

***HYPERICUM THYMOPSIS* BOISS.
(HYPERICACEAE) ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL
VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Benan OKYAY

Eskişehir 2020

***HYPERICUM THYMOPSIS* BOISS. (HYPERICACEAE) ÜZERİNDE
FİTOKİMYASAL VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Benan OKYAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temmuz 2020

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1705S340 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

HYPERICUM THYMOPSIS BOISS. (HYPERICACEAE) ÜZERİNDE

FİTOKİMYASAL VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Benan OKYAY

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2020

Danışman: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

Bu çalışmada, Sivas-Kangal-Gürün yakınından toplanan endemik *Hypericum thymopsis* Boiss'in (Hypericaceae) toprak üstü kısımlarından hazırlanan farklı polaritedeki ekstraların ve infüzyonun toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri spektrofotometrik metotla, hiperisin, psödohiperisin ve ayrıca fenolik asitlerinin miktarları ters-faz YBSK- DAD ile belirlenmiştir. Ayrıca, ekstraların antioksidan aktivitesi DPPH• serbest radikal süpürücü etki, ABTS katyon radikali süpürücü etki, metal şelatlama ve redükleyici güç tayinleri ile, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivite tayinleri ile, antimikrobiyal aktivite tayini broth dilüsyon yöntemi ile; sitotoksitite çalışmalar ise Caco-2 kolon kanseri ve 3T3 hücre hatlarında gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar *Hypericum perforatum* L. sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

YBSK ile *H. thymopsis*'in, *H. perforatum*'a kıyasla daha az miktarda hiperisin ve psödohiperisin; GK-KS/AID tekniği ile başlıca α -pinen, β -pinen, limonen gibi monoterpenler içerdiği tespit edilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarına sahip etil asetat ekstraları, çalışılan diğer ekstralarla karşılaştırıldığında, yüksek AChE enzim inhibisyonu, etil asetat ve %70 metanol ekstresi yüksek metal şelatlayıcı; %70 etanollü ekstresi yüksek serbest radikal süpürücü etki; metanol ekstresi ve infüzyonu yüksek redükleyici güç; sulu ekstresi yüksek ABTS radikal katyon renksizleştirici etki gösterdiği görülmüştür. Ayrıca etil asetat ve metanol ekstraları çalışılan tüm suşlara karşı diğer ekstralardan daha iyi aktivite gösterirken kloramfenikole göre belirgin antibakteriyel, *Candida* suşlarına karşıda yine belirgin antifungal aktivite göstermiştir.

Ülkemiz endemik türlerinden biri olan *H. thymopsis*'in psödohiperisin içeriği ile anti-alzheimer, sitotoksik, antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri ilk kez bu çalışmada sunulmuştur.

Anahtar sözcükler: *Hypericum thymopsis* Boiss., Antioksidan, Anti-alzheimer, Sitotoksitite, Naftodiantronlar.

ABSTRACT
PHYTOCHEMICAL AND BIOACTIVITY STUDIES ON *HYPERICUM*
THYMOPSIS BOISS. (HYPERICACEAE)

Benan OKYAY

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, July 2020

Supervisor: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

In this study, it was determined the amounts of hypericin, pseudohypericin and also phenolic acids by reversed- phase HPLC-DAD, the total phenolic and total flavonoid contents by the spectrophotometric method, of the different polarity extracts and infusions prepared from the aboveground parts of the endemic *Hypericum thymopsis* Boiss (Hypericaceae) collected near Sivas-Kangal-Gürün. In addition, it were carried out the antioxidant activity of extracts by DPPH• free radical scavenging effect, ABTS cation radical scavenging effect, metal chelation and reductive power determinations anti-alzheimer activities by acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzyme inhibition activity determinations; antimicrobial activity by broth dilution method, cytotoxicity studies on Caco2 and 3T3 cell lines. The results were compared with *Hypericum perforatum* L. results.

It has been determined that *H. thymopsis* contain less amount of hypericin and pseudohypericin compared to *H. perforatum* by the HPLC; volatile terpenes, α -pinene, β -pinene and limonene by the GC-MS/FID technique. Ethyl acetate extracts with the highest total phenolic substance and total flavonoid amount, compared to other extracts studied, while showing high AChE enzyme inhibition, ethyl acetate and %70 methanol extract; %70 ethanol extract high free radical scavenging effect; methanol extract and infusion high reduction power; the aqueous extract has been shown to have high ABTS radical cation decolorizing effect. In addition, while ethyl acetate and methanol extracts showed better activity against all strains studied than other extracts, it showed significant antibacterial activity compared to chloramphenicol and significant antifungal activity against *Candida* strains. Pseudohypericin content and anti-alzheimer, cytotoxic, antifungal and antibacterial activities of *H. thymopsis*, one of the endemic species of our country, were presented for the first time in this study.

Keywords: *Hypericum thymopsis* Boiss., Antioxidant, Anti-alzheimer, Cytotoxicity, Naftodiantrons.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince büyük bir sabır ve anlayışla, desteğini benden hiç esirgemeyen, değerli bilgilerini bana aktaran, danışman hocam, Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e

Laboratuvar çalışmalarım sırasında büyük bir sabır ve anlayışla her zaman yanımda olan, bildiğim her şeyi öğreten Dr. Öğr. Hülya Tuba KIYAN hocama,

Tez bitkimin teminini sağlayan Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik ABD öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet TEKİN'e

Tezimin uçucu bileşenlerinin GK-KS/AID analizlerimi büyük bir özveriyle gerçekleştiren Prof. Dr. Gülmira ÖZEK hocama,

Hücre kültürü çalışmalarımda bana laboratuvarını açan, bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren Farmakoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Miriş DİKMEN hocama,

Mikrobiyolojik Analizlerimde Bilgi ve tecrübeleri esirgemeyen Mikrobiyoloji ABD öğretim üyesi Doç. Dr. Zerrin CANTÜRK hocama,

Her zaman desteğini hissettiğim sevgili anneme, babama ve kardeşim Zeynep'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Benan OKYAY

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

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

	<u>Sayfa</u>
JÜRİ ENSTİTÜ ONAYI.....	i
FINAL APPROVAL FOR THESIS.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>Hypericum</i> Türlerinin Genel Özellikleri.....	5
2.1.1. <i>Hypericum thymopsis</i> Boiss.....	6
2.2. <i>Hypericum</i> Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri.....	8
2.2.1. Naftodiantronlar.....	8
2.2.2. Floroglusinoller.....	13
2.2.3. Flavonoidler.....	20
2.2.4. Biflavonlar.....	28
2.2.5. Proantosiyanidinler.....	28
2.2.6. Fenolik asitler.....	29
2.2.7. Terpenler.....	32
2.2.8. Uçucu yağlar.....	33
2.3. <i>Hypericum</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	36

	<u>Sayfa</u>
2.3.1. Antioksidan aktivite.....	36
2.3.2. AChE ve BChE enzim inhibisyonu aktiviteleri	39
2.3.3. Antimikrobiyal aktivite.....	43
2.3.4. Sitotoksik aktivite.....	47
2.3.5. Antidepresan aktivite.....	55
3. YÖNTEM.....	57
3.1. Bitki Materyali.....	57
3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	58
3.2.1. Kimyasal maddeler.....	58
3.2.2. Cihazlar.....	59
3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	60
3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	62
3.5. Toplam Flavonoid Miktarı.....	63
3.6. YBSK ile Fenolik Asitlerin Miktar Tayini.....	63
3.7. YBSK ile Hiperisin ve Psödohiperisin Miktar Tayini.....	64
3.8. GK-KS/AID ile Uçucu Yağ Bileşimi Tayini.....	65
3.9. Antioksidan Aktivite Tayinleri.....	65
3.9.1. DPPH• radikali üzerinden serbest radikal süpürücü etki.....	65
3.9.2. ABTS ^{•+} Radikal katyon renksizleştirme.....	66
3.9.3. Metal şelatlama kapasitesi.....	67
3.9.4. Redükleyici güç tayini.....	67
3.10. AChE ve BChE Enzim İnhibisyonu Aktiviteleri.....	68
3.11. Antimikrobiyal Aktivite.....	70
3.12. Sitotoksik Aktivite.....	70
4. BULGULAR.....	74

	<u>Sayfa</u>
4.1. Ekstraksiyon Verimleri, Toplam Fenolik Madde ve Toplam Flavonoid Miktarları.....	74
4.2. GK ve GK/KS Uçucu Yağ Analiz Analiz Sonuçları.....	77
4.3. YBSK ile Fenolik Asit Miktar Tayini.....	83
4.4. YBSK ile Hiperisin ve Psödohiperisin Miktar Tayini.....	84
4.5. Antioksidan Aktivite Tayini.....	87
4.5.1. DPPH• üzerinden radikal süpürücü etki.....	87
4.5.2. ABTS⁺ radikal katyon renksizleştirme kapasitesi.....	89
4.5.3. Metal iyonlarını şelatlama kapasitesi.....	91
4.5.4. Redükleyici güç tayini.....	93
4.6. AChE ve BChE İnhibitör Aktivite	94
4.7. Antimikrobiyal Aktivite.....	97
4.8. Sitotoksik Aktivite.....	99
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	102
KAYNAKÇA.....	112

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Çalışılan türlerin ekstre verimleri ile toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarları.....	76
Çizelge 4.2 <i>H. thymopsis</i> ve <i>H. perforatum</i> uçucu yağlarında GK-KS/AID yöntemi ile tayin edilen bileşenler.....	77
Çizelge 4.3. <i>H. thymopsis</i> ve <i>H. perforatum</i> uçucu yağlarının GK-KS/AID yöntemi ile tayin edilen uçucu bileşen grupları.....	81
Çizelge 4.4. Ekstrelerin ters-faz YBSK ile tespit edilen fenolik asit miktarları.....	84
Çizelge 4.5. Ekstrelerin ters-faz YBSK ile tespit edilen hiperisin ve psödohiperisin miktarları.....	86
Çizelge 4.6. Ekstrelerin % DPPH• inhibisyon değerleri.....	86
Çizelge 4.7. Ekstrelerin % ABTS ⁺ inhibisyon değerleri.....	89
Çizelge 4.8. Ekstrelerin metal şelatlama kapasitesi (% inhibisyon).....	92
Çizelge 4.9. Ekstrelerin redükleyici güç ölçümü.....	93
Çizelge 4.10. Ekstrelerin ve referans bileşiklerin AChE ve BChE enzimlerine karşı 250 µg/mL konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri.....	95
Çizelge 4.11. Antibakteriyel aktivite sonuçları.....	98
Çizelge 4.12. Antifungal aktivite sonuçları.....	98

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1. <i>Hypericum thymopsis</i> Boiss. (Kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN).....	7
Görsel 3.1. <i>H. thymopsis</i> Boiss. çiçekte (Kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN)	57
Görsel 3.2. Rotavapor	61
Görsel 3.3. Clevenger apareyi.....	62
Görsel 4.1. <i>H. thymopsis</i> Boiss. çiçek açmadan önce (Kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN)	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Hiperisin ve Psödohiperisin.....	9
Şekil 2.2. Hiperforin ve Adhiperforin.....	14
Şekil 2.3. Kersetin, Kersitrin, İzokersitrin, Hiperozit.....	21
Şekil 2.4. I3, II8-biapigenin ve amentoflavon (I3', II8 biapigenin).....	28
Şekil 2.5. Proantosiyanidin.....	29
Şekil 2.6. Klorojenik asit, kafeik asit, <i>p</i> -kumarik asit.....	30
Şekil 4.1. Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	75
Şekil 4.2. Rutin standardı kalibrasyon eğrisi.....	75
Şekil 4.3. <i>H. thymopsis</i> 'den elde edilen uçucu yağın GK-KS/AID kromatogramı.....	81
Şekil 4.4. <i>H. perforatum</i> 'dan elde edilen uçucu yağın GK-KS/AID kromatogramı.....	81
Şekil 4.5. Hiperisin standardı kalibrasyon eğrisi.....	85
Şekil 4.6. Psödohiperisin standardı kalibrasyon eğrisi.....	85
Şekil 4.7. Ekstrelerin % DPPH• inhibisyon grafiği.....	88
Şekil 4.8. Ekstrelerin % ABTS ⁺ inhibisyon grafiği.....	91
Şekil 4.9. Ekstrelerin metal şelatlayıcı aktiviteleri.....	92
Şekil 4.10. Ekstrelerin redükleyici güç tayini.....	94
Şekil 4.11. Ekstrelerin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz % inhibisyon değerleri.....	96
Şekil 4.12. Siklofosfamid Caco-2 üzerindeki etkisi.....	100
Şekil 4.13. Siklofosfamid 3T3 üzerindeki etkisi.....	100
Şekil 4.14. HT%70ME'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon.....	100
Şekil 4.15. HP%70ME'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon.....	100
Şekil 4.16. HTİNF'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon.....	101
Şekil 4.17. HPİNF'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon.....	101
Şekil 4.18. HT%70ME'nin 3T3 % canlılık-konsantrasyon.....	101
Şekil 4.19. HP%70ME'nin 3T3 % canlılık-konsantrasyon.....	101
Şekil 4.20. HTİNF'in 3T3 % canlılık-konsantrasyon	101
Şekil 4.21. HPİNF'in 3T3 % canlılık-konsantrasyon.....	101

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS ^{•+}	2,2-Azino-bis-(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit) radikali
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ALS	Amiyotrofik Lateral Skleroz
ATC	Asetiltiyokolin iyodür
BChE	Butirilkolinesteraz
BTC	Bitiriltiyokolin iyodür
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
C6	Sıçan Glioma
CUPRAC	Cu (II)'Nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi
DAD	Diyot Dizi Dedektörü
DPPH [•]	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
DTNB	5-5'-bisditiyonitrobenzoik asit
EC ₅₀	%50'sini inhibe eden konsantrasyon
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FA	Ferulik Asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi
GA	Gallik asit
GABA	Gama Amino Bütirik Asit
GK-KS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
GSH	Glutatyonda azalma
Hep3B	İnsan Hepatomu
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HP%70ME	<i>H. perforatum</i> 'un %70 metanollü ekstresi
HPEA	<i>H. perforatum</i> 'un etil asetat ekstresi
HPHE	<i>H. perforatum</i> 'un hegzan ekstresi
HPHP	<i>H. perforatum</i> 'un metanol ekstresi
HPİNF	<i>H. perforatum</i> 'un infüzyonu

HPLC-ESI-MS	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi
HPME	<i>H. perforatum</i> 'un metanol ekstresi
HPSU	<i>H. perforatum</i> 'un su ekstresi
HPUY	<i>H. perforatum</i> 'un uçucu yağı
HT%70ME	<i>H. thymopsis</i> 'in %70 metanollü ekstresi
HTEA	<i>H. thymopsis</i> 'in etil asetat ekstresi
HTHP	<i>H. thymopsis</i> 'in metanol ekstresi
HTİNF	<i>H. thymopsis</i> 'in infüzyonu
HTME	<i>H. thymopsis</i> 'in metanol ekstresi
HTSU	<i>H. perforatum</i> 'un su ekstresi
HTUY	<i>H. thymopsis</i> 'in uçucu yağı
IPF	İdiyopatik Pulmoner Fibroz
KA	Kafeik Asit
KLA	Klorojenik Asit,
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
MAO	Mono aminoksidaz
MDR	Çoklu ilaç direnci
MeOH	Metanol
mgGAE	mg gallik asite eşdeğer
mgRE	mg Rutine eşdeğer
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	Metisiline Dirençli <i>S. aureus</i>
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NMDA	N-Metil-D-Aspartik Asit
NMR	Nükleer manyetik rezonans
<i>o</i> -KU	<i>orto</i> -Kumarik
protoKA	Proto-kateşik Asit
<i>p</i> -KU	<i>para</i> -Kumarik Asit,
<i>p</i> -OH-BA	<i>para</i> -Hidroksi Benzoik Asit
Rt	Tutunma zamanı
Sİ	Sirinjik Asit
SOD	Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

SPD	Fotodiyot Dizisi Dedektörü
SS	Standart Sapma
SSRI	Seçici Serotonin Geri Alım
TBARS	Tiyobarbitürik Asitle Reaktif Madde
TCA	Trikloroasetik Asit
TRPC6	Geçici Reseptör Protein Kanonik Kanal 6
tr-SİN	Trans Sinnamik Asit
USA	Amerika Birleşik Devletleri
VA	Vanillik Asit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YBSK	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihi kadar eskidir. İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek, sağlık sorunlarını gidermek, sağlıklı yaşayabilmek için deneme yanılma yoluyla edinilmiş ve uzun bir zaman süreci sonucunda nesilden nesile aktararak süregelen bilgilerle bitkilerin tedavi edici gücünden yararlanmışlardır.

1850'lerin ikinci yarısından itibaren kimya biliminin gelişmesi, tıbbi tedavide yeni boyutların ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Sanayi devrimi, ilaç sektörünün gelişmesine, ilaçların mahiyetinin ve bitkisel ilaçların tedavideki yerinin değişmesine, özellikle 1990'lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmıştır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Bu dönemde WHO, modern tıba destek olacak şekilde, gelişmekte olan ülkelerde bitkisel ve geleneksel tedavi yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması ve standardizasyonu için çeşitli çalışmalar başlatmıştır. 1981-2006 arasında yeni geliştirilen ilaçların kökenlerine bakıldığında %32'sinin doğal ya da yarı sentetik olduğu, %17'sinin de sadece doğal ürünler esas alınarak geliştirildiği görülmektedir. Bu durum, yeni geliştirilen ilaçların neredeyse yarısında doğal kaynakların baz alındığını göstermektedir (Harvey, 2008).

Zengin bitki çeşitliliğine sahip olan ülkemizde bitkilerin etnobotanik kullanımları çok eski tarihlere dayanmaktadır. Çukurova bölgesinde yaşamış olan Dioscorides tarafından 1. yüzyılda yazılan "De Materia Medica" adlı eserde 500 kadar tıbbi bitkinin tanımı verilmekte ve tedavi özellikleri anlatılmaktadır. Bu kitap Anadolu tıbbi bitkileri ile ilgili yazılmış o döneme ait en önemli kaynaktır. Türkiye'de bitkiler halk arasında gıda, şifa, yakacak, hayvansal yem, el sanatları gibi temel kullanım alanlarına sahiptir (Baytop, 1999).

Geleneksel tedavi yöntemlerinde ampirik olarak kullanılan bitkilerin, günümüzde teknolojik şartların ve bilimsel analiz imkanlarının gelişmesiyle, üzerlerinde araştırmalar yapılarak etken madde içeriklerinin ve biyolojik aktivitelerinin tespit edilebilmesi olanağı doğmuş, ayrıca bu çalışmalarla bitkilerden elde edilen ekstraktların etkinliği, kalitesi ve güvenilirliği ile ilgili bilgilere ulaşmak mümkün olmuştur. Farmakopelerde yayımlanan ayrıntılı bilgilerden ve teknolojik ilerlemelerden faydalanarak belirli bir endikasyona sahip olan bitkilerin etkili kısımları, belirli bir farmasötik formda ve dozajda ambalajlanarak eczanelerde reçeteli veya reçetesiz olarak satılabilmeleri de mümkündür.

Ancak standardize edilmiş farmasötik formlar halinde kullanıma sunulan bitkisel kaynaklı tıbbi müstahzarların içerik ve etkinliklerinin bilimsel olarak kanıtlanmış olması, doz-etki ilişkilerinin tespit edilmiş olması ve konvansiyonel ilaçlarla olan etkileşimlerinin belirlenmiş olması gereklidir (Selçuk ve Eyisan, 2012). Bunun için de bitkisel ilaçlarla ilgili, doz, standardizasyon, etken madde miktarı, kalite gibi konularda sorun yaşanmaması gerekmektedir. Son yıllarda gerek bu sorunların giderilmesi gerekse de bitkisel kaynaklı ilaçların içerikleri ve vücuttaki etkileri ile ilgili birçok deneysel ve analiz çalışmaları yapılmaktadır (Selçuk ve Eyisan, 2012).

Türkiye, zengin bitki içeriği ile oldukça fazla endemik türe sahip bir ülkedir. Bu bitki zenginliğinin 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 (Yaylacı, 2013).

Ancak doğadaki bitkisel kaynaklar aşırı kullanım, aşırı otlatma, tarla açmalar, hava ve su kirliliği; iklimsel değişiklikler gibi pek çok nedenlerle kaybolmaktadır. Bitkiler doğal ortamlarında azalmakta, uyum yetenekleri değişikliğe uğramakta, bu da endemik türler için tehlike oluşturmaktadır.

Dünyada ve Türkiye’de tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkilerin en önemlileri arasında yer alan *Hypericum* türleri Antarktika dışında dünyanın her kıtasında özellikle kuzey yarımkürede yayılış göstermektedir. *Hypericum* L. (Hypericaceae) cinsinin dünyada 500’den fazla, ülkemizde 49’u endemik, 119 türü bulunmaktadır (http-1). Dünya genelinde ve Anglo-Sakson halk tıbbında “St. John’s Wort”, ülkemizde ise “sarı kantaron, binbirdelik otu, kanotu, kılıçotu, mayasılotu, yaraotu, koyunkıran” olarak adlandırılan cinsin ofisinal türü *Hypericum perforatum* L. geleneksel ve modern tıpta dünya genelinde yaygın bir kullanıma sahiptir. Bitkinin çiçekli herbasi, dünyanın pekçok yerinde nevroz, depresyon, anksiyete ve depresyon tedavisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır (Çırak ve Kurt, 2014; Özkan vd., 2009). Ülkemizde ise geleneksel olarak dahilen ağrı kesici, yatıştırıcı, parazit düşürücü, ülser tedavi edici ve haricen yara iyi edici ve antiseptik olarak kullanımı kayıtlıdır (Baytop, 1999).

Literatürde çeşitli *Hypericum* türleri ile ilgili çok sayıda fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları bulunmaktadır. Çeşitli *Hypericum* türlerine ait toprak üstü kısımlarında hazırlanan ekstraktlarda hiperisin ve psödohiperisin (Bagdonaitz vd., 2010; Gadzovska vd., 2005; Huang vd., 2011; Li vd., 2014; Öztürk vd., 2007; Saddiqe vd., 2010; Smelcerovic vd., 2006; Wang vd., 2010), hiperforin (Çırak vd., 2008; Dresler vd.,

2018; Filippini vd., 2010; Huang vd., 2011; Orhan vd., 2013; Sakavitsi vd., 2017; Sarrou vd., 2018; Tusevski vd., 2018), adhiperforin (Alali ve Tawaha, 2009; Çırak vd., 2014; Rusalepp vd., 2017), I3, II8-biapigenin (Ahmet Çakır vd., 2003; Kırmızıbekmez vd., 2009; Mathioudaki vd., 2018; Napoli vd., 2018; Zdunić vd., 2011), kersetin (Ahmet Çakır vd., 2003; Dresler vd., 2018; Hosni vd., 2011; Kırmızıbekmez vd., 2009), rutin (Bagdonaite vd., 2012; Hosni vd., 2011; Rusalepp vd., 2017; Sagratini vd., 2008). Kersetin-3-O-rutinozit (Huang vd., 2011; Napoli vd., 2018; Orhan vd., 2013; Sagratini vd., 2008; Zdunić vd., 2011), epikateşin (Jabeur vd., 2016), hiperosit, (Bagdonaite vd., 2012; Filippini vd., 2010; Sagratini vd., 2008), klorojenik asit (Dresler vd., 2018; Rusalepp vd., 2017; Sagratini vd., 2008) tespit edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmaları genellikle halk arasında kullanımlardan yola çıkılarak yapılmıştır. Kaynaklarda bazı *Hypericum* türleri ile ilgili antioksidan aktivite (Bagdonaite vd., 2012; Eroğlu Özkan vd., 2018; Heydarian vd., 2017; Napoli vd., 2018; Orčić vd., 2011; Radulović vd., 2007), antibakteriyel aktivite (Del Monte vd., 2015; Duan vd., 2018; Heydarian vd., 2017; Önem ve Çevikbaş, 2018; Tusevski vd., 2018), antikanser (Ari vd., 2017; A. Ferraz vd., 2005; Hostanska vd., 2003; Hu vd., 2017; Sakavitsi vd., 2017; Skalkos vd., 2005), antidepresan (Can vd., 2009; Cervo vd., 2002; Çırak ve Kurt, 2014; Rodríguez-Landa ve Contreras, 2003) anti-kolajenaz aktivite (Mandrone vd., 2015) çalışmaları bulunmaktadır.

Tez konumuzu oluşturan Hypericaceae familyasına ait *Hypericum thymopsis* Boiss. Kahramanmaraş, Kayseri, Kastamonu, Malatya ve Sivas illerinde kalkerli bozkır bölgelerinde yetişen ülkemiz için endemik bitkidir. Bitkinin çiçeklenme aşamasında toplanan toprak üstü kısımları halk arasında yara iyileştirici ve sedatif olarak; infüzyonu ise midevi ve boğaz enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır (Tekin, 2017).

H. thymopsis konusunda şimdiye kadar yapılan birkaç uçucu yağ çalışması ile 2009 yılında yapılan doktora tezi ve 2019 yılında yapılmış bir yüksek lisans tezi bulunmaktadır. Beş endemik *Hypericum* türünün (*H. uniglandulosum* Hausskn. Ex Bornm., *H. scabroides* Robson and Poulter, *H. kotschyianum* Boiss., *H. salsugineum* Robson and Hub.-Mor. ve *H. thymopsis* Boiss.) uçucu yağlarının incelendiği çalışmada α -pinen ana bileşik olarak tespit edilmiştir. Bronkodilatör, antiinflamatuvar, bakterisit, bakteriyostatik ve anti-asetilkolinesteraz etkilere sahip α -pinen, bitkinin halk arasında infüzyonun mide rahatsızlıkları ve enfeksiyon kaynaklı boğaz ağrılarını tedavi edici etkisini doğrulamaktadır (Eroğlu Özkan vd., 2013).

Başka bir çalışmada ise *H. thymopsis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın bileşimi GK/KS ile analiz edilmiş, ana bileşen olarak, spatulenol (%10,8) bulunurken, diğer bileşenler ise δ -kadinen (%7,1), germakren D (%6,1), γ -muurolen (%5,9), 2,3,6-trimetilbenzaldehyd (%5) ve γ -kadinen (%4,4) olarak sıralanmıştır, ayrıca uçucu yağın seskiterpen hidrokarbonlar açısından zengin olduğu sonucuna varılmıştır (Özkan vd., 2009). *H. thymopsis*'in çiçekli örneklerinden elde edilen uçucu yağlarında toplam 49 bileşen saptanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri α -pinen (%29,31), limonen (%7,15), germakren D (%6,94), bisiklogermakren (%5,95), δ -kadinen (%4,59) ve spatulenol (%4,69) olarak tespit edilmiştir (Yüce, 2009).

2019 yılında Koç tarafından başarıyla tamamlanan yüksek lisans tezinde ise *H. thymopsis*'in morfolojik özellikleri, bazı uçucu ve fenolik bileşiklerinin yanı sıra antioksidan kapasitesi (DPPH• ve ABTS•⁺ ile) çalışılmış, uçucu yağın ana bileşenleri α -pinen, spatulenol ve limonen; ayrıca yaprak metanol ekstresinde rutin (7,04 mg/kg), kersetin (4,46 mg/kg), çiçek metanol ekstresinde ise hiperisin (1,99 mg/kg), rutin (11,213 mg/kg) ve kersetin (4,250 mg/kg) olarak tespit edilmiştir (Koç, 2019).

Bu çalışmalardan başka, literatürde *H. thymopsis* hakkında daha fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, ülkemiz için endemik *H. thymopsis*'in uçucu ve bazı polar bileşiklerinin miktarları ile farklı polaritedeki ekstralarının toplam fenolik miktarları ve ayrıca antiradikal (DPPH• üzerinde), antioksidan (ABTS•⁺ ve metal şelatlama yöntemleri, redükleyici güç kapasitesi ile), antikolinesteraz (ACE ve BCE enzim inhibisyonu ile), sitotoksik ve antimikrobiyal aktiviteleri tayin edilmiş, sonuçlar *Hypericum* cinsinin ofisinal türü *H. perforatum*'dan aynı yöntemlerle elde edilen ekstralar ile karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Dünyanın farklı coğrafyalarında, özellikle kuzey yarımkürede yayılış gösteren Hypericaceae familyasına ait *Hypericum* cinsi, dünyada 500'den fazla, ülkemizde ise 49'u endemik, 119 tür ile temsil edilmektedir (http-1). Bu cinsin dünyada en çok bilinen ve kullanılan ofisinal türü *H. perforatum* L. tüm Dünya'da St. John's Wort, Türkiye'de ise "sarı kantaron, binbirdelik otu, kanotu, kılıçotu, mayasılotu, yaraotu, koyunkıran, batof" adlarıyla, uzun yıllardan beri kullanılan tıbbi bir bitkidir (Akgöz, 2013).

Hypericum türleri çok farklı tıbbi özellikleri nedeniyle, geleneksel tıpta sıkça kullanılmaktadır. Başta *H. perforatum* olmak üzere bazı *Hypericum* türleri, doğal kaynaklı bazı aktif farmasötik bileşenlerin kaynağı olarak kullanılmaları nedeniyle büyük ekonomik öneme sahiptirler (Hosni vd., 2010). Bu bitkinin bitkisel endüstride yüksek ekonomik değere sahip olması, hem *H. perforatum*'un hem de diğer *Hypericum* türlerinin üzerinde daha fazla klinik, farmakolojik, biyokimyasal ve farmakokinetik çalışma yapılmasına yol açmıştır (Çırak ve Kurt, 2014).

Hypericum türlerinin biyoaktiviteleri, temel olarak floroglusinol türeviden olan hiperforin ve adhiperforin, naftodiantron türeviden olan hiperisin ve psödohiperisine, hiperozit, rutin, kersitrin, kersetinflavonoitlerine ve kateşin, epikateşin gibi flavanollere ve kafeik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit ve 2,4-dihidroksibenzoik asit gibi bazı fenolik asitlere atfedilmiştir (Camas vd., 2014).

2.1. *Hypericum* Türlerinin Genel Özellikleri

Hypericum L. cinsi, Antarktika hariç, dünyanın her kıtasında doğal olarak yetişmektedir. Ancak Güney Amerika'da yalnızca bir türü, Avustralya ve Yeni Zelanda'da iki türü bulunmaktadır. Bu bitkiler, ılıman, tropik bölgelerde, yüksek dağlarda, sadece aşırı kurak, sıcak ve tuzlu bölgelerden kaçınarak çeşitli habitatlarda yetişmektedir (Crockett ve Robson, 2011; Ernst, 2003).

Hypericum türleri Haziran'dan Eylül ayına kadar çiçeklenebilen, boyları 1 metreye kadar uzayan, genellikle otsu, bazen çalı şeklinde bitkilerdir. Yaprak veya çiçekleri hiperisin içeren siyah ya da kırmızı guddeli (glandlı) veya uçucu yağ içeren şeffaf renkli guddelidir. Yaprakları karşılıklı ya da dairesel dizilişli, nadiren alternat; basit ve stipulasızdır. Petaller 5 adet ya da daha çok, serbest, tomurcukta burulmuş haldedir. Sepaller 5 adet ya da daha çok, tomurcukta imbrikat dizilişlidir. Stamenler demetler halinde veya çok sayıdadır. Ovaryum üst durumlu, plasenta eksensel veya yanal şekilde, tohumları endospermasızdır (Crockett ve Robson, 2011). Meyveleri genellikle kapsula,

nadiren bakka ya da drupadır ve diğer bazı Hypericaceae üyelerinin aksine, kapsül şeklindedir ve apeksten ayrılmıştır. Olgunlaştığı zaman, kapsül etli veya kuru olabilir, dış yüzeyde çok çeşitli şekil ve detaylarda özel uzun veya delikli bezlere sahiptir. Ovaryum, her birinde 2 veya daha çok tohum taslağı (3-5 adet) serbest veya bazen bitişik olabilir. *Hypericum* tohumları küçüktür (0,3-1,5 mm uzunluğunda), sarımsı-kahverengi ile koyu mor-kahverengi, silindirikten elips şekline doğrudur (Karakaş, 2005).

Hypericum türlerinde bulunan “siyah” ve “şeffaf” bezler olarak adlandırılan iki farklı tip salgı cebi tanımlanmıştır. İlk tip, naftodiantron (hiperisin ve/veya psödohiperisin) içeriğini belirten siyah ile kırmızımsı bir renklenme gösteren özelleşmiş hücre kümeleri ile karakterizedir. Bu glandların büyüklüğü ve sayısı, naftodiantronların içeriği ile doğru orantılıdır. Bu glandları içeren dokular parmaklar arasında ezildiğinde, salınan naftodiantronlar folklorik geleneğe göre bitkiyi sihirli koruyucu güçlerle birleştiren kırmızı bir leke vermektedir. Rengi berrak kehribar rengi olan ikinci bez türü (şeffaf bezler) aslında uçucu yağ bileşenlerini salgılayan basık hücreler ve hiperforin gibi floroglusinol türevleri ile kaplı şizogen hücreler arası boşluktan oluşmaktadır. Bu bezler, yapraklar güneşe tutulduğunda ışık noktaları veya çizgiler şeklinde görünmektedirler. Glandlar yaprak, sepal, petallerin üzerinde ya da kenarında bulunmaktadırlar (Crockett ve Robson, 2011).

Bitkinin çiçekli dalları ve gövdesi “Hyperici herba” drogu olarak bilinmektedir. Avrupa Farmakopesi’nde, sarı kantaron herbası (Hyperici herba) ve ayarlı sarı kantaron kuru ekstresi (Hyperici herbae Extractum Siccum Quantificatum) kayıtlıdır (European Pharmacopoeia, 2005). *H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarına ait sulu ekstraların idrar yolları, inflamasyonlar, diyabet, nevralsi, kalp hastalıkları, gastrit, hemoroid ve peptik ülserle karşı halk arasında kullanımının olduğu bildirilmiştir (Süntar vd., 2010). 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 uygulanmaktadır (World Health Organization, 2002).

2.1.1. *Hypericum thymopsis* Boiss.

Genellikle “Darende kantaronu” olarak bilinen bitki, Türkiye’ye endemik, İran-Turan elementidir. Bitkinin doğal olarak yetiştiği bölgeler şu şekildedir: Kayseri (Aslan Da.), Malatya (Darende üzeri), Kahramanmaraş (Elbistan-Darende arası), Sivas: (Böğrüdelik-Kangal arası). Kalkerli tepe kenarları veya lavların olduğu bölgelerde

yetişen bitkinin çiçeklenme dönemi Haziran, Temmuz aylarıdır (Görsel 2.1) (Tekin, 2017).



Görsel 2.1. *Hypericum thymopsis* Boiss. (Kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN)

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 tepelikli, 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 (Tekin, 2017).

Yapılan etnobotanik çalışmalarda, halk tarafından bitkinin toprak üstü kısımlarının yara iyileştirici ve sedasyon amacıyla kullanıldığı; infüzyon veya dekoksasyon şeklinde hazırlanan bitki çayının mide rahatsızlıklarında ve enfeksiyon kaynaklı boğaz ağrılarının giderilmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Tekin, 2017).

Özkan (2009) tarafından yapılan çalışmada, *H. thymopsis*'in toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyi ile elde edilen uçucu yağının kimyasal bileşimi GK-KS/AID tekniği ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda uçucu yağın %82,4'ünü oluşturan

72 bileşik teşhis edilmiştir. Uçucu yağın ana bileşikleri; spatulenol (%10,8), δ -kadinen (%7,1), germakren D (%6,1), γ -muurolen (%5,9), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%5) ve γ -kadinen (%4,4) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin içerdiği bileşikler, diğer *Hypericum* türleriyle karşılaştırılmıştır (Özkan vd., 2009).

Başka bir çalışmada, *H. thymopsis*'in çiçekli örneklerinden elde edilen uçucu yağlarında toplam 49 bileşen saptanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri α -pinen (%29,31), limonen (%7,15), germakren D (%6,94), bisiklogermakren (%5,95), δ -kadinen (%4,59) ve spatulenol (%4,69) olarak tespit edilmiştir (Yüce, 2009).

Özkan vd. (2013) tarafından Türkiye'de endemik olarak bulunan beş *Hypericum* türünün uçucu yağlarının incelendiği çalışmada, beş tür arasından *H. thymopsis* uçucu yağının ana bileşeni α -pinen olarak tespit edilmiştir. α -Pinen, bronkodilatör, antienflamatuar, bakterisid, bakteriostatik ve anti-asetilkolinesteraz etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Başka bir çalışmada, alüminyum elementinin nörotoksik etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneylerde *H. thymopsis* türünün etkin olabileceği kanıtlanmıştır (Douichene vd., 2016; Eroğlu Özkan vd., 2013).

2.2. *Hypericum* Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri

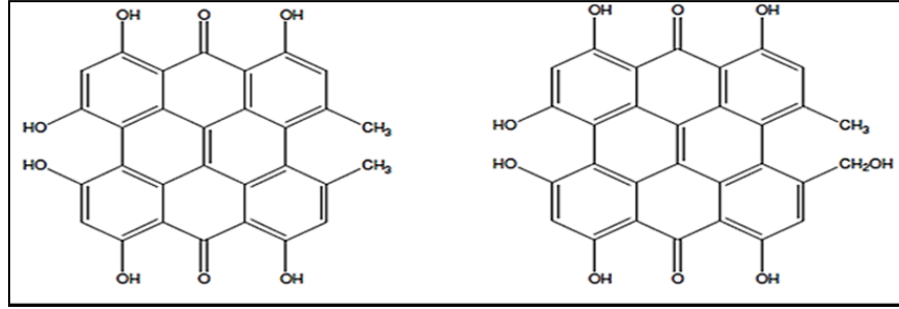
Hypericum türlerinin içeriğinde birbirinden farklı ve kompleks yapıda, biyolojik olarak etkili çok sayıda bileşik bulunmaktadır. Bu aktif bileşenler dolayısıyla uzun yıllardır geleneksel ve modern tıpta çeşitli amaçlarla kullanılan bitkilerin, özellikle en yaygın olarak kullanılan tür olan *H. perforatum* türünün kimyasal yapısının aydınlatılması için geçmişten günümüze çok sayıda çalışma yapılmıştır (Orčić vd., 2011).

Hypericum türlerinin ana aktif bileşenleri, hiperisin, izohiperisin, psödohiperisin, protohiperisin, protopsödohiperisin, siklopsödohiperisin ile hiperforin ve adhiperforin dâhil prenillenmiş floroglusinollerini içeren antrakinonlardan oluşmaktadır. Bitkide ayrıca kaempferol, kersetin, luteolin, hiperosit, izokersitrin, kersitrin ve rutin içeren flavonoidler; kateşin ve epikateşin içeren flavanoller ile birlikte biapigenin ve amentoflavon içeren biflavonoidlerde mevcuttur. Uçucu yağında bulunan diğer polifenolik bileşenler arasında, kafeik ve klorojenik asitler ve metil-2-oktan yer almaktadır (Camas vd., 2014; Tatsis vd., 2007).

2.2.1. Naftodiantronlar

Naftodiantronlar, yaprak ve çiçeklerdeki delik görünümlü guddelerde bulunan ve bitkinin yağına kırmızı rengini veren bileşenlerdir. Bu bileşenler büyükbaş hayvanlarda fazla yenildiğinde, "hiperisizm" olarak adlandırılan deride güneş ışığına karşı hassasiyete

neden olmaktadır (Başer, 2007). *Hypericum* türlerinde en fazla bulunan naftodiantronlar “hiperisin” ve “psüdohiperisin”dir (Şekil 2.1). Psödohiperisin, türe bağlı olarak, hiperisinden 2-4 kat daha yüksek seviyelerde bulunabilir. Bu bileşiklerin yanında diğer naftodiantron türevleri olan izohiperisin ve siklopsödohiperisinin varlığı da bildirilmiştir (Yetkin, 2008).



Şekil 2.1. Hiperisin ve Psödohiperisin

Hiperisin, bitkinin sahip olduğu birçok farmakolojik etkiden sorumlu ana bileşendir. Antidepresan, antiviral, antitümöral, anksiyolitik, anti-proliferatif etkilere sahiptir. 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 hematoporfirinlere göre daha yüksek temizleme oranı gibi spesifik özellikleri vardır. Hiperisin, ışığa duyarlı hale getirici bileşen olduğu için fotodinamik kanser tedavisinde ışığa duyarlılaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Psödohiperisinin fototoksik etkisi bulunmamaktadır (Vandenbogaerde vd., 1998).

Hiperisin ile farklı kanser hücre modellerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Ovaryum kanseri tedavisinde sıçanlarda yapılan bir çalışmada etkinliği görülmüş, mesane kanseri tedavisinde yüksek hassasiyet ve spesiflik gösterdiği belirlenmiştir (Zeisser-Labouèbe vd., 2006). *H. perforatum* ekstresi içerisindeki hiperisin ve hiperforinin prostat kanseri üzerindeki sitotoksik aktivitesine bakılan bir çalışmada ise bitki ekstresinin kanser hücrelerinin büyümesini engellediği ve apoptozise neden olduğu görülmüştür (Martarelli vd., 2004).

Hiperisin, son dönemlerde yoğun biyokimyasal araştırmalara konu olmuş, ilaç ve tıbbi uygulamalarda çok işlevli bir etken madde olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalar, hiperisinin antidepresif, antineoplastik, antitümör ve antiviral (hepatit C virüsüne karşı ve immün yetmezlikte) aktivitelerini göstermiştir (Kubin vd., 2005).

Hiperisin'in antidepresan etki mekanizmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda sentetik antidepresanlardan mono aminoksidaz (MAO) inhibitörü ve seçici serotonin geri alım (SSRI) inhibitörlerine benzer bir mekanizmayla etki gösterdiği gözlenmiştir (Bennett vd., 1998). Ayrıca hem hiperisin hem de psödohiperisin, protein kinaz C'yi inhibe etmekte ve memeli hücrelerine karşı antiproliferatif etki göstermektedirler. Protein kinaz C ile fosforilasyonununinhibe edilmesi, memeli hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteyi açıklamaktadır (Altan vd., 2015). Hiperisin ve psödohiperisinin, İnfluenza virüsü, Herpes simpleks virüsü ve HIV virüsü gibi retroviral enfeksiyonları inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu maddelerin antiretroviral etkinliğinin hücrelerin viral enfeksiyon sırasında protein kinaz C ile fosforilasyonunun inhibisyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir (Takahashi vd., 1989). Hiperisin ayrıca süperoksit dismutaz aktivitesini artırır, hücresel glutasyon seviyesini azaltır, membran lipid peroksidasyonunu indükler ve mitokondriyal fonksiyonların zayıflamasına neden olur (Hadjur vd., 1996; Utsumi vd., 1995).

Hiperisin ve psödohiperisin, ham bitki materyalinin çiçek ve yapraklarında kuru ağırlıkça %0,03 ile %0,3 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Konsantrasyon oranları, bitkinin gelişim aşamasına bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Naftodiantronların hemen hemen tüm çözücülerde çözünürlüğü sınırlıdır. Hem hiperisin hem de psödohiperisin, oda sıcaklıklarında suda çözünmez, ancak daha yüksek sıcaklıklarda çözünürlükleri artar (Saddiqe vd., 2010).

Hiperisin hazırlamak için uygulanan yöntem, emodinantrokinonunun oksidatif dimerizasyonunu ve ara protohiperisinin, görünür ışıkla ışınlama yoluyla hiperisine dönüştürülmesini içerir. Hiperisin bu doğal kaynaktan, kimyasal olarak saf halde H. Brockmann tarafından 1942 yılında izole edilmiştir. Hiperisin doğada her zaman kimyasal olarak ilişkili bileşik psödohiperisin eşliğinde ortaya çıkmaktadır. Bitkisel materyalden saf halde hiperisin elde edilmesindeki ana zorluk, kendisine eşlik eden psödohiperisin ile ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Hiperisin genellikle birçok organik çözücüde çözünmez. Hiperisin pH 11,5'in altındaki alkali sulu çözeltilerde kırmızı, pH 11,5'in üzerinde ise yeşil renk verecek şekilde çözünür (Hişil vd., 2005).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının etanollü (Huang vd., 2011), %50 etanollü (Öztürk vd., 2007), metanollü (Gadzovska vd., 2005) ekstraktlarında hiperisin ve psödohiperisin tespit edilmiştir.

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 metanol ekstresinde hiperisin (Sarrou vd., 2018), *H. perforatum* ve *H. annulatum*'un sap ve yapraklarından

hazırlanan %80 metanol ve %60 etanol ekstralarında hiperisinler tespit edilmiştir (Dresler vd., 2018). *H. perforatum*'un çiçek tomurcuklanmasında ve tam çiçeklenme aşamalarındaki metanollü ekstralarında hiperisin, protohiperisin, psödohiperisin, protopsödohiperisin tespiti yapılmıştır (Bagdonaite vd., 2010). *H. perforatum*'un zeytinyağında masere edilmiş örneklerinde hiperisin ve psödohiperisin YBSK-DAD ile tespit edilmiştir (Orhan vd., 2013).

Makedonya da yetişen *H. perforatum*'un kökleri, çiçek olmayan sürgünleri ve çiçekli sürgünlerinin metanol ekstraları incelenmiş psödohiperisin sadece çiçekli kısımda, hiperisin köklerin dışında diğer bölümlerde, protopsödohiperisin ise sadece çiçekli kısımda tespit edilirken, köklerde ksantonlara rastlanmıştır (Tusevski vd., 2018).

Çırak vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin beş farklı bölgesinde yetişen yabani *H. lyidium* Boiss.'de hiperisin ve psödohiperisin, floroglusinol türevleri hiperforin ve adhiperforin, fenolik asitlerden klorojenik asit, neoklorojenik asit ve 2,4-dihidroksibenzoik asit flavonollerden hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kersetin, avikularin, rutin, (+)-kateşin ve (-)-epikateşin ve biflavonoid amentoflavon içerikleri ilk kez araştırılmıştır. Popülasyonlar ve bitkinin kısımları arasındaki kimyasal çeşitliliğin, muhtemelen farklı çevresel, morfolojik ve genetik faktörlerin sonucu olduğu tartışılmıştır (Çırak vd., 2015).

