



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**GİNKGO BİLOBAEKSTRESİ VE GİNKGO BİLOBA İÇEREN  
FARMASÖTİK PREPARATLAR ÜZERİNE KALİTE KONTROL  
ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS**

**HATİCE FİDAN**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MERSİN**  
**KASIM-2021**

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

***GİNKGO BİLOBA* EKSTRESİ VE GİNKGO BİLOBA İÇEREN  
FARMASÖTİK PREPARATLAR ÜZERİNE KALİTE KONTROL  
ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATİCE FİDAN**

ORCID ID: 18-04120171-004

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üye SELDA DOĞAN ÇALHAN**

ORCID ID: 0000-0003-2589-8585

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MERSİN**

**KASIM- 2021**

## ÖZET

### **GİNKGO BİLOBA EKSTRESİ VE GİNKGO BİLOBA İÇEREN FARMASÖTİK PREPARATLAR ÜZERİNE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI**

*Ginkgo biloba* ağacı yaşayan fosil olarak nitelenen, Ginkgoaceae familyasının yaşayan tek türüdür. *Ginkgo biloba*nın yapraklarının standardize ekstresi, hafif ve ortasiddetli serebrovasküler yetmezlik durumlarının, birincil dejeneratif demans, vasküler demans ya da her iki formun da bulunduğu zihinsel hastalıkların, periferik arteriyel tıkanıklığın, kulak çınlamasının, vertigo ve astım tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada; *Ginkgo biloba* ekstresi içeren üç adet ilaç ve üç adet takviye edici gıda eczane den, iki adet bitkisel ürün aktardan temin edildi. Toplam 8 adet ürün üzerindeki flavon, glikozid ve ginkgolid A, B, C miktarları LC-QTOF/MS (Sıvı kromatografisi-Uçuş zamanlı/Kütle spektrometresi) ile tayin edildi. Ayrıca söz konusu bu ürünlerin ve *Ginkgo biloba* ekstresinin toplam fenol içeriği Folin-Ciocalteu metoduna göre, flavonoid içeriği Alüminyum klorür metoduna göre ve serbest radikal süpürücü aktivitesi ise 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Temin edilen tabletler için friabilite ve dezintegrasyon testi, kapsüller için dezintegrasyon testi gibi analizler gerçekleştirilerek kalite kontrol açısından değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre, eczane den temin edilen ilaç ve takviye edici gıdaların tümünde kalitatif olarak flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C içerdiği tespit edildi. Ayrıca tablet/kapsül başına düşen miktarı beyan edilen limitler içeriğinde olduğu bulundu. Ancak aktardan alınan bitkisel ürünlerin birinde ne kalitatif ne de kantitatif flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C'ye rastlanmadı. Diğer bitkisel üründe ise kalitatif olarak rastlanan flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C'nin miktar olarak etiketinde belirtilen den çok daha düşük olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** *Ginkgo biloba*; kalite kontrol; ilaç; bitkisel ürün

## ABSTRACT

### QUALITY CONTROL STUDIES ON PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING *GINKGO BILOBA* EXTRACT AND *GINKGO BILOBA*

The *Ginkgo biloba* tree is the only living species of the Ginkgoaceae family, which is described as a living fossil. The standardized extract of *Ginkgo biloba* leaves is used in the treatment of mild to moderate cerebrovascular insufficiency, primary degenerative dementia, vascular dementia, or in both forms it is used in the treatment of mental diseases, peripheral arterial occlusive disease, tinnitus, vertigo and asthma. In this study, the amounts of flavone glycosides and ginkgolide A, B, C in three pharmaceuticals containing *Ginkgo biloba* extract from different companies, three supplements, and two herbal products obtained from herbalists were determined by LC-QTOF/MS. In addition, the total phenol content of aforementioned products and *Ginkgo biloba* extract was determined spectrophotometrically by the Folin-Ciocalteu method, the flavonoid content was determined by the Aluminum chloride method, and the free radical scavenging activity was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) method. Friability and disintegration test for supplied tablets, disintegration test for capsules were performed and evaluated in terms of quality control. According to the results obtained, it was determined that all of the drugs and supplements obtained from the pharmacy contained flavone glycosides and ginkgolide A, B, C and the amount per tablet/capsule was found to be within the declared limits. However, in one of the herbal products taken from herbalists neither qualitative nor quantitative flavone glycosides and ginkgolide A, B, C were found. In the other herbal product the amount of flavone glycoside which were found qualitatively and ginkgolide A, B, C, was much lower than what was stated on the label.

**Keywords:** *Ginkgo biloba*; quality control; herbal supplement; herbal product

## TEŞEKKÜR

Üç yıllık zorlu ve uzun yolculukta bana ışık olan, çoğu zaman yorduğum ama sabırla, çalışkanlığıyla, yardımseverliğiyle her adımında bana yol gösteren kıymetli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üye Selda Doğan ÇALHAN'a kocaman sevgi dolu teşekkürlerimi sunuyorum. Hem lisans hem de yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgisi ve tecrübesiyle her zaman yolumu aydınlatan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nefise Özlen Şahin'e tez çalışmam boyunca yanımda olduğu için teşekkür ederim. Ayrıca deneysel çalışmalarımın bir bölümünde bana yardım eden Araş. Gör. Sayın Samet Poyraz'a çok teşekkür ederim.

Tezimin araştırma projesi olarak desteklenmesini sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine (2021-1-TP2-4135) teşekkür ederim.

Ömrüm boyunca her anımda elimden tutan varlığıyla mutluluk kaynağım olan kıymetli annem ve babama bu eğitim hayatım boyunca da desteğinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Hem manevi desteğinden ötürü hem de laboratuvarında geçirdiğim vakit süresince eczanemizi yöneten sevgili kardeşlerim Ahmet Necdet Fidan ve Hudanur Fidan'a kucak dolusu sevgilerimi iletiyorum. Hayatımın dönüm noktalarında keskin kararlar alarak bana yol gösteren ileri görüşlü ilkokul öğretmenim Coşkun Güler hocama teşekkürlerimi sunuyorum. İyi ki bu yolu seçmişim dediğim bi süreci yüksek lisans hayatım. Emeği geçen güzel insanlar iyiki varsınız.

