



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FLOS SAMBUCI DROG ÖRNEKLERİ ÜZERİNDE KALİTE KONTROL
ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Ayşe KAYASAN

Farmakognozi Anabilim Dalı

İZMİR

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FLOS SAMBUCI DROG ÖRNEKLERİ ÜZERİNDE KALİTE KONTROL
ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Ayşe KAYASAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nehir SOMER

Farmakognozi Anabilim Dalı
Fitoterapi Tezli Yüksek Lisans Programı

İZMİR

2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan (Danışman) : Prof. Dr. Nehir SOMER



Üye : Doç. Dr. Buket BOZKURT



Üye : Doç. Dr. M. Zeki HAZNEDAROĞLU



Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 09/07/2019

Önsöz

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun olduktan sonra Farmakognози Anabilim Dalı'nda doktora yapma düşüncesindeydim. Ancak serbest eczacı olarak meslek yaşantıma devam ederken doktora sürecinin zor olabileceğini düşündüğümünden fitoterapi alanında yüksek lisans yapmayı tercih ettim. Derslerimi başarıyla tamamladıktan sonra serbest eczacılık yaparken karşılaştığım bazı problemler nedeniyle bölge değişikliği yapmak durumunda kaldım ve tez çalışmalarımı bir süre erteledim. 2018 yılında tez çalışmama kaldığım yerden devam ettim.

Tez çalışmamda, aktardan ve eczaneden temin edilen örneklere ilaveten iki farklı lokaliteden toplanan Flos Sambuci drog örnekleri üzerinde Avrupa Farmakopesi ve Avrupa Farmakopesi Türk Farmakopesi Adaptasyonu adlı kaynaklar başta olmak üzere bitki monograflarını içeren farklı kaynaklardan ve *Sambucus nigra* L. bitkisi ile ilgili çeşitli makalelerden yararlanarak kalite kontrol çalışmaları ve antioksidan aktivite konusunda araştırmalar yaptım.

Yüksek lisans sürecimde tezin deneysel aşamalarında laboratuvarında çalışmaktan keyif aldım. Tez yazım aşamasında ise literatür okuma, derleme ve bir alanda bilimsel bilgiye ulaşma konularında tecrübe sahibi oldum. Serbest eczanemde de karşılaşılabileceğim sorular konusunda donanımımı arttırmış oldum. İleride doktora yapma fırsatım olduğu takdirde yüksek lisans öğrenimim boyunca edindiğim bilgi ve tecrübelerin katkı sağlayacağına inanıyorum.

Özet

Flos Sambuci Drog Örnekleri Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları

Türkiye’de doğal olarak yetişen iki *Sambucus* türünden biri olan *Sambucus nigra* L., Caprifoliaceae familyasına ait çalı formunda bir bitkidir. Geleneksel olarak soğuk algınlığı, üst solunum yolu enfeksiyonları ve gripde kullanılmaktadır. *S. nigra*’nın antiviral, antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal ve antidiyabetik etkinlikleri bilimsel olarak ispatlanmıştır.

Bu çalışmada dört farklı drog örneği üzerinde kalite kontrol çalışmaları yürütülmüştür. İki örnek sırasıyla (SN2 ve SN3) eczane ve aktarda satılan ticari droglardır. Diğer iki örnek ise (SN1 ve SN4) İzmir-Bozdağ ve Isparta-Gölcük’ten sırasıyla toplanmıştır. Tüm örnekler, Avrupa Farmakopesi 8.0 ve Türk Farmakopesi 2017’de yer alan yöntemler esas alınarak incelenmiştir.

Kurutmada kayıp, bütün kül, hidroklorik asitte çözünmeyen kül ve sülfat külü deneyleri gerçekleştirilmiştir. Rutin ve kafeik asitten standart olarak yararlanılmak suretiyle drog örneklerinin analizi ve saflık kontrolü için ince tabaka kromatografisi (İTK) kullanılmıştır. Toplam flavonoitlerin spektrofotometrik miktar tayini yapılmıştır. Ayrıca drog örneklerinin antioksidan potansiyeli spektrofotometrik ölçüm tekniği baz alınarak, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivite tayin yöntemiyle saptanmıştır.

Genel olarak tüm örneklerin farmakope standartlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür. Test edilen örnekler içerisinde SN1 kodlu örneğin en yüksek flavonoit miktarına sahip olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak, tüm örneklerin DPPH radikal süpürücü aktivite potansiyelinin az çok birbirine yakın olduğu görülürken, SN1 kodlu örnek en yüksek aktiviteyi (IC₅₀:32,09) ve SN4 kodlu örnek ise en düşük aktiviteyi (IC₅₀: 46,55) göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: *Sambucus nigra*; Caprifoliaceae; antioksidan aktivite; kalite kontrol çalışmaları

Abstract

Quality Control Studies on Specimens of Flos Sambuci

Sambucus nigra L., one of the two wild-growing plant species of the genus *Sambucus* in Turkey, is a plant in the form of shrubs belonging to the family Caprifoliaceae. It is traditionally used in common cold, upper respiratory infections and flu. *S. nigra* has been scientifically proven to possess antiviral, antioxidant, antiinflammatory, antimicrobial and antidiabetic effects.

In this study, quality control studies have been carried out on four different drug specimens. Two of the specimens were commercial samples (SN2 and SN3) which are sold in a herbal shop and in a pharmacy, respectively. The other two specimens (SN1 and SN4) were collected from İzmir-Bozdağ and Isparta-Gölcük, respectively. All of the samples were examined mainly by using the methods in European Pharmacopoeia 8.0 and in Turkish Pharmacopoeia 2017.

Assays for loss on drying, total ash, acid-insoluble ash and sulphated ash were performed. Thin Layer Chromatography (TLC) was used for the identification and purity control of the drug specimens utilizing rutin and caffeic acid as standards. The spectrophotometric quantitative determination of total flavonoids has also been performed. Moreover, antioxidant potentials of drug specimens were determined by using DPPH radical scavenging activity method based on spectrophotometric measurement.

Generally, all samples were compatible with the standards of the pharmacopoeia. Among the tested specimens, the sample with the code SN1 has been found to contain the highest flavonoid content. Additionally, the DPPH radical scavenging potentials of all the specimens have found to be more or less similar to each other with SN1 sample showing the highest activity (IC₅₀:32.09) and SN4 sample displaying the lowest activity (IC₅₀:46.55).

Key Words: *Sambucus nigra*; Caprifoliaceae; antioxidant activity; quality control experiments

İçindekiler

Önsöz	2
Özet.....	3
Abstract.....	4
İçindekiler	5
Tablolar Dizini.....	7
Şekiller Dizini	8
Kısaltma Listesi	9
Giriş	10
Genel Bilgiler	13
2.1 Botanik Bilgiler	13
2.1.1 Sambucus nigra L.'nin Taksonomideki Yeri	13
2.1.2 Bitkinin Yayılışı.....	13
2.1.3 Caprifoliaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	13
2.1.4 Türkiye’de yetişen Sambucus L. Türlerinin Genel Özellikleri.....	13
2.2. Kimyasal Bileşimi.....	14
2.3 Biyolojik Aktivite Çalışmaları	14
2.3.1 Antiviral Etki:	14
2.3.2 Antioksidan Etki	15
2.3.3 Antienflamatuar Etki.....	15
2.3.4 Diyabet Üzerine Etkiler	16
2.3.5 Diğer Etkiler	17
Gereç ve Yöntem	18
3.1 Bitkisel Materyal	18
3.2 Yöntem	21
3.2.1 Farmakope Analizleri	21
3.2.1.1 Kurutmada Kayıp Miktar Tayini.....	21
3.2.1.2 Bütün Kül Miktar Tayini	21
3.2.1.3 Hidroklorik Asit (HCl)’de Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	22
3.2.1.4 Sülfat Külü Miktar Tayini	22
3.2.1.5 İnce Tabaka Kromatografisi (İTK).....	23
3.2.1.6 Spektrofotometrik Tayin	23
3.2.1.6.1 Test Çözeltisi Hazırlanışı.....	24

3.2.1.6.2. Şahit Çözelti Hazırlanışı	24
3.2.1.6.3. Deneyin Yapılışı.....	24
3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	25
Bulgular.....	26
4.1 Kalite Kontrol Çalışmalarına Ait Bulgular	26
4.1.1 Kurutmada Kayıp Miktar Tayinine Ait Bulgular	26
4.1.2 Bütün Kül Miktar Tayini	27
4.1.3 Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	28
4.1.4 Sülfat Külü Miktar Tayini	29
4.2 İnce Tabaka Kromotografisi.....	30
4.3 Spektrofotometrik Tayin	31
4.4 DPPH Radikali Süpürücü Aktiviteye Ait Bulgular	33
Tartışma	36
Sonuç ve Öneriler.....	41
Kaynaklar	42
Özgeçmiş	49

Tablolar Dizini

Tablo 1: Türkiye’de yetişen <i>Sambucus</i> L. Türlerinin Karşılaştırmalı Özellikleri.....	16
Tablo 2: Çalışmada yararlanılan örneklerin kaynakları ve toplama/üretim tarihleri...	20
Tablo 3: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % kurutmada kayıp miktarları.....	28
Tablo 4: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % bütün kül miktarları.....	29
Tablo 5: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % HCl’de çözünmeyen kül miktarları.....	30
Tablo 6: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % Sülfat külü miktarları.....	31
Tablo 7: SN1 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları.....	33
Tablo 8: SN2 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları.....	34
Tablo 9: SN3 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları.....	34
Tablo 10: SN4 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları.....	34
Tablo 11: SN1 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları.....	35
Tablo 12: SN2 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları.....	35
Tablo 13: SN3 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları.....	36
Tablo 14: SN4 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları.....	36
Tablo 15: Askorbik Aside Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları.....	37

Şekiller Dizini

Şekil 1: SN2 kodlu örnek.....	21
Şekil 2: SN3 kodlu örnek.....	21
Şekil 3: <i>Sambucus nigra</i> L. bitkisinin doğadaki görünüşü.....	22
Şekil 4: İnce tabaka kromatografisi plağının 365 nm dalga boyundaki UV ışık altındaki görüntüsü.....	32
Şekil 5: İnce tabaka kromatografisi plağının gün ışığındaki görüntüsü.....	33



Kısaltma Listesi

İTK: İnce Tabaka Kromatografisi

EMA: European Medicines Agency (Avrupa İlaç Ajansı)

DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

UV: Ultraviyole

IC₅₀: 50% Inhibitory Concentration (%50 İnhibitör Konsantrasyon)

USP: United States Pharmacopeia (Amerikan Farmakopesi)

EMEA/HMPC: European Medicines Agency's/ Committee on Herbal Medicinal Products (Avrupa İlaç Ajansı/Bitkisel Tıbbi Ürünler Komitesi)

