$$\text{ABTS süpürme etkisi\%} = [\text{ABS kontrol} - \text{ABS örnek}] / \text{ABS kontrol} \times 100$$

3.4.2. DPPH Metodu

DPPH süpürme yöntem Brand-Williams vd. (1995)’e göre uygulanmıştır (61). Ekstre konsantrasyonları 1000, 500, 250, 125, 62.5 ve 31.25 µg/ml olarak hazırlandı. 1,9 mg DPPH alınıp 10 ml metanolde çözüldü. Hazırlanan konsantrasyonlardan 150 µl alınarak taze hazırlanmış 50 µl DPPH (2.2.-Difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltilisine 96-kuyucuklu mikropate içinde 3 tekrarlı olarak eklendi. Standart olarak aynı oranda sırasıyla BHA, BHT, Gallik asit, Troloks, α-Tokoferol kullanıldı. 30 dk karanlıkta bekletildi. İnkübasyondan sonra absorbans değeri 517 nm’de okundu. DPPH inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. IC₅₀ değeri kalibrasyon eğrisinden bulunmuştur (ABS kontrol = kontrol grubunun absorbansı, ABS örnek = kullanılan örneğin absorbansı).

$$\% = [\text{ABS kontrol} - \text{ABS örnek}] / \text{ABS kontrol} \times 100$$

3.5. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

Fenolik Bileşikler HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. HPLC cihazında DAD dedektörü ile 276 nm dalga boyunda 1 ml/dk akış hızı ile gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak metanol (%80), su (%19.8) ve formik asit (%0.2) karışımı kullanılmıştır (71). Hiperisin, hiperforin rutin ve kersetin standartlarından farklı konsantrasyonlarda solusyonlar kullanılmış ve elde edilen sonuçlara ait kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Sonra 10 ppm konsantrasyondaki numune cihaza verilmiş ve elde edilen değerler kalibrasyon eğrileri ile karşılaştırılmıştır. HPLC analizi İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.6. Uçucu Yağ Analizi

Uçucu yağlar bitkinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından su distilasyonu yöntemi ile elde edildi. Örneklerden 100 gr alınarak 3.5 saat boyunca Clavenger tipi aparat ile distile edildi (Şekil 3.2). Distilasyon sonucu elde edilen uçucu yağ GC/MS ile analiz edildi. GC/MS analizinde, Agilent Technologies 6890N Network gaz kromatografi sistemi ve FID and HPInnowax column (60 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness) ekipmanı kullanıldı. Başlangıçta enjeksiyon ve dedektör 250°C'ye ısıtıldı. Fırın sıcaklığı 60'dan 250 °C (5 °C /min)'ye kadar dereceli olarak programlanmış ve 250°C de 20 dakika boyunca sabit hale getirildi. Helyum gazı 1.7 mL/min akış hızı ile taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. GC/MS analizleri yukarıda verilen koşullar altında, GC Agilent Technologies 6890N Network gaz kromatografi sistemi (Agilent Technologies 5973 inert Mass Selective Detector)(Agilent G3180B Two-Ways Splitters with Makeup gas) kullanılarak yapıldı. Enjeksiyon otomatik olarak gerçekleştirildi (72). Flavor 2, Nist05, Nist08 ve Willey 8 kütüphaneleri karşılaştırma amacıyla kullanıldı. Relatif Index hesaplandı ve sonuçlar tablo halinde verildi. GC/MS analizi İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi.



Şekil 3.2. Clavenger tipi aparat ile distile edilen uçucu yağın görüntüsü (TA 3017 nolu örnek).

3.7. İstatistik Çalışmalar

Antioksidan aktivite tayininde, fenolik bileşenlerin belirlenmesinde ve uçucu yağların Retation indexlerinin hesaplamasında Microsoft Office Excel 2007 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

Hypericum thymopsis Boiss.'un "Türkiye Florası"ndaki betimi temel alınarak, türün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir.

İncelenen Örneklerin Betimi

Gövde 3-11(-20) x 0.4-0.6 cm, dik-yayık, bazen sürünücü ve tabanda köklenir, tüysüz, tabana doğru dallanmış salgı taşıyan uzantılı skabrit. Ana gövde üzerindeki yapraklar 6-18 x 0.5-1 mm, lineer, alta doğru kıvrık, yuvarlak ya da hemen hemen tepecikli, tüysüzden dalgalı-papillalıya kadar, yeşil ya da donuk mavimsi yeşil. Şeffaf gland sayısı c.30 (-50). Çiçek düzeni Yalancı şemsiye (korimbus), 3'den yaklaşık 22 çiçekliye kadar, ya da çiçekler tek; çiçekler 5-6 x 1.5-2 mm. Sepaller lanseolattan oblong-eliptiğe kadar, 1.5(-2.5) x 0.5-0.6(-1) akuttan yuvarlağa kadar, tabanda 1/2-2/3 de birleşik, sapsız yada sapsıza yakın guddeli (gland), gland her sepalde kenarda 6 (-8) adet. Petaller 5-7 x 1.5-2 mm mm, siyah guddesiz. Kapsül yaklaşık 4 mm, yumurtamsı, hafifçe gagalı yada değil (Şekil 4.2-5).

İncelenen Örnekler: **B6** Malatya: Malatya Hekimhan arası, Çebiş geçidi, derin topraklı alanlar, *Quercus* çalılığı açıklıkları, 1050 m, 15.vi.2016, TA 3004; **B7** Sivas: Gürün Gökpınar arası, 3-5 km, kayalık step, 1620 m, 15.vi.2016, TA 3014; **B7** Malatya: Darende-Gürün arası, 11. km, kayalık uçurum kenarları, 1500 m, 15.vi.2016; TA 3017.



Şekil 4.1. *H. thymopsis* Boiss. türünün Tip örneği (Herbaryum K).