HATİCE FİDAN

Kasım 2021

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2021-1-TP2-4135

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b>	<b>4</b>
2.1. <i>Ginkgo Biloba</i> Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.1. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Fiziksel Özellikleri	5
2.1.2. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Kimyasal Özellikleri	6
2.1.3. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Alternatif tedavide (Nutrasötikler) Yeri	6
2.2. <i>Ginkgo Biloba</i> nın Biyolojik ve Farmakolojik Etkileri	7
2.2.1. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Antioksidan Etkisi	7
2.2.2. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Alzheimer ve Zihinsel Zeka Üzerine Etkisi	8
2.2.3. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Diyabet üzerine Etkisi	8
2.2.4. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Anti-Enflamatuvar Etkisi	9
2.2.5. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi	9
2.2.6. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Akciğer Hastalıkları Hücresel Bağışıklık Üzerine Etkisi	9
2.2.7. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Diğer Hastalıklar Üzerinde Etkisi	9
2.2.8. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Diyet Takviyeleri Üzerindeki Etkisi	9
2.3. <i>Ginkgo Biloba</i> Bitkisinin Zararlı Etkileri	10
2.4. <i>Ginkgo Biloba</i> İçeren Farmasötik Preparatlar	11
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>12</b>
3.1. Materyal	12
3.1.1. Materyal Eldesi	12
3.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Reaktifler	13
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Çözeltilerin Hazırlanması	14

	<b>Sayfa</b>
3.2.1.1. Suni Mide Vasatının Hazırlanması	14
3.2.1.2. %20'lik Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması	14
3.2.1.3. %10'luk AlCl <sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması	14
3.2.1.4. %5'lik NaNO <sub>2</sub> çözeltisinin hazırlanması	14
3.2.1.5. 80 µM DPPH çözeltisinin hazırlanması	14
3.3. Kullanılan Cihazlar	14
3.4. Kullanılan Yöntemler	15
3.4.1. Ginkgo Biloba İçeren Tablet ve Kapsüllerde Dağılıma testi	15
3.4.1.1. Mide Vasatında Dağılıma Testi	15
3.4.2. <i>Ginkgo Biloba</i> İçeren Tabletlerde Friabilite Testi	16
3.4.3. Ekstraksiyon	16
3.4.3.1. Metanol ile ekstraksiyon	16
3.4.3.2. Metanol sonrası asit hidrolizi yoluyla ekstraksiyon	17
3.4.3.3. Etil asetat ile sıvı-sıvı ekstraksiyon	17
3.4.4. Toplam Fenol Miktarının Belirlenmesi	18
3.4.5. Toplam Flavonoid Miktarının Belirlenmesi	19
3.4.6. DPPH• Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi	19
3.4.7. LC-MS Cihazının çalışma koşulları	19
3.4.7.1. LC-MS Cihazının Çalışma Koşulları	19
3.4.7.2. LC-MS için stok çözeltilerin hazırlanması	20
3.5. Gerçekleştirilen Validasyon Çalışmaları	21
3.5.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve Alt tayin sınırı (LOQ)	21
3.5.2. Geri Kazanım	21
<b>4. BULGULAR</b>	<b>22</b>
4.1. Dezentegrasyon Testleri	22
4.2. Friabilite Testleri	22
4.3. Toplam Fenol Miktarının Belirlenmesi ile Elde Edilen Bulgular	23
4.4. Toplam Flavonoid Miktarının Belirlenmesi ile Elde Edilen Bulgular	23
4.5. DPPH• Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi ile Elde Edilen Bulgular	24
4.6. Standartların Kalibrasyon Doğrularının Çizilmesi	25
4.6.1. Kersetin	26
4.6.2. Kemferol	26
4.6.3. Ginkgolit A	26
4.6.4. Ginkgolit B	27
4.6.5. Ginkgolit C	27

	<b>Sayfa</b>
4.7. Standartlara ait LC-MS Kromatogramları	28
4.8. Validasyon Çalışmaları	32
4.8.1. %Geri Kazanım hesaplanması	32
4.8.2. % LOD, LOQ değerlerinin hesaplanması	32
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	<b>33</b>
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	38

---



## TABLolar DİZİNİ

---

	<b>Sayfa</b>
Tablo 3.1. Kullanılan ürünlerin formülasyonu /içeriği/temin edildiği yer	12
Tablo 3.2. Kimyasal malzemeler ve reaktifler	13
Tablo 3.3. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar	15
Tablo 3.4.LC-MS Cihazı özellikleri ve çalışma koşulları	19
Tablo 3.5. Kullanılan Standartların Molekül Yapısı ve Formülü	21
Tablo 4.1. Suni Mide Vasatında numunelerin dağılmaya başlama anı	22
Tablo 4.2. Suni Mide Vasatında ürünlerin dağılma toplam süresi (dk)	22
Tablo 4.3. Tabletlerin Friabite test sonucu madde kayıp oranları	23
Tablo 4.4.Ekstrakt ve tüm örnekler için toplam fenolik, flavonoid ve inhibisyon değerleri	25
Tablo 4.5. Standartlara ait moleküler iyon pikleri ve alıkonma zamanları	30
Tablo 4.6. Örneklerle ait alıkonma zamanları	31
Tablo 4.7. Örneklerde bulunan ve bulunması beklenen Flavon glikozit, GA, GB, GC miktarları (mg/tablet, mg/kapsül)	31
Tablo 4.8. Geri kazanım değerleri	32
Tablo 4.9 LOD ve LOQ değerleri	32

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

---

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. <i>Ginkgo Biloba</i> yaprakları	4
Şekil 2.2. <i>Ginkgo Biloba</i> bitkisi (mabet ağacı)	5
Şekil 2.3. <i>Ginkgo Biloba</i> terpen trilaktonların (a bilobalid, b ginkgolid), <i>Ginkgo biloba</i> flavonoidlerin (c) kimyasal yapıları	6
Şekil 3.1. Dezentegrasyon Cihazı	16
Şekil 3.2. Friabilite Cihazı	16
Şekil 3.3. Ultrasonik banyo	17
Şekil 3.4. Geri soğutucuda Reflux İşlemi	17
Şekil 3.5. Fazla çözücünün evaporatör ile buharlaştırılması	18
Şekil 3.6. Sıvı-sıvı ekstraksiyon	18
Şekil 4.1. Gallik asit için kalibrasyon eğrisi	23
Şekil 4.2. Kersetin kalibrasyon eğrisi	24
Şekil 4.3. Askorbik asit için kalibrasyon eğrisi	24
Şekil 4.4. Kersetine ait kalibrasyon doğrusu	26
Şekil 4.5. Kemferola ait kalibrasyon doğrusu	26
Şekil 4.6. Ginkgolit A'ya ait kalibrasyon doğrusu	27
Şekil 4.7. Ginkgolit B'ye ait kalibrasyon doğrusu	27
Şekil 4.8. Ginkgolit C'ye ait kalibrasyon doğrusu	28
Şekil 4.9. Kemferol'e ait kütle spektrumu	28
Şekil 4.10. Kersetin'e ait kütle spektrumu	28
Şekil 4.11. Ginkgolit A'ya ait kütle spektrumu	29
Şekil 4.12. Ginkgolit B'ye ait kütle spektrumu	29
Şekil 4.13. Ginkgolit C'ye ait kütle spektrumu	29
Şekil 4.14. Standart karışımına ait kromatogram	30

---

## KISALTMALAR ve SİMGELER

---

<b>Kısaltma/Simge</b>	<b>Tanım</b>
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
UV-GB	Ultraviyole ve görünür bölgeabsorbsiyon
AH	Alzheimer hastalığı
DM	Diabetes Mellitus
DSP	Serotonin nörepinefrin geri alım inhibitörü (SNRI)
DSP	Diyabetik sensorimotor polinöropati
GA	Ginkgolik asit
mg	Miligram
mL	Mililitre
tb	Tablet
M	Molar
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
L	Litre
Dk	Dakika
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Alt tayin sınırı

## 1.GİRİŞ

Bitkisel ürünlerin, şifa bulmak için insanlar tarafından kullanımı Paleolitik çağlara kadar uzanmaktadır. Dolayısıyla hastalıkların tedavisinde önlenmesinde veya etkilerinin azaltılmasında bitkisel ürünlerin kullanımı ve bu amaçla geliştirilen farklı tedavi yöntemlerinin oluşturulması insanlık tarihi kadar eskidir [1]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) açıklamalarına göre dünya nüfunun çok büyük bir çoğunluğu sağlık hizmetleri uygulamalarında bitkisel ürünlerden faydalanmaktadır [2]. Üstelik bu alanda yapılan harcamaların payı azımsanamayacak ölçüdedir [3]. Dolayısıyla bitkisel ürünler ve sağlık, ilaç endüstrisi için büyük ve etkili bir pazar olarak önemini korumaktadır.

