

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI

**TÜRKİYE'DE SATILAN TİCARİ KANTARON YAĞI
ÜZERİNDE FİTOTERAPÖTİK YÖNDEN ARAŞTIRMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Gülin YETKİN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. İlkay ORHAN

ANKARA
Şubat 2008

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Fitoterapi Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 27/02/2008

**imza
Prof.Dr. Bilge ŞENER
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**imza
Prof.Dr. Belma KONUKLUGİL
Ankara Üniversitesi**

**imza
Doç.Dr. İlkay ORHAN
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	I
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	VI
RESİMLER LİSTESİ	VII
EKLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BOTANİK BÖLÜM	4
2.1.1. <i>Hypericum</i> Cinsinin Sistematikteki Yeri	4
2.1.2. Hypericaceae Familyası	4
2.1.3. <i>Hypericum perforatum</i> L.	5
2.2. FİTOKİMYASAL BÖLÜM	8
2.2.1. Naftodiantraonlar, Floroglusinoller ve Flavonoitler Üzerindeki Çalışmalar	8
2.2.2. Uçucu Yağı Üzerindeki Çalışmalar	16
2.2.3. Kantaron Yağı Üzerinde Yapılan Çalışmalar	17
2.3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ	20
2.3.1. Antidepresan Aktivite	20
2.3.1.1. <i>In vivo</i> Çalışmalar	20
2.3.1.2. Klinik Çalışmalar	25
2.3.2. Antioksidan Aktivite	27
2.3.3. Antiviral Aktivite	30
2.3.4. Diğer Biyolojik Aktiviteler	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Gereçler	35
3.2. Yöntemler	38
3.2.1. Sabit Yağlarla İlgili Farmakope Testleri	38

3.2.1.1. Asitlik İndeksi	38
3.2.1.2. İyot İndeksi	39
3.2.1.3. Peroksit İndeksi	40
3.2.1.4. Sabunlaşma İndeksi	41
3.2.1.5. Sabunlaşmayan Madde Miktar Tayini	42
3.2.2. GC-MS Analizi	43
3.2.2.1. Yağ Örneklerinin <i>Trans</i> -Metil Esterifikasyonu	43
3.2.2.2. GC-MS Analizinde Uygulanan Kromotografik Şartlar	43
4. BULGULAR	45
4.1. Kimyasal İndekslere Ait Bulgular	45
4.2. GC-MS Analizlerine Ait Bulgular	45
4.3. Kantaron Yağı Örneklerinin Etiket Bilgilerine Ait Bulgular	49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
6. ÖZET	56
7. SUMMARY	57
8. KAYNAKLAR	58
9. EKLER	79
TEŞEKKÜR	91
10. ÖZGEÇMİŞ	92

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Hiperisin (solda) ve psödohiperisin (sağda)	8
Şekil 2: Protohiperisin (solda) ve psödoprotohiperisin (sağda)	9
Şekil 3: İzohiperisin (solda) ve siklopsödohiperisin (sağda)	9
Şekil 4: Hiperforin ve adhiperforin	10
Şekil 5: Diğer bazı hiperforin analogları	11
Şekil 6: Kersetin ve heterozitleri	14

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Kantaron yağı örnekleri, satın alındıkları tarih ve yerler ile üretici firma adı ve orijinal etiket bilgileri	35
Tablo 2: Kantaron yağı örneklerine ait asitlik indeksi, peroksit indeksi, iyot indeksi, sabunlaşma indeksi ve sabunlaşmayan madde miktarı±standart sapma	46
Tablo 3: Tez kapsamında incelenen kantaron yağ örneklerinin % yağ asidi bileşimleri±standart sapma	47
Tablo 4: Tablo 3'ün devamı	48
Tablo 5: Kantaron yağı örneklerinin rengi ve ambalaj bilgileri	50

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: <i>Hypericum perforatum</i> L. çiçekleri	6
Resim 2: <i>Hypericum perforatum</i> L. yaprakları	6
Resim 3: Bazı kantaron yağı preparatları	7
Resim 4: <i>Hypericum perforatum</i> 'da uçucu yağ taşıyan guddecikler	16
Resim 5: Çeşitli firmalara ait tez gereçlerini teşkil eden kantaron yağı örnekleri	36
Resim 6: Çeşitli aktarlardan temin edilmiş tez gereçlerini teşkil eden kantaron yağı örnekleri	37
Resim 7: 1 No'lu kantaron yağına ait etiket	49

EKLER LİSTESİ

1 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	79
2 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	79
3 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	80
4 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	80
5 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	81
6 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	81
7 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	82
8 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	82
9 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	83
10 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	83
11 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	84
12 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	84
13 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	85
14 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	85
15 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	86
16 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	86
17 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	87
18 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	87
19 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	88
20 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	88
21 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	89
22 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	89
23 no'lu kantaron yağına ait GC-MS kromotogramı	90

KISALTMALAR

AI:	Asitlik İndeksi
AMU:	Atomik Kütle Birimi
DAD:	Diyot Array Detektör
DHBV:	Kaz hepatit B virüsü
DPPH:	1,1-Difenil pikrilhidrazil
EIAV:	At enfeksiyöz anemi virüsü
FIV:	Kedi immünyetmezlik virüsü
GABA:	Gama-aminobütirik asit
GC:	Gaz Kromatografisi
GSH:	Glutasyon
GSHPx:	Glutasyon peroksidaz
HCMV:	İnsan sitomegalovirüsü
HDS:	Hamilton Depresyon Skalası
5-HIAA:	5-Hidroksi-indol asetik asit
HIV-1:	İnsan immünyetmezlik virüsü tip 1
5-HT:	5-Hidroksi-triptamin
HPLC:	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
HPLC/DAD/MS:	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi/Diyot Array Detektör/Kütle Spektrometresi
HPLC/DAD/MS/MS:	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi/Diyot Array Detektör/Kütle Spektrometresi/ Kütle Spektrometresi
HS-CCC:	Yüksek Hız-Karşı Akım Kromatografisi
İl:	İyot İndeksi
IC:	İnhibitör Konsantrasyon
LC-MS:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LC-MS-MS:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi
LC/TSP-MS:	Sıvı Kromatografisi/Termosprey-Kütle Spektrometresi
MAO:	Monoamin oksidaz
MCMV:	Fare sitomegalovirüsü

MDA:	Malondialdehit
Mo-MuLV:	Moloney fare lösemi virüsü
NIRS:	Yakın-infrared reflektans spektroskopisi
NMR:	Nükleer Magnetik Rezonas
NOS:	Nitrikoksit sentaz
Pİ:	Peroksit İndeksi
REM:	Hızlı göz hareketleri (Rapid eye movements)
RP-HPLC:	Ters faz-yüksek basınç sıvı kromatografisi
Sİ:	Sabunlaşma İndeksi
SOD:	Süperoksit dismutaz
TEAC:	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
UV:	Ultraviyole

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ülkemizde halk arasında “sarı kantaron, binbirdelik otu, kılıç otu, kanotu, yakıotu, mayasıl otu, koyunkıran”^{1,2}, İngilizce’de ise “St. John’s wort veya goat weed”³ olarak bilinen *Hypericum perforatum* L., 2000 yıldan beri tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Bitkinin İngilizce adının, Hristiyanlık inancında bir aziz olarak kabul edilen St. John’un (John the Baptist) doğduğu ay olan Haziran’da altın renkli çiçeklerini açması nedeniyle bu azize atfen verildiği düşünülmektedir.

Ancak bitkinin antidepresan etkisi nedeniyle kullanımı oldukça yeni bir geçmişe sahip olup, yaklaşık son 20 yılda ortaya çıkmıştır. Bitkiden ilk defa Romalılar zamanında askeri bir doktor olan Proscurides tarafından “diyare ve safra rahatsızlıklarında kullanımından” söz edilmiştir⁴. Aynı zamanlarda Yunanlı hekim Dioscorides, bitkinin birtakım tıbbi kullanımlarını tavsiye etmiştir. Bundan 1000 yıl sonra, ünlü Alman hekim Paraselsus, ilk defa bitkinin mental rahatsızlıkların kullanımından bahsetmiştir⁵. Hatta taze petal ve yapraklardan hazırlanacak alkollü tentür uygulanmasını tavsiye etmiş ve güneşliğinden korunması gerektiğini de belirtmiştir. Bundan 200 yıl sonra Alman doktor J. Kerner, bu bitkinin melankoli gibi ruhsal rahatsızlıkların tedavisinde kullanımına değinmiştir⁶. Daha sonraları ise yine Alman doktor K. Daniel, bitkinin ekstrelerini 20 depresyon hastasında deneyerek gözlemlerini açıkladığı ve 2. Dünya Savaşı’ndan önce yayınladığı makalesi maalesef çok ilgi görmemiştir⁷.

1984 yılında, o zamanki adıyla Alman Federal Sağlık Ajansı’na bağlı Komisyon E, *H. perforatum* L. hakkında bitkinin geleneksel kullanımına dayanarak, depresyon, sinirlilik hali ve anksiyete gibi psiko-otonomik rahatsızlıklarda kullanımını tavsiye eden bir monograf yayınlamıştır⁸. Bu monograftan sonra, bazı ilaç firmaları tarafından, bitkinin ekstresi kontrollü klinik çalışmalarda yer alan depresyon hastalarda plasebo veya trisiklik antidepresanlarla karşılaştırmalı olarak denenmiştir.

Bunun sonucunda, bitkinin ekstresinin standardizasyonu üzerinde çalışmalar başlamış ve standardize ekstresinin kullanıldığı yeni klinik çalışmalara başlanmıştır ve hafif ile orta şiddetteki depresyon tedavisindeki etkinliği kanıtlanmıştır. Sentetik antidepresanlara alternatif bir bitkisel ilaç olan *H. perforatum* pek çok ülkede bu özelliği nedeniyle ilgi görmesine rağmen, en çok kabul gördüğü ülkelerin başında Almanya gelmektedir. Bitkinin bu kadar popüler hale gelmesi; üzerinde daha fazla klinik, farmakolojik, biyokimyasal ve farmakokinetik çalışma yapılmasına yol açmıştır.

Hypericum perforatum L. bitkisinin çiçeklerinden hareketle hazırlanan ve ülkemizde halk arasında “kantaron yağı” olarak bilinen yağ da, çok eski çağlardan bu yana kullanılmaktadır. Yağı hazırlamak amacıyla; güneşli havada toplanan bitkinin çiçekleri, gevşek biçimde bir şişeye doldurulur ve üstüne, sızma zeytinyağı çiçekleri örtecek şekilde eklenir. 3-5 gün süresince şişenin kapağı açık tutulur ve arada bir çalkalanarak, güneşli bir yerde bekletilir. Daha sonra şişenin kapağı kapatılır ve 4-5 hafta boyunca, arada bir çalkalanarak tekrar güneşte bekletilir. Süre sonunda yağ süzülür, çiçekler de sıkılarak elde edilen kırmızı renkli kantaron yağı koyu renkli şişelere doldurularak saklanır.

Kantaron yağı (*Hyperici Oleum*), halk arasında genellikle yara ve yanık tedavisinde yaygın olarak kullanılması sebebiyle⁹⁻¹¹, hem köylüler veya aktarlar tarafından geleneksel usulde hazırlanan, hem de birtakım firmalar tarafından seri olarak üretilen kantaron yağları büyük rağbet görmektedir. Ancak halk tarafından tedavi amacıyla kullanılan bu yağlar üzerinde içerikleri, taşıyıcı yapıp yapılmadığı ve kalite kontrollerine yönelik üzerinde herhangi bir denetim bulunmaması, bizi bu yağlar üzerinde araştırma yapmaya yönlendirmiştir. Bu amaçla, Türkiye'nin çeşitli bölgelerindeki aktarlarda satılan geleneksel usulde hazırlanmış veya çeşitli firmalar tarafından imal edilmiş hazır kantaron

yağlarına ait 23 adet örnek temin edilmiş ve bu örnekler araştırma materyallerimizi teşkil etmiştir.

Tez konusu kapsamında, örnekler üzerinde Avrupa Farmakopesi tarafından sabit yağlar için belirlenen kimyasal indeks değerleri (asitlik indeksi, iyot indeksi, peroksit indeksi, sabunlaşma indeksi) ile sabunlaşmayan kısım miktarlarının yine Avrupa Farmakopesi'nde verilen yöntemlere göre tayin edilmesi, bunun yanısıra yağ örneklerinden hareketle metil esterlerinin hazırlanarak, taşıyıcı olup olmadığını belirlemek amacıyla gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile yağ asiti içeriklerinin karşılaştırılması ve orijinal ambalaj bilgilerinin incelenip bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Tez içeriği; *Hypericum perforatum* L. bitkisinin sistematikteki yeri ve botanik özellikleri hakkında bilgi verilmesi amacıyla “*Botanik Bölüm*”, bu türde tespit edilen kimyasal bileşiklerin incelendiği “*Fitokimyasal Bölüm*” ve günümüze kadar bitki üzerinde yapılan çeşitli biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar hakkında bilgi verildiği “*Biyolojik Aktivite Bölümü*” olmak üzere üç ana bölümden meydana gelmektedir.

2.1. BOTANİK BÖLÜM

2.1.1. *Hypericum* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Bölüm:	Spermatophyta
Altbölüm:	Angiospermae
Sınıf:	Dicotyledonae
Altsınıf:	Dialypetalae
Takım:	Theales
Familya:	Hypericaceae (syn. Guttiferae, Clusiaceae)
Cins:	<i>Hypericum</i>
Tür:	<i>Hypericum perforatum</i> L.

2.1.2. Hypericaceae Familyası

Hypericaceae familyası yaklaşık 50 cins ve 1200 türü kapsayan, ağaç veya çalı şeklindeki bitkilerden oluşmaktadır^{12,13}. Bitkilerin gövdeleri genellikle renkli olup, süt taşıyanları da bulunur. Yapraklar basit ve oppozit, nadiren alternattır^{14,15}. Stipula bulunmaz. Çiçekler genellikle aktinomorf ve hermafrodittir. Periant, dekussat 2-6 arasında sepal ile sayısı 4-12 adet arasında değişen petallerden meydana gelir. Çok sayıda stamen taşır. Ginekeum, 3-5 veya daha çok sayıda karpelden oluşan tek bir pistilden ve yine 3-5 veya daha çok sayıda lokulus taşıyan ovaryumdan oluşur ve sinkarptır. Meyve septsit/lokulusit kapsül veya drupa tipindedir.

2.1.3. *Hypericum perforatum* L.

Dünyada 350-400 arasında türe sahip olan *Hypericum* cinsine mensup olan, Mayıs ile Ağustos arasında çiçeklenen ve boyu 0,3 ile 1 m arasında değişen çok yıllık, otsu bir bitkidir. Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya'nın batısına özgü bir bitki olan *Hypericum* cinsine ait ülkemizde 77 tür bulunduğu bildirilmiştir^{15,16}. *Hypericum perforatum* L. ülkemizde Marmara, Karadeniz, Ege, Orta ve Doğu Anadolu, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yayılış göstermektedir. Anadolu'da yaygın olarak bataklık ve sulak alanlarda rastlanır. Toprak üzerinde yayılan sürgünlerin boğumlarından kökler meydana gelmektedir¹⁵.

Çok dallanan sapı iki köşelidir. Oppozit dizilişli ve 1,5-3 cm arasındaki ovat veya linear şekilli sesil yaprakların üzerinde çok sayıda minik delik bulunmaktadır, çiçeklerin kenarları siyah guddeli tüyler ile çevrilidir. Yapraklar ışığa karşı tutulduklarında yağ guddeleri, parlak noktacıklar halinde kolaylıkla görülür. Bitkiye halk arasında “binbirdelik otu” denmesi bu özelliğinden ileri gelmektedir. Çiçekler umbella durumunda olup, dalların ucundadır. Yaklaşık 2 cm çapındaki çiçekler 5 adet sarı renkli petal ve çok sayıda yine sarı renkli ve üç demet şeklinde (triadelf) stamen taşımaktadır^{17,18}. Ovaryum 3 stilus taşır. Meyve yapışkan, çok tohumlu, 5-10 mm uzunluğunda, 3 bölmeli kapsül tipindedir¹⁵. Tohumlar yaklaşık 1 mm büyüklüğündedir.



Resim 1: *Hypericum perforatum* L. çiçekleri



Resim 2: *Hypericum perforatum* L. yaprakları



Resim 3: Bazı kantaron yağı preparatları

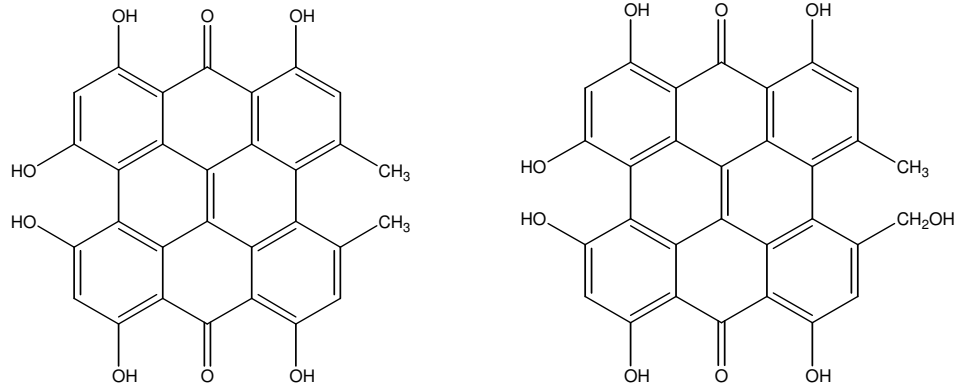
2.2. FİTOKİMYASAL BÖLÜM

2.2.1. Naftodiantronlar, Floroglusinoller ve Flavonoitler Üzerindeki Çalışmalar

H. perforatum bitkisinde en çok bulunan kimyasal gruplar olarak; naftodiantronlar (hiperisin ve psödohiperisin), floroglusinol türevleri (hiperforin ve adhiperforin), flavonoitler (rutin, hiperozit, kersitrin, izokersitrin, kersetin, amentoflavon, biapigenin) ve fenolik asitler (klorojenik, kafeik, ferulik, izoferulik, *para*-kumarik asit) bildirilmiştir¹⁹.

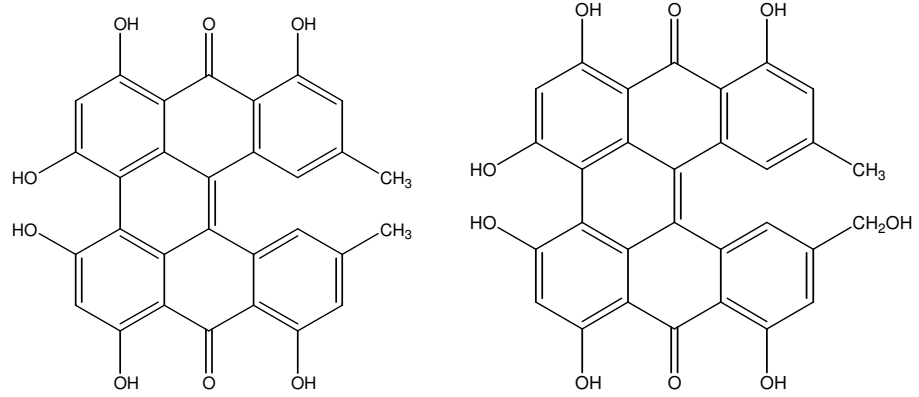
H. perforatum'un en karakteristik bileşikler olan naftodiantronların en önemlisi hiperisindir (Şekil 1). Kırmızı renkli bir pigment olan hiperisin, kantaron yağına da kırmızı rengini veren bileşiktir. Aslında 1830 yılında Buchner tarafından keşfedilmesine rağmen, bu bileşik "hiperisin" olarak ilk defa Cerny adlı bilimadamı tarafından 1911 yılında adlandırılmış ve molekülün formülünü $C_{16}H_{10}O_5$ olarak sunmuştur²⁰. Ancak, bileşiğin kimyasal yapısı 1953 yılında "10,11-dimetil-1,3,4,6,8,12-hekzahidroksinaftodiantron" olarak Brockmann ve Sanne tarafından aydınlatılmıştır²¹.

Bitkide, hiperisin'in yanısıra başlıca naftodiantron türevi olarak psödohiperisin varlığı da bildirilmiştir (Şekil 1).



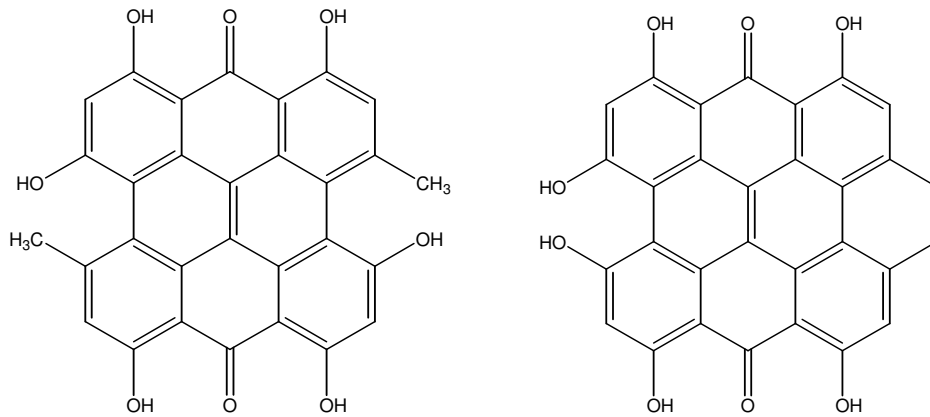
Şekil 1: Hiperisin (solda) ve psödohiperisin (sağda)

Ekstrenin güneş ışığına maruziyeti sonrasında, hiperisin ve psödohiperisin, sırasıyla protohiperisin ve psödoprototyperisin'e dönüşmektedir (Şekil 2).



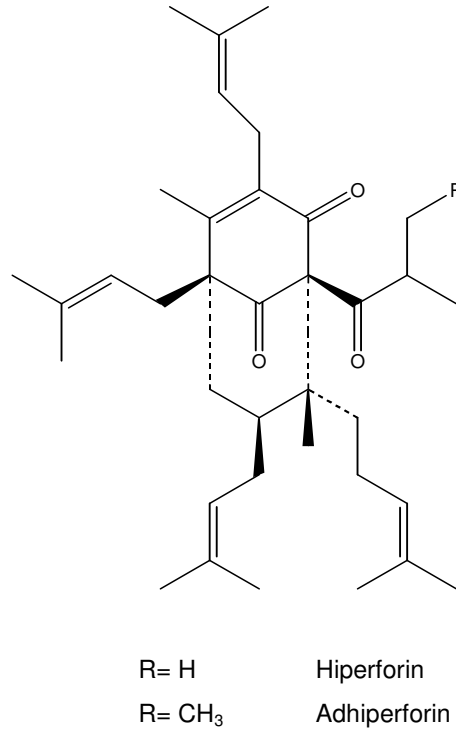
Şekil 2: Protohiperisin (solda) ve psödoprototyperisin (sağda)

Bunların yanı sıra, bitkide diğer naftodiantron türevleri olan izohiperisin ve siklopsödohiperisin varlığı da bildirilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3: İzohiperisin (solda) ve siklopsödohiperisin (sağda)

H. perforatum, başlıca açillenmiş floroglusinol türevleri olarak hiperforin ve adhiperforin adlı bileşikler içermektedir (Şekil 4). Hiperforin 1971-1975 yılları arasında Rus araştırmacılar tarafından çalışılmış²² ve antibakteriyel özelliği tespit edilmiştir²³. Bileşiğin kristal yapısı elde edilerek absolü konfigürasyonu X-ışını analizi ile kesinleştirilmiştir²⁴. Hiperforin, kimyasal yapı olarak humulon ve lupulon'la benzer olmasına rağmen, sadece *H. perforatum*'da bulunan bir bileşiktir.