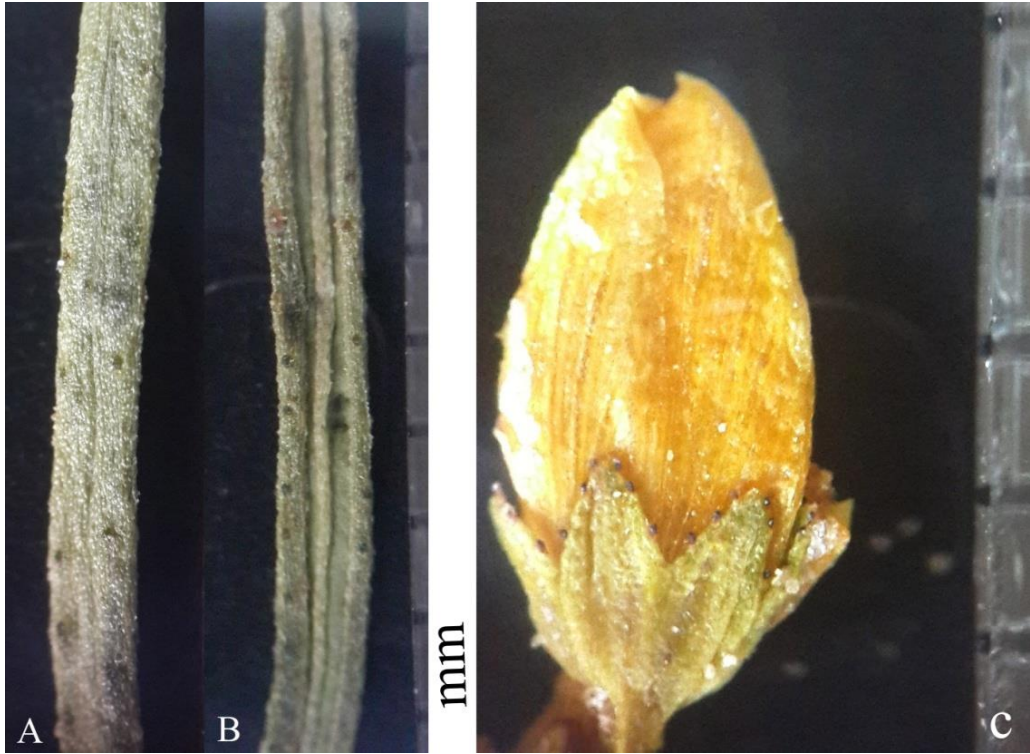
Şekil 4.2. TA 3004 nolu örneğin A: Genel görünüşü, B-C: Çiçekler (foto: T. ARABACI).



Şekil 4.3. TA 3004 nolu örneğin A: Yaprak alt yüzey, B: Yaprak üst yüzey C: Çiçek (Ölçü: 1 mm).



Şekil 4.4. TA 3014 nolu örneğin genel görünüşü (foto: T. ARABACI).



Şekil 4.5. TA 3017 nolu örneğin A: Yaprak üst yüzey, B: Yaprak alt yüzey C: Çiçek (Ölçü: 1 mm).

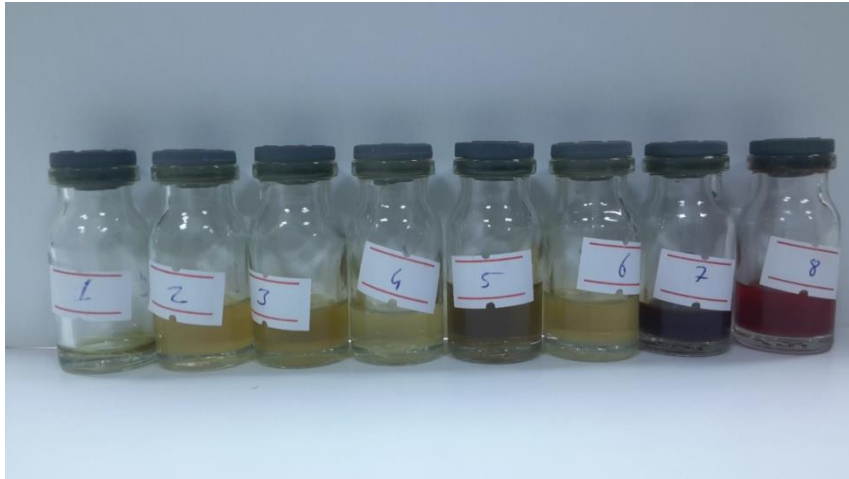
4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları

H. thymopsis türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örnekleri (TA3004, TA3014 ve TA3017) ve *H. perforatum* türüne ait yaprak ve çiçek kısımlarının Antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. *Hypericum* örneklerinin DPPH ve ABTS yöntemleri ile elde edilen IC₅₀ değerleri Tablo 4.1 de verilmiştir. Ekstrelerin renk skalaları Şekil.4.6’da görülebilir.

Tablo 4.1. *Hypericum* örneklerinin IC₅₀ değerleri (µg/ml).

Örnekler	1 (3004/Y)	2 (3004/Ç)	3 (3017/Y)	4 (3017/Ç)	5 (3014/Y)	6 (3014/Ç)	7 (HP/Y)	8 (HP/Ç)
DPPH	120.84 ±8,66	67.53 ±1.18	84.69 ±3.23	76.24 ±2.53	148.20 ±6,07	77.52 ±3.82	142.84 ±7,02	50.41 ±2.70
ABTS	87.42 ±0.87	207.36 8.45±	290.83 ±11.70	243.40 33.35±	114.80 ±8.44	207.89 ±34.38	225.98 ±20.73	108.13 12.75±
Standartlar	BHA	BHT	GA	Trolox	A-Toc			
DPPH	21.18 ±1.32	40.48 ±0.81	8.48 0.33±	68.74 0.47±	39.59 ±3.22			
ABTS	-	7.55 ±0.17	13.10 ±1.79	107.17 ±12.54	236.37 ±34.26			

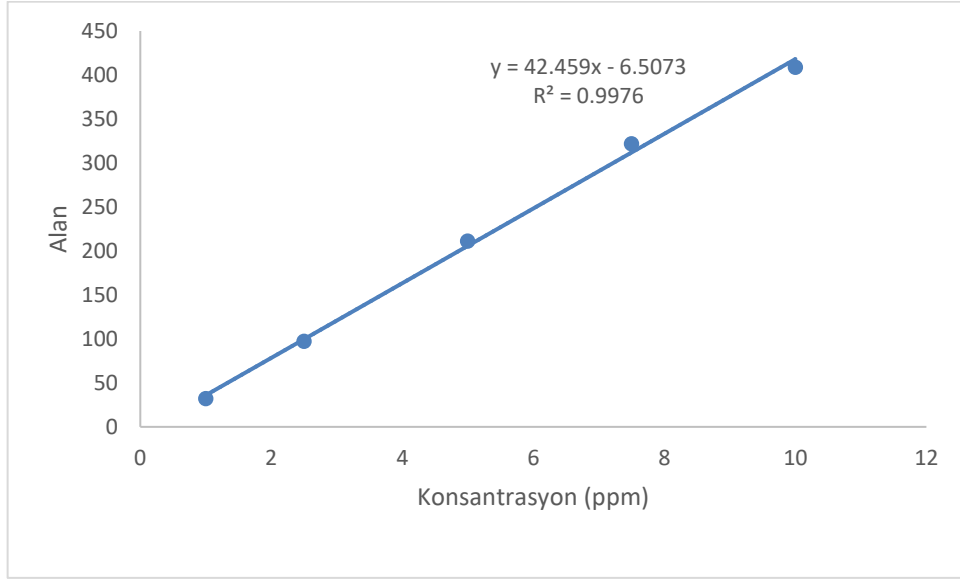
Y: Yaprak, Ç: Çiçek, HP: *Hypericum perforatum*