Ayan vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'de yetişen *H. heterophyllum* Vent, *H. hyssopifolium* L., *H. linarioides* Bosse, *H. monbretii* Spach, *H. orientale* L., *H. organifolium* Willd., *H. perforatum* L., *H. scabrum* L., ve *H. triquetrifolium* Turra türlerinin gövde, yaprak ve çiçeklerinde hiperisin ve psödohiperisin içeriği YBSK ile belirlenmiştir. *H. heterophyllum* haricinde çalışılan tüm türlerde hiperisin ve psödohiperisin tespit edilmiştir (Ayan ve Çırak, 2008).

H. perforatum var. *perforatum*, *H. perforatum* var. *angustifolium*, *H. tetrapterum*, *H. hirsutum*, *H. hyssopifolium*, *H. richeri*, *H. Androsaemum* ve *H. montanum* türlerinde (Maggi vd., 2004) ve *H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *angustifolium*, *H. perforatum* subsp. *veronense*'nin yaprak ve çiçeklerinin metanollü ekstresinde (Filippini vd., 2010), ayrıca *H. montanum*, *H. hyssopifolium*, *H. hirsutum*, *H. hircinum* subsp. *majus*, *H. tetrapterum* türlerinin metanol-aseton (1:1, h/h) ekstresinde (Sagrattini vd., 2008), *H. androsaemum* ve *H. perforatum* topraküstü kısımlarının sulu ekstresinde (Hernandez vd., 2010), Ürdün'de yetişen *H. empetrifolium* Willd., *H. sinaicum* Hochst. & Steud. Ex Boiss ve *H. triquetrifolium* Turra türlerinin toprak üstü

kısımlarının metanollü ekstrelerinde (Tawaha vd., 2010), *H. aviculariifolium*, *H. perforatum* ve *H. pruinatum*'un çiçek tomurcuğu, tam çiçeklenme, taze meyve ve olgun meyve aşamalarında toplanan kısımlarının metanollü ekstrelerinde (Çırak vd., 2006) hiperisin tespit edilmiştir.

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden psödohiperisin ve hiperisin tespit edilmiş, saklama sırasında zamanla her iki bileşiğin ekstredeki miktarlarının azaldığı kanıtlanmıştır (Koyu ve Haznedaroğlu, 2015). *H. scabroides*'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinde eser miktarda (Mansour vd., 2014), *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum*'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinde (Eroğlu Özkan vd., 2018), *H. capitatum* var. *capitatum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. retusum*, *H. spectabile*, *H. elongatum* var. *elongatum*, *H. salsolifolium* türlerinin yaprak, çiçek ve köklerinin metanol ekstrelerinde (Çırak vd., 2016), *H. triquetrifolium* kallus kültürlerinin metanol ekstrelerinde (Azeez vd., 2017), *H. montbretii*'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde (Çırak vd., 2014) hiperisin ve psödohiperisin varlığı rapor edilmiştir.

Estonya'da yetişen *H. perforatum* ve *H. maculatum*'un 2010 ve 2011 Haziran-Ağustos döneminde toplanan toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin farklı oranlarda hiperisin, psödohiperisin, protopsödohiperisin taşıdığı vurgulanmıştır (Rusalepp vd., 2017). Sakavitsi (2017) tarafından yapılan çalışmada *H. perforatum*, *H. rumeliacum*, *H. triquetrifolium*'un metanollü ekstreleri YBSK-DAD ile kromatografik olarak incelenmiş, *H. triquetrifolium*'da hiperisin, protohiperisin ve protopsödohiperisin ve psödohiperisine rastlanırken, diğer iki türde ise sadece psödohiperisin gözlenmiştir (Sakavitsi vd., 2017).

Çiçeklenme döneminde toplanan *H. aegypticum* L., *H. montanum* L., *H. perfoliatum* L., *H. perforatum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. tetrapterum* Fr.'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinde hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin, protopsödohiperisin, *H. hircinum*'da hiperisine; *H. patulum*'da ise hiperisin ve psödohiperisine eser miktarda rastlanmıştır (Napoli vd., 2018).

H. annulatum, *H. athoum*, *H. delphicum*, *H. elegans*, *H. erectum*, *H. humifusum*, *H. maculatum*, *H. olympicum*, *H. perforatum*, *H. rumeliacum*, *H. tetrapterum*, *H. tomentosum* türlerinin yapraklarından hazırlanan etanol: metanol: aseton (1:1,1 h/h/h) ekstreleri arasında en fazla hiperisin içeren ekstrenin *H. humifusum* türüne ait olduğu görülmüştür (Kimáková vd., 2018).

H. perfoliatum ve *H. origanifolium* türlerinin vejetatif, çiçek tomurcuğu, çiçeklenme, taze meyve ve olgun meyve aşamalarında hasat edilmiş ve kök, yaprak ve üreme dokularına ayrılarak %96 etanollü ekstrelerde psödohiperisin tespit edilmiştir (Çırak vd., 2008).

Tunusta yetişen *H. triquetrifolium* Turra'nın vejetatif, tam çiçeklenme ve meyve verme dönemlerinde toplanan toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin, protopsödohiperisin tespiti yapılmıştır (Hosni vd., 2011).

H. barbatum, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. rumeliacum*, *H. tetrapterum* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstralarında hiperisin ve psödohiperisin tespiti yapılmıştır (Smelcerovic vd., 2006).

Türkiye'de yetişen endemik *H. capitatum* Choisy var'ın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden (Boga vd., 2016) ve *H. venustum*'un çiçeklerinin etanollü ve sulu ekstralarında hiperisin ve psödohiperisin tespiti yapılmıştır (Spiteller vd., 2008). *H. enshiense*'nin toprak üstü kısımlarının %90 etanol ekstresinden hiperisin, protohiperisin, psödohiperisin, protopsödohiperisin tespit edilmiştir (Wang vd., 2010).

H. perforatum, *H. maculatum*, *H. tetrapterum*, *H. erectum*, *H. humifusum*, *H. monogynum*, *H. kouytchenseve* *H. canariense*'nin sürgün kültürlerinin analizinden hiperisinin ve psödohiperisin tespit edilmiştir (Bálintová vd., 2019).

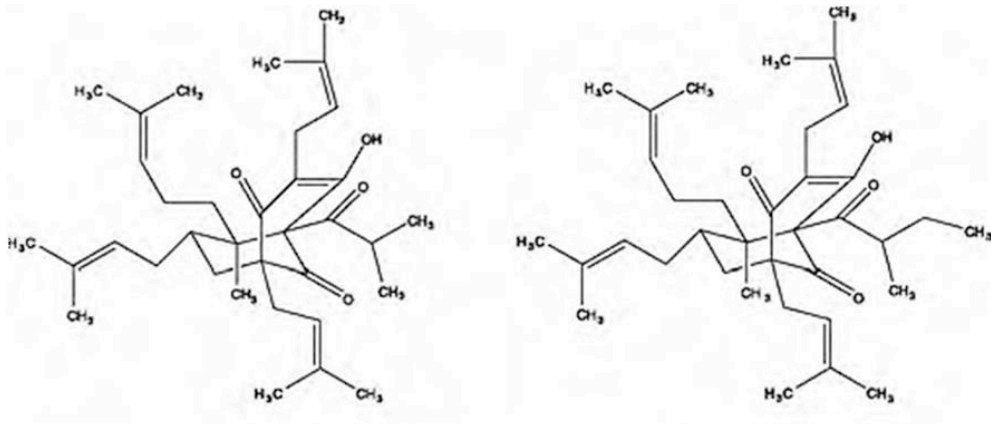
İtalya'da yetişen, çiçeklenme aşamasında toplanan *H. scruglii* ve *H. hircinum*'un toprak üstü kısımlarının %70 etanollü ve metanol/fosfat tamponu (90 mM, pH 6,0) karışımı (1:1, h/h) ekstraları hazırlanarak içerisinde hiperisin tespiti yapılmıştır (Mandrone vd., 2017).

2.2.2. Floroglusinoller

Floroglusinol türevleri, Myrtaceae, Hypericaceae, Euphorbiaceae, Aspidiaceae, Compositae, Rutaceae, Rosaceae, Clusiaceae, Lauraceae, Crassulaceae, Cannabinaceae ve Fabacaceae gibi çeşitli familyalarda yaygın olarak görülmektedir. Floroglusinoller temel olarak monomerik, dimerik, trimerik, tetramerik olarak sınıflandırılırlar. Monomerik floroglusinollerin bitkiler ve diğer doğal kaynaklar arasında meydana geldiği ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir.

Monomerik floroglusinoller ayrıca açılfloroglusinoller, floroglusinol-terpen eklentileri, floroglusinol glikozitler, halojenlenmiş floroglusinoller, prenilenmiş geranilefloroglusinoller, bir α -piron halka ve siklik halkalara bağlı floroglusinoller gibi farklı alt sınıflara ayrılmaktadır (Pal Singh ve Bharate, 2006).

Hypericum türleri içeriğinde, naftodiantronlar gibi floroglusinol bileşikleri de yaygın şekilde bulunmaktadır. Ana floroglusinol bileşikleri, hiperforin ve bir ilave metil grubu içeren adhiperforindir (Şekil 2.2) (Patočka, 2003). *Hypericum* cinsi bitki ekstralarının en önemli kimyasal bileşiklerinden birisi olan hiperforin, bitkinin sadece çiçek ve meyvelerinde, %2-4,5 oranlarında bulunmaktadır. Hiperforin lipofilik yapıya sahip, ısıya ve ışığa karşı kararsızdır, kolayca oksitlenebilir. Oksidasyonunu önlemek için -700 °C azot atmosferinde saklanmalıdır. Kuru drog ve ekstrede bulunan antioksidan maddelerin etkisiyle oksitlenmeden kalabildiği bildirilmiştir (Başer, 2007).



Şekil 2.2. Hiperforin ve Adhiperforin

Yapılan bir çalışmada *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstralarında (Huang vd., 2011), bir başka çalışmada da %80 metanol ekstresinde (Sarrou vd., 2018), *H. perforatum*'un üç alt türü *H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *angustifolium*, *H. perforatum* subsp. *veronense*'nin yaprak ve çiçeklerinin metanollü ekstresinden (Filippini vd., 2010) hiperforin izole edilmiştir

H. perforatum var. *perforatum*, *H. perforatum* var. *angustifolium*, *H. tetrapterum*, *H. hirsutum*, *H. hyssopifolium*, *H. richeri*, *H. androsaemum*, *H. montanum* türlerinde hiperforin (Maggi vd., 2004), *H. perforatum* toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden ise hiperforatin L-U bileşikleri izole edilmiştir (Guo vd., 2019).

H. perforatum un zeytinyağında masere edilmiş örneklerinde YBSK-DAD ile hiperforin ve adhiperforin tespit edilmiştir (Orhan vd., 2013). *H. perforatum* 'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hiperforin tespiti yapılmış, ayrıca zamanla ekstredeki miktarının azaldığı kanıtlanmıştır (Koyu ve Haznedaroglu, 2015). Makedonya

da yetişen *H. perforatum* L.'nin çiçekli ve çiçeksiz sürgünlerinden hazırlanan metanol ekstralarında hiperforin ve adhiperforin gözlenmiştir (Tusevski vd., 2018).

H. perforatum subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *veronense*, *H. montanum*, *H. hyssopifolium*, *H. hirsutum*, *H. hircinum* subsp. *majus*, *H. tetrapterum* türlerinin metanol-aseton (1:1, h/h) ekstresinde (Sagratini vd., 2008), *H. perforatum* ve *H. annulatum* bitkilerinin sap ve yaprak kısımlarından %80 metanol ve %60 etanol ekstraları hazırlanmış ve içerisinde hiperforin tespit edilmiştir (Dresler vd., 2018).

H. perfoliatum ve *H. origanifolium* türlerinin vejetatif, çiçek tomurcuğu, çiçeklenme, taze meyve ve olgun meyve aşamalarında hasat edilmiş ve kök, yaprak ve üreme dokularına ayrılarak %96'lık etanol ekstralarında hiperforin tespit edilmiştir (Çırak vd., 2008).

H. perforatum, *H. rumeliacum* ve *H. triquetrifolium*'un metanollü ekstralarında yapılan HPLC-DAD analizi sonucunda üç türde de hiperforin gözlenirken, ayrıca *H. rumeliacum*'da hiperjovino B, *H. rumeliacum* ve *H. triquetrifolium*'da ise hiperforin ve hiperforin tespit edilmiştir (Sakavitsi vd., 2017).

H. empetrifolium meyvesinin diklorometanlı ekstresinden NMR spektroskopisi ve kütle spektrometrisi kullanılarak, açılfloroglusinol türevleri olarak, 3-geranil-1-(20-metilpropanoil) floroglusinol ve 3-geranil-1-(20-metilbutanoil) floroglusinol karakterize edilmiştir (Crockett vd., 2008).

Hiperforinin farmakolojik etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda antidepresan, anksiyolitik, antibiyotik, antikarsinojenik, antisiklooksijenaz etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Zanoli, 2004). Hiperforinin, *in vitro* ortamda çeşitli nörotransmitterleri inhibe veya modüle ettiği tespit edilmiştir. Hiperforinin; serotonin, norepinefrin, dopamin, sentetik L-glutamat ve GABA (Gama Amino Bütirik Asit)'nin sinaptik geri alımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Oliveira vd., 2016). Antidepresan aktivitesinin mekanizması, nörotransmitterlerin sinaptik yeniden alımının inhibisyonu olarak kabul edilmektedir (Chatterjee vd., 2001). Bu özellik, bitkinin antidepresan etkinliğinden sorumlu olan muhtemel ana aktif bileşiğin hiperforin olduğunu desteklemektedir (Patočka, 2003).

Hypericum türlerinde bulunan diğer önemli bir floroglusinol ise, ilave metil grubu taşıyan adhiperforindir. Ekstrelerde hiperforinden 10 kat daha düşük seviyelerde bulunan adhiperforinin hiperforinle aynı inhibe edici profile sahip olduğu ve hiperforin kadar güçlü antidepresan etki gösterdiği rapor edilmiştir (Zanoli, 2004).

H. perforatum ekstrelerinin antidepresan aktivitesini saptamak için geçmişten günümüze yapılan birçok farmakolojik çalışma, hiperforinin antidepresan aktivite üzerinde en büyük rolü oynayan madde olduğunu göstermektedir. Hiperforin molekülünün kendisi veya hiperforince zengin ekstrelerle yapılan çalışmalar antidepresan etkinin gerçekten de floroglusinol türevi bileşiklerden kaynaklandığını belirtmektedir (Butterweck, 2003).

H. erectum Thunb.'dan elde edilen floroglusinol türevleri olan otogirin ve otogiron moleküllerinin antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin koagülasyon mekanizmasında rol oynayan tromboksan A2 ve lökotrien D3 üzerinde inhibitör etkilerinin olduğu saptanmıştır (Tada vd., 1992). Aynı türden 2016 yılında Lu vd. (2016) altı yeni floroglusinol türevi bileşik adotogirinin ve erekrisin A-E izole etmişlerdir (Lu vd., 2016).

H. pseudohenryi'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden pseudohenones A-G izole edilmiştir (Yang vd., 2017). *H. attenuatum*'un toprak üstü kısımlarının %95 sulu etanollü ekstresinden attenuatumiones A-F bileşikleri izole edilmiştir (Zhou vd., 2014).

H. calycinum türünden izole edilen monomerik floroglusinol türevi bir bileşik olan, 1-(3,5-dihidroksi-1-((3-metilbut-2-enil)oksi)fenil)-2-metil-1-metilbutan-1-on bileşiğinin *Cladosporium cucumerinum* suşu üzerinde antifungal ve *Plasmodium falciparum* suşu üzerinde antimalaryal etkisinin olduğu saptanmıştır. Ayrıca, *H. monogynum* türünden hiperkalin A isimli bir floroglusinol türevi bileşik elde etmiştir (Decosterd vd., 1991).

H. sikokumontanum türünden iki monomerik floroglusinol türevi bileşik izole edilmiş, bunlara takaneol A ve takaneol B isimleri verilmiştir (Tanaka, Kashiwada, vd., 2008). *H. laricifolium* türünden hiperlarisifolin adı verilen dimerik açılfloroglusinol türevi bileşik izole edilmiştir (Ccana-Ccpatinta ve Von Poser, 2015).

H. polyanthemum'dan elde edilen bazı floroglusinol türevi bileşikler, 6-izobutiril-5,7-dimetoksi-2,2-dimetil-benzopiran, 7-hidroksi-6-izobutiril-5-metoksi-2,2-dimetil-benzopiran ve 5-hidroksi-6-izobutiril-7-metoksi-2,2-dimetil-benzopiran'dır (A. Ferraz vd., 2001). Bu üç bileşiğin NCI-H460 büyük hücreli akciğer karsinoma, HT-29 kolorektalkarsinoma, U373 MF glioblastoma astrositoma hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesinin olduğu belirlenmiştir (A. Ferraz vd., 2005).

H. roeperianum türünden elde edilen floroglusinol türevi bileşik olan kiperkumin E bileşiğinin anti-stafilokok aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Tala vd., 2015).

Ayrıca yine aynı türden madeleinol A ve B, empetriferdinol, empetrikarinol A ve B, 3-geranil-2,4,6-trihidroksibenzofenon, 3-geranil-1-(2'-metilpropanoil)-floroglusinol ve 3-geranil-1-(2'-metilbutanoil)-floroglusinol adlı sekiz yeni floroglusinol türevi izole edilmiştir (Fobofou vd., 2015).

H. scabrum türünden, hiperibrin A-D (Gao vd., 2016a) ve hiperskabronlar H-I (Gao vd., 2016b) bileşikleri izole edilmiştir. Hiperibrin A ve hiperskabron I'nın nöroprotektif ve hepatoprotektif etkiye sahip bileşikler olduğu tespit edilmiştir.

H. andinum türünden andinin A isimli dimerik açılfloroglusinol türevi bir bileşik elde edilmiş ve bu bileşiğin, 3 mg/kg dozda farelerde antidepresan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Ccana-Ccapatinta vd., 2014). *H. austrobrasiliense* türünden üç yeni dimerik açılfloroglusinol türevi bileşik izole edilmiştir. Austrobrasilol A, austrobrasilol B ve izoauströbrasilol B adı verilen bileşiklerin fareler üzerinde antinosiseptif aktivite gösterdiği saptanmıştır (Bridi vd., 2016).

H. annulatum'un toprak üstü kısımlarından elde edilen heksan ekstresinde açılfloroglusinol türevi hiperannulatin A-E'ler (Nedialkov vd., 2018), Çin'de yetişen *H. attenuatum* Choisy'nin toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden hiperattenin J-K bileşikleri (Li vd., 2015), *H. attenuatum*'un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden attenuatumione G-H bileşikleri izole edilmiştir (Zhou vd., 2016).

H. ascyron Linn.'in toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden hiperascyrones A-H bileşikleri (Zhu vd., 2015), *H. ascyron*'un yapraklarının metanollü ekstresinden tomoeones A-H bileşikleri izole edilmiştir (Hashida vd., 2008).

H. aciculare, *H. andinum*, *H. brevistylum*, *H. decandrum*, *H. laricifolium*, *H. silenoides* türlerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan heksan ekstrlerinde nuliginosin A, isouliginosin B, isohyperbrasilol B, uliginosin B, hyperbrasilol B bileşikleri izole edilmiştir (Ccana-Ccapatinta vd., 2018).

H. capitatum var. *capitatum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. elongatum* var. *elongatum*, *H. olympicum*, *H. polyphyllum*, *H. retusum*, *H. salsolifolium*, *H. spectabile* türlerinin yaprak, çiçek ve köklerinin metanol ekstrlerinde hiperforin ve adhiperforin tespit edilmiştir (Çırak vd., 2016).

H. carinatum'dan heksan ile oda sıcaklığında hazırlanan ekstredeki floroglusinol türevi olan; uliginosin B (%1,65 ± 0,08), benzofenonkarifonon A (%0,08 ± 0,001) ve karifenon B (%0,58 ± 0,009) bileşiklerinin miktar tayinleri YBSK ile tespit edilmiştir (Meirelles vd., 2017).

H. aegypticum L., *H. androsaemum* L., *H. calycinum* L., *H. patulum* Thunb., *H. perfoliatum* L., *H. perforatum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. tetrapterum* Fr. türlerinde floroglusinol türevi hiperforin ve adhiperforin olduğu tespit edilirken, *H. hircinum* ve *H. montanum* 'da hiperforin ve adhiperforine rastlanmamıştır (Napoli vd., 2018).

H. enshiense 'nin toprak üstü kısımlarının %90 etanollü ekstresinde hiperforin tespit edilmiştir (Wang vd., 2010). *H. henryi* bitkisinin etil asetat ekstresinde; hyperhenones G-M (1-7), sampsonol F, hypercohone G bileşikleri teşhis edilmiştir (Duan vd., 2018). *H. erectum* 'un köklerinin metanollü ekstresinden, erecricins A-E ve adotogirin bileşikleri izole edilmiştir (Lu vd., 2016).

Estonya'da 2010 ve 2011 Haziran ortasından Ağustos ortasına kadar çeşitli yerlerden toplanan *H. perforatum* ve *H. maculatum* 'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinde (Rusalepp vd., 2017), *H. montbretii* 'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde (Çırak vd., 2014), *H. triquetrifolium* 'un yaprak, gövde ve çiçekli kısımlarının metanollü ekstresinde (Alali ve Tawaha, 2009) adhiperforin ve hiperforin tespit edilmiştir.

H. laricifolium Juss'un toprak üstü kısımlarıyla hazırlanan hekzanlı ekstresinden hiperlarikifolin ve iki yeni monomerik açılfloroglusinol, larisifolin A ve larisifolin B, uliginosin B, izouliginosin B, hiperbrasilol B ve izohperbrasilol B yapıları, 1D-, 2D-NMR ve kütle spektrumlarının yorumlanmasıyla aydınlatılmıştır (Ccana-Ccapatinta ve Von Poser, 2015).

H. monogynum 'un yaprakları ve dallarının metanollü ekstresinden, hipermonon A-F izole edilmiştir (Zeng vd., 2018). *H. longistylum* 'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden, longistyliones A-D yapıları kapsamlı 1D ve 2D NMR spektroskopik veri analizi temelinde aydınlatılmıştır (Cao vd., 2017).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada *H. malatyanum* ve *H. neurocalycinum* 'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinde her iki türde hiperisin, *H. malatyanum* 'da ise hiperforin tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018).

H. hookerianum 'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden, hookeriones A-D bileşikleri (Ye vd., 2016), *H. polyanthemum* 'un toprak üstü kısımlarının süperkritik ortamda karbon dioksit ekstraksiyonu sonucunda uliginosin B izole edilmiştir (Cargnin vd., 2013).

H. pseudopetiolum var. *kiusianum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde açılfloroglusinol türevi olan Petiolins J-M bileşikleri (Tanaka vd., 2010), *H.*

pseudopetiolum bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden Petiolins A-C bileşikleri izole edilmiştir (Tanaka vd., 2008).

H. roeperianum'un yaprakları önce kloroform sonra metanolla ekstre edilmiş, yapılan analizde madeleinol A, empetrifranzinan D, madeleinol B, 1-(2,4,6-trihidroksiphenyl)-2-metilpropan-one, 1-(2,4,6-trihidroksiphenyl)-2-metilbutan-on, empetrifranzinan A, empetrifranzinan C bileşikleri izole edilmiştir (Fobofou vd., 2015). *H. peplidifolium* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden peplidiforone A-D izole edilmiştir (Fobofou vd., 2016).

Çinde yetişen *H. sampsonii*'nin toprak üstü kısımlarının %60'lık etanol ekstresinden, hypersampsones N-Q açılfloroglusinoller (Tian vd., 2014), *H. sampsonii*'nin toprak üstü kısımlarının petrol eterli ekstresinden sampsonol A-F bileşikleri (Xin vd., 2012), *H. sampsonii*'nin meyvesinin %95 alkollü ekstreten hypersampson I-K bileşikleri (Zeng vd., 2012), *H. sampsonii*'nin topraküstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden norhypersampson A ve 3-(2-hidroksi-7-metil-3-metilenit-6-enil)-5-izoprenil-2,4,6-trihidroksibenzofenon bileşikleri izole edilmiştir (Zhang vd., 2017).

H. scabroides'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinde hiperforin (Mansour vd., 2014), Türkiye'de toplanan *H. venustum*'un çiçeklerinin etanollü ve sulu ekstrelerinde hiperforin bulunmuştur (Spiteller vd., 2008).

H. sikokumontanum'ın toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden takaneones A-C ve takaneols A-B bileşikleri (Tanaka vd., 2008), *H. yojiroanum*'un metanollü ekstresinden yojironins A-D bileşikleri izole edilmiştir (Mamemura vd., 2011).

H. scabrum'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden hiperibrin A-D bileşikleri (Gao vd., 2016a), *H. uralum*'un toprak üstü kısımlarının %95 etanol ekstresinden uraliones L-R bileşikleri (Li vd., 2017), *H. peplidifolium*'un toprak üstü kısımlarının etil asetat ekstresinden peptitidoron A-D bileşikleri (Fobofou vd., 2016), *H. scabrum*'un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden ise hiperskabron J-M ismi verilen açılfloroglusinol bileşikleri ilk kez izole edilmiştir (Gao vd., 2016b).

H. scabrum'un toprak üstü kısımlarının %95'lik etanollü ekstresinden üç yeni polisiklikpoliprenillenmiş açılfloroglusinol türeviden oluşan, hiperibrin E-G, sampsonione N, (2R,4R,6S)-2-benzoil-3,3-dimethyl-4,6-bis(3-methylbut-2-en-1-ol) sikloheksan-1-on, hipermongon B, hiperibon A, hiperibon G, sampsonion P, 7-epiklusyanon (Hu vd., 2017),

H. scabrum'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan %95 etanol ekstresinden hipersiyumoksit A-N ve hiperkohin B izole edilmiştir (Liu vd., 2017).

H. pseudopetiolum var. *kiusianum*'un metanol ekstresinden petiolins J-M bileşiklerinin yapıları, spektroskopik veriler ve tek kristalli bir X-ışını kırınım analizi ile aydınlatılmıştır (Tanaka vd., 2010).

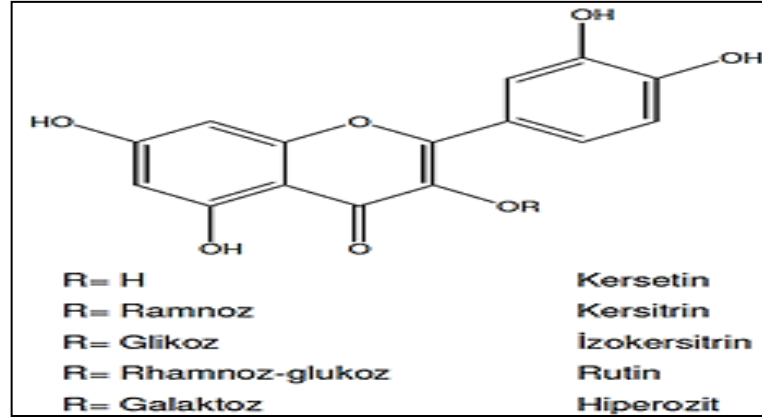
H. pamphylicum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hiperforin tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2013). *H. patulum*'un yapraklarının etanollü ekstresinden hiperpatulones A-B (Ao vd., 2020), *H. patulum*'un çiçeklerinin %95 etanollü ekstresinden hiperpatulols A-I bileşikleri izole edilmiştir (Liu vd., 2019).

H. hookerianum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hookeriones I-Q (Ye vd., 2019), *H. japonicum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hiperjaponol A-I (Zhu vd., 2019), *H. elatoides*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden hiperelatol A-H (Yan vd., 2019), *H. elodeoides*'un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden monoterpenoid poliprenillenmiş açılfloroglusinol olan hiperelodions A-C bileşikleri izole edilmiştir (Qiu vd., 2020).

2.2.3. Flavonoidler

Flavonoidler, $C_6C_3C_6$ formülüne uyan, kromon yapısında, fotosentez yapan hücrelerin tüm dokularda doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerdir (Boots vd., 2008). Hücre özsuyunda serbest ya da glikozitlere bağlı olarak bulunabilirler. *Hypericum* türlerinin ana bileşenleri arasında yer alan glikozit formundaki flavonoidler rutin, hiperozit (hiperin), kersitrin ve isokersitrindir. Glikozit formunda olmayan, serbest flavonoidler; kemferol, luteolin, mirsetin ve kersetin'dir (Şekil 2.3) (Crockett vd., 2016).

Flavonoidlerin antioksidan, antifungal, antikanserojenik, vazodilatör, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antialerjik, immün uyarıcı ve antiviral olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Huang vd., 2018; Spiridon vd., 2011). Ayrıca, güncel bazı araştırmalarda, kanser, diyabet, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi çeşitli kronik hastalıkların tedavisi için kullanıldıkları bilinmektedir (Al-Dhabi vd., 2015).



Şekil 2.3. Kersetin, Kersitrin, İzokersitrin, Hiperozit

Flavonoidler sahip oldukları hidroksil grupları ile peroksit radikallerine karşı koyarak yüksek antioksidan aktivite gösterirler (Spiridon vd., 2011). Bu bileşiklerden kersetin, osteoporoz, belirli kanser türleri, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar ve aynı zamanda yaşlanmaya karşı koruyucu özellikte olan önemli bir antioksidandır. Ayrıca kersetinin, tümör nekroz faktörü tarafından indüklenen antiviral aktiviteyi tetiklediği bildirilmiştir (Boots vd., 2008).

Flavonollerin ve özellikle flavonol glikozitlerin, spazmolitik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Morales ve Lozoya, 1994). Ayrıca, biyojenik aminlerin katabolizmasından sorumlu olan monoaminoksidaz A ve katekol-O-metiltransferaz enzimini de inhibe ettikleri belirtilmiştir (Patočka, 2003)

H. aegypticum, *H. perforatum*, *H. calycinum*, *H. hircinum*, *H. androsaemum*, *H. hirsutum*, *H. montanum*, *H. perfoliatum*, *H. pubescens*, *H. tetrapterum*, *H. patulum* türlerinde kersetin-3-O-rutinozit, kersetin-3-O-galaktozit, kersetin-3-O-glukozit, kersetin-3-O-ramnozit ve kersetin içerdikleri tespit edilmiştir. Bunlardan sadece *H. perfoliatum* türünde bu bileşiklere ek olarak mirsetin-3-O-ramnozit de bulunmuştur (Napoli vd., 2018).

H. montanum, *H. hircinum* subsp. *majus* türlerinde kersetin ve kersetin glikozitleri, *H. perforatum*'da kersetin-3-O-ramnozit, *H. hircinum* subsp. *Majus* ve *H. perforatum*'da ise kersetin-3-glukuronit tespit edilmiştir (Tocci vd., 2018).

Girit adasına ait endemik bir tür olan *H. kelleri* Bald'de kersetin, avikularin ve I3,II8-biapigenin tespit edilmiştir (Mathioudaki vd., 2018). *H. wightianum* ile yapılan bir çalışmada bilinen flavon bileşiklerinin yanında yeni bir flavon bileşiği wigtianin izole

edilmiştir. Bu bitkinin toprak üstü kısımlarının %95 etanol ekstresinden hiperwightin A-E bileşikleri tespit edilmiştir (Yang vd., 2019).

H.canariense türünden suda çözünebilir beş yeni flavon glikoziti, kersetin-3-glukopiranuronat ve bunun poliasetat türevleri izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Díaz vd., 2010). *H. ternum*'da, *Hypericum* türlerinin bilinen flavonoidlerinin dışında guaijaverin bileşiği tanımlanmıştır (Pinhatti vd., 2010).

Farklı *Hypericum* türlerinden yeni bileşiklerin izole edildiği ve tanımlandığı çalışmalar dışında, bilinen flavonlar ve türevlerinin elde edildiği çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Çakır vd. 2003 yılında yürüttüğü bir çalışmada *H. hyssopifolium* türünde I3, II8-biapigenin, kersetin, kersetin-3-O- α -arabinofuranozit, kersetin-3-O- β -D-galaktopiranozit ve kersetin-3-O- β -D-galaktopiranozit-7-O- β -D-glukopiranozit olmak üzere bilinen beş flavon bileşiği tanımlanmıştır (Çakır vd., 2003). *H. calycinum* türünden rutin, kersetin, kersitrin, hiperozit, izokersitrin, mikuelianin (kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit) ve I3, II8-biapigenin izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Kırmızıbekmez vd., 2009). *H. triquetrifolium*'da rutin, hiperozit, apigenin-7-O-glukozit, kempferol, kersitrin, kersetin ve amentoflavon (Çırak vd., 2011), *H. richerii*'de kersetin, izokersitrin, mirsetin-3-O-glukozit ve I3, II8-biapigenin izole edilmiştir (Zdunić vd., 2011).

H. perforatum türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen farklı ekstraktlar ile birçok çalışma yapılmıştır. Metanol ekstresinde rutin, mikuelianin, hiperozit, kersitrin (Kırmızıbekmez vd., 2009), astilbin [2(R):3(R)-taksifolin-3- α L-ramnopiranozit] (Tatsis vd., 2007) izole edilmiştir. Orčić vd. (2011) tarafından yürütülen başka bir çalışmada bu bileşiklere ilave olarak kersetin, amentoflavon (I3', II8 biapigenin) izole edilmiştir (Orčić vd., 2011)

Çırak vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada Türkiye florasının tıbbi bitkileri arasında yer alan *H. pruinatum* Boiss.'ın farklı dokularında ana flavonoidler, yani amentoflavon, hiperozit, isokersitrin, kersitrin, kersetin, avikularin, rutin, (+)-kateşin ve (-)-epikateşin içeriklerindeki fenolojik değişimler araştırılmıştır. Yabani olarak yetişen ve serada yetiştirilen bitkiler, tomurcuk, tam çiçeklenme, taze meyve döneminde ve olgun meyve verme aşamalarında toplanmış ve kök, yaprak ve tohum kısımları ayrıştırılarak ayrı ayrı kurutulmuş ve daha sonra YBSK-DAD ile flavonoid içerikleri analiz edilmiştir. Tüm bitkilerde kimyasal içeriklerin bitki fenolojisi sırasında arttığı gözlemlenmiş ve hem yabani hem de serada yetiştirilen bitkiler için benzer kantitatif sonuçlar bulunmuştur. Gelişim aşamalarına bağlı olarak, tohum kısmında daha yüksek miktarlarda rutin,

kersetin, (+)-kateşin, (-)-epikateşin ve amentoflavon tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yapraklarda daha yüksek düzeyde hiperozit, izokersitrin, kersitrin ve avikularin tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, bitki kısımlarındaki flavonoid içerik ile bitkilerin fenolojik gelişimi arasında yakın bir ilişki olduğunu tespit edilmiş ve taze bitkinin tıbbi amaçlar için çiçeklenme sırasında hasat edilmesi önerilmiştir (Çırak vd., 2014).

Paulke vd. tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada *H. perforatum* türünün sahip olduğu antidepresan etki üzerinde flavonoid bileşiklerinin rolü araştırılmıştır. Bu amaçla deney hayvanlarının kullanıldığı farklı davranışsal deneyler yapılmıştır. Rutin ve izoramnetinin, *H. perforatum* ekstresinde hiperforin ile birlikte antidepresan etkiye yaptığı katkı incelenmiş, aynı zamanda bu bileşiklerin farmakokinetik özellikleri de araştırılmıştır (Paulke vd., 2008).

Celep vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *H. perfoliatum* L. türünün antioksidan profili ve fenolik içeriğinin biyolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla hem mide hem de bağırsaktan oluşan bir insan sindirimi simülasyon yöntemi kullanılmıştır. *H. perfoliatum*'un metanol ekstresinin toplam fenolik, fenolik asit, flavonoid ve proantosiyanın içerikleri ölçülmüştür. Başlıca fenolik bileşikler gallik asit, klorojenik asit ve kersitrin YBSK ile belirlenmiştir. Ayrıca, antioksidan kapasitelerinin tahmini için mekanizma olarak farklı iki metot olan serbest radikal süpürücü aktivite, demir ve bakır iyonu indirgeme kapasitesi metotları kullanılmıştır. Sonuç olarak, simüle edilmiş sindirim sisteminde bitkinin yüksek oranda antioksidan özellik gösterdiği ve biyoaktivitesinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Celep vd., 2017).

Del Monte vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada *H. perfoliatum*'un farklı üç ekstresinin fenolik bileşimi ile birlikte antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Kloroform-metanol ve metanol ekstreleri antioksidan aktivite göstermiştir (IC₅₀ 35 µg/mL'den daha az) ve muhtemelen bu aktivitenin hiperozit (her iki ekstrede 16 mg/mL) gibi flavonoidler ve klorojenik asit (sırasıyla 0,4 ve 0,5 mg/mL) gibi fenolik asitlerin varlığından kaynaklandığı bildirilmiştir. Aksine, kloroform ekstresi kayda değer antioksidan aktivite göstermemiştir. Kloroform ve kloroform-metanol ekstrelerinin çalışılan Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Del Monte vd., 2015).

Ayrıca, *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstrelerinden kersetin, amentoflavone, klorojenik asit, rutin, hiperozit, uliginosin A, saroaspidin A, hiperbrasilol A, tespit edilmiştir (Huang vd., 2011). *H. perforatum*'un zeytinyağında masere edilmiş

örneklerinden klorojenik asit, kesretin ve biapigenin bileşikleri YBSK-DAD ile tespit edilmiştir (Orhan vd., 2013).

H. perforatum subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *veronense*, *H. montanum*, *H. hyssopifolium*, *H. hirsutum*, *H. hircinum* subsp. *majus*, *H. tetrapterum* türlerinin metanol-aseton (1:1, h/h) ekstresinde, klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kesretin tespiti yapılmıştır (Sagrati vd., 2008).

H. perforatum'un üç alt türü olan *H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *angustifolium* ve *H. perforatum* subsp. *veronense*'in yaprak ve çiçeklerinin metanollü ekstresinden, klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kesretin, biapigenin teşhis edilmiştir (Filippini vd., 2010).

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kesretin, amentoflavon tespitleri yapıp zamanla bunların ekstredeki miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir (Koyu ve Haznedaroglu, 2015).

H. androsaemum'un yaprak ve çiçeklerinin etanollü ekstresinde; 3-O-kafeoilkinik asit, protokateşik asit, 3-O-*p*-koumaroilkinik asit, 5-O- kafeoilkinik asit, prosiyanidin B2, (-)-epikateşin, prosiyanidin C1, epikateşintetramer, eriodictyol-O-glukozit, prosiyanidin B5, taksifolin, kesretin-3-O-glukuronit, kesretin-3-O-glukozit, kesretin-O-hekzosit ve kesretin-O-pentosit bileşikleri tespit edilmiştir (Jabeur vd., 2016). *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının etanollü ve metanollü ekstrelerinde rutin, hiperozit, kersitrin, kesretin, biapigenin tespiti yapılmıştır (Bagdonaite vd., 2012).

H. thasium'un toprak üstü kısımlarının etil asetat ekstresinden; 3',4,5',6-Tetrahidroksi-2-O- β -D-xylosylbenzophenone, 3',5',4-Trihidroksi-4-metoksi,2-O- β -D-xylosylbenzophenone, 3',4,5',6-Tetrahidroksi-2-O-(4-O-acetyl- β -D-xylosyl) benzophenone, 3',4,5',6-Tetrahidroksi-2-O-(3-O-acetyl- α -L-arabinosyl) benzophenon bileşikleri izole edilmiştir (Demirkiran vd., 2009).

Estonya'da çeşitli bölgelerde 2010 ve 2011 yıllarında Haziran - Ağustos arası dönemde toplanan *H. perforatum* ve *H. maculatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinde; kateşin, epikateşin, mirisetin-3-glukozit, hiperozit, izokersitrin, rutin, , kamferol-3-glukozit, kersitrin, kamferol-3-rutinosit, kesretin, kinik asit türevi, kafeik asit, vanilik asit, neoklorojenik asit ve klorojenik asit tespit edilmiştir (Rusalepp vd., 2017).

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarından %80'lik metanol ekstresinde kersetin-3-O-ksilosit, astilbin ve amentoflavone bileşikleri (Sarrou vd., 2018). *H. perforatum* ve *H. annulatum* bitkilerinin sap ve yaprak kısımlarından %80 metanollü ve %60 etanollü ekstraları hazırlanarak analiz edilmiş ve ekstralarda, hiperosit, rutin, kuersitrin, kersetin, klorojenik asit ve epikateşin tespit edilmiştir (Dresler vd., 2018).

Metanol ile ekstre edilen *H. triquetrifolium* callus kültürlerinde, *p*-OH-benzoik asit, klorojenik asit ve epikateşin tespit edilmiştir (Azeez vd., 2017). *H. perforatum* *H. rumeliacum* ve *H. triquetrifolium*'un metanollü ekstralarından YBSK-DAD analizi sonucunda; miquelianin, hiperozit, izokersitrin, astilbin, kersitrin, izokersetrin, amentoflavon, kersetin 3-O-pentosit, rutin, sikrin-2-O-glukopiranosit, kinik asit, klorojenik asit, 3-O-feruloilkinik asit tespit edilmiştir (Sakavitsi vd., 2017)

Tunus'ta yetişen *H. triquetrifolium* Turra'nın vejetatif, tam çiçeklenme ve meyve verme dönemlerinde toplanan toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde, klorojenik asit, şirinjik asit, apigenin, rutin, hiperozit, kersitrin, kersetin, I3, II8-biapigenin, kaempferol ve amentoflavon tespit edilmiştir (Hosni vd., 2011).

H. androsaemum ve *H. perforatum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinde; klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin ve kersitrin (Hernandez vd., 2010), *H. androsaemum*'un kırmızı meyvelerinin sulu ekstresinden; şikimik asit, gallik asit, 5-O-kaffeoilkinik asit, 3-O-kaffeoilkinik asit, kateşin, epikateşin, rutin, hiperozit, kersitrin, 3,5-di-O-kaffeoilkinik asit bileşikleri, YBSK-DAD analizi ile tespit edilmiştir (Nabavi vd., 2018).

H. androsaemum ve *H. polyphyllum* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden, 2,4-dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, rutin, hiperozit, izokersitrin, avicularin, kersitrin, kersetin, I3,II8-biapigenin teşhis edilmiştir (Çırak vd., 2017). *H. androsaemum* bitkisinin kırmızı meyveleri metanolla ekstre edilerek YBSK-DAD ile analiz edilmiş, deney sonunda kateşin, epikateşin, rutin ve hiperozit bileşikleri teşhis edilirken, kersitrin'e rastlanmadığı bildirilmiştir (López vd., 2016). *H. androsaemum*'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden; 3-O-kaffeoilkinik asit, protokateşik asit, 3-O-*p*-kaffeoilkinik asit, 5-O-kaffeoilkinik asit, prosiyanidin B2, (-)-epikateşin, prosiyanidin C1, epikateşintetramer, eriodiktyol-O-glukozit, prosiyanidin B5, taksifolin, kersetin-3-O-glukuronit, kersetin-3-O-glukozit, kersetin-O-hekzozid, kersetin-O-pentosid bileşikleri tespit edilmiştir (Jabeur vd., 2016).

H. mysorensis'nin çiçekli kısımları, yaprakları, kök ve gövde kısımlarının metanollü ekstresinde hiperozit (Hariharapura vd., 2015), *H. triquetrifolium*'un yaprak, gövde ve çiçekli kısımlarının metanollü ekstresinde rutin (Alali ve Tawaha, 2009), *H. pamphylicum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde hiperisin, klorojenik asit, hiperosit, izokersitrin ve kersetin tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2013).

H. barbatum, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. rumeliacum*, *H. tetrapterum* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstrelerinde hiperozit ve kersitrin tespiti yapılmıştır (Smelcerovic vd., 2006).

H. enshiense bitkisinin toprak üstü kısımlarının %90 etanollü ekstresinde klorojenik asit, magniferin, izoorientin, rutin, hiperozit, kersitrin, kersetin, I3, II8 biapigenin (Wang vd. 2010), *H. montbretii*'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden epikateşin, rutin, hiperosit, izokersitrin, avicularin, kersitrin, kersetin, amentoflavon, 2,4-dihidroksibenzoik asit, (+)-kateşin, neoklorojenik asit, klorojenik asit ve kafeik asit tayini yapılmıştır (Çırak vd., 2014).

Çinde yetişen *H. ascyron*'un toprak üstü kısımlarının %60 etanollü ekstresinde kersetin, kaempferol 3-O- β -(200-asetil)-galaktopiranosid (Li vd., 2015), *H. japonicum*'un toprak üstü kısımlarının %60 etanollü ekstresinden; gallik asit, protokateşik asit, vanilik asit, kafeik asit, epikateşin, kersetin, izokersitrin, vincetoksikozit B tespit edilmiştir (Pang vd., 2016).

Napoli vd. 2018 yılında yaptığı çalışmada çiçeklenme döneminde toplanan *H. aegypticum*, *H. androsaemum*, *H. calycinum*, *H. hircinum*, *H. hirsutum*, *H. montanum*, *H. patulum*, *H. perfoliatum*, *H. perforatum*, *H. pubescens*, *H. tetrapterum* türlerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinde; kersetin, kersetin-3-O-galaktosid, kersetin-3-O-glikozit, kersetin-3-O-ramnozid, biapigenin, *H. pubescens* hariç tüm türlerde amentoflavon, *H. aegypticum*, *H. androsaemum*, *H. calycinum*, *H. hirsutum*, *H. montanum*, *H. patulum*, *H. perforatum*, *H. tetrapterum* türlerinde kateşin, *H. aegypticum* ve *H. calycinum* türlerinde kersetin-3-O-rutinozit, *H. perfoliatum*'da mirsetin-3-O-ramnozid, *H. aegypticum*, *H. calycinum*, *H. hirsutum*, *H. montanum*, *H. patulum*, *H. perforatum*, *H. pubescens*, *H. tetrapterum* türlerinden kersetin-3-O-arabinozit tespit edilmiştir (Napoli vd., 2018).