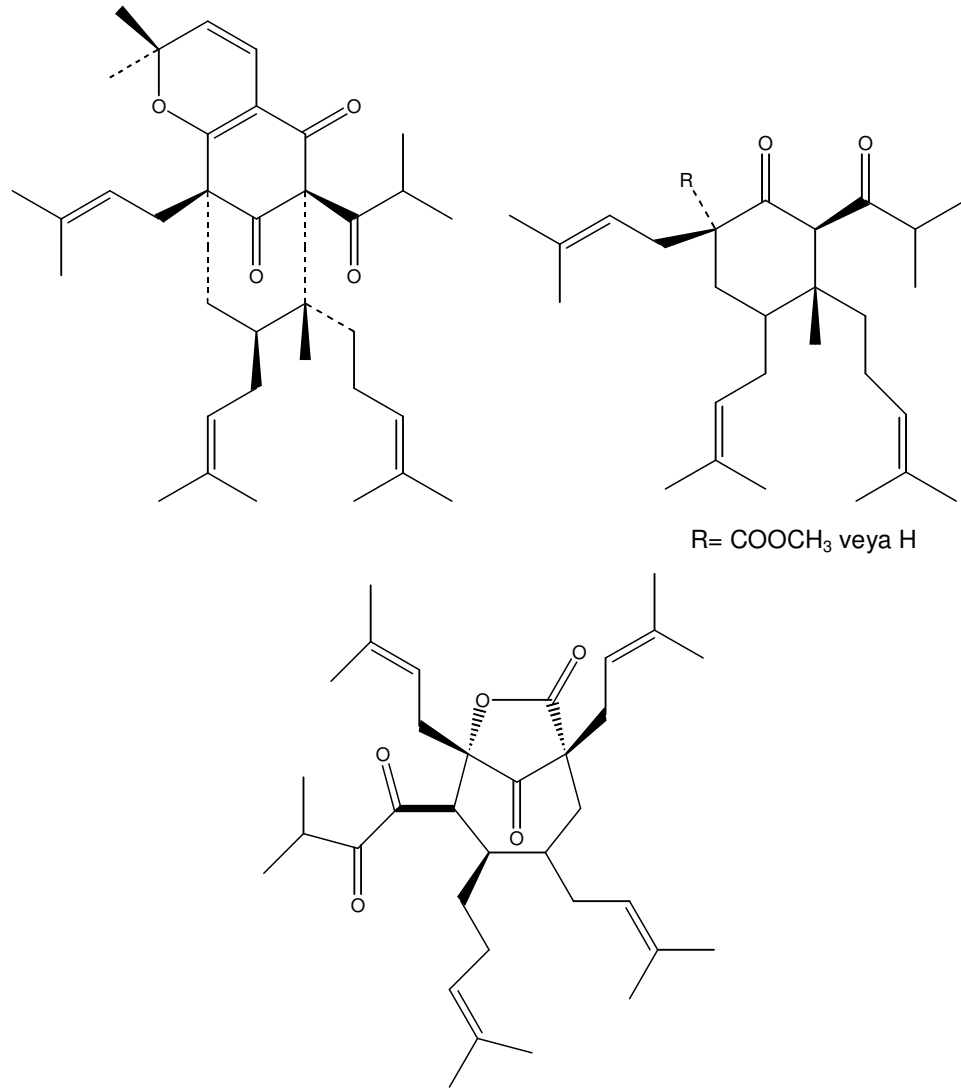


Şekil 4: Hiperforin ve adhiperforin

Hiperforin'in kimyasal olarak kararlı olmayan bir bileşik olması, biyolojik aktivite yönünden incelenmesini uzun zaman zorlaştırmıştır. Bunun için geliştirilen yöntem gere; karbon dioksit ekstraksiyonunu takiben, metanolde çözüldükten sonra yüksek hız-karşı akım kromatografisi (High Speed-Counter Current Chromatography, HS-CCC) tekniği ile izole edilip -20 °C'de depolanması gerekmektedir. Bileşiğin

dayanıksız olmasının sebebi ise yapısındaki enol şeklindeki β -dikarbonil grubundan ileri gelmektedir²⁵. Ancak hiperforin'in disikloheksil amonyum tuzunun kimyasal olarak kararlı olduğu bulunmuştur²⁶.

H. perforatum'dan hiperforin ve adhiperforin dışında, başka bazı hiperforin analogları da izole edilmiştir²⁷ (Şekil 5).



Şekil 5: Diğer bazı hiperforin analogları

Türkiye’de yetişen *Hypericum* türlerinin hiperisin içeriği konusunda da bazı araştırmalar yapılmıştır. Örneğin; Bursa ilinden dağ ve ova koşullarında farklı yüksekliklerde (125, 155, 300, 400, 500, 650, 700, 940, 1000, 1010, 1070 ve 1100 m) çiçeklenme zamanında 2001 ve 2002 yıllarında toplanan *H. perforatum* örneklerinde Alman Farmakopesi’nde (1986) verilen yöntemle göre hiperisin miktarları tayin edilmiş ve sonuç olarak örneklerdeki hiperisin oranlarında yüksekliğe bağlı azalma ya da artış meydana gelmediği saptanmıştır²⁸. Buna göre, 2001 yılında toplanan örneklerdeki hiperisin oranı çiçeklenme başlangıcında %0,124 ile %0,150, tam çiçeklenme zamanında %0,139 ile %0,157 arasında değişirken, 2002 yılında toplanan örneklerde ise bu oranlar çiçeklenme başlangıcında %0,129 ile %0,223, tam çiçeklenme zamanında %0,138 ile %0,189 arasında bulunmuştur. Aslında pek çok araştırmacı, hiperisin oranı üzerinde genetik varyasyonlar, çevresel şartlar, yükseklik, toplanma zamanı, iklim şartları ve kurutma teknikleri gibi pek çok faktörün etkili olabileceğini belirtmişlerdir²⁹⁻³¹. Buna benzer şekilde, Bulgaristan’da yetişen *H. perforatum* ve *H. maculatum* örneklerinde de bitkilerin yetiştiği yükseklik ile hiperisin içeriği arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır³².

Muğla ili civarından toplanan tohumlardan Bornova’da üretilen 154 adet *H. perforatum* örneğinin hiperisin oranlarının belirlendiği bir başka çalışmada, yine Alman Farmakopesi’nde (1986) verilen yöntem kullanılarak, hiperisin oranının %0,132 ile %0,308 arasında olduğu tespit edilmiştir³³. Bir başka çalışmada ise, Afyon, Aydın, Denizli, İzmir, Kütahya, Manisa, Muğla ve Uşak ile bu illere ait 40 farklı lokaliteden toplanan sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) populasyonlarına ait tohumlar, Bornova ve Aydın ekolojik koşullarında yetiştirilmiş ve elde edilen örneklerin çiçeklerindeki hiperisin oranı Bornova örneklerinde %0,246, Aydın örneklerinde ise %0,213 olarak bulunmuştur³⁴.

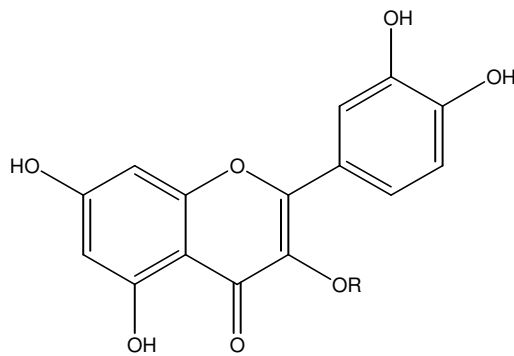
Yapılan analitik çalışmalar, *H. perforatum* örneklerinde hiperisin, hiperforin ve flavonoidlerin miktar tayinlerinde genellikle diyot array (diode array detector, DAD), floresans, elektrokimyasal ve ultraviyole (UV) gibi değişik detektörlerle donatılmış ters faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile elektron-sprey ve nükleer magnetik rezonans (NMR) gibi çeşitli tipte detektörler taşıyan sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) yöntemleri tercih edilmektedir³⁵⁻⁴⁷. Ayrıca, kapiller elektroforez, yakın-infrared reflektans spektroskopisi (near-infrared reflectance spectroscopy, NIRS), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) ve ince tabaka kromatografisi densitometresi gibi yöntemlerle de hiperisin ve hiperforin miktar tayini yapılmıştır⁴⁸⁻⁵².

Diğer taraftan, Çırak ve ark.'larının çalışmasında⁵³, Türkiye'nin kuzeyinden toplanan *H. perforatum* örneklerinde hiperisin, klorojenik asit ve bazı flavonoidlerin miktarlarını HPLC yöntemi ile tespit edilmiş; örneklerde hiperisin 0,44-2,82 mg/g, klorojenik asit 0,0-1,86 mg/g, rutin 0,0-8,77 mg/g, hiperozit 5,41-22,28, kersitrin 1,64-3,98 ve kersetin 1,01-1,76 mg/g arasında tayin edilmiştir. Hindistan kökenli 8 adet *H. perforatum* örneğinde de psödohiperisin, hiperisin, hiperforin, rutin, hiperozit, kersitrin ve kersetin miktarları sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi-kütle spektrometresi (liquid chromatography-mass spectrometry-mass spectrometry, LC-MS-MS) yöntemiyle tayin edilmiş ve örneklerde psödohiperisin 1,68-4,62 mg/g, hiperisin 1,19-2,68 mg/g, hiperforin 3,84-24,58 mg/g, rutin 6,54-23,77 mg/g, hiperozit 13,74-41,64 mg/g, kersitrin 1,33-12,85 mg/g ve kersetin 0,19-1,54 mg/g arasında bulunmuştur⁵⁴. Bahsigeçen sekonder metabolit miktarları arasındaki büyük varyasyonun sebebi, araştırmacılar tarafından yine genetik, çevresel ve iklimsel faktörlerle açıklanmıştır.

Litvanya'da yapılan benzer bir çalışmada, doğal olarak yetişen 21 adet *H. perforatum* örneği ile iki kültür varyetesinin hiperisin miktarı HPLC ile tayin edilmiş ve miktarlar 0,23 ile 1,24 mg/g arasında bulunmuştur⁵⁵. Ayrıca sonuçlar, hiperisin miktarı ile çalışmada kullanılan *H. perforatum* morfortipleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Bir analitik çalışmada; *H. perforatum* çiçeklerinin karbon dioksit ekstraksiyonu yoluyla elde edilen ekstresi, sıvı kromatografisi/termosprey kütle spektrometresi (Liquid chromatography/thermospray mass spectrometry, LC/TSP-MS) tekniği ile incelenmiş ve en az 14 tane floroglusinol-türevi olduğu tespit edilmiştir⁴². Bunun dışında, *H. perforatum*'un topraküstü kısımlarından 4 adet yeni bisantrokinon glikoziti olan *S*-(+)-skirin-6-O- β -glukopiranozit, *R*-(-)-skirin-6-O- β -glukopiranozit, *S*-(+)-skirin-6-O- β -ksilopiranozit ve *S*-(+)-skirin-6-O- β -arabinofuranozit izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır⁵⁶.

Diğer yandan, *H. perforatum*'da ana flavonoitler olarak flavonol türevi olan kersetin ve heterozitleri (kersitrin, izokersitrin, rutin ve hiperozit) olduğu bildirilmiştir (Şekil 6)²⁰.



R= H	Kersetin
R= Ramnoz	Kersitrin
R= Glikoz	İzokersitrin
R= Rhamnoz-glukoz	Rutin
R= Galaktoz	Hiperozit

Şekil 6: Kersetin ve heterozitleri

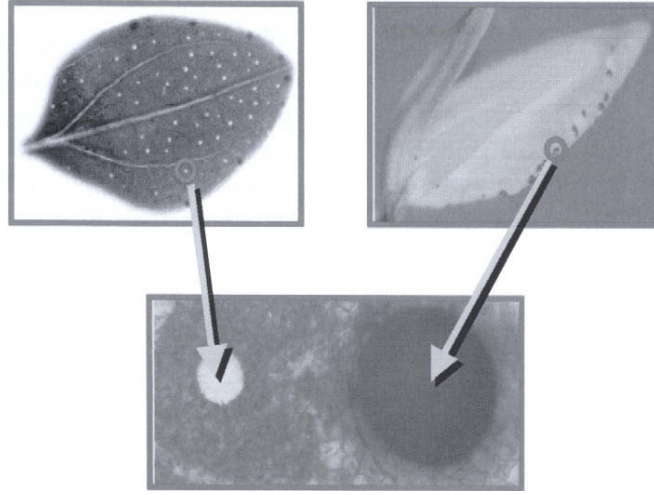
H. perforatum üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle rutin varlığı bildirilmesine rağmen, İtalya'da yapılan bir çalışmada bitkinin rutin taşımayan bir kemotipinin de olduğu gösterilmiştir⁵⁷. *H. perforatum* var. *angustifolium*'dan üretilen kallus üzerindeki fitokimyasal çalışmalar ise, bu bitkiden ilk defa 6-C-prenil luteolin, luteolin 5,3'-dimetileter, luteolin 5-glukozit ile luteolin 3'-glukozit adlı flavonoitlerin izolasyonuna yol açmıştır⁵⁸. Kallusun toplam flavonoit içeriği 0,5-0,7 mg/g (kuru ağırlık) bulunmuş ve bu değerin doğal olarak yetişen *H. perforatum* örneklerinde 14-70 mg/g (kuru ağırlık) arasında olduğu bildirilen miktarlara göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.

Yunanistan'da yetişen *H. perforatum*'dan hazırlanan metanollü ekstrenin metil iyodür ile türevinin hazırlanmasını müteakip, GC-MS yöntemi ile analizi yapılmıştır⁵⁹. Metanollü ekstrede (kuru bitki ağırlığı üzerinden; *para*-hidroksi benzoik asit 62,5 mg/g, homovanilik asit 124,1 mg/g, 4-hidroksi sinnamik asit 24,1 mg/g, sirinjik asit 0,25 mg/g, ferulik asit 71,8 mg/g, naringenin 23,6 mg/g, kemferol 236, 6 mg/g ve luteolin 170,6 mg/g olarak belirlenmiştir.

Polonya'da doğal olarak yetişen bir *H. perforatum* örneğinde ise bitkiden rutin ve kersetin'in ekstraksiyonu için optimum şartlar incelenmiş ve en iyi sonucun % 40-80 (*h/h*) sulu metanol ile sağlandığı görülmüştür⁶⁰. Aynı çalışmada, bitkinin yaprak ve çiçeklerinde de HPLC yöntemi ile bazı fenolik asitler ile flavonoitlerin miktar tayini yapılmış ve buna göre; kuru ağırlık üzerinden yapraklarda ve çiçeklerde (sırasıyla) klorojenik asit 1,19 ve 3,28 mg/g, kaffeik asit 0,15 ve 0,17 mg/g, rutin 3,45 ve 1,49 mg/g, hiperozit 1,78 ve 4,70 mg/g, kersitrin 0,38 ve 1,84 mg/g ve kersetin 0,31 ve 7,52 mg/g olarak tayin edilmiştir.

2.2.2. Uçucu Yağı Üzerindeki Çalışmalar

H. perforatum'un tür ismi olan “*perforatum*” kelimesi, yaprakta bulunan ve ışık geçirgenliğini sağlayan minik deliklerin bulunmasına atfen verilmiş olup, aslında bunlar uçucu yağ taşıyan guddeciklerdir (Resim 4). *Hypericum* türlerinin uçucu yağlarının, bu cinse ait türlerin kemotaksonomik ayırımında oldukça önemli olduğu düşünülmektedir⁶¹.



Resim 4: *H. perforatum*'da uçucu yağ taşıyan guddecikler⁶¹

Bitkideki uçucu yağ oranı %0,1 ile 0,35 arasında değişmekte olup, ana bileşenin α -pinen olduğu bildirilmiştir⁶². Aslında birkaç *Hypericum* türü üzerinde yapılan ilk çalışmada, Mathis ve Ourisson⁶³ gaz kromatografisi (gas chromatography, GC) yöntemiyle bu yağlardaki ana bileşenler 2-metil-oktan ve bazı diğer *n*-alkanlar ile α - ve β -pinen olarak bildirilmiştir.

Ancak farklı ülkelerde yetişen *H. perforatum* örneklerine ait uçucu yağlarının bileşimlerinin belirlenmesi üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda da farklı sonuçların elde edildiği gözlenmiştir. Bunlardan,

güney Fransa'daki 6 farklı lokalitede yetişen *H. perforatum* örnekleri GC-MS ile tayin edilmiş ve ana bileşenler olarak seskiterpen hidrokarbonlar (β -karyofillen, germakren D, kurkumen ve δ -kadinen) tespit edilmiştir⁶⁴. Ancak araştırmacılar bu uçucu yağların bileşimlerinin, daha önce ana bileşenlerin monoterpenler (özellikle α -pinen) olduğu bildirilen bileşimlerden oldukça farklı olduğu sonucuna varmışlardır⁶⁵⁻⁶⁷.

Litvanya'da toplanan 11 adet *H. perforatum* örneğinden elde edilen uçucu yağlarda da monoterpen oranı çok düşük olup, seskiterpenlerin (β -karyofillen, karyofillen oksit, spatulenol, viridiflorol ve karotol) yine başlıca bileşenler olduğu saptanmıştır⁶⁸. Yunanistan'da yetişen 5 adet *Hypericum* türünün uçucu yağları üzerinde yapılan çalışmaya göre; *H. perforatum*'da ana bileşen olarak α -pinen ve müteakiben β -pinen bulunmuştur⁶⁹. Sırbistan'da yetişen *Hypericum* türlerinin uçucu yağlarında yapılan çalışmalar sonucunda da, *H. perforatum*'da ana bileşenler olarak monoterpenler, özellikle α -pinen olduğu saptanmıştır⁷⁰.

Yugoslavya'nın Vlasina bölgesinden toplanan *H. perforatum*'un topraküstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın %48,49'unu *cis*-karyofillen teşkil ederken, β -farnesen, 2-metil-oktan ve 1-hekzil-2-propil-siklopropan diğer ana bileşenler olarak aydınlatılmıştır⁷¹. Yine Yugoslavya'dan toplanan *H. perforatum* uçucu yağında, ana bileşenler olarak β -karyofillen ve 2-metil-oktan belirlenmiştir⁷².

2.2.3. Kantaron Yağı Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Kantaron yağının uzun zamandan beri dünyanın pek çok yerinde yara ve yanık tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir⁷³⁻⁷⁵. Yağ belirgin kırmızı renklidir ve turuncu-kırmızı floresans verir. Yağın kırmızı renginin genellikle hiperisin'den kaynaklandığı düşünülmektedir ve pigmentleri 590 nm'de UV absorpsiyonunun ölçülmesine dayanan basit bir

teknikle hiperisin üzerinden tayin edilebilmektedir. Fakat son zamanlarda, yağın kırmızı rengi ve floresansından I 3, II 8-biapigenin ile 1,3,6,7-tetrahidroksiksanton adlı bileşiklerin de sorumlu olabileceği düşünülmektedir²⁰.

Konuyla ilgili literatür taramalarımız sonucunda, kantaron yağının bileşimi üzerinde yapılmış pek çalışma olmaması dikkat çekicidir. Bir çalışmada, bitkinin lipofilik ekstresinde uzun zincirli yağ alkolleri ile yağ asitleri olarak laurik, palmitik, oleik, erusik ve lignoserik asit, yanısıra bazı karotenoitlerin (lutein, viyolaksantin, *cis*-trolliksantin, trolikromon) bulunduğu bildirilmiştir^{75,76}.

2007 yılında yapılan başka bir çalışmada ise; İtalya'da yetişen *H. perforatum*'dan hareketle, 5 ayrı yöntemle geleneksel usule uygun şekilde zeytinyağı kullanılarak, kantaron yağları hazırlanmıştır⁷⁷.

Bu araştırmacılar tarafından yağın hazırlanma yöntemleri şöyle açıklanmıştır:

- Yöntem 1: Taze çiçekler (280 g) 1,6 L zeytinyağı içinde 28 gün masere edilmiş ve ekstraksiyon boyunca güneş ışığına maruz bırakılmıştır.
- Yöntem 2: Kurutulmuş çiçekler (30 g), 570 ml zeytinyağı içinde 28 gün masere edilmiş ve ekstraksiyon boyunca güneş ışığına maruz bırakılmıştır.
- Yöntem 3: Kurutulmuş çiçekler (30 g), 570 ml zeytinyağı içinde güneş ışığı olmaksızın 3 gün boyunca 50 °C'de masere edilmiştir.
- Yöntem 4: Kapsül tipindeki taze meyvalar (90 g), 512 ml zeytinyağı içinde 28 gün masere edilmiş ve ekstraksiyon boyunca güneş ışığına maruz bırakılmıştır.
- Yöntem 5: Kapsül tipindeki taze meyvalar (90 g), 512 ml zeytinyağı içinde 3 gün boyunca 50 °C'de masere edilmiştir.

Hazırlandıktan sonra, yağların stabilitesini kontrol etmek amacıyla, yağlar koyu renkli şişelere alınmış, oda sıcaklığında muhafaza edilmiş ve 4 ay sonra her yağ örneği aylık olarak, HPLC/DAD/MS ile bileşiminin değişip değişmediği analiz edilmiştir. Daha sonra çiçek ve meyvalardan hazırlanan yağlarda, HPLC yöntemi ile tayin edilen floroglusinoller olan hiperforin ve adhiperforin miktarları aşağıdaki gibi bulunmuştur:

	Hiperforin (µg/100 mg)	Adhiperforin (µg/100 mg)
Yağ (Yöntem-1)	26,58	8,52
Yağ (Yöntem-2)	16,89	2,50
Yağ (Yöntem-3)	6,21	1,18
Yağ (Yöntem-4)	36,90	17,58
Yağ (Yöntem-5)	4,50	10,17

Buna göre; yağlarda hiperisin ve türevleri eser miktarda tespit edilmiş ancak farklı yöntemlere göre hazırlanan yağların hiperforin ve adhiperforin içerikleri arasında büyük varyasyonlar saptanmıştır. Sonuç olarak; ısı uygulamasının olduğu yöntem 3 ve 5'e göre hazırlanan yağlarda, her iki bileşiğin oranı da diğer yağlara göre oldukça düşük olduğu için, ısı uygulamasının yağın bileşimini olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir.

2.3. BİYOLOJİK AKTİVİTE BÖLÜMÜ

2.3.1. Antidepresan Aktivite

2.3.1.1. *In vivo* Çalışmalar

Depresyonun etiyolojisi oldukça karmaşık olup, halen çok iyi anlaşılamamıştır. Ancak günümüze kadar elde edilen bulgular serotonerjik ve noradrenerjik nörotransmisyon ve merkezi patofizyolojik durumla ilintili olduğunun altını çizmektedir. Aynı şekilde, piyasada mevcut olan antidepresan ilaçların hemen hemen hepsi merkezi sinir sisteminde görevli nörotransmitterler olan serotonin, noradrenalin ve dopamin'in sinaptik iletimi üzerinde etki göstermektedirler. Dolayısıyla, antidepresanların büyük bir kısmı, ilgili sinapslarda serotonin ve noradrenalin düzeyinin artmasına yol açmaktadır. Bu da aslında *H. perforatum*'un antidepresan etki mekanizmasının da neden noradrenalin, serotonin ve dopamin ile ilgili olduğunu açıklamaktadır.

“Doğanın Prozac'ı” diye tabir edilen *H. perforatum* (sarı kantaron) bitkisinin, klasik antidepresanlara alternatif olarak hafif ve orta şiddetli depresyona karşı antidepresan etkisi üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır⁷⁸. Fare ve sıçan gibi kemirgenler üzerinde denenen davranış ile ilgili deney modellerinde bitkinin hidroalkollü ekstresinin antidepresan etkisi gösterilmiştir⁷⁹⁻⁸⁵. Ekstre, genellikle hiperisin üzerinden % 0,3 total hiperisin olacak şekilde standardize edilmektedir. Işık ve ısıya karşı dayanıksız olmasından dolayı, hiperforin üzerinde hiperisin'e göre daha kısıtlı sayıda araştırma yapılmıştır ve ekstredeki miktarı %1-5 arasında değişmektedir.

Bitkinin antidepresan etkisinden sorumlu olan bileşik konusunda halen araştırmalar devam etmektedir. Örneğin; hiperisin sıçanlarda, zorlamalı yüzme testinde (forced swimming test) antidepresan etki göstermiştir⁸⁶. Başka çalışmalarda da, sadece dopamin D3

reseptörleri için nanomolar bağlanma afinitesi, ancak diğer reseptörler içinde mikromolar bağlanma afinitesi gösterdiği saptanmıştır⁸⁷⁻⁸⁹. İnsanlara farmakolojik olarak etkili dozda verilen hiperisin'in plazma konsantrasyonlarının nanomolar düzeyde olduğu, fareler üzerinde yapılan radyo-etiketleme deneyinde de, beyinde hiperisin konsantrasyonunun plazma konsantrasyonunun %8-40'ı arasında olduğu tespit edilmiştir⁹⁰⁻⁹². Bu sonuçlar, bitkinin antidepresan özelliğinin merkezi nörotransmitter reseptörlerle etkileşebilen hiperisin'den kaynaklanmadığını düşündürmektedir. Ancak, bu düşüncüyü kesinleştirecek bir *in vivo* çalışma henüz yapılmamıştır.

İlginç bir şekilde, yapılan bir klinik çalışmada %5 hiperforin taşıyan ekstre yerine, % 0,5 hiperforin taşıyan ekstrenin verilmesi sonucu, antidepresan etkinin azaldığı gözlenmiştir⁹³. Ayrıca saf hiperforin ile bitkinin hiperforin içeriği bilinen ekstrelerinin depresyonla ilgili hayvan deneyi modellerinde denenmesi sonucu antidepresan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir ancak yine de sıçan beyinlerinde hiperforin seviyesinin oldukça düşük olduğu sonucuna varılmıştır^{81,94,95}.

Bitkinin antidepresan etkisine ait muhtemel mekanizmalardan biri, intra- ve ekstra-nöronal olarak bulunan bir enzim olan monoamin oksidaz'ın (MAO) inhibisyonu olarak düşünülmüştür⁹⁶. Buna bağlı olarak, daha önceki yıllarda, bitkinin antidepresan etkisinin hiperisin'in MAO inhibitörü aktivitesine bağlı olduğunu gösteren çalışmayı müteakip⁹⁷, daha sonraki çalışmalarda bu inhibisyon kanıtlanamamıştır⁹⁹⁻¹⁰². Ancak Suzuki'nin çalışmasına benzer şekilde, aktivite, *in vivo* olarak etki elde edilmesi çok yüksek olan bir dozda (> 100 µg/ml) gözlemlendiği gibi, 100 mg/kg dozda ekstrenin sıçanlara intraperitoneal olarak verilmesinden sonra da MAO inhibitörü etki görülmemiştir^{99,100}. Başka bir deyişle, MAO-A ve MAO-B inhibitör etkiyi gösterebilmesi için ekstrenin çok yüksek dozlarına ihtiyaç olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, bitkinin ekstresinin fare ve sıçanlara

akut veya kronik uygulamalarından sonra MAO inhibisyonu hiçbir şekilde gözlenmemiştir⁹⁶. Bu nedenle, bitkinin bir MAO inhibitörü olmadığı düşünülmektedir.