PDR: Physicians Desk Reference

WHO: World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power [demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü]

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity [Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite]

IBV: Infectious Bronchitis Virüs (Enfeksiyöz Bronşit Virüsü)

GABA: Gamma-aminobütirik asit

LC-ESI-MS/MS: Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry (Likit Kromatografi-Elektrosprey İyonizasyon-Kütle Spektrometrisi)

TNF: Tumor Necrosis Factor (Tümör Nekroz Faktörü)

OH: Hidroksil

DCM: Dichloromethane (Diklorometan)

MeOH: Methanol (Metanol)

NF-κB: Nuclear Factor Kappa B (Nükleer Faktör Kabba B)

MMPs: Metalloproteinases (Metalloproteinazlar)

K: Potasyum

Na: Sodyum

HCL: Hidroklorik asit

H1N1: Human Influenza A Virus

EKK: elektrokinetik kapiler kromatografi

NO: Nitrik oksit

Giriş

Ülkemizde “mürver”, “kara mürver” ve “siyah mürver” isimleriyle bilinen *Sambucus nigra* L., Caprifoliaceae familyasına dahil olan *Sambucus* L. cinsinin 18 türünden biridir (Cunha, Meireles, & Machado, 2016). İngilizce’de “elderberry” olarak bilinen bitkinin ismi, Anglosakson bir sözcük olan ve ateş anlamına gelen “aeld” den kaynaklanmıştır. Ateş yakarken bitkinin dalları kullanılmaktadır. Cins adı *Sambucus* ise Yunanca bir sözcük olan ve bitkinin odun kısmından yapılan antik bir Yunan çalgısı anlamına gelen “Sambuca”dan gelmektedir (Mumcuoglu, Safirman, & Ferne, 2010).

Sambucus cinsi, çalı ve ağaçcık türüyle temsil edilir. Türlerin büyük bölümü her iki yarıkürede ılıman ve astropikal bölgelerdeki ormanlık alanlarda yetişir (Zeybek & Haksel, 2011). Avrupa, Asya, Amerika ve Kuzey Afrika’nın birçok yerinde de yetişmektedirler. Bitki, 6-10 metreye kadar olan yükseklikte yetişir, yaz başlarken küçük beyaz çiçekler halinde açar. Meyveleri ise yazın sonunda olgunlaşır ve koyu mor renktedir (Cunha, Meireles, & Machado, 2016).

Dünyada başlıca *Sambucus nigra* L., *S. ebulus* L., *S. racemosa* L., *S. canadensis* L., *S. sieboldiana* (Miq.) Blume ex Graebn., *S. australis* Cham. et Schltld. türleri yetişmekte iken, Türkiye’de ise *Sambucus* cinsi; *S. nigra* ve *S. ebulus* türleri ile temsil edilmektedir. *S. nigra* ülkemizde 10 m kadar yükseklikte, bahçelerde yetiştirilen beyaz çiçekli bir ağaççıktır. *S. ebulus* ise “Cüce Mürver” olarak bilinir ve 60-200 cm yükseklikte, beyaz çiçekli, çok yıllık ve otsu bir bitkidir (Baytop, 1999).

Bitkinin her bölümü; kabukları, taze ve kurutulmuş yaprakları, kurutulmuş çiçekleri, taze veya kurutulmuş meyveleri ve kurutulmuş kökleri geleneksel kullanımda uzun süredir yer almaktadır.

Flos Sambuci droğu Avrupa Farmakopesi başta olmak üzere Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia -USP) ve diğer ülke farmakopelerinde (Demirezer, 2011) ve Avrupa İlaç Ajansı/Bitkisel Tıbbi Ürünler Komitesi (European Medicines Agency's/ Committee on Herbal Medicinal Products-EMEA/HMPC), PDR (Physicians Desk Reference), Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organisation) monograflarında bulunmaktadır.

Flos Sambuci droğunun ana içerik maddeleri; % 0.7-3.5 flavonoidler (kersetin, rutin, izokersetin, kemferol, astragalın, nikotiflorin, hiperozit), % 1 triterpenler (α -amirin, β -amirin, ursolik asit, oleanolik asit, 20-hidroksiursolik asit), % 3 fenolik asitler

(klorojenik asit, kumarik asit ve ferulik asit ile glikozitleri), % 0.03-0.14 uçucu yağ, serbest yağ asitleri, monoterpenler (linalol ve oksitleri, sitronellol, hotrienol), % 1 steroller (β -sitosterol, kamfesterol, stigmasterol) ve diğer bileşikler (potasyum, sambunigrin, tanen, müsilaj, plastosinin, pektin ve şeker) olmak üzere farklı metabolit gruplarına dahildir (WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, 2004) (Demirezer, 2011) (Mills & Hutchins) (EMA/HMPC/611504/2016 , 2018).

Fructus Sambuci droğunun ana içerik maddelerini ise flavonoit glikozitleri (rutin, izokersetin, hiperozit), antosiyaninler (siyanidin-3-glikozit, siyanidin-3-sambubiozit), uçucu yağ, vitaminler, mineraller ve karbonhidratlar (pektin, glukoz, fruktoz) oluşturmaktadır (Wichtl, 1994) (EMA/HMPC/44208/2012, 2014).

Çiçekler diüretik, diyaforetik, antienflamatuar, antiviral, immünostimülan ve antioksidan aktivite göstermekte olup, halk arasında soğuk algınlığı, nezle ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Mumcuoglu, Safirman, & Ferne, 2010). Türkiye’de halk arasında çiçekleri, yaprakları, gövde ve kabukları idrar söktürücü, terletici ve müshil olarak kullanılır (Demirezer, 2011). Avrupa’da halk arasında, kurutulmuş çiçekleri drog olarak infüzyon halinde ve otsu kısımları sıvı ekstre formunda ve tentür şeklinde kullanılmaktadır (EMA/HMPC/611504/2016 , 2018). Alman E Komisyonu *S. nigra* bitkisinin çiçeklerinin dahilen soğuk algınlığında kullanımını onaylamıştır (Elder flower, 2000).

Meyvelerden de soğuk algınlığında immün sistemi desteklemek için yararlanılmaktadır (Mumcuoglu, Safirman, & Ferne, 2010).

Bitki üzerine yapılan son çalışmalar bitkinin antiviral, antidepresan, anti-UV, antioksidan, anti-*Toxoplasma gondii* etkilerinin olduğunu ve obezite ile diyabet üzerine etki ettiğini göstermektedir (Cunha, Meireles, & Machado, 2016). *S. nigra* bitkisinin antiviral özelliği ve mekanizmaları uzun süredir araştırılmaktadır. En büyük araştırma alanlarından birini influenza virüsü üzerine etkileri oluşturmaktadır. Yakın tarihte yapılan bir meta analiz çalışmasında standardize *S. nigra* ekstresi içeren takviyelerin plasebo gruba kıyasla belirgin bir şekilde üst solunum yolu enfeksiyonu semptomlarını azalttığı ve iyileşme süresini kısalttığı görülmüştür. Analiz, *S. nigra*’nın üst solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılan takviyeleriyle ilgili, insanlarda yapılan randomize, kontrollü, klinik çalışmalarla sınırlandırılmıştır. Bulgulara göre bahsi geçen takviyeler; viral enfeksiyona bağlı üst solunum yolu enfeksiyonu semptomlarında, yanlış kullanılan antibiyotikler yanında influenza ve soğuk

algınlığında reçetelendirilen ilaçlara göre daha güvenli bir alternatif sunmaktadır (Hawkins , Baker, Cherry, & Dunne, 2019).

Bu çalışmada, esas olarak geleneksel kullanımda yer alan ve fitoterapi açısından önemli olan Flos Sambuci droğu üzerinde Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017) kaynaklarından yararlanılarak kalite kontrol çalışmaları yapılması amaçlanmıştır. Doğadan toplanan örneklerin yanında, aktardan ve eczaneden satın alınan ticari örnekler de incelenmiş ve karşılaştırmalı olarak kalite kontrol özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Ek olarak, biyolojik örneklerde antioksidan kapasitenin ölçülmesi için güvenilir bir yöntem olarak kabul edilen “DPPH radikal süpürücü aktivite” yönteminden yararlanılarak, drog örneklerinin antioksidan potansiyellerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi de amaçlanmıştır.

Genel Bilgiler

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Bitkinin Yayılışı

Sambucus cinsi geleneksel olarak Caprifoliaceae familyasında yer almış olup, yakın zamanda Adoxaceae familyası altında sınıflandırılmaktadır (Applequist & Center, 2015). Ülkemizde yetişen, *S. nigra* L. ve *S. ebulus* L. türlerinden ilki esas olarak Türkiye'nin kuzeyi, nadiren Doğu ve Güneydoğu Anadolu, Adalar'da yayılış göstermektedir. *S. ebulus* ise esasen Türkiye'nin kuzeyi, nadiren Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da yetişmektedir (Davis, 1972).

2.1.3. Caprifoliaceae Familyasının Genel Özellikleri

Çalılar veya otlar. Yapraklar karşılıklıdır; genellikle stipula yoktur veya varsa genellikle küçük ve yaprak sapına yapışıktır. Çiçekler uzun sapların üzerinde çift olarak sıralanmış veya simoz durumda, baş şeklinde veya halkalı dizilişli, hermafrodit, aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks 5 sepalden meydana gelmiştir. Korolla gamopetal ve petaller genellikle 4-5 loblu, stamen genellikle 5 ve korolla tüpündeki petallerle alternan olarak dizilmiştir. Ovaryum alt durumlu, 1-5 gözlü, plasentalanma aksillar, ovüller her bir gözde 1 veya daha çok sayıda. Meyveleri (Türkiye'de) genellikle drupa veya az sayıda tohum taşıyan kapsül tipinde olup, tohumların endosperması etlidir (Davis, 1972).

2.1.4. Türkiye'de yetişen *Sambucus* L. Türlerinin Genel Özellikleri

Geniş öz bölgesi olan otsu bitkiler veya çalılar. Yapraklar imparipennat, karşılıklı; stipula var veya yok. Çiçekler birleşik çok çiçekli umbellat veya panikulat simozlar halinde, genellikle 5 parçalı; korolla düzgün yapılı, rotat; ovaryum 3-5 gözlü; stigmalar 3-5 adet. Meyve bir drupa (Davis, 1972).

Türkiye'de iki tür *Sambucus* L. yetişmektedir. Bu türlerin ayrıştığı özellikler karşılaştırmalı olarak Peter Hadland Davis tarafından yazılan "Flora of Turkey and the East Aegean Islands"a göre Tablo 1'de belirtilmiştir.

	<i>Sambucus nigra</i> L.	<i>Sambucus ebulus</i> L.
GÖVDE	Otsu	Çalı veya küçük ağaçlık
YAPRAK	Stipula hiç yok veya varsa subulat ve yaklaşık 4 mm.	Stipula oval, 8-30 mm.