Türkiye; iklim çeşitliliğiyle, yüzölçümünün genişliğiyle ve coğrafik konumuyla bitkisel ürünlerde geniş yelpazeye sahiptir. Son yıllarda doğal bitkisel ürünlere ilgi ve talep artmakta, gıda ve ilaçta sentetik katkıları yerine doğal ve bitkisel kaynaklı katkıların kullanımı tercih edilmektedir[4].Bitkisel ürünleri içeren çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Türkiye 'de 2012 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada [5] hastaneye başvuran annelerin yaklaşık % 42 lik bir kısmının çocukları için bitkisel ürün kullandıklarını ortaya koymaktadır. Ayrıca Karalı ve ark yapıkları bir diğer çalışmada [6] 18 yaş altı 120 kanser hastasının %73,3'nün en az bir kere bitkisel ürün tecrübe ettiklerini rapor etmişlerdir.

Bitkisel ürünlere gösterilen bu ilginin başlıca nedenleri arasında hastaların bireysel çözüm üretme eğiliminde olması, doğal oduğu için yan etkisi veya zararı olmayacağını düşünmesi, bitkisel ürünlere daha kolay ve daha az maliyetle ulaşılıyor olması, yazılı ve görsel medyada bitkisel ürünlere gösterilen ilgi, modern tıp seçeneklerinin geleneksel tedaviye alternatif olabileceğinin düşünülmesi sayılabilir [7,8].

Daha önce de değinildiği gibi bitkisel ürünlerin tedavi edici özellikleri yüzyıllardır bilinmektedir ve bu doğrultuda çok etkili sonuçlar da alınmaktadır. Ancak bir ürünün bitkisel içerikli olması o ürünün insan, hayvan ve ekosistem için herhangi bir sorun teşkil etmeyeceği, toksik olmayacağı veya sağlık açısından herhangi bir risk oluşturmayacağı ve sağlıklı bireyler için tehdit oluşturmayacağı anlamına gelmez ve gelmemelidir. Bitkinin doğru kısımlarının doğru zamanda ve doğru yöntem ile toplanması, tedavi edici biyoaktif türlerin valide edilmiş analitik yöntem ve cihazlarla tespit edilmesi, herhangi bir ağır metal birikimi veya kontaminasyon riskinin olmaması, ürünle ilgili gerçekleştirilen kalite kontrol çalışmalarının eksiksiz şekilde yapılması ve standardizasyonlara uygunluğunun belirlenmesi hayati önem taşıyan son derece önemli konu başlıklarıdır. Bir ürünün bitkisel içerikli olması bu ürünün her zaman zararsız ve yan etkisi olmayacağı anlamına gelmez. Aksine bitkilerin üretildiği yer, koşullar, toplanma

zamanı, kullanılış yöntemi bitkisel ürünün etkinliğini ve güvenilirliğini birinci dereceden etkilemektedir. Son yıllarda özellikle yazılı ve görsel basında bitkisel içerikli ürünlerin her zaman ve her koşulda zararsız olabileceğine dair alanında uzman olmayan kişiler tarafından verilen bilgiler toplumda yanlış anlaşılmalara neden olmaktadır. Bu durum halk sağlığı açısından da büyük riskler taşımaktadır. Özellikle bitkisel ürünlerin pek çoğunda standardizasyon konusunda eksiklikler söz konusudur. Bu eksiklikler üretici firmadan kaynaklanabildiği gibi içerik bakımından farklılıklar gözlenebilir. Bu da yetersiz etki ve toksisite ile sonuçlanabilir. Ayrıca üretim, depolama ve taşıma zinciri içerisinde istenmeyen kirlilik ve kontaminasyon da karşılaşılan bir diğer önemli sorundur. Bu nedenle bitkisel ürünlerin etkinlik testleri ve kalite kontrol çalışmaları farmasötik teknoloji için büyük önem taşımaktadır. Söz konusu ürünlerin kalite kontrol çalışmaları ve standardizasyonlara uygunluk testlerinin çok dikkatli ve herhangi bir şüpheye yer bırakılmayacak şekilde yerine getirilmesi bir zorunluluktur.

Unutulmamalıdır ki etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmamış bitkisel ürünlerin kullanımı ciddi karaciğer toksisitesine [9], hipertansiyona, kanama riskine, ürün-ilaç etkileşimlerine neden olmaktadır [10].

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde bitkisel ürünlere ve/veya bitkisel kökenli besin takviyelerinin denetimi ve kontrolü yönünde bazı yasal boşluklar yer almaktadır [11]. Bu durum söz konusu ürünlerin kullanım amacını sekteye uğratacak şekilde bazı olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle bitkisel ürünlerin önerilmesi hem yetkili kişi ve kurumlar tarafında yapılmalı hem de kalite kontrol, etkinlik ve güvenilirlikleri herhangi bir şüpheye yer bırakmayacak şekilde belirlenmelidir. Bu durum halk sağlığı için büyük önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında bitkisel ürünler yelpazesinde son derece popüler olan *Ginkgo Biloba* ekstresi ve bu bitki ekstresini içeren farmasötik preparatlar ile çalışıldı.

*Ginkgo biloba* ağacı yaşayan fosil olarak nitelenen, Ginkgoaceae familyasının yaşayan tek türüdür. Mabey ağacı olarak da bilinen bu ağaç başta Çin, Avustralya, Asya, Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yetiştirilmektedir [12,13]. Yeryüzünde 150 milyon yıldır yaşayan bu ağaç aynı zamanda bilinen en eski ağaç türüdür ve bu nedenle yaşayan fosil denmektedir [11].

*Ginkgo Biloba* yapraklarının ve meyvelerinin tıbbi kullanımı geleneksel Çin tıbbında oldukça yaygındır. *Ginkgo Biloba* L. Meyveleri geleneksel olarak akciğer hastalıkları (astım, bronşit, öksürük vb.), alkol bağımlılığı, idrar yolu enfeksiyonları, yaprakları ise kalp ve akciğer hastalıkları ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [11,12].