Diğer taraftan, bitkinin ekstresinin, 5-hidroksi-triptamin (5-HT), dopamin ve noradrenalin'in sinaptozomal alınımlarını (uptake) *in vitro* olarak inhibe ettiği ve bu etkinin de hiperforin'den kaynaklandığını gösteren çalışmalar bildirilmiştir^{81,83,103}. Ancak, bu sonuçlar etki mekanizmasının, "tekrar-alınım inhibitörleri" (re-uptake inhibitors) olan sentetik antidepresanlardan bir nebze farklı olduğuna işaret etmektedir. Hiperforin'in bariz monoamin tekrar alınımı (re-uptake) üzerindeki inhibitör etkisi, intraselüler H^+ ve Na^+ ve/veya sinaptik veziküllerde depolanan nörotransmitter düzeylerinde değişikliğe yol açmaktadır^{83,104,105}. Şu ana kadar, hiperforin'in pre-sinaptik etkileri, 0,1-1 μM arasında ölçülebilen merkezi sinir sistemindeki en belirgin *in vitro* etkisidir.

Bu araştırmalardan çıkan sonuçlar kısaca şöyle özetlenebilir¹⁰⁶:

- Hiperforin, merkezi sinir sistemindeki bazı reseptörlere bağlanarak etki etmektedir.
- Ya da hiperforin, yapısı henüz bilinmeyen bir metaboliti üzerinden dolaylı yoldan merkezi sinir sistemi reseptörlerine bağlanarak veya birtakım nöromodülatörleri indükleyerek etki etmektedir.

Diğer taraftan, bitkinin antidepresan aktivitesinin en önemli mekanizması olarak; klasik trisiklik antidepresanların etki mekanizmasına benzerliği göz önüne alınabilir. Bu mekanizma ise, presinaptik sinir uçlarından sinaptik aralığa salınan nörotransmitterler geri döndüren serotonin ve/veya norepinefrin taşıyıcı proteinlerin kompetitif inhibisyonu esasına dayanmaktadır. Buna göre; bazı antidepresanlar her iki proteinden birini inhibe ederken, bazıları da hem noradrenalin hem de

serotonin taşıyıcılarını inhibe etmektedir. Ancak sentetik antidepresanların hiçbiri, bu üç nörotransmitterin (serotonin, norepinefrin, dopamin) nöronal alımını, *H. perforatum*'unkine mukayese edilebilir derecede inhibe edememektedir. Üstelik bitkinin ekstresi serotonin ve noradrenalin'in sinaptozomal alımının inhibisyonu yanında; dopamin, gama-aminobütirik asit (GABA) ve L-glutamat'ın da fare beyin dokusunda aynı şekilde alımının inhibisyonuna yol açmaktadır¹⁰². Bu bulgu, aynı zamanda sıçan sinaptozomlarında, sıçan nöronlarından elde edilen primer hücre kültüründe ve yine sıçan kortikal astrosit kültüründe de ispatlanmıştır^{81,102,103}. İlginç bir şekilde, ekstre uygulaması durdurulduktan bir süre sonra, bu alımın tekrar eski haline döndüğü de gözlenmiştir¹⁰⁷. Bu bulgularla benzer şekilde, çeşitli araştırmacılar tarafından, hayvan deney modellerinde *H. perforatum* ekstresinin akut/kronik uygulamasından sonra, noradrenalin, dopamin ve serotonin veya bunların metabolitlerinin beyindeki seviyelerinde oldukça farklı değişikliklerin olduğu saptanmıştır¹⁰⁸⁻¹¹¹. Ayrıca, ekstrenin subkronik uygulaması, sıçan beyinde serotonin ve dopamin taşıyıcı proteinlerin yoğunluklarını da değiştirmiştir¹¹². Bitkinin şu ana kadar kanıtlanamayan MAO-A inhibitör etkisinin hiperisin'den kaynaklandığı düşünülmüştür. Uzun süre, ekstrenin başlıca aktif bileşeni olarak kabul edilen hiperisin, aslında bitkinin fototoksik özelliğinden sorumlu olan bileşiktir ve hiperisin'in MAO inhibisyonuna sebep olduğu saptanamamıştır⁹⁹⁻¹⁰². Ayrıca aynı bileşiğin; serotonin, noradrenalin, dopamin, GABA ve L-glutamat'ın nöronal alımını inhibe etme üzerine de bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır^{113,114}. Şaşırtıcı bir şekilde, yıllarca bitkinin biyolojik etkileriyle bir ilgisi olmadığı sanılan hiperforin'in ise, bitkinin nörotransmitter alımının inhibisyonu üzerindeki etkisinden sorumlu olan başlıca bileşik olduğu saptanmıştır. Hiperforin, nöronal dokularda ekstrenin kendisine göre yaklaşık 10 kat daha potent olup, aslında ekstredeki nicel olarak en önemli bileşik olduğu söylenebilir¹⁰⁷.

Yapılan hayvan deneylerinde, *H. perforatum*'un hidroalkolik ekstresinin akut dozlarının serotoninerjik sistem üzerindeki etkileri halen tartışmalıdır. Örneğin; ekstre uygulamasıyla sıçan beyin korteksinde 5-HT ve metaboliti 5-hidroksi-indolasetikasit'in (5-HIAA) anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir¹¹⁵. Ancak başka bir araştırmada, ekstre uygulamasıyla, fare hipotalamus ve hipokampüsünde 5-HT ve 5-HIAA seviyelerinde yükselme gözlenirken, kortekste sadece 5-HIAA seviyesinin yükseldiği bulunmuştur¹¹⁶. Tüm bu sonuçlar, *H. perforatum* ekstresi ve hiperforin'in *in vivo* olarak 5-HT nörotransmisyonunu etkileyebileceğini göstermektedir. Ancak, halen bunun bitkinin antidepresan etkisiyle ne kadar bağlantılı olduğu da tartışmalıdır. Sonuç olarak, bitkinin etkisini oldukça yüksek dozlarda hiperforin aracılığıyla dopamin ve noradrenalin transmisyonunu artırmak suretiyle gösterdiği tespit edilmiştir. Nöronal membran reseptörlerindeki değişikliklerin *H. perforatum* ekstresinin genellikle 15 günlük uygulamasından sonra görüldüğü belirtilmiştir^{102,117}. Bu da klinikte de aynı şekilde, antidepresan etki elde edilebilmesi için tekrarlanan tedavi uygulaması ile de örtüşmektedir^{118,119}.

Yine antidepresan etki mekanizmasında rol alan sigma reseptörleri üzerine *H. perforatum* ekstresinin, hiperforin'in ve bazı analogları ile biapigenin'in pek etkili olmadığı bulunmuştur^{84,85}. Ancak Raffa'nın çalışmasında⁸⁷, hiperisin ve psödohiperisin sigma reseptörlerine bağlanma üzerine inhibitör etki göstermişlerdir ($IC_{50}=1,4$ mg/mL). Fakat bu tür bir etkileşme için gerekli olan hiperisin konsantrasyonu, insanlarda nanomolar düzeyde olan plazma konsantrasyonuna göre fazlasıyla yüksek bir miktardır.

2.3.1.2. Klinik Çalışmalar

Maprotilin, imipramin, sertralin ve floksetin gibi mevcut antidepresan ilaçlarla mukayeseli olarak *H. perforatum* ekstresi ile yapılmış pek çok klinik çalışma mevcuttur¹²⁰⁻¹²⁵.

Witte ve ark. tarafından gerçekleştirilen depresyon teşhisi konulmuş hastalar üzerinde çok merkezli ve plasebo kontrollü bir klinik çalışmada¹²⁶, 6 hafta boyunca *H. perforatum* ekstresi (Psychotonin® Forte) verilen hasta grubunun Hamilton Depresyon Skalası'na (Hamilton Depression Scale, HDS) göre, plasebo grubuna kıyasla skorlarında %79 azalma olmuştur. Hafif ve orta şiddette depresyon teşhisi konulmuş hastalara, *H. perforatum*'dan hazırlanan LI 160 ekstresi 6 hafta boyunca verilmiş ve depresyon ölçümünde kullanılan önemli bir parametre olan HDS'nda tedaviden önce 20,2 olan skoru, 6 hafta sonra 8,8'e düşürmüştür¹²¹. İmipramin verilen hasta grubunda ise benzer şekilde, tedaviden önce 19,4 olan skor tedavi sonrasında 10,7'ye düşmüştür. Ancak ekstre verilen grupta, imipramin grubuna göre daha az yan etki tespit edilmiştir. Aynı pozitif sonuçlar, ZE 117 kodlu *H. perforatum* ekstresinin 6 hafta boyunca uyguladığı ve imipramin'le kıyaslandığı randomize, çifte körlü ve çok merkezli başka bir çalışmada da elde edilmiştir¹²⁷. Yine randomize ve çifte körlü bir klinik deneyde, majör depresyon teşhisi konulan hastalardan oluşturulan iki gruba, sertralin ve *H. perforatum* ekstresi uygulanmış ve her iki gruba da etkinin birbirine çok yakın olduğu gözlenmiştir¹²⁸. Ancak sertralin verilen hasta grubunda daha fazla yan etki görülmüştür. Bu sonuçlar, plaseboyla karşılaştırıldığında, HDS'daki total skoru %40'dan daha fazla azaltan *H. perforatum* ekstresi ile alınan sonuçlar uyum içindedir^{129,130}. Fakat yine majör depresyonlu hastalarda yapılan plasebo mukayeseli başka bir deneyde ise depresyon semptomlarını azaltmada *H. perforatum* ekstresinin etkili olmadığı bildirilmiştir¹³¹.

Depresyonlu hastalar üzerindeki başka bir randomize, çift körlü, plasebo-kontrollü çok merkezli bir çalışmada; WS 5573 ve WS 5572 kodlu *H. perforatum* ekstreleri, 42 gün boyunca uygulanmış ve plasebo grubuna göre HDS'da total skoru %50 oranında azaltmıştır⁹³. Ancak bu çalışmada en iyi sonuç, WS 5573'e göre daha yüksek oranda hiperforin içeren WS 5572 ekstresinin denenmesiyle elde edilmiştir. Lecrubier ve ark.'larının çift körlü, plasebo-kontrollü klinik çalışmasında da¹³², WS 5570 kodlu *H. perforatum* ekstresi yine hafif ve orta şiddetli depresyon teşhisi konulan hastalarda denenmiş ve plasebo grubuna göre HDS'da oldukça önemli bir düşüşe neden olmuştur.

Diğer taraftan, bitkinin LI 160 kodlu ekstresinin sağlıklı bayanlara uygulamasından sonra, büyüme hormonunun plazma konsantrasyonlarında artma, prolaktin konsantrasyonlarında ise azalma tespit edilmiştir¹³³. Bu bulgu da, *H. perforatum* ekstresinin etki mekanizmasının dopamin'le bağlantılı olduğuna işaret etmektedir. Aynı sonuca, sıçanlar üzerinde yapılan deneylerle de ulaşılmıştır^{86,134}. Szegedi ve arkadaşlarının randomize, çift körlü ve çok merkezli çalışmasında¹³⁵, WS 5570 kodlu ekstre majör depresyonlu hastalar üzerinde denenmiş ve paroksetin ile mukayese edilmiştir. WS 5570'in 6 hafta boyunca uygulanması sonucunda, HDS'nda başlangıçta 22 olan skor, hastalarda 14,0, paroksetin grubunda ise 11,4'e kadar gerilemiş ve araştırmacılar tarafından WS 5570 ekstresinin en az paroksetin kadar etkili olduğu ve hatta daha iyi tolere edilebildiği sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, *H. perforatum* ekstresinin antidepresan etkisi üzerindeki çalışmalar göstermektedir ki¹³⁶⁻¹³⁸,

-Bu bitkisel ilacın yol açtığı baş ağrısı, bulantı, seksüel disfonksiyon, insomnia, sedasyon, aritmi, kilo değişiklikleri ve kısa süreli hafız kaybı gibi yan etkiler, klasik antidepresanların sebep olduğu yan etkilere göre daha hafif seyreder ve çok sık görülmez.

-Alışkanlık ve bağımlılık yaratmaz. Kullanımından sonra ilacın kesilmesinden sonra “ilaç bırakma” semptomlarına yol açmaz.

-Uykunun en kaliteli evresi olan REM (rapid eye movements) evresini etkilemez, hatta genellikle uyku düzenleyici etkisi saptanmıştır.

-Alkol ve ya diğer ilaçlarla kullanımı sonucunda, klasik antidepresanlara göre etkileşimi daha azdır.

-Şu ana kadar *H. perforatum* ekstresi içeren bitkisel ilaç kullanan hastalarda, doz aşımı veya yüksek doz kullanımı sonucunda, herhangi bir ölüm vakası bildirilmemiştir.

H. perforatum üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları, bitkinin standardize ekstresini içeren preparatlarının günlük 500-1000 mg arasında değişen dozlarda alınmasının, hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde faydalı olabileceği yönündedir¹³⁹.

2.3.2. Antioksidan Aktivite

2001 yılında bildirilen bir çalışmada¹⁴⁰; hiperisin üzerinden standardize edilen Nature Plus® ve hiperforin üzerinden standardize edilen Movana® adlı tablet formundaki preparatların toz edilip, distile su ve alkali solüsyon (pH=13, NaOH) ile elde edilen çözeltilerinden; 1:1, 1:2,5, 1:5, 1:7,5, 1:10 ve 1:20 oranlarda dilüsyonlar hazırlanmış ve ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından yaratılan süperoksit radikaliyle karşı antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Hiperisin preparatının 1:1 oranında hazırlanan konsantrasyonda önemli bir pro-oksidan etkisi gözlenirken, 1:2,5 oranındaki konsantrasyonun altındaki tüm konsantrasyonlarda doz-bağımlı olarak güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Hiperforin preparatı ile de benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen, hiperisin preparatının daha yüksek etki gösterdiği saptanmıştır. Aynı çalışmanın devamında bu preparatlar insan plasenta venleri üzerinde de antioksidan etkileri açısından denenmiş ve süperoksit radikali ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Bulgaristan'da halk arasında kullanılan çeşitli bitkilerin sulu ekstralarının antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada¹⁴¹; *H. perforatum*'un Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC) değeri $3,74 \pm 0,14$ mM, total fenol miktarı ise kersetin eşdeğeri olarak $881,93 \pm 6,68$ µM olarak bulunmuş ve taramadaki en yüksek antioksidan kapasiteye sahip bitkilerden biri olarak bildirilmiştir.

H. perforatum'un etanollü ekstresinin sıçanlarda, skopolamin-indüklü amnezi (hafıza kaybı) üzerindeki etkisini denemek üzere yapılan bir çalışmada; beyindeki oksidatif stres durumu da incelenmiştir¹⁴². Oksidatif stresin biyokimyasal parametreleri olarak malondialdehit (malone dialdehyde, MDA), glutatyon peroksidaz (glutathion peroxidase, GSHPx), glutatyon (glutathion, GSH) ve süperoksit dismutaz (superoxide dismutase, SOD) seviyeleri ölçülen sıçanlarda, skopolamin uygulanmasından sonra MDA seviyesinin yükseldiği GSH seviyesinin ise azaldığı görülmüştür. Aynı deneyde yapılan pasif-kaçınma testinde, skopolamin-indüklü hafıza kaybının giderilmesinde de etkili olduğu tespit edilen bitkinin ekstresinin güçlü antioksidan özelliği de göz önüne alınarak, depresyonlu demans hastalarında oldukça faydalı olabileceği bildirilmiştir.

Aralarında *H. perforatum*'unda bulunduğu birçok bitkinin yer aldığı bir tarama çalışmasında, bitkilerin antioksidan etkisi insan aktif nötrofilleri kullanılarak yaratılan bir dizi reaktif oksijen radikalleri üzerinde en kuvvetli antioksidan etkiyi gösteren bitki olarak saptanmıştır¹⁴³.

Bir başka çalışmada; *H. perforatum*'dan hareketle hazırlanan etanollü ekstrede kolorimetrik yöntemle total flavonoit miktarı tayin edilmiş, ayrıca LC-MS analizi ile ekstrede rutin, hiperozit, izokersitrin, avikularin, kersitrin ve kersetin olduğu tespit edilmiştir¹⁴⁴. Ekstrenin antioksidan etkisi de 1,1-difenil pikril hidrazil (1,1-diphenyl picryl hydrazyl, DPPH) ve süperoksit radikallerini süpürme gücü üzerinden incelenmiş ve IC₅₀

değerleri sırasıyla 10,63 µg/mL and 54,3 µg/mL olarak bulunmuştur. Ekstre ile indirgeme gücü arasında lineer bir korelasyon olduğu da gözlenmiştir ($r^2=0,9991$). 150 µg ekstre ilavesi ile, 84 saatlik inkübasyondan sonra linoleik asit peroksidasyonu üzerinde görülen güçlü inhibitör etki, hidroksil ve peroksil radikalleri üzerinde de saptanmıştır. Ayrıca güçlü metal şelat yapıcı etkisi de tespit edilen ekstrenin, bu çalışmada değişik mekanizmalar üzerinden etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. *H. perforatum*'dan izole edilen altı adet flavonoitin nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase, NOS) enzimi üzerindeki inhibitör etkisi, sıçan kan ve beyin homojenatlarında spektrofotometrik olarak incelenmiştir¹⁴⁵. Buna göre; kersetin ve hiperozit konsantrasyon-bağımlı olarak enzim inhibisyonu yapmışlar ve hiperozit'te bulunan galaktoz grubunun NOS inhibisyonu üzerindeki selektif etkisi üzerinde önemli bir rolü olabileceği sonucuna varılmıştır.

H. perforatum'un etanollü ekstresi ve fraksiyonlarının antioksidan etkileri ve total fenol miktarları tespit edilmiş ve fraksiyonların HPLC/DAD/MS/MS ile kromatografik profili incelenmiştir¹⁴⁶. Buna göre, bitkide kemferol 3-rutinozit ve rutinasetil'in varlığı ilk defa gösterilmiş ve ekstrenin DPPH serbest radikal süpürücü etkisi saptanmıştır. Flavonoit ve kafeilkinik asit taşıyan fraksiyonların ekstrenin DPPH radikal süpürücü etkisinden başlıca sorumlu bileşikler olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra, askorbat/ Fe^{+2} ile indüklenen lipid peroksidasyon üzerindeki etkisi ise flavon aglikonlarını içeren fraksiyonlarda yüksek oranda görülmüş, ancak hiperisin ve hiperforin'in ekstrenin antioksidan etkisine pek katkısının olmadığı bildirilmiştir.

Aralarında *H. perforatum*'un da bulunduğu Balkanlar'da yetişen 9 adet *Hypericum* türüne ait metanollü ekstrelerle ait total antioksidan kapasitesi, α -tokoferol eşdeğeri olarak ölçülmüş ve yapraklar

ile çiçeklerdeki flavonoit içeriği (%7,4 ve %11,7 sırasıyla) ve ile antioksidan etki arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur¹⁴⁷.

2.3.3. Antiviral Aktivite

H. perforatum'un başlıca bileşiklerinden bir naftodiantron türevi olan hiperisin'in antiviral etkisi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin; bileşiğin farelerde Friend lösemi virüsü ile radyasyon lösemisi virüsüne karşı güçlü anti-retroviral etkisi olduğu gösterilmiştir¹⁴⁸. Aynı çalışmada, Moloney fare lösemi virüsüne (Moloney murine leukemia virus, Mo-MuLV) karşı da oldukça potent inhibitör etkiye sahiptir ($IC_{50}=6 \mu\text{g/ml}$). Ancak hiperisin *Herpes simplex* virus, *influenza A*, *adenovirus* ya da *poliovirus*'ten herhangi birine selektif etki göstermemiş ve bu virüslere karşı %50 sitotoksik konsantrasyonunun $25 \mu\text{g/ml}$ civarında olduğu bulunmuştur. Hücreler enfekte edilmeden önce, hiperisin ile inkübasyona bırakılmış ve *Herpes simplex*, *influenza A*, *adenovirus*, *poliovirus* ve Mo-MuLV ile enfekte edildikten sonra bunlardan "zarflı virüsler" (enveloped viruses) olarak bilinen *Herpes simplex*, *influenza A* ve Mo-MuLV adlı üç virüse karşı $1,56$ ile $25 \mu\text{g/ml}$ arasında değişen virüsidal etkisi saptanmıştır. Ancak "zarfsız virüsler" (non-enveloped viruses) olan *adenovirus* ile *poliovirus* üzerinde herhangi bir virüsidal etkiye yol açmamıştır. Daha sonra, anti-retroviral etkisi olduğu tespit edilen hiperisin ile sentezlenen bazı değişik türevlerinin at enfeksiyöz anemi virüsüne (equine infectious anemia virus, EIAV) karşı %99,99 oranında inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur¹⁴⁹. Ancak, hazırlanan türevlerin hiçbiri virüsidal etki göstermemiş ve araştırmacılar tarafından hiperisin ana iskeletinin antiviral aktivite için gerekli olduğu belirtilmiştir. Hudson ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise¹⁵⁰, hiperisin'in özellikle floresan ışık altında yapılan bir deneyde fare sitalomegavirüsü (murine cytomegalovirus, MCMV), Sindbis virüsü ve insan immünyetmezlik virüsü'ne (human immunodeficiency virus type-1, HIV-1) karşı antiviral etkisi incelenmiş ve Sindbis virüsünün MCMV'ye oranla ışığa daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

MCMV ile enfekte edilmiş hücrelere hiperisin ilave edildiğinde, inhibisyon gözlemlendiği ve inhibisyonunun özellikle ilk iki saat içinde çok kuvvetli olduğu saptanmıştır. Aynı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen diğer bir benzer çalışmada¹⁵¹; hiperisin'in HIV-1'e karşı antiviral etkisi ışık mevcudiyetinde incelenmiş, doz-bağımlı ve ışık şiddeti-bağımlı antiviral etkisi çalışılmıştır. Alınan sonuçlar, hiperisin tarafından HIV-1'in tamamen inaktive edilmesinde ışığın zorunlu olduğuna işaret etmiştir. Çünkü hiperisin sadece ışık varlığında belirgin sitotoksik seviyeye ulaşmıştır.

Bileşiğin hepatit B virüs ailesine mensup olan kaz hepatit B virüsüne (duck hepatit B virus, DHBV) karşı etkisi incelenmiş, hiperisin'le bir saat inkübasyona bırakılan hücreler DHBV ile enfekte edilmiş ve bileşik birkaç gün boyunca vasatta virüs üremesini önlemiştir¹⁵². Yine de araştırmacılar tarafından virüsidal etkisinin zayıf olduğu, ancak viral morfogenezin son aşamalarında etkisini gösterdiği bildirilmiştir. Hiperisin'in antiviral etkisinin foto-indüklü olup olmadığının denendiği bir çalışmada ise¹⁵³, bileşiğin hem oksijenli hem de hipoksik koşullar altında antiviral etkisi incelenmiş ve her iki ortamda eşit aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Dolayısıyla, hiperisin'in antiviral etkisinin oluşumunda, çok büyük olmasa da singlet oksijen molekülünün bir rolü olabileceği görüşüne varılmıştır.

Yunanistan'da doğal olarak yetişen *H. perforatum*'un metanollü ekstresi ve kromatografik işlemler sonucu elde edilen alt fraksiyonları insan sitomegalovirüsüne (human cytomegalovirus, HCMV) karşı test edilmiş ve 3 nolu fraksiyonunun 38 µg/ml konsantrasyonda %100 antiviral aktiviteye sahip olup, referans olarak kullanılan gansiklovir'den daha iyi etki gösterdiği saptanmıştır¹⁵⁴.

Brezilya'da yetişen *H. connatum*, *H. caprifoliatum*, *H. polyanthemum* adlı 3 *Hypericum* türü kedilerde immün yetmezliğe neden olan kedi immünyetmezlik virüsüne (feline immunodeficiency virus, FIV) karşı test edilmiş ve oldukça etkili oldukları görülmüştür. Ancak HPLC

analizi bu türlerde hiperisin bulunmadığı, sadece flavonoidler ile tanenler bulunduğunu göstermiştir¹⁵⁵.

2.3.4. Diğer Biyolojik Aktiviteler

2006 yılında yayınlanan bir çalışmada, *H. perforatum*'dan hazırlanan çeşitli ekstraktlardan, aseton ve etanol ekstraktlarının, anti-enflamatuvar ve alerjik çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı bilinen ve lökotrien sentezinde anahtar enzim olan lipoksijenaz üzerindeki etkisi incelenmiş ve bu iki ekstrenin de anti-lipoksijenaz etkiye sahip olduğu bulunmuştur¹⁵⁶. Ekstrelerin yanı sıra, bitkide bulunan başlıca bileşikler olan flavonoidler (kersetin, izokersitrin, hiperozit, rutin) ve biflavonoidler ile naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin) de aynı yöntemle incelenmiş ve en yüksek anti-lipoksijenaz etkiye hiperisin'in yol açtığı tespit edilmiştir (IC_{50} $5,768 \times 10^{-6}$ M). Benzer şekilde, Albert ve arkadaşları¹⁵⁷ hiperforin'in de siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenaz üzerinde dual inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Sırbistan'da yetişen *H. barbatum*, *H. androsaemum*, *H. richerii*, *H. hirsutum*, *H. perforatum* ve Tara Dağı'nda kültürü yapılan *H. perforatum* örneği olmak üzere 6 adet *Hypericum* türünden hareketle hazırlanan etanollü ekstraktların anti-enflamatuvar aktiviteleri, referans olarak indometazin'in kullanıldığı karagen-indüklü pençe ödemi deney modeli kullanılarak sıçanlar üzerinde test edilmiştir¹⁵⁸. Tüm ekstraktların anti-enflamatuvar etki gösterdiği bulunmuş, ancak en yüksek etkiyi *H. hirsutum* ile *H. perforatum*'un doğal ve kültür örneklerinden hazırlanan ekstraktlar göstermiştir. Ayrıca ekstraktların hiperisin içeriği ile anti-enflamatuvar etkileri arasında bir ilişki saptanamamıştır. Bitkinin etkisi (30 mg/kg), aynı zamanda karagen-indüklü karaciğer hasarı oluşturulan fareler üzerinde de denenmiş ve potent anti-enflamatuvar etkiye yol açtığı görülmüştür¹⁵⁹.