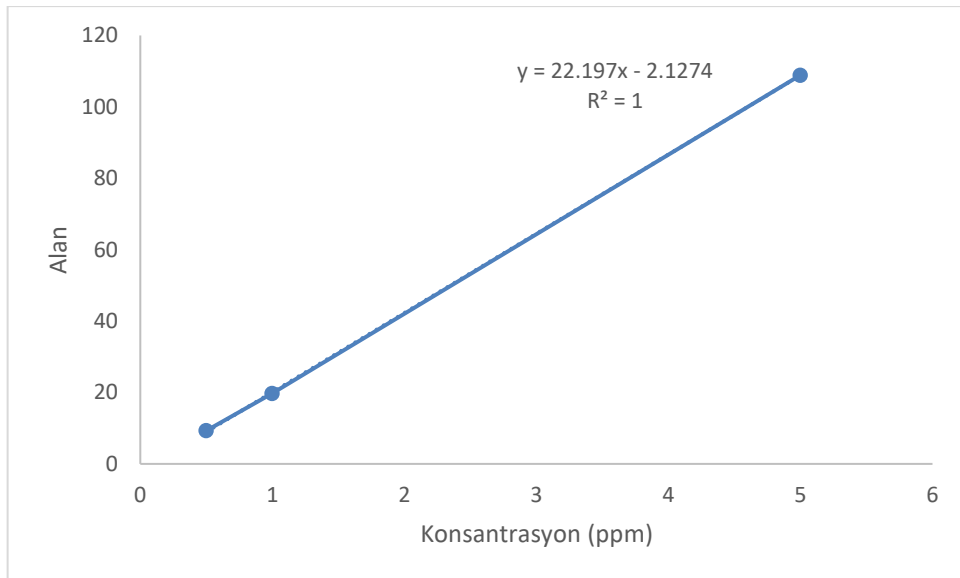
Şekil 4.6. Antioksidan çalışmalarda kullanılan bitki ekstraları.

4.3 Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesine ait Bulgular

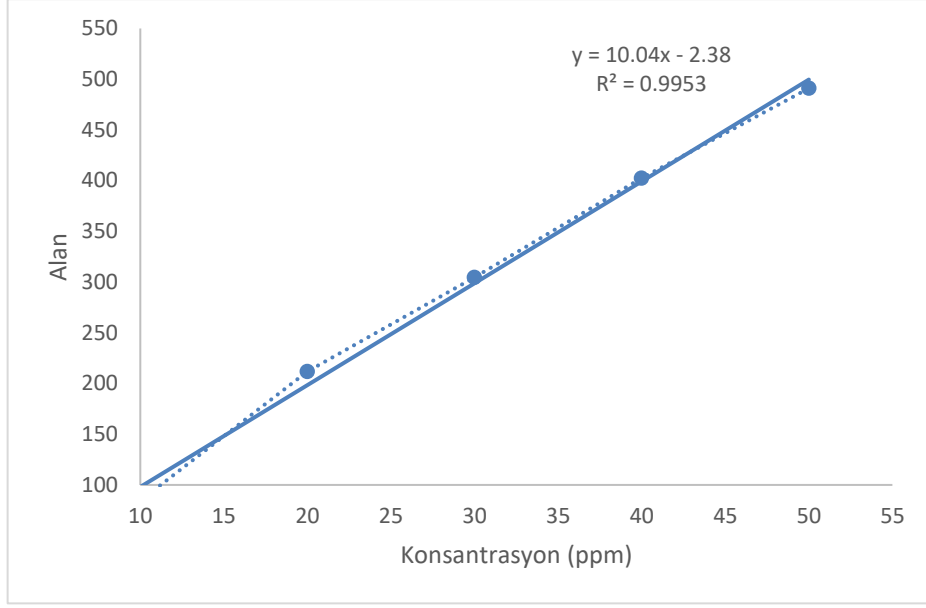
H. thymopsis türünün TA3017 numaralı örneğine ait yaprak ve çiçek kısımları HPLC metodu ile analiz edildi. Hiperforin, hiperisin, rutin ve kersetin fenolik bileşenlerinin miktar tayini yapıldı. Standart olarak kullanılan hiperforin, hiperisin, rutin ve kersetin'e ait kalibrasyon eğrileri elde edildi (Şekil 4.7-9).



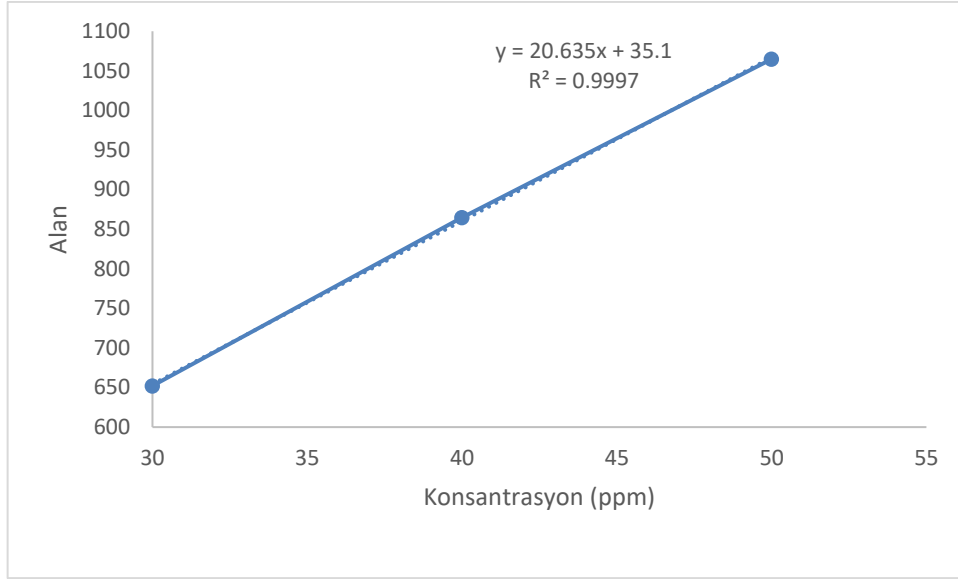
Şekil 4.7. Hiperforin standartına ait kalibrasyon eğrisi.