H. cardonae, *H. cuatrecasii*, *H. myricariifolium*, *H. humboldtianum*, *H. carinosum*, *H. laricifolium*, *H. garciae* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinde; kafeik asit, 3,5-dihidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit, 2,6-di-OH-benzoik asit, *p*-

OH-benzoik asit, sinnamik asit, kampferol, kersetin-3-glukoronit, kersetin-3-rabinozit, kersetin, kersetin-3-glukozit, kampferol-3-glukozit, kampferol-3-glukozit, izo-ramnetin, syringetin-3-glukozit, izo-rametin-3-glukozit, miriketin, kateşin, epikateşin, gallokateşin, epigallokateşin, prosiyanidin B1, prosiyanidin B2, C-piceid, eskulin, neoklorojenik asit, kriptoklorojenik asit, klorojenik asit, koniferil alkol, plorizin, luteolin, naringenin, luteolin 7-O-glukozit, naringenin-7-glukozit bileşikleri görülmüştür (Tocci vd., 2018).

H. foliosum, *H. androsaemum* ve *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan dietil eter ve metanol ekstralarının incelendiği çalışmada, *H. foliosum*'da kateşin, kersetin-3-O-sülfat, mikuelianin, amentoflavon bileşikleri, *H. androsaemum*'da kersetin-3-O-sülfat, mikuelianin bileşikleri, *H. perforatum*'da kersetin-3-O-sülfat, mikuelianin, kinik asit, 3,4-dimetilbenzoik asit, klorojenik asit bileşikleri tespit edilmiştir (Ramalhete vd., 2016).

H. capitatum var. *capitatum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. elongatum* var. *elongatum*, *H. olympicum*, *H. polyphyllum*, *H. retusum*, *H. salsolifolium* ve *H. spectabile* türlerinin yaprak, çiçek ve köklerinin metanol ile hazırlanmış ekstraları incelendiği çalışmada hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kersetin, avikularin, rutin, I3,II8-biapigenin, amentoflavon, mangiferin, kateşin, epikateşin tespit edilmiştir (Çırak vd., 2016).

Türkiye'de toplanan *H. venustum*'un çiçeklerinin etanollü ve sulu ekstralarında rutin, hiperozit, kersitrin, kersetin (Spiteller vd., 2008), Türkiye'de yetişen endemik *H. capitatum* Choisy in toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kampferol, kersetin tespiti yapılmıştır (Boga vd., 2016).

H. scabroides'un toprak üstü kısımlarıyla hazırlanan metanol ekstresinde, YBSK-DAD kullanılarak yapılan analiz sonucunda rutin, hiperozit, izokersitrin, klorojenik asit, kampferol, kersetin, kersitrin ve amentoflavon bileşikleri tespit edilmiştir (Mansour vd., 2014).

H. carinatum, *H. caprifoliatum*, *H. linoides*, *H. myrianthu*ve *H. polyanthemum* türlerinin toprak üstü kısımlarının hekzanlı ekstresinden, uliginosin B, japonicin A, hiperbrasilol, ariphenone A ve ariphenone B bileşikleri izole edilmiştir (Barros vd., 2013).

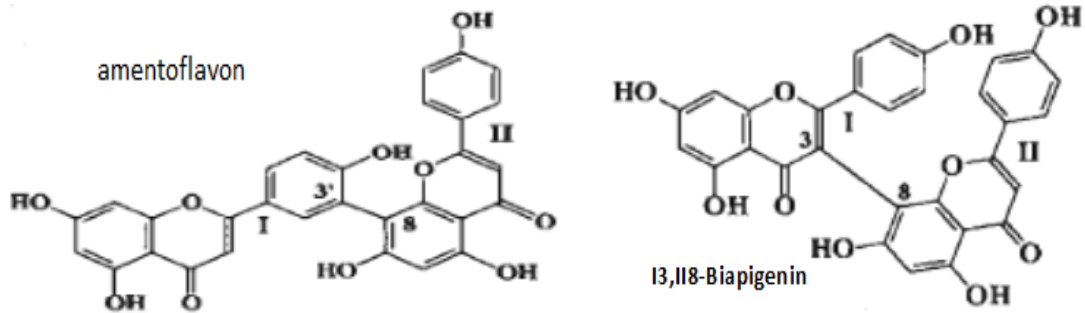
H. canariense ve *H. perforatum* türlerinin etanollü ekstresinde, kersitrin, hiperozit, astragalın, rutin, luteolin-7-O-glukozit, apigenin-7-O-glukozit, eriodiktol-kalkon bileşikleri tespit edilmiştir (Klejdus vd., 2013).

Peru’da yetişen *H. andinum*, *H. brevistylum*, *H. silenoides*, *H. laricifolium* türlerinin toprak üstü kısımlarının etanollü ekstrelerinden, klorojenik asit, rutin, hiperozit, guaijaverin, kersetin, uliginosin A, izouliginosin B, izoperperbrasilol B, uliginosin B, hiperbrasilol B bileşikleri YBSK-DAD’la tanımlanmıştır (Ccana-Ccapatinta vd., 2014).

Antidepresan etki üzerinde flavonoit bileşiklerinin rolünü saptamak için yapılan deneyler, *H. perforatum* ekstresinin antidepresan etkisinin ekstrede hem hiperforin hem de flavonoit bileşiklerinin bulunduğu durumlarda arttığını göstermektedir. Bu durum antidepresan etki üzerinde flavonoit bileşiklerinin de katkısı olduğunu ispatlamaktadır.

2.2.4. Biflavonlar

Biflavonlar, bitkilerde nadir olarak rastlanılan dimerik bir flavon grubudur. *Hypericum* cinsinin türlerinde 3 çeşit biflavon teşhis edilmiştir. Bunlar; I3,II8-biapigenin, amentoflavon (I3’, II8 biapigenin) ve 6’,8’’-dikersetin’dir (Şekil 2.4) (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). Biflavonlerbitkinin sadece çiçeklerinde ve tomurcuklarında bulunmaktadır (Berghofer ve Holzl, 1987).



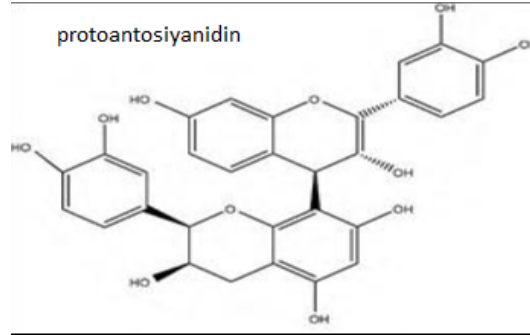
Şekil 2.4. I3, II8-biapigenin ve Amentoflavon (I3’, II8 biapigenin)

Amentoflavon’un antienflamatuvar, analjezik, antiülserojenik ve yara iyileştirici aktivitelere sahiptir (Çırak ve Kurt, 2014; Patočka, 2003). I3, II8-biapigenin ve amentoflavon bileşikleri merkezi depresan aktiviteye sahiptir. Bazı çalışmalarda amentoflavonun, kısmi agonistik etki ve diazepam ile karşılaştırılabilir afinite ile beyin benzodiazepin reseptörlerine in vitro bağlandığı gösterilmiştir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997).

2.2.5. Proantosiyanidinler

Hypericum türlerinde sıklıkla ve yüksek oranda (%16’ya kadar) bulunan dimerik, trimerik ve tetramerik prosiyanidinler bulunmuştur (Şekil 2.5) (Patočka, 2003). Proantosiyanidinlerin çeşitli biyolojik etkileri arasında antioksidan (Bagchi vd., 2000),

antiviral (De Bruyne vd., 1999) ve antimikrobiyal etkinliğinin (Scalbert, 1991) bulunduğu rapor edilmiş, ancak antidepresan etkisi bildirilmemiştir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997).



Şekil 2.5. Proantosiyanidin

H. perforatum türünün kimyasal bileşiminde kondanse tanenlerin varlığı 1925 yılında saptanmış, 1953 yılında Neuwald ve Hagenström tarafından bitkinin sürgünlerinde %3,8, yapraklarında %12,4 ve çiçeklerinde %16,2 oranında bulunduğu belirlenmiştir (Ernst, 2003).

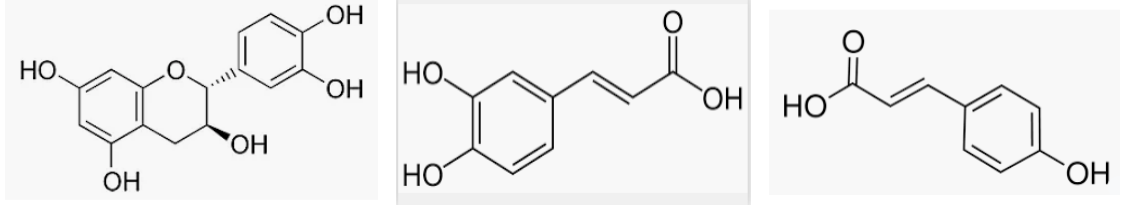
Tanenlerin antifungal, antibakteriyel ve antiviral etkili bileşikler oldukları yapılan birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Ayrıca tanen molekülleri mutajen maddelerin mutajenik etkisini azaltırlar ve antikarsinojenik özellikli bileşiklerdir. Tanenlerin bu özelliği antioksidan olmalarıyla açıklanır (Chung vd., 1998).

Dall'Agnol vd. 2003 yılında yapılan bir çalışma ile *H. caprifoliatum*, *H. connatum*, *H. polyanthemum*, *H. ternum*, *H. myrianthum* ve *H. carinatum* türlerinin içerdiği tanen oranı belirlenmiş ve bunların antimikrobiyal etki üzerindeki rolleri araştırılmıştır. Buna göre en yüksek oranda tanen içeren tür (%16,7) ile *H. ternum* türüdür. İçerdikleri tanen oranlarına göre çoktan aza doğru *H. connatum* (%11,5); *H. carinatum* (%9,1); *H. polyanthemum* (%6,7); *H. caprifoliatum* (%6,4); ve *H. myrianthum* (%5,1) olarak sıralanır. Tanenler her ne kadar antimikrobiyal etkileri bilinen bileşikler olsa da bu çalışmaya göre *S. Aureus* üzerinde en az antimikrobiyal etkiye sahip tür *H. ternum* türüdür (Dall'Agnol vd., 2003).

2.2.6. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, esas olarak hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit esterleri halinde bulunmaktadır. Gallik, protokateşik, vanillik, *p*-hidroksibenzoik asitler hidroksibenzoik asit türevi, klorojenik, kafeik, *p*-kumarik, ferulik, izoferulik, gentisik ve

şikimik asitler hidroksisinnamik asit türevleridir (Şekil 2.6) (Nahrstedt ve Butterweck, 1997; Saddiqe vd., 2010).



Şekil 2.6. Klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit

Jürgenliemk ve Nahrstedt'in 2002 yılında *H. perforatum* bitkisinin toplam fenolik bileşiklerini araştırmak amacıyla yaptığı çalışmalar sonucunda, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle 22 adet fenolik bileşik tespit edilmiştir. Bunlardan fenolik asit olarak neoklorojenik asit (3-O-[E]-kafeoilkinik asit), protokateşik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit), kriptoklorojenik asit (4-O-[E]-kafeoilkinik asit), 3-O-[E]-p-kumaroilkinik asit, 3-O-[Z]-p-kumaroilkinik asit saptanmıştır (Jürgenliemk ve Nahrstedt, 2002).

H. origanifolium, *H. montbretii* ve *H. perforatum* türlerinin %70 metanol ekstresinde gallik asit, protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, klorojenik asit, syringic, p-sinnamik asit ferulik asit, tr-sinnamik asit ve o-kumarik tespit edilmiştir (Öztürk vd., 2007). *H. perforatum* türünden 3-O-kumaroilkinik asit (Tatsis vd., 2007) ve 3-O kafeoilkinik asit ve türevleri (Zhang vd., 2011); *H. richerii* türünden mirsetin-3-O-kafeoilkinik asit ve mirsetin-5-O-kafeoilkinik asit izole edilmiştir (Zdunić vd., 2011). *H. perforatum* bitkisinin köklerinde kinik asit, klorojenik asit, 3-p-kumaroilkinik asit ve 3-feruloilkinik asit bulunduğu belirlenmiştir (Tusevski vd., 2018).

H. cardonae türünde sinnamik asit, 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit, kriptoklorojenik asit; *H. cuatrecasii* türünde 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, sinnamik asit, p-hidroksibenzoik asit; *H. myricariifolium* ve *H. cuatrecasii* türlerinde 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, sinnamik asit, p-hidroksibenzoik asitler; *H. humboldtianum*'da 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, sinnamik asitler; *H. carinosum*da kafeik asit, 3,5-dihidroksibenzoik asit, 2,6-

dihidroksibenzoik asit, sinnamik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit, kriptomklorojenik asitler; *H. laricifolium* türünde sinnamik asit, 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, kriptomklorojenik asit; *H. garciae* türünde ise 3,5-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, sinnamik asit, neoklorojenik asit, kriptomklorojenik asit bulunmaktadır (Tocci vd., 2018).

Bosna-Hersek'te yabancı olarak yetişen *H. perforatum* L. yaprak ve çiçeklerinin kapsamlı fenolik asit analizi ilk kez yapılmıştır. Yapılan çalışmada sonuç olarak, en fazla kafeik ve klorojenik asit tespit edilmiştir. Genel olarak, fenolik asitlerin içeriği çiçek kısmında yapraklara göre daha yüksek bulunmuştur (Zeljkođić vd., 2017).

Güney Brezilya'da yetişen *H. campestre*, *H. caprifoliatum*, *H. carinatum*, *H. connatum*, *H. cordatum*, *H. linoides*, *H. lorentzianum*, *H. megapotamicum*, *H. myrianthum*, *H. polyanthemum*, *H. rigidum*, *H. salvadoreense*, *H. ternum* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstralarında klorojenik asit, hiperozit, izokersitrin, guaijaverin ve kersitrin tespit edilmiştir (Nunes vd., 2010).

H. perforatum, *H. calycinum* ve *H. conugum*'un çiçekli kısımlarının metanollü ekstresinde; kumarin, hesperidin, *p*-kumarik asit, *o*-kumarik asit, gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, kinik asit, 4-OH-benzoik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, protokateşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, fumarik asit, vanilin, pirokateşol, malik asit, sirinjik asit, hesperetin, naringenin, rutin, kersetin, kersitrin, apigenin, krisin, isokersitrin, apigetrin, rhoifolin, niktiflorin, fisetin, luteolin, mirisetin, kamferol tespit edilmiştir (Ersoy vd., 2019).

H. lanuginosum'un toprak üstü kısımlarının etil asetatlı, metanollü ve sulu ekstresinde; protokateşik asit, 3-kafeoilkinik asit, kinik asit, rutin, hiperozit, 1,3-dikafeoilkinik asit, kampferol, kersetin, apigenin-7-O-glukozit, biapigenin, amentoflavon bileşikleri tespit edilmiştir (Mahomoodally vd., 2019).

H. japonicum'un toprak üstü kısımlarının metanol ile hazırlanmış ekstresinden; kersetin-3-O-B-D-glukuronid, kersitrin, kersetin, hiperozit, I3,II8-Biapigenin, narenferin, dihidrokampferol, ramnositrin, amentaflavon, taksifolin 5,7,3',4'-tetrahidroksi-3-metoksiflavon, rutin, tetrametoksiflavon, koumaroilkinik asit izomeri 3-O-kafeoilkinik asit, 4-O-kafeoilkinik asit, kuinik asit, sinapik asit, koumaroilkinik asit izomeri dihidroksibenzoik asit-O-heksozit ve klorojenik asit izomeri izole edilmiştir (Peron vd., 2019). *H. quartianum* türünün yapraklarının kloroformlu ekstresinden; 9-hidroksi-

10,12,15-oktadeca-trienoik asit, 9-hidroksi-10,12-oktadekadienoik asit, şikimik asit, kersetin ve p-sitosterol izole edilmiştir (Fobofou vd., 2019).

İtalya'da yetişen ve çiçeklenme aşamasında toplanan *H. scruglii* ve *H. hircinum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının %70 etanollü ve metanol/fosfat tamponu (90 mM, pH 6,0) karışımı (1:1, h/h) ekstraktları analiz edildiğinde, klorojenik asit, hiperozit, kesretin ve şikimik asit tespit edilmiştir (Mandrone vd., 2017). *H. hircinum*'un toprak üstü kısımlarının %96 etanollü ekstresinden kolon kromatografisi ile alınan 6 fraksiyon üzerinde yapılan analizde, betulinik asit, shikimik asit, klorojenik asit, kersetin, 5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon ve 5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon-7-O-glukozit tespit edilmiştir (Mandrone vd., 2015).

H. undulatum'un filiz kültürlerinin ve yabani büyüyen türünün sulu ekstresinde; klorojenik asit, epikateşin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kersetin, 3-O-kafeoilkinik asit, 5-O-kafeoilkinik asit, 3-p-kumarilkinik asit, 4-O-kafeoilkinik asit, o-feruloilkinik asit, kateşin, mangiferin, kateşin-epikateşin dimer, epikateşin, rutin, mikuelianin, hiperozit, kersetin-pentozi, luteolin heksosid ve apigenin-7-O-glukozit tespit edilmiştir (Rainha vd., 2013).

H. perforatum L., *H. maculatum* Crantz, *H. tetrapterum* Fr., *H. erectum* Thunb., *H. humifusum* L., *H. monogynum* L., *H. kouytchense*, *H. canariense* L. türlerinin sürgün kültürlerinin analizi sonucunda, klorojenik asit, narenferin, amentoflavon, kersetin, rutin, hiperozit, izokersetin, kersitrin, kaempferol-3-O-glukozit ve emodin bileşikleri tespit edilmiştir (Bálintová vd., 2019).

2.2.7. Terpenler

H. chinense'nin köklerinin metanollü ekstresinden iki yeni meroterpenoid olan biyoulakton D-E izole edilmiştir (Tanaka vd., 2012). *H. patulumun*'un toprak üstü kısımlarından, prenile açılfloroglusinol ile ilişkili meroterpenoid olan hiperinoid A ve B izole edilmiştir (Jia vd., 2020).

Yunanistan'da yetişen endemik *H. kelleri* Bald'nin toprak üstü kısımları sırasıyla sikloheksan, diklorometan, metanol ve 5:1 (h/h) metanol-su karışımı ile masere edilmiş, kellerin A-B, 1,2-dihidro-3,8-dihidroksi-6-metoksi-1,1-bi(3-metilbut-2-enil)xanthen-2,9-dione (6-metilpatulone), (*R/S*)-1,3,5-trihidroksi-2-(3-metil-2-buten-1-yl)-4-[2-(3-metilbut-2-enil)-3-metilbut-3-enil]-6-metoksi-9H-xanthen-9-one ((2'*R/S*)-kellerine C), (*R/S*)-1,3,6-trihidroksi-5-metoksi-2-(3-metil-2-buten-1-yl)-4-[2-(3-metilbut-2-enil)-3-

metilbut-3-enyl]-11H-dibenzo[b,e] [1,4]dioxepin-9-o ((2'R/S)-creticine) bileşikleri izole edilmiştir (Mathioudaki vd., 2018).

H. riparium bitkisinin yapraklarının diklorometan-metanol (1:1, h/h) ile maserasyonundan chipericum E, hiperenon C ve hiperixanthone bileşikleri izole edilmiştir (Tala vd., 2015). *H. ascyron*'un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden; 3,4-seco-olean-13(18)-en-12,19-dion-3-oik asit olarak adlandırılan yeni bir 3,4-seco-oleanan tipi triterpenoid ve bilinen bir feiedelan tipi triterpenoid olan, friedelin izole edilmiştir (Chen vd., 2015).

Diğer çalışmalar: Çin'de yetişen *H. japonicum*'dan jacarellhyperols D adlı yeni bir bisksanton izole edilmiştir (Zhang vd., 2007). *H. sampsonii*'nin toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden 1,3-dihidroksi-5-metoksiksanton-4-sülfonat ve 1,3-dihidroksi-5-O-β-D-glikopiranosilksanton-4-sülfonat ksantonları izole edilmiştir (Hong vd., 2004).

H. ascyron'un toprak üstü kısımlarının etanollü, sulu ve kloroformlu ekstratlarından, 3,6-dihidroksi-1,7-dimetoksiksanton ve 5-kloro-1,6-dihidroksi-3-metoksi-8-metilksanton bileşikleri izole edilmiştir (Hu vd., 1999).

H. chinense'un yaprak ve gövdelerinden izole edilen altı adet ksanton; 1,3,7-trihidroksi-2-(2-hidroksi-3-metil-3-butenil)-ksanton, 1,7-dihidroksi-2,3-[200-(1-hidroksi-1-metiletil)-dihidrofurano]-ksanton, 1,3,7-trihidroksi-5-metoksiksanton, 1,7-dihidroksi-5,6-dimetoksiksanton, 4,5-dihidroksi-2,3-dimetoksiksanton ve 1,3-dihidroksi-2,4-dimetoksiksanton olarak verilmiştir (Tanaka ve Takaishi, 2006). Mısır'da yetişen *H. sinaicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden karmaşık bir adamantanil türevi olan, sinaicinone bileşiği izole edilmiştir (Řezanka ve Sigler, 2007).

2.2.8. Uçucu yağlar

Uçucu yağ *Hypericum* türlerinde yapraklar ve çiçekler üzerindeki şeffaf renkli guddeler içerisinde bulunmaktadır. Türlerde uçucu yağ verimi genellikle %1'den az olmakla birlikte (%0,1-%0,25); tam çiçeklenme aşamasında %0,35, çiçeklenmeden önce %0,12 ve meyvede iken %0,18 olarak bulunmuş, çiçeklenme aşamasında en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997).

Hypericum türlerinde en fazla bulunan uçucu bileşenler, monoterpenler (α -pinen, β -pinen, limonen ve mirsen) ve seskiterpenler (β -karyofillen ve karyofillenoksit)dir. Ayrıca uçucu yağda alifatik bileşiklerde (2-metil oktan, n-nonan, n-dekan, n-undekan, n-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan) bulunmaktadır (Crockett, 2010).

Uçucu bileşenlerin çiçek ve yapraklardaki biyosentezlerinde farklar olduğu, yapraklardan elde edilen uçucu bileşenlerden β -karyofillen ve karyofillenoksit konsantrasyonunun, çiçeklerdekine kıyasla fazla olduğu, buna karşın çiçeklerden elde edilen uçucu yağlarda ise dodekanol, spatulenol, viridiflorol, karotol ve tetradekanol'un fazla olduğu belirlenmiştir (Saddiqe vd., 2010).

Özellikle Hindistan ve Türkiye'de doğal olarak yetişen *H. perforatum*'un uçucu yağında ana bileşen α -pinen (>%60) (A. Çakır vd., 1997; Weyerstahl vd., 1995); Sırbistan ve Fransa gibi bazı ülkelerde yetişen *H. perforatum* türünün uçucu yağında ana bileşen karyofilen (Gudžić vd., 2001); Litvanya'da yayılış gösteren *H. Perforatum* türünün uçucu yağında ana bileşen β -karyofillen veya karyofillen oksit olarak bulunmuştur (Mockute vd., 2003). Özellikle *Drosanthe* seksiyonunda yer alan *Hypericum* türlerinin uçucu yağında α -pinenin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu söylenebilir (Yüce, 2009).

Türkiye'de *H. uniglandulosum* ve *H.lydium* Boiss uçucu yağlarındaki ana komponent α -pinen, ikinci sırada %19,2 değer ile undekanolarka tayin edilmiştir. *H.lydium* türünde undekan miktarı çok daha düşüktür (%1,7). *H. lydium* türünde ikinci sırada yer alan ana komponent ise β -pinendir (%19,2). β -pinen, *H. uniglandulosum* türünde %2,2 oranında bulunmaktadır (Yüce-Babacan ve Bağcı, 2017).

Hypericum cinsi uçucu yağları için majör ve karakteristik bir komponent olarak α -pinen içeren diğer türler; *H. hircinum*, *H. perforatum*, *H. hyssopifolium*, *H. heterophyllum*, *H. forrestii*, *H. apricum*'dur (Bağcı ve Yüce, 2010; Bertoli vd., 2000; A. Çakır vd., 2004; Couladis vd., 2001; Demirci vd., 2005). *H. myrianthum*, *H. scabrum* ve *H. dogonbdanicum* türlerinde α -pinen ve β -pinen yaygın olarak bulunmaktadır (Ferraz vd., 2005; Javidnia vd., 2008).

İtalya'nın Calabria bölgesinde yetişen *H. triquetrifolium* Turra uçucu yağının majör bileşenleri; n-nonan (yapraklarda: %8, çiçeklerde: %15), β -pinen (yaprak: %8, çiçek: %4), α -pinen (yaprak: %13, çiçek: %10), mirsen (yaprak: %16, çiçek: %5), β -karyofilen (yaprak: %5, çiçek: %11), germakren-D (yaprak: %10, çiçek: %13), sabinen (yaprak: %13, çiçek: %3) ve karyofilen oksit (yaprak: %5, çiçek: %12) olarak bulunmuştur (Bertoli vd., 2003).

Doğu Hindistan'ın endemik türü *H. gaitii* Haines yaprak ve taze dallarından hidrodistilasyon ile (%0,43) verimle sarımsı renkte uçucu yağ elde edilmiştir. α -pinen (%69,5), β -karyofilen (%10,5), sabinen (%5,6), mirsen (%3,0) ve geranil asetat (%2,0) ana bileşenlerdir. Uçucu yağın antioksidan aktiviteleri, DPPH•, ABTS•+ ve indirgeme

gücü olmak üzere üç farklı metotla değerlendirilmiş; BHT ve askorbik asit ile karşılaştırılan uçucu yağda orta derecede antioksidan aktivite tespit edilmiştir (Kamila vd., 2018).

Batı Romanya’da yetişen *H. perforatum*’un buhar distilasyonu yöntemi ile elde edilen uçucu yağın %0,41 kimyasal bileşiminde α -pinen %30,92, β -pinen %18,32 ve karyofilen bileşiklerinin %15,26 baskın olduğu görülmüştür. Bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi gıda kaynaklı yedi yaygın bakteri ve mantarlara karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Moleriu vd., 2017)

Orta ve Güneydoğu Avrupa’nın Akdeniz kıyılarında yayılım gösteren ve yaprak dökmeyen *H. aegypticum* subsp. *webbii*’nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstresinin kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi araştırıldığı bir çalışmada, orta düzeyde antimikrobiyal aktivite (100’den>200 $\mu\text{g/mL}$ ’ye kadar MİK) gösteren uçucu yağın başlıca bileşenlerinin α -pinen %63,4-%68,5 ve β -pinen %16,9-%17,0 olduğu görülmüştür (Marčetić vd., 2016).

Arnavutluk’un güneyindeki farklı *H. perforatum* L. popülasyonlarının toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinin yaygınlığı bakımından iki gruba ayrılmıştır. α -pinen bakımından zengin uçucu yağlar yedi popülasyonda ve trans-(E)-karyofillen ve karyofillen oksit bakımından zengin uçucu yağlar dört popülasyonda öne çıktığı tespit edilmiştir (Bardhi vd., 2015).

H. hyssopifolium Chaix. ssp. *hyssopifolium*’un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın seskiterpenler açısından zengin olduğu ve ana bileşenlerinin spatulenol (%19,5) ve tetradekanol (%10,2) ve dodekanol (%9,3) olduğu saptanmıştır. Ayrıca uçucu yağın beş farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış ve beş bakterinin dördüne karşı uçucu yağın orta düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Schwob vd., 2006).

H. hyssopifolium var. *microcalycinum* ve *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* Boiss. et Noe’den elde edilen uçucu yağlarının ana bileşeni karyofillen oksit olarak bulunmuştur. Her iki *Hypericum* türünün uçucu yağları, 60 ile 80 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda dokuz mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Toker vd., 2006).

2.3. *Hypericum* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Hypericum türleri içerdikleri çok farklı sekonder metabolitlerden dolayı birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. *Hypericum* türlerinin biyolojik aktiviteleri ve tedavide kullanımları ile ilgili yapılmış çalışmalar aşağıda verilmiştir.

2.3.1. Antioksidan aktivite

Hypericum türlerinin antoksidan kapasitesini araştırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Çiçeklenme döneminde toplanan *H. aegypticum*, *H. androsaemum*, *H. calycinum*, *H. hircinum*, *H. hirsutum*, *H. montanum*, *H. patulum* Thunb., *H. perforatum*, *H. perforatum*, *H. pubescens* Boiss., *H. tetrapterum* Fr. türlerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstralarının antioksidan aktivitesi, DPPH• ve oksijen radikali süpürücü antioksidan kapasite deneyleri ile analiz edilmiş; *H. perforatum* ve *H. androsaemum* ekstralarında yüksek antioksidan aktivite görülmüştür (Napoli vd., 2018).

H. perforatum'un fenolik içeriğinin ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmada, kafeolkinik asit, hiperozit, rutin, kersitrin, kersetin, I3, II8-biapigenin, amentoflavone, protopsödohiperisin, psödohiperisin, protohiperisin, hiperisin, hiperfirin, adhiperfirin, hiperforin, adhiperforintespit edilmiştir. *H. perforatum*'un DPPH• yöntemi ile analiz edilen fraksiyonlarının çoğunluğu, BHT, BHA'ya kıyasla yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Yüksek antioksidan aktiviteden flavonoidler ve fenolik asitlerin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Orčić vd., 2011).

H. perforatum'un %80 etanollü ekstresinin DPPH• ve süperoksit radikalini süpürücü antioksidan kapasitesi analiz edilmiş, türün ham polisakkaritlerin konsantrasyonuna bağlı olarak önemli antioksidan aktivitelere sahip olduğu ispatlanmıştır (Heydarian vd., 2017).

H. perforatum ve *Matricaria hamomilla* türlerinin fenolik bileşiklerin içeriği, LC-MS/MS yöntemiyle, ekstraların antioksidan aktivitesi ise CUPRAC yöntemi ile belirlenmiştir. Rutin ve apigenin, *M. Chamomilla* su ekstresindeki önemli flavonoidler iken, *H. perforatum* sulu ekstresinin baskın fenolik bileşikleri rutin, kateşin ve klorojenik asit olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, *H. perforatum* ekstresinin önemli ölçüde antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir (Sentkowska vd., 2016).

İtalya'da yetişen *H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *veronense*, *H. montanum*, *H. hyssoifolium*, *H. hirsutum*, *H. hircinum* subsp. *majus*, *H. Tetrapterum* türlerinin DPPH• üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri sonucu

metanol-aseton (1:1, h/h) ekstralarının, hafif ila orta derecede antioksidan aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir (Sagratini vd., 2008).

Balkanlarda yetişen *H. barbatum*, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. olympicum*, *H. richeri*, *H. rumeliacum*, *H. tetrapterum* ve *H. perforatum* türlerinin antioksidan aktivitelerinin incelendiği çalışmada; toplam antioksidan kapasitesi fosfomolibdenum yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. *H. perforatum*'un çiçekli kısımlarından hazırlanan ekstre ve *H. barbatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür (Radulović vd., 2007).

H. lanuginosum'un toprak üstü kısımlarının etil asetatlı, metanollü ve sulu ekstralarının antioksidan aktivitesi DPPH•, ABTS•+, FRAP, CUPRAC spektrofotometrik yöntemi ve fosfomolibdenum yöntemleriyle analiz edilmiş; sulu ekstrenin yüksek DPPH•, ABTS•+ sonucu yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit görülmüştür (Mahomoodally vd., 2019).

H. hircinum'un toprak üstü kısımlarının %96 etanollü ekstresinin ve fraksiyonlarının antioksidan kapasitesini belirlemek için DPPH•, ABTS•+, FRAP-FZf yöntemleri kullanılmış; kersetin, klorojenik asit ve 5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon içeren fraksiyonların en yüksek serbest radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu görülmüştür (Mandrone vd., 2015).

H. perfoliatum'un toprak üstü kısımlarının kloroform, kloroform-metanol (9:1, h/h) ve metanol ekstralarının antioksidan aktivitesi, DPPH• ile incelendiğinde; kloroform-metanol ve metanol ekstralarının antioksidan aktiviteye sahip (IC₅₀: 35 µg/mL'den az) olduğu, kloroform ekstresinin ise kayda değer bir antioksidan aktivite sergilemediği gözlenmiştir (Del Monte vd., 2015).

H. perforatum L., *H. maculatum* Cr., *H. hirsutum* L. ve *H. tetrapterum* Fr türlerinin metanollü ekstralarının antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmış; *H. maculatum* ve *H. perforatum*'un FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Gitea vd., 2018).

Ülkemiz için endemik *H. malatyanum* ve *H. neurocalycinum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstralarının antioksidan aktivitesi DPPH•, süperoksit, demir indirgeyici antioksidan etki (FRAP) ve lipid peroksidasyonunu inhibisyon yöntemleri ile test edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı yüksek bulunan *H. neurocalycinum*'un

metanollü ekstresinin dört yöntemde de standart kersetinin sonuçlarına benzer düzeyde yüksek aktivite tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018).

H. perfoliatum'un toprak üstü kısımlarının %80 metanollü ekstresinin serbest radikal süpürücü etkisi ile demir ve bakır iyonlarını indirgeme kapasitelerinin tayin edildiği çalışmada, ekstrenin bakır iyonlarını indirgeme kapasitelerinin yüksek antioksidan aktivite verdiği belirlenmiştir (Celep vd., 2017). *H. lydium* Boiss. türünün meyve ve çiçeklerinin metanollü ekstresinin orta derecede DPPH•'ı ve süperoksit radikalini süpürücü etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (Şerbetçi vd., 2012).

Türkiye'de yetişen *H. venustum*'un çiçeklerinin etanol ve su ekstresinin güçlü indirgeme gücü, serbest radikaller ve hidrojen peroksit temizleme aktivitesinin yanı sıra metal şelatlama yeteneğine sahip olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür (Spiteller vd., 2008).

Türkiye'de yetişen endemik *H. capitatum* Choisy var'ın toprak üstü kısımlarının metanollü, asetonlu, petrol eterli ve sulu ekstreleri; β -karoten soldurma, DPPH• serbest radikal süpürme, ABTS•⁺ katyon radikal süpürücü ve bakır indirgeyici antioksidan kapasite yönünden incelenmiştir. Metanollü ekstrenin bakır indirgeyici antioksidan deneyleri sonucu diğer ekstrele göre yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Boga vd., 2016).

Kaz Dağları'nda yetişen *H. perforatum*, *H. perfoliatum*, *H. kazdaghensis* Gemici&Leblebici (Endemik), *H. olympicum* L., *H. tetrapterum* Fries., *H. calycinum* L., *H. triquetrifolium* Turra, *H. montbretii* Spach türlerinin 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 (Yağan, 2012).

H. retusum bitkisinin toprak üstü kısımlarının farklı çözücülerde (metanol, etil asetat, petrol eteri ve hekzan) hazırlanan ekstrelerinin antioksidan etkileri araştırılmıştır. Antioksidan aktivite; DPPH• radikalini, hidroksi radikalini söndürme, indirgeme gücü ve metal şelatlama aktiviteleri ölçülerek belirlenmiştir. *H. retusum*'un ekstrelerinin yüksek DPPH• radikali süpürücü aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Akgöz, 2009). *H. origanifolium*'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinin yaşlanma karşıtı etkisinin

araştırıldığı çalışmada, ekstrenin belirgin düzeyde DPPH• radikalini süpürme ve β-karoten soldurma etkisi gözlenmiştir (Boran, 2018).

H. calycinum, *H. confertum* ve *H. perforatum* 'un çiçekli kısımlarının metanollü ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri DPPH•, ABTS•⁺ katyon radikal süpürücü, metal şelatlayıcı, üreaz inhibisyonu ve CUPRAC antioksidan aktivite yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Zengin fenolik içeriğe sahip olan *H. calycinum* 'un, tüm deneylerin sonucunda yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca sadece *H. calycinum* ekstresi düşük antiüreaz aktivitesi gösterirken, diğer türler üreaza karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir (Ersoy vd., 2019).

H. lyidium bitkisinin etanol ekstresinin antioksidan, mutajenik ve antimutagenik aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstrenin DPPH• radikalini etkili bir şekilde temizlediği ve β-karoten-linoleik asit soldurmasını önlediği tespit edilmiştir (Boran ve Ugur, 2017).

H. androsaemum ve *H. perforatum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının sulu ekstrelerinde antidepresan aktivite ve fare beyininde in vivo antioksidan aktivite Glutatyonda azalma (GSH) ve Süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD) ve Tiyobarbitürik asitle reaktif madde (TBARS) seviyelerinin ölçüldüğü çalışmada; sulu ekstrenin en yüksek dozunun depresyon semptomlarını önemli ölçüde azalttığı, normal davranışı geri kazandırdığı ve endojen antioksidan savunmaları arttırarak oksidatif stres seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir (Nabavi vd., 2018).

H. organifolium Willd, *H. montbretii* Spach ve *H. perforatum* L. çiçek ve yaprak ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH• ile radikal temizleme aktiviteleri ve Rancimat yöntemi ile oksidatif stabiliteleri açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar sentetik bir antioksidan olan BHT ve bir referans bitki olan *H. perforatum* ile karşılaştırıldığında; *H. organifolium*'un yaprak ekstrelerinin kontrol BHT'den, *H. perforatum* ve *H. montbretii* yaprak ve çiçeklerinden iki veya üç kat daha aktif olduğu bulunmuştur (Öztürk vd., 2009).

2.3.2. AChE ve BChE enzim inhibisyonu aktiviteleri

Nörodejeneratif hastalıklar, özellikle insan beynindeki nöronları etkileyen, tedavisi günümüzde mümkün olmayan, ilerleyici hastalıklardır. Beklenen ortalama yaşam süresi arttıkça toplumda nörodejeneratif hastalık görülme sıklığı da artmaktadır; fakat sadece yaşa bağlı olarak değil, genetik faktörlerin etkisiyle de ortaya çıkabilirler.

En yaygın olarak rastlanan ve en çok bilinen nörodejeneratif hastalıklar; Alzheimer, Parkinson, Huntington sendromu, Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) olarak sayılabilir. Bunların dışında başka birçok nörodejeneratif hastalık da mevcuttur.

Hypericum türlerinin nörodejeneratif hastalıklarda kullanımıyla ilgili birçok çalışma vardır. Nörodejeneratif hastalıklar çok ciddi sonuçları olan ve tedavisi olmayan hastalıklar olduğu için elde edilen olumlu sonuçlar tüm dünyada ilgiyle takip edilmektedir.

H. perforatum'un bileşiminde bulunan hiperforinin yapılan çalışmalarla nörotransmitter geri alım inhibitörü etkisinin olduğu, hücre içi sodyum ve kalsiyum seviyelerini arttırdığı, geçici reseptör protein kanonik kanal 6 (TRPC6)'yı aktive ettiği ve N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör antagonisti olduğu belirlenmiştir. Bu mekanizmalar nörodejeneratif hastalıklarda önleyici olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Ayrıca yapılan bir diğer *in vitro* çalışmada hiperforininamiloid- β plaklarını parçalama özelliği olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç hiperforinin özellikle Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılabilceğini göstermesi açısından son derece önemlidir (Griffith vd., 2010).

Hiperforince zengin standardize *H. perforatum* ekstresinin Parkinson hastalığı üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği çalışmada sıçanlara rotenon uygulanarak nörotoksisite meydana getirilmiş, daha sonra iki gruba ayrılan sıçanlardan ilk gruba %6 hiperforin içeren ekstre, diğer gruba ise %0,2 hiperforin içeren ekstre günde 4 mg/kg i.p. olarak uygulanmıştır. Buna göre, hiperforince zengin ekstre uygulanan grupta sinir harabiyetinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Del Rio vd., 2013).

H. perforatum'dan kersetin, kempferol ve biapigeninin izole edilerek bu maddelerin Parkinson hastalığı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, mitokondriyal membrana hasar vererek hastalığın mekanizmasında rol oynayan α -synuclein maddesinin birikimini azaltarak olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir (http-2).

H. perforatum ekstresinin mikroglial aktivasyonu arttırdığı, aynı zamanda amiloid- β birikimine bağlı toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir (Kraus vd., 2007).

Yarı sentetik bir hiperforin türevi olan tetrahidrohiperforinin Alzheimer hastalığı geliştirilen transgenik fare modellerinde nöroprotektif etkilerinin olduğu ve hastalığa bağlı hafıza kaybını önlediği saptanmıştır. Bu etkinin, hücre membranındaki TRPC3/6/7 kanal reseptörlerine agonist etkisiyle oluştuğu belirtilmiştir (Montecinos-Oliva vd., 2015). Tetrahidrohiperforinin hücre içinde Ca^{+2} konsantrasyonunu arttırarak daha güçlü sinaptik cevaplar sağlanmasına neden olduğu, bunun da amiloid- β oligomerlerden kaynaklanan dejenerasyonu önlediği belirlenmiştir (Ittner ve Götz, 2011; Nussbaum vd., 2013).

H. scabrum türünden izole edilen polisiklik açılfloroglusinol türevi bileşiklerin glutamat indüklü toksisite meydana getirilen beyin SK-N-SH hücrelerinde 10 µM konsantrasyonda belirgin nöroprotektif etkilerinin olduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (Gao vd., 2016b).

Alzheimer hastalığı ile ilişkili önemli bir nörotransmitter asetilkolin (ACh) dir. ACh, beynin bellek ile ilgili bölgelerinde önemli bir işleve sahiptir. Alzheimer hastalığında ACh azalması, bellek bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir. Alzheimer hastalığında temel sorun kolinerjik sistemdeki azalma ve glutamat toksisite artışı sonucunda nöron kaybı oluşmasıdır. Alzheimer hastalığında meydana gelen kolinerjik kaybın, depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerin hastalarda gözlenmesine neden olduğu belirtilmiştir (Grossberg, 2002).

Asetilkolini yıkan enzimler, asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimleridir. Bu enzimlerin inhibitörleri, Alzheimer tedavisinde kullanılmaktadır. Normal erişkin beyinde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmaktadır. Asetilkolinesteraz enzimi uyarılabilen tüm dokularda bulunurken, butirilkolinesteraz enzimi ise merkezi ve periferel sinir sistemi, karaciğer ve plazmada bulunmaktadır (Atay, 2014).

Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanımı ilk olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kanıtlanmıştır. Alzheimer hastalarındaki tedavi edici etkileri 6 ile 36 hafta arasındaki tedavi süresince incelenmiş ve bilişsel fonksiyonlarındaki artış gözlenmiştir. Kolinesterazların, hastalığı engelleyici ve nörolojik olarak koruyucu etkisinden dolayı, hastalığın ilk safhalarında da nörotoksisiteyi ve fonksiyonel komplikasyonları engellemesi Alzheimer hastalığının tedavisinde umut olmuştur (Ballı, 2019).

Türkiye’de yetişen *H. perforatum*’un toprak üstü kısımlarının etil asetat, metanol ve sulu ekstrelerinin in vitro nöroprotektif etkisinin incelendiği çalışmada, etanol ekstresi belirgin AChE (%49,54±4,44), etil asetat ekstresi ise belirgin BChE (%50,79±3,07) inhibisyonu, dolayısıyla anti-alzheimer aktivite göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada sadece metanol ekstresi düşük tirozinaz inhibisyonu göstermiştir (%19,21±1,44) (Altun vd., 2013).

H. uralum türünden izole edilen hiperuralon C ve D bileşiklerinin Ellman metoduyla asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, bileşiklerin orta derecede inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir (Zhang vd., 2015) Bir

başka çalışmada ise *H. cohaerens*'dan izole edilen hiperkokin K'nin asetilkolinesteraz aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir (Yang vd., 2015).

Llorent- Martínez vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'de yetişen *H. olympicum* L., *H. pruinatum* L. ve *H. scabrum* L. toprak üstü kısımlarının metanol ekstreleri, enzim inhibitör potansiyeli açısından araştırılmış; Ayrıca, ekstrelerde tespit edilen biyoaktif bileşiklerin enzimlerle etkileşimleri hakkında bilgi edinmek için moleküler docking etkileşimleri incelenmiştir. HPLC-ESI-MSⁿ analizleri, *H. olympicum* ekstresinin, ardından *H. scabrum* ekstresinin, en yüksek toplam fenolik içeriğe (38±1,0 mg/g DE) sahip olduğunu ve ana bileşenler olarak flavonoidlere sahip olduğunu göstermiştir. Ekstreler kolinesterazlara AChE ve BChE 0,56-2,03 mg/g ekstre galantamin eşdeğer, tirozinaz ve α -glukozidaza karşı belirgin enzim inhibitör etkisi göstermiştir. Sadece *H. olympicum* (61,32±3,27 mg/g QE) ve *H. pruinatum* (39,88±2,51 mg/g ekstre QE) ekstreleri, lipaz karşısında kayda değer bir önleyici etki gösterirken, test edilen tüm ekstreler α -amilaza karşı orta seviyede bir aktivite sergilemiştir. α -Glukozidaz enzimatik aktivitesinde en uygun etkileşimlere sahip olan fitokimyasallar hiperozit, mirisetin ve neo-klorojenik asit olarak bulunmuştur (Llorent-Martínez vd., 2018).

H. retusum Aucher'in çiçek, meyve ve tohum metanol ekstrelerinin antioksidan, antikanser, antikolinesteraz, antigenotoksik aktiviteleri ve fenolik içerikleri araştırılmıştır. Metanol ekstrelerinde protokateşik asit, kateşin, kafeik asit ve sirinjik asit miktarları HPLC-DAD ile belirlenmiştir. *H. retusum* tohum ekstresinin toplam fenolik içeriği, meyve ve çiçek ekstrelerinden daha fazla bulunmuştur. Çiçek ve tohum metanol ekstrelerinin DPPH• serbest radikal aktivitesi, kontrol olarak kullanılan BHT'ye yakın aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *H. retusum* 'un üç ekstresinden sadece çiçek metanol ekstresi HeLa ve NRK-52E hücrelerine karşı önemli sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca tohumun metanol ekstresi hem asetil hem de butirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi göstermiştir. En yüksek anti-genotoksik etkiler 25 ve 50 μ g/mL konsantrasyonlarında görülmüştür. Yapılan çalışmada ekstrelerin güçlü bir antioksidan ve anti-genotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Tohum ekstresinin meyve ve çiçek ekstrelerinden daha iyi olduğu tespit edilmiş ve sonuç olarak ekstrelerin antioksidan ve anti-genotoksik etkilerinin fenolik içeriklerine bağlı olduğu düşünülmüştür (Keskin vd., 2017).