Tablo 1: Türkiye’de yetişen *Sambucus* L. Türlerinin Karşılaştırmalı Özellikleri.

2.2. Kimyasal Bileşimi

Çiçeklerin içeriğinde flavonoidler, siyanojenik glikozitler, triterpenler, fenolik asitler, tanen, müsilaj, pektin ve şeker bulunmaktadır. Meyveleri flavonoid, antosiyanin glikozitleri ve uçucu yağ açısından zengin içeriğe sahiptir (Mumcuoğlu, Safirman, & Ferne, 2010).

Sambucus nigra bitkisinin çiçekleri, meyve ve yapraklarına kıyasla yüksek oranda fenolik bileşikler içermektedir. Fenolik bileşiklerden en önemlisi klorojenik asittir. Diğerleri ise ferulik asit, kafeik asit ve p-kumarik asittir (Demirezer, 2011). Bir diğer önemli grubu oluşturan flavonoidlerden başlıca kersetin, kemferol, rutin, izokersetin, hiperozit, astragalin bileşikleri bulunmaktadır. *S. nigra* bitkisinin çiçek ve meyve infüzyonunda kersetin ve mirsetin (Viapiana & Wesolowski , 2017) saptanırken, bitkinin çiçeklerinde kersetin ve kemferol tespit edilmiştir (Çelik, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2014). *S. nigra* bitkisinin meyve ve çiçeklerinin alkol ekstresinde ise kersetin, kersetin-3-glikozit, kersetin-3-ramnozid, rutin, kemferol, kemferol-3-rutinozit, izoramnetin, izoramnetin-3-rutinozit, naringenin, kateşin ve epikateşin saptanmıştır (Ho, Wangenstein, & Barsett, 2017).

Kurutulmuş *S. nigra* çiçeklerinin uçucu yağının ana bileşenlerinin: *trans*-3-7-dimetil-1.3.7-oktatrien-3-ol, palmitik asit, linalool, *cis*-hekzenol ve *cis*- ve *trans*-gül oksit olduğu bulunmuştur (Toulemonde & Richard, 1983).

2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.1. Antiviral Etki:

H9N2 virüsüyle enfekte edilmiş insan epitel hücre kültürlerinde *S. nigra* meyvelerinin sulu ekstraktlarının antiviral aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Shahsavandi , Ebrahimi, & Farahani, 2017).

S. nigra meyvelerinin etanol ekstresiyle yapılan *in vitro* çalışmada, ekstrelerin kuşları enfekte eden ‘Enfeksiyöz Bronşit Virüsünün (IBV-Infectious Bronchitis Virüs)’ erken evresinde virüsü inhibe ettiği görülmüştür (Chen, ve diğerleri, 2014).

2009 yılında yapılan *in vitro* çalışmada *S. nigra* meyvelerinden izole edilen majör flavonoidlerin ‘Human Influenza A Virus (H1N1)’ enfeksiyonunda yaygın olarak kullanılan ilaçlardan Oseltamivir ve Amantadin’e kıyasla daha iyi aktivite göstermişlerdir (Roschek , Fink , McMichael , Li, & Alberte, 2009).

S. nigra ‘nın kabuk ekstresinin *in vitro* olarak ‘feline immunodeficiency virüs’üne karşı etkinliği olabileceğini gösterilmiştir (Manganelli , Zaccaro , & Tomei , 2005).

2009 yılında yapılan klinik çalışmada bitkinin standardize ekstresi yavaş-çözünen pastil şeklinde hastalara verilmiştir, ekstreyle tedavi gören grupta başlangıçtan sonraki 24 saat içerisinde belirgin iyileşme gözlenirken, plasebo grupta aynı sürede belirtilerde değişiklik olmamış ya da bazı belirtilerde artış gözlenmiştir (Kong, 2009).

2018 yılında yapılan meta analiz çalışmasında standardize *S. nigra* ekstresi içeren takviyelerin plasebo gruba kıyasla belirgin bir şekilde üst solunum yolu enfeksiyonu semptomlarını azalttığı ve iyileşme süresini kısalttığı görülmüştür (Hawkins , Baker, Cherry, & Dunne, 2019).

2.3.2. Antioksidan Etki

S. nigra bitkisinin meyve, çiçek, yaprak ve dallarının DPPH ve diğer yöntemler kullanılarak antioksidan etkileri saptanmıştır (Çelik, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2014) (Viapiana & Wesolowski , 2017) (Dawidowicz , Wianowska , & Baraniak , 2006) (Silva , Ferreira , & Nunes , 2017).

2.3.3. Antienflamatuar Etki

S. nigra meyve ekstresinin enflamasyon yolağındaki majör genlerin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Olejnik , ve diğerleri, 2015).

S. nigra çiçeklerinin infüzyonlarıyla yapılan *in vitro* çalışmada ise majör periodontal patojenlerin proenflamatuar aktivitelerini inhibe ettiği gösterilmiştir (Harokopakis , Albzreh , Haase , Scannapieco , & Hajishengallis, 2006).

S. nigra yaprak ekstresinin *in vitro* olarak ‘tümör nekroz faktörü (tumor necrosis factor-TNF- α)’ nın biyosentezi üzerine orta-yüksek, *S. nigra* çiçeklerinin metanolik

ekstresinin ve onun lipofilik fraksiyonunun sitokin üzerine orta-düşük inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Yeşilada , ve diğerleri, 1997).

S. nigra bitkisinin meyve ve çiçeklerinin alkol ekstrelerinden izole edilen antosiyanin ve prosiyanidin içerikleriyle ilgili yapılan deneysel çalışmada, NO üretiminin inhibe edildiği görülmüştür (Ho, Wangensteen, & Barsett, 2017).

2.3.4. Diyabet Üzerine Etkiler

S. nigra L. meyvelerinin sulu asetonla ekstreleri hazırlanıp ve altın nanopartikülleriyle fitosentezi gerçekleştirilip diyabetik farelerdeki etkilerine bakılan çalışmada ekstresinin nanopartiküle formunun antioksidan savunmayı arttırıp, metalloproteinazların (Metalloproteinases-MMPs) aktivasyonunu ve karaciğer dokusundaki enflamasyonu azalttığı görülmüştür. Bu da diyabet tedavisinde adjuvan olarak gelecek potansiyel taşıdığını göstermektedir (Opris , ve diğerleri, 2017).

S. nigra çiçeklerinin fenolik içeriklerinin HepG2-hücrelerinde ve insan myotüplerinde glukoz ve yağ asiti alımı üzerine etkileri *in vitro* yöntemle araştırılmış ve akarbozla karşılaştırıldıklarında oldukça yüksek α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyonu sergilemişlerdir (Ho, Wangensteen, & Barsett, 2017).

S. nigra çiçeklerinin diklorometan (Dichloromethane-DCM) ve metanol (methanol-MeOH) ekstreleriyle tip 2 diyabetteki etkisi araştırılmıştır. Ekstrenin içerdiği biyoaktif bileşiklerin glukoz ve lipit metabolizmasını düzenleyebileceği gösterilmiştir (Bhattacharya, ve diğerleri, 2013).

S. nigra çiçeklerinin sulu ekstreleriyle yapılan *in vitro* çalışmanın sonucunda çiçeklerin, kaslardaki glukoz metabolizmasını doğrudan stimüle eden ve klonal pankreatik β -hücrelerinden insülin sekresyonunu destekleyen, suda çözünür doğal maddeler içerdiği görülmüştür (Gray , Abdel-Wahap, & Flatt , 2000).

S. nigra meyvesinin metanol ile doğal polifenol içeriğinin ekstre edildiği çalışmada, polifenol içeriğinin lipit peroksidazı düşürüp, lipit peroksil radikalini nötralize ederek diyabetin uzun dönemli kardiyovasküler sonuçlarına karşı koruma sağlayabileceği ileri sürülmüştür (Ciocoiu , Badescu , Badulescu , Tutunaru , & Badescu, 2012).

2.3.5. Diğer Etkiler

S. nigra bitkisinin meyve, yaprak ve kabuklarının metanol ekstralarının antikonvülzan etkiye sahip olduğu ve bu etkilerini gamma-aminobütirik asit (GABA) düzeylerini arttırmak yoluyla gösterebileceği belirtilmiştir (Ataee , Falahati, Ebrahimzadeh , & Shokrzadeh, 2016).

S. nigra sulu ekstralarının üriner sodyum atılımını arttırdığı görülmüştür (Beaux , Fleurentin , & Mortier, 1999). Bir çalışmada *S. nigra* çiçeklerinin ve dekoksiyonunun sodyum ve potasyum içeriğine bakılıp diüretik etkinlik için temel oluşturan potasyum-sodyum oranları hesaplanmıştır. Flos Sambuci droğunun K/Na oranı 40:1, dekoksiyonunda ise K/Na oranı ise 221:1 şeklinde tespit edilmiştir (Szentmihalyi , ve diğerleri, 1998).

Gereç ve Yöntem

3.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada dört farklı bitki örneği kullanılmıştır. Çalışmada, eczanede satılan bir drog örneği, aktarda “*mürver*” adıyla satılan bir örnek ve farklı lokalitelerden toplanan iki doğal örnekten yararlanılmıştır. Doğadan toplanan örneklerden biri Isparta’dan, diğeri ise Ödemiş-Bozdağ’dan toplanmıştır. Toplanan örnekler Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR (Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı) tarafından teşhis edilmiş olup, herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu’nda 1558 ve 1602 numaraları ile saklanmaktadır. Örneklerin toplama tarihleri ve ticari örneklerin etiketlerinde belirtilen üretim tarihleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Örnek Kodu	Toplandığı Bölge	Temin Edilişi	Toplandığı Tarih /Üretim Tarihi
SN1	İzmir-Bozdağ	Doğadan toplanmıştır. (Herbaryum No: 1602)	28.05.2016
SN2	Bilinmiyor	İzmir ili ilçesinde bulunan bir aktardan alınan bir firmaya ait ürün.	02.2015 (üretim tarihi)
SN3	Bilinmiyor	İzmir ilinde Eczanelerde satılan bir firmaya ait ürün	04.2015 (üretim tarihi)
SN4	Isparta-Gölcük	Doğadan toplanmıştır. (Herbaryum No: 1558)	13.06.2016

Tablo 2: Çalışmada yararlanılan örneklerin kaynakları ve toplama/üretim tarihleri



Şekil 1: SN2 kodlu örnek



Şekil 2: SN3 kodlu örnek



Şekil 3: *Sambucus nigra* L. bitkisinin doğadaki görünüşü

3.2. Yöntem

3.2.1. Farmakope Analizleri

Tüm analizler Avrupa Farmakopesi 8.0 (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Türk Farmakopesi 2017 (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017)'ye uygun olarak yürütülmüştür.