H. perforatum ve başlıca bileşiklerinin ayrıca antimikrobiyal^{147,160-165}, antikanser^{166,167}, antikonvülsan¹⁶⁸, kolinerjik disfonksiyon¹⁶⁹, nootropik¹⁷⁰, antiülser¹⁷¹, fotositotoksik¹⁷², yara iyi edici^{173,174} ve sitokrom P450 enzim inhibisyonu^{175,176} üzerindeki etkileri ile ilgili yapılmış çalışmalar da mevcuttur.

GEREÇ ve YÖNTEM

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

Deneyisel çalışmalarımızda bitkisel materyal olarak piyasada özellikle aktarlarda “kantaron yağı” adı altında satılan 23 adet farklı yağ örneği Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden satın alınmış ve tez gereçlerimizi teşkil etmiştir (Resim 5 ve 6). Kantaron yağı örnekleri, satın alındıkları tarihler ve yerler Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1: Kantaron yağı örnekleri, satın alındıkları tarih ve yerler ile aktar/üretici firma adı ve orijinal etiket bilgileri

Örnek No.	Satın Alındıkları Tarih	Satın Alındıkları Yer	Aktar / Üretici Firma Adı ve Orijinal Etiket Bilgileri
1	Kasım - 2006	Konya – Ereğli	Aktar yapımı
2	Nisan – 2006	Konya – Ereğli	Aktar yapımı
3	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Aktar yapımı
4	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Aktar yapımı
5	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Aktar yapımı
6	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Aktar yapımı
7	Ağustos – 2006	Aydın – Kuşadası	Aktar yapımı
8	Mayıs - 2005	Manisa - Soma	Aktar yapımı
9	Mayıs – 2005	Aydın – Kuşadası	Aktar yapımı
10	Nisan – 2007	Ankara – Merkez	Aktar yapımı
11	Nisan – 2007	Ankara – Merkez	Akhtar&Akhtar Kantaron Yağı (Centaury Oil)
12	Ağustos – 2006	Aydın – Kuşadası	Bosphorus Flora Kantaron (Oleum Herba Centauri Centauri Oil)
13	Kasım - 2006	Konya –Merkez	Kardelen Kantaron Yağı (Oleum Hypericum porforatum)
14	Kasım - 2006	Konya – Ereğli	Karden Kantaron (sabit) Yağı (Gentiana Oil)
15	Eylül – 2006	Konya – Merkez	Talya Kantaron Yağı (Centaury Oil)
16	Eylül – 2006	Konya – Merkez	Sepe Kantron Yağı (Oleum Hypericum pororatum)
17	Eylül – 2006	Konya – Merkez	Mecitefendi Kantaron Yağı (Oleum Centaurii Minoris)
18	Eylül – 2006	Konya – Merkez	Cemre Kantaron Yağı
19	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Defne/Doğa kantaron yağı
20	Nisan – 2007	Adana – Merkez	Nurs Lokman Hekim Kantaron Yağı
21	Mart – 2007	Hatay – Merkez	Sefer Yasemin Kantron Yağı (Oleum Hypericum Perforatum)
22	Mart – 2007	Hatay – Merkez	Ege Lokman Kantaron Çiçek Yağı (Gentiana Oleum)
23	Nisan – 2007	Aksaray – Merkez	Kırıntı Kantaron Yağı (Oleum Kantratune)



Resim 5: Çeşitli firmalara ait tez gereçlerini teşkil eden kantaron yağı örnekleri



Resim 6: Çeşitli aktarlardan temin edilmiş tez gereçlerini teşkil eden kantaron yağı örnekleri

3.2. Yöntemler

3.2.1. Sabit Yağlarla İlgili Farmakope Testleri

Kantaron yağı örneklerinde yapılan kimyasal indeksler (asitlik indeksi, iyot indeksi, peroksit indeksi, sabunlaşma indeksi ve sabunlaşmayan madde miktarı) Avrupa Farmakopesi'nde¹⁷⁷ verilen yöntemlere göre tayin edilmiştir.

3.2.1.1. Asitlik İndeksi

Asitlik İndeksi (AI), 1 gram numunede bulunan serbest asitleri nötralize etmek için gerekli potasyum hidroksit'in (KOH) miktarının miligram olarak değeridir.

Yönteme göre; teşhis edilecek maddenin 10 gramı veya belirtilen miktarı (mg), eşit miktarda etanol (%96) ve petrol eteri içeren, önceden fenolftaleine karşı nötr olduğu bilinen 50 ml'lik karışımda çözülür. İndikatör olarak 0,5 ml fenolftalein kullanılır. 0,1 M potasyum hidroksit ya da 0,1 M sodyum hidroksit ile en az 15 saniye kalıcı pembe renk oluşana kadar (n ml) titrasyon yapılır ve aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$AI = 5,610 \, n / m$$

n: Harcanan KOH veya NaOH' ın ml cinsinden değeri

m: Yağın mg cinsinden değeri

3.2.1.2. İyot İndeksi

İyot indeksi (İİ), 100 gram yağ tarafından bağlanan iyot olarak hesaplanan halojen miktarının gram olarak hesaplanan değeridir.

<u>Tahmini değer (İİ)</u>	<u>Numune miktarı</u>
20'den az	1,0
20 - 60	0,5 - 0,25
60 - 100	0,25 - 0,15
100'den fazla	0,15 - 0,10

Yönteme göre; tam tartılmış numune (mg) 250 ml cam kapaklı erlene konur ve glasiyel asetik asitle çalkalanır. Daha sonra 15 ml her birinden eşit karışım alınmış olan sikloheksan ve glasiyel asetik asitte çözülür. Yavaşça iyot klorür (ICI) solüsyonları ilave edilir, erlenin kapağı kapatılır ve sık sık çalkalanarak 30 dakika karanlıkta bekletilir. 10 ml (100 g/L) potasyum iyodür (KI) çözeltisi ve 100 ml su eklenir. Sarı renk kayboluncaya kadar 0,1 M sodyumtiyosülfat ile titre edilir. 5 ml nişasta çözeltisi eklenir ve 0,1 M sodyum tiyosülfat ile renk kayboluncaya kadar devam edilir. Aynı şartlarda yağ koymadan bir de kör deney yapılır ve aşağıda verilen formülle hesaplanır.

$$\text{İİ} = n_2 - n_1 / m$$

n_1 : Harcanan 0,1 M sodyumtiyosülfat çözeltisi

n_2 : Kör deneyde harcanan 0,1 M sodyumtiyosülfat çözeltisi

m: Yağın g cinsinden değeri

3.2.1.3. Peroksit İndeksi

Peroksit İndeksi (Pİ), 1000 gram yağda bulunan peroksitlerdeki aktif oksijen miktarının miliekivalen cinsinden değerini ifade eder.

5 gram yağ numunesi 250 ml'lik cam kapaklı erlende tartılır. 3 hacim glasiyel asetik asit ile 2 hacim kloroform karışımından 30 ml eklenir. Çözünene kadar karıştırılır ve 0,5 ml doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi eklenir. 1 dakika çalkalanır ve 30 ml su eklenir. Sarı renk kayboluncaya kadar devamlı sallayarak yavaşça 0,01 M sodyumtiyosülfat ile titre edilir. 5 ml nişasta çözeltisi eklenir. Şiddetli bir şekilde çalkalanır ve renk kayboluncaya kadar titrasyona devam edilir. Aynı koşullarda kör çalışması yapılır. Kör çözeltisinde kullanılan 0,01 M sodyumtiyosülfat hacmi 0,1 ml'yi aşmamalıdır. Peroksit indeksi aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$Pİ = 10 (n_1 - n_2) / m$$

n_1 : Harcanan 0,01 M sodyumtiyosülfat (ml)

n_2 : Kör deneyde harcanan 0,01 M sodyum tiyosülfat (ml)

m: Numune ağırlığı (g)

3.2.1.4. Sabunlaşma İndeksi

Sabunlaşma indeksi (Sİ), 1 gram numunede bulunan esterleri nötrale etmek için gerekli potasyumhidroksit miktarının mg olarak değeridir.

Başka şekilde tarif edilmediğinde, tayin için aşağıda gösterilen miktarlar kullanılır.

<u>Tahmini Sİ Değeri</u>	<u>Numune miktarı (g)</u>
3	20
3 - 10	12 – 15
10 - 40	8 - 12
60 - 100	5 – 8
100 - 200	3 - 5
200 - 300	2,5 - 3
300 - 400	0,5 - 1

Yönteme göre; tayin edilecek maddenin belirtilen miktarı (mg) 250 ml'lik erlene konularak, üzerine 25 ml 0,5 M alkollü potasyum hidroksit ve birkaç cam boncuk ilave edilir. Geri çeviren soğutucu altında su banyosunda 30 dakika ısıtılır. 1 ml fenolftalein çözeltisi ilave edilir ve sıcak iken 0,5 M hidroklorik asit ile titre edilir. Aynı şartlarda yağ konmadan bir de kör deney yapılır ve aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$Sİ = (n_2 - n_1) * 28,05 / m$$

n_1 : Kör deneyde harcanan 0,5 M HCl (ml)

n_2 : Deneyde harcanan 0,5 M HCl (ml)

m: yağın g cinsinden değeri

3.2.1.5. Sabunlaşmayan Madde Miktar Tayini

Sabunlaşmayan madde deyimi, 100-105°C arasında uçucu olmayan, esterleşmeden sonra incelenen bir maddeden, bir organik çözücü yardımıyla ekstraksiyon yoluyla elde edilen maddeler için kullanılır ve sonuç yüzde olarak hesaplanır.

Belirtilen miktarda incelenecek numune (mg), 250 ml hacimli geri çeviren soğutucu takılı bir balona konur. 50 ml 2 M alkollü potasyum hidroksit çözeltisi ilave edilir, 1 saat su banyosunda ısıtılır, arasıra çevrilir. 25°C'nin altına inecek şekilde soğutulur. Balon içeriği 100 ml su ile ayırma hunisine aktarılır. Sıvı kısım 3 kez, dikkatlice, 100 ml peroksitsiz eter ile çalkalanır. Eterli tabakalar içinde 40 ml su olan başka bir ayırma hunisinde toplanır. Birkaç dakika yavaşça çalkalanır, ayrışmanın olması beklenir ve sulu faz atılır. Eterli tabaka her biri 40 ml olan 2 kısım su ile yıkanır ve bu işlem 3 kez tekrarlanır. Eterli tabaka, sulu kısım fenolftaleyn ile alkali belirti vermeyene kadar, birkaç kez 40 ml su ile yıkanır. Eterli tabaka darası alınmış bir balona aktarılır, ayırma hunisinde peroksitsiz eter ile yıkanır. Eter fazı su banyosunda uçurulur. Kalıntıya 6 ml aseton ilave edilir ve aseton uçurulur. Kalan kütle 100-105°C'de kurutulur. Desikatörde soğumaya bırakılır ve tartılır (a g). Aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$\text{Sabunlaşmayan Madde Miktarı} = 100.a / m$$

a: Kalıntının ağırlığı (g)

m: Numunenin ağırlığı (g)

3.2.2. GC-MS Analizi

3.2.2.1. Yağ Örneklerinin *Trans*-Metil Esterifikasyonu

Tez araştırma materyalini teşkil eden kantaron yağı örnekleri, GC-MS analizinden önce, Morrison metoduna göre¹⁷⁸ sabunlaştırılıp metillenerek uçucu hale getirilmiştir. Buna göre, yağ örneklerinden 1'er ml alınarak 50 ml'lik balonjojelere konulmuş ve üzerine 12 ml 0,5 M metanollü sodyum hidroksit (NaOH) ilave edilmiştir. Daha sonra kaynar su banyosunda yüzeylerindeki yağ damlacıkları kaybolana kadar tutulan örnekler 2'şer ml bor triflorür (BF₃)/Metanol (Sigma) solüsyonundan eklenmiş ve 2'şer dakika daha kaynar su banyosunda tutulmuşlardır. Oda sıcaklığında bir süre soğumaya bırakılan örnekler doymuş sodyum klorür (NaCl) çözeltisi ile balonjojede 50'şer ml'ye tamamlanmıştır. Bir süre daha kendi haline bırakılan yağ örneklerinde faz ayrışması oluşana kadar beklenmiş ve üstte toplanan yağlı kısım 1 ml hekzan ile çözülerek Eppendorf tüplerine alınmıştır. Hekzanlı kısmın oda sıcaklığında uçurulmasından sonra, elde edilen yağ asitlerinin metil esterlerini taşıyan bakiyeler GC-MS analizlerinde kullanılmıştır.

3.2.2.2. GC-MS Analizinde Uygulanan Kromatografik Şartlar

Cihaz: Agilent 5973 Network kütle selektif detektör ile kombine edilmiş Agilent 6890N Network GC sistemi

Kolon: Agilent 19091N–136 (HP Innowax Capillary; 60,0 m × 0,25 mm × 0,25 µm)

Taşıyıcı gaz: Helyum

Akış Hızı: 0,8 ml/dk

Enjeksiyon hacmi: 1 µl

Enjeksiyon modu: Split (50:1)

Isı programlaması: Kolon ilkönce 60 °C'de 10 dakika tutulmuş ve sonra ısı dakikada 4 °C'lik ısı artışı ile 220 °C'ye yükseltilmiş ve bu ısıda 10 dakika sabit tutulmuştur. En son olarak ısı dakikada 1 °C'lik ısı artışı ile 240 °C'ye yükseltilmiştir.

Analiz süresi: 80 dk

Detektör ve enjektör sıcaklıkları: 230 °C ve 280 °C

Kütle aralığı (m/z): 35-450 atomik kütle birimi (atomic mass units, AMU)

Elektron impakt iyonizasyon: 70 eV

Analizler sonucunda elde edilen GC-MS kromotogramlarındaki piklerin teşhisinde Wiley ve Nist kütüphanelerinden faydalanılmıştır. Yağ asitlerine ait piklerin relatif yüzdeleri Agilent software'i kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler, iki defa enjekte edilmiş ve sonuçlar iki enjeksiyon sonunda elde edilen değerlerin ortalaması±standart sapma olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal İndekslere Ait Bulgular

Tez araştırmalarımızda kullanılan 23 adet kantaron yağ örneğine ait asitlik indeksi, peroksit indeksi, iyot indeksi ve sabunlaşma indeksi ile sabunlaşmayan kısım madde miktarlarına ait değerler Tablo 2’de verilmiştir.

4.2. GC-MS Analizlerine Ait Bulgular

“Gereç ve Yöntem” bölümünde metil esterifikasyon reaksiyonu ile metil türevleri hazırlanarak uçucu hale gelmeleri sağlanan kantaron yağı örneklerinde tespit edilen yağ asitleri ve relatif yüzdeleri±standart sapma Tablo 3 ve 4’te verilmiştir.

1-23 no’lu kantaron yağı örneklerine ait GC-MS kromatogramları ise “Ekler” kısmında verilmektedir.

Tablo 2: Kantaron yağı örneklerine ait asitlik indeksi, peroksit indeksi, iyot indeksi, sabunlaşma indeksi ve sabunlaşmayan kısım madde miktarı $\pm$ standart sapma

Örnek no.	Asitlik İndeksi	Peroksit İndeksi	İyot İndeksi	Sabunlaşma İndeksi	Sabunlaşmayan Madde Miktarı
1	1,02 $\pm$ 0,06	56,95 $\pm$ 1,34	73,89 $\pm$ 0,52	217,12 $\pm$ 1,94	1,82 $\pm$ 0,09
2	1,00 $\pm$ 0,01	58,40 $\pm$ 0,85	74,40 $\pm$ 1,02	218,58 $\pm$ 0,71	1,81 $\pm$ 0,04
3	1,34 $\pm$ 0,04	36,90 $\pm$ 0,08	99,18 $\pm$ 1,16	207,51 $\pm$ 1,09	2,11 $\pm$ 0,13
4	2,81 $\pm$ 0,07	22,30 $\pm$ 0,45	77,50 $\pm$ 0,45	211,80 $\pm$ 1,78	1,86 $\pm$ 0,16
5	1,60 $\pm$ 0,07	38,17 $\pm$ 0,14	82,40 $\pm$ 0,85	200,72 $\pm$ 2,06	2,27 $\pm$ 0,03
6	1,64 $\pm$ 0,01	38,22 $\pm$ 1,39	111,44 $\pm$ 0,82	210,40 $\pm$ 0,42	2,07 $\pm$ 0,14
7	4,87 $\pm$ 0,01	20,42 $\pm$ 0,82	77,03 $\pm$ 0,83	216,40 $\pm$ 1,02	1,90 $\pm$ 0,02
8	1,70 $\pm$ 0,03	16,42 $\pm$ 0,30	78,90 $\pm$ 0,25	225,40 $\pm$ 0,66	2,39 $\pm$ 0,04
9	2,56 $\pm$ 0,01	26,02 $\pm$ 0,10	76,27 $\pm$ 0,49	226,19 $\pm$ 1,80	2,58 $\pm$ 0,15
10	1,60 $\pm$ 0,01	13,03 $\pm$ 0,34	78,74 $\pm$ 2,90	182,31 $\pm$ 1,33	8,14 $\pm$ 0,24
11	0,42 $\pm$ 0,01	15,82 $\pm$ 0,11	115,48 $\pm$ 0,59	182,20 $\pm$ 0,42	3,54 $\pm$ 0,23
12	2,82 $\pm$ 0,04	24,96 $\pm$ 0,11	87,91 $\pm$ 0,18	180,24 $\pm$ 2,16	2,13 $\pm$ 0,18
13	0,50 $\pm$ 0,03	9,71 $\pm$ 0,36	125,60 $\pm$ 0,57	183,96 $\pm$ 1,00	2,15 $\pm$ 0,09
14	0,56 $\pm$ 0,03	9,90 $\pm$ 0,23	127,40 $\pm$ 1,22	183,16 $\pm$ 0,59	2,25 $\pm$ 0,06
15	0,16 $\pm$ 0,01	18,16 $\pm$ 0,09	115,40 $\pm$ 0,88	207,79 $\pm$ 2,70	1,95 $\pm$ 0,06
16	4,63 $\pm$ 0,18	155,86 $\pm$ 1,36	95,72 $\pm$ 0,45	183,18 $\pm$ 1,29	1,39 $\pm$ 0,06
17	4,25 $\pm$ 0,07	23,10 $\pm$ 0,35	85,78 $\pm$ 0,17	193,30 $\pm$ 1,32	0,98 $\pm$ 0,02
18	0,50 $\pm$ 0,07	13,83 $\pm$ 0,61	100,61 $\pm$ 1,06	177,17 $\pm$ 2,01	1,67 $\pm$ 0,04
19	0,44 $\pm$ 0,04	19,22 $\pm$ 0,23	96,94 $\pm$ 0,25	180,60 $\pm$ 1,16	3,38 $\pm$ 0,14
20	1,50 $\pm$ 0,03	14,42 $\pm$ 0,20	100,40 $\pm$ 0,62	161,60 $\pm$ 3,00	2,44 $\pm$ 0,07
21	3,60 $\pm$ 0,07	9,40 $\pm$ 0,08	92,46 $\pm$ 0,96	176,30 $\pm$ 3,56	2,18 $\pm$ 0,19
22	1,44 $\pm$ 0,06	12,96 $\pm$ 0,42	78,42 $\pm$ 0,93	174,42 $\pm$ 2,40	2,35 $\pm$ 0,03
23	2,38 $\pm$ 0,11	27,08 $\pm$ 1,44	110,40 $\pm$ 1,19	110,40 $\pm$ 1,19	1,76 $\pm$ 0,07

Tablo 3: Tez kapsamında incelenen kantaron yağ örneklerinin % yağ asiti bileşimleri±standart sapma

Örnek No. Yağ Asitleri	Retensiyon zamanı (dk)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Miristik (14:0)	18.56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5±0,01
Palmitik (16:0)	21.85	14,1±0,08	14,3±0,08	9,0±0,00	12,9±0,02	14,7±0,27	10,9±0,25	8,3±0,04	13,6±0,01	12,8±0,00	14,6±0,11	23,0±0,14
Palmitoleik (16:1)	22.36	0,9±0,29	-	-	0,7±0,38	0,8±0,09	0,8±0,04	-	-	-	-	-
Stearik (18:0)	27.17	2,4±0,15	2,1±0,02	3,0±0,01	3,5±0,11	3,2±0,16	2,4±0,08	3,3±0,04	-	-	-	-
Oleik (18:1)	27.79	71,9±0,45	72,9±0,01	40,4±0,02	68,8±0,40	68,7±0,25	75,5±0,16	42,7±0,01	72,1±0,02	75,7±0,04	81,7±0,52	35,5±0,35
Linoleik (18:2)	29.37	10,6±0,06	10,6±0,01	47,6±0,02	14,1±0,12	12,7±0,04	9,8±0,02	45,7±0,02	14,3±0,02	11,4±0,04	3,7±0,42	37,9±0,25
Linolenik (18:3)	31.76	-	-	-	-	-	0,6±0,00	-	-	-	-	3,1±0,04
Doymuş yağ asiti (%)	-	16,5	16,4	12,0	16,4	17,9	13,3	11,6	13,6	12,8	14,6	23,5
Doymamış yağ asiti (%)	-	83,4	83,5	88,0	83,6	86,1	86,7	88,4	86,4	87,1	85,4	76,5
Toplam (%)	-	99,9	99,9	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,9	100,0	100,0

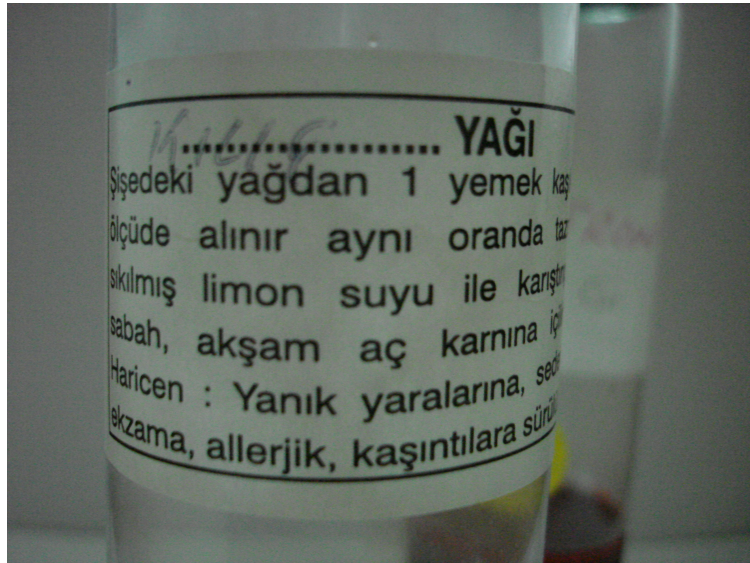
Tablo 4: Tablo 3'ün devamı

Örnek No.	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Yağ Asitleri												
Miristik (14:0)	1,0±0,01	0,7±0,01	0,3±0,00	-	-	-	0,7±0,01	0,5±0,01	-	-	-	-
Palmitik (16:0)	31,8±0,06	26,7±0,07	14,0±0,03	8,9±0,01	12,3±0,01	13,7±0,02	24,2±0,28	22,7±0,01	11,9±0,01	10,8±0,08	12,2±0,09	14,3±0,04
Palmitoleik (16:1)	-	0,5±0,01	-	-	0,5±0,00	-	0,5±0,05	-	-	0,5±0,04	0,4±0,01	-
Stearik (18:0)	-	3,4±0,02	2,4±0,04	3,2±0,02	2,9±0,03	2,8±0,02	2,3±0,07	2,8±0,01	2,1±0,07	3,7±0,09	2,6±0,06	-
Oleik (18:1)	51,2±0,08	29,8±0,01	58,2±0,04	34,5±0,01	55,0±0,01	73,8±0,06	20,5±0,04	41,4±0,01	32,9±0,05	53,1±0,00	73,2±1,79	40,9±0,04
Linoleik (18:2)	16,0±0,03	38,8±0,09	20,0±0,01	52,8±0,01	29,3±0,01	9,7±0,02	51,6±0,16	30,2±0,01	53,1±0,13	31,9±0,06	11,0±1,27	44,8±0,08
Linolenik (18:3)	-	-	5,0±0,01	0,6±0,00	-	-	-	2,4±0,01	-	-	0,6±0,03	-
Doymuş yağ asiti (%)	32,8	30,8	16,7	12,1	15,2	16,5	27,2	26,0	14,0	14,5	14,8	14,3
Doymamış yağ asiti (%)	67,2	69,1	83,2	87,9	84,8	83,5	72,6	74,0	86,0	85,5	85,2	85,7
Toplam (%)	100,0	99,9	99,9	100,0	100,0	100,0	99,8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

4.3. Kantaron Yağı Örneklerinin Etiket Bilgilerine Ait Bulgular

Tez kapsamında gereç olarak kullanılan 23 adet kantaron yağı örneğine ait ambalaj bilgileri ve yağların renkleri Tablo 5'te verilmektedir.