Bu bitkinin bronşları açtığı, hatırlamayı kolaylaştırdığı ve özellikle Alzheimer hastalığından korunmak amacıyla kullanıldığına dair çalışmalar söz konusudur [13]. Ayrıca sinir

sistemini tutan epilepsi için kullanımı önerilmektedir. *Ginkgo biloba* üzerine yapılan fitokimyasal araştırmalar bu bitki de var olan biyoaktif türlerin terpenler, fenolik bileşikler ve organik asitler olduğunu göstermiştir [15].

*Ginkgo biloba* ekstresi ve ekstreden hazırlanan farmasötik preparatların literatür özetinde verildiği gibi faydalı birçok uygulamasının olmasının yanında bitkisel içerikli bu ürünlerin üretim, etkinlik ve formülasyon kalite kontrollerinin bilimsel temelde değerlendirilmesi toplum sağlığı açısından bir zorunluluktur. Ayrıca *Ginkgo biloba* yaprak ekstresinden hazırlanan bitkisel ilaçları kullanan hastalar, Sağlık Bakanlığı denetimlerine tabi olmadan hazırlanan bazı *Ginkgo* preparatlarını kendi kullandıkları ilaçlarla eşdeğer kabul edip kullanma yoluna gidebilmektedirler. Bu durum istenmeyen sonuçları da beraberinde getirmektedir.

Bu sorunların çözümlenmesi için piyasada bulunan preparatların etkinlik, güvenlik ve farmasötik kalite kontrolleri açısından değerlendirilmesi gerekir. Bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında *Ginkgo Biloba* ekstresi ve *ginkgo biloba* içeren farmasötik preparatlar üzerine etkinlik ve kalite kontrol çalışmaları gerçekleştirildi. Farklı firmalar tarafından piyasaya sürülen, eczaneden temin edilen *Ginkgo biloba* içeren ilaç, takviye edici gıda ve aktardan temin edilen iki adet bitkisel ürünün kalite kontrol testleri gerçekleştirildi ve içerik bakımından karşılaştırıldı. Ayrıca *Ginkgo biloba* ekstresinin, *Ginkgo biloba* içeren ilaç, takviye edici gıda ve bitkisel ürünlerin toplam fenolik, flavonoid ve radikal süpürücü aktivite değerleri hesaplandı.

## 2.KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1.Ginkgo Biloba Bitkisi Hakkında Genel Bilgiler

Ginkgoacea familyasının yaşayan tek türü olan *Ginkgo biloba* Çin'e özgü bir bitkidir [3]. Çin dışında; sıcak ılıman iklime sahip ülkelerde yer alır.Avustralya, Güneydoğu Asya, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Kore, Avrupa'nın belli bazı bölgelerinde süs ağacı olarak rastlanır[16,17].Türkiye'nin belli yerlerinde *Ginkgo biloba* yaprağı ve meyvesi yetiştirilir(KAYACIK 1980, YALTIRIK 1993)[18].Ömürleri 1000 yılı bulabilen *Ginkgo biloba* ağacı Tapınak bölgesinde yetiştirildiği için mabet ağacı adını alıp, 30-40 m'ye ulaşabildiği bilinmektedir [19].

Yeryüzünde 200 milyon yıldır yaşayan *Ginkgo biloba*, aynı zamanda bilinen en eski ağaç türüdür ve bu nedenle yaşayan fosil olarak adlandırılır [16,20].Yaygın adı kızlık ağacıdır [21].

*Ginkgo biloba* bitkisi ile ilgili enteresan bir bilgi, 1945 yıllarında Hiroşima'ya atılan atom bombasının düştüğü yerden yalnızca 1-2 km uzaklıktaki 6 tane *Ginkgo biloba* ağacının patlamadan etkilenmeyen tek canlı tür olmaları ve bugüne kadar ayakta kalabilmeleridir [19].

*Ginkgo biloba* içerdiği antioksidan flavonoidleri ile kalp kasını, retinayı, sinirleri ve damarları serbest radikallerin tahrip edici etkisinden koruyup başka önemli bileşen fenolik damarların genişlemesine katkı sağlayarak plak oluşumunu ve damar tıkanıklığını önlemektedir [22].

Düzenli olarak tüketildiğinde bronşları açan bitki, demleme usulü içilirse astım ataklarında azalmayı sağlar. Unutkanlığa iyi gelen ginkgo, odak sorununa da şifa gelmektedir. Özellikle alzheimer hastalığı için önerilen bitki, bu hastalığa yakalanma riskini ciddi oranda azaltmaktadır [20]. *Ginkgo biloba* bitkisinin iddialı olduğu sistemlerden biri sinir sistemidir [19].

*Ginkgo biloba*nın saflaştırılma işlemlerinin artması ve çeşitli kullanım alanlarıyla birlikte pazardaki artan talep sayısı ile daha yaygın bir saha alanına dönüşmüştür [15].



Şekil 2.1.Ginkgo Biloba bitkisi yaprakları

### 2.1.1. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Fiziksel Özellikleri

*Ginkgo biloba* bitkisi boyları 35 m ve genişlikleri 7 m olup, yüksek, dallanmış gövdeli, kışın yaprak döken, yeşil yapraklı reçine taşıyan ağaçlardır [16,22].

Dioik olan bu ağacın yeşil olan yaprakları kışın yaprak döker, yüksek, dallanmış gövdeli, reçine taşıyan, olgunlukta acımsı tereyağ kokusundaki *Ginkgo biloba* dioik ağaçlardır. Yaprakları saplı, yelpaze şeklinde, iki loblu, dikotom damarlı, alternan ya da kısa dallar üzerinde üç ya da beşerli gruplar halinde dizilmiş ve sonbaharda sararıp dökülür. Stamenler saplı ve iki polen keselidir. Erkek durumu sarkık bir amentuma benzer, dişi durum bir sap ucuna yerleşmiş olan iki ovülden ibarettir. Meyve drupaya benzer ve erik büyüklüğündedir. Embriyo çift çeneklidir [16].