3.2.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Alınan örneğin hepsi toz edilip karıştırıldı. Tüm örnekler üzerinde yapılan çalışmalar 3 paralel olarak yürütüldü. Kurutma kapları 105°C'lik etüvde 1 saat bekletildi, desikatöre alınıp 30 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra ilk tartım alındı. Tekrar aynı sürelerde etüv-desikatör işlemi yapıldı ve ikinci tartım alındı. Sabit vezne getirme işlemine tüm kurutma kaplarında tartımlar arasındaki fark 0.5 mg'ı geçmeye kadar devam edildi. Sabit vezne gelen kaplara 1 g toz drog koyuldu, 105°C'lik etüvde 1 saat bekletildi, ardından 30 dakika desikatörde soğutuldu. Soğuduktan sonra tartıldı ve tartımlar arasındaki fark 0.5 mg'ı geçmeye kadar devam edildi. Örneklerin hepsi sabit vezne gelince çalışma sonlandırıldı. Aşağıdaki formülle kurutmada kayıp miktarları hesaplandı ve her bir örnek için 3 paralelin ortalaması alındı.

A: Kabın ağırlığı

B: Kabın ağırlığı + ilk drog ağırlığı

C: Kabın ağırlığı + son drog ağırlığı

% Kurutmada kayıp = $(B-C) \times 100 / (B-A)$

3.2.1.2. Bütün Kül Miktar Tayini

Alınan örneğin hepsi toz edilip karıştırıldı. Tüm örnekler üzerinde yapılan çalışmalar 3 paralel yürütüldü. Porselen krözeler, 600°C'lik yakma fırınında 1 saat bekletildi, desikatöre alınıp 30 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra ilk tartım alındı. Tekrar aynı sürelerde yakma fırını-desikatör işlemi yapıldı ve ikinci tartım alındı. Sabit vezne getirme işlemi tüm kurutma kaplarında tartımlar arasındaki fark 0.5 mg'ı geçmeye kadar devam edildi. Sabit vezne gelen krözelere 1 g toz drog koyuldu ve 100-105 °C'deki etüvde 1 saat bekletilerek nemi uzaklaştırıldı. 600 °C'lik yakma

fırınında 1 saat bekletildi, ardından 30 dakika desikatörde soğutuldu. Soğuduktan sonra tartıldı ve tartımlar arasındaki fark 0.5 mg'ı geçmeye kadar aynı işleme devam edildi. Örneklerin hepsi sabit vezne gelince çalışma sonlandırıldı. Aşağıdaki formül ile total kül miktarları hesaplandı ve her bir örnek için 3 paralelin ortalaması alındı.

A: Kröze ağırlığı

B: Kröze ağırlığı + drog ağırlığı

C: Kröze ağırlığı + kül ağırlığı

% Total kül = $(C-A) \times 100 / (B-A)$

3.2.1.3 Hidroklorik Asit (HCl)'de Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

Total kül miktar tayininde anlatıldığı gibi sabit vezne getirilen krözenin içine 15 ml distile su ve 10 ml HCl koyuldu. Krözenin ağzı saat camıyla kapatıldı ve 10 dakika plak ısıtıcıda ısıtıldı. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdından (Sartorius tm Quantitative Grande 391) süzülme ve süzüntü nötr oluncaya kadar sıcak distile suyla yıkandı. Üzerinde kalan bakiyesiyle beraber süzgeç kâğıdı krözenin içine yerleştirildi. Son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar 1 saat yakma fırınında yakmaya ve ardından 30 dakika desikatörde soğutma işlemine devam edildi. Sabit vezne gelince sonlandırıldı. Drogun hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini, aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

A: Kröze ağırlığı

B: Kröze ağırlığı + drog ağırlığı

C: Kröze ağırlığı + HCl'de çözünmeyen kül ağırlığı

% HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı = $(D-A) \times 100 / (B-A)$

3.2.1.4 Sülfat Külü Miktar Tayini

600 ± 25 °C'lik Haraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisinde 1g civarında drog tam olarak tartılarak kondu. Drogun üzerine 2 ml %10'luk sülfürik asit çözeltisi damla damla ilave edildi. Su banyosu üzerinde kuruluğa kadar bekletildikten sonra tablalı ısıtıcıda duman çıkışı bitene kadar yakıldı. Bir sonraki aşamada 600 ± 25 °C'lik yakma fırınında 1 saat yakılmasının ardından desikatörde 30 dk soğutuldu. Drog içeren krözeye birkaç damla %10'luk H₂SO₄ çözeltisinden tekrar ilave edildi, yukarıda anlatılana benzer şekilde

ısıtılıp, yakıldı. Desikatörde 30 dk soğutulmasının ardından, birkaç damla % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edildi. Drog içeren kröze sabit vezne gelinceye kadar 1'er saat süreyle yakma fırınında yakıldı ve desikatörde 30 dk soğutulmasını takiben tartıldı. Hesaplamalar sonucunda droğun içerdiği yüzde sülfat külü miktarı bulundu.

3.2.1.5 İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Şahit çözelti: 1 mg kafeik asit, 1 mg klorojenik asit, 2.5 mg hiperozit ve 2.5 mg rutin tartıldı ve 10 ml metanolde çözündürüldü.

Test çözeltisi: Her bir örnekten 0.5 g toz tartıldı. Toz droglar üzerine 5 ml metanol koyuldu ve 10 dakika ultrasonik banyoda tutuldu. 5 dakika santrifüj edildi.

Hareketli faz: Plakların yerleştirileceği tankın içine sırasıyla su, susuz formik asit, metil etil keton ve etil asetat (1:1:3:5 h/h/h/h) koyuldu, doyunluğa ulaşması beklendi.

Sabit faz: Silika jel (2-10 µm)

Difenilborik Asidin Aminoetil Esterinin Etilasetat Çözeltisinin Hazırlanması: Toz haldeki 2-aminoetil difenilborinat (Sigma-Aldrich®)'tan 500 mg tartıldı, bir miktar etik asetatla çözündürülmüş ve ardından etik asetatla 50 ml'e tamamlandı.

Deneyin Yapılışı: Silika jel plak (Merck 5715) üzerine her bir test çözeltisinden 20 µl, şahit çözeltisinden 10 µl, çözeltiler plağın alt kenarından 1 cm yukarıda ve çözeltilerin aralarında 1 cm olacak şekilde bant halinde uygulandı. Kuruduktan sonra tanka dik bir şekilde yerleştirildi ve çözücünün 10 cm ilerlemesi beklendi. İlerleme tamamlandıktan sonra 105 °C'lik etüvde kuruyana kadar bekletildi. Ilık plağa difenilborik asit aminoetil esterinin etilasetat çözeltisi, ardından makrogol 400'ün metanoldeki çözeltisi (5 g/l) püskürtüldü. 30 dakika kuruması için bekletildi. Gün ışığında ve Camag UV Cabinet 4 marka cihaz ile 365 nm'de UV altında incelendi.

3.2.1.6. Spektrofotometrik Tayin

Her bir örnekten 100 ml'lik yuvarlak tabanlı bir balona 0.6 g toz drog tartıldı ve her birinin üzerine 1 ml 5 g/l heksametilentetramin reaktifi, 2 ml hidroklorik asit ve 20 ml aseton koyuldu.

Spektrofotometrik tayinde kullanılan reaktifler Avrupa Farmakopesi'ne göre hazırlandı.

Hekzametilentetramin Reaktifi Hazırlanması: 125 mg toz hekzametilentetramin (Sigma-Aldrich®) tartılmış ve 25 ml'e distile su ile tamamlandı.

3.2.1.6.1 Test Çözeltisi Hazırlanışı

Stok çözeltisinden 10 ml alındı, üzerine 1 ml alüminyum klorür reaktifi ilave edildi ve glasiyel asetik asidin metanoldeki %5 h/h çözeltisiyle 25 ml'ye seyreltildi.

Sodyum Hidroksit Çözeltisi Hazırlanması: 1 g toz sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich®) tartıldı ve distile suda çözündürülüp 100 ml'ye tamamlandı.

Alüminyum Klorür Reaktifinin Hazırlanması: 65 g alüminyum klorür (Sigma-Aldrich®) tartıldı, bir miktar distile suda çözündürüldü ve distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. 500 mg aktif kömür eklendi ve 10 dakika karıştırıldı, süzüldü. Süzüntüye pH 1.5 oluncaya kadar sodyum hidroksit çözeltisi (yaklaşık 60 ml) koyuldu.

3.2.1.6.2. Şahit Çözelti Hazırlanışı

Stok çözeltisinden 10 ml alındı ve 5 h/h glasiyel asetik asitin metanoldeki çözeltisi ile 25 ml'ye seyreltildi.

3.2.1.6.3. Deneyin Yapılışı

Balonlar 30 dakika boyunca geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Oda sıcaklığına gelen sıvı, absorban pamuk tıkaç yardımıyla 100 ml'lik balon jøjeye süzüldü. Üstünde artık bulunan pamuk, yuvarlak tabanlı balona koyuldu ve 2 kere daha 20'şer ml aseton koyulup 10'ar dakika geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Oda sıcaklığına gelen sıvı, absorban tıkaç pamuk ile süzüldü ve süzüntüler birleştirildi. Birleştirilen asetonlu süzüntü süzgeç kâğıdı ile balon jøjeye süzüldü ve yuvarlak tabanlı balon, aseton ile yıkanıp süzüntüye eklendi, aseton ile 100 ml'ye tamamlandı.

Bu çözeltinin 20 ml'si ayırma hunisine alındı ve üzerine 20 ml distile su koyuldu. Ekstre 1 kez 15 ml, ardından 3 kez 10'ar ml etil asetatla çalkalandı ve etil asetatlı fazlar birleştirildi.

Birleştirilen etil asetatlı fazlar ayırma hunisine alındı ve 2 kez 50'şer ml distile su ile çalkalandı, etil asetatlı fazlar toplandı. Sıvı, 10 gram susuz sodyum sülfat üzerinden 50 ml'lik balon jøjeye süzüldü ve etil asetat ile 50 ml'ye tamamlandı.

30 dakika sonra test çözeltisinin absorbansı, şahit çözeltisi ile kıyaslanarak 425 nm’de OPTIMA SP-3000 nano markalı UV/GIAS spektrometresiyle ölçüldü.

İzokersitrozit üzerinden hesaplanan flavonoit miktarı yüzdesi için;

$A \times 1.25 / m$

eşitliği kullanıldı.

A: 425 nm’de ölçülen absorbans değeri

m: incelenen bitkisel droğun gram olarak ağırlığı

3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

2 gram drog tartıldı. 20 ml metanolla ultrasonik banyoda 30 dk süreyle ekstre edildi. Süzgeç kâğıdı kullanılarak süzüldü. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra süzüntüler birleştirildi ve rotavaporda alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi.