Buna göre; yağ örneklerinden sadece 10 tanesinin usulüne uygun şekilde hazırlanması durumunda olması gereken kırmızı renge sahipken, 10 adedinin sarı renkli, kalan 3 tanesinin ise pembe renkli olduğu tespit edilmiştir. 10 adedi geleneksel usule uygun olarak hazırlanmış şekilde değişik aktarlardan satın alınmış örneklerin dışında, firmalar tarafından imal edilmiş 13 adet hazır kantaron yağ örneklerinin ise dış ambalajları incelendiğinde; 4 adedinin Sağlık Bakanlığı'na bağlı birimlerden, 5 adedinin Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'ndan ruhsat aldığı belirlenmiştir. Aktardan satın alınan 1 nolu numunenin üstünde ise “şişedeki yağdan bir kaşık alınır, aynı oranda taze sıkılmış limon suyu ile karıştırılır ve sabah, akşam aç karnına içilir. Haricen yanık yaraları, sedef, ekzema, alerjik kaşıntılara sürülür” şeklinde bir açıklama olduğu göze çarpmaktadır (Resim 7).



Resim 7: 1 No'lu kantaron yağı örneğine ait etiket

Tablo 5. Kantaron yağı örneklerinin rengi ve ambalaj bilgileri

Örnek no.	Yağın rengi	Ruhsat aldığı kuruluş	Kullanılış ve endikasyon bilgisi	“İlaç Değildir” ibaresi
1	Kırmızı	Yok	Var	Yok
2	Kırmızı	Yok	Var	Yok
3	Kırmızı	Yok	Yok	Yok
4	Kırmızı	Yok	Yok	Yok
5	Sarı	Yok	Yok	Yok
6	Kırmızı	Yok	Yok	Yok
7	Kırmızı	Yok	Yok	Yok
8	Kırmızı	Yok	Yok	Yok
9	Pembe	Yok	Yok	Yok
10	Sarı	Yok	Yok	Yok
11	Kırmızı	Belli değil	Var	Yok
12	Sarı	Sağlık Bakanlığı	Yok	Yok
13	Kırmızı	A. İl Sağlık Müdürlüğü	Yok	Var
14	Kırmızı	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı	Var	Yok
15	Sarı	Antalya Sağlık İl Müdürlüğü	Yok	Yok
16	Pembe	T.K.B. (?)	Yok	Var
17	Sarı	Sağlık Bakanlığı İzmir İl Sağlık Müdürlüğü	Yok	Var
18	Sarı	Belli değil	Yok	Yok
19	Pembe	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı	Yok	Var
20	Sarı	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı	Yok	Var
21	Sarı	Belli değil	Yok	Yok
22	Sarı	Belli değil	Yok	Yok
23	Sarı	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı	Yok	Var

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

“Türkiye’de Satılan Ticari Kantaron Yağı Üzerinde Fitoterapötik Yönden Araştırmalar” konulu tez çalışmamız kapsamında; Türkiye’nin çeşitli illerinden temin edilen 10 adet aktar yapımı (geleneksel usul) kantaron yağı örneği ile değişik firmalarca imal edilen ve ambalajlı olarak satışa sunulan 13 adet hazır kantaron yağı örneği olmak üzere toplam 23 adet kantaron yağı örneği tez gereçlerini teşkil etmiştir (Tablo 1).

Kantaron yağı, ülkemizde de yetişen *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) türünden geleneksel usule göre; bitkinin çiçeklerinin en az 15 gün süreyle güneşe maruz bırakılarak zeytinyağında bekletilmesi suretiyle elde edilmektedir. Yağ, Avrupa’da da aynı usulle geleneksel olarak hazırlanmakta ve Anadolu’da halk arasındaki kullanılışına paralel olarak yara ve yanık tedavisi ile bazı cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.

Kantaron yağı, Anadolu’nun çeşitli bölgelerinde köylüler tarafından yukarıda açıklanan geleneksel usulle elde edilmesinin yanı sıra, çeşitli firmalar tarafından imal edilip değişik markalarla hazır ambalajlı olarak aktar tipi işyerlerinde satışa sunulmaktadır. Ancak, bilindiği gibi aktarlarda satılan bitkisel ürünler üzerinde sıkı bir denetim uygulanmaması nedeniyle, sadece baharat ve gıdaya yönelik ürünler satmaları gerekirken, tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ile tablet, kapsül, vs. gibi çeşitli dozaj formlarındaki bitkisel ilaçları da “gıda” ruhsatı altında rahatlıkla satabilmektedirler.

Tez araştırmaları boyunca 23 adet kantaron yağı örneğinin, sabit yağ olmaları nedeniyle, Avrupa Farmakopesi’nde sabit yağların kalite kontrolü için verilen indekslerden her bir örneğe ait asitlik indeksi, peroksit indeksi, iyot indeksi ve sabunlaşma indeksi değerleri ile sabunlaşmayan

madde miktarları tayin edilmiştir. Bunun yanı sıra; zeytinyağı ile hazırlanması gereken kantaron yağlarında herhangi bir tağşişat olup olmadığını belirlemek amacıyla, tüm yağ örneklerinin metil esterifikasyon reaksiyonu ile uçucu türevleri hazırlanmış ve yağ asiti bileşimlerini karşılaştırmak amacıyla GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kantaron yağının usulüne uygun hazırlanması durumunda belirgin kırmızı renkli olması gerekmektedir. Bu açıdan bakıldığında Tablo 5'te de belirtildiği gibi; 10 adet aktar yapımı yağ örneğinden 7 adedinin beklendiği gibi kırmızı, 1 adedinin pembe, 2 adedinin ise sarı renge sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan, hazır kantaron yağlarından sadece 3 adedinin kırmızı, 2 adedinin pembe, 8 adedinin ise sarı renkli olduğu gözlenmiştir. Buna göre; aktar tarafından hazırlanan örneklerin çoğunun (8 adet) geleneksel usule uygun olarak elde edildiği, diğer 2'sinin ise bitkinin çiçeklerinin zeytinyağında yeterince bekletilmemesi sonucu istenen kırmızı rengi almadığı sonucuna varılmıştır. Ancak usule uygun olarak hazırlanmaları açısından incelendiğinde; 13 adet ambalajlı kantaron yağı örneğinde bu oranın çok düşük olduğu (3 adet) görülmektedir. Bu yağ örneklerinden 8 adedi bariz sarı renkli olup, usule uygun olarak hazırlanmadığı aşikârdır.

Diğer yandan, çalışmamızda aktar yapımı kantaron yağı örneklerinde asitlik indeksi değerlerinin 1,00–4,87; peroksit indeksi değerlerinin 16,42–58,40; iyot indeksi değerlerinin 73,39–111,44; sabunlaşma indeksi değerlerinin 182,31-226,19; sabunlaşmayan madde miktarlarının ise 1,82–8,14 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Hazır ambalajlı kantaron yağı örneklerinde ise bu değerlerin asitlik indeksi için 0,16-4,63; peroksit indeksi için 9,40–155,86; iyot indeksi için 78,42–127,40; sabunlaşma indeksi için 110,40-207,79; sabunlaşmayan madde miktarları için 0,98-3,54 arasında olduğu bulunmuştur. Yağ örneklerinin hazırlanmasında standart bir teknik ve uygun yağ (zeytinyağı)

kullanılmaması veya zeytinyağının taşıdığı edilmemesi sonucu, yukarıda kimyasal indeksler için verilen değer aralıklarının alt ve üst sınırlarının özellikle firmalarca üretilen ambalajlı yağ örneklerinde oldukça geniş olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebinin, firmalarca üretilen yağların satış aşamasında daha uzun süre beklemesinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Kantaron yağlarının hazırlanmasında zeytinyağı kullanılması gerekmektedir. Ancak zeytinyağının pahalı bir yağ olduğu göz önüne alınırsa; taşıması yapılabileceği veya yerine tamamen farklı daha ucuz bir sabit yağ kullanılma ihtimalini de göz ardı etmemek gerekir. Zeytinyağı ile usulüne uygun olarak hazırlanan kantaron yağlarında yağ asiti analizi yapıldığında; en karakteristik ve baskın yağ asiti olarak oleik asit'in olması beklenmektedir. Bu amaç doğrultusunda yağ örneklerimizde GC-MS tekniği ile yaptığımız yağ asiti analizi bizi ilginç sonuçlara götürmüştür. Buna göre; aktar yapımı yağ örneklerinde oleik asit miktarı %40,4-%81,7 arasında tayin edilmiş (Tablo 3), böylece 3 ve 7 no'lu örnekler dışında hepsinin zeytinyağı ile hazırlandığı, 3 ve 7 no'lu yağ örneklerinde bir miktar taşıması olduğu düşünülebilir.

Diğer taraftan, hazır ambalajlı kantaron yağ örneklerinde ise oleik asit'in %20,5-%73,8 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 3 ve 4). Bu örnekler arasında sadece 17 ve 22 no'lu yağ örneklerinde oleik asit miktarı %73,8 ve %73,2 oranında tespit edilmiş olup, bu grubun geri kalanlarında oleik asit yüzdesi %55,0 veya altında bulunmuştur. 17 ve 22 no'lu yağ örneklerinde oleik asit diğerlerine oranla hayli yüksek bulunduğu için usulüne uygun şekilde zeytinyağı ile hazırlandığı, ancak çiçeklerin yeterince uzun süre yağın içinde bekletilmemesi sebebiyle kırmızı renkli olmaları gerekirken sarı renge sahip oldukları görüşüne varılmıştır. Elde ettiğimiz bu bulgular, aktar yapımı yağların geleneksel usule daha sadık kalınarak hazırlandıklarına ve taşıması yapılma olasılığının daha düşük olabileceğine işaret etmektedir. Fakat pek çoğunun renginin sarı olması

göz önüne alınarak, hazırlanmaları esnasında usule uygun olarak beklenme süresinin uygulanmadığı, 13, 15, 18 ve 20 no'lu örneklerdeki gibi oleik asit yüzdesinin, zeytinyağında normalde olması gereken miktarın çok altında olması, zeytinyağının başka yağlarla tağışış edildiğı izlenimini uyandırmaktadır.

Dolayısıyla, tez kapsamında incelenen yağ örnekleri üzerinde yaptığımız kalite kontrol deneyleri, bu yağların kalite özellikleri yönünden büyük farklılıklar taşıdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca temin ettiğimiz kantaron yağı örneklerinin bazılarının bulundukları şişeler üzerinde kullanılış bilgisi ve hatta endikasyon yazıldığı görülmüştür (Tablo 5). İlaç olarak kullanılan ve dolayısıyla sadece eczanelerde satışı mümkün olan müstahzarlar haricinde, hiçbir ürünün üzerine endikasyon bilgisi yazılmasına izin verilmemektedir. Ayrıca çeşitli firmalar tarafından üretilen kantaron yağlarına ait ambalajlı ürünlerin bir kısmının (4 adet) ruhsat veren kurum olarak Sağlık Bakanlığı'nı (Kozmetik Şubesi), bir kısmının ise (5 adet) Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nı gösterdikleri belirlenmiştir. 4 adet yağ örneğinde ise ruhsatı veren kurum, ambalaj veya şişe üzerinde belirtilmemiş olup, belli değildir. 13 adet hazır imal edilmiş kantaron yağı örneğinden 6 tanesine ait dış ambalajda “ilaç değildir” ibaresi varken, 7 tanesinde bu ibare bulunmamaktadır. Bu yağlar, hem “kozmetik preparat” olarak değerlendirilip Sağlık Bakanlığı'na bağlı Kozmetik Şubesi'nden, hem de “gıda” olarak değerlendirilip Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'ndan ruhsat alabilmektedirler (Tablo 5). Dolayısıyla, bu yağların ruhsatlandırılmasında da, ruhsat veren kurumlar açısından bir karışıklık göze çarpmaktadır.

Yağ örneklerinin pazarlandığı kutu ambalajları ve şişelerin üzerinde kantaron yağının elde edildiğı kaynak bitki olarak *Hypericum perforatum*'un yanısıra “Centaurea minoris” ve “Gentiana” gibi farklı bitki isimlerinin de yazıldığı görülmüştür (Tablo 1). Ayrıca bitkinin *Hypericum perforatum* olan

Latince tür isminin ambalajlarda “Hypericum porforatum, Hyperium pororatum”, yağın adının ise “Centaury Oil, Herba Centauri Centauri Oil, Gentiqnae Oil, Oleum Centauri minoris, Gentiana Oleum, Oleum Kantratune, Kantron Yağı” gibi yanlış şekillerde yazıldığı da dikkat çekmektedir.

Şu ana kadar, konuyla ilgili literatür taramalarımız sonucunda, İtalya’da yapılan bir çalışma haricinde⁷⁷, tarafımızdan kantaron yağlarının yağ asiti içerikleri ve kimyasal indeks değerleri ile ilgili yayınlanmış bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ülkemizde ticari olarak satılan aktar yapımı ve firmalarca imal edilmiş kantaron yağlarının bazı kalite özelliklerinin belirlenmesine yönelik bu ilk çalışmayı teşkil eden tez çalışmamız neticesinde, bu yağların kaliteleri arasında büyük farklılıklar bulunduğunu, özellikle firmalarca imal edilmiş kantaron yağı örnekleri ile elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda, geleneksel hazırlanma yöntemine tam olarak riayet edilmediği veya yanlış bitkinin kaynak olarak kullanıldığı, bu ürünlerin gıda veya kozmetik preparat gibi değerlendirilip hem Tarım ve Köyişleri Bakanlığı’ndan, hem de Sağlık Bakanlığı’ndan ruhsat alabildikleri saptanmıştır.

Sonuç olarak; elde ettiğimiz bulgular halk arasında tedavi amacıyla haricen ve dâhilen kullanılan kantaron yağlarının kalite kontrol özelliklerinin belirlenmesi, geleneksel usule uygun olarak hazırlanma yönteminin saptanması ve standardizasyonu ile ruhsat verilme aşamasında ilgili bakanlıklarca daha sıkı kontrol edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

6. ÖZET

Kantaron yağı, ülkemizde ve Avrupa’da geleneksel olarak *Hypericum perforatum* L. çiçeklerinin zeytinyağında asgari 15 gün bekletilmesiyle elde edilir ve yara iyi edici amaçla kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, aktarlar tarafından geleneksel usul ile hazırlanıp satılan kantaron yağları ile çeşitli firmalar tarafından üretilen ambalajlı kantaron yağı örneklerinden 23 adet temin edilmiş ve Avrupa Farmakopesi’ne göre asitlik indeksi, peroksit indeksi, iyot indeksi ve sabunlaşma indeksi ile sabunlaşmayan kısım miktarları tayin edilmiştir. Ayrıca, yağların GC-MS tekniği ile yağ asiti bileşimleri incelenmiştir. Sonuç olarak geleneksel usul ile hazırlanan kantaron yağlarının renk ve yağ asiti bileşimleri, hazır yağlara göre daha uygun bulunmuştur. Hazır yağların ruhsatlarını “kozmetik preparat” olarak Sağlık Bakanlığı’na bağlı Kozmetik Şubesi’nden veya “gıda” olarak Tarım ve Köyişleri Bakanlığı’ndan aldıkları belirlenmiştir.

Bu konuda yapılan ilk çalışma olan tez bulguları; halk arasında tedavi amacıyla kullanılan kantaron yağı preparatlarının kalite kontrol özellikleri ile geleneksel usule uygun standart bir hazırlama yönteminin belirlenmesi ve ayrıca ilgili otoritelerce ruhsat aşamasında daha dikkatli kontrol edilmesi gerektiğini göstermektedir.

7. SUMMARY

In our country and Europe, St. John's wort oil is obtained by soaking the flowers of *Hypericum perforatum* L. in olive oil for minimum 15 days and used for wound-healing purposes. In this thesis work, 23 of St. John's wort oils which are sold after preparation using the traditional method by aktars and also the ready-made oils produced by various companies have been obtained and their acidity index, peroxide index, iodine index and saponification index as well as unsaponifiable matters have been determined according to European Pharmacopeia. Besides, fatty acid compositions of the oils have been investigated using GC-MS technique. As a conclusion, colors and fatty acid compositions of the oils prepared using the traditional method have been found to be more suitable as compared to the ready-made oils. It has been also found out that the ready made oils receive their licences either as "cosmetical preparation" from the Cosmetics Branch of the Ministry of Health or as "food" from the Ministry of Agricultural and Rural Affairs.

Results of the thesis which has been the first study on this scope indicates that quality control properties as well as a standard preparation method for the St. John's wort oil used for therapy by ordinary people should be cleared and the oils should be controlled more carefully at the stage of licencing by the correspondent authorities.

8. KAYNAKLAR

1. Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları No: 578, Ankara, 1994.
2. Gürhan G, Ezer N. Halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler. Hacettepe Üniv Ecz Fak Derg 2004; 24: 37-55.
3. Hawken CM. St. John's Wort. Woodland Publishing, Pleasant Grove, Utah, 1997.
4. Rosenthal N. St. John's Wort. The herbal way to feeling good. Harper Collins Publishers, New York, 1995.
5. Pöldinger W. History of St. John's Wort. Schweiz Rundsch Med Prax 2000;89: 2102-2109.
6. Müller WE. Introduction and historical overview. In: "St. John's wort and its active principles in depression and anxiety" (Müller WE, Ed.). Birkhauser Verlag, Germany, 2005.
7. Daniel K. Johanniskraut bei psychischen Störungen. Hippocrates 1939;10: 929-932.
8. Commission E of the German Federal Public Health Department. Monograph *Hyperici Herba*, Johanniskraut, Berlin, 1984.
9. Baytop T. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1999.
10. Cingi Mİ. Sarı kantaron yağının yara iyileştirmesindeki yeri. Anadolu Tıp Derg 1991;13: 35-39.
11. Kültür Ş. Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). J Ethnopharmacol 2007;111: 341-364.
12. Watson L, Dallwitz MJ. The Families of Flowering Plants: Descriptions, illustrations, identification, and information retrieval (1992). Version: 1st June 2007. <http://delta-intkey.com> (Erişim tarihi: 05.Ocak.2008)
13. Foster S. 101 Medicinal Herbs: An Illustrated Guide. Interweave Press, Loveland Colorado, 1998.

14. Foster S, Duke JA. A Field Guide to Medicinal Plants: Eastern and Central North America. Houghton Mifflin Company, New York, 1990.
15. Davis PH, Cullen J. *Hypericaceae* In: "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" (Davis PH, Ed.), Vol.10, pp. 96-103, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1984.
16. Wichtl M. *Hypericum perforatum* L. - Das Johanniskraut. Zeitsch Phytother 1986;3: 87-90.
17. Hitchcock C, Cronquist A, Ownbey M, Thompson J. Vascular Plants of the Pacific Northwest, Volume: 3, University of Washington Press, Seattle and London, pp. 434, 1961.
18. Hitchcock C, Cronquist A. Flora of the Pacific Northwest - An Illustrated Manual, University of Washington Press, Seattle and London, p. 295, 1973.
19. Ollivier B, Balansard G, Maillard C, Vidal E. Separation and identification of phenolic acids by HPLC and UV spectral analysis – Application to parietary (*Parietaria officinalis* L.) and to Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.). J Pharm Bel 1985;40: 173-177.
20. Hostettmann K, Wolfender JL. *Phytochemistry*. In: "St. John's wort and its active principles in depression and anxiety" (Müller WE, Ed.). Birkhauser Verlag, Germany, 2005.
21. Brockmann H, Sanne W. Pseudohypericin, ein neuer *Hypericum*-Farbstoff. Naturwissenschaften 1953;40: 461-464.
22. Bystrov NS, Chernov BK, Dobrynin VN, Kolosov MN. Structure of hyperforin. Tetrahedron Lett 1975;32: 2791-2794.
23. Bystrov NS, Dobrynin VN, Kolosov MN, Chernov BK, Chervin II, Yakovlev GI. Stoichiometry of antibiotic hyperforin. Doklady Akad Nauk Sssr 1975;226: 338-341.
24. Brondz I, Greibrokk T, Groth P, Aasen AJ. The absolute configuration of hyperforin, an antibiotic from *Hypericum perforatum*

- L., based on the crystal structure determination of its para-bromobenzoate ester. Acta Chem Scan 1983;37: 263-265.
25. Beerhues L. Hyperforin. Phytochemistry 2002;67: 2201-2207.
 26. Erdelmeier CAJ, Klessing K, Renzl S, Hauer H. New hyperforin analogues from *Hypericum perforatum* and a stable dicyclohexylammonium salt of hyperforin. In: 2000 Years of Natural Products Research – Past, Present and Future, Luijendijk TJC, Verpoorte R, (Eds.), p. 432, 1999.
 27. Wu J, Cheng XF, Harrison LJ, Goh SH, Sim KY. A phloroglucinol derivative with a new carbon skeleton from *Hypericum perforatum* (Guttiferae). Tetrahedron Lett 2004;45: 9657-9659.
 28. Kaçar O, Azkan N. Bursa'da doğal florada bulunan sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) populasyonlarında farklı yüksekliklerin hiperisin oranı üzerine etkisinin belirlenmesi. Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg 2005;19: 77-89.
 29. Upton R, Graff A, Williamson E, Bunting D, Gatherum DM, Walker EB, Butterweck V, Liefänder U, Nahrstedt A, Winterhoff H, Cott J. St. John's Wort Monograph. In: American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. HerbalGram 1997;40: 1-32.
 30. Büter B, Orlacchio C, Soldati A, Berger K. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. Planta Med 1998;64: 431-437.
 31. Zobayed S, Saxena PK. Production of St. John's Wort plants under controlled environment for maximizing biomass and secondary metabolites. In vitro Cel Dev Biol Plant 2004;40: 108-114.
 32. Kitanov G. The dynamics and content of hypericins in *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum maculatum* Grantz growing in Bulgaria. Acta Pharm Zagreb 2000;50: 65-68.
 33. Çakmak HE, Bayram E. Muğla orijinli sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) populasyonlarının bazı agronomik ve kalite

- özelliklerinin belirlenmesi. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2003;40: 57-64.
34. Ceylan A, Bayram E, Arabacı O, Marquard RA, Özay N, Geren H. Ege bölgesi florası kantaron (*Hypericum perforatum* L.) populasyonlarında uygun kemotiplerin belirlenmesi ve ıslahı. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2005;42: 33-44.
 35. Piperopoulos G, Lotz R, Wixforth A, Schmierer T, Zeller KP. Determination of naphthodiantrones in plant extracts from *Hypericum perforatum* L. by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. J Chrom B 1997;695: 309-316.
 36. Brolis M, Gabetta B, Fuzzati N, Pace R, Panzeri F, Peterlongo F. Identification by high-performance liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography-uv absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. J Chrom A 1998;825: 9-16.
 37. Pietta P, Gardana C, Pietta A. Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. Il Farmaco 2001;56: 491-496.
 38. De los Reyes GC, Koda RT. Development of a simple, rapid, and reproducible HPLC assay for the simultaneous determination of hypericins and stabilized hyperforin in commercial St. John's wort preparations. J Pharm Biomed Anal 2001;26: 959-965.
 39. Li W, Fitzloff JF. High performance liquid chromatographic analysis of St. John's wort with photodiode array detection. J Chrom B 2001;765: 99-105.
 40. Bauer S, Störmer E, Graubaus HJ, Roots I. Determination of hyperforin, hypericin, and pseudohypericin in human plasma using high performance liquid chromatography analysis with fluorescence and ultraviolet detection. J Chrom B 2001;765: 29-35.
 41. Pirker R, Huck CW, Bonn GK. Simultaneous determination of hypericin and hyperforin in human plasma and serum using liquid-

- liquid extraction, high performance liquid chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chrom B 2002;777: 147-153.
42. Verotta L. *Hypericum perforatum*, a source of neuroactive lead structures. Curr Topics Med Chem 2003;3: 187-201.
 43. Rückert U, Eggenreich K, Wintersteiger R, Wurglics M, Likussar W, Michelitsch A. Development of a high-performance liquid chromatographic method with electrochemical detection for the determination of hyperforin. J Chrom A 2004;1041: 181-185.
 44. Gioti EM, Skalkos DC, Fiamegos YC, Stalikas CD. Single-drop liquid-phase microextraction for the determination of hypericin, pseudohypericin, and hyperforin in biological fluids by high performance liquid chromatography. J Chrom A 2005;1093: 1-10.
 45. Williams FB, Sanders LC, Wise SA, Girard J. Development and evaluation of methods for determination naphthodiantrones and flavonoids in St.John's wort. J Chrom A 2006;1115: 93-102.
 46. Pages G, Delaurent C, Luu RPT, Sergent M. Different chemometric approaches to optimize the assay of St. John's wort active ingredients. Chemomet Intel Lab Systems 2007;86: 159-167.
 47. Tatsis EC, Boeren S, Exarchou V, Troganis AN, Vervoort J, Gerothanassis IP. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. Phytochemistry 2007;68: 383-393.
 48. Kartnig T, Göbel I. Determination of hypericin and pseudohypericin by thin-layer chromatography-densitometry. J Chrom A 1992;609: 423-426.
 49. Urbánek M, Blechtová L, Pospíšilová M, Polášek M. On-line coupling of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis for the determination of flavonoids in methanolic extracts of *Hypericum perforatum* leaves or flowers. J Chrom A 2002;958: 261-271.