Şekil 4.8. Hiperisin standartına ait kalibrasyon eğrisi.

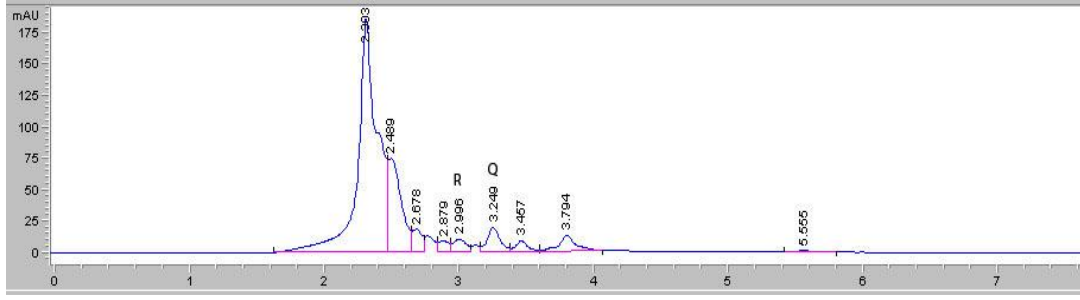


Şekil 4.9. Rutin standartına ait kalibrasyon eğrisi.

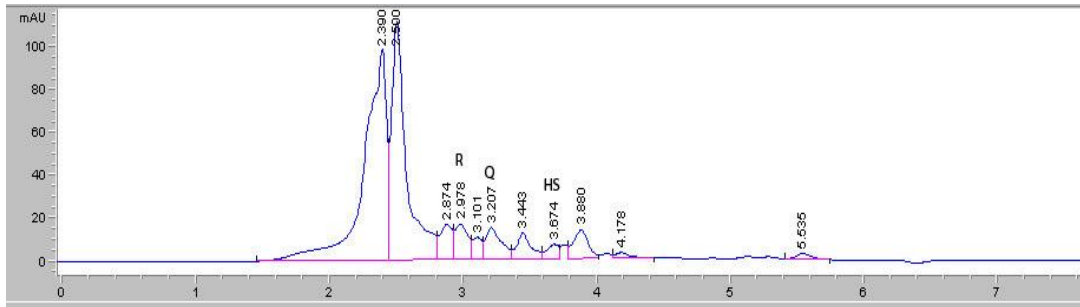


Şekil 4.10. Keretin standartına ait kalibrasyon eğrisi.

H. thymopsis türünün TA3017 numaralı örneğine ait yaprak ve çiçek kısımlarına ait HPLC kromatogramları elde edilmiştir (Şekil 4.10-12).



Şekil 4.11. TA 3017 nolu örneğin yaprağına ait HPLC kromatogramı (R: Rutin, Q: Kersetin).



Şekil 4.12. TA 3017 nolu örneğin çiçeğine ait HPLC kromatogramı (HS: Hiperisin, R: Rutin, Q: Kersetin).

Kalibrasyon eğrilerinden ve kromatogramlar üzerinde bulunan alan değerlerinden faydalanılarak fenoliklerin miktarı belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Tablo 4.2. Çalışılan örneklerde tayin edilen fenolik bileşiklerin konsantrasyonları (mg/kg).

	Hiperforin	Hiperisin	Rutin	Kersetin
TA3017/Y	TE	TE	7,040	4,463
TA3017/Ç	TE	1,992	11,213	4,250

*TE: Tayin Edilemedi

4.4. Uçucu Yağ Analiz Bulguları

H. thymopsis türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerine ait toprak üstü kısımlarının uçucu yağının analizi yapılmıştır. Çalışılan örneklerin yüzde yağ verimleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışılan örneklerin yüzde yağ verimleri.

Örnek	Yüzde Yağ verimi (gr/mL)
TA 3004	0.20
TA 3014	0.11
TA 3017	0.11

Uçucu yağının analiz sonuçları Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.4. *H. thymopsis* türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerine ait toprak üstü kısımlarının uçucu yağının analiz sonuçları.

RRI	Bileşen	% yağ (TA3004)	% yağ (TA3014)	% yağ (TA3017)
1019	α-Pinen	31.86	28.07	26.03
1041	3-Karen	0.74	1.29	0.53
1049	Kamfen	1.99	2.55	1.34
1093	β -Pinen	0.89	2.14	0.93
1111	2,4(10)-Tujadien	-	0.35	0.35
1175	Mirsen	0.36	0.5	0.52
1234	Limonen	4.3	6.07	14.83
1333	p-simen	0.94	0.64	0.4
1352	Terpinolen	0.9	1.14	0.73
1391	cis-3-Heksenil asetat	0.22	-	-
1539	p, α -Dimetilstiren	0.29	0.24	-
1616	α -Kubeben	-	1.37	-
1618	α -Kopaen	-	-	0.52
1594	α -Kamfolenik aldehit	1.42	-	-
1620	3-Pinanon	0.83	-	-
1640	Linalool	0.87	0.72	0.39
1666	Pinokarvon	0.22	-	-
1674	Fencil alkol	0.58	0.69	0.28
1697	4-Terpinenol	0.33	0.32	-
1698	β -Elemen	-	-	0.16

1722	Aromadendren	-	0.59	-
1722	Mirtenal	1.01	-	-
1736	trans-Pinokarveol	0.76	0.27	0.11
1741	Pulegon	-	0.3	-
1756	trans-karveol	0.88	0.44	-
1775	Bornil format	3.72	4.04	-
1776	Bornil asetat	-	-	2.14
1786	γ -Muurolen	2.22	3.05	1.93
1793	Verbenon	0.66	-	-
1797	A-fellandren-8-ol	0.58	-	-
1808	Germakren D	0.85	3.08	1.08
1819	α -Muurolen	0.39	0.57	-
1819	β -Karyofillen	-	-	0.34
1828	Bisiklogermakren	0.79	1.79	-
1850	δ -Kadinen	-	3.52	1.67
1860	Mirtenol	0.6	-	-
1909	cis-Karveol	0.35	-	-
1919	Geraniol	0.3	0.33	0.16
1930	Kalamenen	0.39	2.28	1.66
2056	α -Kalakoren	-	0.67	-
2282	Oktanoik asit	-	0.31	-
2491	Spatulenol	11.16	12.37	9.74
2560	Nonanoik asit	0.25	0.34	0.24
2592	Siklosativen	0.31	-	-
2592	α -Elemen	-	0.82	-
2610	α -Kadinol	0.53	1.52	0.37
2657	Kadalen	0.26	0.38	-
2717	Dekanoik asit	0.1	0.16	0.17
2740	β -Ionon	-	0.87	1.03
2770	Leden	0.34		
2917	Dodekanoik asit	0.44	0.54	0.67
2966	Diisobutil fitalat	-	-	0.31
3023	Benzoik asit	0.36	0.27	0.21