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarının dietil eter ekstresinden izole edilen β -diketon, 2,6,9-trimetil-8-desen-3,5-dion ve 3,7,10-trimetil-9-undesen-4,6-dion

bileşiklerinden β -diketon ve 2,6,9-trimetil-8-desen-3,5-dion'un Alzheimer hastalığının semptomlarını azaltabilecek ilaçların gelişimi için β -ketoenol parçasına tekrar işaret eden 1.51 μM IC_{50} değerine sahip bir asetilkolinesteraz inhibitörü olduğu gözlemlenmiştir (Radulović vd., 2018).

Türkiye'de yetişen endemik türlerden ikisi olan *H. malatyanum* ve *H. neurocalycinum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstrelerinin AChE enzimini inhibe etme aktiviteleri sırasıyla 10 $\mu\text{g/mL}$ 'de $\%62,24 \pm \%1,81$ ve $\%85,78 \pm 4,11$ olarak bulunmuştur. *H. neurocalycinum* ekstresinin daha güçlü bir şekilde AChE inhibe edici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018).

Yapılan bir başka çalışmada, *H. androsaemum*, *H. undulatum* ve beş farklı lokasyondan toplanan *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin ve kersetin içeren sulu ekstreleri farklı konsantrasyonlarda AChE enzim aktivasyonu incelenmiş, IC_{50} değerleri *H. androsaemum* için $0,62 \pm 0,06$ ekstre/mL, *H. undulatum* için $0,70 \pm 0,02$ ekstre/mL, *H. perforatum* için ise $0,88 \pm 0,08$ ekstre/mL ile $1,79 \pm 0,37$ ekstre/mL arasında değişen sonuçlar bulunmuştur (Hernandez vd., 2010).

H. perforatum, *H. confertum* ve *H. calycinum* türlerinin çiçekli kısımlarının metanollü ekstrelerinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi incelenmiş; *H. calycinum*'un AChE'a karşı, *H. perforatum*'un ise BChE'a karşı yüksek enzim aktivasyonu gösterdiği tespit edilmiştir (Ersoy vd., 2020).

H. hircinum'un toprak üstü kısımlarının $\%96$ etanollü ekstresinin ve fraksiyonlarının kolajenaz aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, hem etanollü ekstre (IC_{50} değeri 156 $\mu\text{g/mL}$)'nin hem de flavonol ve flavanon içeren fraksiyonların *in vitro* ortamda kolajenaz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Mandrone vd., 2015).

Çiçeklenme döneminde toplanan *H. hircinum*'un toprak üstü kısımlarının, yüksek tetrahidroflavonol içeren $\%96$ etanollü ekstresinin, yüksek anti-kolajenaz aktivite (IC_{50} değeri 156 $\mu\text{g/mL}$) gösterdiği tespit edilmiştir (Mandrone vd., 2015).

2.3.3. Antimikrobiyal aktivite

Hypericum türlerinin antibakteriyel etkileri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalardan biri olan Panda vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada, *H. gaitii* Haines'in, aseton, su ve etanol ekstresinin *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Panda vd., 2017).

H. perforatum'un %80 etanolle hazırlanan ekstresi farklı konsantrasyonlarda; *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella Dysenteriae* bakterilerinde hücre duvarı yapısını bozarak, bu mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel aktivite göstermiştir (Heydarian vd., 2017).

Makedonya da yetişen *H. perforatum*'un köklerinin metanollü ekstreleri, *B. subtilis*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite sergilemiştir (Tusevski vd., 2018).

Türkiye'de geleneksel tıpta kullanılan üç endemik *Hypericum* türünden (*H. rupestre* Jaub. & Spach., *H. vacciniifolium* Hayek & Siehe. ve *H. imbricatum* Poulter) elde edilen sulu ve etanolik ekstrelerinin, metisiline dirençli *S. aureus*'u inhibe edebilme kabiliyetleri araştırılmıştır. En yüksek antibakteriyel aktiviteye *H. imbricatum*'un etanolik ekstresi olduğu tespit edilmiştir (Dulger ve Hacıoğlu, 2009).

H. atomarium Boiss. çiçeklerinden hazırlanan kloroform, metanol ve su ekstrelerinin *S. aureus*, *S. shominis*, *S. haemolyticus* ve *S. epidermidis* suşlarına karşı antibakteriyel etkileri incelendiğinde; çalışılan tüm izolatlar üzerinde farklı oranlarda, güçlü antibakteriyel etkisinin olduğu tespit edilmiştir. İzolatlar üzerinde en güçlü antibakteriyel etki kloroform ekstresinde gözlenmiş, en az etki ise su ekstresinde saptanmıştır (Önem ve Çevikbaş, 2018).

H. acmosepalum, *H. addingtonii*, *H. androsaemum*, *H. arnoldianum*, *H. beanii*, *H. bellum* ssp. *latisepalum*, *H. calycinum*, *H. curvisepalum*, *H. dummeri*, *H. foliosum*, *H. forrestii*, *H. frondosum*, *H. hidecote*, *H. hircinum*, *H. hircinum* ssp. *albimontanum*, *H. hircinum* ssp. *majus*, *H. hookerianum*, *H. kouytchense*, *H. lagarocladum*, *H. lancasteri*, *H. maclarenii*, *H. maculatum* ssp. *maculatum*, *H. moserianum*, *H. olympicum*, *H. patulum*, *H. prolificum*, *H. pseudohenryi*, *H. reptans*, *H. revolutum* ssp. *revolutum*, *H. stellatum*, *H. subsessile* ve *H. xylosteifolium*'un toprak üstü kısımlarının kloroform ve metanollü ekstrelerinin metisiline dirençli *S. aureus*'un klinik izolatına karşı aktiviteleri araştırılmıştır. 34 kloroform ekstresinin 33'ü, disk difüzyon analizinde önemli aktivite göstermiştir (Gibbons vd., 2002).

H. reflexum, *H. canariense* ve *H. grandifolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü, metanol-aseton (1:1, h/h) ekstrelerinin ve uçucu yağlarının; *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Candida albicans* suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri test edilmiştir. Bu üç *Hypericum* türünden elde edilen uçucu yağlar, *C. albicans*'a karşı ölçülebilir bir aktivite göstermiştir. Ekstreler 32 ila 128 mg/L arasında değişen MİK

değerleri ile *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı aktivite göstermiştir. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı mikrodilüsyon testleri tüm bitkiler için negatif sonuçlar vermiştir (Duan vd., 2018).

Türkiye'nin güneydoğusundan toplanan *H. scabrum* L., *H. lysimachioides* Boiss. var. *lysimachioides* ve *H. retusum* Aucher türlerinin etanol ekstralarının *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *P. aeruginosa*'ya karşı güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunmuştur. *H. scabrum*'un etanol ekstresi, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı en güçlü antimikrobiyal etkinliği göstermiştir (Barış vd., 2011).

H. caprifoliatum, *H. carinatum*, *H. connatum*, *H. ternum*, *H. myrianthum* ve *H. polyanthemum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstraları; *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* bakteri ve mantarlarına karşı değerlendirilmiş; *H. caprifoliatum*; *S. aureus* 'a karşı en yüksek aktiviteyi gösteren tür olmuştur. *B. subtilis*'e karşı sadece *H. polyanthemum* ve *H. ternum* ekstraları aktivite gösterirken; metanollü ekstralar *S. epidermidis*, *E. coli* ve *S. cerevisiae*'ya karşı aktivite göstermemiştir (Dall'Agnol vd., 2003).

H. pseudopetirolatum var. *kusianum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi, *M. luteus*, *Cryptococcus neoformans* ve *Trichophyton mentagrofiter*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tanaka vd., 2010).

Mukherjee vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada, *H. hookerianum*'un yaprak ve dallarının kloroform, aseton ve metanol ekstraları; *P. cepacia*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. coagulans*, *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiş, en yüksek aktivite metanol ekstresinde gözlenmiştir (Mukherjee vd., 2001).

H. yojiroanum'un metanollü ekstresinden izole edilen yojironins A-D, *Aspergillus niger*, *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *S. aureus* ve *B. Subtilis* karşı antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Mamemura vd., 2011).

H. barbatum, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. olympicum*, *H. richeri*, *H. rumeliacum*, *H. tetrapterum* ve *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstralarının *in vitro* antimikrobiyal aktvitesi; *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *A. niger* ve *C. albicans* bakteri ve mantarlarından karşı, disk difüzyon yöntemi kullanılarak taranmıştır. *H. hirsutum*'un metanollü ekstresi hem bakteri hem de mantarlara karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Radulović vd., 2007).

H. hyssopifolium var. *microcalycinum* ve *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* uçucu yağları; *E. coli* K12 *E. coli* PBR 322, *E. coli* PUC 9, *B. brevis*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *C. albicans* 60-80 µg/mL aralığında mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Toker vd., 2006).

Bazı endemik *Hypericum* türlerinin (*H. thymbrifolium* Boiss. &Noë, *H. spectabile* Boreau, *H. pseudolaeve* Robson, *H. neurocalycinum* Boiss., *H. malatyanum* Peşmen) ve *H. perforatum*'un petrol eteri, dietil eter, kloroform, aseton ve metanol ekstraları test edilen Gram pozitif bakterilere dirençli *S. aureus* ve *S. epidermidis* karşı aktivite gösterdiği gözlenmiştir. En yüksek aktivite, *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum*'un petrol eteri ve metanol ekstraları olmuştur (Özkan vd., 2019).

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan kloroform ve kloroform-metanol ekstraları, Gram (+) *B. cereus* (DSM 4313 ve DSM 4384 suşları) ve *S. aureus* 'a karşı, Gram (-) bakterilerden ise *E.coli* ve *P. aeruginosa* suşlarına ayrıca patojen *Chronobacter sakazakii* 'ye karşı da antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Del Monte vd., 2015).

Türkiye'de yetişen endemik *H. capitatum* Choisy toprak üstü kısımlarının metanollü, asetonlu ve petrol eterli ekstraları; *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı değerlendirildiğinde, petrol eterli ekstrenin *S. pyogenes* (Gram (+)), *P. aeruginosa* (Gram (-)) ve *C. albicans* üzerinde aktif; asetonlu ve metanollü ekstraların zayıf ve orta derecede antimikrobiyal aktivite; metanollü ekstrenin ise *E.coli*'ye karşı en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir (Boga vd., 2016).

Endemik *H. kazdagensis* yapraklarının kloroform, aseton ve metanol ekstralarının antibakteriyel aktivitesi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak ve gentamisinle karşılaştırılarak analiz edilmiş; *B. subtilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *P. aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium*, *S. aureus* suşlarına karşı tüm ekstralar antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Başaran Dülger ve Gonuz, 2005).

H. riparium yapraklarının diklorometan-metanol (1:1, h/h) ekstresinden elde edilen chipericumin E, hyperenone A, metoksixanthone, metoksixanthone, aurentiamideacetate bileşikleri, metisiline dirençli *S. aureus* 'a (MRSA) karşı orta derecede antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tala vd., 2015).

H. erectum köklerinin metanollü ekstresinden izole edilen erekrisin A-E, adotogirin veotogirin, *S. aureus*, *B. subtilis*ve *E. coli* suşları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri

açısından değerlendirilmiş; adotogirin ve otogirin maddelerinin, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı güçlü antibakteriyel ajanlar olduğu kanıtlanmıştır (Lu vd., 2016).

H. lydium'un çiçekli kısımlarının sulu ve etanollü ekstralarının *E. coli*, *S. aureus* ve 10 MRSA izolatlarına karşı potansiyel antibakteriyel aktivitesi mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmış; etanol ekstresinin minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri, *E. coli* ve *S. aureus* standart suşları için sırasıyla >1024 µg/mL ve 16 µg/mL olarak verilmiştir. MRSA izolatları, etanol özütü ile aynı konsantrasyonlarda (16-32 µg/mL) de inhibe edilmiştir. Su ekstresi herhangi bir antibakteriyel aktivite (MİK değeri>1024 µg/mL) göstermemiştir. (Aygül ve Şerbetçi, 2020).

H. rochelii Griseb ve *H. umbellatum*'un uçucu yağları, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. abony*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *A. niger* olmak üzere, beş bakteri ve iki mantar suşuna karşı mikrodilüsyon testinde; uçucu yağların orta derecede antimikrobiyal etkilere sahip olduğu görülmüştür (Dordević vd., 2013).

H. cardonae, *H. cuatrecasii*, *H. myricariifolium*, *H. humboldtianum*, *H. carinosum*, *H. laricifolium*, *H. garciae* toprak üstü kısımlarının metanollü ve kloroformlu ekstralarının dördü *C. albicans*'a (MİK 50<353,25 µg/mL) ve beşi *C. parapsilosis*'e (MİK 50 <1000 µg/mL) karşı aktivite göstermiştir. *H. garciae* bitkisinin metanol ve kloroformlu ekstraları *C. intermedia* ve *C. parapsilosis*'e karşı flukonazolden daha yüksek aktivite göstermiştir. Metanollü ekstre, *C. lusitaniae* ve *C. albicans*'a karşı sırasıyla 4 µl/mL ve 5 µl/mL ve *C. glabrata*'ya karşı 64 µl/mL şeklindeki MİK 50 µg/mL değerleriyle test edilen tüm türlere karşı aktivite göstermiştir. Kloroformlu ekstre ise *C. tropicalis*'e karşı flukonazolden daha yüksek aktivite göstermiştir (Tocci vd., 2018).

H. roeperianum'un yaprakları önce kloroform sonra metanolle ekstre edilmiş, *Caenorhabditis elegans*'a karşı önemli antelmintik aktivite göstermiştir. Aktiviteden 3-geranil-1-(20-metilbutanoil) –floroglucinolün sorumlu olduğu belirtilmiştir (Fobofou vd., 2015).

2.3.4. Sitotoksik Aktivite

Hiperisin, neoplastik hücre hatlarında sitotoksik etki gösteren ışığa duyarlı bir pigmenttir. Bu nedenle, fotodinamik tedavide yer alan bir antikanser ilacı olarak değerlendirilmektedir (Schempp vd., 2001). Kanser hücrelerine karşı *in vitro* ortamda güçlü antitümör aktivite gösteren hiperisinin, yüksek konsantrasyonlarda bile normal hücreler üzerine toksik etki göstermediği bildirilmiştir. Hiperisin, tümör oluşumu üzerinde etkili bir faktör olan, hücre büyümesini düzenleyen epidermal büyüme faktörü

reseptörlerini ve protein kinaz aktivitesini doğrudan inhibe etmektedir (Koç, 2012). *Hypericum* türlerinden elde edilen hiperforinin, matriks metalloproteinazların (MMP-2, MMP-9) aktivasyonunu önleyerek tümör hücrelerinin invazyon ve metastazını sınırladığı bildirilmiştir (Dell'Aica vd., 2007).

Türk halk tıbbında hala kullanılan *H. adenotrichum* Spach. ve *H. olympicum* L.'nin metanol ekstralarının, insan hematoma (Hep3B) ve sıçan glioma (C6) hücre hatları üzerinde doza bağlı bir şekilde büyümeyi önleyici/sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Ari vd., 2017).

Aydın yöresinde endemik olan 4 bitki *Crocus olivieri* ssp. *balansae*, *Scutellaria orientalis* ssp. *carica*, *Scrophularia floribunda* ve *H. adenotrichum* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen petrol eteri, etil asetat, diklormetan ve metanol ekstralarının HL-60 lösemi hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktiviteleri ile apoptotik ve nekrotik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *H. adenotrichum*'un hiperisin içermediği ancak psödohiperisin ve amentoflavon içerdiği, *H. adenotrichum*'dan elde edilen ekstraların araştırılan bitkiler arasında HL-60 hücrelerinin bölünmesi üzerinde en güçlü engelleyici etkiye sahip tür olduğu belirlenmiştir. Bitkinin bütün ekstraları yüksek oranda sitotoksik aktivite göstermiştir (Özmen, 2008).

H. lydiium Boiss. bitkisinin etanol ekstresinin antioksidan, mutajenik ve antimutagenik aktivitesinin ilk kez araştırıldığı bir çalışmada, Ames *Salmonella*/mikrozom test sonuçları, *H. lydiium*'un etanol ekstresinin test edilen konsantrasyonlarda (0,002-2 mg/plak) bakterilere toksik veya mutajenik olmadığını göstermiştir (Boran ve Ugur, 2017).

H. perforatum'un kültürlenmiş T24 ve NBT-II mesane kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, petrol eteri kullanılarak hazırlanan lipofilik ekstrenin, 4 ve 5 µg/mL kadar düşük konsantrasyonlarda apoptozu indüklediği görülmüştür (Skalkos vd., 2005).

Güney Brezilya'da yetişen *H. caprifoliatum* Cham. & Schlecht., *H. carinatum* Griseb., *H. connatum* Lam., *H. myrianthum* Cham. & Schlecht., *H. polyanthemum* Klotzschex Reichardt, *H. ternum*A. St. Hil. metanolik ekstraları, HT-29 kolon kanseri ve H-460 akciğer kanseri hücre hatlarına karşı antikanser aktiviteleri açısından incelenmiş ve *H. caprifoliatum*, *H. myrianthum* ve *H. ternum*'dan elde edilen ekstraların en yüksek aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Ferraz vd., 2005).

Hiperforin ve prosiyanidin B2'nin lösemi (K562 ve U937) hücrelerinin büyümesini inhibe etme kabiliyetinin incelendiği bir araştırmada, prosiyanidin B2'nin, lösemi hücre hatlarında (K562, U937) belirgin bir şekilde büyümeyi inhibe edici etkisi görülmüştür. Hiperforin ve hiperisin, lösemik hücre büyümesi üzerindeki inhibitör aktivitelerinde, sinerjistik etki göstermişlerdir. Hücre ölümü, apoptozla hiperforin ve prosiyanidin B2 ile 24 saatlik tedaviden sonra meydana gelmiştir (Hostanska vd., 2003).

Hiperforinin *in vivo* antianjiyogenik aktivitesini değerlendirmek için, sıçanlara deri altından MT-450 meme karsinomu hücreleri enjekte edilmiş ve hiperforin enjeksiyonları ile tedavi uygulanmıştır. Hiperforinin, tümör büyümesini inhibe ettiği, uyarılmış tümör hücrelerinin apoptozisini ve azalmış tümör vaskülarizasyonunu indüklediği görülmüştür. Bu çalışmanın verileri, hiperforinin, endotel hücreleri üzerinde doğrudan, toksik olmayan bir etki ile anjiyogenezi de baskılayabileceğini göstermektedir (Schempp vd., 2005).

H. annulatum'un toprak üstü kısımlarının hekzanlı ekstresinden izole edilen hiperannulatin A-E bileşiklerinin sitotoksitesisi; tümör hücre hatları olan HL-60, HL-60/DOX, MDA-MB, SKW-3 ve K-562 üzerinde MTT bazlı analizler kullanılarak belirlenmiş; Hiperannulatin A ve B'nin, kemosenitif hücre hatlarına karşı güçlü sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Nedialkov vd., 2018).

H. scabrum'un toprak üstü kısımlarının %95'lik etanollü ekstresinden elde edilen; hiperibrin E-G, sampsonione N, (2R,4R,6S)-2-benzoil-3,3-dimetil-4,6-bis(3-metilbut-2-en-1-ol) siklohexan-1-on, hipermongon B, hiperibon A, hiperibon G, sampsonion p ve 7-epiklusyanon bileşikleri parasetamol ile indüklenen HepG2 hücre hasarına karşı ve hepatoprotektif aktivite ilacı olan bisiklol ile karşılaştırılarak analiz edilmiş; Hiperibrin G, 7-epiklusyanon, (2R,4R,6S)-2-benzoil-3,3-dimetil-4,6-bis(3-metilbut-2-en-1-ol) siklohexan-1-on vesampsonione N bileşiklerinin, parasetamol ile indüklenen HepG2 hücrelerine karşı hepatoprotektif etkili olduğu tespit edilmiştir (Hu vd., 2017).

H. scabrum'un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden izole edilen hiperskabron J-M bileşiklerinin hepatoprotektif aktiviteleri, parasetamol kaynaklı HepG2 hücre hasarına karşı incelenmiş; hiperskabron K ve hiperskabron M'nin 10 µM'da önemli hepatoprotektif etki sergilediği gözlenmiştir (Gao vd., 2016a).

H. peplidifolium'un toprak üstü kısımlarının metanollü ve etanollü ekstraktlarından izole edilen; Peplidiforone A, Peplidiforone C, 4-metoksi-3-(2-metilbut-3-en-2-yl)-6-phenyl-2H-piran-2-on ve Petiolin J bileşikleri, HT-29 ve PC-3 kanser hücre dizilerine karşı sitotoksitesite açısından test edilmiş; metanol ve etil asetat ekstraktları, 50 µg/mL'lik

bir konsantrasyonda HT-29 için sırasıyla %54-%35 ve PC-3 için %48-%36 oranlarındaki büyüme inhibisyonu ile hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivite göstermişlerdir. Ancak izole edilmiş bileşiklerin hiçbiri, bu testlerde, önemli biyolojik aktiviteler sergilememiştir (Fobofou vd., 2016).

H. henryi 'den hazırlanan etil asetat ekstresinden izole edilen hyperhenones G-M, sampsonol F, hypercohone G bileşikleri insan tümör hücre hattına karşı incelenmiş; hypercohone G, A549 ve HeLa hücrelerine karşı inhibitör aktivite göstermiştir. Ayrıca hyperhenone J ve hypercohone G, 40 µM konsantrasyonda, A549 hücrelerinin metastazını baskılamıştır (Duan vd., 2018).

H. reflexum, *H. canariense* ve *H. grandifolium* 'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin, insan tümör hücre hatları (A375, MDA-MB 231 ve HCT 116) üzerindeki etkisi incelenmiş, *H. grandifolium* ekstresinin, HCT 116 üzerinde 4,64 µg/mL'lik bir IC₅₀ değeri ile önemli oranda antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Zorzetto vd., 2015).

Sarruo vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *H. perforatum* 'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 metanol ekstresinin sitotoksik aktivitesi, Caco-2 kolon kanseri üzerinde 0,01 ve 100 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda incelenmiş; sitotoksik etki, sadece en yüksek doz olan, 100 µg/mL konsantrasyonda gözlemlenmiştir (Sarruo vd., 2018).

H. scabrum 'un toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden izole edilen Hiperibrin A, Hiperibrin C ve Hiperibrin D bileşikleri, SK-N-SH hücrelerinde glutamat kaynaklı toksisite üzerinde önemli nöroprotektif etki göstermiştir. Hiperibrin C ve Hiperibrin D, parasetamol kaynaklı HepG2 hücre hasarına karşı orta derecede hepatoprotektif aktivite göstermiştir (Gao 2016a).

H. pseudohenryi 'nin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen pseudohenones A-G bileşikleri, HepG2 insan hepatokarsinom hücre hattı, Eca109 özofaguskarzinom hücre hattı, HeLa servikal kanser hücre hattı ve A549 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattında test edilmiştir. Pseudohenone F, Eca109 ve A549'a karşı orta düzeyde inhibitör aktiviteler (IC₅₀= 9,5 ve 6,2 µM) göstermiştir (Yang vd., 2017).

Çinde yetişen *H. ascyron* bitkisinden izole edilen ascyronone A, ascyronone C ve hypermongone B bileşikleri; HL-60, SMMC-7721, A549, MCF-7 ve SW480 insan tümör

hücre hatlarında test edilmiş ve bu bileşiklerin zayıf inhibitör aktivite sergiledikleri gözlenmiştir (Kong vd., 2017).

H. perforatum, *H. rumeliacum* ve *H. triquetrifolium* 'un metanollü ekstrelerinin sitostatik ve pro-apoptotik kapasitesi; HL-60 insan lösemi hücre hattı üzerinde tripan mavisi dışlama yöntemi, MTT analizi ve akış-sitometri analizi ile gerçekleştirilmiştir. Deney sonucunda, BCL2 ve BAX genlerinin mRNA ekspresyon seviyelerinde değişiklikler ile birlikte ekstrelerin nekrotik hücre ölümünü teşvik ederek önemli sitotoksik aktivite sergilediği gözlenmiştir (Sakavitsi vd., 2017).

H. riparium köklerinin metanollü ekstresinden izole edilen 7,7'-dihidroksi-8,8'-biskumarin ve 7,7'-dimetoksi-6,6'-biskumarin bileşiklerinin sitotoksik aktiviteleri, insan prostat kanseri hücre dizisi PC-3 ve kolon kanseri hücre dizisi HT-29'a karşı incelenmiştir. Bu çalışmada, söz konusu bileşiklerin, önemli bir sitotoksik aktivite sergilemediği gözlenmiştir (Tanemossu vd., 2014).

H. adenotrichum'un metanollü ekstresinin anti-tümör etkisi, insan meme kanseri hücre hatları olan MCF-7 ve MDA-MB-231 üzerinde MTT ve ATP canlılık testleri kullanılarak; genotoksik/anjiotoksik etkisi ise lenfosit kültürü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hücre ölüm şekli, floresan mikroskopisi ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Bitki ekstresi, hücre tipine bağlı olarak hem sitotoksik hem de genotoksik etki göstermiştir. *H. adenotrichum*, seçilen dozlarda (125-500 µg/mL), insan lenfositlerinde önemli genotoksik aktivite sergilerken, 0,2 ila 100 µg/mL konsantrasyonları arasında, kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etki göstermiştir (Sarimahmut vd., 2016).

H. brasiliense'in toprak üstü kısımlarının hekzanlı ekstresinden izole edilen japonisin A, uliginosin B ve izouliginosin B bileşiklerinin, OVCAR-03 (yumurtalık), NCI-ADR/RES (yumurtalığa dirençli) ve UACC-62 (melanom) insan tümör hücre hatlarına karşı, güçlü antiproliferatif aktivite gösterdiği gözlenmiştir (França vd., 2013).

H. ellipticum'un toprak üstü kısımlarının hekzanlı ekstresinden izole edilen elliptofenon A ve ksantonelliptoksanthon A-B bileşikleri, insan kolon kanseri hücre hatları (HT-29, HCT-116 ve Caco-2) ve normal insan kolon hücre hatları (CCD-18Co) kullanılarak sitotoksisite açısından değerlendirilmiş; test edilen bileşikler, normal kolon hücreleri ile karşılaştırıldığında, kolon kanseri hücrelerine karşı sitotoksik seçicilik göstermiş ve HCT-116 ve Caco-2 tümör hücrelerine karşı orta derecede sitotoksisite sergilemişlerdir (Manning vd., 2011).

H. riparium bitkisinin yapraklarının diklorometan-metanol (1:1, h/h) ekstresinden izole edilen chipericum E, hyperenone A, metoksixanthone ve aurentiamideacetate bileşikleri, insan mide hücre hattı BGC-823 üzerinde sitotoksik etki göstermiştir (Tala vd., 2015).

H. pamphylicum bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin sitotoksik aktivitesi, HeLa ve NRK-52E hücre hatları üzerinde MTT hücre canlılığı deneyi kullanılarak test edilmiş; metanol ekstresinin HeLa ve NRK-52E hücre hatlarına karşı sitotoksikite göstermediği tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2013).

H. sampsonii bitkisinin toprak üstü kısımlarının petrol eterli ekstresinden izole edilen sampsonol A-F bileşikleri *in vitro* sitotoksik, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteleri açısından incelenmiş; Sampsonol A ve B bileşikleri, 13-28 µM aralığında IC₅₀ değerleri ile, insan meme (MCF-7), hepatom (HepG2), kolon (HT-29) ve akciğer (A549) tümör hücre hatlarına karşı anlamlı sitotoksikite göstermiştir (Xin vd., 2012).

H. hookerianum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen hookeriones A-D bileşikleri; HL-60 insan miyeloid lösemi, SMMC-7721 insan hepatokarsinomu, A-549 akciğer kanseri, MCF-7 meme kanseri ve SW-480 insan pankreatikarsinomu tümör hücre hatlarına karşı MTT yöntemini kullanarak test edilmiş ve yeni izolatların hiçbirisi kanser hücre hatlarına karşı aktivite göstermemiştir (Ye vd., 2016).

H. ascyron toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden izole edilen hiperasikron A-H bileşiklerinin sitotoksik ve anti-HIV-1 aktiviteleri araştırılmış, Deney sonucunda, hiperasikron C ve hiperasikron G, sırasıyla 4,22 ve 8,36 µM IC₅₀ değerleri ile, HL-60 hücrelerine karşı önemli sitotoksik aktivite sergilemişlerdir (Zhu vd., 2015).

H. perforatum'un zeytinyağında masere edilmiş örnekleri, potansiyel sitotoksikitesi açısından, insan akciğer fibroblast (MRC-5) hücre hattı üzerinde test edilmiş; en yüksek test konsantrasyonunda (IC₅₀>128 µg/mL) bile MRC-5 hücre hattına karşı sitotoksik etkinin ortaya çıkmadığı görülmüştür (Orhan vd., 2013).

H. yojiroanum'un metanollü ekstresinden izole edilen yojironins A bileşiği, *in vitro* lenfositik lösemi (L1210) hücrelerine (IC₅₀ 4,1 µg/mL) ve insan epidermoidkarsinom KB hücrelerine (IC₅₀ 6,8 µg/mL) karşı sitotoksikite göstermiştir (Mamemura vd., 2011).

H. sampsonii'in toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden izole edilen ksantonlar, 1,3-dihidroksi-5-metoksiksanton-4-sülfonat ve 1,3-dihidroksi-5-O-b-D-

glikopiranosilksanton-4-sülfonat, P388 kanser hücre hattına karşı belirgin sitotoksosite sergilemişlerdir (Hong vd., 2004).

H. ascyron yapraklarının metanollü ekstresinden izole edilen tomoeone A-H bileşiklerinin çok ilaca dirençli (MDR) kanser hücre dizileri dâhil olmak üzere insan tümör hücre dizilerine karşı sitotoksitetleri araştırılmış; tomoeone F'nin (IC₅₀ değeri 6,2 µM), KB hücrelerine karşı belirgin sitotoksosite gösterdiği tespit edilmiştir. Tomoeone F'nin ayrıca doksorubisinden daha güçlü olan MDR kanser hücre hatlarına (KB-C2 ve K562/Adr) karşı sitotoksik etki gösterdiği de görülmüştür (Hashida vd., 2008).

H. androsaemum'un toprak üstü kısımlarının etanol:su (80:20, h/h) ekstresi, normal domuz karaciğer hücresine (400 µg/mL) karşı toksisite göstermezken; meme, akciğer, servikal ve hepatoselüler insan karsinom hücre hatlarının büyümesinde belirgin bir inhibisyon sağlamıştır (Jabeur vd., 2016).

H. pseudopetiolum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen joller J-M bileşiklerinin, lenfoma (L1210) hücrelerine ve insan epidermoidkarsinom KB hücrelerine karşı sitotoksosite sergilediği (her ikisi de IC₅₀> 10 µg/mL) gözlenmiştir (Tanaka vd., 2010).

H. sikokumontanum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen takaneone A-C ve Takaneol A-B bileşikleri, sitotoksitetleri insan kanser hücre hatlarında değerlendirilmiş; Takaneone B ve takaneol A bileşikleri, K562/Adr çoklu ilaca dirençli (MDR) kanser hücrelerine karşı nispeten güçlü ila orta düzeyde sitotoksosite göstermiştir (Tanaka vd., 2008).

H. pseudopetiolum'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen petiolin A-C bileşikleri, lenfositik lösemi (L1210) hücrelerine (sırasıyla IC₅₀ değerleri, 2,5, >10 ve 3,3 µg/mL) ve insan epidermoidkarsinom KB hücrelerine (IC₅₀ değerleri, 4,8, 9,6 ve 4,9 µg/mL) karşı sitotoksosite sergilemiştir (Tanaka vd., 2008).

H. roeperianum'ın yapraklarını kloroform ve metanollü ekstresinden izole edilen 10 yeni bileşiğin PC-3 ve HT-29 kanser hücre hatlarına ve MT-4 enfekte HIV hücre hattına karşı etkileri araştırılmış; bu bileşiklerden Empetrifranzinan C, Empetrifranzinan B, Empetrikarinol B, 3-geranyl-1-(2-metilbutanoyl)-phloroglucinol, zayıf sitotoksik etki göstermişlerdir (Fobofou vd., 2015).

%0,3 hiperisin ve %3,8 hiperforin içeren *H. perforatum*'un metanollü ekstresi, PC-3 insan prostat adenokarsinom hücre hattında test edilmiş; ekstrenin insan prostat kanseri hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Martarelli vd., 2004).

Nepal’de yetişen *H. japonicum*’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi, insan THP-1 monositik lösemi hücre hattına uygulanmış ve metanol ekstresi, kanser hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azaltmıştır (Peron vd., 2019).

H. japonicum toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen hiperjaponol A-I bileşiklerinin, iki insan tümör hücre hattı (HEL ve MDA-MB-231) üzerindeki sitotoksik etkileri MTT deneyi ile değerlendirilmiş, 3,53-18,7 μM IC_{50} değerleri ile HEL hücre hattına karşı iyi inhibitör aktiviteler gösterirken, MDA-MB-231 kanser hücre hattına karşı IC_{50} değerleri 4,92 ila 10,75 μM arasında orta sitotoksosite sergilenmiştir (Zhu vd., 2019).

H. attenuatum’un toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden izole edilen attenuatumione G-H, 1,7-dihidroksixanthone, 2-deprenylrheediaxanthone B ve Jacareubin bileşiklerinin insan tümör hücreleri olan Hep-G2, U2OS ve MCF-7 üzerindeki etkileri incelendiğinde attenuatumione H bileşiği, Hep-G2 ($\text{IC}_{50}= 9,11 \mu\text{M}$) ve MCF-7’ye ($\text{IC}_{50}= 16,24 \mu\text{M}$) karşı orta düzeyde; 1,7-dihidroksixanthone Hep-G2’ye karşı 5,32 μM IC_{50} değeri ile önemli sitotoksik aktivite göstermiştir (Zhou vd., 2016). *H. hookerianum*’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen hookeriones I-Q bileşikleri, ECA-109 hücre hatlarına karşı orta derecede sitotoksosite göstermiştir (Ye vd., 2019).

H. aucheri Jaub toprak üstü kısımlarının diklorometanlı ekstresinden izole edilen Aucherin A-C bileşikleri, MTT deneyi kullanılarak bir insan tümör hücre hattı üzerinde test edilmiş; test edilen tüm bileşikler, 19,6 ila 57,8 μM arasında değişen IC_{50} değerleri ile, orta derecede sitotoksosite sergilemiştir (Nedialkov vd., 2019).

H. elodeoides toprak üstü kısımlarının %95 etanollü ekstresinden izole edilen Hiperelodionlar A-C, HeLa ve MCF-7 hücrelerinin büyümesini inhibe ederek sitotoksik aktivite göstermiştir (Qiu vd., 2020). Bir akciğer hastalığı olan idiyopatik pulmoner fibroz (IPF) hastalığını tedavi etmek amacıyla yapılan çalışmada, hastalığın patogenezinde temel rol oynayan dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) nün inhibe edilmesi hedeflenmiştir. Bunun için *H. longistylum*’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden izole edilen 21 tane bileşiğin sitotoksitesisi üzerindeki etkisi, MTT analizi ile test edilmiştir. Deney sonucunda, bazı izolatların TGF- $\beta 1$ /Smad3 yolağını önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (Li vd., 2019).

2.3.5. Antidepresan Aktivite

Tarihin eski dönemlerinden beri bitkisel tedavide *H. perforatum*'un, antidepresan etkisi bilinmektedir. Bu yüzden, bitki üzerinde antidepresan etkisinin araştırıldığı çok fazla sayıda çalışma yapılmıştır. *Hypericum* ekstrelerinin antidepresan etkisinin, içerdiği hiperforin, hiperisin ve kersitrinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Çırak ve Kurt, 2014).

H. perforatum, Avrupa'da ve ABD'de hafif-orta şiddette depresyon tedavisi için yaygın olarak kullanılan popüler bir bitkidir. Araştırmalar, depresyon semptomlarını minimal yan etkilerle azaltmada etkili olduğunu ve aynı zamanda adet öncesi sendromda da faydalı olduğunu göstermiştir. Bitki bazı ilaç etkileşimleri olmasına rağmen yüksek bir güvenlik profiline sahiptir (Cass, 2003). Yapılan çalışmalarda, WS 5572, LI 160, WS 5570 ve ZE 117 *Hypericum* ekstrelerinin, standart antidepresan ilaçlara kıyasla benzer etkinlik ve daha iyi tolere edilebilirlik ile plaseboya göre anlamlı derecede daha etkili olduğu gösterilmiştir (Kasper vd., 2010).

Sulu etanollü *H. perforatum* ekstresi ile tedavinin, depresyon hastalarında klasik antidepresanlara benzer bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Gambarana vd., 1999). Son yıllarda diğer antidepresanlar ile kıyaslanabilir klinik etkisi ve az sayıda yan etkisi nedeniyle *H. perforatum*'dan hazırlanan ekstreler, depresyon tedavisi için önemli bir seçenek haline gelmiştir. Psychotonin, Jarsin, ZE117, WS 5572, LI 160 gibi ticari preparatlar ile yapılan klinik çalışmalarda, bitkinin antidepresan etkilerinin, plaseboya göre daha üstün olduğu ortaya konmuştur (Can vd., 2009).

Randomize, çift-kör, plasebo-kontrollü bir çalışmada, iki farklı *H. perforatum* ekstresinin klinik etkinliği ve güvenliği, DSM-IV kriterlerine göre hafif veya orta şiddetli depresyondan muzdarip 147 erkek ve kadın üzerinde incelenmiş ve sonuçlar bitkinin hafif ve orta şiddetli depresyondaki terapötik etkisinin, hiperforin içeriğine bağlı olduğunu göstermiştir (Laakmann vd., 1998).

Klinik veriler, *H. perforatum*'un sulu etanol ekstrelerinin, hafif-orta şiddette depresyonda, daha az yan etkiyle, konvansiyonel antidepresanlar kadar etkili olabileceğini göstermektedir. Farklı hiperforin içeriği olan iki ekstre kullanılarak yapılan bir klinik denemede de hiperforinin antidepresan aktiviteden sorumlu ana aktif bileşen olduğu gösterilmiştir. Kemirgenlerdeki davranış modelleri, *Hypericum* ekstrelerinin, ayrıca saf hiperforinin ve hiperisinin antidepresan benzeri etkisini doğrulamaktadır. Hiperforin içermeyen hidroalkolik ekstrede, antidepresan benzeri bir etki gözlenmemiştir

(Mennini ve Gobbi, 2004) Yapılan başka bir çalışmada hiperforinin, *H. perforatum*'un antidepresan benzeri aktivitesinde önemli bir rol oynadığı görüşünü desteklemektedir (Cervo vd., 2002).

Beşi plasebo kontrollü, %50 veya %60 etanol ile suda hazırlanan ekstrelere dayanan on çalışmadan, beş vakanın hepsinde, *Hypericum* ekstresinin önemli ölçüde etkili olduğu gösterilmiştir. *Hypericum* ile elde edilen sonuçların imipramin veya fluoksetin ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu görülmüştür. Dört farklı sentetik antidepresanla yapılan beş karşılaştırmalı çalışmada, amitriptilin altı haftalık tedaviden sonra *Hypericum*'dan önemli ölçüde üstünken, kalan dört çalışmada *Hypericum* ve diğer sentetikler arasındaki tedavi sonuçlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Schulz, 2002).

Klinik ve deneysel çalışmalar, *H. perforatum*'un geleneksel antidepresanlara benzer özelliklere sahip olduğunu gösterebilir. Birden fazla etki mekanizması önerilmektedir. Serotonin, noradrenalin ve dopaminin geri alımının seçici olmayan blokajı; serotonerjik ve dopaminerjik reseptörlerin yoğunluğunda artış ve GABA erjik reseptörler için artan afinite; ayrıca, monoaminoksidaz enzim aktivitesinin inhibisyonu söz konusu mekanizmalar arasındadır. Her durumda, sinaptik aralıkta kimonoamin konsantrasyonlarının artması, klinik olarak uygulanan antidepresanların etkilerine benzemektedir (Rodríguez-Landa ve Contreras, 2003).

Farmakokinetik verilere ve bağlanma çalışmalarına göre, *Hypericum* ekstresinin antidepresan etkisinin, hiperisinin merkezi nörotransmitter reseptörleri ile etkileşimi nedeniyle muhtemel olmadığı anlaşılmaktadır. Hiperforinin ana *in vitro* etkileri spesifik olmayan presinaptik etkilerdir. Bu birçok nörotransmitterin alımının seçici olmayan şekilde inhibe edilmesine ve dopamin D1 ve opioid reseptörleri ile etkileşime neden olmaktadır (Mennini ve Gobbi, 2004).

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Hypericum thymopsis Boiss. (Hypericaceae) 2014 temmuz ayında Sivas-Kangal-Gürün yakınından toplanmış, teşhisi Doç. Dr. Mehmet TEKİN tarafından, “Flora of Turkey and the East Aegean Island” adlı eser temel alınarak ve ilgili literatürlerden faydalanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitkinin herbaryum örneği Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Herbaryumu’nda kayıt altına alınarak saklanmaktadır. *H. perforatum* L. ise 2015 temmuz ayında Ankara Kızılcahamam Kurtboğazi barajı 200 m Pinus-Cedrus Ormanı yakınlarından toplanmış, herbaryum örneği Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu’nda kayıt altına alınarak saklanmaktadır (Çizelge 3.1). *H. thymopsis* Boiss. çiçekli görseli verilmiştir (Görsel 3.1).



Görsel 3.1. *H. thymopsis* Boiss. çiçekte (Kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN)

Çizelge 3.1. Çalışılan türlerin lokalitesi, toplanma tarihleri ve herbaryum kayıt numaraları

	Herbaryum Kayıt No	Tarih	Toplanan Yer
<i>H. thymopsis</i> Boiss.	Tekin 1625	05.07.2014	B6 Sivas: Sivas-Kangal-Gürün yol ayrımı, 1560 m (Toplayan Doç. Dr. Mehmet TEKİN)
<i>H. perforatum</i> Linn.	HÜEF 14028	20.07.2015	A4 Ankara: Kızılcahamam Kurtboğazi barajı 200m Pinus-Cedrus Ormanı (Toplayan Dr. Öğr. Üy. Tuncay AĞAR)

3.2. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.2.1. Kimyasal maddeler

EDTA	(SigmaAldrich, Almanya)
Ferrozin	(Fluka, Almanya)
FeCl ₂	(SigmaAldrich, Almanya)
K ₄ [Fe(CN) ₆].3H ₂ O	(SigmaAldrich, Almanya)
FeCl ₃	(SigmaAldrich, Almanya)
Gallik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Sverozit	(SigmaAldrich, Almanya)
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Kafeik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Klorojenik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Sirinjik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
<i>o</i> -Kumarik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
<i>p</i> -Kumarik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Ferulik asit	(SigmaAldrich, Almanya)
Butilhidroksitoluen	(SigmaAldrich, Almanya)
Folin-Ciocalteu's Reagent	(SigmaAldrich, Almanya)
ABTS ^{•+}	(SigmaAldrich, Almanya)
DPPH [•]	(SigmaAldrich, Almanya)
Galantamin	(SigmaAldrich, Almanya)
Donepezil	(SigmaAldrich, Almanya)

ATC	(SigmaAldrich, Almanya)
BTC	(SigmaAldrich, Almanya)
DTNB	(SigmaAldrich, Almanya)
AChE	(SigmaAldrich, Almanya)
BChE	(SigmaAldrich, Almanya)
Potasyum dihidrojen fosfat	(SigmaAldrich, Almanya)
1X TaqBuffer	(SigmaAldrich, Almanya)
2,2'-Dithiobis (5-nitropyridine) (DNTP)	(SigmaAldrich, Almanya)
Potasyum hidroksit	(SigmaAldrich, Almanya)
Dimetilsülfoksit (DMSO)	(SigmaAldrich, Almanya)
Sodyum hidrojen karbonat	(SigmaAldrich, Almanya)
Jelatin	(SigmaAldrich, Almanya)
Metanol	(SigmaAldrich, Almanya)
Etanol	(SigmaAldrich, Almanya)
Etil asetat	(SigmaAldrich, Almanya)
Hekzan	(SigmaAldrich, Almanya)

3.2.2.Cihazlar

Shimadzu Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) sistemi ve SPD DAD dedektör	(Shimadzu Kyoto, Japonya)
H1 mikroparka okuyucusu	(Biotek, Amerika)
Spektrofotometre	(Shimadzu Kyoto, Japonya)
Precision XS robotik sistemi	(Biotek, Amerika)
Su banyosu	(Nüve BM 302, Türkiye)
Vorteks	(IkaGenius 2, Almanya)
Rotavapor	(Buchi, Switzerland)
Liyofilizatör	(Labconco, Kansas City USA)
Hassas Terazı	(Shimadzu-AEX 200G)

3.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Etil asetat, metanol ve sulu ekstrelerinin hazırlanması; Gölgede kurutulmuş *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un toprak üstü kısımları (50 g) mekanik öğütücüde öğütülüp, sırası ile 200'er mL etil asetat, metanol ve su ile mekanik çalkalayıcıda her biri 8 saat boyunca maserasyona tabi tutulmuştur. İşlemler her örnek için 3 kez tekrarlanmıştır. Karışım mikrofiltreden geçirilerek (0,45 µm) partiküllerinden arındırılmış, elde edilen etil asetat (HTEA, HPEA) ve metanol (HTME, HPME) ekstreleri, rotavaporda 40 °C'yi geçmeyecek sıcaklıkta çözücülerinden uzaklaştırılmış, sulu ekstre (HTS, HPS) ise -20 °C'de dondurularak ve liyofilize edilmiştir (Altun vd., 2013). Ekstreler deneyde kullanılincaya kadar 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Apolar bileşiklerin ekstraksiyonu: drog (50 g) mekanik öğütücüde toz haline getirildikten sonra 200 mL metanol ile çalkalayıcıda 8 saat masere edilmiş (işlem 3 kez tekrarlanmıştır), filtre kağıdından süzülen ekstre rotavaporda 40 °C de alçak basınç altında yoğunlaştırılmıştır. Daha sonra ekstre 250 mL su ile çözülmüş ve hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur (işlem 3 kez tekrarlanmıştır). Elde edilen hekzanlı ekstre (HTHE, HPHE) susuz sodyum sülfattan süzülerek 40 °C de rotavaporda çözücüden yoğunlaştırılmıştır. Kalan sulu ekstre (HTSU, HPSU) ise -20 °C'de dondurularak, liyofilize edilmiştir. *H. thymopsis*'in hekzan ekstresinin verimi %4,06, *H. perforatum*'un %5,26 olarak hesaplanmıştır (Tanaka vd., 2010).