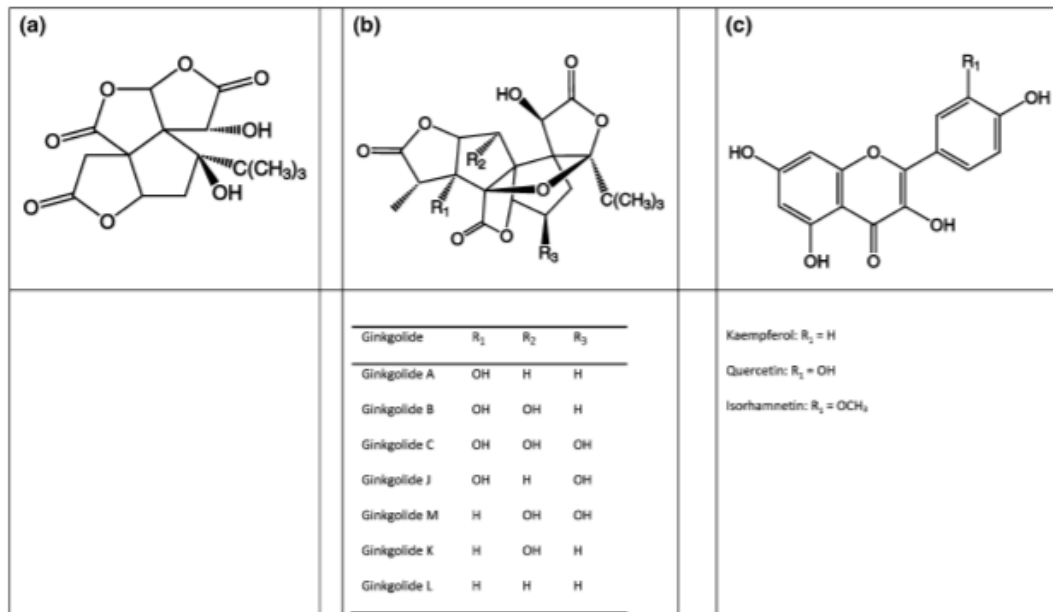
Ginkgoaceae familyasının yaşayan tek tür olarak dioik olan bu ağaçlarda dişi ve erkek eşey organları farklı ağaçlardadır. Türe özgü olan yaprakları saplı, yelpaze şeklinde, iki loblu ve dikotom damarlıdır [17]. *Ginkgo biloba* yaprakları; tatlı, acı ve büzücü bir tada sahiptir [20].



**Şekil 2.2.** *Ginkgo Biloba* bitkisi (Mabet Ağacı) [23]

### 2.1.2. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Kimyasal Özellikleri

*Ginkgo biloba*, flavonoidler, terpen trilaktonlar, proantosyanidinler, ginkgolik asitler, biflavon, poliflavonlar ve ginkgotoksinler gibi farklı bileşenler içerir [24,25]. Bitkideki farklı bileşenlerin miktarındaki farklılıklar öncelikle hasat dönemleri, kurutma süreci ve depolama ile ilgilidir. Farmasötik anlamda kullanılan ve standardize edilen EGb 761 en sık kullanılan *Ginkgo biloba* standardıdır. Standardize *Ginkgo biloba* ekstraktı spesifik farmakolojik özellikleresahip iki önemli ana fraksiyona sahiptir. Bunlar başlıcaginkgolid A, ginkgolid B, ginkgolid C, ginkgolid J den oluşan terpen trilaktonlar ve bilobaliddir. Standardize ekstrakta var olan bir diğer önemli bileşen ise flavonoidlerdir. Bu grup başlıca kersetin, kemferol ve isorhamnetin içerir[24,25].



**Şekil 2.3.** *Ginkgo biloba* terpen trilaktonların (a bilobalid, b ginkgolid), *Ginkgo biloba* flavonoidlerin (c) kimyasal yapıları[26].

### 2.1.3. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Alternatif tedavide (Nutrasötikler) Yeri

*Ginkgo biloba* yapraklarından hazırlanan standardize ekstre bitkisel ilaç veya besin gıda takviyesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [27]. *Ginkgo biloba* yaprak ekstresinutrasötik olarak oldukça çok tercih edilmektedir. *Ginkgo biloba*nın bilişsel bozukluk, demans, alzheimer hastalığı ile ilişkili semptomların hafifletilmesinde nutrasötik formları da piyasada mevcuttur.[20]. Bu ürünlerin nerdeyse tamamında standardize EGb 761 *Ginkgo biloba* ekstresi kullanılır. Söz konusu ekstrede %5-%7 arasında terpen lakton, %22-%25 arasında ise flavonoid içerdiği bilinmektedir [13]. *Ginkgo biloba* yaprak ekstresini içeren, reçeteli ve reçetesiz sıvı/katı dozaj formlarına ulaşmak mümkündür. Bunama, baş dönmesi ve kulak çınlaması ile periferik

arteriyel oklüsif hastalığının tedavisinde güvenilir ve etkili bir şekilde kullanılmaktadır. *Ginkgo biloba* kuru ekstresi için katı ve sıvı dozaj formlarında önerilen kullanım dozu günde 120-240 mg olarak tespit edilmiştir [5]. Tedavi süresi ve yaşanan belirtilerin şiddetine bağlı olarak 1,5-2 ay kullanılabilir. *Ginkgo biloba* standardize ekstresini içeren bitkisel ilaçları kullanan hastalarda karşılaşılan en büyük tehlike, Sağlık Bakanlığı kontrollerinden geçmemiş bazı *Ginkgo biloba* preparatlarını, kullandıkları ilaçlara eşdeğer görüp, reçetesiz temin etmeleri ve bunları kullanmalarıdır [28]. Ancak Türkiye’de ulaşılan çoğu *Ginkgo biloba* preparatlarında gerçekleştirilen karşılaştırmalı fotoeşdeğerlik çalışmalarında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından izin verilen ürünlerin içeriğinin olması gereken miktarda etken madde içermediği ve tağşişe yönelik bazı uygulamaların söz konusu olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle doğal olan her şey zararsız ve güvenilirdir kanısı doğru değildir. Aksine doğal ürünlerin yetiştiği bölge, toplanma zamanı, kurutma şekli, saklama ve taşınma koşulları biyoaktif türlerin özelliğini ciddi ölçüde desteklenmelidir. Bu nedenle bitkisel ürünlerin standardizasyon çalışmaları son derece önemlidir.

## **2.2. *Ginkgo Bilobanın* Biyolojik ve Farmakolojik Etkileri**

### **2.2.1. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Antioksidan Etkisi**

“EGb761” olarak kodlanan *Ginkgo biloba* bitkisini standardize ekstresi birçok ülkede bitkisel ilaç olarak en sık kullanılan ürünlerden biridir. GBE içinde flavon glikozitler, terpenoidler ve çeşitli organik asitler bulunur. Flavon glikozitler; kersetin, kemferol ve izohamnetin bileşiklerinden oluşur. Bunların güçlü antioksidan özellikleri vardır. Ortamda bulunan hidroksil, peroksil ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikalleri sönmüleyerek hücreleri protein ve lipid gibi biyolojik makromoleküllerin oksidasyonuna karşı korurlar [29].

*Ginkgo bilobanın* sağlık üzerindeki etkilerinin içerdiği polifoneller, flavonoidler ve ginkgolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ginkgolit metabolizmada trombosit aktive edici faktörü inhibe ederken, yapısındaki antioksidan maddeler ortamda bulunan hidroksil, süperoksit ve peroksil radikalleri gibi serbest radikalleri sönmüleyerek hücreleri protein ve lipid oksidasyonuna karşı korurlar [29]. *Ginkgo biloba* endojen antioksidan enzimleri artırır ve asetilkolinesteraz aktivitesini azaltır [30]. Güçlü antioksidan özellikleri mevcuttur. Bu sebeple, *Ginkgo biloba* yaprak özleri çok sayıda ülkede reçeteli bitkisel ilaçlar grubu adı altında satılmaktadır [29].