3062	Miristik asit	-	0.32	-
3107	Öjenon	0.59	-	0.48
3189	Heksidekanoik asit	0.59	1	1.07
3242	Nonakosan	-	0.84	1.41
Toplam		75.17	86.76	71.8

RRI: Relative Retation Index (Kısmi alıkonma indeksi)

5. TARTIŞMA

Yapılan morfolojik incelemede *H. thymopsis* türüne ait TA 3014 ve TA 3017 numaralı örnekler türün betiminin sınırları içinde kalırken, TA 3004 numaralı örneğin ise bazı morfolojik farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bu farklılıklar Tablo 5.1’de verilmiştir.

Tablo 5.1. TA 3004 numaralı örneğin TA 3014 ve TA 3017 numaralı örnekler ile olan farklılıkları.

Karakterler	TA 3014 ve TA 3017 numaralı örnekler	TA 3004 numaralı örnek
Gövde	3-11 cm	15-20 cm
Yaprakda şeffaf gland sayısı	c.30	c.50
Sepal	1.5 x 0.5-0.6	2-2.5 x 1 mm
Sepalde gland sayısı	6 adet	8 adet

Tablo 5.1 incelendiğinde, TA 3004 numaralı örnekte gövde daha uzun (15-20 cm), yapraktaki şeffaf gland sayısı daha fazla (c.50), sepalin daha büyük (2-2.5 x 1 mm) ve gland sayısının daha fazla (8 adet) olduğu tespit edilmiştir. Bu durum bitkinin habitatı ile ilişkilendirilebilir. TA 3004 numaralı örnek derin topraklı alanlarda, 1050 m’de yayılış gösterirken, TA 3014 ve TA 3017 numaralı örnekler ise kayalık habitatlarda ve daha yüksek rakımda (1620 m ve 1500 m) yayılış göstermektedir. Bitkilerin yayılış gösterdiği rakımın yükselmesi ile bitki boyunun kısaldığına dair çalışmalar bulunmaktadır (74). *H. thymopsis* türünün morfolojisi ile ilgili yapılan bir başka çalışmada ise gövde 3-14 cm olarak verilmiştir (75).

Bu çalışmada *H. thymopsis* türüne ait 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerin yaprak ve çiçeklerinin antioksidan özellikleri ayrı ayrı çalışılmıştır. Karşılaştırma amaçlı olarak ile *Hypericum perforatum* türü de çalışılmıştır. *Hypericum* örneklerinin IC₅₀ değerleri incelendiğinde, DPPH yönteminde en yüksek antioksidan etkiyi çiçek ekstreleri göstermektedir. Çiçek ekstrelerinden ise en yüksek radikal süpürücü etkiyi 8 numaralı *H. perforatum*’un çiçek örneği göstermiştir (50.41 µg/ml). ABTS yönteminde en güçlü radikal süpürme kapasitesini TA3004 nolu örneğin yaprak ekstresi göstermiştir

(87.42 µg/ml). *H. perforatum*'un çiçek örneği ise 2. sırada yer almıştır (108.13 µg/ml) (Tablo 4.1).

Hypericum türlerinin antioksidan aktivite gösterdiğine dair çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. İtalya'da yetişen sekiz *Hypericum* taksonunun antioksidan özelliği DPPH radikal süpürme yöntemi ile incelemiş ve çalışılan örneklerin kayda değer önemde antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (76). Ülkemizde yayılış gösteren *H. triquetrifolium* Turra ve *H. scabroides* Robson & Poulter türleri üzerinde yapılan antioksidan çalışmalarda bu türlerin doğal antioksidan potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (77). Yine ülkemizde yayılış gösteren *H. perforatum* türü üzerinde yapılan DPPH ve Troloks eşdeğer antioksidan çalışmalarında yüksek antioksidan kapasitesinin bulunduğu tespit edilmiştir (78). *H. scabrum* L., *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* ve *H. retusum* Aucher türleri üzerinde yapılan çalışmalarda da yüksek antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir (79).

Fenolik bileşiklerden hiperforin, hiperisin, rutin ve kersetin *H. thymopsis* türünün TA3017 numaralı örneğine ait yaprak ve çiçek kısımlarından HPLC metodu ile tayin edilmeye çalışılmıştır (Çizelge 4.2). Yaprak ekstresinde 7.040 mg/kg rutin, 4.463 mg/kg kersetin tespit edilirken, çiçek ekstresinde ise 1.992 mg/kg hiperisin, 11.213 mg/kg rutin ve 4.250 mg/kg kersetin olduğu saptanmıştır. Çalışılan örneklerde hiperforin ise tayin edilememiştir. *H. perforatum* türünün Türkiye'de yetişen örneklerinin topraküstü kısımlarından elde edilen metanol ekstraktları ile yapılan bir çalışmada 16 ± 0.08 µg/g hiperisin ve 1164 ± 0.02 µg/g hiperforin içerdikleri LC-MS-DAD ile tayin edilmiştir (80).

Uçucu yağ analiz çalışmalarda örneklerin yüzde yağ verimi TA 3004 nolu örnekte % 0.20, TA 3014 ve TA 3017 nolu örneklerde ise % 0.11 olarak belirlenmiştir. *Hypericum* türlerinde bulunan şeffaf salgılar uçucu yağ içermektedir (19). Yapılan morfolojik incelemelerde TA 3004 nolu örneğin yapraklarında bu salgıların diğer örneklerden fazla olduğu belirlenmiştir (Tablo 5.1).