%70 Metanol ile ekstraksiyon; Droglar mekanik öğütücüde toz haline getirilerek kartuşa konmuş ve klorofil ve apolar bileşiklerinin uzaklaştırılması için Soxhlet apareyinde petrol eteri ile 8 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. İşlemden sonra kartuşda drog (13,85 g) üzerine 150 mL %70 metanol:su çözeltisi eklenerek, 40 °C de ultrasonik su banyosunda masere edilmiş, bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Daha sonra süzüntüler birleştirilerek 40 °C de rotavaporda metanol uzaklaştırılmış, kalan sulu kısım -20 °C'de dondurulduktan sonra liyofilize edilmiştir. *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un %70 metanollü ekstre (HT%70ME, HP%70ME) verimleri sırasıyla %24,73 ve %22,97 olarak hesaplanmıştır.



Görsel 3.2. *Rotavapor*

Etanol ile ekstraksiyon; H. thymopsis'in toprak üstü kısımlarından 20 g tartılmış, mekanik öğütücüde toz haline getirilmiş. Üzerine 200 mL %50 etanol çözeltisi eklenerek 40 °C de ultrasonik su banyosunda masere edilmiştir. Bu işlem 4 kez tekrarlanmıştır. Çözücüler birleştirildikten sonra 40 °C de rotavaporda etanol uzaklaştırılmış, kalan sulu kısım -20 °C'de dondurularak, liyofilize edilmiştir (HT%50ET ekstre verimi %14,7)

İnfüzyon hazırlanması; H. thymopsis ve *H. perforatum* toprak üstü kısımlarından 10'ar g tartılmış, mekanik öğütücüde toz haline getirildikten sonra 200 mL ditile su ile 1 saat su banyosunda ekstre edilmiş, işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Süzüntüler -20 °C'de dondurularak, liyofilize edilmiştir. *H. thymopsis* ve *H. perforatum* sulu ekstre (HTİNF, HPİNF) verimleri sırasıyla %23,80 ve %20,04 olarak hesaplanmıştır.

Uçucu Yağ Eldesi; H. thymopsis ve *H. perforatum* toprak üstü kısımlarından 100 g tartılmış, mekanik öğütücüde toz haline getirilmiş ve Clevenger apareyi kullanılarak 3 saat su distilasyonuna tabi tutulmuştur (European Pharmacopoeia, 2005). Distilasyon sonunda yüzde verim değerleri *H. thymopsis*, *H. perforatum* için sırasıyla HTUY %0,10, HPUY %0,28 olarak hesaplanmıştır.



Görsel 3.3. Clevenger aпараты

3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Polifenolik bileşikler, yapıları gereği taşıdıkları fonksiyonel gruplardan dolayı elektron ve hidrojen verebilme kapasitesine sahip en önemli antioksidan bileşiklerdir. Bu gruplar onlara polar olma özelliği katarken antioksidan özelliklerini artırır, aynı zamanda da serbest radikalleri ve oksitleyici grupları elimine ederler.

Yöntemin temeli; fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifinde bulunan fosfotungstik ve fosfomolibdrik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucu oluşan mavi renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun 750 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanan Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemine göre yapılmıştır (Singleton vd., 1999; Vinson ve Hontz, 1995).

H. thymopsis ve *H. perforatum*'dan hazırlanan farklı polaritedeki ekstraktlar ve standart gallik asit %50'lik metanolde çözülmüştür (0,5 mg/mL). Reaksiyon için, 0,5 mL örnek, 2,5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 7,5 mL sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, a/h, suda) karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltilerin absorbans değerleri 750 nm'de spektrofotometrede okunmuş, aynı işlem gallik asit'in 5 farklı konsantrasyonu için yapılarak, gallik asit kalibrasyon grafiği çizilmiş, elde edilen kalibrasyon eşitliği ($y=4,7025x+0,0086$ $R^2=0,9968$) kullanılarak,

toplam fenol miktarı gram ekstrede mg gallik asite eşdeğer (mg GAE/g ekstre) olacak şekilde hesaplanmıştır.

3.5. Toplam Flavonoid Miktarı

Çalışılan ekstrelerin toplam flavonoid miktarları kolorimetrik alüminyum klorür yöntemi ile standart olarak rutin kullanılarak belirlenmiştir (Miliauskas vd., 2004).

1 mL test çözeltisi ile 0,3 mL NaNO₂ (%5, a/h) ile karıştırıldı ve 5 dk bekledikten sonra 0,5 mL AlCl₃ (%2, a/h) ilave edildi, 6 dakika sonra 0,5 mL 1 M NaOH çözeltisi ile nötralize edilmiştir. Karışım 10 dakika oda sıcaklığında bırakıldı, Sonuçlar 510 nm’de UV-spektrofotometrede okunmuştur, aynı işlem rutin’in 5 farklı konsantrasyonu için yapılarak, rutin’in kalibrasyon grafiği ($y=5,0463x+0,0717$ $R^2=0,9998$) çizilmiş, ekstrelerin toplam flavonoid miktarları bu kalibrasyon eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmıştır (Pękal ve Pyrzynska, 2014).

3.6. YBSK ile Fenolik Asitlerin Miktar Tayini

Ters faz analitik kolon ve gardient elüsyon kulanılarak ayrılan fenolik bileşiklerin YBSK-DAD sisteminde, tutunma zamanları ve UV spektrumları kontrol edilerek *Hypericum* türlerine ait ekstreler içindeki fenolik asitlerin teşhisleri gerçekleştirilmiş ve miktar tayinleri yapılmıştır (Öztürk vd., 2007).

YBSK-DAD Analiz Şartları

Cihaz:	Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)
İşlemci:	Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Pompa:	Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Kolon:	INERTSIL ODS3-C ₁₈ kolon (100 mm, 4,6 mm i.d., 3 µm partikül çapı) (GL SciencesInc.)
Degazer:	DGU-20A ₅ (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Enjektör:	SIL-20A (Shimadzu, Japan)
Dedektör:	SPD-M 20A (Shimadzu, Kyoto, Japan), 280 nm
Akış hızı:	1,0 mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

Gradient sistem: **Hareketli Faz A:** Metanol: su: formik asit (10:88:2, h/h/h)

Hareketli Faz B: Metanol: su: formik asit (90:8:2, h/h/h)

Gradient program: 0'dan 15 dk %15 B'ye, 6 dk %15 B'de devam etmiş, %15'den %50 B'ye 10 dk'da, %50'den %100 B'ye 5 dk'da arttırılmış ve 6 dk'da başlangıç konsantrasyonuna dönmüştür (Analiz süresi 42 dk) (Öztürk vd., 2007).

3.7. YBSK ile Hiperisin ve Psödohiperisin Miktar Tayini

Hiperisin ve psödohiperisin miktar tayini için ekstraksiyon; 2,50 g öğütülmüş drog klorofil ve diğer apolar bileşikler için Soxhlet apareyi ile 5 saat boyunca 150 mL kloroform (CHCl₃) ile ekstre edilmiştir. Kartuşdaki drog kurutulmuş, 0,25 g tartılmış ve 20 mL metanol ile 64 °C'de su banyosunda 1 saat boyunca ekstre edilmiştir. Daha sonra metanol ile 25 mL hacme tamamlanmıştır (HTHP, HPHP) (Bagdonaite vd., 2012).

Her iki bitki ekstratlarının içerdiği hiperisin ve psödohiperisin miktarları, ters-faz C₁₈ kolon ve izokritik sisteminde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Diyot Dizisi Dedektör (YBSK -DAD) ile belirlenmiştir.

YBSK-DAD Analiz Şartları

Cihaz: Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)

İşlemci: Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Pompa: Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Kolon: INERTSIL ODS3-C₁₈ kolon (150 mm, 4,6 mm i.d., 3 µm partikül çapı) (GL SciencesInc.)

Degazer: DGU-20A₅ (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Enjektör: SIL-20A (Shimadzu, Japan)

Dedektör: SPD-M 20A (Shimadzu, Kyoto, Japan), 590 nm

Akış hızı: 1,0 mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

İzokritik sistem: Etil asetat/ 15,6 g NaH₂PO₄ (Fosforik Asitle pH 2) / Metanol (39:41:160, h/h/h) (Analiz süresi 25 dk) (Eroğlu Özkan vd., 2018).

Ekstrelerin hiperisin ve psödohiperisin pikleri, standart hiperisin ve psödohiperisin piklerinin tutunma zamanı ve UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Miktar tayinleri, standart hiperisin ve psödohiperisinin kalibrasyon eşitlikleri üzerinden gerçekleştirilmiştir (Bagdonaite vd., 2012).

3.8 GK-KS/AID ile Uçucu Yağ Bileşimi Tayini

Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü (Agilent- SantaClear, USA) ve Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (Agilent- SantaClear, USA) teknikleriyle aydınlatılmış, her iki analiz için de HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0,25 mm, 0,25 µm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Sıcaklık programı; fırın 60 °C’de 10 dakika kaldıktan sonra, 220 °C’ye dakikada 4 °C’ye ile çıkıp, 220 °C’de 10 dakika kalıp, 240 °C’ye dakikada 1 °C ile çıkmak üzere programlanmıştır. Split oranı 40:1 olarak seçilmiş. Alev iyonlaşma detektörü ve enjektör 250 °C de tutulmuştur. Kütle spektrumu 70 eV, kütle aralığı 35-450 *m/z* olarak seçilmiştir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanması; tutunma zamanları, kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine göre değerlendirilmiştir. Wiley GK-KS/AID kütüphanesi (Wiley, New York, NY, USA), Mass Finder 4.0 yazılımı (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg), Adams kütüphanesi, NIST kütüphanesi ve Başer Uçucu Bileşikler Kütüphanesi kaynak olarak kullanılmıştır. Madde miktarların belirlenmesinde, alev iyonlaşma dedektöründen elde edilen piklerin yüzde alanları kullanılmıştır.

3.9. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.9.1. DPPH• radikali zerinden serbest radikal süpürücü etki

Kararlı bir radikal olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikali bir elektron veya hidrojen kabul eder. Antioksidanların, DPPH• radikale bir hidrojen atomu verme yetenekleri üzerinden süpürücü etki gösterdikleri düşünülmektedir. Bu yöntem ile antioksidanların stabil DPPH• radikalini, indirgenmiş DPPH• (DPPH• -H) formuna

getirme yetenekleri değerlendirilir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında kısa zamanda sonuç veren bir yöntemdir (Molyneux, 2004).

DPPH• radikali, metanollü çözeltilerde okside formunda yaklaşık 517 nm de maksimum absorbansa sahip bir kimyasaldır. Bu metot basit, hızlı ve birçok örneğin radikal süpürme aktivitesini izlemek için farklı örneklerin çözünürlüklerine elverişli bir metot olarak tarif edilir. Ancak ışığa, oksijene ve kirliliğe olan hassasiyeti bu metodun kullanımda belli oranda sınırlamalara sebebiyet vermektedir (Moğ vd., 2011).

Test edilen ekstrelerden hazırlanan çözeltilerin DPPH• üzerinden serbest radikal süpürücü etkileri Sanchez-Moreno vd. (1998) metodu modifiye edilerek tayin edilmiştir (Sánchez-Moreno vd., 1998).

Metanol içerisinde hazırlanmış $9,6 \times 10^{-4}$ mg/mL konsantrasyondaki örnek çözeltilerinden 0,4 mL alınarak, üzerlerine metanolde hazırlanmış 3 mL DPPH• (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek vortekste 30 sn karıştırılmış ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 517 nm’de absorbans değerleri kaydedilmiş, serbest radikal süpürücü etki aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

Radikal süpürücü etki (% inhibisyon) konsantrasyona karşı korele edilmiştir. Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmış, pozitif kontrol olarak BHT ve kersetin kullanılmıştır.

3.9.2. ABTS^{•+} radikal katyon renksizleştirme yöntemi

Reaktif çözeltisinin hazırlanması; 10 mL 7 mM ABTS^{•+} çözeltisi ile 176 µL 140 mM K₂S₂O₈ karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletilmiştir. ABTS^{•+}’in potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucunda ABTS^{•+} radikal katyonu oluşmaktadır. Her çalışma öncesi taze hazırlanması gereken bu reaktif, 753 nm’de absorbansı 0,700 (± 0,02) olacak şekilde etanol ile seyreltilerek antioksidan aktivite tayininde kullanılmıştır.

Reaksiyon için, 10 µL örnek çözeltisi (0,5 mg/mL konsantrasyonda) üzerine 1 mL reaktif çözeltisi ilave edilerek 5 dk beklenmiş ve 753 nm’de absorbansı ölçülmüştür. Çalışmada kör olarak etanol, pozitif kontrol olarak askorbik asit çözeltisi (0,5 mg/mL) kullanılmıştır (Re vd., 1999).

Deney sonunda, ABTS^{•+} radikal katyonunun % giderimi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Total Antioksidan Aktivite} = \left[\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

$A_{kontrol}$ = ABTS^{•+} reaktif çözeltisinin absorbanı (753 nm)

$A_{örnek}$ = Ekstre içeren reaktif çözeltisinin absorbanı (753 nm)

Elde edilen sonuçlar eşitlikte yerine konarak % inhibisyon hesaplanmış, sonuçlar pozitif kontrolün (askorbik asit) sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

3.9.3. Metal şelatlama kapasitesi

Orhan vd. çalışması modifiye edilerek *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'dan elde edilen ekstraların demir iyonlarını şelatlama kapasitesi tayin edilmiştir (Orhan ve Üstün, 2011).

0,5 mg/mL konsantrasyonda 400 µL örnek üzerine 40 µL FeCl₂ (2mM) ve 80 µL Ferrozin (5 mM) eklenmiştir, metanolle 2 mL'ye tamamlanmıştır. 10 dk bekletildikten sonra 562 nm'de absorbanları okunmuş, pozitif kontrol olarak EDTA (0,5 mg/mL) kullanılmıştır (n=3). Metal şelatlama kapasitesi (%) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Metal Şelatlama kapasitesi} = \left[\frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

$A_{kontrol}$ = Reaktif çözeltisinin absorbanı (562 nm'de)

$A_{örnek}$ = Ekstre içeren reaktif çözeltisinin absorbanı (562 nm'de)

3.9.4. Redükleyici güç tayini

Redükleyici güç tayini, Shon vd. tarafından geliştirilen metoda uygun olarak yapılmıştır. Öncelikle %1'lik K₄[Fe(CN)₆].3H₂O (potasyum ferrisiyanid) ve 200 mM fosfat tamponu (pH=6,6) hazırlanmıştır. 200 µL örnek çözeltisi (0,5 mg/mL konsantrasyonda) üzerine 500 µl fosfat tamponu ve 500 µL %1'lik K₄[Fe(CN)₆].3H₂O eklenmiş, karışım 50 °C'de etüvde 20 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra karışıma 500 µL %10'luk trikloroasetik asit (TCA) eklenerek 4000 g' de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası 500 µL süpernatant, 500 µL distile su ve 200 µL 0,1'lik FeCl₃ ile karıştırılarak elde edilen reaksiyon çözeltisinin absorbanı, 700 nm'de örnek içeren reaksiyon karışımına (kör) karşı okunmuştur (n=3). 700 nm'de ölçülen absorbanın 0,5 olduğu konsantrasyon (mg/mL) EC₅₀ değeri olarak verilmiştir. Pozitif kontrol olarak askorbik asit ve BHT kullanılmıştır (Lee vd., 2007; Shon vd., 2003)).

3.10. AChE ve BChE Enzim İnhibisyonu Aktiviteleri

Ekstrelerin AChE ve BChE inhibitör aktivitesi Ellman Testi ile belirlenmiştir. Enzimatik çalışmalarda, AChE (E.C.3.1.1.7, tip VI S), BChE, (E.C. 3.1.1.8, at serumundan izole), Ellman belirteci; 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), tampon çözelti bileşikleri (potasyum dihidrojen fosfat, potasyum hidroksit), sodyum hidrojen karbonat, asetiltiyokolin iyodür, butiriltiyokolin iyodür, jelatin, dimetilsülfoksit ve donepezil kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler mikropılaka okuyucu içerisinde gerçekleştirilmiştir (Ellman vd., 1961).

Yöntemin her aşamasında Milipor, Milli-Q Synthesis A10 saflaştırma cihazından elde edilen distile su kullanılmıştır. Kullanılan bütün çözeltilerin taze hazırlanmasına ve hazırlandıktan sonra 1 hafta içerisinde tüketilmesine özen gösterilmiştir. Enzim inhibisyon çalışmasında hazırlanan çözeltilerin porsiyonlar halinde ayrılması, test bileşiklerinin 96 kuyucuklu plakalara uygulanması, enzim substrat çözeltilerinin ilave edilmesi işlemlerinde BioTek-Precision Power robotik pipetleme sisteminden yararlanılmıştır. Enzim protokolünün oluşturulması, izlenmesi ve spektrofotometrik ölçümlerin alınması işlemleri, BioTek-Synergy H1 Microplate Reader cihazında yapılmıştır (Çakıroğlu, 2009; Orhan vd., 2007).

AChE ve BChE enzim çözeltilisinin hazırlanması; Liyofilize haldeki AChE/BChE enzimler %1'lik jelatin çözeltisinde, 500 U/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Enzim çözeltisinden 1 mL alınarak balon jöje içerisinde hacmi suyla 100 mL'ye tamamlanmış, böylelikle 5 U/mL'ye seyreltilmiş stok enzim solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti 0,7 mL'lik porsiyonlar halinde -20 °C'de saklanmış, aktivite çalışmalarına başlamadan önce oda ısısına getirilmiş ve metot konsantrasyonu olan 2,5 U/mL'ye seyreltmek için suyla 1,4 mL'ye tamamlanarak kullanılmıştır.

Asetiltiyokolin iyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması; ATC (0,217 g) bir miktar suda çözülmüş ardından suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 0,4 mL'lik kısımlar halinde -20 °C 'de saklanmıştır.

Bütiriltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisinin hazırlanması; BTC (0,237 g) bir miktar suda çözülmüş ardından suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Kullanılıncaya kadar 0,4 mL'lik kısımlar halinde -20 °C 'de saklanmıştır.

5-5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0,01 M); DTNB (0,396 g) tartılarak bir miktar suda çözülmüştür. Bu çözeltiliye sodyum bikarbonat

(0,15 g) ilave edilmiş ve hacim suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılmaya kadar 3 mL'lik kısımlar halinde -20 °C'de saklanmıştır.

Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8,0); Potasyum dihidrojen fosfat (13,61 g), 1 L suda çözülmüş, pH'sı 8,0±0,1'e 0,1 N potasyum hidroksit çözeltisi ile pH metre kullanılarak kontrollü biçimde ayarlanmıştır. Ayarlı tampon çözelti 0,22 µm gözenek çapı olan tek kullanımlık filtrelerden süzülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan çözelti, kullanılmaya kadar 4 °C'de saklanmıştır.

Ekstrelerin enzim inhibitör aktiviteleri 250 µg/mL'lik konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. Aktivite değerleri %0-100 aralığında inhibisyon şeklinde değerlendirilmiştir.

Test işlemine başlamadan önce bütün çözeltiler 20-25 °C'ye getirilmiştir. Çalışmalarda 96 kuyucuklu plaklar kullanılmıştır. Her bir hücrede 140 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim solüsyonu, 20 µL ekstre, 20 µL DTNB çözeltisi, 10 µL ATC/BTC çözeltisi olacak şekilde toplam 210 µL hacme ulaşılmıştır. Çözeltiler, 96 kuyucuğa yetecek miktarlarda iki farklı test çözeltisi meydana getirecek şekilde karıştırılmıştır. Birinci test çözeltisi; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim çözeltisi ve 20 µL DTNB çözeltisi, ikinci çözelti ise; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu ve 10 µLasetiltiyokolin iyodür (ATC)/bütiriltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisi içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Birinci test çözeltisine ekstre (20 µL), 96 kuyucuklu plakalara Biotek Precision XS robotik sistemi kullanılarak eklenmiş, 4 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Plakalar, BioTek-Synergy H1 mikropłaka okuyucusuna konarak önce 5 dk süreyle karıştırılmış daha sonra 25 °C'de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bitiminde mikropłaka okuyucusu dispenser haznesinde bulunan ikinci test çözeltisinin her bir kuyucuğa 80 µL olacak şekilde ilavesi sağlanmıştır. İkinci test çözeltisi eklendikten sonra 30 sn'lik hızlı bir karıştırma işlemi yapılmıştır. Bu aşamada 412 nm'de birinci absorbans okuması gerçekleştirilmiştir. Mikropłakalar, reaksiyonun sürmesi için 5 dk daha karışmaya bırakılmış ve bu süre sonunda ikinci absorbans okuması yapılmıştır. İki okuma arasındaki absorbans farkları alınarak aşağıdaki formüle göre % inhibisyon oranları hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[\frac{(A(K)-A(B))-(A(I)-A(B))}{(A(K)-A(B))} \right] \times 100 \quad (3.4)$$

B: Blank (Ekstre ve substratın eklenmediği kuyucuk)

K: Kontrol (Sadece ekstrenin eklenmediği kuyucuk)

A(B): Blank kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı

A(K): Kontrol kuyucuğuna ait absorbands okuma farkı

A(İ): Ekstrelelere ait absorbands okuma farkı

3.11. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çalışılan türlerin etil asetat, metanol, hegzan ve su ekstralarının antibakteriyal ve antikandidal aktiviteleri broth dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Bu çalışmada, *Enterococcus faecalis* 51299, *E. faecalis* 29212, *E. coli* 35218, *E. coli* 25912, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite, *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri tayin edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite tayininde bakterilerin üretilmesi için gerekli olan besiyeri için nutrient Broth (NB) ve mantar suşunun üretilmesi için Saboroud Dextrose Broth (SDB) kullanılmıştır. (NB) besiyeri için 13 g besiyeri, 1 L distile H₂O içinde, (SDB) ise 30 g besiyeri 1 L distile H₂O içinde çözülerek hazırlanmış, 121 °C’de ve 1,5 atm basınçta 75 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyerleri 45 °C’ye kadar soğutulduktan sonra aseptik koşullarda 15-20 mL hacmindeki steril petri kaplarına dökülmüş, besiyeri katılaştıktan sonra 1 gece etüvde bekletilerek sterilizasyon kontrolü yapıldıktan sonra çalışmada kullanılmıştır (Karaaslan, 2010).

Antimikrobiyal aktivite gösteren ekstraların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), değerleri mikro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde mikroorganizmalar 96 kuyulu mikropklara bakteriler için nutrientbroth ve mantarlar için sabouraud dekstroz broth kullanılarak 800-100 µM aralığında konsantrasyonda seyreltilmiş, önce ekstreler daha sonra da 1.10⁸ bakteriler ekilmiştir. MacFarland 0,5 bulanıklık standartına ayarlanan mikroorganizmalar serum fizyolojikle 1/10 oranında seyreltilerek kuyucuklara aktarılmış ve mikropklar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların gelişiminin durduğu konsantrasyon MİK değeri, ile değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak ketanezol ve kloramfenikol kullanılmıştır.

3.12. Sitotoksik Aktivite

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, *in vitro* olarak petri kutularında, ortam şartlarının (ısı, nem, besin vb.) kontrol edilerek steril ortamda yaşatılması durumudur. Herhangi bir canlıdan alınan hücrelerin suni ortamda yaşatılabilmesi, herhangi bir doku ya da organdan alınan hücrelerin kullanılabilmesi ve

birçok etik kaygıyı gidermesi, hücre kültürü çalışmalarının tercih sebepleri arasında yer almaktadır. Hücre kültürünün sıkça tercih edildiği alanlar kanser, aşı çalışmaları, ilaç geliştirilmesi ve *in vitro* sitotoksisite çalışmalarıdır. Hücre ölümüne neden olan anlamına gelen, Sitotoksisite araştırmaları, bir maddenin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılır. Hücre temelli sitotoksisite çalışmaları gerek uygulama kolaylığı gerekse *in vivo* çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi nedeniyle, hayvan deneylerine alternatif olarak doğmuştur. Sitotoksisite, incelenen maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelere değişik derecelerde zarar veren bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddeye maruz kalırsa, apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucu ölebilir ya da sitostazis nedeniyle proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler. Hücre bazlı sitotoksisite çalışmaları ile test edilen maddenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında temel bilgi edinilir (Tokur ve Aksoy, 2017).

Hücre kültürü çalışmalarımızda, *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un sulu ve %70 metanol:su ekstralarının Caco-2 kolon kanseri ve 3T3 fare embriyo fibroblastı hücre hatlarında önce MTT yöntemi ile sitotoksik aktiviteye bağlı olarak antiproliferatif etkileri tayin edilmiştir.

Hücrelerin kültür ortamında çoğaltılması ve deneylere hazırlık; çalışmamızda Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD Hücre Kültürü Laboratuvarının kültür stoklarından Caco-2 insan kolon kanseri hücreleri (ATCC; HTB-37™) ve 3T3 (ATCC CRL-1658) fare embriyo fibroblast hücre hattı kullanılmıştır

Ekstreler, dimetilsülfoksit (DMSO)'de çözülerek ana stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Bu stok solüsyonlardan da medyumla gerekli seyreltmeler yapılarak (500, 250, 125, 62,50 ve 31,25 µg/mL çalışma konsantrasyonları) çalışma öncesinde taze olarak hazırlanmıştır. En yüksek ekstre konsantrasyonunda DMSO oranı %0,1 olduğu için kontrol grubuna medium içinde %0,1 DMSO uygulanmıştır.

Stoktan çıkarılan NIH 3T3 ve Caco-2 hücreleri, %10'luk fetal sıgır serumu ve %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI-1640 (%1 L-glutamin, %1 sodyum pirüvat) besiyeri içinde, flasklarda %95 bağıl nem ve %5 CO₂'li gaz ortamında ve 37°C'deki inkübatörde kültüre edilip çoğaltılmıştır.

MTT Yöntemi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi; MTT ölçümü, *in vitro* koşullarda hücre metabolizmasını, canlılığı ve sitotoksisiteyi ölçmek için uygulanan kantitatif kolorimetrik bir yöntemdir. Canlı hücrelerde mitokondrinin, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu yöntem, canlı hücrelerdeki

mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesine dayanmaktadır. Canlılığı azaltan; fakat öldürmeyen özellikteki, sarı renkli, suda çözünebilir tetrazolium tuzu (MTT), hücrelere aktif olarak absorbe olur ve suda çözünmeyen koyu mavi renkli formazana indirgenir. Tetrazolium halkasının parçalanması sonucu soluk sarı renkli MTT boyası koyu mavimor formazan ürününe dönüşmektedir. Formazan miktarı, direkt olarak canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği, hücre canlılığının ölçütü olarak alınır ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile korelasyon gösterir (Dikmen vd., 2010; Dikmen vd., 2011; Freshney, 2005; Mosmann, 1983).

Sonuç olarak canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanmakta, ölü ya da mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmamaktadır. Formazan kristalleri DMSO, isopropanol veya diğer uygun çözücü ilavesiyle çözünür ve çözülmüş olan formazanın miktarının verdiği absorbansa göre spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği mitokondrinin sağlamlığı ve metabolik aktivitesinin tanımlanmasını sağlar. Bu da hücre canlılığının ölçüsü olarak alınır (Horakova vd., 2001; Mosmann, 1983).

Metodun uygulanması; 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) (Sigma), fosfat tamponu (PBS) içinde çözülerek hazırlanmıştır.

Uygun besiyeri ve kültür ortamında çoğaltılan 3T3 ve Caco-2 hücrelerinin canlı hücre sayımı yapılmış ve her hücre hattı ayrı ayrı 96 kuyucuklu plakalara her bir kuyucukta 5.000 hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekilmiş ve hücrelerin yapışmaları için 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak kullandığımız siklofosamid ve ekstraların stok solüsyonlarından hücre kültür besiyeri içinde gerekli seyreltmeler yapılarak uygulanacak (500, 250, 125, 62,5 ve 31,25 µg/mL) çalışma konsantrasyonları hazırlanmıştır. Daha sonra plakaların içindeki eski besiyeri atılmış ve kuyucuklara taze olarak kültür besiyerinde hazırlanan konsantrasyonlar uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hücrelere de %0,1 oranında DMSO içeren besiyeri uygulanmıştır. Daha sonra plakalar 24 saatlik inkübasyonlara bırakılmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda plakanın içindeki besiyeri atılmış ve her bir 96'lık kuyucuktaki hücreler üzerine, 100 µL MTT çalışma solüsyonu ilave edilerek hücreler 3 saat inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 100 µL DMSO konulmuştur ve 540 nm dalga boyunda ELİZA cihazında absorbans değerleri, her bir grupta 8 kuyucuk olacak şekilde okunmuştur. Deneyler birbirinden bağımsız 3 tekrar olarak çalışılmıştır. Elde

edilen absorbans değerleri, hücrelerin metabolik aktivitelerini verir ve bu değer de yaşıyan hücre sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Sonuçlar % hücre canlılık değerleri olarak aşığıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ canlılık} = \frac{\text{Kontrol absorbansı} - \text{Örneğin absorbansı}}{\text{Kontrol absorbansı}} \times 100 \quad (3.5)$$

Elde edilen % canlılık değerleri, GraphPadPrism 6.0 programında tek yönlü One Way ANOVA Tukey's post-hoc testi ile analiz edilmiştir. Birbirinden bağımsız 3 tekrar deney sonuçlarının, ortalama \pm st. sapma değerleri olarak hesaplanmıştır. Anlamlılık değerleri ($p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$; $****p < 0,0001$) kontrole göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Ekstraksiyon Verimleri, Toplam Fenolik Madde ve Toplam Flavonoid

Miktarları

Tez kapsamında çalışılan *Hypericum* türlerinden hazırlanan farklı polaritedeki ekstrelerin çözünen madde miktarları (verim) kuru baz üzerinden % olarak hesaplanmıştır. Görsel 4.1.'de *H. thymopsis* Boiss. çiçek açmadan önceki görseli verilmiştir.

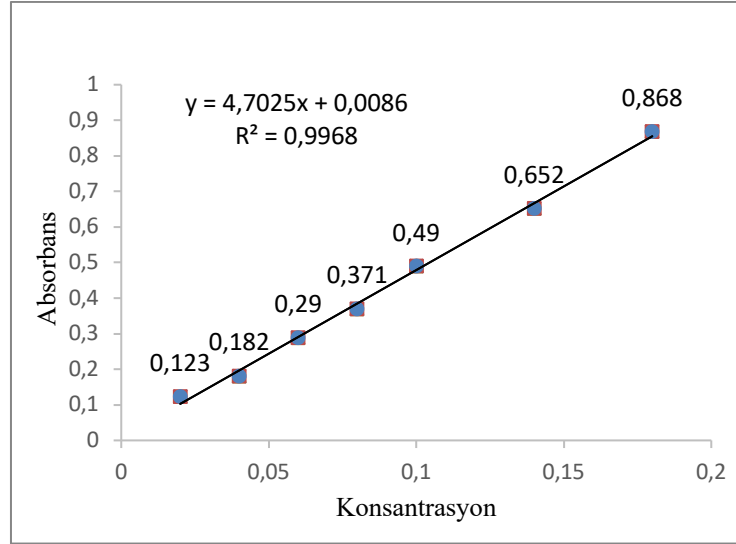


Görsel 4.1. *H. thymopsis* Boiss. Çiçek açmadan önce (kaynak: Doç. Dr. Mehmet TEKİN)

H. thymopsis ve *H. perforatum*'dan hazırlanan ekstrelerin ekstraksiyon verimleri %4,34 (HTEA) ile %24,73 (HT%70ME) arasında değişmektedir. Her iki türün toprak üstü kısımlarına ait metanollü ekstrelerinin diğer ekstrelere oranla daha yüksek ekstre verimine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1). Bu durum metanol ekstrelerindeki polar bileşiklerin varlığı ile ilişkilidir.

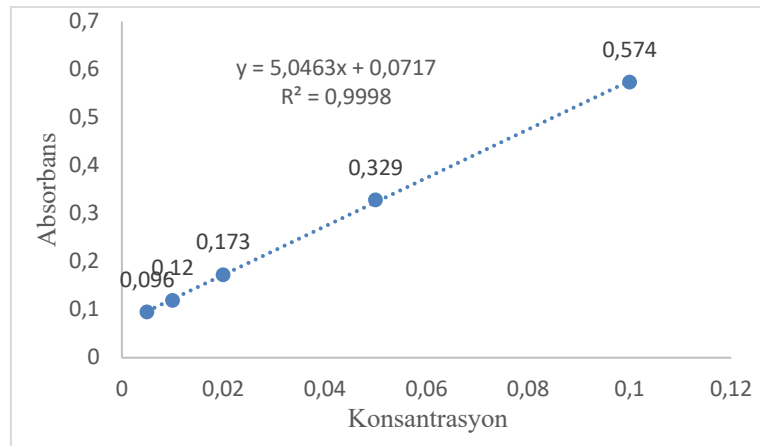
Çalışılan *Hypericum* türlerinin farklı polaritedeki ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiş, toplam fenol içeriği gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (mg GAE/g ekstre). Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesinde gallik asit standartı kalibrasyon eğrisi (0,02–0,2 mg/mL) kullanılmış (Şekil4.1.), çalışılan ekstrelerin toplam

fenolik madde miktarları Çizelge 4.1. de verilmiştir. En yüksek miktarda toplam fenolik madde taşıyan ekstrelerin, etil asetatlı ekstreler olduğu tespit edilmiştir. HTEA 315,77±3,24 mgGAE/g ekstre, HPEA ekstresinde 145,94±1,49 mgGAE/g ekstre; en düşük toplam fenolik madde miktarının ise apolar hekzan ekstreleri HTHE 12,38±1,88mgGAE/g ekstre ile HPHE 21,77±2,21 mgGAE/g ekstre olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1. Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi

Toplam flavonoid miktarı, alüminyum klorür kolorimetrik metoduna göre tayin edilmiş, sonuçlar standart olarak kullanılan rutin (0,005-0,1 mg/mL) kalibrasyon grafiğinden yararlanarak hesaplanmıştır (Şekil 4.2). Çalışılan ekstrelere ait toplam flavonoid miktarları çizelge 4.1. de verilmiştir.



Şekil 4.2. Rutin standardı kalibrasyon eğrisi

Ekstrelerin rutine eşdeğer flavonoid miktarı, $4,87 \pm 0,18 - 79,67 \pm 2,91$ mg RE/g ekstre arasında değişmektedir. Flavonoidler için en yüksek değerler yine etil asetatlı ekstrelerde tespit edilmiştir. Ekstrelerin flavonoid miktarları sırasıyla HP%70ME<HPEA<HTME<HTS<HPS<HTEA olarak artmaktadır. Sulu ekstrelerde toplam fenolik madde ve flavonoid içeriği de oldukça düşük tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışılan türlerin ekstre verimleri ile toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarları

Ekstreler	Ekstraksiyon verimi (%)	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g ekstre \pm SS)	Toplam flavonoid miktarı (mg RE/g ekstre \pm SS)
HTEA	4,34	315,77 \pm 3,24	79,67 \pm 2,91
HPEA	8,62	145,94 \pm 1,49	32,13 \pm 0,36
HTME	11,00	233,97 \pm 2,56	46,30 \pm 0,37
HPME	12,92	183,36 \pm 1,30	12,01 \pm 0,60
HTS	9,76	143,98 \pm 4,18	58,23 \pm 1,16
HPS	8,48	149,98 \pm 4,74	67,24 \pm 1,46
HTHE	4,06	12,38 \pm 1,88	11,36 \pm 0,45
HPHE	5,26	21,77 \pm 2,21	5,26 \pm 0,43
HTSU	8,06	215,01 \pm 7,18	5,04 \pm 0,81
HPSU	10,12	289,17 \pm 5,23	6,14 \pm 0,65
HTİNF	23,80	166,10 \pm 2,87	7,49 \pm 0,23
HPİNF	20,04	214,71 \pm 1,63	5,75 \pm 0,04
HT%70ME	24,73	198,03 \pm 3,91	10,48 \pm 0,23
HP%70ME	22,97	276,20 \pm 3,21	16,00 \pm 0,55
HT%50ET	14,70	245,13 \pm 1,36	4,87 \pm 0,18

4.2. GK ve GK/KS ile Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

H. thymopsis ve *H. perforatum*'dan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların bileşenleri GK-KS/AİD sistemleriyle analiz edilmiş olup, kimyasal kompozisyonları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Uçucu yağların kromatografik profilleri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Bileşiklerin major grupları ise Çizelge 4.3'de sıralanmıştır.

Çizelge 4.2. *H. thymopsis* ve *H. perforatum* uçucu yağlarında GK-KS/AID yöntemi ile tayin edilen bileşenler

KAİ	Bileşen	<i>H. thymopsis</i>	<i>H. perforatum</i>
899	2-Metiloktan	-	9,3
900	Nonan	0,8	1,8
965	3-Metilnonan	-	1,3
1032	α -Pinen	54,8	25,1
1065	2-Metildekan	-	1,2
1072	α -Fenken	0,1	-
1076	Kamfen	0,7	-
1100	Undekan	0,2	1
1118	β -Pinen	1,2	0,9
1174	Mirsen	0,5	0,4
1188	α -terpinen	t	-
1203	Limonen	6,9	0,3
1213	1,8-Sineol	t	0,2
1246	(Z)- β -Osimen	t	0,2
1255	γ -Terpinen	0,1	-
1266	(E)- β -Osimen	t	0,3
1280	<i>p</i> -Simen	0,2	-
1290	Terpinolen	0,4	-
1348	6-Metil-5-hepten-2-on	-	0,2
1398	Dimetiltetradekan	-	0,2
1450	<i>trans</i> -Linalooloksit (Furanoid)	-	0,2
1482	α -Longipinen	-	0,3

Çizelge 4.2. (devam)

KAI	Bileşen	<i>H. thymopsis</i>	<i>H. perforatum</i>
1493	α -İlangen	0,3	-
1497	α -Kopaen	0,8	-
1535	β -Burbonen	-	t
1553	Linalool	0,1	0,3
1587	β -Funebren	-	0,1
1589	β -İlangen	-	-
1591	Fenkil alkol	0,4	-
1600	β -Elemen	0,1	0,2
1608	Kamfen hidrat	0,1	-
1611	Terpinen-4-ol	0,1	-
1612	β -Karyofillen	-	1,2
1613	β -Sedren	-	0,4
1628	Aromadendren	0,2	-
1661	α -Himaalen	-	0,6
1667	İşvaran	-	0,2
1677	<i>epi</i> -Zonaren	0,5	-
1704	γ -Muurolen	2,5	-
1742	β -Selinen	0,1	-
1755	Bisiklogermakren	0,2	-
1773	δ -Kadinen	2,4	0,3
1776	γ -Kadinen	1,5	0,2
1799	Kadina-1,4-dien (= <i>kubenen</i>)	0,1	-
1853	<i>cis</i> -Kalamenen	1	0,4
1868	(<i>E</i>)-Geranilaseton	t	0,2
1918	β -Kalakoren	0,1	-
1925	γ -Dehidro-ar-himakalen	-	0,5
1929	2-Metilbütılbenzoat	-	0,2

Çizelge 4.2. (devam)

KAl	Bileşen	<i>H. thymopsis</i>	<i>H. perforatum</i>
1941	α -Kalakoren	0,5	0,2
1945	1,5-Epoksi-salvial(4)14-en	0,2	0,2
1973	Dodekanol	-	3,1
2008	Karyofillen oksit	-	2,0
2037	Salvial-4(14)-en-1-on	0,4	0,3
2050	(<i>E</i>)-Nerolidol	-	0,7
2057	Ledol	0,3	-
2073	β -Karyofillen alkol	-	1,2
2079	Kubeben-11-ol	t	-
2080	Kubenol	0,4	-
2081	1,10-di-epi-Kubenol	-	0,1
2088	1-epi-Kubenol	0,5	-
2098	Globulol	0,2	-
2100	Heneikosan	-	0,2
2122	Salviadienol	0,3	-
2144	Spatulenol	3,3	-
2179	6-epi-Kubenol	0,5	-
2179	Tetradekanol	-	4,1
2187	T-kadinol	0,6	0,5
2202	Kopaborneol	0,2	-
2209	T-Muurolol	0,3	0,3
2211	Klovenol	-	0,6
2219	δ -Kadinol (= α -Muurolol; Torreyol)	0,2	-
2235	Torilenol(=1-hidroksi-6,8-siklo-4(14)-ödesmen)	-	0,3
2255	α -Kadinol	0,4	0,6
2256	Kadalen	0,5	-

Çizelge 4.2. (devam)

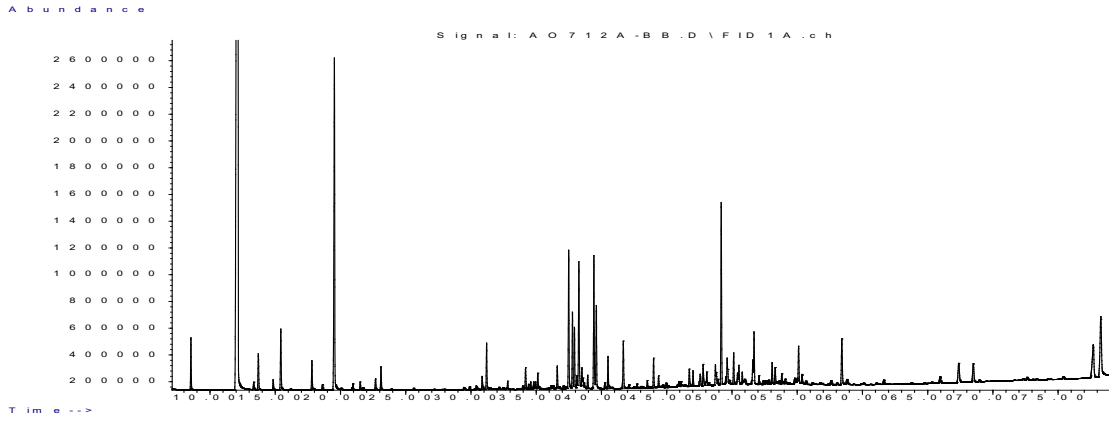
KAI	Bileşen	<i>H. thymopsis</i>	<i>H. perforatum</i>
2271	Ödesmen-4(15),7-dien-1-ol izomer	0,4	-
2273	Selin-11-en-4 α -ol	-	0,9
2232	2-Himakalen-7-ol	-	0,4
2298	Dekanoik asit	-	0,9
2300	Trikosan	-	0,3
2368	Ödesmen-4(15),7-diene-1- β -ol	0,8	0,5
2389	Karyofilla-2(12),6-dien-5 α -ol (=karyofillenol I)	-	0,6
2392	Karyofilla-2(12),6-dien-5 β -ol (=karyofillenol II)	-	0,7
2500	Pentakosan	t	0,7
2503	Dodekanoik asit	1,1	2
2607	1-Octadekanol	-	0,8
2622	Fitol	-	0,6
2655	Benzil benzoat	t	0,3
2700	Heptakosan	0,7	2,3
2790	Bekeol (C ₁₃ H ₁₈ O ₄)	0,6	-
2900	Nonakosan	1,5	1,5
2931	Hekzadekanoik asit	2,4	4,8
	Toplam	93,3	84,3

KAI: Kısmi alıkonma indeksi

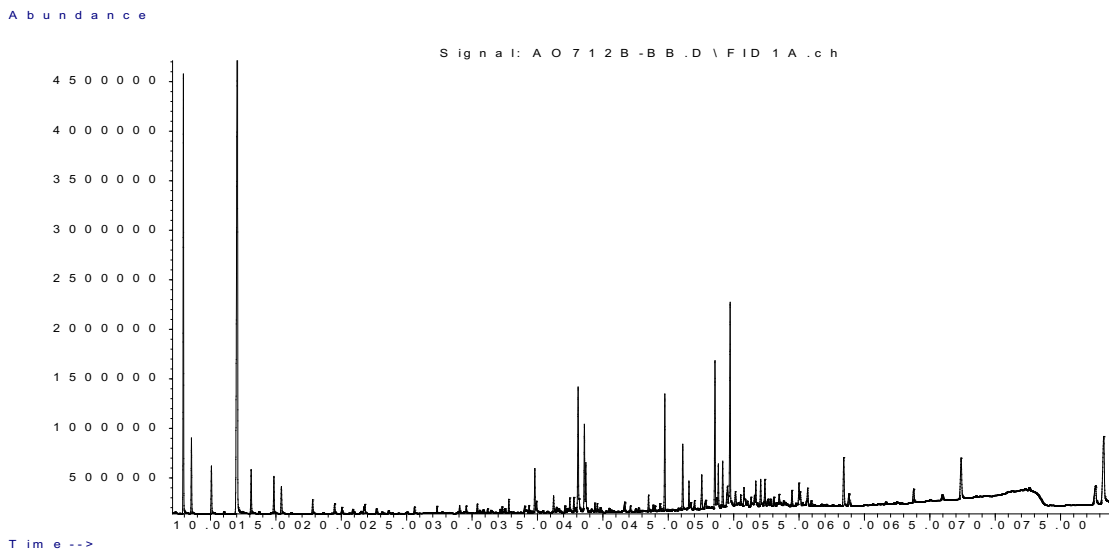
t: Eser miktar (%0,1'den az miktar)

Çizelge 4.3. *H. thymopsis* ve *H. perforatum* uçucu yağlarının GK-KS/AID yöntemi ile tayin edilen uçucu bileşen grupları

Bileşen grubu	<i>H. thymopsis</i>	<i>H. perforatum</i>
Monoterpen hidrokarbonlar	64,9	28,4
Oksijenlenli monoterpenler	0,7	0,7
Seskiterpen hidrokarbonlar	11,4	9,1
Oksijenli Seskiterpenler	9,0	10,5
Alkanlar	3,2	26,8
Yağ asitleri	3,5	7,7



Şekil 4.3. *H. thymopsis* 'den elde edilen uçucu yağın GK kromatogramı



Şekil 4.4. *H. perforatum* 'dan elde edilen uçucu yağın GK kromatogramı

GK/KS ile *H. thymopsis* uçucu yağının %93,3'ü aydınlatılabilmiş, yağın ana bileşeni α -pinen (%54,8) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağın %1'den büyük miktarlara sahip diğer bileşenlerin arasında limonen (%6,9), spatulenol (%3,3), δ -kadinen (%2,4), γ -kadinen (%1,5) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Ayrıca, uçucu yağda %64,9 monoterpen hidrokarbonlar, %11,4 seskiterpen hidrokarbonlar, %9,0 oksijenli seskiterpenler ve %3,5 yağ asitleri saptanmıştır (Çizelge 4.3.).