### **2.2.2. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Alzheimer ve Zihinsel Zeka Üzerine Etkisi**

Alzheimer hastalığı (AH), İlerleyici bozulma ile ilişkili ve sinaptik başarısızlık sonucu oluşan yaygın bir yaşa bağlı bunama olarak nörodejeneratif bir hastalıktır. Son zamanlarda demansın başlamasını veya ilerlemesini önlemek için bitkisel tedavilere başvurulmuştur. Bu tedavi seçeneklerinden öne çıkanlardan *Ginkgo biloba* özü Alzheimer tedavisinde uygulanmıştır. *Ginkgo biloba* özütü %24 flavonol içerir, glikozitler (örn: kemferol, kersetin ve isorhametin türevleri) ve %6 terpen trilaktonlar (örn: ginglydes A, B, C, J, Bilobalid) ile yapılan çok sayıda çalışma *Ginkgo biloba*'nın Alzheimer üzerindeki etkisini doğrulamıştır [30,31].

Kan akımını artırması ve eritrosit deformasyonunu engellemesi, PAF antagonisti etkilerinin sonucunda kan viskozitesini düşürmesi, özofil infiltrasyonunu engellemesi, Süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz enzimleri üzerinden serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu engellemesine bağlanması zihinsel performansın artırılması ve Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanımının temelini oluşturur [16].

*Ginkgo biloba* L. yaprak özleri, zihinsel zeka üzerindeki olumlu etkisi nedeniyle tüketicileri cezbetmektedir. Takviye edici gıdalar ve ilaçlar; kurutulmuş yaprak malzemeleri ve EGb 761 gibi standartlaştırılmış yaprak özleri kullanılarak üretilir[3]. *Ginkgo biloba*'nın bilişsel bozukluk, demans, Alzheimer hastalığı ile ilişkili semptomların hafifletilmesinde nutrasotik formları mevcuttur [5]. *Ginkgo biloba*'nın performans ve hafıza artırıcı etkisiyle piyasada giderek daha yaygın bir kullanım haline gelmiştir [17].

Alzheimer tedavisinde demans olan hastaların, ekstreden günde üç kez 40mg alınması önerilir. Bilişsel işlevi geliştirmek için sağlıklı kişilerin günlük 120-600mg *Ginkgo biloba* özütü önerilir. Konsantrasyon artırıcı ve antivertigo ajanı olan *Ginkgo biloba* hafıza için nootropik ilaç olarak sınıflandırılır [31].

### **2.2.3. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Diyabet Üzerine Etkisi**

Diabetes Mellitus (DM) tüm dünyada yaygın bir hastalıktır. Pakistan'da yaklaşık 5 milyon insan DM'den etkileniyor ve bu rakamın yüzde 13,9 artması bekleniyor [32]. Diyabetik polinöropati hastalığını tedavi etmek için Aldo redüktaz, trisiklik antidepressanlar, serotonin nörepinefrin geri alım inhibitörü (SNRI), belirli antikonvülsanlar ve opioid analjezikler kullanılır. DSP, ancak çoğu zaman çabalar sınırlı hale gelir veya yetersiz kalır. Diyabette *Ginkgo biloba* yaprağı ekstresi kullanılır [33]. Diyabetik sensorimotor polinöropati (DSP), sık karşılaşılan bir nöropatinin distal ve simetrik formu. DSP genellikle uyku ve belirgin ağrı ile sonuçlanır. Ağrı, yanma, bıçaklama, karıncalanma hissi gibi belirtileri vardır. *Ginkgo biloba* ana aktif bileşenleri sayesinde flavonoidler (flavon glikozitler, kersetin) ve terpenoidler

(ginkgolidler ve bilobalidler) *Ginkgo biloba*'nın kortikal üzerindeki nöromodülatör etkilerini göstermiştir. Çalışmada kullanılan sıçanlarda motor ve duyu sinirlerinin indeksleriyle Quercetin'in azaldığı gösterilmiştir. *Ginkgo biloba* içeren takviyeli diyetler erken DM başlangıcını engellediği tespit edilmiştir [19].

#### **2.2.4. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Anti-Enflamatuvar Etkisi**

PAF antagonisti olması nedeniyle anti-enflamatuvar etkileri vardır ve inflamatuvar bir hastalık olan İrritabl Bağırsak Sendromunda kullanımıyla ilgili çalışmalar hala devam etmektedir [17].

#### **2.2.5. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi**

Antioksidan flavonoidler kalp kasını, sinirleri, retinayı ve damarları serbest radikallerin tahrip edici etkisinden korurken diğer önemli bileşen fenolik damarların genişlemesine yardımcı olarak plak oluşumunu ve damar tıkanıklığını önlemektedir [19]. *Ginkgo biloba*, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların tedavisinde etkili bir bileşendir [20].

#### **2.2.6. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Akciğer Hastalıklar ve Hücresel Bağışıklık Üzerine Etkisi**

*Ginkgo biloba* meyveleri geleneksel olarak yıllarca akciğer hastalıklarında (astım, bronşit, öksürük vb.) kullanılmıştır [16]. Geleneksel olarak, *Ginkgo biloba* yaprakları bronşiyal astım için ilaç ve yara sargısı olarak kullanılmıştır. Bazı araştırmalar, *Ginkgo Biloba* özütünün koruyucu olduğunu ileri sürmüştür. Memeli hücreler üzerinde yapılan araştırmalar, *Ginkgo biloba* özütünün süpürücü olabileceğini göstermiştir. Memeli hücreleri nitrik oksit reaktivitesine karşı koruyucu özellik gösterip Nitrik oksit ve üretimini engellemiştir. Böylelikle dokular, morfolojik bozulmayı, oksidatif belirtileri ve mitokondriyal yaşlanmaya bağlı hasarları inhibe eder [19,21].

#### **2.2.7. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Diğer hastalıklar Üzerinde Etkisi**

*Ginkgo biloba*; hipertansiyon, astım, kulak çınlaması, kognitif bozukluk [20], alkol bağımlılığı, idrar yolu enfeksiyonlarında olumlu etkisini göstermiştir.

Ağacın olumsuz çevre şartlarına rağmen yaşamını sürdürebilmesi, görsel amaçlı park ve bahçe düzenlemelerinde kullanılmıştır [16].

#### **2.2.8. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin Diyet Takviyeleri Üzerindeki Etkisi**

*Ginkgo biloba*, dejeneratif nörolojik hastalıkların önlenmesi ve hatta ilerlemesinin

azaltılmasında kullanılması nedeniyle dünya çapında en çok ticarileştirilen tıbbi bitkidir. Oksidatif stres ile dejeneratif nörolojik hastalıklar arasındaki ilişki göz önünde bulundurularak, farklı diyet takviyelerinin (şurup ve hap) antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Yaprak infüzyonu, sulu ve metanolik ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. Ayrıca *G.Biloba* Yağ asitleri; şekerler, organik asitler, tokoferoller, fenolikler ve flavonoidler gibi besinsel ve biyoaktif bileşenlerde kimyasal olarak karakterize edilmiştir. Palmitik, a-linolenik ve oleik asitler içerdiği ana yağ asitleridir. İçerdiği fruktoz en bol şekerdir. Kinik asit en bol bulunan organik asittir ve tokoferol açık ara en bol bulunan vitamindir. Diyet takviyeleri, daha yüksek fenolik ve flavonoid konsantrasyonları nedeniyle *Ginkgo biloba* infüzyonundan ve ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Yüksek bitki özü konsantrasyonuna (100 mg) sahip haplar, yüksek antioksidan konsantrasyon özelliindedir [29].