50. Jensen AG, Hansen SH. Separation of hypericins and hyperforins in extracts of *Hypericum perforatum* L. using non-aqueous capillary electrophoresis with reversed electro-osmotic flow. J Pharm Biomed Anal 2002;27: 167-176.
51. Rager I, Roos G, Schmidt PC, Kovar KA. Rapid quantification of constituents in St. John's wort extracts by NIR spectroscopy. J Pharm Biomed Anal 2002;28: 439-446.
52. Seger C, Römpp H, Sturm S, Haslinger E, Schmidt PC, Hadacek F. Characterization of supercritical fluid extracts of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) by HPLC–MS and GC–MS. Eur J Pharm Sci 2004;21: 453-463.
53. Çırak C, Radusiene J, Karabük B, Janulis V. Variation of bioactive substances and morphological traits in *Hypericum perforatum* populations from northern Turkey. Biochem System Ecol 2007;35: 403-409.
54. Verma V, Smelcerovic A, Zuehlke S, Hussain MA, Ahmad SM, Ziebach T, Qazi GN, Spiteller M. Phenolic constituents and genetic profile of *Hypericum perforatum* L. from India. Biochem System Ecol 2008 (baskıda).
55. Bagdonaite E, Janulis V, Ivanauskas L, Labokas J. *Ex situ* studies on chemical and morphological variability of *Hypericum perforatum* L. in Lithuania. Biologija 2007;53: 63-70.
56. Simmen AW, Heilmann J, Çalış İ, Meier B, Sticher O. Bisanthroquinone glycosides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-1 receptors. Phytochemistry 2000;55: 941-947.
57. Martonfi P, Repcak M, Ciccarelli D, Garbari F. *Hypericum perforatum* L. – chemotype without rutin from Italy. Biochem System Ecol 2001;29: 659-661.
58. Dias AC, Barberan FAT, Ferreira MF, Ferreres F. Unusual flavonoids produced by callus of *Hypericum perforatum*. Phytochemistry 1998;48: 1165-1168.

59. Fiamegos YC, Nanos CG, Vervoort J, Stalikas CD. Analytical procedure for the in-vial derivatization-extraction of phenolic acids and flavonoids in methanolic and aqueous plant extracts followed by gas chromatography with mass-selective detection. *J Chrom A* 2004;1041: 11-18.
60. Biesaga M, Stafiej A, Pyrzynska K. Extraction and hydrolysis parameters for determination of quercetin in *Hypericum perforatum*. *Chromatographia* 2007;65: 701-706.
61. Avato P. A Survey on the *Hypericum* Genus. In: *Studies on Natural Products Chemistry* (Atta-ur-Rahman, Ed.), Elsevier, London, 2005.
62. Bombardelli E, Morazzoni P. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia* 1995;56: 43-68.
63. Mathis C, Ourisson G. Etude chimio-taxonomique du genre *Hypericum* II. Identification de constituants de diverses huiles essentielles d'*Hypericum*. *Phytochemistry* 1964;3: 115-131.
64. Schwob I, Bessiere JM, Viano J. Composition of the essential oil of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. *C R Biologies* 2002;325: 781-785.
65. Chialva F, Gabri G, Liddle PAP, Ulian F. Study on the composition of the essential oil from *Hypericum perforatum* L. and *Teucrium chamaedrys* L. *Riv Ital EPPOS (CA 96)* 1981;63: 286–288.
66. Weyerstahl P, Splittgerber U, Marschall H, Kaul VK. Constituents of the leaf essential oil of *Hypericum perforatum* L. from India. *Flav Fragr J* 1995;10: 365–370.
67. Çakır A, Duru ME, Harmandar M, Ciriminna R, Passannati S, Piozzi F. Comparison of the volatile oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* in Turkey. *Flav Fragr J* 1997;12: 285–287.
68. Radusiene J, Judzentiene A, Bernotiene G. Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania. *Biochem System Ecol* 2005;33: 113-124.

69. Petrakis PV, Couladis M, Roussis V. A method for detecting the biosystematic significance of the essential oil composition: The case of five Hellenic *Hypericum* L. species. *Biochem System Ecol* 2005;33: 873-898.
70. Saroglou V, Marin PD, Rancic A, Veljic M, Skaltsa H. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. *Biochem System Ecol* 2007;35: 146-152.
71. Gudzic B, Nedeljkovic JM, Dordevic S, Comor JJ. Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Hyperici herb (Hypericum perforatum* L.) from Vlasina region. *Univ. Niš-Sci J Facta Univ* 1997;4: 47-51.
72. Gudzic B, Dordevic S, Palic R, Stojanovic G. Essential oils of *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum perforatum* L. *Flav Frag J* 2001;16: 201-203.
73. Mills S, Bone K. *Principles and Practices of Phytotherapy*, Churchill Livingstone, London, 2000.
74. Çubukçu B, Meriçli AH, Mat A, Sarıyar G, Sütülpınar N, Meriçli F. *Fitoterapi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 4311, Eczacılık Fakültesi Yayınları No:79, İstanbul, 2002.
75. Brondz I, Greibrokk T. N-1-alcanols of *Hypericum perforatum*. *J Nat Prod* 1983;46: 940-941.
76. Stojanovic G, Palic R, Tarr CH, Reddy CM, Marinkovic O. *n*-Alkanes and fatty acids of *Hypericum perforatum*, *Hypericum maculatum* and *Hypericum olympicum*. *Biochem System Ecol* 2003;31: 223-226.
77. Isaachi B, Bergonzi MC, Carnevali F, van der Esch SA, Vincieri FF, Bilia AR. Analysis and stability of the constituents of St.John's wort oils prepared with different methods. *J Pharm Biomed Anal* 2007;45: 756-761.
78. Di Carlo G, Bornelli F, Ernst E, Izzo AA. St. John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22: 292-297.

79. Butterweck V, Wall A, Lieflander-Wulf U, Winterhoff H, Nahrstedt A. Effects of the total extract and fractions of *Hypericum perforatum* in animal assays for antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry* 1997;30(Suppl. 2): 117–124.
80. Öztürk Y. Testing the antidepressant effects of *Hypericum* species on animal models. *Pharmacopsychiatry* 1997;30(Suppl. 2): 125–128.
81. Chatterjee SS, Bhattacharya SK, Wonnemann M, Singer A, Müller WE. Hyperforin as a possible antidepressant component of *Hypericum* extracts. *Life Sci* 1998;63: 499–510.
82. Gambarana C, Ghiglieri O, Tolu P, De Montis MG, Giachetti D, Bombardelli E, Tagliamonte A. Efficacy of an *Hypericum perforatum* (St. John's wort) extract in preventing and reverting a condition of escape deficit in rats. *Neuropsychopharmacology* 1999;21: 247–257.
83. Gobbi M, Dalla Valle F, Ciapparelli C, Diomedea L, Morazzoni P, Verotta L, Caccia S, Cervo L, Mennini T. *Hypericum perforatum* L. extract does not inhibit 5-HT transporter in rat brain cortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1999;360: 262–269.
84. Panocka I, Perfumi M, Angeletti S, Ciccocioppo R, Massi M. Effects of *Hypericum perforatum* extract on ethanol intake, and on behavioral despair: a search for the neurochemical systems involved. *Pharmacol Biochem Behavior* 2000;66: 105–111.
85. Gobbi M, Mennini T. Is St John's wort a 'Prozac-like' herbal antidepressant? *Trends Pharmacol Sci* 2001;22: 557–559.
86. Butterweck V, Petereit F, Winterhoff H, Nahrstedt A. Solubilized hypericin and pseudohypericin from *Hypericum perforatum* exert antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med* 1998;64: 291–294.

87. Raffa RB. Screen of receptor and uptake-site activity of hypericin component of St. John's wort reveals sigma receptor binding. *Life Sci* 1998;62: PL265–PL270.
88. Simmen U, Higelin J, Berger-Buter K, Schaffner W, Lundstrom K. Neurochemical studies with St. John's wort *in vitro*. *Pharmacopsychiatry* 2001;34(Suppl. 1): S137–S142.
89. Butterweck V, Nahrstedt A, Evans J, Hufesien, S, Rauser L, Savage J, Popadak B., Ernsberger P, Roth BL. *In vitro* receptor screening of pure constituents of St. John's wort reveals novel interactions with a number of GPCRs. *Psychopharmacology* 2002;162: 193–202.
90. Stock S, Holzl J. Pharmacokinetic tests of [14C]-labeled hypericin and pseudohypericin from *Hypericum perforatum* and serum kinetics of hypericin in man. *Planta Med* 1991;57(Suppl. 2): A61.
91. Staffeldt B, Kerb R, Brockmoller J, Ploch M, Roots I. Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of the *Hypericum perforatum* extract LI 160 in healthy volunteers. *J Geriatric Psych Neurol* 1994;7(Suppl. 1): S47–S53.
92. Brockmoller J, Reum T, Bauer S, Kerb R, Hubner WD, Roots I. Hypericin and pseudohypericin: pharmacokinetics and effects on photosensitivity in humans. *Pharmacopsychiatry* 1997;30(Suppl. 2): 94–101.
93. Laakmann G, Schule C, Baghai T, Kieser M. St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiatry* 1998;31(Suppl. 1): 54–59.
94. Gambarana C, Tolu PL, Masi F, Rinaldi M, Giachetti D, Morazzoni P, De Montis MG: A study of the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* on animal models. *Pharmacopsychiatry* 2001;34(Suppl. 1): S42–S44.

95. Cervo L, Rozio M, Ekalle-Soppo CB, Guiso G, Morazzoni P, Caccia S. Role of hyperforin in the antidepressantlike activity of *Hypericum perforatum* extracts. *Psychopharmacology* 2002;164: 423–428.
96. Treiber K, Müller WA. Effects on transmitter uptake and their cellular and molecular basis. In: St. John's Wort and Its Active Principles in Depression and Anxiety (Müller WE, Ed.), Birkhauser Verlag, Switzerland, 2005.
97. Suzuki O., Katsumata Y, Oya M, BLADT, S., WAGNER, H.: Inhibition of monoamine oxidase by hypericin. *Planta Med* 1984;50: 272–274.
98. Demisch L, Hölzl J, Gollnik B, Kaczmarczyk P. Identification of selective MAO-Type A inhibitors in *Hypericum perforatum* L. (Hyperforat). *Pharmacopsychiatry* 1989;22: 194-199.
99. Bladt S, Wagner H. Inhibition of MAO by fractions and constituents of *Hypericum* extract. *J Geriatric Psych Neurol* 1994;7(Suppl. 1): S57–S59.
100. Thiede HM, Walper A. Inhibition of MAO and COMT by *Hypericum* extracts and hypericin. *J Geriatric Psych Neurol* 1994;7(Suppl. 1): S54–S56.
101. Cott JM. *In vitro* receptor binding and enzyme inhibition by *Hypericum perforatum* extract. *Pharmacopsychiatry* 1997;30: 108-112.
102. Müller WE, Rolli M, Schafer C, Hafner U. Effect of *Hypericum* extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry* 1997;30: 102-107.
103. Müller WE, Singer A, Wonneman M, Hafner U, Rolli M, Schafer C. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of *Hypericum* extract. *Pharmacopsychiatry* 1998;31(Suppl. 1): 16–21.
104. Roz N, Mazur Y, Hirshfeld A, Rehavi M. Inhibition of vesicular uptake of monoamines by hyperforin. *Life Sci* 2002;71: 2227–2237.

105. Roz N, Rehavi M. Hyperforin inhibits vesicular uptake of monoamines by dissipating pH gradient across synaptic vesicle membrane. *Life Sci* 2003;73: 461–470.
106. Menini T, Gobbi M. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. *Life Sci* 2004;75: 1021-1027.
107. Neary JT, Whittemore SR, Bu Y, Mehta H, Shi YF. Biochemical mechanisms of action *Hypericum* LI 160 in glial and neuronal cells: inhibition of neurotransmitter uptake and stimulation of extracellular signal regulated protein kinase. *Pharmacopsychiatry* 2001;34: S103-107.
108. Serdarevic N, Eckert GP, Müller WE. The Effects of extracts from St. John's wort and kava kava on brain neurotransmitter levels in the Mouse. *Pharmacopsychiatry* 2001;34: 134-136.
109. Rommelspacher H, Siemanowitz B, Mannel M. Acute and chronic actions of a dry methanolic extract of *Hypericum perforatum* and a hyperforin-rich extract on dopaminergic and serotonergic neurones in rat nucleus accumbens. *Pharmacopsychiatry* 2000;34: 119-126.
110. Phillipu A. *In vivo* neurotransmitter release in the locus coeruleus-effects of hyperforin, inescapable shock and fear. *Pharmacopsychiatry* 2001;34: S111-115.
111. Calapai G, Crupi A, Firenzuali F, Inferrera G, Squadrito F, Parisi A. Serotonin, norepinephrine and dopamine involvement in the antidepressant action of *Hypericum perforatum*. *Pharmacopsychiatry* 2001;34: 45-49.
112. Chen F, Rezvani AH, Lawrence AJ. Autoradiographic quantification of neurochemical markers of serotonin, dopamine and opioid systems in rat brain mesolimbic regions following chronic St. John's wort treatment. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2003;367: 126-133.

113. Rolli M, Schafer C, Müller WE. Effect of *Hypericum* extract on neurotransmitter receptor binding and synaptosomal uptake systems. *Pharmacopsychiatry* 1995;28: 207-210.
114. Müller WE, Schafer C. Johanniskraut. *In vitro*-Studie über *Hypericum* extrakt, hypericin und kamperol als antidepressiva. *Dtsch Apoth Ztg* 1996;136: 1015-1022.
115. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Costantino G, Infrerra G, Campo GM, Caputi AP. Effects of *Hypericum perforatum* on levels of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and dopamine in the cortex, diencephalon and brainstem of the rat. *J Pharmacy Pharmacol* 1999;51: 723–728.
116. Yu PH. Effect of the *Hypericum perforatum* extract on serotonin turnover in the mouse brain. *Pharmacopsychiatry* 2000;33: 60–65.
117. Teufel-Mayer R, Gleitz J. Effects of long-term administration of *Hypericum* extracts on the affinity and density of the central serotonergic 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors. *Pharmacopsychiatry* 1997;30: 113–116.
118. Contreras CM, Marván ML, Alcalá-Herrera V. Sleep deprivation is a less potent agent than clomipramine in increasing firing rate in lateral septal neurons in the rat. *Neuropsychobiology* 1993;27: 83–85.
119. Detke MJ, Johnson J, Lucki I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharm* 1997;5: 107–112.
120. Harrer G, Hubner WD, Podzuweit H. Effectiveness and tolerance of the *Hypericum* extract LI 160 compared to maprotiline: a multicenter double-blind study. *J Geriatr Psychiat Neurol* 1994;7: S24–S28.
121. Vorbach EU, Arnoldt KH, Hübner WD. Efficacy and tolerability of St. John's wort extract LI 160 *versus* imipramine in patients with severe depressive episodes according to ICD-10. *Pharmacopsychiatry* 1997;30: 81–85.

122. Brenner R, Azbel V, Madhusoodaman S, Pawlowska M. Comparison of an extract of *Hypericum* (LI 160) and sertraline in the treatment of depression: a double-blind, randomized pilot study. Clin Ther 2000;22: 411–419.
123. Schrader E. Equivalence of St. John's wort extract (Ze 117) and fluoxetine: a randomized, controlled study in mild-moderate depression. Int Clin Psychopharmacol 2000;15: 61–68.
124. Volz HP, Laux P. Potential treatment for subthreshold and mild depression: a comparison of St. John's wort extracts and fluoxetine. Compr Psychiat 2000;41: 133–137.
125. Laakmann G, Dienel A, Kieser M. Clinical significance of hyperforin for the efficacy of *Hypericum* extracts on depressive disorders of different severities. Phytomed 1998;5: 435–442.
126. Witte B, Harrer G, Kaptan H, Podzuwit H, Schmidt U. Behandlung depressiver Verstimmungen mit einem hockkonzentrierten *Hypericum*präparat. Fortschr Med 1996;113: 404-408.
127. Woelk H. Comparison of St. John's wort and imipramine for treating depression: randomized controlled trial. Brit Med J 2000;321: 536–539.
128. van Gurp G, Meterissian GB, Haiek LN. St. John's wort or sertraline? Randomized controlled trial in primary care. Can Fam Physician 2002;48: 905-912.
129. Linde K, Ramirez G, Mulrow CD, Pauls A, Weidenhammer W, Melchart D. St. John's wort for depression: an overview and meta-analysis of randomized clinical trials. Brit Med J 1996;313: 253–258.
130. Lenoir S, Degenring FH, Saller R. A double-blind randomized trial to investigate three different concentrations of a standardized fresh plant extract obtained from the shoot tips of *Hypericum perforatum* L. Phytomed 1999;6: 141–146.

131. Shelton RC, Keller MB, Gelemberg A, Dunner D, Hirschfeld R, Thase ME, Russell J, Lydiard RB, Crits-Cristoph P, Gallop R, Todd L, Hellerstein D, Goodnick P, Keitner G, Stahl S, Halbreich U. Effectiveness of St. John's wort in major depression: A randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285: 1978–1986.
132. Lecrubier Y, Clerc G, Didi R, Kieser M. Efficacy of St. John's wort extract WS 5570 in major depression: a double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Psychiat* 2002;159: 1361–1366.
133. Franklin M, Chi J, McGavin C, Hockney R, Reed A, Campling G, Whale RW, Cowen PJ. Neuroendocrine evidence for dopaminergic actions of *Hypericum* extract (LI 160) in healthy volunteers. *Biol Psychiat* 1999;46: 581–584.
134. Di Matteo V, Di Giovanni G, Di Mascio M, Esposito E. Effect of acute administration of *Hypericum perforatum*-CO₂ extract on dopamine and serotonin release in the rat central nervous system. *Pharmacopsychiatry* 2000;33: 14–18.
135. Szegedi A, Kohnen R, Dienel A, Kieser M. Acute treatment of moderate to severe depression with *Hypericum* extract WS 5570 (st. John's wort): randomised controlled double blind non-inferiority trial *versus* paroxetine. *BMJ* online first paper, doi:10.1136/bmj.38356.655266.82.
136. Stevinson C, Ernst E. *Hypericum* for depression. An update of the clinical evidence. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999;9: 501-505.
137. Cass H. St. John's wort as an herbal treatment for depression general considerations for the use of herbs in mental health. *Sem Integr Med* 2003;1: 191-198.
138. Rodriguez-Landa JF, Contreras CM. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomed* 2003;10: 688-699.

139. Schulz V. Clinical trials with *Hypericum* extracts in patients with depression: results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. *Phytomed* 2002;9: 468–474.
140. Hunt EJ, Lester CE, Lester EA, Tackett RL. Effect of St.John's wort on free radical production. *Life Sci* 2001;69: 181-190.
141. Ivanova D, Gerova D, Cervenkov T, Yankova T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2005;96: 145-150.
142. El-Sherbiny DA, Khalifa AE, Attia AS, Eldenshary EEDS. *Hypericum perforatum* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacol Biochem Behavior* 2003;76: 525-533.
143. Herold A, Cremer L, Calugaru A, Tamas V, Ionescu F, Manea S, Szegeli G. Antioxidant properties of some hydroalcoholic plant extracts with anti-inflammatory activity. *Rom Arch Microbiol Immunol* 2003;62: 217-227.
144. Zhou Y, Li Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *J Agric Food Chem* 2004;52: 5032-5039.
145. Luo L, Sun Q, Mao YY, Lu YH, Tan RX. Inhibitory effects of flavonoids from *Hypericum perforatum* on nitric oxide synthase. *J Ethnopharmacol* 2004;93: 221-225.
146. Silva BA, Ferreres F, Malva JO, Dias ACP. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chem* 2005;90: 157-167.
147. Radulovic N, Stankov-Jovanovic V, Stojanovic G, Smelcerovic A, Spiteller M, Asakawa Y. Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chem* 2007;103: 15-21.

148. Tang J, Colacino JM, Larsen SH, Spitzer W. Virucidal activity of hypericin against enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses. *Antiviral Res* 1990;13: 313-325.
149. Kraus GA, Pratt D, Tossberg J, Carpenter S. Antiretroviral activity of synthetic hypericin and related analogs. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;172: 149-153.
150. Hudson JB, Lopez-Bazzocchi I, Towers GHN. Antiviral activities of hypericin. *Antiviral Res* 1991;15: 101-112.
151. Hudson JB, Harris L, Towers GHN. The importance of light in the anti-HIV effect of hypericin. *Antiviral Res* 1993;20: 173-178.
152. Moraleda G, Wu TT, Jilbert AR, Aldrich CE, Condeary LD, Larsen SH, Tang JC, Colacino JM, Mason WS. Inhibition of duck hepatitis B virus replication by hypericin. *Antiviral Res* 1993;20: 235-247.
153. Fehr MJ, Carpenter SL, Petrich JW. The role of oxygen in the photoinduced antiviral activity of hypericin. *Bioorg Med Chem Lett* 1994;4: 1339-1344.
154. Axarlis S, Mentis A, Demetzos C, Mitaku S, Skaltsounis AL, Marselos M, Malamas M. Antiviral *in vitro* activity of *Hypericum perforatum* L. extract on the human cytomegalovirus (HCMV). *Phytother Res* 1998;12: 507-511.
155. Schmitt AC, Ravazzolo AP, von Poser GL. Investigation of some *Hypericum* species native to southern Brazil for antiviral activity. *J Ethnopharmacol* 2001;77: 239-245.
156. Oblozinsky M, Bezakova L, Holkova I, Vanko M, Kartnig T, Psenak M. Antilipoxygenase activity of compounds from *Hypericum perforatum*. *Biologia* 2006;61: 331-332.
157. Albert D, Zündorf I, Dingermann T, Müller WE, Steinhilber D, Werz O. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochem Pharm* 2002;64: 1767-1775.
158. Savikin K, Dobrić S, Tadić V, Zdunić G. Antiinflammatory activity of ethanol extracts of *Hypericum perforatum* L., *H. barbatum* Jacq., *H.*

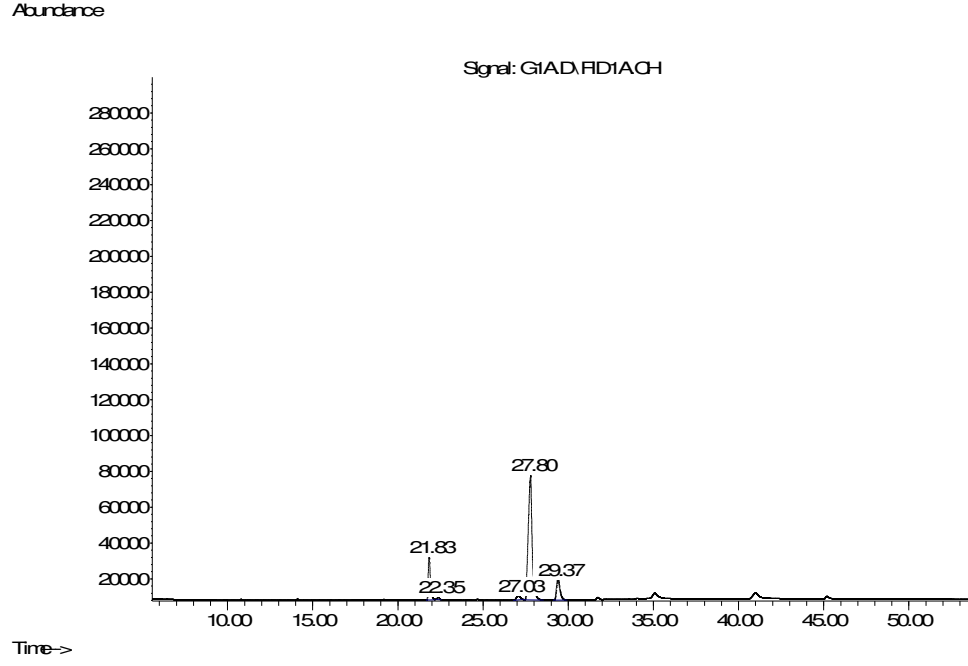
- hirsutum* L., *H. richeri* Vill. and *H. androsaemum* L. in rats. *Phytother Res* 2006;21: 176-180.
159. Menegazzi M, Di Paola R, Mazzon E, Muia C, Genovese T, Crisafulli C, Suzuki H, Cuzzocrea S. *Hypericum perforatum* attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Free Rad Biol Med* 2006;40: 740-753.
 160. Voss A, Verweij PE. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's wort. *The Lancet* 1999;354: 777.
 161. Schempp CM, Pelz K, Wittmer A, Schöpf E, Simon JC. Antibacterial activity of hyperforin from St. John's wort against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *The Lancet* 1999;353: 2129.
 162. Elgin-Meral G, Karabay NÜ. *In vitro* antibacterial activities of three *Hypericum* species from west Anatolia. *Turk Elect J Biotechnol* 2002;Special issue: 6-10.
 163. Dall'agnol R, Ferraz A, Bernardi A, Albring D, Nör C, Sarmento L, Lamb L, Mass M, von Poser G, Schapoval EES. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomed* 2003;10: 511-516.
 164. Males Z, Brantner AH, Sovic K, Pilepic KH, Plazibat M. Comparative phytochemical and antimicrobial investigations of *Hypericum perforatum* L. subsp. *perforatum* and *H. perforatum* subsp. *angustifolium* (DC.) Gaudin. *Acta Pharm* 2006;56: 359-367.
 165. Milosevic T, Solujic S, Sukdolak S. *In vitro* study of ethanolic extract of *Hypericum perforatum* L. on growth and sporulation of some bacteria and fungi. *Turk J Biol* 2007;31: 237-241.
 166. Shiono Y, Shiono N, Seo S, Oka S, Yamazaki Y. Effects of polyphenolic anthrone derivatives, resistomycin and hypericin, on apoptosis in human megakaryoblastic leukemia CMK-7 cell line. *Z Naturforsch* 2002;57c: 923-929.
 167. Stavropoulos NE, Kim A, Nseyo UU, Tsimaris I, Chung TD, Miller TA, Redlak M, Nseyo UO, Skalkos D. *Hypericum perforatum* L.