Buna karşın GK/KS ile *H. perforatum* uçucu yağının %84,3'ü aydınlatılabilmiş, yağın ana bileşeni α -pinen (%25,1) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağın %1'den büyük miktarlara sahip diğer bileşenleri metiloktan (%9,3), hegzadekanoik asit (%4,8), tetradekanol (%4,1), dodekanol (%3,1), β -karyofillen (%1,2) olarak tayin edilmiştir (Çizelge 4.2). Ayrıca, *H. perforatum* uçucu yağında %28,4 monoterpen hidrokarbonlar, %9,1 seskiterpen hidrokarbonlar, %10,5 oksijenli seskiterpenler ve %7,7 yağ asitleri saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Çalışılan 2 türün uçucu yağ bileşimleri karşılaştırıldığında ana bileşenlerinin α -pinen olduğu ve bu sonucun literatür bilgilerimizle uyumlu olduğu görülmüştür. *Hypericum* türleri uçucu yağlarında ana bileşen genellikle α -pinen ve en fazla bulunan diğer uçucu bileşenler ise verimleri genellikle %1'den az olmakla birlikte (%0,1- %0,25); monoterpenler (β -pinen, limonen ve mirsen) ve seskiterpenler (β -karyofillen ve karyofillen oksit) dir. Ayrıca uçucu yağda alifatik bileşiklere de (2-metil oktan, *n*-nonan, *n*-dekan, *n*-undekan, *n*-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan) rastlanmıştır (Crockett vd., 2016; Nahrstedt ve Butterweck, 1997).

Sivas- Malatya yolu, Ziyaret Tepe'den toplanmış *H. thymopsis* Boiss'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağının GK ve GK/KS ile analiz edilmiş başka bir çalışmada, ana bileşen spatulenol (%10,8), diğer önemli bileşenler ise δ -kadinen (%7,1), germakren D (%6,1), γ -muurolen (%5,9), 2,3,6-trimetilbenzaldehyd (%5) ve γ -kadinen (%4,4) olarak tespit edilmiştir, yağın seskiterpen hidrokarbonlar açısından zengin olduğu belirtilmiştir (Özkan vd., 2009). Yaptığımız analizlerde *H. thymopsis* uçucu yağında spatulenol (%3,3), δ -kadinen (%2,4), γ -kadinen (%1,5) bulunmuş, ancak ana bileşen spatulenol değil, α -pinen olarak tespit edilmiştir.

4.3. YBSK ile Fenolik Asit Miktar Tayini

Bitkilerin renklemelerinden sorumlu ve her molekülde birden fazla fenol grubu içeren polifenoller, doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı insan sağlığına önemli katkıları olan polifenollerin oksidatif stresi azaltmalarıyla kardiyovasküler hastalık ve kanser riskinde azalttığı, Alzheimer hastalığının başlangıcını da geciktirdiğine dair bulgular vardır. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar başta flavonoidler olmak üzere fenolik asitler ve proantosiyanınlerdir.

Bu çalışmada Shimadzu LC 20A YBSK cihazı kullanılarak analizi gerçekleştirilen *Hypericum* ekstrelerinde bulunan fenolik asitlerin teşhisi ve miktar tayini, gallik, protokateşik, *p*-hidroksibenzoik, vanillik, kafeik, klorojenik, sirinjik, *p*-kumarik, ferulik, *o*-kumarik ve *trans*-sinnamik asit standartları kullanılarak C₁₈ kolonda deneysel kısımda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.4).

Yapılan çalışmada protokateşik asit toplam fenolik madde miktarı fazla olan *H. thymopsis*'in HTS ekstresinde 11.77 µg/g iken, *H. perforatum*'un HPS ekstresinde 0,48 µg/g; *o*-kumarik asit ise *H. thymopsis*'in HTS ekstresinde 2,26 µg/g iken *H. perforatum*'un HPS ekstresinde 0,58 µg/g olarak bulunmuştur.

Gallik asitin en fazla olduğu *H. thymopsis*'e ait HTİNF 0,39 µg/g ekstre olarak bulunurken; *H. perforatum*'un HPİNF ekstresinde bulunmadığı, vanilik asit için HTİNF 1.42 µg/g iken; HPME 0,61 µg/g olduğu; kumarik asit için *H. thymopsis*'e ait HTSU 2,41 µg/g iken HP%70ME 3,86 µg/g daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Kafeik asit miktarı ise en yüksek *H. thymopsis*'e ait HTME 1.35 µg/g iken HT%70ME 0,44 µg/g HT%50ET 0,45 µg/g, *H. perforatum*'a ait ekstrelerde ise HP%70ME 0,40 µg/g, HPS 0,18 µg olarak tespit edilmiştir. *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'a ait apolar HTHE, HPHE ekstrelerinde ise fenolik asite rastlanmamıştır.

Çizelge 4.4. Ekstrelerin ters-faz YBSK ile tespit edilen fenolik asit miktarları

Ekstreler	Fenolik asit miktarları (µg/g ekstre)										
	GA	protoKA	<i>p</i> OH-BA	VA	KA	KLA	Sİ	<i>p</i> -KU	FA	<i>o</i> -KU	<i>tr</i> -SİN
HTEA	-	0,15	-	0,23	-	-	-	0,16	0,51	0,34	0,86
HPEA	-	-	-	0,24	-	-	-	0,11	0,15	0,19	0,91
HTME	0,26	0,75	0,84	0,32	1,35	0,40	0,14	0,17	0,30	0,26	0,24
HPME	0,14	0,41	0,32	0,61	0,14	0,54	0,67	0,58	1,1	0,45	1,90
HTS	0,38	11,77	0,06	0,31	0,42	0,25	0,12	0,21	0,49	2,26	0,94
HPS	0,16	0,48	0,2	0,32	0,18	0,27	0,42	0,34	0,60	0,58	0,30
HTHE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPHE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HTSU	0,35	1,10	0,10	-	1,34	0,41	0,32	0,30	0,58	2,41	0,71
HPSU	-	0,49	0,04	0,98	0,18	0,82	1,66	0,70	0,98	0,40	0,77
HTİNF	0,39	0,93	0,8	1,42	0,32	-	0,18	0,42	0,30	0,33	0,77
HPİNF	-	-	-	0,30	-	-	-	0,13	0,18	0,11	-
HT%70ME	0,34	0,71	0,06	0,71	0,44	0,28	0,14	0,28	0,44	0,30	0,84
HP%70ME	-	0,69	0,40	2,60	0,40	2,21	1,50	0,89	1,69	3,86	0,59
HT%50ET	0,26	0,66	0,06	0,75	0,45	0,30	0,28	0,29	0,32	0,34	0,87

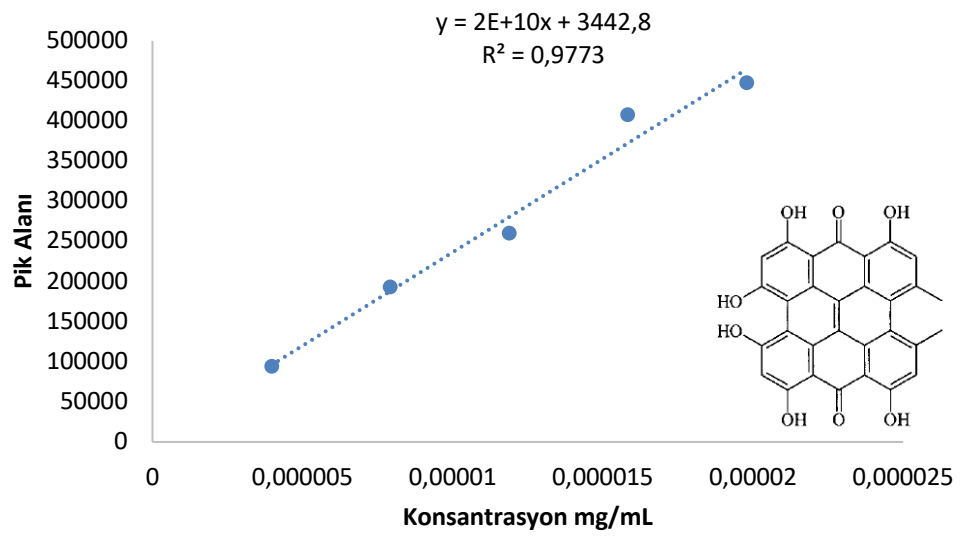
(GA:Gallik asit, protoKA. Protokatesik Asit, *p*OH-BA: *para*-HidroksiBenzoik Asit, VA: Vanillik Asit, KA: Kafeik Asit , KLA: Klorojenik Asit, , Sİ: sirinjik Asit, *p*-KU: *para*-Kumarik Asit, FA:ferulik Asit, *o*-KU: *orto*-Kumarik Asit, *tr*-SİN: trans Sınnamik Asit)

4.4. YBSK ile Hiperisin ve Psödohiperisin Miktar Tayini

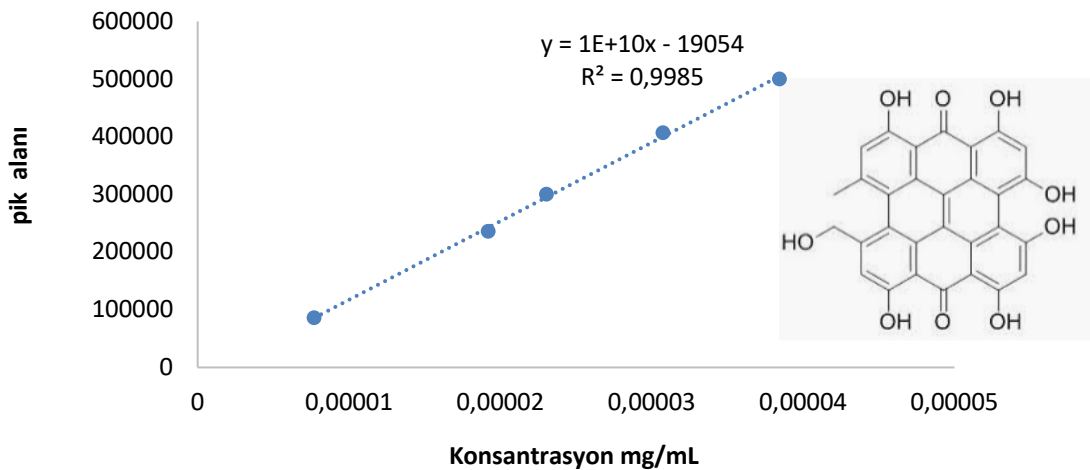
Hypericum cinsine özgü bileşikler olan naftodiantron türevi hiperisinler, aynı zamanda türlerin fotodinamik, antiviral, antiretroviral, antibakteriyel, antidepresan ve antitümöral gibi birçok farmakolojik aktivitesinden sorumlu kırmızı pigmentlerdir (Ayan ve Çırak, 2008).

Bu çalışmada, *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'dan hazırlanan farklı polaritedeki ekstrelerde hiperisin ve psödohiperisin miktar tayini önceden yayınlanan protokollere göre ters-faz YBSK yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018).

Önce, her iki naftadiantron standardı ardarda beş farklı konsantrasyonda YBSK sisteminde analiz edilerek, elde edilen pik alanları ile kalibrasyon grafikleri çizilmiş, kalibrasyon eşitlikleri bulunmuştur (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Daha sonra ekstraler sisteme enjekte edilmiş, elde edilen kromatogramlardaki hiperisin ve psödohiperisin pikleri, standart hiperisin ve psödohiperisin piklerinin tutunma zamanı ve UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır.



Şekil.4.5. Hiperisin standardı kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.6. Psödohiperisin standardı kalibrasyon eğrisi

Sonuçlarımıza göre *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'dan elde edilen ekstrelerin hiperisin ve psödohiperisin miktarlarında, polariteye bağlı olarak farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4.5. de naftodiantronların kantitatif tayininden elde edilen sonuçları özetlemektedir.

Literatür bilgilerimize göre sadece *Hypericum* cinsine özgü bileşikler olan naftodiantron türevi hiperisinlerin bazı *Hypericum* türlerinde görülmediği anlaşılmıştır (Nuevas-Paz vd. 2005). *H. thymopsis*'de, *H. perforatum*'la kıyaslandığında çok az miktarda hiperisin ve psödohiperisin içerdiği tespit edilmiştir. Metanolle masere edilerek hazırlanan *H. perforatum* ekstresinde (HPHP) oldukça yüksek oranda hiperisin (10,79 µg/g ekstre) ve psödohiperisine (27,01 µg/g ekstre) rastlanırken, aynı şekilde hazırlanan *H. thymopsis* ekstresinde (HTHP) her 2 bileşiğe oldukça az miktarda rastlanmıştır. Çizelge 4.5.'de de görüldüğü gibi farklı konsantrasyonlarda metanolle hazırlanan ekstrelerde önemli miktarlarda hiperisin ve psödohiperisin tespit edilmiştir. Ayrıca, etil asetat ve hekzan ile hazırlanan ekstrelerde bu iki bileşiğe rastlanmaması, bu iki bileşiğin polar yapıda olmalarından kaynaklanmaktadır.

2019 yılında yapılan bir çalışmada *H. thymopsis* çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstresinin YBSK analizi sonucu hiperisin 1,99 mg/kg tespit edildiği görülmüştür (Koç, 2019).

Çizelge 4.5. Ekstrelerin ters-faz YBSK ile tespit edilen hiperisin ve psödohiperisin miktarları

Ekstreler	Hiperisin (µg/g ekstre)	Psödohiperisin (µg/g ekstre)
HTHP	0,02	2,44
HPHP	10,79	27,01
HTEA	-	-
HPEA	-	-
HTME	0,06	0,40
HPME	5,63	7,74
HPS	-	0,21
HTS	-	0,35
HTHE	-	-
HPHE	-	-

Çizelge 4.5.(Devamı) Ekstrelerin ters-faz YBSK ile tespit edilen hiperisin ve psödohiperisin miktarları

Ekstreler	Hiperisin (µg/g ekstre)	Psödohiperisin (µg/g ekstre)
HTSU	-	0,37
HPSU	-	0,61
HTİNF	0,02	0,28
HPİNF	2,56	5,5
HT%70ME	-	0,27
HP%70ME	1,69	2,26
HT%50ET	0,01	0,34

4.5. Antioksidan Aktivite Tayini

H. thymopsis ve *H. perforatum* türlerinin toprak üstü kısımlarının farklı polaritede hazırlanan ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri; DPPH• üzerinden radikal süpürücü etki, ABTS•⁺ radikal katyon renksizleştirme kapasitesi, metal şelatlama kapasitesi ve redükleyici güç tayini yöntemleriyle tespit edilmiştir.

4.5.1. DPPH• üzerinden radikal süpürücü etki

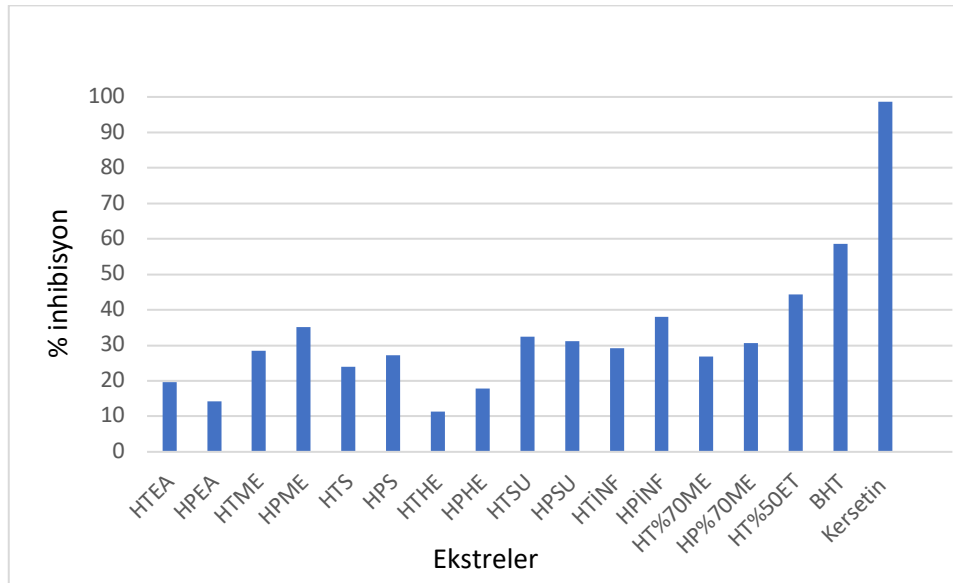
DPPH• üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini; hidrojen verme potansiyelinin araştırıldığı en kısa, en ucuz yöntemlerden birisidir. Doğadaki birçok radikal iyonu değişik kimyasal reaksiyonlarla bazı bileşikler tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Kararlı bir organik radikal olan DPPH• farklı ekstreler ve bileşiklerin antioksidan aktivitesini belirlemede de kullanılmaktadır (Brand-Williams vd., 1995).

Bu yöntemle *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un farklı polaritedeki ekstrelerinin anti-radikal aktiviteleri DPPH• serbest radikali üzerinden Sanchez-Moreno vd. (1998) tarafından modifiye edilmiş yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Sonuçlar test edilen konsantrasyonda % inhibisyon olarak değerlendirilmiş *H. perforatum*, kersetin ve sentetik antioksidan BHT'nin değerleriyle karşılaştırılmıştır. *Hypericum* türlerinden elde edilen ekstrelerin % İnhibisyon değerleri Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7 verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ekstrelerin % DPPH• inhibisyon değerleri

Ekstreler	% İnhibisyon±SS
	9,6 x10 ⁻³ *
HTEA	19,61±0,12
HPEA	14,24±0,45
HTME	28,49±0,22
HPME	35,19±0,62
HTS	23,92±0,31
HPS	27,22±0,78
HTHE	11,43±0,53
HPHE	17,75±0,87
HTSU	32,53±0,15
HPSU	31,20±0,34
HTİNF	29,24±0,81
HPİNF	37,95±0,77
HT%70ME	26,90±0,13
HP%70ME	30,62±0,68
HT%50ET	44,33±0,93
BHT	58,65±0,15
Kersetin	98,61±1,85

* ilave edilen ekstre/BHT/kersetin miktarı (mg/mL)



Şekil 4.7. Ekstrelerin % DPPH• inhibisyon grafiği

Sonuçlara göre, % İnhibisyon değerleri HT%70ET ve HTSU sırasıyla 44,33±0,93 ve 32,53±0,15 inhibisyon yüzdeleriyle, diğer fraksiyonlara kıyasla standart olarak kullanılan BHT ve kersetine (58,65±0,15 ve 98,61±1.85) en yakın antioksidan aktivite görülen ekstreler olarak, belirgin aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca *H. perforatum*'un metanol ekstreside (HPME) %35,19±0,62 inhibisyon yüzdesiyle belirgin bir aktivite göstermiştir. Apolar HTHE ve HPHE ekstreleri ise 11.43±0,53 ve 17,75±0,87 inhibisyon yüzdesiyle düşük aktivite göstermiştir.

Üç farklı lokasyondan toplanan *H. thymopsis*'e ait örnekler *H. perforatum*'un yaprak ve çiçeklerinin metanol ekstreleri DPPH• yöntemiyle antiradikal aktivitelerinin incelendiği çalışmada, en yüksek antiradikal etki çiçeklerden hazırlanan ekstrelerde görülmüş, *H. perforatum*'un çiçeklerinin metanol ekstresinde en yüksek IC₅₀ (50,41 µg/mL) değerine sahipken, *H. thymopsis* türüne ait çiçek ekstresinde ise yüksek IC₅₀ (67,53±1,18 - 120,84±8,66) değerleri elde edilmiş ve antiradikal aktivite görülmediği belirtilmiştir (Koç, 2019).

4.5.2. ABTS^{•+} radikal katyon renksizleştirme kapasitesi

Bu metotta örnek ekstrelerinin antioksidan kapasitesi ABTS^{•+} radikal katyon renksizleştirme kapasitesine göre ölçülmüş ve sonuçlar pozitif kontrol askorbik asitin sonuçları ile kıyaslanmıştır. Örneklerin antioksidan aktiviteleri yüzde ABTS^{•+} inhibisyonu olarak Çizelge 4.7.ve Şekil 4.8 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstrelerin % ABTS^{•+} inhibisyon değerleri

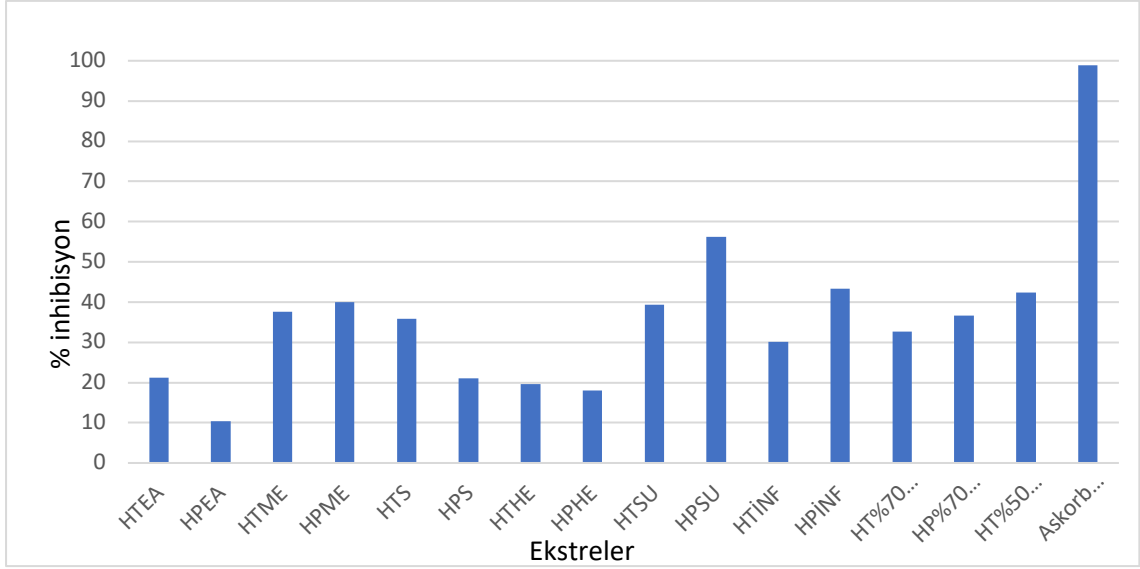
Ekstreler	% ABTS ^{•+} inhibisyonu
	0,5 mg/mL konsantrasyonda
HTEA	21,27±2,89
HPEA	10,44±1,42
HTME	37,67±2,20
HPME	40,06±2,76
HTS	35,91±6,80
HPS	21,07±1,25
HTHE	19,66±1,30
HPHE	17,95±3,77

Çizelge 4.7.(Devamı) Ekstrelerin % ABTS^{•+} inhibisyon değerleri

Ekstreler	% ABTS ^{•+} inhibisyonu
	0,5 mg/mL konsantrasyonda
HTSU	39,27±11,08
HPSU	56,26±9,63
HTİNF	30,17±5,07
HPİNF	43,36±5,55
HT%70ME	32,59±1,53
HP%70ME	36,67±6,62
HT%50ET	42,43±2,15
Askorbik Asit	98,88±0,19

ABTS^{•+} radikal katyonu yakalama aktivitesi, standart olarak kullanılan askorbik asit için en etkili konsantrasyonun 0,5 mg/mL olduğu ve bu konsantrasyonda askorbik asitin ABTS^{•+} inhibisyonunun %98,88±0,19 olduğu görülmüş ve bu nedenle çalışılan *Hypericum* türlerine ait ekstrelerde bu konsantrasyonda çalışılmıştır. 0,5 mg/mL konsantrasyondaki metanollü ve sulu polar ekstreler (HPME, HTME, HPSU, HTSU) sırasıyla %40,06±2,76, 37,67±2,20, 56,26±9,63, 39,27±11,08'lik inhibisyon sağladığı görülmüştür. *H. thymopsis* ekstreleri DPPH• radikale karşı olduğu gibi, ABTS^{•+} radikal katyonuna da karşı belirgin aktivite göstermiştir.

H. thymopsis türüne ait 3 farklı lokaliteden toplanan örneklerin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin ABTS^{•+} katyon renksizleştirici antioksidan özelliklerinin ayrı ayrı çalışıldığı çalışmada, *Hypericum* örneklerinin IC₅₀ değerleri incelenmiş en yüksek ABTS^{•+} radikal süpürücü etki *H. thymopsis* türüne ait en yüksek radikal süpürme kapasitesi Sivas: Gürün Gökpınar yaprak etanol ekstresinde görülmüştür (Koç, 2019).



Şekil 4.8. Ekstrelerin % ABTS•⁺ inhibisyon grafiği

4.5.3. Metal iyonlarını şelatlama kapasitesi

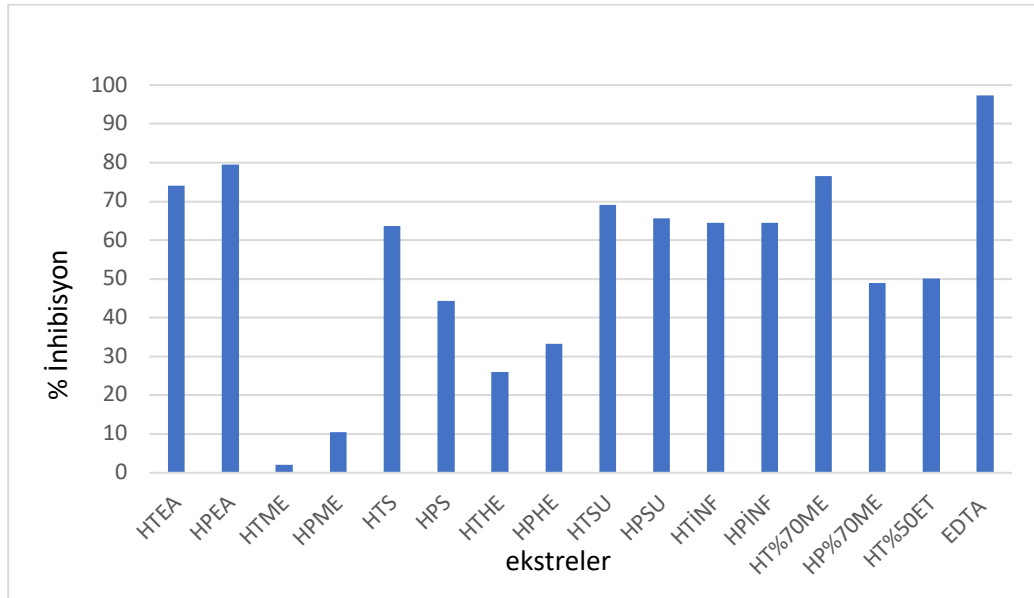
Metal iyonu şelatlama aktivitesi; ortamda bulunan Fe²⁺ iyonlarının inhibisyonuna dayanır. *H. thymopsis* ve *H. perforatum* ekstreleri FeCl₂'nin ferrozin ile koyu mor renkli bir kompleks oluşturarak yapılan spektrofotometrik ölçümlerde pozitif kontrol olarak EDTA kullanılmıştır (Orhan ve Üstün, 2011).

Sonuçlar 0,5 mg/mL konsantrasyonda EDTA ile karşılaştırıldığında %97,27±2,41; *H. thymopsis* ve *H. perforatum* etil asetat ekstreleri sırasıyla %74,06±4,40, %79,58±8,36 inhibisyon oranları ile önemli sayılabilecek antioksidan aktivite göstermiştir. Örneklerin antioksidan aktiviteleri yüzde inhibisyonu olarak Çizelge 4.8. ve Şekil 4.9. de gösterilmiştir.

Metal şelatlama aktivitesini etkileyen en önemli özellik, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplara ve bu fonksiyonel grupların pozisyonuna ve bulunma miktarına bağlıdır. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S ve -O- fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran ve bunların uygun yapı ve fonksiyonel konfügrasyonundaki fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür (Arora vd., 1998; Gülçin, 2005). Bu nedenle örneklerin şelatlama aktivitesindeki farklılık, fenolik madde miktarlarının farklı olmasının yanı sıra, farklı yapı ve pozisyonlardaki fenolik madde gruplarına sahip olmaları ile açıklanabilmektedir.

Çizelge 4.8. Ekstrelerin metal şelatlama kapasitesi (% inhibisyon)

Ekstreler	% inhibisyonu (0,5 mg/mL)
HTEA	74,06±4,40
HPEA	79,58±8,36
HTME	2,09±3,54
HPME	10,40±29,22
HTS	63,69±14,82
HPS	44,30±11,52
HTHE	26,08±25,69
HPHE	33,33±20,59
HTSU	69,13±8,14
HPSU	65,56±10,10
HTİNF	64,50±9,35
HPİNF	64,45±2,17
HT%70ME	76,54±17,22
HP%70ME	48,91±8,35
HT%50ET	50,19±5,25
EDTA	97,27±2,41



Şekil 4.9. Ekstrelerin metal şelatlama aktiviteleri

H. thymopsis'e ait ekstreler arasında en yüksek metal şelatlama kapasitesine sahip etil asetat ekstresi HTEA %74,06±4,40, HPEA %79,58±8,36 ve pozitif kontrol EDTA'nın % inhibisyon değerine 97,27±2,41 yakın olarak gözlenmiştir. Bununda nedeni yüksek toplam fenol ve toplam flavonoid miktarlarına sırasıyla 315,77±3,24, 145,94±1.49 79,67±2,91, 32,13±0,36 sahip etil asetat ekstrelerinde bulunan polifenolik bileşiklerdir.

4.5.4. Redükleyici güç tayini

Redükleyici güç tayini, Shon vd. tarafından geliştirilen metoda uygun olarak yapılmıştır (Shon vd., 2003). Sonuçlar Çizelge 4.9. de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Ekstrelerin redükleyici güç ölçümü

Ekstreler	EC ₅₀ (mg/mL)
HTEA	1,85±0,17
HPEA	2,57±0,06
HTME	0,36±0,01
HPME	0,33±0,01
HTS	0,45±0,01
HPS	0,47±0,01
HTHE	2,67±0,35
HPHE	3,27±0,09
HTSU	0,32±0,01
HPSU	0,24±0,01
HTİNF	0,50±0,12
HPİNF	0,32±0,01
HT%70ME	5,12±0,38
HP%70ME	0,33±0,02
HT%50ET	0,33±0,01
BHT	0,2±0,04
Askorbik asit	0,18±0,01

Redükleyici güç ölçümü sonucu elde edilen EC₅₀ değerleri BHT (0,2 mg/mL) ve askorbik asit (0,18 mg/mL) ile karşılaştırılmış, en yüksek redükleyici güç aktivitesine

sahip ekstrelerin her iki türün metanol ekstreleri HTME, HPME 0,36 - 0,33 mg/mL, HTİNF, HPİNF 0,5 ve 0,32 mg/mL olduğu görülmüştür. Ayrıca apolar hekzan ekstreleri HPHE, HTHE yüksek EC₅₀ değerleri ile en düşük aktivite gösteren ekstreler olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.10.'da grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Ekstrelerin redükleyici güç tayini

4.6. AChE ve BChE İnhibitör Aktivite

Asetilkolinin dokularda bilginin taşınmasını sağlayan önemli bir nörotransmitter madde olduğu bilinmektedir. Günümüzde son derece önemli ve yaygın bir sorun haline gelen Alzheimer Hastalığı'na sahip kişilerde görülen en belirgin biyokimyasal değişiklik, beynin korteks ve hipokampus bölgelerindeki asetilkolin seviyelerinin sağlıklı kişilere göre oldukça düşük seviyede olmasıdır. Memeli canlıların beyinde asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz olmak üzere iki majör kolinesteraz formu bulunmaktadır. Asetilkolinesteraz, kolinerjik sinapslarda asetilkolinin hidrolizinden sorumlu enzim olduğu için bu enzimin inhibisyonu asetilkolin seviyesinde artışa neden olmaktadır. Asetilkolinesteraz, neredeyse tüm dokularda bulunurken, butirilkolinesteraz daha çok santral ve periferel sinir sisteminde ve karaciğerde bulunmaktadır (Ersoy vd., 2019).

Günümüzde Alzheimer tedavisinde kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörleri genellikle sentetik ilaçlardan oluşmaktadır ve uzun süre kullanımda önemli yan etkileri ve sitotoksiteleri görüldüğü için bitkisel kaynaklı asetilkolinesteraz ve butirilkolinesterazın inhibitörleri ile ilgili araştırmalar devam ederek çeşitli alternatif çözümler aranmaktadır. Bu amaçla, bu tez çalışmasında *H. thymopsis* ve *H. perforatum*

bitkilerinin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri, 1961'de Ellman vd. tarafından uygulanan spektrofotometrik yöntem temel alınarak tayin edilmiştir. Yöntemde asetilkolin, AChE tarafından hidroliz olduğunda ortama salınan tiyokolin miktarının kolorimetrik olarak ölçümüne dayanmaktadır (Ellman vd., 1961).

Çalışılan türlere ait ekstrelerin % inhibisyon değerleri (18,955±0,852-30,025±0,851) arasında olup Çizelge 4.10. ve Şekil 4.11.de verilmiştir. 250 µg/mL konsantrasyonda galantamin %83,529±1.108, donepezil %98,152±1.015, takrin %98,018±1.039 inhibisyon gösterirken, çalışılan ekstrelerden *H. thymopsis*'in etil asetatlı ekstresi (HTEA) %25,108±0,956; *H. perforatum*'un etil asetatlı ekstresi (HPEA) %30,025±0,851 ve *H. perforatum*'un metanol ekstresi HPME %27,211±0,618 oranında aktivite göstermiştir. Buna göre her iki tür de en yüksek AChE enzim aktivitesi gösteren ekstrelerde, standart olarak kullanılan galantamin, donepezil, takrin'in gösterdiği inhibisyon değerlerinden oldukça düşük aktivite gözlenmesi, *H. thymopsis* ve *H. perforatum* türlerinde asetilkolinesteraz inhibitör etki açısından kayda değer bir etki olmadığı sonucunu doğurmuştur.

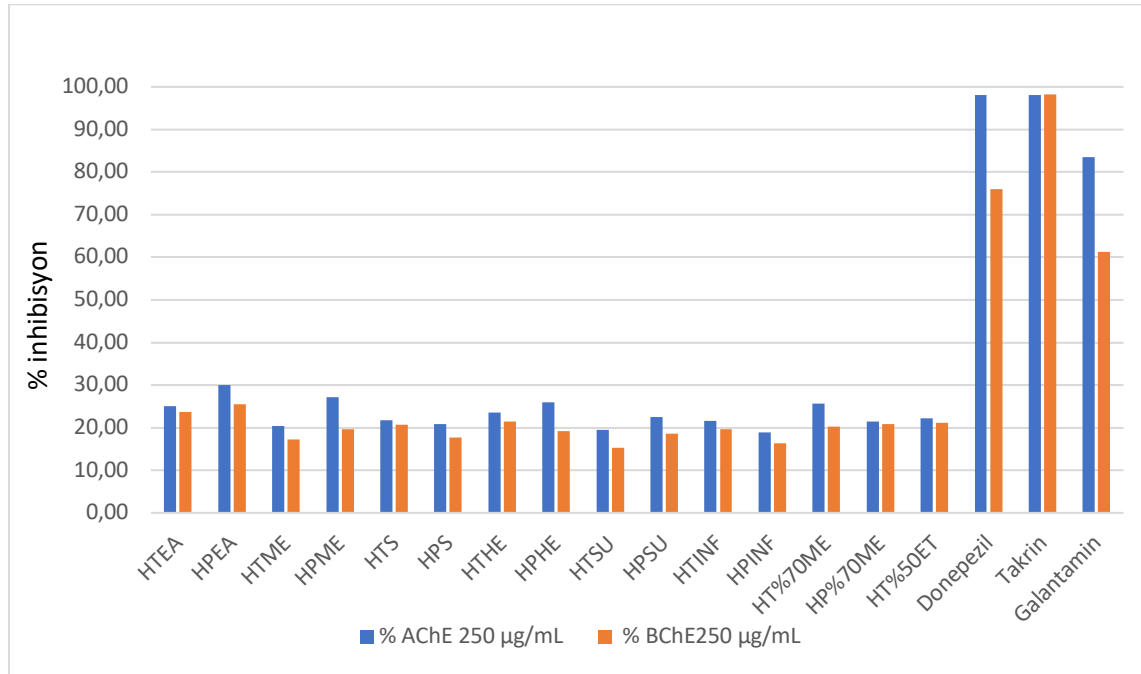
Butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesinde de 250 µg/mL konsantrasyonda standart olarak kullanılan galantamin, takrin, donepezil'egöre (sırasıyla %61.310±0,956, %98,305±1.008, %76,028±1.210) çalışılan iki türe ait ekstreler için düşük inhibisyon yüzdeleri elde edilmiştir. *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'dan elde edilen ekstreler arasında yüksek antikolinesteraz aktivite, etil asetat ekstrelerinde HTEA ve HPEA sırası ile %23,755±0,529, %25,472±0,637 tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. Ekstrelerin ve referans bileşiklerin AChE ve BChE enzimlerine karşı 250 µg/mL konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri

Ekstreler	% AChE	% BChE
	250 µg/mL	250 µg/mL
HTEA	25,11±0,96	23,76±0,53
HPEA	30,03±0,85	25,47±0,64
HTME	20,45±0,59	17,26±0,75
HPME	27,21±0,62	19,62±0,42
HTS	21,68±0,66	20,64±0,51
HTS	20,88±0,80	17,63±0,51
HTHE	23,51±0,76	21,48±0,49

Çizelge 4.10. (Devamı) Ekstrelerin ve referans bileşiklerin AChE ve BChE enzimlerine karşı 250 µg/mL konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri

Ekstreler	% AChE	% BChE
	250 µg/mL	250 µg/mL
HPHE	25,90±0,64	19,26±0,37
HTSU	19,53±0,74	15,22±0,66
HPSU	22,52±0,56	18,62±0,50
HTİNF	21,53±0,60	19,64±0,62
HPİNF	18,96±0,85	16,37±0,41
HT%70ME	25,62±0,81	20,21±0,60
HP%70ME	21,49±0,75	20,85±0,51
HT%0ET	22,26±0,65	21,14±0,63
Donepezil	98,15±1,02	76,03±1,21
Takrin	98,02±1,04	98,31±1,01
Galantamin	83,53±1,11	61,31±0,96



Şekil 4.11. Ekstrelerin asetilkolinesteraz ve butirilkinesteraz % inhibisyon değerleri

4.7. Antimikrobiyal Aktivite

Doğadan elde edilen maddeler, birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilen ajanları içerme potansiyeline sahiptirler. İlâca karşı geliştirilen yüksek direnç dikkate alındığında, yeni antimikrobiyal ürünlerin araştırılmasındaki ihtiyaç kaçınılmazdır.

Bu çalışmada, Çalışılan *Hypericum* türlerinin etil asetat, metanol, hegzan ekstreleri ve infüzyonlarının *E. faecalis* 51299, *E. faecalis* 29212, *E. coli* 35218, *E. coli* 35218, *P. aeruginosa*, *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri tayin edilmiştir. Çalışmada gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu; MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, *E. faecalis* 51299 için HTEA, HPEA, HTME, HPME, HTİNF 200 µg/mL'lik MİK değerleri ile 62,50 µg/mL olan kontrol kloramfenikol ile karşılaştırdıklarında düşük aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir.

E. faecalis 29212 suşuna karşı HTEA, HPEA, HTME, HPME ekstrelerinin 200 µg/mL MİK değerleri ile kloramfenikolün 62,50 µg/mL olan MİK değeri karşılaştırdığında ise düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

E. coli 35218 suşuna karşı HTEA, HPEA, HTME, HPME, HTHE, HTİNF 200 µg/mL MİK değerleri ile kloramfenikol MİK değeri 125 µg/mL ile karşılaştırdıklarında düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

E. coli 25912 suşuna karşı HTEA, HPEA, HTME, HPME, HTHE, HPHE, HTİNF 200 µg/mL MİK değerleri ile MİK değeri 31,25 µg/mL olan kloramfenikol ile karşılaştırdıklarında düşük aktivite gösterdiği belirlenmektedir.

P. aeruginosa suşuna karşı HPİNF 800 µg/mL; HTEA, HPEA, HTME, HPME, HTHE, HPHE, HTİNF ekstreleri ise 200 µg/mL MİK değerleri ile MİK değeri 62,50 µg/mL olan kloramfenikol ile karşılaştırıldı. Düşük aktivite gösterdiği belirlenmektedir.

Hypericum türlerinin, Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus* suşlarına karşı etkili olduğunu gösteren birçok çalışma olmasına karşın (Saddiqe vd., 2010), tez kapsamında çalışılan ekstrelerde *S. aureus* suşunda üreme görülmemiştir. Sonuçlar çizelge 4.11.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Antibakteriyel aktivite sonuçları

Ekstreler	Mikroorganizmalar				
	<i>E. faecalis</i> 51299 (µg/mL)	<i>E. faecalis</i> 29212 (µg/mL)	<i>E. coli</i> 35218 (µg/mL)	<i>E. coli</i> 25912 (µg/m)	<i>P. aeruginosa</i> (µg/mL)
HTEA	200	200	200	200	200
HPEA	200	200	200	200	200
HTME	200	200	200	200	200
HPME	200	200	200	200	200
HTHE	400	400	200	200	200
HPHE	400	400	400	200	200
HTİNF	200	400	200	200	200
HPİNF	800	800	800	800	800
Kloramfenikol	62,50	125	62,50	31,25	62,50

Antifungal aktivite sonuçlarına bakıldığında *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* suşlarına karşı, 100 µg/mL HTME ve HPME ekstrlerinde verdikleri MİK değerleri; referans madde ketakonazol 7,81 µg/mL konsantrasyondaki MİK değeri karşılaştırıldığında düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmektedir. Antifungal sonuçlar Çizelge 4.12.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. Antifungal aktivite sonuçları

Ekstreler	Mikroorganizmalar		
	<i>C. albicans</i> µg/mL	<i>C. parapsilosis</i> µg/mL	<i>C. parapsilosis</i> µg/mL
HTEA	800	800	800
HPEA	400	800	800
HTME	100	100	100
HPME	100	100	100
HTHE	100	800	800
HPHE	800	800	800
HİINF	200	200	200
HİINF	800	800	800
Ketakonazol	7,81	7,81	7,81

4.8. Sitotoksik Aktivite

Kimyasal ve biyolojik maddeler ile fiziksel etkenler, hücre yapısını değişik derecelerde etkileyerek toksisiteye yol açabilirler. *In vitro* sitotoksik testleri, ilaç niteliği taşıyan veya toksik profili araştırılan maddelerin değerlendirilmesi amacıyla hücre kültüründe gerçekleştirilen ölçüm metodlarıdır. Bu testlerle çok sayıda maddenin kısa sürede analiz edilmesi mümkün olmakta ve yapılacak hayvan denemeleri için temel veriler elde edilebilmektedir (Tokur ve Aksoy, 2017).

Yapılan deneyler sonucunda oluşturulan GraphPad grafiklerine bakıldığında; 3T3 hücre hattı için, MTT sitotoksik testine göre siklofosfamidin için toksik olmayan konsantrasyon aralığı 62,5 µg/mL–500 µg/mL iken; Caco-2 hücre hattı için 125 µg/mL–500 µg/mL'dir (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

H. thymopsis'in %70 metanol (HT%70ME) ekstresinin 3T3 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31-125 µg/mL'dir. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi daha yüksek olup, toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31-62 µg/mL'dir (Şekil 4.18).

HT%70ME ekstresinin Caco-2 kolon kanseri hücre hattındaki sitotoksik etkisine bakıldığında ise yine yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğu görülmekte olup sitotoksik etkisi 3T3 hücre hattına göre daha fazladır. Bunun yanında Caco-2 hücre hattında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin etkisi ise karşılaştırılan HT%70ME ekstresine oranla daha fazladır ve pozitif kontrolün her iki hücre hattındaki sitotoksik konsantrasyon değerleri birbirine yakın görülmüştür (Şekil 4.14).

HT%70ME 3T3 hücreleri üzerinde toksik olmayan konsantrasyonu 31,25-62,5 µg/mL arasında tespit edilmiştir. 31,25-125 µg/mL konsantrasyonunda anlamlı sonuçlar verdiği görülmüştür (Şekil 4.18).

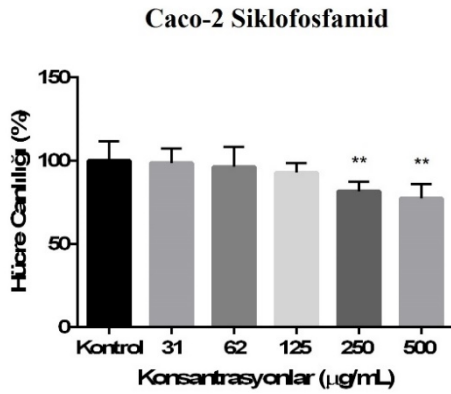
HT%INF ekstresinin 3T3 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyonlar 31,25-250 µg/mL aralığındadır. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi HT%INF den daha yüksektir (Şekil 4.20).

HP%INF ekstresinin Caco-2 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31,25-125 µg/mL'dir (Şekil 4.17).

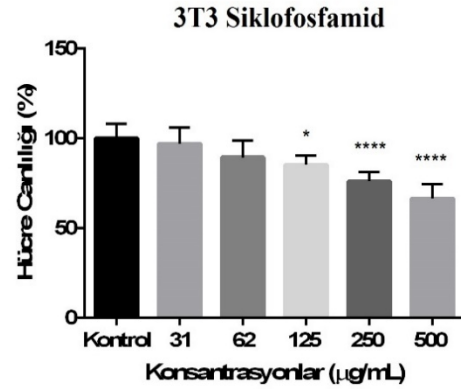
HP%70ME ekstresinin 3T3 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyonlar 31,25-62,50 µg/mL aralığındadır. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi HFİNF den daha yüksektir (Şekil 4.19).