### 2.3. *Ginkgo Biloba* Bitkisinin zararlı etkileri

Bitkisel ürünlerin tedavi ve hastalığı önlemek amacıyla kullanılması yüzyıllardır bilinen bir gerçektir. Bitkilerin doğal ve faydalı özellikleri bilindiği gibi yanlış doz veya kullanımda toksisite etkisi ortaya çıktığı unutulmamalıdır. Bitkilerin içeriğinde biyoaktif türlerin olduğu bilimsel araştırmalardagörülmüştür. Bir ürünün bitkisel olması ürünün her zaman zararsız ve yan etkisi olmayacağı anlamına gelmez. Son yıllarda yazılı ve görsel basında bitkisel içerikli ürünlerin her koşulda zararsız olabileceğine dairalanında uzman olmayan kişiler tarafından verilen bilgiler toplumda yanlış yönlendirmelere neden olmaktadır. Bu durum halk sağlığı açısından büyük riskler taşımaktadır. Özellikle bitkisel ürünlerin pek çoğunda standardizasyon konusunda eksiklikler söz konusudur. Üretici firmadan kaynaklandığı gibi içerik bakımından da farklılıklar gözlenebilir. Böylelikle yetersiz etki ve toksisite ile sonuçlanabilir. Bu sebeple bitkisel ürünlerin etkinliklerin testleri ve kalite kontrol çalışmaları büyük önem taşır.

*Ginkgo biloba'nın* Çin, Kore ve Japonya'da kullanımı yaygındır. *Ginkgo biloba* üzerine yüzlerce araştırma yapılmış ve flavonoidler, terpen trilaktonlar, fenolik bileşikler içerdiği bilinmektedir. *Ginkgo biloba'nın* içeriği toksik bileşiklerden dolayı kan dolaşımını iyileştirmek ve nöroprotektif etkilerinden yararlanmak için *ginkgo biloba* uygulamaları sınırlandırılmıştır.

Bir gıda ve ilaç endüstri firması tarafından yapılan araştırmada altı yaşın altındaki çocuklarda *Ginkgo biloba'nın* sık kullanılması sonucu zehirlenme etkisi olduğu ortaya çıkmıştır. *Ginkgotoksin* maddesinin kusmaya hatta epilepsiye neden olduğu zehirleyici ajan olduğu görülmüştür. *Ginkgolik asitin* (GA) alerjilere, sitotoksisiteye, nörotoksisiteye yol açarak zararlı etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Bu zararlı etkisi nedeniyle ekstratlarda *Ginkgo biloba* yapraklarının farmasötiklerde kullanımı sınırlandırılmıştır [33,34].

Piyasaya sunulan ginkgo biloba içeren takviye edici gıdalar birçok yan etki ve uyarıya sebep olmaktadır. Kanama, gastrointestinal rahatsızlık, bulantı, kusma, ishal, baş ağrısı, baş dönmesi, kalp çarpıntısı ve huzursuzluk [31].

#### **2.4. Ginkgo Biloba İçeren Farmasötik Preparatlar**

Türkiye piyasasında sağlık bakanlığı onaylı tabletler, tarım bakanlığı onaylı kapsüller ve aktar/internetten temin edilen kapsüller, tabletler, çaylar mevcuttur [23].



### 3.MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Materyal Eldesi

*Ginkgo biloba* içeren farmasötik preparatlar üzerine gerçekleştirilen kalite kontrol çalışmalarında Türkiye piyasasında var olan ve içeriğinde standardize *Ginkgo biloba* ekstresi içeren 8 adet farmasötik preparat ile çalışılmıştır. Bunlardan üç tanesi eczanedan temin edilen, tablet formunda ve Sağlık Bakanlığı onaylıdır. Diğer 3 tanesi ise Tarım ve Köy işleri Bakanlığı onaylı kapsül formunda olan besin takviyeleridir. Çalışılan son 2 adet ürün ise aktardan temin edilmiştir. Bunlardan biri tablet diğeri toz formundadır. Tablet, kapsüller ve tozların üretim yerleri, prospektüs /etiketlerinde bildirdikleri ginkgo biloba ekstresi miktarları **Tablo 3.1.**'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.**Kullanılan ürünlerin formülasyonu /içeriği/temin edildiği yer

Ürün sınıfı	Formülasyon	Ürün İçeriği	Temin edilen yer
A	Kapsül	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 90mg	Eczane
B	Kapsül	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 100mg	Eczane
C	Kapsül	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 620mg	Eczane
D	Tablet	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 120mg	Eczane
E	Tablet	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 120mg	Eczane
F	Tablet	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 80mg	Eczane
G	Tablet	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 456 g	Aktar
H	Çay	<i>Ginkgo biloba</i> yaprak ekstresi 456 g	Aktar

### 3.2.Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Reaktifler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasal malzemeler, reaktifler ve kullanım amaçları **Tablo 3.2.**'de verilmiştir.

**Tablo 3.2.**Kimyasal malzemeler ve reaktifler

Adı	Marka	Kullanım Amacı
Kemferol( $C_{15}H_{10}O_6$ )	Sigma Aldrich	Standartlar olarak kullanıldı.
Kuersetin( $C_{15}H_{10}O_7$ )	Sigma Aldrich	Standartlar olarak kullanıldı.
Ginkgolit A	Sigma Aldrich	Standartlar olarak kullanıldı.
Ginkgolit B	Sigma Aldrich	Standartlar olarak kullanıldı.
Ginkgolit C	Sigma Aldrich	Standartlar olarak kullanıldı.
Ginkgo Biloba ekstrakt		Toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite tayininde kullanıldı.
Hidroklorikasit (HCl)	Merck	Ekstraksiyon amaçlı asit hidrolizinde kullanıldı.
Metanol ( $CH_3OH$ )	Merck	Ekstraksiyonda kullanıldı.
Etilasetat ( $C_4H_8O_2$ )	Isolab	Sıvı-sıvı ekstraksiyonda kullanıldı.
Sodyum Karbonat ( $Na_2CO_3$ )	Tekkim	Toplam fenolik miktarının belirlenmesinde kullanıldı.
Sodyumnitrit( $NaNO_2$ )	Tekkim	Flavonoid miktarının belirlenmesinde kullanıldı.
Sodyum hidroksit (NaOH)	Tekkim	Flavonoid miktarının belirlenmesinde kullanıldı.
DDPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ )	Sigma Aldrich	Antioksidan aktivite tayininde kullanıldı.
Folin reaktifi	Sigma Aldrich	Toplam fenolik miktarının belirlenmesinde kullanıldı
Gallik asit ( $C_7H_6O_5$ )	Sigma Aldrich	Toplam fenolik miktarının belirlenmesinde standart olarak kullanıldı.
Alüminyumklorür ( $AlCl_3$ )	Sigma Aldrich	Flavonoid miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

### **3.2.1. Kullanılan Kimyasal Çözeltilerin Hazırlanması**

#### **3.2.1.1. Suni Mide Vasatının Hazırlanması**

HCl 16.4 mL

Distile su 2000mL

Avrupa farmakopesi baz alınarak 16.4mL HCl, distile su ile tamamlanarak suni mide vasatı, 2L olacak şekilde hazırlandı.