DPPH Çözeltisi Hazırlanması: 0.3 mM konsantrasyonda DPPH çözeltisi hazırlamak için 0.006 g DPPH tartıp metanol ile 30 ml’e tamamlandı.

Askorbik Asit Çözeltisi Hazırlanması: 0.11 mM konsantrasyonda askorbik asit çözeltisi hazırlamak için 0.002 g askorbik asit tartılarak metanol ile 100 ml’e tamamlandı.

Hazırlanan ekstrelerden son konsantrasyonları SN1 örneği için 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/ml, SN2 için 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 µg/ml, SN3 için 10, 20, 40, 60, 80, 120 µg/ml ve SN4 için 20, 40, 60, 80, 120, 140 µg/ml olacak şekilde alınan miktarlar 3 ml’lik plastik küvetlere konuldu. DPPH çözeltisinden her bir küvete 1’er ml ilave edilip karışmaları sağlandı. Örnek ve DPPH çözeltisi karışımı karanlıkta 30 dk bekletildikten sonra çözeltilerin Optima SP-3000 Nano markalı spektrofotometre kullanılarak 517 nm’de absorbanları ölçüldü.

Örneklerin DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\%RSA=100 - \{[(A_{\text{örnek}} - A_{\text{kör}}) \times 100] / (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrol kör}})\}$$

$A_{\text{örnek}}$: Örnek Absorbansı

Çalışmalar üç paralel olacak şekilde yürütüldü.

Bulgular

4.1. Kalite Kontrol Çalışmalarına Ait Bulgular

4.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

SN1, SN2, SN3, SN4 kodlu örnekler üzerinde, Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017)'nde bulunan yöntem kullanılarak üç paralel deneme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, aşağıda Tablo 3'te yer almaktadır.

SN1 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Kurutmada Kayıp Miktarı
1.0004	6.992
1.0107	6.9159
1.0643	6.8307
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 6.9128	
SN2 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Kurutmada Kayıp Miktarı
1.0052	6.4663
1.0121	6.4716
1.0444	6.5109
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 6.4829	
SN3 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Kurutmada Kayıp Miktarı
1.0222	6.8456
1.0262	6.5203
1.0083	6.4776
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 6.6145	
SN4 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Kurutmada Kayıp Miktarı
1.0111	6.4889
1.0203	7.5075
1.0009	8.2458
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 7.414	

Tablo 3: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % kurutmada kayıp miktarları

4.1.2. Bütün Kül Miktar Tayini

SN1, SN2, SN3, SN4 kodlu örnekler üzerinde, Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017)'nde bulunan yöntem kullanılarak üç paralel deneme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, aşağıda Tablo 4'te yer almaktadır.

SN1 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Bütün Kül Miktarı
1.0382	8.4665
1.0142	8.9232
1.0527	8.9199
Ortalama % Bütün Kül Miktarı: 8.7962	
SN2 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Bütün Kül Miktarı
1.0017	8.0263
1.0133	8.7141
1.0514	8.7026
Ortalama % Bütün Kül Miktarı: 8.481	
SN3 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Bütün Kül Miktarı
1.0360	8.6872
1.0301	8.8049
1.0376	8.7702
Ortalama % Bütün Kül Miktarı: 8.7541	
SN4 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Bütün Kül Miktarı
1.0820	8.6872
1.1116	8.8049
1.0344	8.7702
Ortalama % Bütün Kül Miktarı: 8.8795	

Tablo 4: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % bütün kül miktarları

4.1.3. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

SN1, SN2, SN3, SN4 kodlu örnekler üzerinde, Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017)'nde bulunan yöntem kullanılarak üç paralel deneme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, aşağıda Tablo 5'te yer almaktadır.

SN1 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı
1.0037	0.0697
1.0131	0.1974
1.044	0.1436
Ortalama % HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı: 0.1369	
SN2 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı
1.1259	0.4618
1.0372	0.5329
1.0030	0.4087
Ortalama % HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı: 0.4678	
SN3 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı
1.0353	0.3477
1.0951	0.4291
1.0191	0.2943
Ortalama % HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı: 0.357	
SN4 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı
1.0848	0.0092
1.0544	0.0569
1.0474	0.1814
Ortalama % HCl'de Çözünmeyen Kül Miktarı: 0.0825	

Tablo 5: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % HCl'de çözünmeyen kül miktarları

4.1.4. Sülfat Külü Miktar Tayini

SN1, SN2, SN3, SN4 kodlu örnekler üzerinde, Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017)'nde bulunan yöntem kullanılarak üç paralel deneme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, Tablo 6'da yer almaktadır.

SN1 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0455	11.5925
1.0579	11.6457
1.0214	10.7597
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 11.3326	
SN2 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0382	11.1731
1.0018	11.5791
1.0364	11.4434
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 11.3985	
SN3 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0267	12.2431
1.1279	11.6854
1.0579	12.5153
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 12.1479	
SN4 Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar	
Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0009	12.5387
1.0614	12.5965
1.0521	11.957
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 12.364	

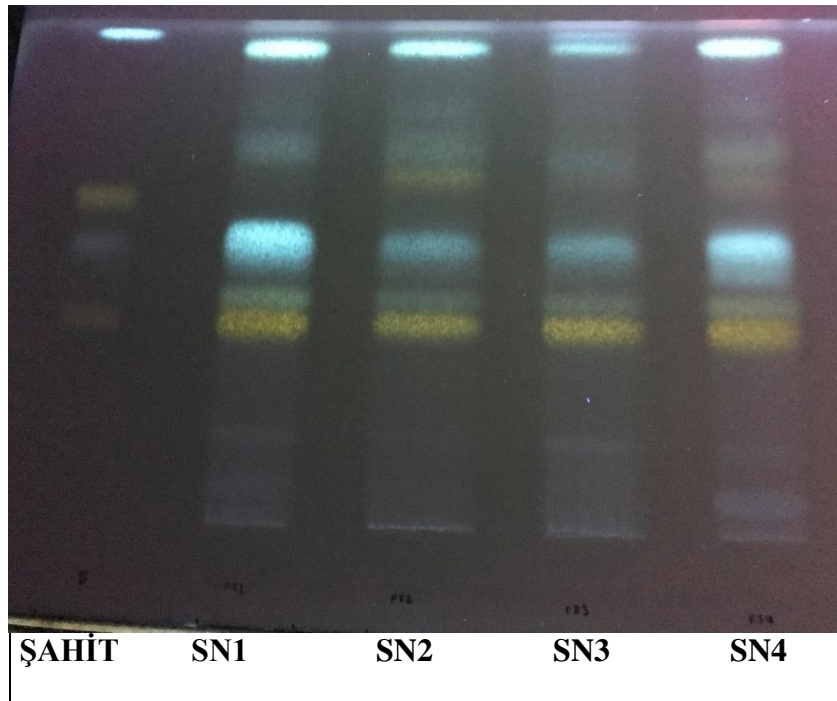
Tablo 6: Flos Sambuci örneklerinin hesaplanan % Sülfat külü miktarları

4.2. İnce Tabaka Kromatografisi

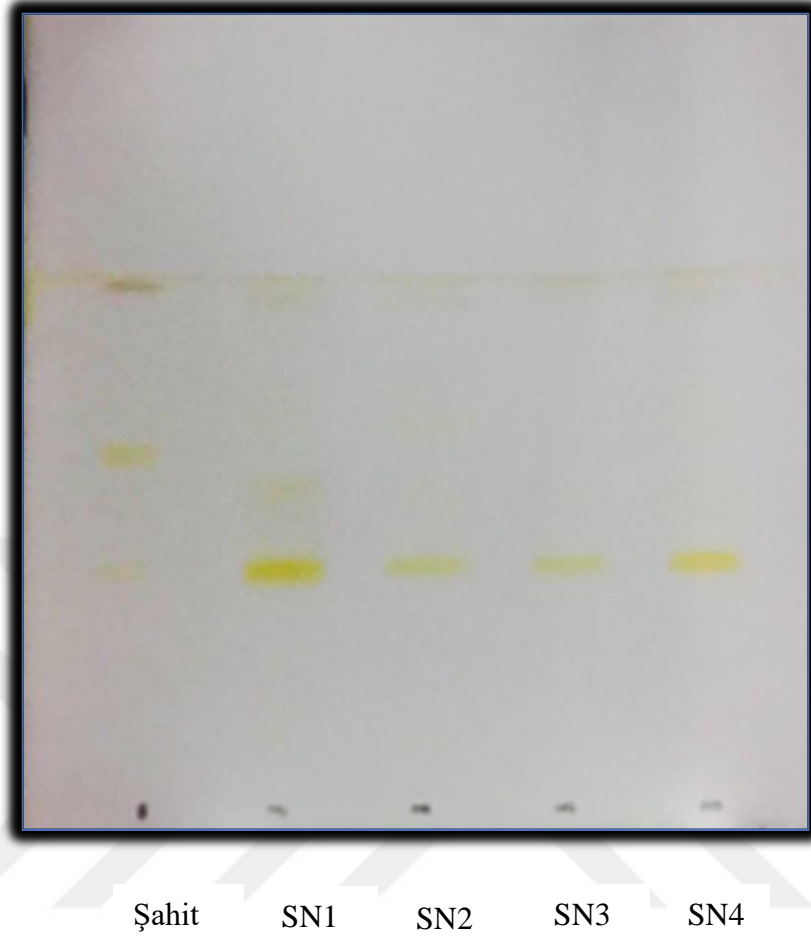
Susuz formik asit-su-metil etil keton-etil asetat (10:10:30:50) çözücü sistemi ve 0.25 mm kalınlığında silikajel (Merck 5715) hazır kromatografi plağı kullanılarak yapılan kromatografik çalışmalarda start çizgisinden itibaren 10 cm yükselecek şekilde develope edilen kromatografi plağı reaktifler difenilborik asitin aminoetil esterinin etilasetattaki 1 g/l'lik çözeltisi ve ardından Makrogol 400'ün metanoldeki 5 g/l çözeltisi püskürtüldükten sonra, önce gün ışığında sonra 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi.

Farmakopeye göre şahit çözeltisinin kromatogramdaki görünümü, en alt kısımda rutin oluşturduğu koyu sarı leke ve üst kısımda hiperozitin oluşturduğu koyu sarı leke şeklindedir. Test çözeltisiyle elde edilen kromatogramda ise şahit çözeltisinin kromatogramında rutine karşılık gelen lekeyle aynı hizada koyu sarı leke görülür. Şahit çözeltisinin kromatogramında ise hiperozite karşılık gelen yerin yukarısında turuncu leke bulunmaktadır.

365 nm UV ışığı altında çekilen fotoğrafı Şekil 3'te yer almaktadır.