HP%70ME ekstresinin Caco-2 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyonlar 62,50-500 µg/mL aralığındadır. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi HFİNF den daha düşüktür (Şekil 4.15).

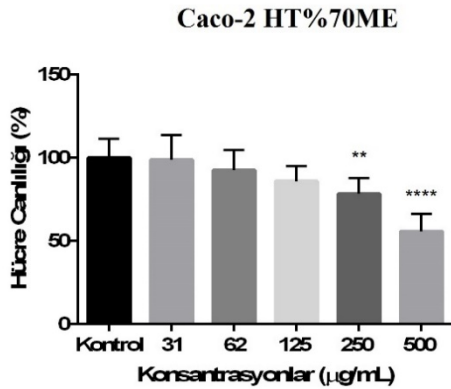
HTİNF ekstresinin Caco-2 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyonlar 125-500 µg/mL aralığındadır. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi HFİNF den daha düşüktür (Şekil 4.16).



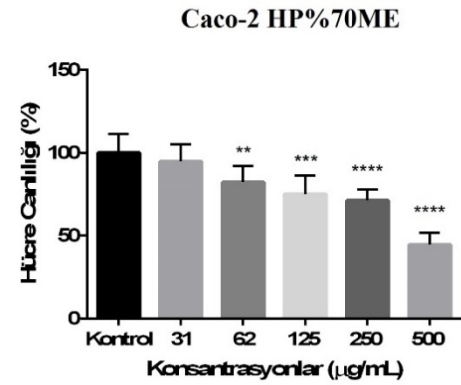
Şekil 4.12. Siklofosfamid Caco-2 üzerindeki etkisi



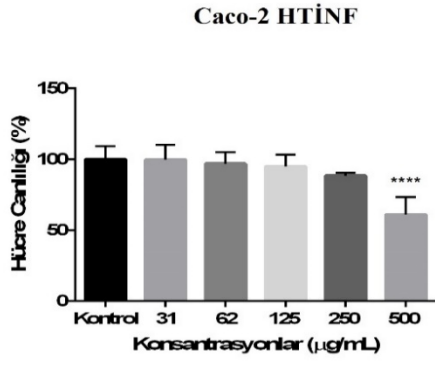
Şekil 4.13. Siklofosfamid 3T3 üzerindeki etkisi



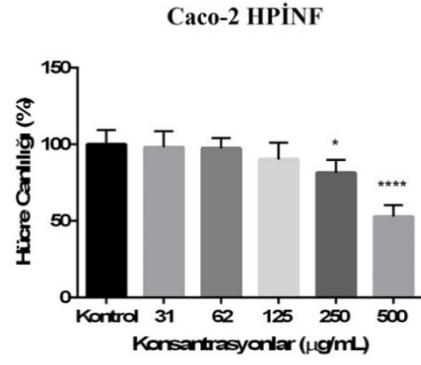
Şekil 4.14. HT%70ME'nin Caco-2 % canlılık konsantrasyon



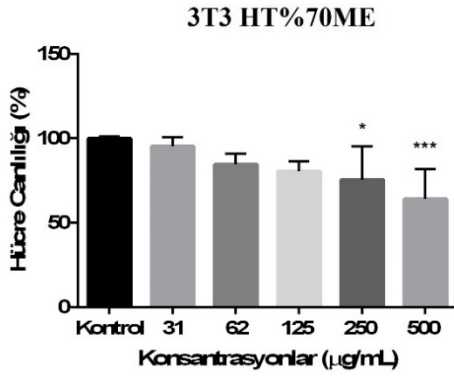
Şekil 4.15. HP%70ME'nin Caco-2 % canlılık konsantrasyon



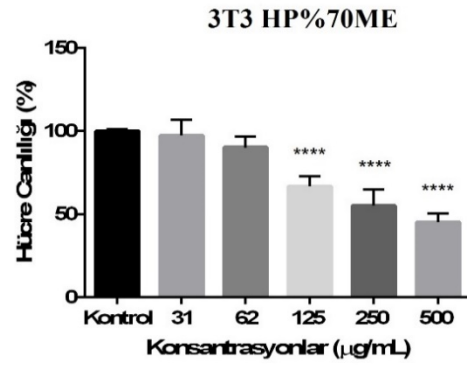
Şekil 4.16. *HİNF*'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon



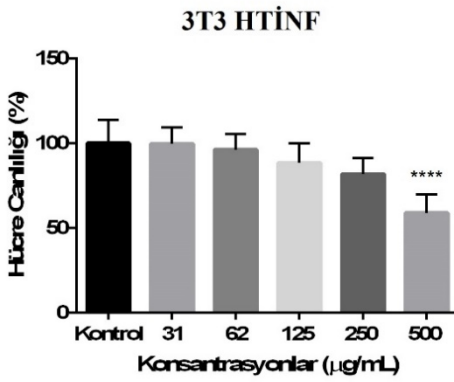
Şekil 4.17. *HİINF*'nin Caco-2 % canlılık-konsantrasyon



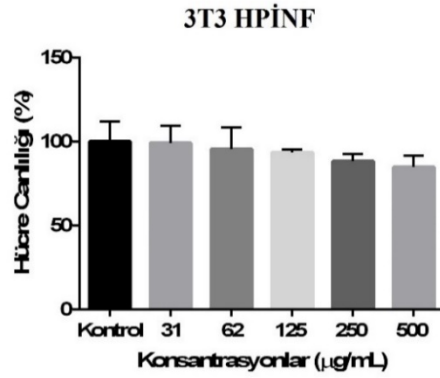
Şekil 4.18. *HT%70ME*'nin 3T3 % canlılık-konsantrasyon



Şekil 4.19. *HP%70ME*'nin 3T3 % canlılık-konsantrasyon



Şekil 4.20. *HTİNF*'in 3T3% canlılık-konsantrasyon



Şekil 4.21. *HİINF*'in 3T3 % canlılık-konsantrasyon

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Çok eski çağlardan beri bitkilerin hastalıkları iyileştirmede, kozmetik olarak, yiyecek, boya maddesi olarak, parfüm özü olarak birçok alanda kullanılması, pek çok doğal afet, artan nüfus nedeniyle kırsal alanların hızla küçülmesi bazı türlerin doğada hızla yok olmasına sebep olmaktadır. Hele ki bunlar endemik bitkilerse durum daha da ciddiyet kazanmaktadır.

Avrupa kıtasında endemizm oranı yaklaşık %20'lerde iken Türkiye'nin endemizm oranı %34,4'tür, yani ülkemizde yetişen her üç bitkiden biri endemiktir. Tüm bu nedenlerle ülkemiz biyoçeşitliğinin en önemli elementleri içerisinde bulunan endemik bitkiler mutlaka farkedilmeli, teşhis ve tayini yapıldıktan sonra farmakognozik olarak değerlendirilmeli ve bilim dünyasına tanıtılmalı fikrinden yola çıkılarak bu tez çalışmasında *H. thymopsis* türü seçilmiştir.

Bu çalışmada, Hypericaceae familyası üyesi *H. thymopsis* toprak üstü kısımlarının başlıca naftodiantron ve fenolik bileşenleri, uçucu yağı ile antioksidan, sitotoksik, antikolinesteraz, antimikrobiyal aktiviteleri çalışılarak kimyasal ve biyolojik olarak taramaları amaçlanmış, sonuçlar *Hypericum* cinsinin ofisinal türü *H. perforatum*'un sonuçları ile karşılaştırılarak verilmiştir.

Türlerin içerdiği toplam fenolik ve toplam flavonoit madde miktarları sırasıyla gallik asit ve rutine eşdeğer olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite tayinleri; DPPH• serbest radikali ile ABTS•⁺ katyon radikali süpürücü, metal şelatlama ve redükleyici güç yöntemleri ile yapılmıştır. Ayrıca Ellman metodu ile asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon tayinleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri *E. faecalis* 51299, *E. faecalis* 9212, *E. coli* 35218, *E. coli* 25912, *P. aeruginosa*, *S. aureus* suşlarına karşı antifungal aktiviteleri ise *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* suşlarına karşı tayin edilmiştir. Ekstrelerin Caco-2 kolon kanseri ve 3T3 sağlıklı hücre hatlarında MTT yöntemi ile sitotoksik aktiviteye bağlı olarak antiproliferatif etkileri tayin edilmiştir.

Çalışma sonuçlarına bakıldığında, *H. thymopsis* ve *H. perforatum* türlerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan farklı polaritedeki ekstrelerin kuru baz üzerinden hesaplanan verimleri %4,06 - 24,73 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek verime sahip ekstre HT%70ME olmakla birlikte onu sırasıyla HTİNF > HP%70ME > HPİNF > HT%70ET > HPME > HTME izlemektedir.

Çalışılan 2 türe ait ekstralarının Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanan toplam fenolik madde miktarları sırasıyla; HTHE < HPHE < HTS < HPEA < HPS < HTİNF < HPME < HT%70ME < HPİNF < HTSU < HTME < HT%50ET < HP%70ME < HPSU < HTEA olarak, *H. thymopsis*'den hazırlanan ekstraların toplam fenolik madde miktarları ise HTHE < HTS < HTİNF < HT%70ME < HTSU < HTME < HT%50ET < HTEA şeklinde artmaktadır. En çok toplam fenolik madde içeren ekstre *H. thymopsis*'in etil asetatlı (HTEA) (315,77±3,24 mg GAE/g ekstre) ekstresi olurken, bunun yanında *H. perforatum* etil asetat ekstresi (HPEA) (145,94±1,4924 mg GAE/g ekstre) toplam fenolik madde içermektedir.

Çalışılan ekstralar arasında en yüksek toplam flavonoid miktarının, toplam fenolik madde miktarlarına paralel HTEA (79,67±2,91 mg RE/g ekstre), HPEA (32,13±0,36 mg RE/g ekstre), (HPS (67,24±1,46 mg RE/g ekstre) ve HTS (58,23±1,16 mg RE/g ekstre) ekstralarına ait olduğu görülmektedir. Bunların yanında *H. thymopsis*'den hazırlanan ekstraların toplam flavonoid miktarları HT%50ET <HTSU <HTİNF <HTHE <HT%70ME <HTME <HTS <HTEA sırasıyla artmaktadır.

YBSK yöntemi kullanılarak analizi gerçekleştirilen her 2 türe ait *Hypericum* ekstralarında bulunan fenolik asitlerin teşhisi ve miktar tayini, gallik, proto-kateşik, *para*-hidroksibenzoik, vanillik, kafeik, klorojenik, sirinjik, *p*-kumarik, ferulik, *o*-kumarik ve trans-sinamik asit içeren standart ekstresindeki bileşenlerin kalibrasyon eğrileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Protokateşik asit, toplam fenolik madde miktarı fazla olan *H. thymopsis*'in HTS ekstresinde 11,77 µg/g iken, *H. perforatum*'un HPS ekstresinde 0,48 µg/g; *o*-kumarik asit ise *H. thymopsis*'in HTS ekstresinde 2,26 µg/g iken *H. perforatum*'un HPS ekstresinde 0,58 µg/g olarak bulunmuştur. Vanilik asit miktarı HTİNF'nda 1,42 µg/g iken; HPME'nda 0,61 µg/g olduğu; kumarik asit miktarı *H. thymopsis* 'e ait HTSU 2,41 µg/g iken HP%70ME 3,86 µg/g daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Kafeik asit miktarı ise en yüksek *H. thymopsis* 'e ait HTME 1,35 µg/g iken, HT%70ME'nde 0,44 µg/g, HT%50ET'nde 0,45 µg/g, *H. perforatum*'a ait ekstralarda ise HP%70ME'nde 0,40 µg/g, HPS 0,18 µg olarak tespit edilmiştir. *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'a ait apolar HTHE ve HPHE ekstralarında ise fenolik asite rastlanmamıştır.

Hypericum cinsine özgü bileşikler olan naftodiantron türevi hiperisinler, aynı zamanda türlerin birçok farmakolojik etkisinde sorumlu bileşiklerdir.

Bu çalışmada, *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'dan hazırlanan farklı polaritedeki ekstralarda hiperisin ve psödohiperisin miktar tayini önceden yayınlanan protokollere

göre ters-faz YBSK yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018). *H. thymopsis*'de, referans bitki *H. perforatum*'la kıyaslandığında, hazırlanan eksterlerde çok az miktarda hiperisin ve psödohiperisin içerdiği tespit edilmiştir. Metanolle masere edilerek hazırlanan *H. perforatum* ekstresinde (HHPH) oldukça yüksek oranda hiperisin (10,79 µg/g ekstre) ve psödohiperisine (27,01 µg/g ekstre) rastlanırken, aynı şekilde hazırlanan *H. thymopsis* ekstresinde (HTHP) her iki bileşiğe oldukça az miktarda rastlanmıştır.

H. perforatum ve *H. thymopsis* türlerinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın verimleri genellikle %1'den az olmakla birlikte %0,1-%0,25; ana bileşenleri ise her iki türde de α -pinen (%25-54,8, sırasıyla) olarak bulunmuştur. Referans bitki *H. perforatum*'a kıyasla, *H. thymopsis* uçucu yağı monoterpen bileşiklerce daha zengindir. Çalışılan iki türün uçucu yağ; monoterpenler (α -pinen, β -pinen, limonen ve mirsen) ve seskiterpenler (β -karyofillen ve karyofillen oksit)dir. Ayrıca uçucu yağda alifatik bileşikler de (2-metil oktan, n-nonan, n-dekan, n-undekan, n-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan) bulunmaktadır.

Özellikle *Drosanthe* seksiyonunda yer alan *Hypericum* türlerinin uçucu yağında α -pinen'in yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu rapor edilmiştir (Yüce, 2009). Ayrıca, Hindistan ve Türkiye'de doğal olarak yetişen *H. perforatum* 'un uçucu yağında ana bileşen α -pinen (>%60) (Çakır vd., 1997; Weyerstahl vd., 1995); Sırbistan ve Fransa gibi bazı ülkelerde yetişen *H. perforatum* uçucu yağında ana bileşen karyofillen (Gudžić vd., 2001); Litvanya'da yayılış gösteren *H. perforatum* türünün uçucu yağında ana bileşen β -karyofillen veya karyofillen oksit olarak bulunmuştur (Mockute vd., 2003). *Hypericum* cinsi uçucu yağları için majör ve karakteristik bir komponent olarak α -pinen içeren diğer türler; *H. hircinum*, *H. perforatum*, *H. hyssopifolium*, *H. heterophyllum*, *H. forrestii*, *H. apricum* olarak sıralanmaktadır (Bağcı ve Yüce, 2010; Bertoli vd., 2000; A. Çakır vd., 2004; Couladis vd., 2001; Demirci vd., 2005).

Koç'un 2019 yılında yaptığı tez çalışmasında *H. thymopsis*'in uçucu yağın ana bileşenleri α -pinen, spatulenol ve limonen olarak tespit edilmiş, Eroğlu Özkan vd. (2013)'nin yaptığı çalışmada *H. thymopsis*'in de içinde bulunduğu 5 endemik *Hypericum* türünün uçucu yağında da α -pinen ana bileşik olarak, Özkan vd. (2009)'nin yaptığı bir çalışmada ise *H. thymopsis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın ana bileşikleri; spatulenol (%10,8), δ -kadinen (%7,1), germakren D (%6,1), γ -muurolen

(%5,9), 2,3,6-trimetilbenzaldehit (%5) ve γ -kadinen (%4,4) olarak tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2013; Özkan vd., 2009; Koç, 2019).

H. thymopsis'in çiçekli örneklerinden elde edilen uçucu yağında ise toplam 49 bileşen saptanmış; ana bileşenleri α -pinen (%29,31), limonen (%7,15), germakren D (%6,94), bisiklogermakren (%5,95), δ -kadinen (%4,59) ve spatulenol (%4,69) olarak tespit edilmiştir (Yüce, 2009).

Bronkodilatör, antienflamatuar, bakterisit, bakteriostatik ve anti-asetilkolinesteraz etkilere sahip α -pinen, bitkinin infüzyonun halk arasında mide rahatsızlıkları ve enfeksiyon kaynaklı boğaz ağrılarını tedavici edici etkisini doğrulamaktadır (Tekin, 2017).

Bu çalışmada *H. thymopsis* ve *H. perforatum* ekstrelerinin antioksidan potansiyelini değerlendirmek amacıyla, hazırlanan etilasetat, metanol, hegzan, ekstreleri ve infüzyonlarının antioksidan aktiviteleri farklı antioksidan yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Çalışılan ekstrelerin antiradikal aktivitesini tayin etmek için kullanılan DPPH• radikali süpürücü etki çalışmasında; *H. thymopsis*'in %70 etanollü ekstresi (HT%70ET), diğer fraksiyonlara kıyasla standart olarak kullanılan BHT ve kersetine (%58,65±0,15 ve %98,61±1,85) yakın antioksidan aktivite görülen ekstre olarak tespit edilmiştir. Ayrıca *H. perforatum*'un metanol ekstresi (HPME) de %35,19±0,62 inhibisyon yüzdesiyle belirgin bir aktivite göstermiştir. *H. thymopsis*'in metanol ekstresi (HTME) %28,49±0,22 ile kıyaslandığında *H. perforatum*'un metanol ekstreside (HPME) daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. *H. thymopsis*'in su ekstresi (HTSU) %32,53±0,15 *H. perforatum*'un su ekstresi HPSU %31,20±0,34 ile kıyaslandığında yakın sonuçlar vermiştir.

Tez kapsamında çalışılan iki *Hypericum* türüne ait ekstrelerin metal şelatlayıcı antioksidan aktivite sonuçları 0,5 mg/mL konsantrasyonda EDTA (%95,38) ile karşılaştırıldığında; *H. thymopsis* ve *H. perforatum* etil asetat ekstreleri HTEA, HPEA sırasıyla %74,06±4,40, %79,58±8,36 inhibisyon oranları ile diğer ekstrelerle göre oldukça önemli antioksidan aktivite göstermiştir. Genel olarak çalışılan yüksek fenolik madde içeren etil asetat ekstrelerinin, diğer ekstrelerden daha yüksek metal şelatlayıcı antioksidan aktivite gösterdiği görülmektedir.

Ekstrelerin redükleyici güç ölçümleri sonucunda elde edilen EC₅₀ değerleri, BHT (0,2 mg/mL) ve askorbik asitin (0,18 mg/mL) EC₅₀ değerleri ile karşılaştırılmış, en

yüksek demir redükleme kapasitesine sahip ekstrelerin *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un metanol ekstreleri (HTME, HPME) ($EC_{50} = 0,36-0,33$ mg/mL) olduğu, en düşük aktiviteye sahip ekstrenin ise EC_{50} değeri 3,27 mg/mL olan *H. perforatum*'un hekzan ekstresi (HPHE) ve EC_{50} değeri 5,12 mg/mL olan *H. thymopsis*'in %70 metanol (HT%70ME) ekstresi olduğu belirlenmiştir.

Ekstrelerin DPPH• radikali süpürücü ve redükleyici güç ölçümü ile tayin edilen antioksidan aktivite sonuçları karşılaştırıldığında; $9,6 \times 10^{-3}$ mg/mL konsantrasyonda belirgin DPPH• süpürücü antioksidan aktivite gösteren HT%70ET (%44,33±0,93) ve HTSU (%32,53±0,15) fraksiyonları, sırasıyla 0,33mg/mL ve 0,32mg/mL EC_{50} değerleri ile belirgin redükleyici antioksidan aktivite göstermiştir. Bu nedenle DPPH• ve redükleyici güç ölçümü ile antioksidan aktivite sonuçlarının birbiri ile uyumlu olduğunu söyleyebiliriz.

Koç'un 2019 çalışmasında, *H. thymopsis* türüne ait üç farklı lokaliteden toplanan örneklerin yaprak ve çiçeklerinin antioksidan özellikleri ayrı ayrı çalışılmıştır. Ayrıca *H. perforatum* türü de karşılaştırılmıştır. *Hypericum* örneklerinin, DPPH• radikali üzerinden tayin edilen antiradikal aktivitesi en yüksek çiçek ekstrelerinde görülmüştür. Türler arasında en önemli radikal süpürücü etki *H. perforatum* çiçek ekstrelerinde tespit edilmiştir. ABTS•⁺ radikali üzerinden tayin edilen en yüksek antioksidan aktivite *H. perforatum* yaprak ekstresinde görülmüştür (Koç, 2019)

H. perforatum'un farklı ekstrelerinin DPPH• radikali süpürücü aktivitesinin BHT, BHA ile karşılaştırılarak incelendiği başka bir çalışmada yüksek antioksidan aktiviteden flavonoidler ve fenolik asitlerin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Orčić vd., 2011). Diğer bir çalışmada ise *H. perforatum*'un %80 etanollü ekstresinin yüksek DPPH• ve süperoksit radikallerini süpürücü antioksidan kapasitesinden ekstrenin yüksek polisakkarit konsantrasyonunun sorumlu olduğu belirtilmiştir (Heydarian vd., 2017). İtalya'da yetişen *H. perforatum* subsp. *perforatum*, *H. perforatum* subsp. *veronense*, dahil farklı *Hypericum* türlerinin metanol-aseton (1:1, h/h) ekstrelerinin hafif ila orta derecede DPPH• serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir (Sagratini vd., 2008).

Ülkemiz için endemik *H. malatyanum* ve *H. neurocalycinum*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstrelerinin antioksidan aktivitesi DPPH•, süperoksit, demir indirgeyici antioksidan etki (FRAP) ve lipit peroksidasyonunu inhibisyon yöntemleri ile test edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı yüksek bulunan *H. neurocalycinum*'un

metanollü ekstresinin 4 yöntemde de standart kersetinin sonuçlarına benzer düzeyde yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018).

Demans, nörolojik bozukluklara veya rahatsızlıklara eşlik eden ve çoğunlukla yaşlı nüfusta görülen bir grup semptomdur. Bellek, düşünme, anlama, hesaplama ve dil gibi birden fazla bilişsel işlevin bozulması ile karakterizedir. Demansın en yaygın eşlik ettiği hastalıklar arasında Alzheimer (AD), Parkinson gibi nörodejeneratif bozukluklar sayılabilir.

H. thymopsis ve *H. perforatum* türlerinin farklı polaritedeki ekstrelerinin 250 µg/mL konsantrasyonda asetilkolinesteraz enzimi % inhibisyon değerleri 18,96±0,85 - 30,03±0,85 arasında tespit edilirken, aynı çalışmada pozitif kontrol galantamin %83,53±1,11, Donepezil %98,15±1,02, Takrin %98,02±1,04 inhibisyon değerleri göstermişlerdir. AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları ve metal şelatlayıcı antioksidan aktivite sonuçları karşılaştırıldığında AChE enzimini 250 µg/mL konsantrasyonda belirgin bir şekilde inhibe eden HTME, HPME (25,11±0,96, 30,03±0,85) ve BChE enzimini 250 µg/mL konsantrasyonda inhibe eden HTME, HPME (23,76±0,53, 25,47±0,64), 0,5 mg/mL konsantrasyonda yüksek metal şelatlayıcı aktivite (%74,06±4,40, 79,58±8,36) göstermiştir.

0,5 mg/mL konsantrasyonda yüksek metal şelatlayıcı etki gösteren HT%70ME (%76,54±17,22), HTSU (%69,13±8,14), HPSU (%65,56±10,10) ekstreleri; 250 µg/mL konsantrasyonda AChE (sırasıyla %25,62±0,81, %19,53±0,74, %22,52±0,56) ve BChE enzimlerini (sırasıyla %20,21±0,59, %15,22±0,66, %18,62±0,50) inhibe ederek belirgin nöroprotektif etki göstermişlerdir.

Hypericum türleri yapılan nöroprotektif etki çalışmalarında; *H. perforatum* etanol ekstresi belirgin AChE (%49,54±4,44), etil asetat ekstresi ise belirgin BChE (%50,79 ± 3,07) enzim inhibisyonu (Altun vd., 2013 s. 87), endemik *H. malatyanum* ve *H. neurocalycinum*'un toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinin AChE enzim inhibisyonları sırasıyla 10 µg/mL'de %62,24±1,81 ve %85,78±4,1 olarak tayin edilirken, aynı çalışmada *H. neurocalycinum* ekstresinin daha güçlü AChE inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir (Eroğlu Özkan vd., 2018). Ancak, bu tez çalışmada kullanılan *H. thymopsis* ve *H. perforatum* türlerinin daha düşük anti-alzheimer aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Ülkemiz için endemik *H. thymopsis*'in antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri açısından ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada, *H. thymopsis* ve *H. perforatum* türlerinin

toprak üstü kısımlarından hazırlanan etilasetat, metanol, hegzan ekstreleri ve infüzyonlarının antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri tayin edilmiş; *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un apolar hegzan ekstrelerinin *E. faecalis* 51299, *E. faecalis* 29212, *E. coli* 35218, *E. coli* 25912, *P. aeruginosa* suşları ile kıyaslandığında; *E. faecalis* 51299 ve *E. faecalis* 29212 her ikisinde 400 µg/mL MİK değerleri; *E. coli* 35218, *P. aeruginosa* suşlarında da 200 µg/mL MİK değerleri ile benzer sonuçları vermiştir. *E. coli* 35218 suşuna karşı *H. thymopsis* hegzan ekstresi (HTHE) 200 µg/mL MİK değeri ile *H. perforatum*'un hegzan ekstresi 400 µg/mL MİK değeri ile yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği, *S. aureus* suşunda ise üreme olmadığı görülmüştür.

Genel olarak, ekstrelerin *E. faecalis* 51299, *E. faecalis* 29212, *E. coli* 35218, *E. coli* 25912, *P. aeruginosa* suşlarına karşı 200 µg/mL MİK değerleri ile kontrol kloramfenikole (31,25 -125 µg/mL MİK) oranla daha düşük aktivite gösterdiği; *H. thymopsis* infüzyonlarının *E. faecalis* 51299, *E. faecalis* 29212, *E. coli* 35218, *E. coli* 35218, *P. aeruginosa* suşlarına karşı 200-400 µg/mL MİK değerleri ile *H. thymopsis* infüzyonlarının *H. perforatum*'un infüzyonlarından daha yüksek aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır.

C. albicans, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* mantar suşlarına karşı *H. thymopsis* ve *H. perforatum* metanol ve *H. thymopsis* hegzan ekstresi (100 µg/mL MİK) kontrol ketakonazol (7,81 µg/mL MİK) göre düşük; fakat çalışılan diğer ekstrelerle kıyaslandığında üç suş içinde *C. albicansa* karşı etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca, *H. thymopsis* ve *H. perforatum* metanol ekstreleri her üç suşa karşı etkili bulunmuştur. *H. thymopsis* ve *H. perforatum* infüzyonlarının *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* mantar suşlarına karşı HTİNF 200 µg/mL MİK ile HPİNF 800 µg/mL MİK değerleriyle, *H. thymopsis*'in antifungal aktivitesinin daha iyi sonuç verdiği görülmüştür.

Hypericum türleri ile birçok antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmış, *H. spectabile*, *H. pseudolaeye*, *H. thymbrifolium*, *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum* metanol ekstrelerinin *P. aeruginosa* ATCC 1539 suşuna karşı herhangi bir aktivite göstermediği (Eroğlu Özkan vd., 2018) *H. gaitii* aseton, su ve etanol ekstrelerinin *S. aureus*'a karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu (Panda vd., 2017), Makedonya da yetişen *H. perforatum* köklerinin metanollü ekstreleri, *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı (Tusevski vd., 2018), *H. perforatum* toprak üstü kısımlarının % 80 etanolü ekstresi *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhi*, *Sh. dysenteriae* bakterilerinde hücre

duvarı yapısını bozarak antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Heydarian vd., 2017).

H. reflexum, *H. canariense* ve *H. grandifolium*'un toprak üstü kısımlarının metanol-aseton (1:1, h/h) ekstralarının ve uçucu yağlarının; *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri test edilmiş, üç türden elde edilen uçucu yağlar, *C. albicans*'a karşı ölçülebilir bir aktivite göstermiştir. Ekstreler 32 ila 128 mg/L arasında değişen MİK'lar ile *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı aktif bulunmuşlardır. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı mikrodilüsyon testleri tüm bitkiler için negatif sonuçlar vermiştir (Duan vd., 2018).

Hücre ölümüne neden olan anlamına gelen, sitotoksikite araştırmaları, bir maddenin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılır. Sitotoksikite, incelenen maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelere değişik derecelerde zarar veren bir olaydır. *In vitro* sitotoksikite testleri, ilaç niteliği taşıyan veya toksik profili araştırılan bileşen/ekstrelerin değerlendirilmesi amacıyla hücre kültüründe gerçekleştirilen ölçüm metodlarıdır (Tokur ve Aksoy, 2017).

Hücre kültürü çalışmalarımızda, *H. thymopsis* ve *H. perforatum*'un önemli derecede antioksidan aktivite göstermiş sulu ve %70 metanol:su ekstralarının Caco-2 kolon kanseri ve 3T3 sağlıklı hücre hatlarında MTT yöntemi ile sitotoksik aktiviteye bağlı olarak antiproliferatif etkileri tayin edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda oluşturulan GraphPad grafiklerine bakıldığında; 3T3 hücre hattı için, MTT sitotoksikite testine göre siklofosfamidin için toksik olmayan konsantrasyon aralığı 62,5-500 µg/mL iken; Caco-2 hücre hattı için 125 µg/mL-500 µg/mL'dir.

H. thymopsis'in %70 metanol (HT%70ME) ekstresinin 3T3 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31-125 µg/mL'dir. Aynı ekstrenin Caco-2 hücre hattında yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğu Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi daha yüksek olup, toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31-62 µg/mL'dir.

HTİNF ekstresinin 3T3 hücre hattına olan sitotoksik etkisi kendini yüksek konsantrasyonlarda belli etmektedir. Toksik olmayan konsantrasyonlar 31,25-250 µg/mL aralığındadır. Bunun yanında pozitif kontrol olarak kullanılan siklofosfamidin sitotoksik etkisi HFİNF den daha yüksektir.

H. perforatum infüzyonu (HPİNF) Caco-2 hücre hattında yüksek konsantrasyonlarda (250-500 µg/mL) sitotoksik etkili bulunurken, toksik olmayan konsantrasyon aralığı 31,25-250 µg/mL'dir.

Literatür taramalarımızda endemik *H. thymopsis* türü ile ilgili sitotoksikite çalışmasına rastlanmazken, *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının %80'lik metanol ekstresinin sitotoksik aktivitesi, Caco-2 kolon kanseri hücrelerinde 0,01-100 µg/mL konsantrasyonlarda değerlendirilmiştir ve bizim çalışmamıza paralel sadece en yüksek 100 µg/mL konsantrasyonda sitotoksik davranış gözlemlendiği görülmüştür (Sarrou vd., 2018).

Sonuç olarak, Hypericaceae familyası üyesi *H. thymopsis*'in toprak üstü kısımlarının diğer *Hypericum* türlerine nazaran az miktarda hiperisin ve psödohiperisin; toplam fenol ve flavonoid içeren etil asetat ekstresinde *trans*-sinnamik asit, ayrıca metanollü ve sulu ekstralarında *proto*-kateşik asit ve *orto*-kumarik asit; toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağında ise özellikle *Drosanthe* seksiyonunda yer alan diğer *Hypericum* türleri gibi yüksek konsantrasyonda α -pinen içerdiği tespit edilmiştir. *H. thymopsis*'in %70 etanollü ekstresi (HT%70ET), DPPH• üzerinden antiradikal aktivite tayininde standart olarak kullanılan BHT ve kersetine yakın; metal şelatlayıcı antioksidan aktivite sonuçlarına göre etil asetat ekstresi HTEA, pozitif kontrol EDTA 'ya yakın antioksidan aktivite görülen ekstralar olarak tespit edilmiştir, AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları ve metal şelatlayıcı antioksidan aktivite sonuçları karşılaştırıldığında 250 µg/mL konsantrasyonda *H. thymopsis* etilasetat ekstresinin (HTEA), AChE ve BChE enzimini donopezil ve galantamine oranla çok az inhibe ettiği, aynı konsantrasyonda yüksek metal şelatlayıcı aktivite gösterdiği görülmüştür. Ayrıca, *H. thymopsis*'in apolar hekzan ve polar metanol ekstralarında pozitif kontrole göre düşük ancak diğer ekstralara göre göz ardı edilemeyecek derecede belirgin antibakteriyel ve antifungal aktivite tespit edilmiştir. Çalışılan her iki türe ait ekstralarla yapılan sitotoksik aktivite çalışmalarında pozitif kontrol siklofosfamide göre anlamlı değerler elde edilmiştir.

Ülkemiz endemik türlerinden biri olan *H. thymopsis*'in psödohiperisin içeriği ile anti-alzheimer, sitotoksik, antifungal ve antibakteriyel aktivitelerinin ilk kez bu çalışmada sunulmuş olması oldukça önemlidir. Ayrıca, tez kapsamında yapılan çalışmaların, *H. thymopsis*'in ülkemizde yetiştiği diğer lokalitelerden temin edilerek çalışılması ve elde

edilen sonuçların değerlendirilmesi, farmakognozi bilim alanı için oldukça fayda sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akgöz, Y. 2009. *Hypericum Retusum Aucher* Bitkisinin Farklı Çözücülerde Hazırlanan Ekstraktlarının Antioksidan Etkileri. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi.
- Akgöz, Y. 2013. Türkiye Florası'na Ait *Hypericum* L. Cinsinin Tehlike Kategorileri ve Bulunan Yeni Türleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1: 2), 62–69.
- Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Park, C. H., Park, S. U. 2015. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI Journal*. 14, 59-63.
- Alali, F. Q., Tawaha, K. 2009. Dereplication of bioactive constituents of the genus *hypericum* using LC-(+,-)-ESI-MS and LC-PDA techniques: *Hypericum triqueterifolium* as a case study. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 17(4), 269–274.
- Altan, A., Damlar, İ., Hamdi Aras, M., Alpaslan, C. 2015. Sarı Kantaronun (*Hypericum Perforatum*) Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi Effect. *Archives Medical Review Journal*, 24(4), 578–591.
- Altun, M. L., Yılmaz, B. S., Orhan, I. E., Citoglu, G. S. 2013. Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). *Industrial Crops and Products*, 43(1), 87–92.
- Ao, Z., Liu, Y. Y., Lin, Y. L., Chen, X. lin, Chen, K., Kong, L. Y., Luo, J. G. 2020. Hyperpatulones A and B, two new peroxide polyprenylated acylphloroglucinols from the leaves of *Hypericum patulum*. *Tetrahedron Letters*, 61(12), 151385.
- Ari, F., Aztopal, N., Erkisa, M., Celikler, S., Sahin, S., Ulukaya, E. 2017. Nonapoptotic cell death induced by *Hypericum* species on cancer cells. *The European Research Journal*, 3(1), 1-10.
- Atay, M. 2014. *İnsan Serum Bütirilkolinesterazı Ve Eritrosit Asetilkolinesterazının Statin Türevleri İle Etkileşiminin İncelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara : Hacettepe Üniversitesi.
- Ayan, A. K., Çırak, C. 2008. Hypericin and pseudohypericin contents in some *Hypericum* species growing in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 46(4), 288–291.
- Aygül, A., Şerbetçi, T. 2020. The antibacterial and antivirulent potential of *Hypericum lydium* against *Staphylococcus aureus*: Inhibition of growth, biofilm formation, and hemolytic activity. *European Journal of Integrative Medicine*, 35, 101061.

- Azeez, H., Ibrahim, K., Pop, R., Pamfil, D., Hârta, M., Bobiș, O. 2017. Changes induced by gamma ray irradiation on biomass production and secondary metabolites accumulation in *Hypericum triquetrifolium* Turra callus cultures. *Industrial Crops and Products*, 108, 183–189.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D. K., Ray, S. D., Kuszynski, C. A., Shantaram, S., Pruess, H. G. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148(2–3), 187–197.
- Bağcı, E., Yüce, E. 2010. Essential oils of the aerial parts of *Hypericum apricum* Kar. and Kir. and *Hypericum davisii* Robson (Guttiferae) species from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 22(9), 7405–7409.
- Bagdonaite, E., Mártonfi, P., Repčák, M., Labokas, J. 2010. Variation in the contents of pseudohypericin and hypericin in *Hypericum perforatum* from Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 634–640.
- Bagdonaite, E., Mártonfi, P., Repčák, M., Labokas, J. 2012. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Hypericum perforatum* L. from Lithuania. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 302–308.
- Bagdonaitė, E., Mártonfi, P., Repčák, M., Labokas, J. 2010. Variation in the contents of pseudohypericin and hypericin in *Hypericum perforatum* from Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 634–640.
- Bálintová, M., Bruňáková, K., Petijová, L., Čellárová, E. 2019. Targeted metabolomic profiling reveals interspecific variation in the genus *Hypericum* in response to biotic elicitors. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 348–358.
- Ballı, N. 2019. *Demans Hastalarında Tedaviye Uyuncu Ve Klinik Eczacının Rolü*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara : Hacettepe Üniversitesi.
- Bardhi, N., Stefkov, G., Karapandzova, M., Cvetkovikj, I., Kulevanova, S. 2015. Essential oil composition of indigenous populations of *Hypericum Perforatum* L. from Southern Albania. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 34(2), 333–341.
- Bariş, D., Kizil, M., Aytekin, C., Kizil, G., Yavuz, M., Çeken, B., Ertekin, A. S. 2011. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 339–355.

- Barros, F. M. C., Pippi, B., Dresch, R. R., Dauber, B., Luciano, S. C., Apel, M. A., Fuentefria, A. M., von Poser, G. L. 2013. Antifungal and antichemotactic activities and quantification of phenolic compounds in lipophilic extracts of *Hypericum* spp. native to South Brazil. *Industrial Crops and Products*, 44, 294–299.
- Başer, K. H. C. 2007. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.). *Bağ Bahçe Çiçek Dergisi*. Sayı:13, Eylül-Ekim, 28-29
- Baytop, T. 1999. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün)*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bennett, D., Phun, L., Polk, J., Voglino, S., Zlotnik, V., Raffa, R. 1998. Neuropharmacology of St. John’s Wort (*Hypericum*). *The Annals of Pharmacotherapy*, 32, 1201–1208.
- Berghofer, R., Holzl, J. 1987. Biflavonoids in *Hypericum perforatum*; Part 1. Isolation of 13,118-biapigenin. *Planta Medica*, 53(2), 216–217.
- Bertoli, A., Menichini, F., Mazzetti, M., Spinelli, G., Morelli, I. 2003. Volatile constituents of the leaves and flowers of *Hypericum triquetrifolium* Turrat. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(2), 91–94.
- Bertoli, A., Pistelli, L., Morelli, I., Spinelli, G., Menichini, F. 2000. Constituents of *hypericum hircinum* oils. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5), 617–620.
- Boga, M., Ertas, A., Eroglu-Ozkan, E., Kizil, M., Ceken, B., Topcu, G. 2016. Phytochemical analysis, antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase and DNA protective effects of *Hypericum capitatum* var. *capitatum* extracts. *South African Journal of Botany*, 104, 249–257.
- Boots, A. W., Wilms, L. C., Swennen, E. L. R., Kleinjans, J. C. S., Bast, A., Haenen, G. R. M. M. 2008. In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. *Nutrition*, 24(7–8), 703–710.
- Boran, R. 2018. Investigations of anti-aging potential of *Hypericum organifolium* Willd. for skincare formulations. *Industrial Crops and Products*, 118, 290–295.
- Boran, R., Ugur, A. 2017. The mutagenic, antimutagenic and antioxidant properties of *Hypericum lydium*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 402–405.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *The Microflown E-Book*, 28, 25-30.

- Bridi, H., Ccana-Ccapatinta, G. V., Stolz, E. D., Meirelles, G. C., Bordignon, S. A. L., Rates, S. M. K., Von Poser, G. L. 2016. Dimeric acylphloroglucinols from *Hypericum austrobrasiliense* exhibiting antinociceptive activity in mice. *Phytochemistry*, 122, 178–183.
- Butterweck, V. 2003. Mechanism of Action of St John's Wort in Depression. *CNS Drugs*, 17(8), 539-562.
- Çakır, A., Duru, M. E., Harmandar, M., Ciriminna, R., Passannanti, S., Piozzi, F. 1997. Comparison of the volatile oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(4), 285-287.
- Çakır, A., Kordali, S., Zengin, H., Izumi, S., Hirata, T. 2004. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(1), 62–68.
- Çakır, Ahmet, Mavi, A., Yildirim, A., Duru, M. E., Harmandar, M., Kazaz, C. 2003. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 73–83.
- Çakıroğlu, G. 2009. *Asetilkolinesteraz İnhibitörleri Olarak Bazı Piridin Türevleri Üzerinde Sentez Ve Biyoaktivite Çalışmaları*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi.
- Camas, N., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Kayıkcı, S., Çırak, C. 2014. Chemical composition of *Hypericum* species from the *Taeniocarpium* and *Drosanthe* sections. *Plant Systematics and Evolution*, 300(5), 953–960.
- Can, Ö. D., Öztürk, Y., Özkay, Ü. 2009. Doğal Bir Antidepresan: *Hypericum Perforatum* L. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 29(3), 708–715.
- Cao, X., Yang, X., Wang, P., Liang, Y., Liu, F., Tuerhong, M., Jin, D., Xu, J., Lee, D., Ohizumi, Y., Guo, Y. 2017. Polycyclic phloroglucinols as PTP1B inhibitors from *Hypericum longistylum*: Structures, PTP1B inhibitory activities, and interactions with PTP1B. *Bioorganic Chemistry*, 75, 139–148.
- Cargnin, S. T., Vieira, P. de B., Cibulski, S., Cassel, E., Vargas, R. M. F., Montanha, J., Roehe, P., Tasca, T., Poser, V., Gilsane, L. 2013. Anti-Trichomonas vaginalis activity of *Hypericum polyanthemum* extract obtained by supercritical fluid extraction and isolated compounds. *Parasitology International*, 62(2), 112–117.

- Cass, H. 2003. St. John's wort as an herbal treatment for depression and general considerations for the use of herbs in mental health. *Seminars in Integrative Medicine*, 1(4), 191-198.
- Ccana-Ccapatinta, G. V., Von Poser, G. L. 2015. Acylphloroglucinol derivatives from *Hypericum laricifolium* Juss. *Phytochemistry Letters*, 12, 63–68.
- Ccana Ccapatinta, G., Kaiser, S., Danielli, L. J., Dresch, R. R., D'Avila, F. B., Fröhlich, P. E., von Poser, G. L. 2018. Acylphloroglucinol profile and antichemotactic activity of lipophilic extracts from Peruvian *Hypericum* species. *Industrial Crops and Products*, 125, 323–327.
- Ccana Ccapatinta, G., Serrano Flores, C., Urrunaga Soria, E. J., Choquenaira Pari, J., Galiano Sánchez, W., Crockett, S. L., Del Carpio Jimenez, C. 2014. Assessing the phytochemical profiles and antidepressant-like activity of four Peruvian *Hypericum* species using the murine forced swimming test. *Phytochemistry Letters*, 10(1), 107–112.
- Celep, E., İnan, Y., Akyüz, S., Yesilada, E. 2017. The bioaccessible phenolic profile and antioxidant potential of *Hypericum perforatum* L. after simulated human digestion. *Industrial Crops and Products*, 109, 717–723.
- 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.
- Chatterjee, S. S., Biber, A., Weibezahn, C. 2001. Stimulation of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyric acid release from synaptosomes by hyperforin. *Pharmacopsychiatry*, 34, 11-19.
- Chen, C., Wei, G., Zhu, H., Guo, Y., Li, X. N., Zhang, J., Liu, Y., You, G., Luo, Z., Xue Y., Zhang, Y. 2015. A new 3,4-seco-oleanane-type triterpenoid with an unusual enedione moiety from *Hypericum ascyron*. *Fitoterapia*, 103, 227–230.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., Lin, Y. 1998. Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421–464.
- Çırak, C., Kurt, D. 2014. Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri ve Kullanım Alanları. *Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 24(1), 38–52.
- Çırak, C., Radušiene, J., Çamas, N. 2008. Pseudohypericin and hyperforin in two Turkish *Hypericum* species: Variation among plant parts and phenological stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(5–6), 377–382.

- Çırak, C., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Çamas, N. 2014. Changes in the content of bioactive substances among *Hypericum montbretii* populations from Turkey. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 24(1), 20–24.
- Çırak, C., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Çamaş, N. 2015. Population variability of main secondary metabolites in *Hypericum lydiu* Boiss. (Hypericaceae). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(3), 969–978.
- Çırak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Seyis, F., Yayla, F. 2017. Altitudinal changes in secondary metabolite contents of *Hypericum androsaemum* and *Hypericum polyphyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 70, 108–115.
- Çırak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Yayla, F., Seyis, F., Camas, N. 2016. Secondary metabolites of *Hypericum* species from the *Drosanthe* and *Olympia* sections. *South African Journal of Botany*, 104, 82–90.
- Çırak, C., Radušiene, J., Janulis, V., Ivanauskas, L., Çamaş, N., Ayan, A. K. 2011. Phenolic constituents of *Hypericum triquetrifolium* Turra (Guttiferae) growing in Turkey: Variation among populations and plant parts. *Turkish Journal of Biology*, 35(4), 449–456.
- Çırak, C., Sağlam, B., Ayan, A. K., Kevseroğlu, K. 2006. Morphogenetic and diurnal variation of hypericin in some *Hypericum* species from Turkey during the course of ontogenesis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(1), 1–13.
- Couladis, M., Baziou, P., Petrakis, P. V., Harvala, C. 2001. Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. growing in different locations in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(3), 204–206.
- Crockett, S., Baur, R., Kunert, O., Belaj, F., Sigel, E. 2016. A new chromanone derivative isolated from *Hypericum lissophloeus* (Hypericaceae) potentiates GABAA receptor currents in a subunit specific fashion. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(4), 681–685.
- Crockett, S. L. 2010. Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). *Natural Product Communications*, 5(9), 1493–1506.
- Crockett, S. L., Robson, N. K. B. 2011. Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus *Hypericum* Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*. *Medicinal and aromatic plant science and biotechnology*, 5, 1-13.