H. thymopsis türünün 3 farklı örneklerine ait uçucu yağın ana bileşeni her 3 örnekte de aynı olduğu görülmektedir. Ana bileşenler α -Pinen, Spatulenol ve Limonen'den oluşmaktadır. Yüzde değerlerine baktığımızda her 3 örnekte de (TA3004, TA3014 ve TA3017) α -Pinen ilk sırada (sırasıyla % 31.86, % 28.07 ve % 26.03) yer almaktadır. TA3004 ve TA3014 numaralı örneklerde Spatulenol (% 11.16 ve % 12.37), TA3017 örnekte Limonen (% 14.83) ikinci sırada bulunmaktadır. Üçüncü sırayı ise,

TA3004 ve TA3014 numaralı örneklerde Limonen (% 4.3 ve % 6.07) alırken, TA3017 örnekte Spatulenol (% 9.74) almıştır (Tablo 5.2).

Tablo 5.2. *H. thymopsis* türünün 3 farklı örneklerine ait uçucu yağının ana bileşenleri ve yüzdesi.

Ana Bileşenler	% yağ (TA 3004)	% yağ (TA 3014)	% yağ (TA 3017)
α -Pinen	31.86	28.07	26.03
Spatulenol	11.16	12.37	9.74
Limonen	4.3	6.07	14.83

H. thymopsis türünün uçucu yağının kimyasal kompozisyonu ile ilgili yapılmış 2 adet çalışma bulunmaktadır (8, 81). Bu çalışmalarda elde edilen ana bileşenlerin mevcut çalışmamız ile karşılaştırılması Tablo 5.3 'de verilmiştir.

Tablo 5.3. *H. thymopsis* türünün uçucu yağının kimyasal kompozisyonu ile ilgili yapılmış çalışmalar.

Mevcut çalışmamız			(8)	(81)
TA 3004	TA 3014	TA 3017		
α pinen(%31.86)	α -pinen (%28.07)	α -pinen (%26.03)	spatulenol (% 10.8)	α -pinen (% 44.0)
spatulenol (%11.16)	spatulenol (%12.37)	limonen(%14.83)	δ -kadinen (% 7.1)	baekkeol (% 32.9)
limonen(%4.3)	limonen(%6.07)	spatulenol (%14.83)	germakren-D (% 6.1)	spatulenol (% 8.0)

Tablo 5.3 incelendiğinde önceki çalışmalarda ana bileşen olarak α -pinen ve spatulenol'un bizim elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde ana bileşenler arasında yer aldığı ancak baekkeol, δ -kadinen ve germakren-D'nin ise bizim sonuçlardan farklı olarak yüksek oranda uçucu yağ bileşeninde bulunup ana bileşenler arasında bulunduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışma sonucunda *Hypericum thymopsis* türüne ait 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerin morfolojik özellikleri, antioksidan özellikleri, bazı fenolik bileşikleri ve uçucu yağının kimyasal kompozisyonu belirlenmiştir. Bu tezde hedeflenen amaçlar doğrultusunda elde edilen sonuçlar ve öneriler şu şekildedir;

1. Morfolojik çalışmalarda TA 3014 ve TA 3017 numaralı örneklerin türün betiminin sınırları içinde kalırken, TA 3004 numaralı örneğin ise bazı morfolojik farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Gövde, yaprak ve sepallerinde gözlenen bu farklılıklar, farklı habitatlarda yaşayan örneklerde görülebilecek varyasyonların bir sonucu olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle TA 3004 nolu örnek, gerek türün Tip (typus) örneği ile gerekse diğer örneklerle karşılaştırıldığında yeni bir takson olarak değerlendirilmeyip, türün betiminin genişletilmiş sınırları içinde değerlendirilmiştir.

2. *H. thymopsis* türünün TA3017 numaralı örneğine ait yaprak ve çiçek ekstralarında rutin, kersetin ve hiperisin miktarları tespit edilirken, hiperforinin varlığı ise tayin edilememiştir.

3. *H. thymopsis* türü ve karşılaştırma amaçlı *Hypericum perforatum* türüne ait örneklerin yaprak ve çiçeklerinin antioksidan özellikleri ayrı ayrı çalışılmıştır. Çalışmalarda 2 ayrı yöntem kullanılmıştır. DPPH yönteminde en yüksek antioksidan etkiyi *H. perforatum*'un çiçek örneği, ABTS yönteminde en güçlü radikal süpürme kapasitesini TA 3004 nolu örneğin yaprak ekstresi göstermiştir. Yapılan literatür çalışmalarına göre, *H. thymopsis* türü ile ilgili daha önce yapılmış antioksidan çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu türün antioksidan özelliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

4. *H. thymopsis* türünün 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerinin uçucu yağ kompozisyonları belirlenmiş. Elde edilen sonuçlar literatürde mevcut çalışmalar ile karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırmalarda α -pinen ve spatulenol'un tüm çalışmalarda ortak olarak, ancak baekkeol, δ -kadinen ve germakren-D'nin ise bizim sonuçlardan farklı olarak ana bileşenler arasında yer aldığı gözlenmiştir. Çalışmamız sonucunda limonen diğer çalışmalardan farklı olarak ana bileşenler arasında bulunmuştur. Burada gözlenen farklılıklar farklı habitatlarda yetişen örneklerin, farklı kimyasal tiplerinden kaynaklanmaktadır. Böylece *H. thymopsis* türünün farklı kemotipleri de belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Avcı M. Çeşitlilik ve endemizm açısından Türkiye'nin bitki örtüsü. İstanbul Üniversitesi, Edebiyat Fakültesi, Coğrafya Bölümü *Coğrafya Dergisi* 2005, 13: 27-55.
2. Davis PH. (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.1-9, Edinb. University Press, Edinburgh, 1965-1985.
3. Davis PH. Kit Tan MRD. (Eds.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.10 (Supplement 1), Edinb. University Press, Edinburgh, 1988.
4. Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC. (Eds.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.11 (Supplement 2), Edinb. University Press, Edinburgh, 2000.
5. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. editors. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını 2012.
6. Baytop T. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. Nobel Tıp Kitabevleri 1999.
7. Ertuğ F. Etnobotanik. İçinde: Güner A, Ekim T (editörler.) *Resimli Türkiye Florası*, cilt 1. İstanbul, Ali Nihat Gökyiğit Vakfı, Flora Araştırmaları Derneği ve Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları yayını, 2014: 381-420.
8. Özkan AMG, Demirci B, Başer KHC. Essential Oil Composition of *Hypericum thymopsis* Boiss. *Journal of Essential Oil Research* 2009, 21(2): 149-53.
9. Yeşilada E, Sezik E, Fujita T, Tanaka S, Tabata M. Screening of some Turkish medicinal plants antiulcerogenic activities. *Phytother Res* 1993, 7: 263-5.
10. Decosterd AL, Hoffman E, Kyburz R, Bray D, Hostettmann K. A new phloroglucinol derivative from *Hypericum calycinum* with antifungal and in vitro antimalarial activity. *Planta Med* 1991, 57: 548-51.
11. Jayasuriya H, Clark AM, Mcchesney DJ. New antibacterial filicinic acid derivatives from *Hypericum drummondii*. *J Nat Prod* 1991, 54: 1314-20.
12. Rocha L, Marston A, Auxilixdora M, Kaplan C, Stoeckli-Evans H, Thull U, Testa B, Hostettmann K. An antifungal γ -pyrone and xanthenes with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry* 1994, 6: 1381-85.
13. Sokmen A, Jones MB, Erturk M. Antimicrobial activity of extracts from the cell cultures of some Turkish medicinal plants. *Phytother Res* 1999, 13: 355-7.