Şekil 4: İnce tabaka kromatografisi plağının 365 nm dalga boyundaki UV ışık altındaki görüntüsü



Şekil 5: İnce tabaka kromatografisi plağının gün ışığındaki görüntüsü

4.3. Spektrofotometrik Tayin

Drog Miktarı (g)	Ortalama Absorbans Değeri	İzokersitrozit Üzerinden Hesaplanan		
0.6005	0.420	0.874		
0.6009	0.405	0.842		
0.6007	0.419	0.871		
N	Ortalama	Standart Sapma	Min. Değer	Maks. Değer
3	0.807	0.035157	0.781	0.847

Tablo 7: SN1 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları

Drog Miktarı (g)	Ortalama Absorbans Değeri	İzokersitrozit Üzerinden Hesaplanan		
0.6021	0.408	0.847		
0.6029	0.377	0.781		
0.6084	0.386	0.793		
N	Ortalama	Standart Sapma	Min. Değer	Maks. Değer
3	0.807	0.035157	0.781	0.847

Tablo 8: SN2 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları

Drog Miktarı (g)	Ortalama Absorbans Değeri	İzokersitrozit Üzerinden Hesaplanan		
0.601	0.344	0.715		
0.6005	0.322	0.670		
0.6014	0.344	0.714		
N	Ortalama	Standart Sapma	Min. Değer	Maks. Değer
3	0.699	0.025697	0.670	0.715

Tablo 9: SN3 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları

Drog Miktarı (g)	Ortalama Absorbans Değeri	İzokersitrozit Üzerinden Hesaplanan		
0.6022	0.305	0.633		
0.6005	0.297	0.618		
0.6026	0.299	0.620		
N	Ortalama	Standart Sapma	Min. Değer	Maks. Değer
3	0.623	0.008145	0.618	0.633

Tablo 10: SN4 kodlu örneğe ait spektrofotometrik tayin sonuçları

4.4. DPPH Radikali Süpürücü Aktiviteye Ait Bulgular

SN1, SN2, SN3 ve SN4 kodlu örneklere ait DPPH radikali süpürücü aktivite sonuçları aşağıdaki 8-11 Nolu tablolarda yer almaktadır.

SN1 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları		
Konsantrasyon (µg/ml)	Yüzde İnhibisyon	IC ₅₀
20	28.947	32.09
40	55.811	
60	84.008	
80	91.228	
100	92.916	

Tablo 11: SN1 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları

SN2 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları		
Konsantrasyon (µg/ml)	Yüzde İnhibisyon	IC ₅₀
10	92.706	34.61
20	91.938	
40	89.635	
60	73.608	
80	53.262	
100	25.047	
120	12.667	

Tablo 12: SN2 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları

SN3 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları		
Konsantrasyon (µg/ml)	Yüzde İnhibisyon	IC ₅₀
10	13.941	33.70
20	25.677	
40	53.560	
60	77.031	
80	89.669	
120	92.477	

Tablo 13: SN3 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları

SN4 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları		
Konsantrasyon (µg/ml)	Yüzde İnhibisyon	IC ₅₀
20	23.330	46.55
40	40.578	
60	56.031	
80	73.978	
120	90.329	
140	90.428	

Tablo 14: SN4 Kodlu Örneğe Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları

Askorbik Aside Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları		
Konsantrasyon (µg/ml)	Yüzde İnhibisyon	IC₅₀
2.5	5.439	8.425
5	11.297	
7.5	20.292	
10	37.447	
12.5	49.895	
15	76.778	
18	93.723	
20	94.874	

Tablo 15: Askorbik Aside Ait DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Sonuçları

Tartışma

Dünyanın birçok yerinde yayılış gösteren *Sambucus nigra* türü Türkiye’de Kuzey Anadolu’da doğal olarak yetişmektedir (Zeybek & Haksel, 2011). Halk arasında çiçekleri, yaprakları, gövde kabukları ve meyveleri kullanılmaktadır (Demirezer, 2011). Farklı biyolojik etkinlikleri bulunmakla beraber en çok soğuk algınlığı tedavisinde antiviral, immünostimülan ve diyaforetik olarak kullanılmaktadır (Mumcuoglu, Safirman, & Ferne, 2010). Günümüzde yapılan birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışma halk arasındaki kullanımını destekler nitelikte sonuçlanmıştır.

Bu çalışmada başta Flos Sambuci droğu olmak üzere *S. nigra* bitkisinin botanik bilgilerinin, kimyasal bileşiminin, biyolojik aktivitesinin ve son zamanlarda yapılan çalışmaların ayrıntılı derlemesi yapılmıştır. Bunun yanı sıra biri aktardan, biri eczanede satılan droglardan ve diğer ikisi doğadan toplanan olmak üzere dört farklı örneğin Avrupa Farmakopesi 8.0 (European Pharmacopoeia 8.0, 2013)’a göre analizleri yapılmıştır. İlaveten örneklerin DPPH radikal süpürücü aktivitesi tayin edilmiştir.

Kurutmada kayıp miktar tayini deneyinde SN1 kodlu örnekte % 6.9128, SN2 kodlu örnekte % 6.4829, SN3 kodlu örnekte % 6.6145ve SN4 kodlu örnekte % 7.414 oranında kurutmada kayıp tespit edilmiştir.

Bütün kül miktar tayini deneyinde, SN1 kodlu örnekte % 8.7962, SN2 kodlu örnekte % 8.481, SN3 kodlu örnekte % 8.7541 ve SN4 kodlu örnekte % 8.8795 oranında bütün kül miktarı saptanmıştır.

Avrupa Farmakopesi 8.0’da Flos Sambuci için kurutmada kayıp ve bütün kül miktarlarının en fazla %10 olması istenmektedir. Tüm örneklerin kurutmada kayıp ve bütün kül miktarlarının bu değerin altında olduğu görülmüştür (European Pharmacopoeia 8.0, 2013).

Hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı deneyinde, SN1 kodlu örnekte % 0.1369, SN2 kodlu örnekte % 0.4678, SN3 kodlu örnekte % 0.357 ve SN4 kodlu örnekte % 0.0825 oranında hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı bulunmuştur.

HCl’de çözünmeyen kül miktarının en fazla %2 olması istenmektedir (Wichtl, 1994). Tüm örneklerin HCl’de çözünmeyen kül miktarlarının belirtilen değerin altında olduğu görülmüştür.

Sülfat külü miktar tayini deneyinde, SN1 kodlu örnekte % 11.3326, SN2 kodlu örnekte % 11.3985, SN3 kodlu örnekte % 12.1479 ve SN4 kodlu örnekte % 12.364 oranında sülfat külü miktarı hesaplanmıştır.

Sülfat külü miktarının en fazla % 12 olması istenmektedir (Wichtl, 1994). SN1 ve SN2 kodlu örneklerin sülfat külü miktarı % 12'nin altındayken, SN3 ve SN4 kodlu örneklerde ise sülfat külü miktarının istenilen maksimum değerin çok az üstünde olduğu görülmüştür.

İnce Tabaka Kromatografisi çalışmalarında, 20x20 cm boyutlarında ve 0.25 mm kalınlığında Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) plağı kullanılmıştır. Flos Sambuci örneklerinden hazırlanan ekstrelerden 20'şer µl, rutin, klorojenik asit, hiperozit ve kafeik asit standartlarını içeren şahit çözeltisinden ise 10 µl olacak şekilde plağa uygulanmış; formik asit, su, metil etil keton ve etil asetat (1:1:3:5 h/h/h/h) çözücü karışımından oluşan mobil faz kullanılmak suretiyle uygulama noktasından itibaren çözücü sistemi 10 cm yükselecek şekilde plak developpe edilmiştir. Difenilborik asidin aminoetil esterinin etilasetattaki çözeltisi ve ardından Makrogol 400'ün metanoldeki çözeltisinin püskürtülmesiyle önce gün ışığında, daha sonra 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında plak incelenmiştir. Kromatografi plağının 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında ve gün ışığında çekilen fotoğrafları sırasıyla resim 1 ve resim 2'de görülmektedir. Tüm örnekleri içeren kromatogramın, farmakopede belirtilen referans ve test çözeltilerini içeren kromatogramlarla genel olarak uyum içinde olduğu görülmüştür. Plak 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendiğinde, SN1 ve SN4 kodlu örneklerdeki klorojenik asit ve rutine ait renkli floresans lekelerin daha belirgin olduğu izlenmiştir.

S. nigra türlerinde total flavonoit içeriğinin saptanmasında spektrofotometrik miktar tayini (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) yanında, elektrokinetik kapiler kromatografi (EKK) (Pietta, Bruno, Mauri, & Rava, 1992), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography-HPLC) (Pietta, Bruno, Mauri, & Rava, 1992), kapiler elektroforetik analiz (Seitz, Oefner, Nathakarnkitkool, Popp, & Bonn, 1992) gibi birçok analiz yöntemi kullanılmıştır.

Yaptığımız çalışmada farmakopede (European Pharmacopoeia 8.0, 2013) (Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2017) belirtilen spektrofotometrik miktar tayini yöntemi kullanılmış olup, izokersitrozit üzerinden flavonoit miktarı hesaplanmıştır. SN1, SN2, SN3 ve SN4 kodlu örnekler için hesaplanan ortalama değerler sırasıyla % 0.862, 0.807, 0.699, 0.623 şeklindedir. Farmakopede

izokersitrozit üzerinden hesaplanan flavonoit miktarının en az % 0.8 olması gerektiği belirtilmektedir (European Pharmacopoeia 8.0, 2013). SN1 ve SN2 kodlu örneklerin farmakopede belirtilen miktarla uyumlu olduğu, SN3 ve SN4 kodlu örneklerin ise % 0.8 değerinin altında kaldığı görülmüştür. SN1 kodlu Bozdağ'dan toplanmış olan örneğin flavonoit miktarının incelenen örnekler arasında en yüksek olduğu ve SN4 kodlu Isparta'dan toplanmış olan örneğin ise flavonoit miktarının en düşük olduğu belirtilebilir.

Genetik ve bitkinin yaşı gibi faktörlere ilaveten UV radyasyon, toplama zamanı ve ayrıca böceklerin verdiği hasarın yanı sıra aynı habitatta yetişen diğer türlerle olan kompetisyonu da içeren farklı çevresel faktörlerin, bitkilerdeki polifenolik bileşik miktarını etkilediği bilinmektedir (Rieger, Müller, Guttenberger, & Bucar, 2008).

Buna ilaveten *S. nigra* çiçek ve meyvelerinin yabancı örneklerinin içermiş olduğu flavonol miktarlarının yüksek rakımda yetişen örneklerde daha fazla olduğu bulunmuştur (Rieger, Müller, Guttenberger, & Bucar, 2008).