- extract – Novel photosensitizer against human bladder cancer cells. J Photochem Photobiol B: Biol 2006;84: 64-69.
168. Hosseinzadeh H, Karimi GR, Rakhshanizadeh M. Anticonvulsant effect of *Hypericum perforatum*: role of nitric oxide. J Ethnopharmacol 2005;98: 207-208.
169. Kiewert C, Buchholzer ML, Hartmann J, Chattarjee SS, Klein J. Stimulation of hippocampal acetylcholine release by hyperforin, a constituent of St. John's wort. Neurosci Lett 2004;364: 195-198.
170. Khalifa AM. *Hypericum perforatum* as a nootropic drug: enhancement of retrieval memory of a passive avoidance conditioning paradigm in mice. J Ethnopharmacol 2001;76: 49-57.
171. Yeşilada E, Gürbüz İ, Shibata H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. J Ethnopharmacol 1999;66: 289-293.
172. Van Den Bogaerde AL, Kamuhabwa A, Delaey E, Himpens BE, Merleveck WI, de Witte PA. Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. J Photochem Photobiol B: Biol 1998;45: 87-94.
173. Öztürk N, Korkmaz S, Öztürk Y. Wound-healing activity of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. J Ethnopharmacol 2007;111: 133-139.
174. Peşin İ: "*Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum scabrum* L. bitkilerinin yara iyileştirici ve antienflamatuvar aktiviteleri üzerinde çalışmalar" (Yüksek Lisans Tezi, Danışman: Prof.Dr. Turhan Baykal, Yard. Danışman: Yrd. Doç.Dr. Esra Akkol), Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.
175. Zou L, Harkey MR, Henderson GL. Effects of herbal components on cDNA-expressed cytochrome P450 enzyme catalytic activity. Life Sci 2002;71: 1579-1589.

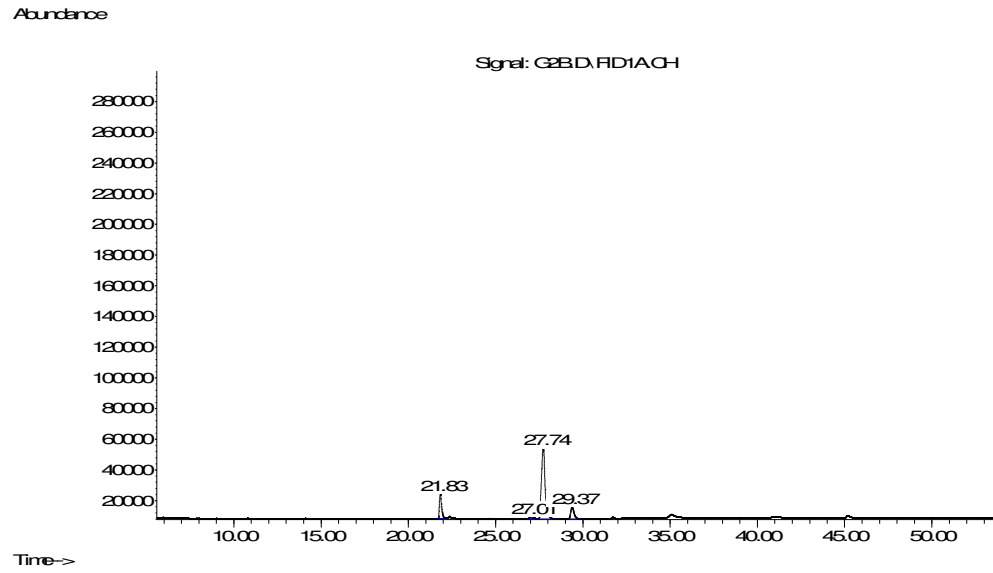
176. Strandell J, Nell A, Carlin G. An approach to the *in vitro* evaluation of potential for cytochrome P450 enzyme inhibition from herbals and natural remedies. *Phytomed* 2004;11: 98-104.
177. European Pharmacopeia, Council of Europe, 4th Edition, Strausbourg, 2000.
178. Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron trifluoride-methanol. *J Lipid Res* 1964;5: 600-608.

EKLER

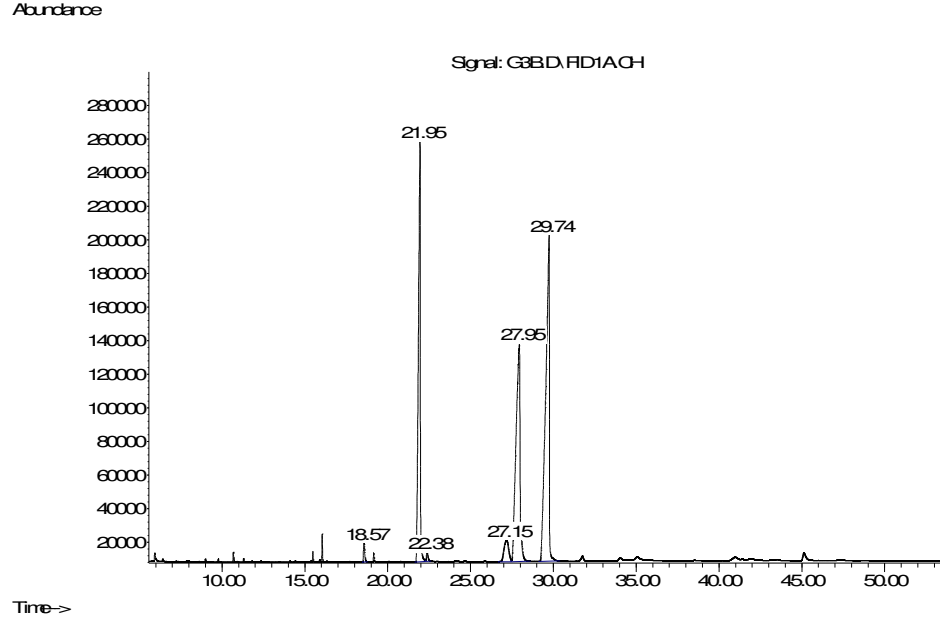
9. EKLER



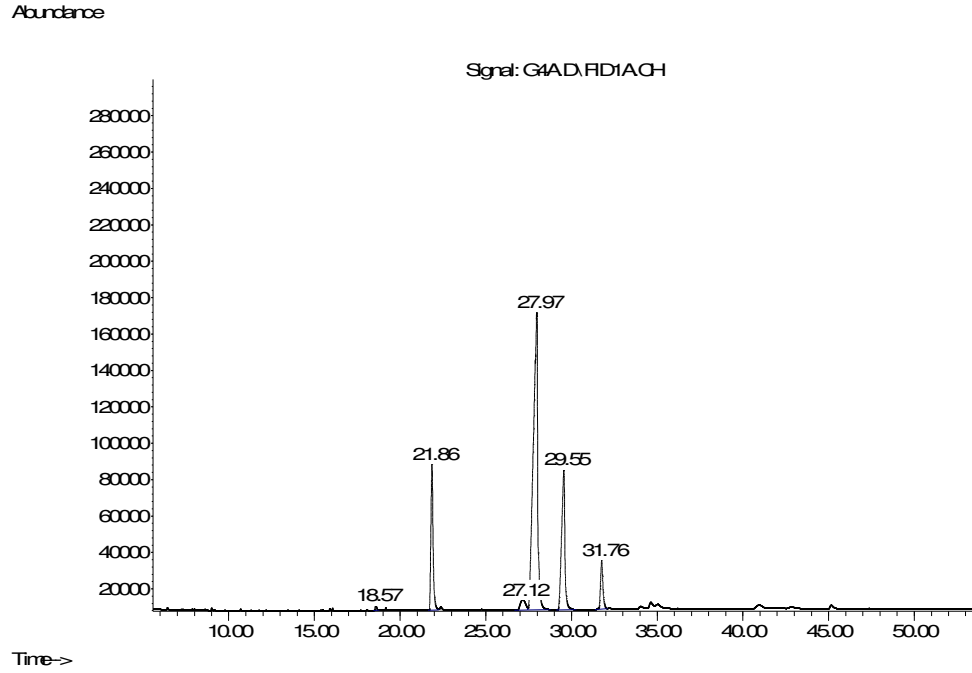
1 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



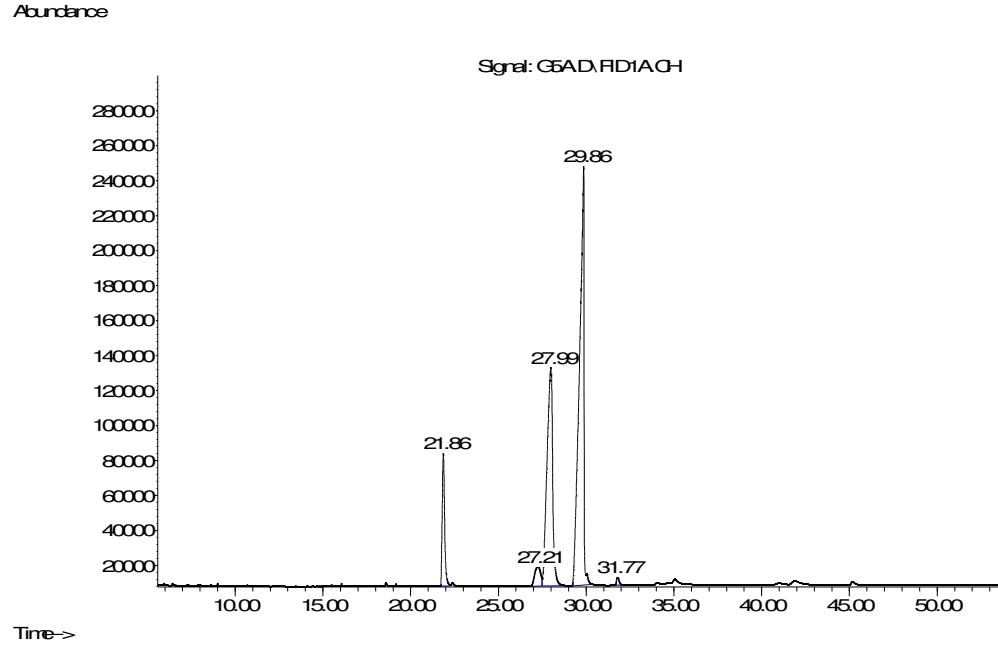
2 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



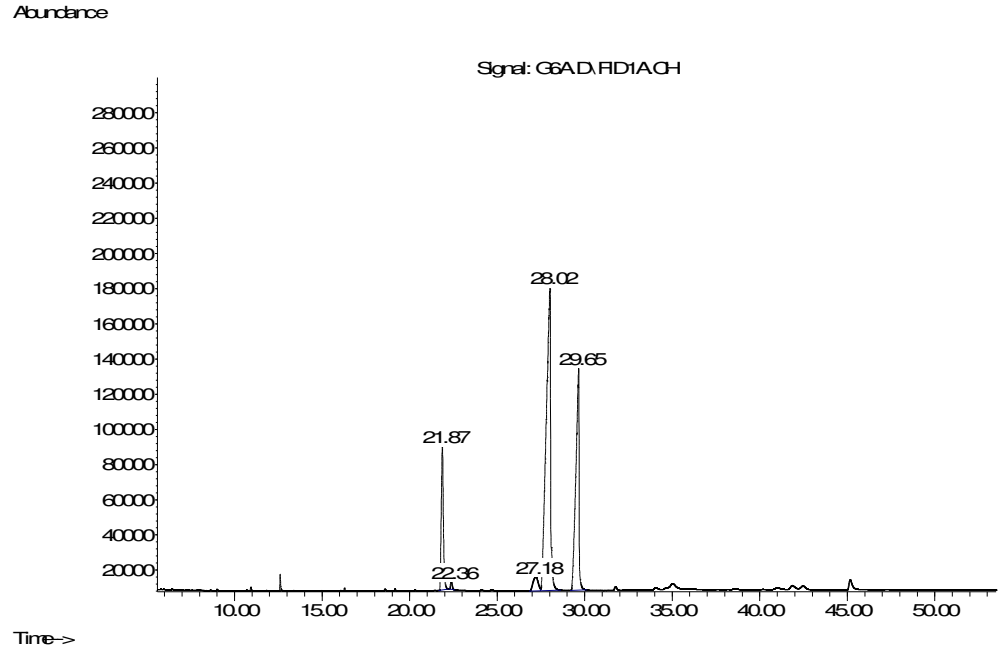
3 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



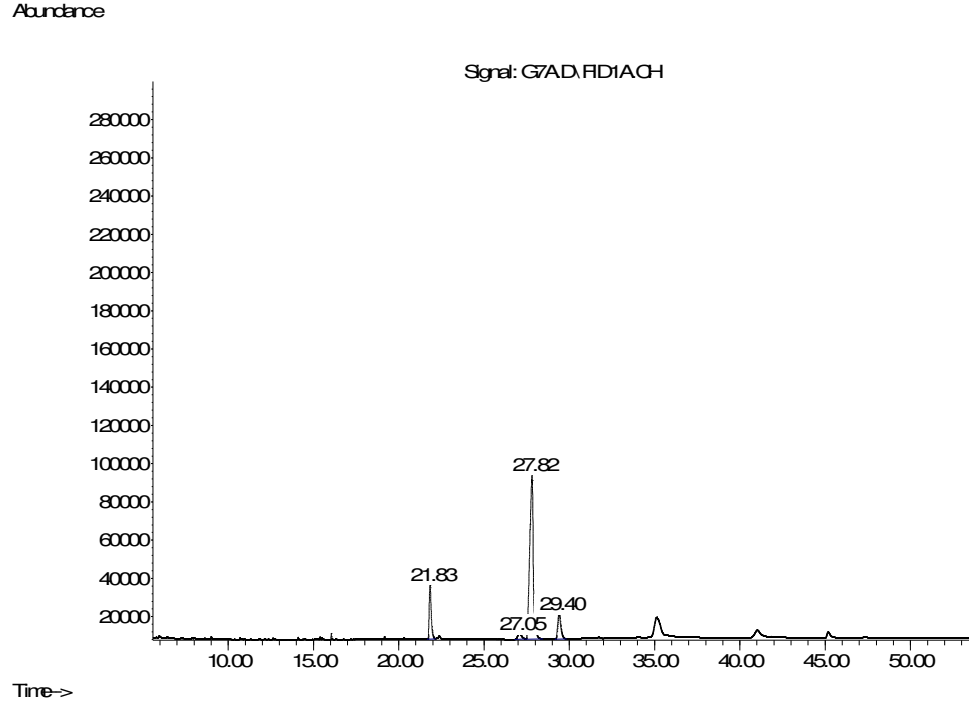
4 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



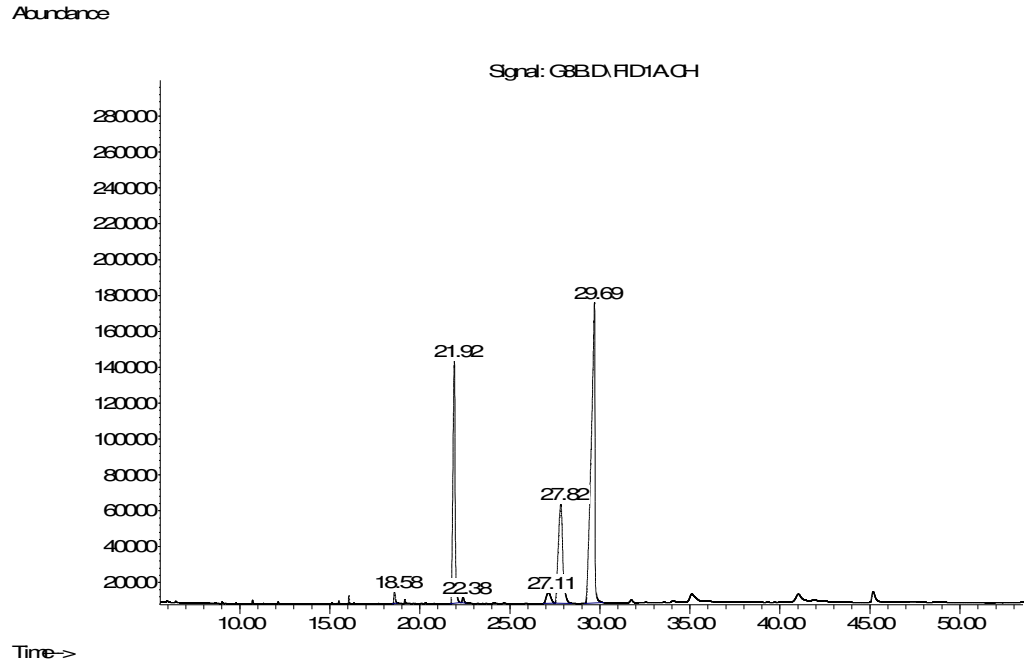
5 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



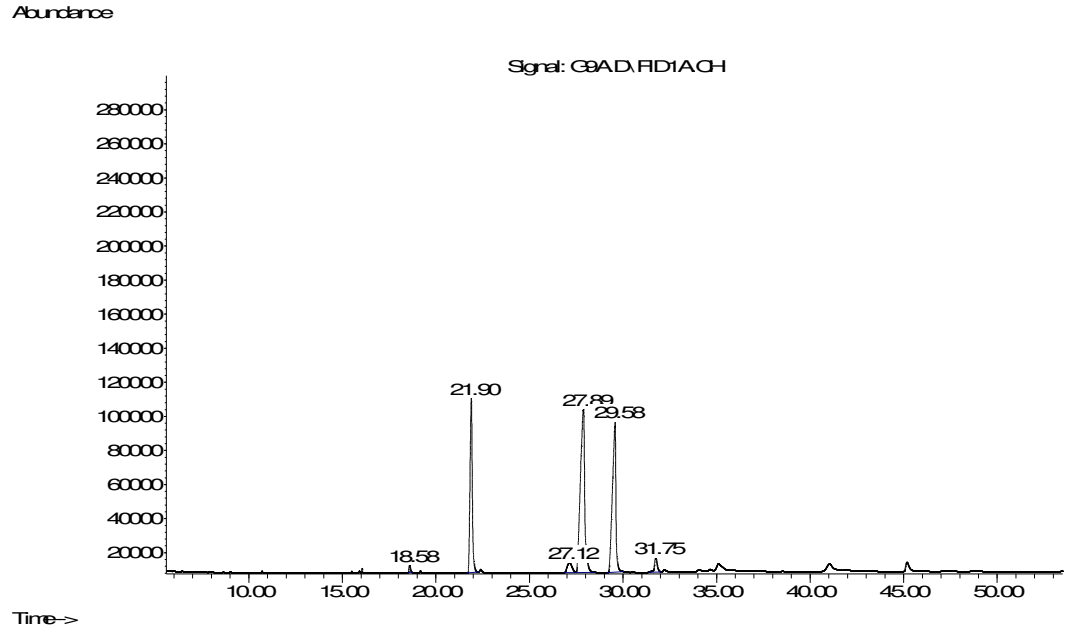
6 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



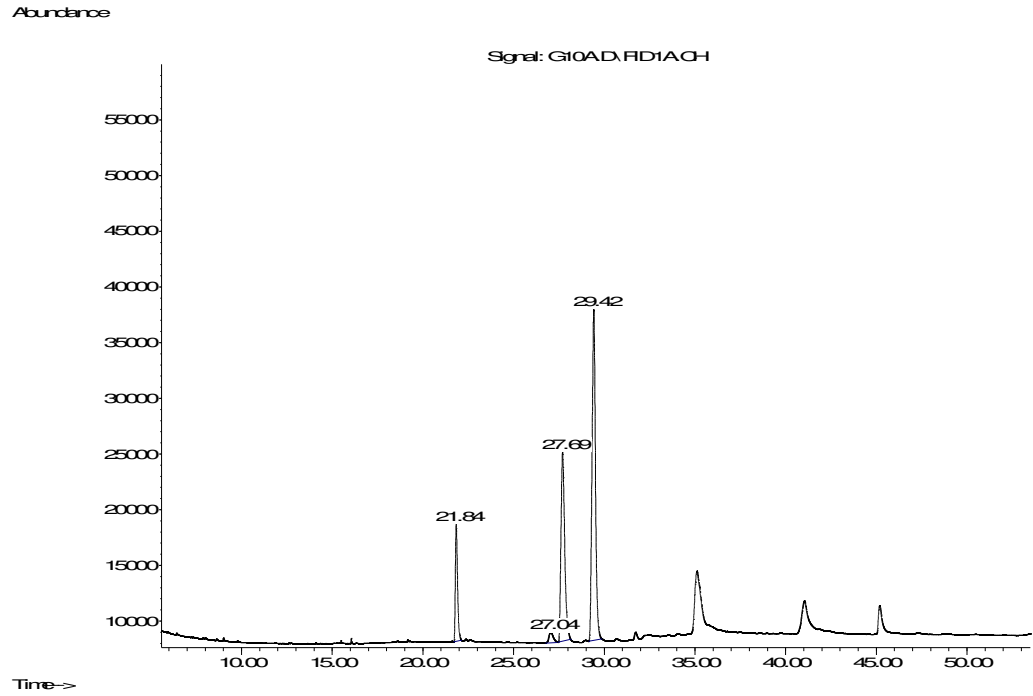
7 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



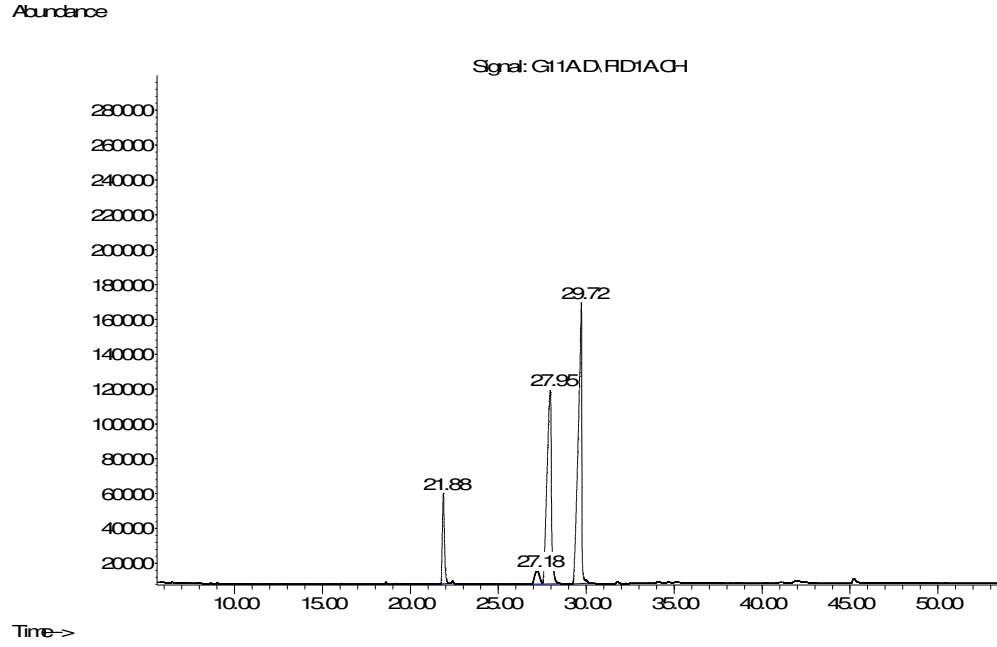
8 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



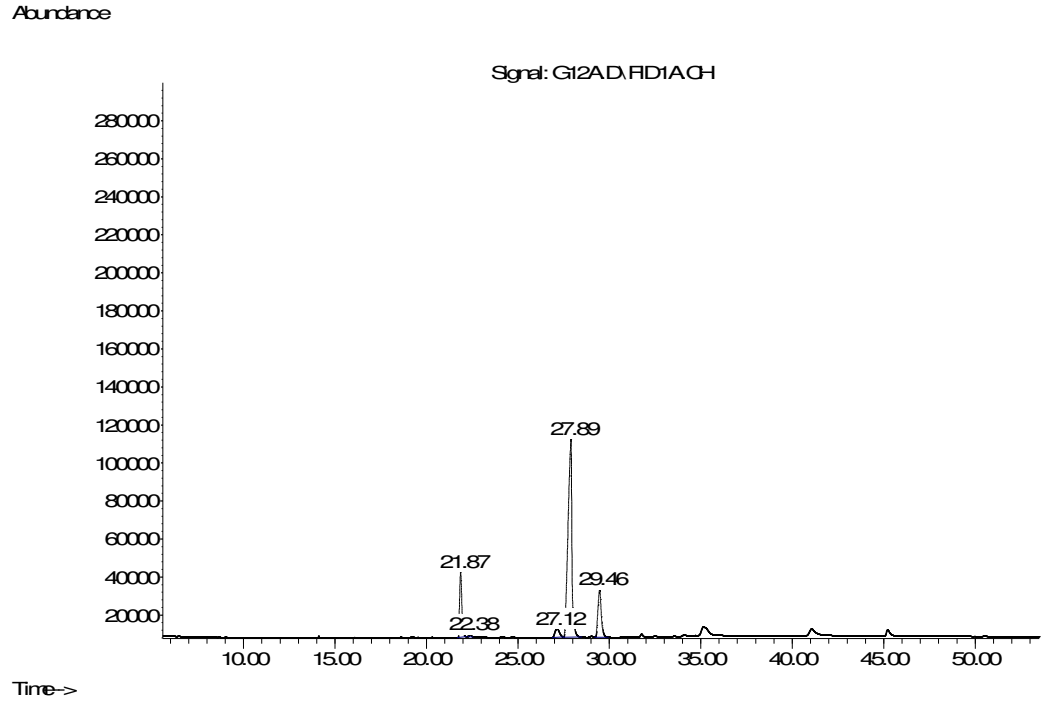
9 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