14. Kamuhabwa AR, Agostinis P, D'hallewin MA, Kasran A, de Witte PA. Photodynamic activity of hypericin in human irinary bladder carcinoma cells. *Anticancer Res* 2000, 20(4): 2579–84.
15. Kızıl G, Toker Z, Özen HÇ, Aytekin Ç. The antimicrobial activity of essential oils of *Hypericum scabrum*, *Hypericum scabroides* and *Hypericum triquetrifolium*. *Phytother. Res.* 2004, 18: 339–41.
16. Crocetta S, Robson NKB. Taxonomy and chemotaxonomy of the genus *Hypericum*. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol* 2011, 5(1): 1-13.
17. Flora of North America. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=10436 12 Şubat 2019.
18. Robson NKB. *Hypericum* L. In: Davis PH (ed). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 2. Edinburgh, Edinburgh University Press, 1967: 355-401.
19. Davis PH. (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.2, Edinb. University Press, Edinburgh, 1967: 355.
20. Edzard E. *The genus Hypericum*. New York: Taylor and Francis, 2003.
21. Varel M. *Hypericum perforatum*. İçinde: Demirezer LÖ, Ersöz T, Saraçoğlu İ, Şener B (editörler). *FFD Monografıları Tedavide Kullanılan Bitkiler*. MN Medikal & Nobel Tıp Kitapevi, 2011: 309-19.
22. Aslan S. *Hypericum* L. İçinde: Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M Babaç MT (Ed). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları DerneğiYayıını, 2012: 523-30.
23. Başer KHC. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.). *Bağbahçe* 2007, 13 (Eylül-Ekim): 18-9.
24. Süntar İP, Akkol EK, Yılmazer D, Baykal T, Kırmızıpekmez H, Alper M, Yeşilada E. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology* 2010, 127: 468–77.
25. Orcic DZ, Mimica-Dukic NM., Franciskovic MM, Petrovic SS, Jovin ED. Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. *Chemistry Central journal* 2011, 5: 34.
26. Tatsis CE, Boeren S, Exarchou V, Troganis AV, Vervoort A, Gerothanassis IP. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. *Phytochemistry* 2007, 68: 383–93.

27. Karppinen K. Biosynthesis of Hypericins and Hyperforins in *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) – Precursors and Genes Involved. Faculty of Science, Department of Biology, Oulu: University of Oulu, 2010.
28. Jr DAB, Phun L, Polk JF, Voglino SA, Zlotnik V, Raffa RB. Neuropharmacology of St. John's Wort (*Hypericum*). *Psychiatry* 2014, 32(407): 1201-8.
29. Yılmaz HR, Yücel N, Uz E, Koşar PA. Elde edilen hyperisin maddesinin. insan lenfosit kültürlerinde kardeş kromatid değişimi üzerine etkisi. *Eur J Basic Med sci* 2014, 4(2): 22-8
30. Oliveira AI, Pinho C, Bruno Sarmiento B, Dias ACP. Neuroprotective activity of *Hypericum perforatum* and its major components. *Frontiers in Plant Science* 2016, 7: 1004.
31. Altan A, Damlar İ, Aras MH, Alpaslan C. Sarı kantaronun (*Hypericum perforatum*) yara iyileşmesi üzerine etkisi (Effect of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) on wound healing). *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi (Archives Medical Review Journal)* 2015, 24(4): 578-91.
32. Nuevas-Paz L, Molina-Torres J, Prieto-González S. Determination of hypericin in *Hypericum* species grown in Cuba. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 2005, 24(1): 89–90.
33. Schempp CM, Kirkin V, Simon-haarhaus B, Kersten A, Kiss J, Termeer CC, Simon JC. Inhibition of tumour cell growth by hyperforin , a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis. *Nature publishing group Oncogene* 2001, 6: 1242–50.
34. Bork PM, Bacher S, Schmitz ML, Kaspers U, Heinrich M. Hypericin as a non-antioxidant inhibitor of NF- κB, *Planta Medica* 1999, 65: 297-300.
35. Zanolli P. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John's Wort. *CNS Drug Reviews* 2004, 10(3): 203-18.
36. Boots AW, Haenen Guido RMM, Bast A. Health effects of quersetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology* 585 2008, 325-37
37. Nohrstedt A, Butterweck V. Biologically Active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiat* 1997, 30 (Supplement): 129 – 34.
38. Butterweck V. Mechanism of action of St John's Wort in depression what is known?. *CNS Drugs* 2003, 17 (8): 539-62.
39. Berghofer R, Holz J. Biflavonoids in *Hypericum perforatum*; Part 1. isolation of

- 13, 118-Biapigenin. *Planta medica* 1987, 216-17.
40. Spiridon I, Bodirlau R, Teaca CA. Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent. Eur. J. Biol.* 2011, 6(3): 388- 96
41. Huang ZQ, Chen P, Su WW, Wang YG, Wu H, Peng W, Li PB. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of quersetin 7-rhamnoside in vitro and in vivo. *Molecules* 2018, 23: 1188.
42. Crockett SL, Kunert O, Pferschy-Wenzig EM , Jacob M, Schuehly W, Bauer R. Phloroglucinol and terpenoid derivatives from *Hypericum cistifolium* and *H. galioides* (Hypericaceae). *Front. Plant Sci.* 2016, 7: 961
43. Al-Dhabi NA, Arasu MV, Park CH, Park SU. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI Journal.* 2015, 14: 59-63
44. Çırak C, Kurt D. Önemli tıbbi bitkiler olarak *Hypericum* türleri. *Anadolu, J. of Aari* 2014, 24 (1): 42-58
45. Barnes J, Anderson LA, Philipson JD. *Herbal Medicines*, 3rded. Chicago, Pharmaceutical Press, 2007.
46. Kıyan HT. Bazı *Hypericum* Türlerinin Uçucu Yağ Bileşimleri Ve Antianjiyojenik Aktiviteleri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, 2010.
47. Crockett SL. Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). *Nat Prod Commun.* 2010, 5(9): 1493–1506.
48. Çavdar C, Aykut Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma (Reactive oxygen particles and antioxidant defence). *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1997, 3-4: 92-5
49. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg* 2004, 15 (12): 91-6
50. Büyüktuncel E. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2013, 17: 93-103.
51. Boran R, Ugur A. The mutagenic, antimutagenic and antioxidant properties of *Hypericum lydium*. *Pharmaceutical biology* 2017, 55(1): 402–05.
52. Okan OT, Varlıbaş H, Öz M, Deniz İ. Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı

- bitkisel ürünler. *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi (Kastamonu Univ., Journal of Forestry Faculty)* 2013, 13 (1): 48-59.
53. EL-Agbar ZA, Shakya AK, Khalaf NA, AL-Haroon M. Comparative antioxidant activity of some edible plants. *Turk J Biol* 2008, 32: 193-6.
54. Yavaşer R. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2011.
55. Li C, Cui X, Chen Y, Liao C, Ma LQ. Synthetic Phenolic antioxidants and their major metabolites in human fingernail. *Environmental Research* 2018, 169: 308-14.
56. Badhani B, Sharma N, Kakkar R. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Adv.* 2015, 5: 27540-57.
57. Engin KN. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Molecular Vision* 2009, 15: 855-60.
58. Wada M, Wada M, Ikeda R, Fuchigami Y, Koyama H, Ohkawara S, Kawakami S, Kuroda N, Nakashima K. Quantitative and antioxidative behavior of trolox in rats' blood and brain by HPLC-UV and SMFIA-CL methods. *Luminescence* 2016, 31: 414–8.
59. Albayrak S, Sağdıç O, Ahmet Aksoy A. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2010, 26(4): 401-9.
60. Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G. Antioxidant measurements. *Physiol. Meas.* 2007, 28: 41–55.
61. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lwt-Food Sci Technol* 1995, 28: 25-30.
62. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Evans CR. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 1999, 26(9/10): 1231–7.
63. Heinrich M, Lorenza P, Rolf Daniels R, Stintzing FC, Dietmar R. Kammerer DR. Lipid and phenolic constituents from seeds of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum tetrapterum* Fr. and their antioxidant activity. *Chemistry & Biodiversity* 2017, 14(8): 1700100.
64. Sentkowska A, Biesaga M, Pyrzynska K. Effects of brewing process on phenolic compounds and antioxidant activity of herbs. *Food Sci. Biotechnol* 2016, 25(4): 965-70

65. Keskin C, Necmettin Aktepe N, Yunus Yükselten Y, Asuman Sunguroglu A, Boğa M. In-vitro antioxidant, cytotoxic, cholinesterase inhibitory activities and antigenotoxic effects of *Hypericum retusum* aucher flowers, fruits and seeds methanol extracts in human mononuclear leukocytes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2017, 16 (1): 210-20.
66. Ji YY, adam N, Kennelly J, Edward KJ, Long CL. Chemical constituents of *Hypericum stellatum* and their antioxidant bioactivities. *China Journal of Chinese Materia Medica* 2018, 43(18): 3701-7.
67. Kurt BZ, Gazioglu I, Sevgi E, Sönmez F. Anticholinesterase, antioxidant antiaflatoxic activities of ten edible wild plants from Ordu area, Turkey. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2018, 17(3): 1047-56.
68. Akgöz Y. *Hypericum retusum* Aucher Bitkisinin Farklı Çözücülerde Hazırlanan Ekstraktlarının Antioksidan Etkileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Diyarbakır:Dicle Üniversitesi, 2009.
69. Yağan BD. Kazdağı'nda Yetişen Bazı *Hypericum* L. Türlerinin Antioksidan Madde İçerikleri Ve Sitotoksik Özelliklerinin İrdelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 2012.
70. Karakuş Ş. Malatya İli Florası. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2016.
71. Porgalı E, Büyüktuncel E. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. *Food Research International* 2012, 45: 145–54.
72. Arabacı T, Uzay G, Keleştemur U, Karaaslan MG, Balcıoğlu S, Ateş B. Cytotoxicity, radical scavenging, antioxidant properties and chemical composition of the essential oil of *Satureja cilicica* P.H. Davis from Turkey. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2017, 21(3): 500-5.
74. Amirnia R, Ghiyasi M, Tajbakhsh M. Farklı gelişme yüksekliklerin hardal otunun (*Sinapis arvensis* L.) bazı özellikleri üzerine etkisi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi* 2012, 5(2): 144-7.
75. Tekin M. Pharmacobotanical study of *Hypericum thymopsis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2017, 27: 143–52.
76. Sagratini G, Ricciutelli M, Vittori S, Öztürk N, Öztürk Y, Maggi F. Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from Central Italy. *Fitoterapia*

- 2008, 79(3): 210–3.
77. Kızıl G, Kızıl M, Yavuz M, Emen S, Hekimoğlu F. Antioxidant activities of ethanol extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*. *Pharmaceutical Biology* 2008, 46(4): 231-42.
78. Kırca A, Aslan E. Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology* 2008, 43: 2038–46.
79. Barış D, Kızıl M, Aytekin Ç, Kızıl G, Yavuz M, Çeken B, Ertekin AS. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. *International Journal of Food Properties* 2011, 14(2): 339-55.
80. Erdogan OI, Kartal M. LC-DAD-MS-assisted quantification of marker compounds in *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) and its antioxidant activity. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015, 12(3): 279-86.
81. Özkan EE, Demirci B, Gürer ÇÜ, Kültür Ş, Mat A, Başer KHC. Essential oil composition of five endemic *Hypericum* species from Turkey. *Med Aromat Plants* 2013, 2(2): 1000121.

EKLER

EK.1. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Emine KOÇ
Doğum Yeri/yılı : Adıyaman/1988
Lisans : İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
2014
Yüksek Lisans : İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı, 2015-
Yabancı Dil : İngilizce
Adres : İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı, MALATYA
E-Posta : emikocc25@gmail.com

EK.2. Etik Kurul Onayı Gerekmediğine Dair Yazı

Çalışma konusunu Bitki Materyali oluşturduğundan dolayı Resmi Gazetenin 13 Nisan 2013 tarih ve 28617 sayılı “Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelikte” belirtilen Etik Kurul Onay Belgesine gerek bulunmamaktadır.