Sambucus nigra meyveleri üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, Amerika Birleşik Devletleri'nin doğusunda farklı coğrafik bölgelerden toplanmış doğal meyve popülasyonlarında fitokimyasal varyasyon görülmüştür. Genel olarak güney bölgelerden toplanmış meyvelerin total flavonol ve klorojenik asit miktarlarının kuzey bölgelerinden toplanmış olan meyvelere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak meyvelerin, flavonol ve klorojenik asit miktarlarının genetik ve çevresel nedenlere bağlı olarak değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Mudge, ve diğerleri, 2016). Çalışmamıza dahil edilen doğadan toplanan SN1 (İzmir-Bozdağ) ve SN4 (Isparta-Gölcük) kodlu örneklerin ve SN3 (eczanede satılan) ve SN4 (aktarda satılan) kodlu ticari drogların total flavonoit miktarlarında farklılık görülmesi literatürde belirtildiği şekilde, bitkileri etkileyen çevresel faktörlerin (toplama zamanı, yükseklik, iklimsel koşul, vb) ve bitkilerin genetik özelliklerinin farklı olmasına bağlı olabilir.

Bitkisel ekstraların, gıdaların ve bileşiklerin antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesinde, stabilitesi ve uygulama kolaylığı açısından en çok tercih edilen antioksidan aktivite tayin yöntemi olan DPPH radikal süpürücü aktivite deneyine çalışmamızda yer verilmiştir. Bu deneyde sonuçlar DPPH absorbansını % 50 oranında azaltan antioksidanın konsantrasyonu olarak verilmektedir (Chen, Bertin, & Frolidi, 2013). Bu kapsamda SN1, SN2, SN3 ve SN4 kodlu örneklere ait IC₅₀ değerleri sırasıyla 32,09; 34,61; 33,70; 46,55'tir.

Sambucus nigra bitkisi üzerinde DPPH yöntemini de içeren farklı antioksidan tayin çalışmaları literatürde mevcuttur. Bu yöntem kullanılarak Slovakya’da 56 farklı bölgeden toplanan 113 farklı *S. nigra* genotipi üzerinde yapılan bir çalışmada bitkinin taze ve kurutulmuş çiçeklerinden yararlanılmıştır. Taze çiçeklerin bitki özü, alkol ekstraları ve infüzyonları; kurutulmuş çiçeklerinin ise şurup formu kullanılmıştır. Anti-radikal aktivite sırasıyla; infüzyon için % 85.12-89.29 % 10’luk dilüe bitki özü için %16.81-24.16, alkol ekstresi için % 90.9-93.6’dır. %10’luk ve %40’lık oranda hazırlanan şurup formları için ise % 37.92 ile % 62.82 aralığında değişmektedir (Sedláčková , ve diğerleri, 2018).

S. nigra bitkisinin çiçek ve meyvelerinden oluşan 24 drog örneği üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise, örneklerin infüzyonu hazırlanmış ve DPPH ve ‘Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (Ferric Reducing Antioxidant Power-FRAP)’ yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda çiçeklerin antioksidan aktivitesinin, total flavonoit ve fenolik asit içeriğine bağlı olarak meyvelere göre daha fazla olduğu görülmüştür (Viapiana & Wesolowski , 2017).

Yapılan bir diğer çalışmada *S. nigra* çiçek ve meyveleriyle zenginleştirilmiş mısır gevreği gibi atıştırılabilir ürünlerde ‘Likit Kromatografi-Elektrosprey İyonizasyon-Kütle Spektrometrisi (Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry- LC-ESI-MS/MS)’ yöntemiyle fenolik asit ve flavonoitlerin kalitatif ve kantitatif analizi yapılmış ve antiradikal özellikleri saptanmıştır. %20, %10 ve %5 oranda *Sambucus nigra* çiçekleriyle zenginleştirilmiş mısır gevreği ekstralarında yüksek antiradikal etkinlik görülürken, %20 oranında *S. nigra* meyveleriyle zenginleştirilmiş ürünün ise orta derecede serbest radikal süpürücü özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Oniszczuk , Olech , Oniszczuk, Wojtunik-Kulesza, & Wojtowicz, 2016).

Minimum % 0.5 bioflavonoit, rutin ve % 1 tannik asit içerdiği belirtilen *S. nigra* ekstralarıyla yapılan deneysel çalışmada DPPH yöntemiyle antioksidan kapasite ölçülmüştür. *S. nigra* ekstresi standartlarla karşılaştırıldığında daha iyi bir radikal süpürücü etkinlik göstermiştir (Stoilova , Wilker , Stoyanova , Krastanov , & Stanchev , 2007).

S. nigra bitkisinin meyve ve dallarının % 1 HCl içeren metanollü ekstraları hazırlanmış ve ABTS radikali kullanılarak Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayin yöntemi uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda meyve ve dallarda farklı total fenolik içerik tespit edilmesine rağmen benzer antioksidan aktivite görülmüştür. Aynı zamanda

hidroksil (OH) radikali süpürücü etkileri de benzer özelliktedir. Ancak nitrik oksit (NO) radikali süpürücü etkinlik açısından dallar meyvelere göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (Silva , Ferreira , & Nunes , 2017).

DPPH ve β -karoten/linoleik asit yöntemlerinin kullanıldığı ve *S. nigra*'nın yaprak, meyve ve çiçeklerinin metanol ekstraktlarındaki antioksidan içeriği ve toplam flavonoid miktarıyla antioksidan gücü arasındaki ilişkiyi inceleyen bir diğer çalışmada çiçek ekstraktlarına kıyasla yaprak ekstraktlarında, ekstraksiyon sıcaklığının antioksidan içeriği arttırdığını gösterilmiştir (Dawidowicz , Wianowska , & Baraniak , 2006).

Farklı yöntemlerle yapılan antioksidan aktivite çalışmalarını içeren kaynaklar incelendiğinde çiçeklerin meyvelere göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilebilir.

Yaptığımız çalışmada ise, en yüksek aktivite total flavonoid miktarının da en yüksek bulunduğu SN1 kodlu örnekte (IC_{50} : 32,09), en düşük aktivite ise total flavonoid miktarının da en düşük bulunduğu SN4 kodlu örnekte (IC_{50} : 46,55) görülmüştür.

Sonuç ve Öneriler

Araştırmamızda Ödemiş-Bozdağ'dan ve Isparta'dan toplanan, aktardan ve eczaneden temin edilen toplam dört farklı Flos Sambuci örneği Avrupa Farmakopesi'ne göre incelenmiştir. Bu kapsamda kurutmada kayıp, bütün kül, HCl'de çözünmeyen kül miktarları hesaplanmıştır. Ek olarak DAB 10'da yer alan yöntemden faydalanılarak sülfat külü miktar tayini gerçekleştirilmiştir (Deutsches Arzneibuch (DAB), 1997).

Rutin, klorojenik asit, hiperozit ve kafeik asit standartları kullanılarak drog örneklerinin İnce Tabaka Kromatografisi ile teşhis ve kontrolleri yapılmıştır. Spektrofotometrik miktar tayin yöntemi kullanılarak izokersitrozit üzerinden % flavonoit miktarları hesaplanmıştır. DPPH yöntemiyle radikal süpürücü aktivite tayin edilmiştir.

İncelediğimiz örnekler arasında SN1 kodlu Ödemiş-İzmir'den toplanan örneğin kalite özelliklerinin diğer örneklerle göre daha yüksek olduğu belirtilebilir.

S. nigra'nın çiçeklerinin yanı sıra farklı kısımların üzerinde DPPH radikal süpürücü aktivite dışında farklı yöntemler [FRAP, Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (Cupric Reducing Antioxidant Capacity-CUPRAC) ve ABTS] kullanılarak yapılan antioksidan aktivite çalışmaları literatürde yer almaktadır (Çelik, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2014) (Viapiana & Wesolowski , 2017) (Dawidowicz , Wianowska , & Baraniak , 2006) (Silva , Ferreira , & Nunes , 2017).

Flos Sambuci örneklerinin antioksidan potansiyellerinin ortaya konulmasında ileriki çalışmalarda farklı yöntemlerin kullanılması uygun olabilir.

S. nigra meyveleriyle ilgili monograf EMEA'da yer almasına rağmen Avrupa Farmakopesi ve Türk Farmakopesi'nde bulunmamaktadır. Literatürde meyveler üzerinde gerçekleştirilmiş gerek içerik, gerekse aktiveyle ilgili çok fazla sayıda çalışma yer almaktadır (Sidor & Gramza-Michalowska, 2015) (Veberic, Jakopic, Stampar, & Schmitzer, 2009). Bundan sonraki araştırmalarda fitokimyasal ve farmakolojik açıdan meyvelerin de çalışılması planlanmaktadır.

Kaynaklar

- Applequist, W. L., & Center, W. L. (2015). A Brief Review of Recent Controversies in the Taxonomy and Nomenclature of *Sambucus nigra* sensu lato. T. A. L. (Dü.), *Proc. 1st IS on Elderberry* . içinde St. Lois: Acta Hort.
- Ataee , R., Falahati, A., Ebrahimzadeh , M. A., & Shokrzadeh, M. (2016). Anticonvulsant activities of *Sambucus nigra*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*(20), 3123-3126.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkilerle Tedavi*. Nobel Tıp Kitabevi.
- Beaux , D., Fleurentin , J., & Mortier, F. (1999). Effect of extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth, *Hieracium pilosella* L., *Sambucus nigra* L. and *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. In Rats. *Phytotherapy Research*(13), 222-225.
- Bhattacharya, S., Christensen, K. B., Olsen, L. C., Christensen, L. P., Grevsen, K., Færgeman , N. J., . . . Oksbjerg , N. (2013). Bioactive Components from Flowers of *Sambucus nigra* L. Increase Glucose Uptake in Primary Porcine Myotube Cultures and Reduce Fat Accumulation in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*(61), 11033-11040.
doi:dx.doi.org/10.1021/jf402838a I
- Chen, C., Zuckerman, D. M., Brantley, S., Sharpe, M., Chidress, K., Hoiczky, E., & Pendleton, A. R. (2014). *Sambucus nigra* extracts inhibit infectious bronchitis virus at an early point during replication. *BioMed Central Veterinary Research*(10), 24. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/24>
adresinden alındı
- Chen, Z., Bertin, R., & Frolidi, G. (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, 138, 414-420.
- Ciociu , M., Badescu , L., Badulescu , O., Tutunaru , D., & Badescu, M. (2012). Protective Intervention of *Sambucus nigra* Polyphenols In The Diabetic Heart. *Annals of RSCB*(17).