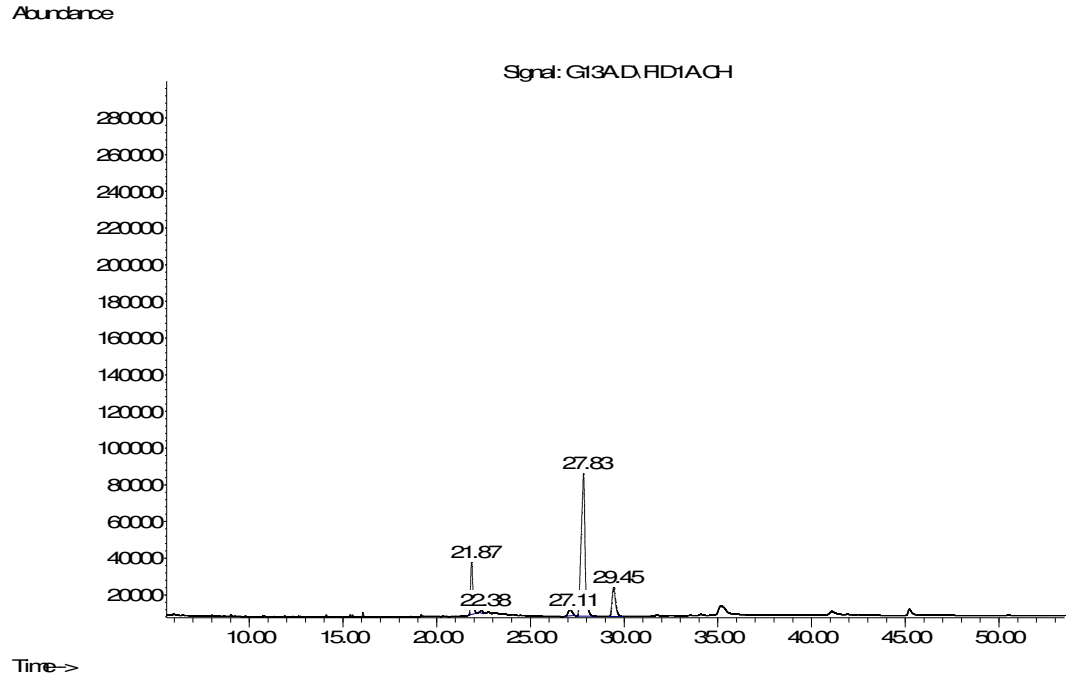
10 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



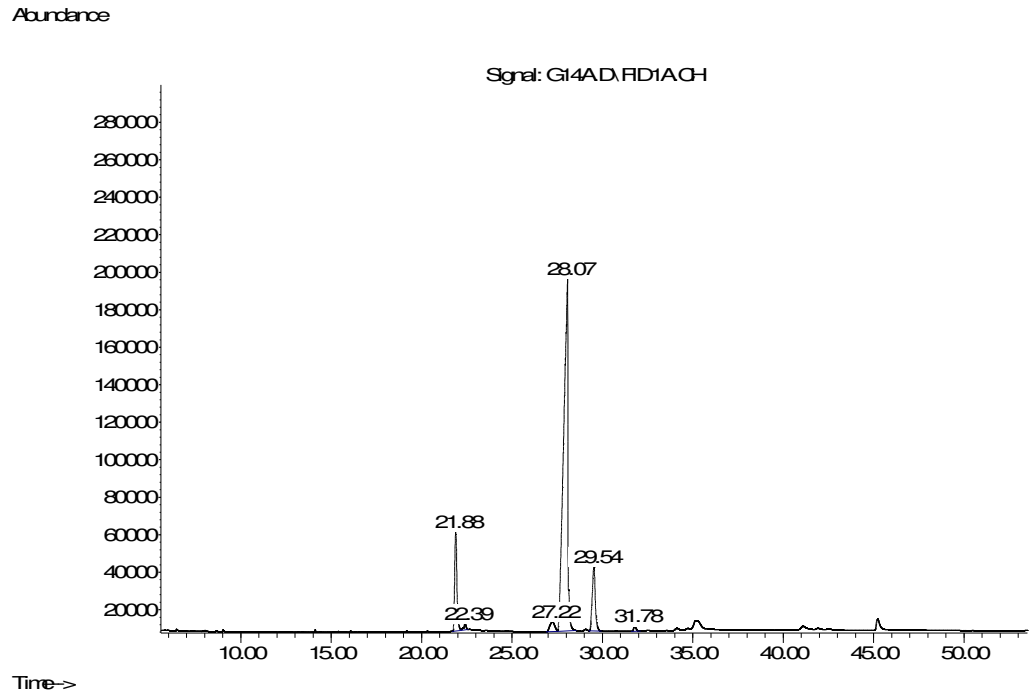
11 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



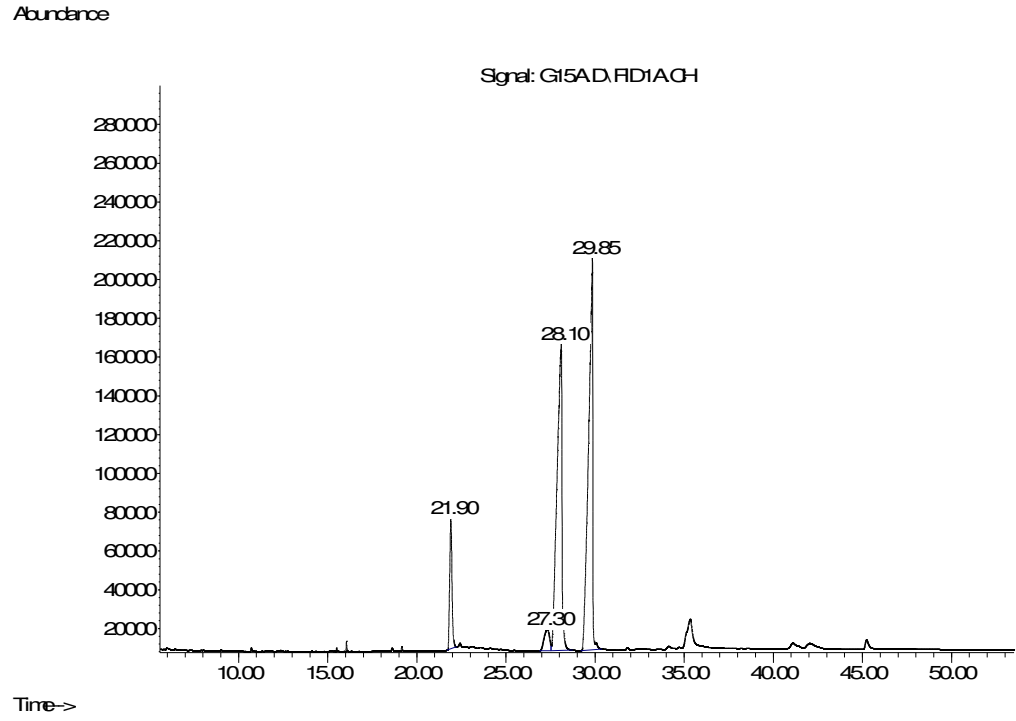
12 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



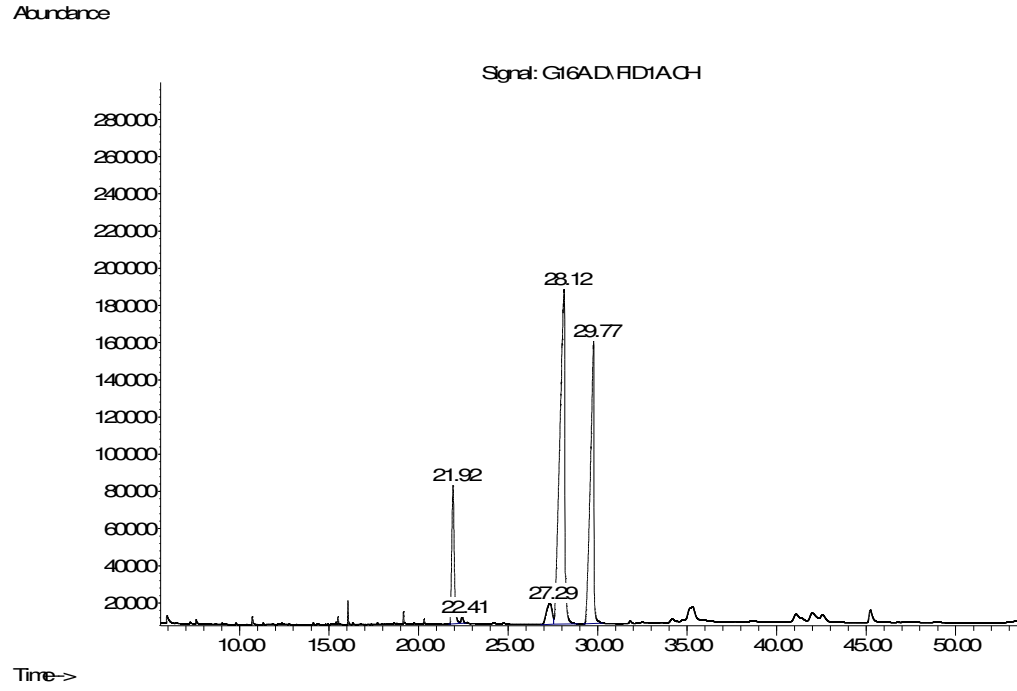
13 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



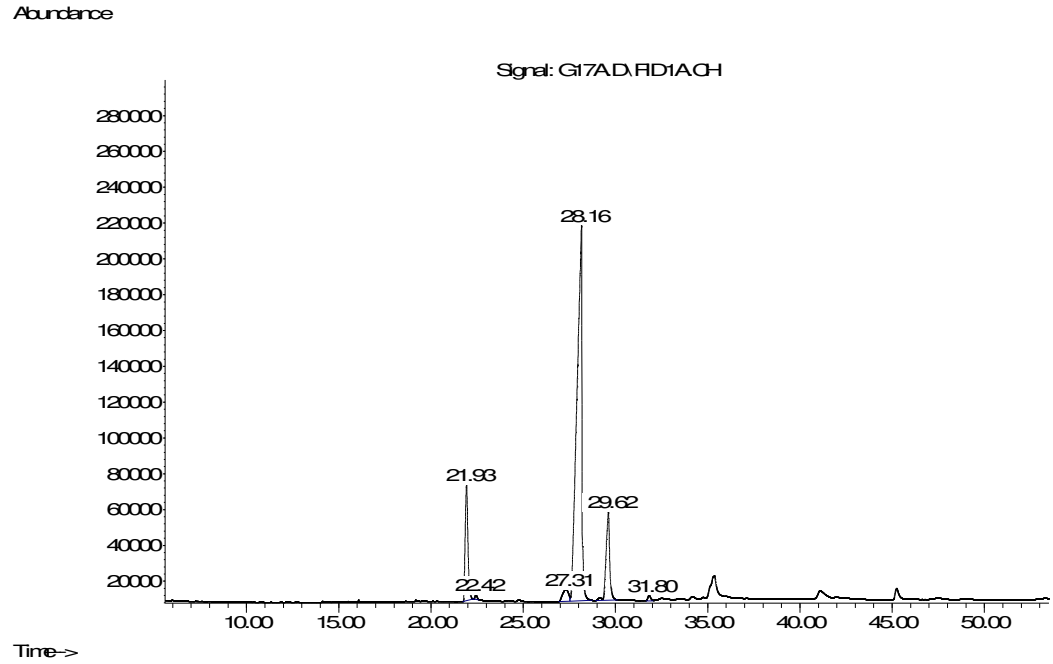
14 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



15 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

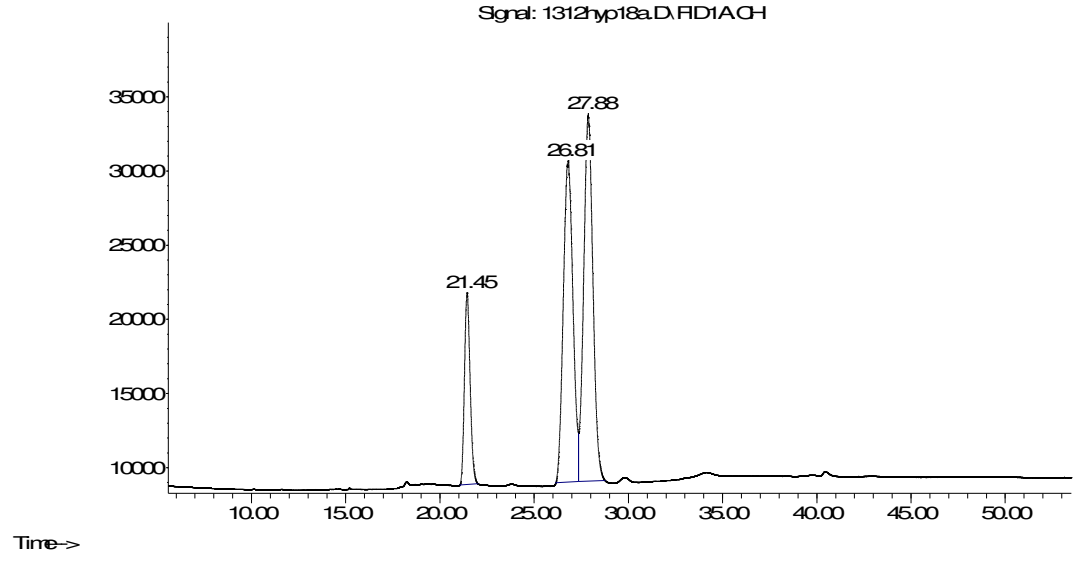


16 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı



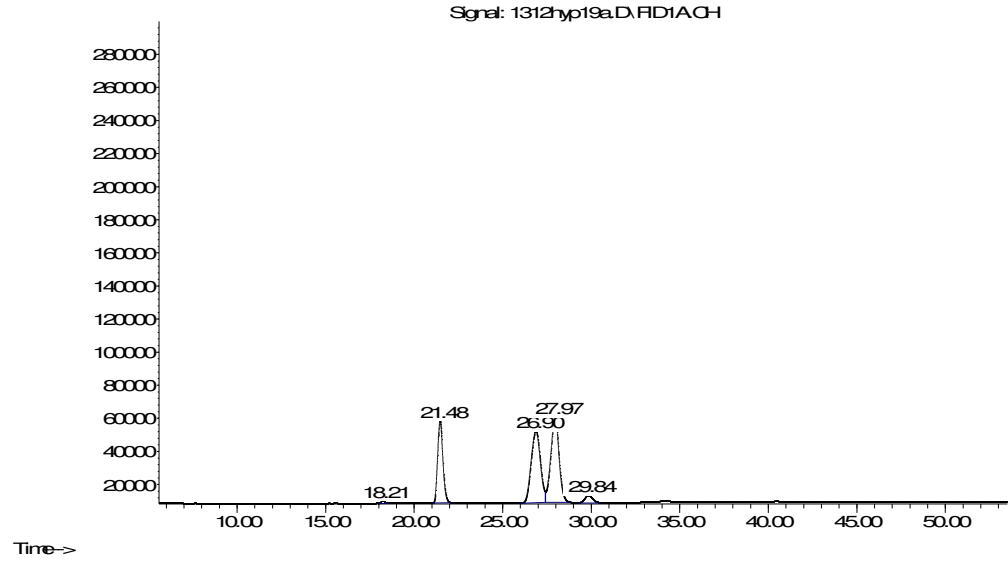
17 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

Abundance



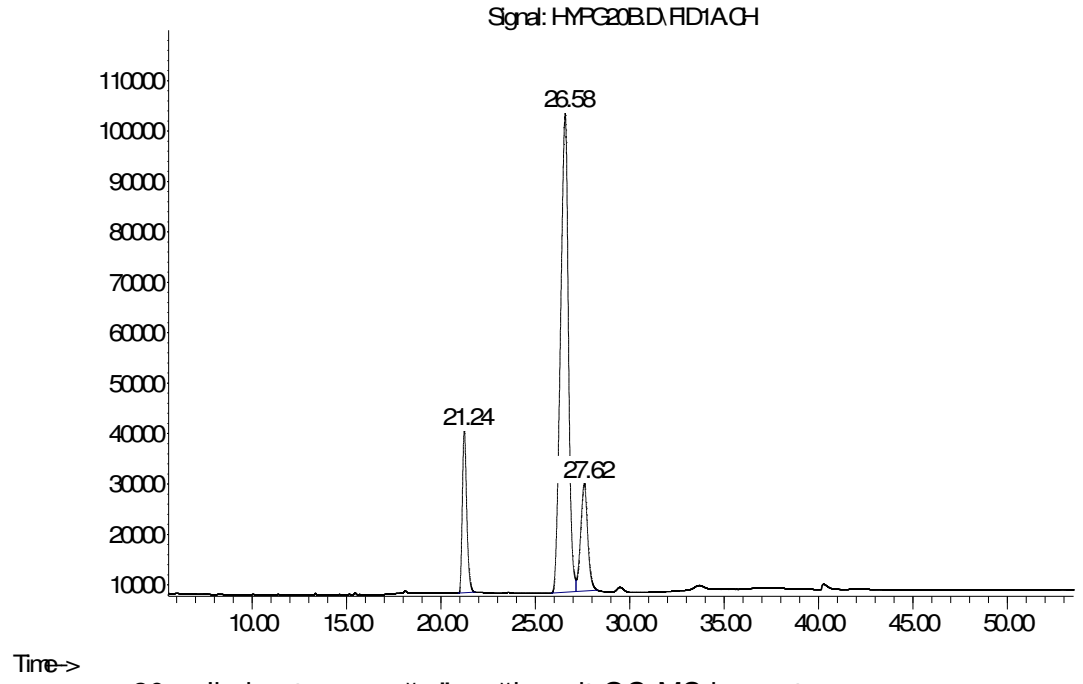
18 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

Abundance

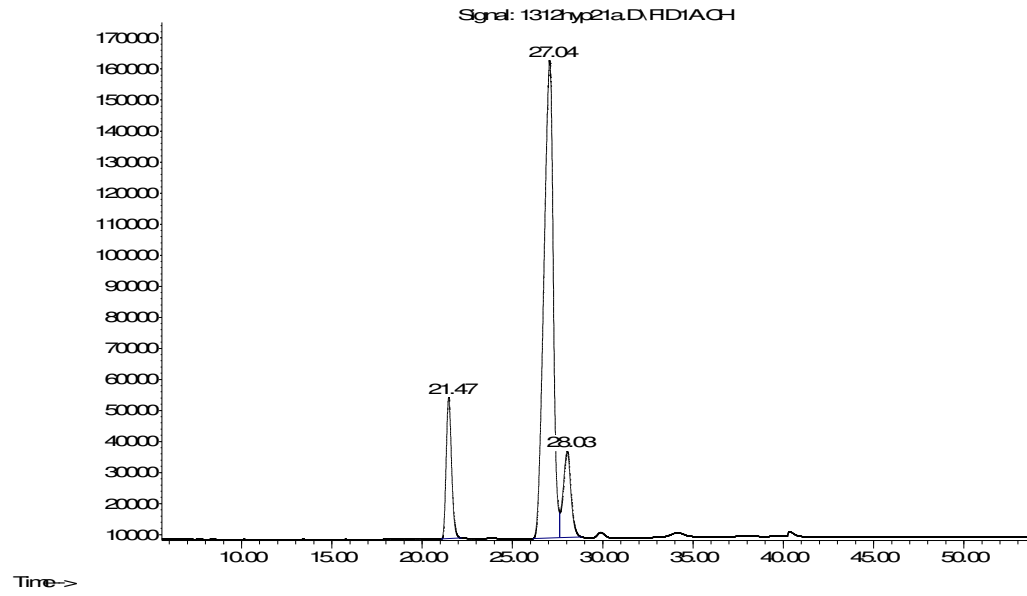


19 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

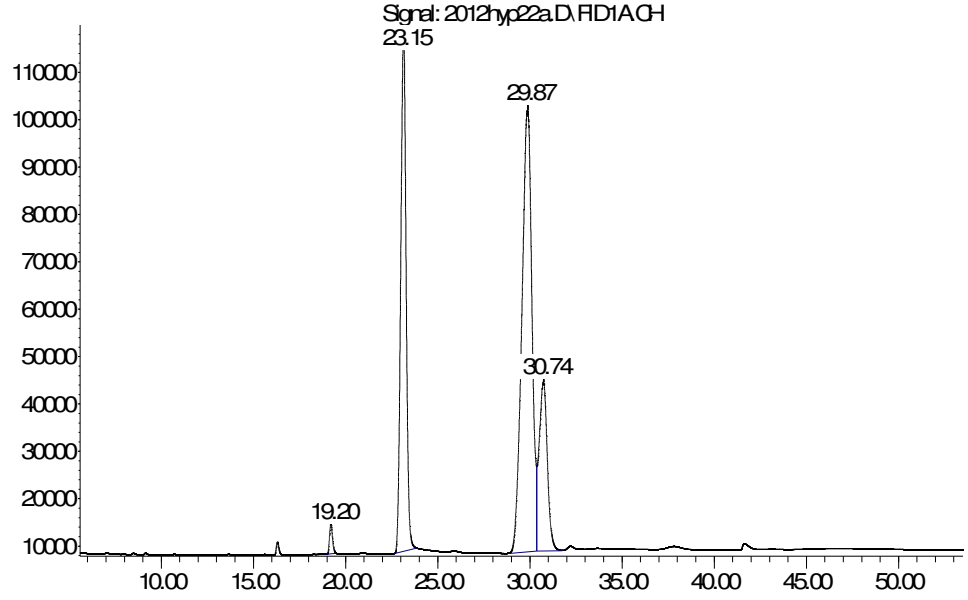
Abundance



Abundance



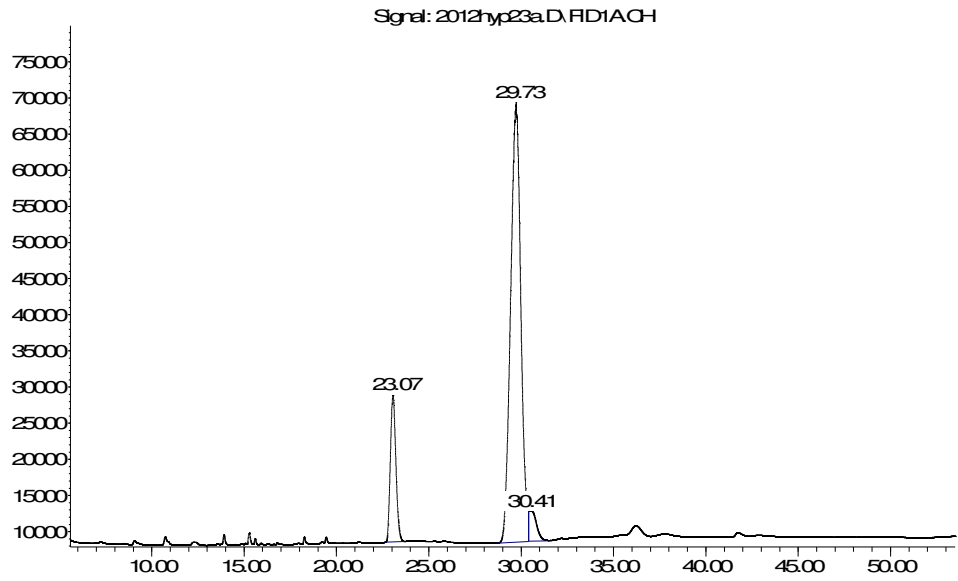
Abundance



Time->

22 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

Abundance



Time->

23 no'lu kantaron yağı örneğine ait GC-MS kromotogramı

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında bilgi ve görüşlerinden yararlandığım ve bana her konuda destek olan değerli hocam Sayın Doç.Dr. İlkay ORHAN'a çok teşekkür ederim.

Tezim boyunca ilgi ve desteklerini gördüğüm Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyeleri ve yardımcısına teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve desteğini benden esirgemeyen sevgili abim Doç.Dr. Ertan YETKİN'e ve bana destek olan abim Ecz. Volkan Yetkin'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezim için gerekli örneklerin toplanmasında emeği geçen arkadaşlarım Ecz. Melahat AŞKAR'a, Ecz. Habibe POLAT'a ve Timuçin OKÇU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince bana gösterdikleri sabır ve iyi niyetlerinden dolayı aileme çok teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Gülin

Soyadı: Yetkin

Doğum Yeri – Tarihi: Konya-Ereğli, 04.07.1980

Eğitimi:

Konya-Ereğli Mehmet Akif İlkokulu (1987-1992)

Konya Ereğli Anadolu Lisesi (1992-1999)

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (1999-2003)

Yabancı dil: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: -

Bilimsel Etkinlikleri: -