- Crockett, S. L., Wenzig, E. M., Kunert, O., Bauer, R. 2008. Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. *Phytochemistry Letters*, 1(1), 37–43.
- Dall’Agnol, R., Ferraz, A., Bernardi, A. P., Albring, D., Nör, C., Sermento, L., Lamb, L. Hass, M., von Poser, G., Schapoval, E. E. S. 2003. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine*, 10, 511–516.
- De Bruyne, T., Pieters, L., Witvrouw, M., De Clercq, E., Berghe, D. Vanden, Vlietinck, A. J. 1999. Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *Journal of Natural Products*, 62(7), 954–958.
- Decosterd, L. A., Hoffmann, E., Kyburz, R., Bray, D., Hostettmann, K. 1991. A new phloroglucinol derivative from *Hypericum calycinum* with antifungal and in vitro antimalarial activity. *Planta Medica*, 57(6), 548–551.
- Del Monte, D., De Martino, L., Marandino, A., Fratianni, F., Nazzaro, F., De Feo, V. 2015. Phenolic content, antimicrobial and antioxidant activities of *Hypericum perforatum* L. *Industrial Crops and Products*, 74, 342–347.
- Dell’Aica, I., Niero, R., Piazza, F., Cabrelle, A., Sartor, L., Colalto, C., Brunetta, E., Lorusso, G., Benelli, R., Albini, A., Calabrese, F., Agostini, C., Garbisa, S. 2007. Hyperforin blocks neutrophil activation of matrix metalloproteinase-9, motility and recruitment, and restrains inflammation-triggered angiogenesis and lung fibrosis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321(2), 492–500.
- Demirci, B., Baser, K. H. C., Crockett, S. L., Khan, I. A. 2005. Analysis of the volatile constituents of asian *Hypericum* L. (Clusiaceae, Hyperidoideae) Species. *Journal of Essential Oil Research*, 17(6), 659–663.
- Demirkiran, O., Ahmed Mesaik, M., Beynek, H., Abbaskhan, A., Iqbal Choudhary, M. 2009. Cellular reactive oxygen species inhibitory constituents of *Hypericum thasium* Griseb. *Phytochemistry*, 70(2), 244–249.
- Díaz, J. G., De Paz, P. P., Herz, W. 2010. New water soluble flavone and xanthone glycosides from *Hypericum canariense* L. *Phytochemistry Letters*, 3(4), 171–175.
- Dikmen, Miriş, Canturk, Z., Ozturk, Y., Tunali, Y. 2010. Investigation of the apoptotic effect of curcumin in human leukemia HL-60 cells by using flow cytometry. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 25(6), 749–755.

- Dikmen, Miris, Ozturk, N., Ozturk, Y. 2011. The antioxidant potency of punica granatum L. fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. *Journal of Medicinal Food*, 14(12), 1638–1646.
- Dordević, A., Lazarević, J., Šmelcerović, A., Stojanović, G. 2013. The case of *Hypericum rochelii* Griseb. & Schenk and *Hypericum umbellatum* A. Kern. essential oils: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 145–148.
- Douichene, S., Hammadi, K., Djebli, N. 2016. Neuroprotective Effect of *Hypericum thymopsis* Against Chronic Exposure to Aluminum Chloride and Alzheimer's Disease. *American Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(3), 20–28.
- Dresler, S., Kováčik, J., Strzemski, M., Sowa, I., Wójciak-Kosior, M. 2018. Methodological aspects of biologically active compounds quantification in the genus *Hypericum*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 155, 82–90.
- Duan, Y. T., Zhang, J., Lao, Y. Z., Tan, H. S., Ye, Y. S., Yang, X. W., Xu, H. X., Xu, G. 2018. Spirocyclic polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from the ethyl acetate fraction of *Hypericum henryi*. *Tetrahedron Letters*, 59(46), 4067–4072.
- Dülger, B., Hacıoğlu, N. 2009. Antibacterial activity of three endemic *Hypericum* species used in folkloric medicine against methicilin-resistant *staphylococcus aureus*. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23, 763–765.
- Dülger, Başaran, Gonuz, A. 2005. Antibacterial activity of the endemic *Hypericum kazdagensis*. *Fitoterapia*, 76(2), 237–239.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.
- Ernst, E. 2003. *Hypericum : The genus Hypericum*. (E. Ernst, Ed.) (1st Editio). CRC Press.
- Eroğlu Özkan, E., Özsoy, N., Özhan, G., Özbek Çelik, B., Mat, A. 2013. Chemical composition and biological activities of *Hypericum pamphylicum*. *Industrial Crops and Products*, 50, 182–189.
- Eroğlu Özkan, E., Yilmaz Ozden, T., Ozsoy, N., Mat, A. 2018. Evaluation of chemical composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of *Hypericum neurocalycinum* and *Hypericum malatyanum*. *South African Journal of Botany*, 114, 104–110.

- Ersoy, E., Eroglu Ozkan, E., Boga, 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.
- Ersoy, E., Eroglu Ozkan, E., Boga, M., Yilmaz, M. A., Mat, A. 2019. Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three *Hypericum* species with focus on phytochemical composition by LC–MS/MS. *Industrial Crops and Products*, 61(12), 111735.
- Europe, C. of. 2005. European Pharmacopoeia (5th Editio). Strasborg: Council of Europe.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, S. M. 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52–67.
- Ferraz, A. B. F., Limberger, R. P., Bordignon, S. A. L., von Poser, G. L., Henriques, A. T. 2005. Essential oil composition of six *Hypericum* species from southern Brazil. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(3), 335–339.
- Ferraz, A., Bordignon, S. A. L., Staats, C., Schripsema, J., Lino von Poser, G. 2001. Benzopyrans from *Hypericum polyanthemum*. *Phytochemistry*, 57(8), 1227–1230.
- Ferraz, A., Faria, D. H., Benneti, M. N., Brondani Da Rocha, A., Schwartzmann, G., Henriques, A., Von Poser, G. L. 2005. Screening for antiproliferative activity of six southern Brazilian species of *Hypericum*. *Phytomedicine*, 12(1–2), 112–115.
- Filippini, R., Piovan, A., Borsarini, A., Caniato, R. 2010. Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 81(2), 115–119.
- Fobofou, S. A. T., Franke, K., Sanna, G., Porzel, A., Bullita, E., La Colla, P., Wessjohann, L. A. 2015. Isolation and anticancer, anthelmintic, and antiviral (HIV) activity of acylphloroglucinols, and regioselective synthesis of empetrifranzinans from *Hypericum roeperianum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(19), 6327–6334.
- Fobofou, S. A. T., Harmon, C. R., Lonfouo, A. H. N., Franke, K., Wright, S. M., Wessjohann, L. A. 2016. Prenylated phenyl polyketides and acylphloroglucinols from *Hypericum peplidifolium*. *Phytochemistry*, 124, 108–113.
- Fobofou, S., Ares, K., Arnold, N., Imming, P. 2019. New source report: Chemical constituents of *Hypericum quartinianum* (Hypericaceae), a sub-Saharan African plant species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 85, 46–49.

- França, H. S., Rocha, L., Fernande, C. P., Ruiz, A. L. T. G., de Carvalho, J. E. 2013. Antiproliferative activity of the hexanic extract and phloroglucinols from *Hypericum brasiliense*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(5), 844–847.
- Freshney, R. I. 2005. *Culture of animal cells : a manual of basic technique*. Wiley-Liss.
- Gadzovska, S., Maury, S., Ounnar, S., Righizza, M., Kascakova, S., Refregiers, M., Kascakova, S., Refregiers, M., Spasenoski, M., Joseph, C., Hagège, D. 2005. Identification and quantification of hypericin and pseudohypericin in different *Hypericum perforatum* L. in vitro cultures. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(6), 591–601.
- Gambarana, C., Ghiglieri, O., Tolu, P., Graziella, M., Montis, D., Giachetti, D., Bombardelli, E., Tagliamonte, A. 1999. Efficacy of an *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) Extract in Preventing and Reverting a Condition of Escape Deficit in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 21(2), 247-257.
- Gao, W., Hu, J. W., Hou, W. Z., Xu, F., Zhao, J., Xu, F., Gu, Z. Y. 2016. Four new prenylated phloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *Tetrahedron Letters*, 57(21), 2244–2248.
- Gao, W., Hu, J. W., Xu, F., Wei, C. J., Shi, M. J., Zhao, J., Wang, J. J. Zhen, Bo Ji, Teng F., Xing, J. G., Gu, Z. Y., Xu, F. 2016. Polyisoprenylated benzoylphloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *Fitoterapia*, 115, 128–134.
- Gibbons, S., Ohlendorf, B., Johnsen, I. 2002. The genus *Hypericum* - A valuable resource of anti-*Staphylococcal* leads. *Fitoterapia*, 73(4), 300–304.
- Gitea, D., Vicas, S., Alexandru Gitea, M., Nemeth, S., Mirela Tit, D., Pasca, B., Purza, L., Iovan, C. 2018. HPLC Screening of Bioactives Compounds and Antioxidant Capacity of Different *Hypericum* Species. *Revista De Chimie*, 69(2), 305-309.
- Gómez Del Rio, M. A., Sánchez-Reus, M. I., Iglesias, I., Pozo, M. A., García-Arencibia, M., Fernández-Ruiz, J., García-García, L., Delgado, M., Benedi, J. 2013. Neuroprotective Properties of Standardized Extracts of *Hypericum perforatum* on Rotenone Model of Parkinson's Disease. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 12, 665-679.
- Griffith, T. N., Varela-Nallar, L., Dinamarca, M. C., Inestrosa, N. C. 2010. Neurobiological Effects of Hyperforin and its Potential in Alzheimer's Disease Therapy. *Current Medicinal Chemistry*, 17, 391-406.
- Grossberg, G. T. 2002. The ABC of Alzheimer's disease: Behavioral symptoms and their

- treatment. *International Psychogeriatrics*, 14, 27–49.
- Gudžić, B., Dordević, S., Palić, R., Stojanović, G. 2001. Essential oils of *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum perforatum* L.. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(3), 201–203.
- Guo, Y., Zhang, N., Duan, X., Cao, Y., Xue, Y., Luo, Z., Zhang, Y. 2019. Hyperforatins L–U: Prenylated acylphloroglucinols with a terminal double bond from *Hypericum perforatum* L. (St John’s Wort). *Phytochemistry*, 164, 41–49.
- Hadjur, C., Richard’, M., Parat’, M.-O., Jardon2, P., Favier’, A. 1996. Photodynamic Effects of Hypericin on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Melanoma Cells. *Photochemistry and Photobiology* , 64(2), 375-381.
- Hariharapura, R. C., Mahal, H. S., Srinivasan, R., Jagani, H., Vijayan, P. 2015. A pulse radiolysis study of hyperoside isolated from *Hypericum mysorensense*. *Radiation Physics and Chemistry*, 107, 149–159.
- Harvey, A. L. 2008. Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 13(19-20):894-901.
- Hashida, W., Tanaka, N., Kashiwada, Y., Sekiya, M., Ikeshiro, Y., Takaishi, Y. 2008. Tomoeones A-H, cytotoxic phloroglucinol derivatives from *Hypericum ascyron*. *Phytochemistry*, 69(11), 2225–2230.
- Hernandez, M. F., Falé, P. L. V., Araújo, M. E. M., Serralheiro, M. L. M. 2010. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of the water extracts of several *Hypericum* species. *Food Chemistry*, 120(4), 1076–1082.
- Heydarian, M., Jooyandeh, H., Nasehi, B., Noshad, M. 2017. Characterization of *Hypericum perforatum* polysaccharides with antioxidant and antimicrobial activities: Optimization based statistical modeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 287–293.
- Hişil, Y., Şahin, F., Omay, S. B. 2005. Kantaronun (*Hypericum perforatum* L.) bileşimi ve tibbi önemi. *UHOD - Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 15(4), 212–218.
- Hong, D., Yin, F., Hu, L. H., Lu, P. 2004. Sulfonated xanthenes from *Hypericum sampsonii*. *Phytochemistry*, 65(18), 2595–2598.
- Horakova, K., Sovcikova, A., Seemannova, Z., Syrova, D., Susanyova, K., Drobna, Z., Frencik, M. 2001. Detection Of Drug-Induced, Superoxide-Mediated Cell Damage And Its Prevention By Antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 30(6), 650–664.

- Hosni, K., Msaada, K., Ben Taârit, M., Marzouk, B. 2011. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(1), 43–50.
- Hosni, K., Msaâda, K., Taârit, M. Ben, Hammami, M., Marzouk, B. 2010. Bioactive components of three *Hypericum* species from Tunisia: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 31(1), 158–163.
- Hostanska, K., Reichling, J., Bommer, S., Weber, M., Saller, R. 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(1), 121–132.
- Hu, J., Gao, W., Xu, F., Wei, C., Shi, M., Sun, H., Jiang, J. 2017. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(21), 4932–4936.
- Hu, L., Yip, S., Sim, K. 1999. Xanthenes from *Hypericum ascyron*. *Phytochemistry*, 52(7), 1371–1373.
- Huang, N., Rizshsky, L., Hauck, C., Nikolau, B. J., Murphy, P. A., Birt, D. F. 2011. Identification of anti-inflammatory constituents in *Hypericum perforatum* and *Hypericum gentianoides* extracts using RAW 264.7 mouse macrophages. *Phytochemistry*, 72(16), 2015–2023.
- Huang, Z., Chen, P., Su, W. W., Wang, Y. G., Wu, H., Peng, W., Li, P. B. 2018. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of quercetin 7-rhamnoside in vitro and in vivo. *Molecules*, 23(5), 1188.
- Ittner, L. M., Götz, J. 2011. Amyloid- β and tau - A toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(2), 67–72.
- Jabeur, I., Tobaldini, F., Martins, N., Barros, L., Martins, I., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C. F. R. 2016. Bioactive properties and functional constituents of *Hypericum androsaemum* L.: A focus on the phenolic profile. *Food Research International*, 89, 422–431.
- Javidnia, K., Miri, R., Soltani, M., Gholami, M., Khosravi, A. R. 2008. Essential oil composition of four *Hypericum* species from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(3), 374–377.

- Jia, X., Wu, Y., Lei, C., Yu, Y., Li, J., Li, J., Hou, A. 2020. Hyperinoids A and B, two polycyclic meroterpenoids from *Hypericum patulum*. *Chinese Chemical Letters*, 31(5), 1263–1266.
- Jürgenliemk, G., Nahrstedt, A. 2002. Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 68(1), 88–91.
- Kamila, P. K., Ray, A., Jena, S., Mohapatra, P. K., Panda, P. C. 2018. Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil of *Hypericum gaitii* Haines—an endemic species of Eastern India. *Natural Product Research*, 32(6), 739–742.
- Karaaslan, D. 2010. *Calamintha Nepeta (L.) Savt. Subsp. Glandulosa (Req.) P. W. Ball Türünün Petrol Eteri, Etanol Ve Metanol Ekstrelerinin Antibakteriyel, Antifungal Ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi.
- Karakaş, Ö. 2005. *İn Vitro Şartlarda Yetiştirilen Hypericum Triquetrifolium Turra. (Guttiferae)' nin Total Hiperisin İçeriğinin İncelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi.
- Kasper, S., Caraci, F., Forti, B., Drago, F., Aguglia, E. 2010. Efficacy and tolerability of *Hypericum* extract for the treatment of mild to moderate depression. *European Neuropsychopharmacology*, 20(11), 747–765.
- Keskin, C., Aktepe, N., Yükselten, Y., Asuman, Boğa, M. 2017. In-vitro antioxidant, cytotoxic, cholinesterase inhibitory activities and anti-genotoxic effects of *Hypericum retusum* aucher flowers, fruits and seeds methanol extracts in human mononuclear leukocytes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16(1), 210–220.
- Kimáková, K., Petijová, L., Bruňáková, K., Čellárová, E. 2018. Relation between hypericin content and morphometric leaf parameters in *Hypericum* spp.: A case of cubic degree polynomial function. *Plant Science*, 271, 94–99.
- Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Hüsnü, K., Demirci, F. 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Growing Wild in Turkey. *Natural Product Communications*, 4(7), 1001–1006.

- Klejdus, B., Kováčik, J., Babula, P. 2013. PAL inhibitor evokes different responses in two *Hypericum* species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 82–88.
- Koç, E. 2019. *Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae) Türünün Bazı Fenolik Bileşiklerinin, Antioksidan Kapasitesinin Ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi.
- Koç, L. Y. 2012. *Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Sitotoksik Etkileriyle, Kanserli Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi*. Yayınlanmamış Yüksek Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi.
- Kong, L. M., Long, X. W., Yang, X. W., Xia, F., Khan, A., Yan, H., Deng, J., Li, X., Xu, G. 2017. seco-Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols with unusual carbon skeletons from *Hypericum ascyron*. *Tetrahedron Letters*, 58(22), 2113–2117.
- Koyu, H., Haznedaroglu, M. Z. 2015. Investigation of impact of storage conditions on *Hypericum perforatum* L. dried total extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3), 545–551.
- Kraus, B., Wolff, H., Heilmann, J., Elstner, E. F. 2007. Influence of *Hypericum perforatum* extract and its single compounds on amyloid- β mediated toxicity in microglial cells. *Life Sciences*, 81(11), 884–894.
- Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G., Grunberger, W. 2005. Hypericin - The Facts About a Controversial Agent. *Current Pharmaceutical Design*, 11(2), 233–253.
- Laakmann, G., Dienel, A., Kieser, M. 1998. Clinical significance of hyperforin for the efficacy of *Hypericum* extracts on depressive disorders of different severities. *Phytomedicine*, 5(6), 435–442.
- Lee, Y. L., Yen, M. T., Mau, J. L. 2007. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizygus marmoreus*. *Food Chemistry*, 104(1), 1–9.
- Li, D., Zhu, H., Qi, C., Xue, Y., Yao, G., Luo, Z., Zhang, Y. 2015. Two new adamantyl-like polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum attenuatum* choisy. *Tetrahedron Letters*, 56(15), 1953–1955.
- Li, X. X. M., Luo, X. G., Wang, N., Zhou, H., Si, C. L., Li, K., Ma, N., Zhang T. C. 2015. The extract of *Hypericum ascyron* L. induces bacterial cell death through apoptosis pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 205–210.

- Li, Xiaohe, Liu, S., Zhai, Y., Cao, X., Gao, S., Huang, M., Guo, Y., Xie, C., Zhou, H. 2019. In vitro screening for compounds from *Hypericum longistylum* with anti-pulmonary fibrosis activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 29(15) 126695.
- Li, Xiaoqing, Li, Y., Luo, J., Zhou, Z., Xue, G., Kong, L. 2017. New phloroglucinol derivatives from the whole plant of *Hypericum uralum*. *Fitoterapia*, 123, 59–64.
- Li, Z., Qin, C., Li, D., Hou, Y., Li, S., Sun, J. 2014. Molecularly imprinted polymer for specific extraction of hypericin from *Hypericum perforatum* L. herbal extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 98, 210–220.
- Liu, R., Su, Y., Yang, J., Wang, A. 2017. Polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum scabrum*. *Phytochemistry*, 142, 38–50.
- Liu, Y. Y., Ao, Z., Xu, Q. Q., Zhu, D. R., Chen, C., Wang, X. B., Kong, L. Y. 2019. Hyperpatulols A–I, spirocyclic acylphloroglucinol derivatives with anti-migration activities from the flowers of *Hypericum patulum*. *Bioorganic Chemistry*, 87, 409–416.
- Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Lobine, D., Molina-García, L., Mollica, A., Mahomoodally, M. F. 2018. Phytochemical characterization, in vitro and in silico approaches for three *Hypericum* species. *New Journal of Chemistry*, 42(7), 5204–5214.
- López, V., Les, F., Iannarelli, R., Caprioli, G., Maggi, F. 2016. Methanolic extract from red berry-like fruits of *Hypericum androsaemum*: Chemical characterization and inhibitory potential of central nervous system enzymes. *Industrial Crops and Products*, 94, 363–367.
- Lu, S., Tanaka, N., Tatano, Y., Kashiwada, Y. 2016. Erecricins A–E, prenylated acylphloroglucinols from the roots of *Hypericum erectum*. *Fitoterapia*, 114, 188–193.
- Maggi, F., Ferretti, G., Pocceschi, N., Menghini, L., Ricciutelli, M. 2004. Morphological, histochemical and phytochemical investigation of the genus *Hypericum* of the Central Italy. *Fitoterapia*, 75(7–8), 702–711.
- Mahomoodally, M. F., Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Mollica, A., Stefanucci, A., Sinan, K. I., Aumeeruddy, M. Z. 2019. Metabolomics profiling, bio-pharmaceutical properties of *Hypericum lanuginosum* extracts by in vitro and in silico approaches. *Industrial Crops and Products*, 133, 373–382.

- Mamemura, T., Tanaka, N., Shibazaki, A., Gono, T., Kobayashi, J. 2011. Yojironins A-D, meroterpenoids and prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum yojiroanum*. *Tetrahedron Letters*, 52(28), 3575–3578.
- Mandrone, M., Lorenzi, B., Venditti, A., Guarcini, L., Bianco, A., Sanna, C., Ballero, M., Poli, F., Antognoni, F. 2015. Antioxidant and anti-collagenase activity of *Hypericum hircinum* L.. *Industrial Crops and Products*, 76, 402–408.
- Mandrone, M., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Sanna, C., Cornioli, L., Antognoni, F., Bonvicini, F., Poli, F. 2017. Phytochemical profile and α -glucosidase inhibitory activity of Sardinian *Hypericum scruglii* and *Hypericum hircinum*. *Fitoterapia*, 120, 184–193.
- Manning, K., Petrunak, E., Lebo, M., González-Sarrías, A., Seeram, N. P., Henry, G. E. 2011. Acylphloroglucinol and xanthenes from *Hypericum ellipticum*. *Phytochemistry*, 72(7), 662–667.
- Mansour, S., Djebli, N., Ozkan, E. E., Mat, A. 2014. In vivo antiinflammatory activity and chemical composition of *Hypericum scabroides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, 514–520.
- Marčetić, M. D., Milenković, M. T., Lakušić, D. V., Lakušić, B. S. 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of *Hypericum aegypticum* subsp. *webbii* (Spach) N. Robson. *Chemistry and Biodiversity*, 13(4), 427–436.
- Martarelli, D., Martarelli, B., Pediconi, D., Nabissi, M. I., Perfumi, M., Pompei, P. 2004. *Hypericum perforatum* methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice. *Cancer Letters*, 210(1), 27–33.
- Mathioudaki, A., Berzesta, A., Kypriotakis, Z., Skaltsa, H., Heilmann, J. 2018. Phenolic metabolites from *Hypericum kelleri* BALD., an endemic species of Crete (Greece). *Phytochemistry*, 146, 1–7.
- Meirelles, G. C., Pippi, B., Hatwig, C., de Barros, F. M. C., de Oliveira, L. F. S., von Poser, G. L., Fuentefria, A. M. 2017. Synergistic antifungal activity of the lipophilic fraction of *Hypericum carinatum* and fluconazole. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 27(1), 118–123.
- Mennini, T., Gobbi, M. 2004. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. *Life Sciences*, 75(9), 1021–1027.

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231–237.
- Mockute, D., Bernotiene, G., Judzentiene, A. 2003. Volatile compounds of the aerial parts of wild St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) plants. *Chemija*, 14(2), 108–111.
- Moleriu, L., Jianu, C., Bujanca, G., Doros, G., Misca, C., Dumitru Moleriu, R., Cosmin Ilie, A. 2017. Essential Oil of *Hypericum perforatum* The chemical composition and antimicrobial activity. *Revista De Chimie.*,68(4), 687-692.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. Songklanakarin *Journal of Science and Technology*, 26, 211–219.
- Montecinos-Oliva, C., Schüller, A., Inestrosa, N. C. 2015. Tetrahydrohyperforin: A neuroprotective modified natural compound against alzheimer's disease. Neural Regeneration Research. *Editorial Board of Neural Regeneration Research*, 10(4), 552-554.
- Morales, M. A., Lozoya, X. 1994. Calcium-antagonists effects of quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Medica*, 60(4), 313–317.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63.
- Moț, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R., Sârbu, C. 2011. Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4–5), 516–522.
- Mukherjee, P. K., Saritha, G. S., Suresh, B. 2001. Antibacterial spectrum of *Hypericum hookerianum*. *Fitoterapia*, 72(5), 558–560.
- Nabavi, S. M. F., Nabavi, S. M. F., Sureda, A., Caprioli, G., Iannarelli, R., Sokeng, A. J. T., Maggi, F. 2018. The water extract of tutsan (*Hypericum androsaemum* L.) red berries exerts antidepressive-like effects and in vivo antioxidant activity in a mouse model of post-stroke depression. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 99, 290–298.
- Nahrstedt, A., Butterweck, V. 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforation* L. *Pharmacopsychiatry*, 30, 129–134.

- Napoli, E., Siracusa, L., Ruberto, G., Carrubba, A., Lazzara, S., Speciale, A., Cimino, F., Saija, A., Cristani, M. 2018. Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species – A comparative study. *Phytochemistry*, 152, 162–173.
- Nedialkov, P. T., Ilieva, Y., Momekov, G., Kokanova-Nedialkova, Z. 2018. Cytotoxic prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum annulatum*. *Fitoterapia*, 127, 375–382.
- Nedialkov, P. T., Ilieva, Y., Zheleva-Dimitrova, D., Kokanova-Nedialkova, Z., Momekov, G. 2019. Three new prenyloxy chromanones from aerial parts of *Hypericum aucheri*. *Fitoterapia*, 139, 104421.
- Nunes, J. de M., Pinto, P. S., Bordignon, S. A. de L., Rech, S. B., von Poser, G. L. 2010. Phenolic compounds in *Hypericum* species from the Trigynobrathys section. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(2), 224–228.
- Nussbaum, J. M., Seward, M. E., Bloom, G. S. 2013. Alzheimer disease: A tale of two prions. *Prion*, 7(1), 14–19.
- Oliveira, A. I., Pinho, C., Sarmiento, B., Dias, A. C. P. 2016, Neuroprotective activity of *hypericum perforatum* and its major components. *Frontiers in Plant Science. Frontiers Research Foundation*, 7, 1004.
- Önem, E., Çevikbaş, H. 2018. *Hypericum atomarium* Boiss. Farklı Çözücü Ekstraktlarının Klinik Stafilokok Türleri Üzerine Antibakteriyel Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 13(2), 164–172.
- Orčić, D. Z., Mimica-Dukić, N. M., Francišković, M. M., Petrović, S. S., Jovin, E. T. 2011. Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L.. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 1-8.
- Orhan, I. E., Kartal, M., Gülpinar, A. R., Cos, P., Matheussen, 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(2–3), 870–875.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., Iqbal Choudhary, M. 2007. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chemistry*, 103(4), 1247–1254.

- Orhan, I., Üstün, O. 2011. Determination of total phenol content, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibition in selected mushrooms from Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(3), 386–390.
- Özkan, A. M. G., Demirci, B., Başer, K. H. C. 2009. Essential oil composition of *Hypericum thymopsis* sboiss. *Journal of Essential Oil Research*, 21(2), 149–153.
- Özkan, E. E., Çelik, B. Ö., Mat, A. 2019. Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23(1), 114–119.
- Özmen, A. 2008. *Aydın Yöresinde Yetişen Bazı Endemik Bitkilerden Elde Edilen Ekstraktların Sitotoksik Aktivitelerinin Belirlenmesi*. Yayımlanmamış Doktora Tezi. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi.
- 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(1), 33–39.
- Öztürk, N., Tunçel, M., Potoğlu-Erkara, İ. 2009. Phenolic compounds and antioxidant activities of some *Hypericum* species: A comparative study with *H. perforatum*. *Pharmaceutical Biology*, 47(2), 120–127.
- Pal Singh, I., Bharate, S. B. 2006. Phloroglucinol compounds of natural origin. *Natural Product Reports*, 23(4), 558-591.
- Panda, S. K., Padhi, L., Leyssen, P., Liu, M., Neyts, J., Luyten, W. 2017. Antimicrobial, anthelmintic, and antiviral activity of plants traditionally used for treating infectious disease in the Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 658.
- Pang, Q., Tian, Y., Mi, J., Wang, J., Xu, Y. 2016. Simultaneous determination and pharmacokinetic study of eight components in rat plasma by UHPLC-MS/MS after oral administration of *Hypericum japonicum* Thunb extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 118, 228–234.
- Patočka, J. 2003. The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomedicine*, 1, 61–70.
- Paulke, A., Nöldner, M., Schubert-Zsilavec, M., Wurglics, M. 2008. St. John's wort flavonoids and their metabolites show antidepressant activity and accumulate in brain after multiple oral doses. *Pharmazie*, 63(4), 296–302.

- Pekal, A., Pyrzynska, K. 2014. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782.
- Peron, G., Hošek, J., Rajbhandary, S., Pant, D. R., Dall'Acqua, S. 2019. LC-MSn and HR-MS characterization of secondary metabolites from *Hypericum japonicum* Thunb. ex Murray from Nepalese Himalayan region and assessment of cytotoxic effect and inhibition of NF- κ B and AP-1 transcription factors in vitro. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 174, 663–673.
- Pinhatti, A. V., de Nunes, J. M., Maurmann, N., Rosa, L. M. G., von Poser, G. L., Rech, S. B. 2010. Phenolic compounds accumulation in *Hypericum ternum* propagated in vitro and during plant development acclimatization. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(4), 675–681.
- Qiu, D., Zhou, M., Chen, J., Wang, G., Lin, T., Huang, Y., Yu, F., Ding, R., Sun, C., Tian, W., Chen, H. 2020. Hyperelodiones A-C, monoterpenoid polyprenylated acylphoroglucinols from *Hypericum elodeoides*, induce cancer cells apoptosis by targeting RXR α . *Phytochemistry*, 170, 112216.
- Radulović, N. S., Genčić, M. S., Stojanović, N. M., Randjelović, P. J., Baldovini, N., Kurteva, V. 2018. Prenylated β -diketones, two new additions to the family of biologically active *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) secondary metabolites. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 505–513.
- Radulović, N., Stankov-Jovanović, V., Stojanović, G., Šmelcerović, A., Spitteller, M., Asakawa, Y. 2007. Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chemistry*, 103(1), 15–21.
- Rainha, N., Koci, K., Coelho, A. V., Lima, E., Baptista, J., Fernandes-Ferreira, M. 2013. HPLC-UV-ESI-MS analysis of phenolic compounds and antioxidant properties of *Hypericum undulatum* shoot cultures and wild-growing plants. *Phytochemistry*, 86, 83–91.
- Ramalhete, N., Machado, A., Serrano, R., Gomes, E. T., Mota-Filipe, H., Silva, O. 2016. Comparative study on the in vivo antidepressant activities of the Portuguese *Hypericum foliosum*, *Hypericum androsaemum* and *Hypericum perforatum* medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 82, 29–36.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

- Řezanka, T., Sigler, K. 2007. Sinaicinone, a complex adamantanyl derivative from *Hypericum sinaicum*. *Phytochemistry*, 68(9), 1272–1276.
- Rodríguez-Landa, J. F., Contreras, C. M. 2003. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomedicine*, 10, 688–699.
- Rusalepp, L., Raal, A., Püssa, T., Mäeorg, U. 2017. Comparison of chemical composition of *Hypericum perforatum* and *H. maculatum* in Estonia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 73, 41–46.
- Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A. 2010. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L.. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 511–521.
- Sagrati, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Öztürk, N., Öztürk, Y., Maggi, F. 2008. Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from Central Italy. *Fitoterapia*, 79(3), 210–213.
- Sakavitsi, M. E., Christodoulou, M. I., Tchoumtchoua, J., Fokialakis, N., Kokkinopoulou, I. K., Papageorgiou, E., Argyropoulou, A., Skaltsounis, L. A., Halabalaki, M., Scorilas, A. 2017. Comparative HPLC-DAD and UHPLC-ESI(-)-HRMS & MS/MS profiling of *Hypericum* species and correlation with necrotic cell-death activity in human leukemic cells. *Phytochemistry Letters*, 20, 481–490.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270–276.
- Sarmahmut, M., Balıkcı, N., Celikler, S., Ari, F., Ulukaya, E., Guleryuz, G., Ozel, M. Z. 2016. Evaluation of genotoxic and apoptotic potential of *Hypericum adenotrichum* Spach. in vitro. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 74, 137–146.
- Sarrou, E., Giassafaki, L. P., Masuero, D., Perenzoni, D., Vizirianakis, I. S., Irakli, M., Martens, S. 2018. Metabolomics assisted fingerprint of *Hypericum perforatum* chemotypes and assessment of their cytotoxic activity. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 325–333.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883.
- Schempp, C. M., Kiss, J., Kirkin, V., Averbeck, M., Simon-Haarhaus, B., Kremer, B., Termeer, C. C., Sleeman, J., Simon, J. C. 2005. Hyperforin acts as an Angiogenesis Inhibitor in vitro and in vivo Abstract. *Planta Medica*, 71, 999–1004.

- Schempp, C. M., Simon-Haarhaus, B., Termeer, C. C., Simon, J. C. 2001. Hypericin photo-induced apoptosis involves the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and activation of caspase-8. *Federation of European Biochemical Societies*, 493, 26–30.
- Schulz, V. 2002. Clinical trials with *Hypericum* extracts in patients with depression – Results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. *Phytomedicine*, 9, 468–474.
- Schwob, I., Viano, J., Jann-Para, G., Bessiere, J.-M., Dherbomez, M. 2006. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Hypericum hyssopifolium* ssp. *hyssopifolium* from Southeast France.. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 469–471.
- Selçuk, S., Eyisan, S. 2012. Türkiye’deki eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 16, 164-180.
- Sentkowska, A., Biesaga, M., Pyrzyńska, K. 2016. Effects of brewing process on phenolic compounds and antioxidant activity of herbs. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 965–970.
- Şerbetçi, T., Özsoy, N., Demirci, B., Can, A., Kültür, Ş., Başer, K. H. C. 2012. Chemical composition of the essential oil and antioxidant activity of methanolic extracts from fruits and flowers of *Hypericum lydiu*m Boiss.. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 599–606.
- Shon, M. Y., Kim, T. H., Sung, N. J. 2003. Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of Hymenochaetaceae) extracts. *Food Chemistry*, 82(4), 593–597.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Skalkos, D., Stavropoulos, N. E., Tsimaris, I., Gioti, E., Stalikas, C. D., Nseyo, U. O., Ioachim, E., Agnantis, N. J. 2005. The Lipophilic Extract of *Hypericum perforatum* Exerts Significant Cytotoxic Activity Against T24 and NBT-II Urinary Bladder Tumor Cells. 71(11), 1030-1035.
- Smelcerovic, A., Verma, V., Spiteller, M., Ahmad, S. M., Puri, S. C., Qazi, G. N. 2006. Phytochemical analysis and genetic characterization of six *Hypericum* species from Serbia. *Phytochemistry*, 67(2), 171–177.

- Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C. A. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology*, 6(3), 388–396.
- Spiteller, M., Özen, T., Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Mimica-Dukić, N. 2008. Phenolic constituents and the in vitro antioxidant activity of the flowers of *Hypericum venustum*. *Fitoterapia*, 79(3), 191–193.
- Süntar, I. P., Akkol, E. K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kirmizibekmez, 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.
- Tada, M., Chiba, K., Takakuwa, T., Kojima, E. 1992. Analogues of Natural Phloroglucinols as Antagonists against Both Thromboxane A₂ and Leukotriene D₄. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35(7), 1209–1212.
- Takahashi, L., 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(3), 1207-1212.
- Tala, M. F., Talontsi, F. M., Zeng, G. Z., Wabo, H. K., Tan, N. H., Spiteller, M., Tane, P. 2015. Antimicrobial and cytotoxic constituents from native Cameroonian medicinal plant *Hypericum riparium*. *Fitoterapia*, 102, 149–155.
- Tanaka, N., Abe, S., Kobayashi, J. 2012. Bioulactones D and E, meroterpenoids from *Hypericum chinense*. *Tetrahedron Letters*, 53(12), 1507–1510.
- Tanaka, N., Kashiwada, Y., Sekiya, M., Ikeshiro, Y., Takaishi, Y. 2008. Takaneones A-C, prenylated butylphloroglucinol derivatives from *Hypericum sikokumontanum*. *Tetrahedron Letters*, 49(17), 2799–2803.
- Tanaka, N., Kubota, T., Ishiyama, H., Araki, A., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Mikami, Y., Kobayashi, J. 2008. Petiolins A-C, phloroglucinol derivatives from *Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(10), 5619–5623.
- Tanaka, N., Otani, M., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Shibasaki, A., Gono, T., Shiro, M., Kobayashi, J. 2010. Petiolins J-M, prenylated acylphloroglucinols from *Hypericum pseudopetiolum* var. *kiusianum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(15), 4451–4455.

- Tanaka, N., Takaishi, Y. 2006. Xanthones from *Hypericum chinense*. *Phytochemistry*, 67(19), 2146–2151.
- Tanemossu, S. A. F., Franke, K., Arnold, N., Schmidt, J., Wabo, H. K., Tane, P., Wessjohann, L. A. 2014. Rare biscoumarin derivatives and flavonoids from *Hypericum riparium*. *Phytochemistry*, 105, 171–177.
- 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(3), 383–393.
- Tawaha, K., Gharaibeh, M., El-Elimat, T., Alali, F. Q. 2010. Determination of hypericin and hyperforin content in selected Jordanian *Hypericum* species. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 241–245.
- Tekin, M. 2017. Pharmacobotanical study of *Hypericum thymopsis*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 27(2), 143–152.
- Tian, W. J., Qiu, Y. Q., Jin, X. J., Chen, H. F., Yao, X. J., Dai, Y., Yao, X. S. 2014. Novel polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum sampsonii*. *Tetrahedron*, 70(43), 7912–7916.
- Tocci, N., Weil, T., Perenzoni, D., Narduzzi, L., Madriñán, S., Crockett, S., Nürk, N. M., Cavalieri, D., Mattivi, F. 2018. Phenolic profile, chemical relationship and antifungal activity of Andean *Hypericum* species. *Industrial Crops and Products*, 112, 32–37.
- Toker, Z., Kizil, G., Özen, H. Ç., Kizil, M., Ertekin, S. 2006. Compositions and antimicrobial activities of the essential oils of two *Hypericum* species from Turkey. *Fitoterapia*, 77(1), 57–60.
- Tokur, O., Aksoy, A. 2017. In Vitro Sitotoksosite Testleri. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112–118.
- Tusevski, O., Krstikj, M., Stanoeva, J. P., Stefova, M., Gadzovska Simic, S. 2018. Phenolic profile and biological activity of *Hypericum perforatum* L.: Can roots be considered as a new source of natural compounds?. *South African Journal of Botany*, 117, 301–310.
- Utsumi, T., Okuma, M., Kanno, T., Takehara, Y., Yoshioka, T., Fujita, Y., Horton, A. A., Utsumis, K. 1995. Effect Of The Antiretroviral Agent Hypericin On Rat Liver Mitochondria. *Biochemical Pharmacology*, 50(5), 655–662.

- Vandenbogaerde, A. L., Kamuhabwa, A., Delaey, E., Himpens, B. E., Merlevede, W. J., De Witte, P. A. 1998. Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 45(2–3), 87–94.
- Vinson, J. A., Hontz, B. A. 1995. Phenol Antioxidant Index: Comparative Antioxidant Effectiveness of Red and White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(2), 401–403.
- Wang, D., Bai, J., Sun, F., Yang, D. 2010. Chemical constituents and antidepressant activity of the new species *Hypericum enshiense* occurring in China. *Phytomedicine*, 17(6), 410–413.
- Weyerstahl, P., Splittgerber, U., Marschall, H., Kaul, V. K. 1995. Constituents of the leaf essential oil of *Hypericum perforatum* L. from India. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(6), 365–370.
- World Health Organization. 2002. Herba Andrographidis. WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 2.
- Xin, W. B., Man, X. H., Zheng, C. J., Jia, M., Jiang, Y. P., Zhao, X. X., Jin, G. L., Mao, Z. J., Huang, H. Q., Qin, L. P. 2012. Prenylated phloroglucinol derivatives from *Hypericum sampsonii*. *Fitoterapia*, 83(8), 1540–1547.
- Yağan, B. D. 2012. *Kazdağı'nda Yetişen Bazı Hypericum L. Türlerinin Antioksidan Madde İçerikleri Ve Sitotoksik Özelliklerinin İrdelenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Yan, X. T., An, Z., Huangfu, Y., Zhang, Y. T., Li, C. H., Chen, X., Liu, P. L., Gao, J. M. 2019. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol and phenolic metabolites from the aerial parts of *Hypericum elatoides* and their neuroprotective and anti-neuroinflammatory activities. *Phytochemistry*, 159, 65–74.
- Yang, L., Wang, Z. M., Wang, Y., Li, R. S., Wang, F., Wang, K. 2019. Phenolic constituents with neuroprotective activities from *Hypericum wightianum*. *Phytochemistry*, 165, 112049.
- Yang, X. W., Wang, H., Ma, W. G., Xia, F., Xu, G. 2017. homo-adamantane type polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum pseudohenryi*. *Tetrahedron*, 73(5), 566–570.

- Yang, X. W., Yang, J., Liao, Y., Ye, Y., Li, Y. P., Yang, S. Y., Xia, F., Xu, G. 2015. Hypercohin K, a polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol with an unusual spiro-fused cyclopropane ring from *Hypericum cohaerens*. *Tetrahedron Letters*, 56(41), 5537–5540.
- Yaylacı, Ö. K. 2013. *Günyüzü (Eskişehir) ve Çevresinin Florası*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
- Ye, Y., Yang, X. W., Xu, G. 2016. Unusual adamantane type polyprenylated acylphloroglucinols with an oxirane unit and their structural transformation from *Hypericum hookerianum*. *Tetrahedron*, 72(22), 3057–3062.
- Ye, Y., Yang, X. W., Zhou, Y., Xu, G. 2019. homo-Adamantane type polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum hookerianum*. *Fitoterapia*, 133, 43–50.
- Yetkin, G. 2008. *Türkiye’de Satılan Ticari Kantaron Yağı Üzerinde Fitoterapötik Yönden Araştırmalar*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi.
- Yüce-Babacan, E., Bağcı, E. 2017. Essential oil composition of *Hypericum uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm. and *Hypericum lydium* Boiss. from Turkey. *International Journal of Nature and Life Sciences*, 1(1), 12-16
- Yüce, E. 2009. *Hypericum L. (Hypericaceae) Cinsine Ait Drosanthe (Spach) Endl. Seksiyonunun Biyosistematiği*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi.
- Zanoli, P. 2004. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John’s wort. *CNS Drug Reviews*, 10(3), 203–218.
- Zdunić, G., Goevac, D., Šavikin, K., Novaković, M., Milosavljević, S., Petrović, S. 2011. Isolation and identification of phenolic compounds from *Hypericum richeri* Vill. and their antioxidant capacity. *Natural Product Research*, 25(3), 175–187.
- Zeisser-Labouèbe, M., Lange, N., Gurny, R., Delie, F. 2006. Hypericin-loaded nanoparticles for the photodynamic treatment of ovarian cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 326(1–2), 174–181.
- Zeljковиć, S. Ć., Karalija, E., Parić, A., Muratović, E., Tarkowski, P. 2017. Environmental Factors do not Affect the Phenolic Profile of *Hypericum perforatum* Growing Wild in Bosnia and Herzegovina. *Natural Product Communications*, 12(9), 1465–1468.

- Zeng, Y. H., Osman, K., Xiao, Z. Y., Gibbons, S., Mu, Q. 2012. Four geranyl-bearing polyisoprenylated benzoylphloroglucinol derivatives from *Hypericum sampsonii*. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 200–205.
- Zeng, Y. R., Wang, L. P., Hu, Z. X., Yi, P., Yang, W. X., Gu, W., Huang, L. J., Yuan, C. M., Hao, X. J. 2018. Chromanopyrones and a flavone from *Hypericum monogynum*. *Fitoterapia*, 125(2017), 59–64.
- Zhang, J. J., Yang, X. W., Liu, X., Ma, J. Z., Liao, Y., Xu, G. 2015. 1,9-seco-Bicyclic Polyprenylated Acylphloroglucinols from *Hypericum uralum*. *Journal of Natural Products*, 78(12), 3075–3079.
- Zhang, J. S., Huang, J. L., Zou, Y. H., Liu, X., Ahmed, A., Tang, G. H., Yin, S. 2017. Novel degraded polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol and new polyprenylated benzophenone from *Hypericum sampsonii*. *Phytochemistry Letters*, 21, 190–193.
- Zhang, W., Fu, P., Liu, R. H., Li, T. Z., Li, H. L., Zhang, W., Chen, H. S. 2007. A new bisxanthone from *Hypericum japonicum*. *Fitoterapia*, 78(1), 74–75.
- Zhou, Z. B., Zhang, Y. M., Luo, J. G., Kong, L. Y. 2016. Cytotoxic polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol derivatives and xanthenes from *Hypericum attenuatum*. *Phytochemistry Letters*, 15, 215–219.
- Zhou, Z. B., Zhang, Y. M., Pan, K., Luo, J. G., Kong, L. Y. 2014. Cytotoxic polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum attenuatum*. *Fitoterapia*, 95, 1–7.
- Zhu, H., Chen, C., Liu, J., Sun, B., Wei, G., Li, Y., Zhang, J., Yao, G., Luo, Z., Xue, Y., Zhang, Y. 2015. Hyperascyrones A-H, polyprenylated spirocyclic acylphloroglucinol derivatives from *Hypericum ascyron* Linn.. *Phytochemistry*, 115(1), 222–230.
- Zhu, W., Qiu, J., Zeng, Y. R., Yi, P., Lou, H. Y., Jian, J. Y., Zuo, M. X., Duan, L., Gu, W., Huang, L. J., Li, Y. M., Yuan, C. M., Hao, X. J. 2019. Cytotoxic phenolic constituents from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*, 164, 33–40.
- Zorzetto, C., Sánchez-Mateo, C. C., Rabanal, R. M., Lupidi, G., Petrelli, D., Vitali, L. A., Bramucci, M., Quassinti, L., Caprioli, G., Papa, F., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Vittori, S., Maggi, F. 2015. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of three *Hypericum* species from the Canary Islands (*Hypericum reflexum*, *Hypericum canariense* and *Hypericum grandifolium*). *Fitoterapia*, 100, 95–109.

http-1 <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/> (Eriřim Tarihi: 06.07.2020)

http-2 <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/18579?locale=en> (Eriřim Tarihi: 06.07.2020)