- Cunha, S., Meireles, D., & Machado, J. (2016). Sambucus nigra- a promising natural source for human health. *Experimental Pathology and Health Sciences*(8), 59-66.
- Çelik, E. S., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2014). Identification and Anti-oxidant Capacity Determination of Phenolics and their Glycosides in Elderflower by On-line HPLC-CUPRAC Method. *Phytochemical Analysis*(25), 147-154. doi:10.1002/pca.248
- Davis, P. H. (Dü.). (1972). *Flora of Turkey* (Cilt IV). Chicago: Edinburg University Press.
- Dawidowicz , A. L., Wianowska , D., & Baraniak , B. (2006). The antioxidant properties od alcoholic extracts from Sambucus nigra L. (antioxidant properties of extracts). *Swiss Society of Food Science and Technology*(39), 308-315. doi:10.1016/j.lwt.2005.01.005
- Demirezer, Ö. L. (Dü.). (2011). *FFD MONOGRAFLARI "Tedavide Kullanılan Bitkiler"*. Ankara: MN Medikal & Nobel Tıp Kİtabevi .
- Deutsches Arzneibuch (DAB). (1997).
- Elder flower. (2000). M. Blumenthal (Dü.) içinde, *Herbal Medicine: Expanded Commission E*. American Botanical Council.
- EMA/HMPC/44208/2012. (2014). *Assesment report on Sambucus nigra L. , fructus*. London, U.K.: Committe on Herbal Medicinal Products (HMPC) European Medicines Agency (EMA).
- EMA/HMPC/611504/2016 . (2018). *Assesment report on Sambucus nigra L., flos*. London, United Kingdom: Committe on Herbal Medicinal Products (HMPC) European Medicines Agency (EMA).
- European Pharmacopoeia 8.0. (2013). *Elder Flower*, 1232-1234.
- Gray , A. M., Abdel-Wahap, Y. H., & Flatt , P. R. (2000). he Traditional Plant Treatment, Sambucus nigra (elder), Exhibits Insulin-Like and Insulin-Releasing Actions In Vitro. *J. Nutr.*(130), 15-20.

- Harokopakis , E., Albzreh , M. H., Haase , E. M., Scannapieco , F. A., & Hajishengallis, G. (2006). Inhibition of Proinflammatory Activities of Major Periodontal Pathogens by Aqueous Extracts From Elder Flower (*Sambucus nigra*). *J. Periodontal*. doi:10.1902/jop.2006.05
- Hawkins , J., Baker, C., Cherry, L., & Dunne, E. (2019). Black elderberry (*Sambucus nigra*) supplementation effectively treats upper respiratory symptoms: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Copmlementary Therapies in Medicine*(42), 361-365.
<http://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.12.004> adresinden alındı
- Ho, G. T., Wangenstein, H., & Barsett, H. (2017). Elderberry and Elderflower Extracts, Phenolic Compounds, and Metabolites and Their Effect on Complement, RAW 264.7 Macrophages and Dendritic Cells. *International Journal of Molecular Science*(18), 584. doi:10.3390/ijms18030584
- Jørgensen , U., Hansen , M., Christensen , L. P., Jensen, K., & Kaack, K. (2000). Olfactory and Quantitative Analysis of Aroma Compounds in Elder Flower (*Sambucus nigra* L.) Drink Processed from Five Cultivars. *J. Agric. Food Chem*(48), 2376-2383.
- Kong, F.-k. (2009). Pilot Clinical Study on a Proprietary Elderberry Extract: Efficacy in Addressing Influenza Symptoms. *Online Journal of Pharmacology and Pharmacokinetics*(5), 32-43.
- Manganelli , U. R., Zaccaro , L., & Tomei , P. (2005). Antiviral activity in vitro of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. et K. and *Sambucus nigra* L. *J Ethnopharmacology*(98(3)), 323-327. doi:10.1016/jep.2005.01.021
- Mills , S., & Hutchins, R. (Dü). (tarih yok). European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP) Monographs. UK.
- Mudge, E., Applequist, W. L., Finley, J., Lİster, P., Townesmith, A. K., Walker, K. M., & Brown, P. N. (2016). Variation of select flavonols and chlorogenic acid content of elderberry collected throughout the Eastern United States. *Journal of Food Composition and Analysis*(47), 52-59.

- Mumcuoglu, M., Safirman, D., & Ferne, M. (2010). Elderberry. P. M. Coates, M. R. Blackman, G. M. Cragg, M. Levine, J. Moss, & J. D. White (Dü) içinde, *Encyclopedia of Dietary Supplements*. ashley.
- Olejnik , A., Kowalska , K., Olkowicz , M., Rychlik , J., Juzwa , W., Myszka, K., . . . Bialas, W. (2015). Anti-inflammatory effects og gastrointestinal digested Sambucus nigra L. fruit extract analysed in co-cultured intestinal epithelial cells and lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Journal of Functional Foods*(19), 649-660. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.064> adresinden alındı
- Oniszczyk , A., Olech , M., Oniszczyk, T., Wojtunik-Kulesza, K., & Wojtowicz, A. (2016). Extraction Methods, LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic compounds and antiradical properties of functional food enriched with w-elderberry flowers or fruits. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.09.003> adresinden alındı
- Opris , R., Tatomir , C., Olteanu , D., Moldovan , R., Moldovan, B., David, L., . . . Kiss, M. L. (2017). The effect of Sambucus nigra L. extract and phytosynthesized gold nanoparticles on diabetic rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*(150), 192-200. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.033> adresinden alındı
- Pietta, P., Bruno, A., Mauri, P., & Rava, A. (1992, Şubat 28). Separation of flavonol-2-O-glycosides from Calendula officinalis and Sambucus nigra by highperformance liquid and micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography*(593), 165-170.
- Popovic , M. R., Mimica-Dukic , N., Jakovljevic , V., & Kujundzic , S. (2001). In Vivo Effects of Sambucus nigra L. On CCl4-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*(8(4)), 1-7. doi:10.1300/J044v08n04 01
- Rieger, G., Müller, M., Guttenberger, H., & Bucar, F. (2008). Influence of Altitudinal Variation on the Content of Phenolic Compounds in Wild Populations of Calluna vulgaris, Sambucus nigra and Vaccinium myrtillus.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*(56), 989-9086.
<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf801104e> adresinden alındı
- Roschek , B., Fink , R. C., McMichael , M. D., Li, D., & Alberte, R. S. (2009).
 Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection in vitro.
Phytochemistry(7), 1255-1261 . doi:10.1016/j.phytochem.2009.06.003
- Sedláčková , V. H., Grygorieva , O., Fatrcová-Šramková , K., Vergun , O.,
 Vinogradova, Y., Ivanisova, E., & Brindza, J. (2018). The Morphological and
 Antioxidant Characteristics of Inflorescences within wild-growing genotypes
 of elderberry (*Sambucus nigra* L.). *Potravinárstvo Slovak Journal of Food
 Sciences*(12), 444-453. <http://doi.org/10.5219/919> adresinden alındı
- Seitz, U., Oefner, P. J., Nathakarnkitkool, S., Popp, M., & Bonn, G. K. (1992).
 Capillary electrophoretic analysis of flavonoids. *Electrophoresis*(13), 35-38.
<http://doi.org/10.1002/elps.1150130107> adresinden alındı
- Shahsavandi , S., Ebrahimi, M. E., & Farahani, A. H. (2017). Interfering With Lipid
 Raft Association: A Mechanism to Control Influenza Virus Infection By
Sambucus nigra. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*(16(3)), 1147-
 1154.
- Sidor, A., & Gramza-Michalowska, A. (2015). Advanced research on the
 antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food- a
 review. *Journal of Functional Foods*, 18, 941-958.
- Silva , P., Ferreira , S., & Nunes , F. M. (2017). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) by-
 products a source of anthocyanins and antioxidant polyphenols. *Industrial
 Crops and Products*(95), 227-234.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.018> adresinden alındı
- Stoilova , I., Wilker , M., Stoyanova , A., Krastanov , A., & Stanchev , V. (2007).
 Antioxidant activity of extract from elder flower (*Sambucus nigra* L.). *Herba
 Polonica*(53).
- Szentmihályi , K., Kery , A., Then, M., Lakatos, B., Sandor , Z., & Vinkler, P.
 (1998). Potassium-Sodium Ratio for the Characterization of Medicinal Plant
 Extracts with Diuretic Activity. *Phytotherapy Research*(12), 163-166.

- Toulemonde , B., & Richard, H. M. (1983). Volatile Constituents of Dry Elder (Sambucus nigra L.) Flowers. *J. Agric. Food Chem*(31), 365-370.
- Türk Farmakopesi Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu. (2017). *II*, 2184-2186. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı.
- USDA Natural Resources Conservation Services. (tarih yok). *Sambucus nigra L. Classification*. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SANI4> adresinden alındı
- Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F., & Schmitzer, V. (2009). European elderberry (Sambucus nigra L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, *114*, 511-515.
- Viapiana, A., & Wesolowski , M. (2017). The Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Infusions of Sambucus nigra L. *Plant Foods Hum Nutr*(72), 82-87. doi:10.1007/s11130-016-0594-x
- WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. (2004). *Flos Sambuci, II*. Cenevre: World Organisation.
- Wichtl, M. (1994). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. (N. G. Bisset, Dü.) Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers.
- Yeşilada , E., Üstün , O., Sezik , E., Takaishi , Y., Ono, Y., & Honda, G. (1997). Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1 α , interleukin-1 β ve tumor necrosis factor α . *Journal of Ethnopharmacology*(58), 59-73.
- Zeybek, U., & Haksel, M. (2011). *Türkiye'de ve Dünyada Önemli Tıbbi Bitkiler ve Kullanımları*. İzmir: ARGEFAR & Helvacızade Sağlık Yayınları-1.

Teşekkür

Tez çalışmam sırasında değerli bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bana yol gösterici ve destek olan çok sevgili danışman hocam sayın Prof. Dr. Nehir Somer'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bitkisel materyalin Isparta örneğinin toplanmasında emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa Ali Önür'e, Prof. Dr. Gülen İrem Kaya'ya ve Doç. Dr. Buket Bozkurt'a çok teşekkür ederim.

DPPH radikal süpürücü aktivite tayin çalışmalarındaki destekleri için Prof. Dr. Gülen İrem Kaya'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarına mali destek sağlayan T.C. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü'ne (BAP Proje No: 16-ECZ-003) teşekkürlerimi sunarım.
Çalışmalarım boyunca bana destek olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İzmir, Haziran 2019

Ayşe KAYASAN

Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Kayasan, Ayşe

Uyuluğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 24/12/1989, Münih/Almanya

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0(506) 2451422

e-posta : aysekayasan@hotmail.com

Eğitim Derecesi Okul/Program Mezuniyet yılı

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi/Fitoterapi Programı-Devam ediyor

Lisans: Ege Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi 2008-2013

İş Deneyimi, Yıl Çalıştığı Yer Görev

2014, devam ediyor Kayasan Eczanesi-Eczacı

Yabancı dil

İngilizce