#### **3.2.1.2. %20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması**

Hassas terazide 20 g tartılan NaNO<sub>2</sub> balaonjoje alınarak suyun bir kısmında çözündürüldü sonra çözelti 100 mL'ye tamamlandı.

#### **3.2.1.3. %10'luk AlCl<sub>3</sub> çözeltisinin hazırlanması**

Hassas terazide 10 g tartılan AlCl<sub>3</sub> balaonjoje alınarak suyun bir kısmında çözündürüldü sonra çözelti 100 mL'ye tamamlandı.

#### **3.2.1.4. %5'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisinin hazırlanması**

Hassas terazide 5 g tartılan NaNO<sub>2</sub> balaonjoje alınarak suyun bir kısmında çözündürüldü sonra çözelti 100 mL'ye tamamlandı.

#### **3.2.1.5. 80 µM DPPH çözeltisinin hazırlanması**

Hesaplı miktar DPPH reaktifi hassas terazide tartılarak balon jeye alındı ve 100 mL metanolde çözüldü. Çözelti hazırlandıktan sonra alüminyum folyoya sarılı bir şekilde karanlık ve serin yerde muhafaza edildi.

Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıkta olup, çalışma boyunca ihtiyaç duyulan 18.2 mΩ distile su Millipore, Milli-Q A-10 marka saf su cihazından temin edildi.

### **3.3. Kullanılan Cihazlar**

Çalışmada kullanılan bütün cihaz ve ekipmanlar **Tablo 3.3.**'de özetlendiği gibidir.

**Tablo 3.3.** Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

<b>Kullanılan Cihaz</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Elektronik hassas terazi	Kern	Hassas tartım yapmak için kullanıldı.
Dezintegrasyon cihazı	Phama test	Dağılma testi için kullanıldı.
Etüv	WiseCube	Cam malzemelerin kurutulmasında kullanıldı.
Manyetik karıştırıcı	Termal	Reaktif ve örneklerin karıştırılmasında kullanıldı.
Friabilite Cihazı	Aymes	Ufalama-aşınma testinde kullanıldı.
UV- spektrofotometre	Shimadzu	Fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite tayininde kullanıldı.
LC-QTOF/MS	Agilent	Kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanıldı.

### 3.4. Kullanılan Yöntemler

#### 3.4.1. *Ginkgo Biloba* İçeren Tablet ve Kapsüllerde Dağılma testi

##### 3.4.1.1. Mide Vasatında Dağılma Testi

Avrupa farmakopesi'ne göre hazırlanan suni mide vasatında tablet ve kapsüllerin ne kadar sürede dağıldığını ölçmek amacıyla dağılma testi yapıldı. Suni mide vasatı, 2L hazırlandı. Mide vasatı cihaza yerleştirildi. Dezintegrasyon cihazının haznelere 6'şar adet numuneler (kapsül - tablet) cihaza yerleştirildi. Suni mide vasatı 37°C'ye getirildi. Sonra her numune(A, B, C, D, E, F, G) için ayrı ayrı dağılma süresi hesaplandı

HCl 16.4 mL

Distile su 2000 mL



Şekil 3.1. Dezentegrasyon Cihazı

### 3.4.2. *Ginkgo Biloba* İçeren Tabletlerde Friabilite Testi

Bu test, tabletlerin ambalajlama sırasında ya da taşınması sırasında özellikle kenarlarından ya da yüzeylerinden ufalanma olup olmayacağını test etmek amacıyla yapılır. Kendi çapı etrafında dönen ve tabletleri hafifçe belli bir yükseklikten döndürerek ufalanma potansiyellerini ölçen cihaza friabilatör denir. Genellikle 100 tablet 4 dakika boyunca test edilir. Amerikan Farmakopesi'ne göre kaplanmamış tabletlerin % 1'den daha az bir ufalanma değeri göstermesi istenir [31].



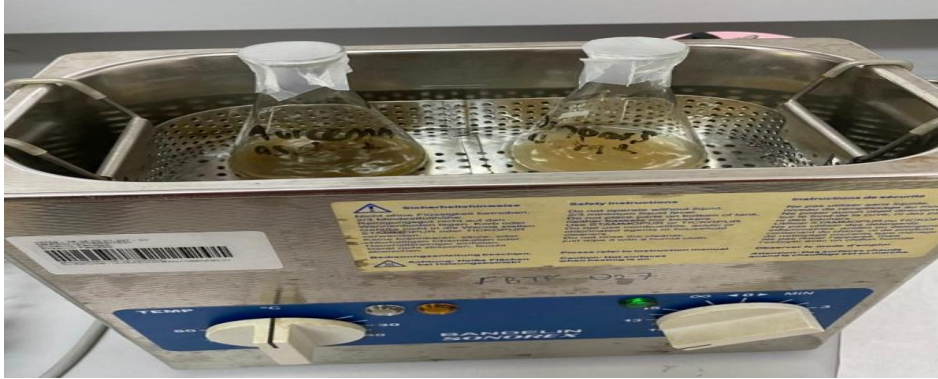
Şekil 3.2. Friabilite Cihazı

### 3.4.3. Ekstraksiyon

#### 3.4.3.1. Metanol ile ekstraksiyon

Bütün tablet ve /veya kapsül 1 adet tablet veya kapsüle eşdeğer olacak şekilde tartıldı. Tartılan örnekler üzerine 3\*15 mL analitik saflıkta (%99) metanol ilave edildi ve ultrasonikteekstraksiyonları sağlandı. Her ekstraksiyon sonrası çözünen kısımlar biriktirildi ve

son hacim olarak 50 mL ye metanol ile tamamlanarak LC-MS analizleri için buzdolabında + 4 °C de muhafaza edildi. Aynı işlemler aktardan temin edilen toz örneği için 100 mg alınarak tekrarlandı.



**Şekil 3.3.** Ultrasonik banyo

#### **3.4.3.2. Metanol sonrası asit hidrolizi yoluyla ekstraksiyon**

Bütün tablet ve /veya kapsül 1 adet tablet veya kapsüle eşdeğer olacak şekilde tartıldı. Yukarıda anlatıldığı gibi Metanol ile ekstraksiyonları sağlandı. Sonrasında üzerine derişik 5 mL HCl (% 37, Merck) ve 9 mL ultra saf su eklendi. 100-135 °C de yağ banyosunda geri soğutucuda reflux edildi. Elde edilen pembe kırmızı renkte ekstarktlar 25 mL ye tamamlanarak LC-MS analizleri için buzdolabında + 4 °C de muhafaza edildi. Aynı işlemler aktardan temin edilen toz örneği için 100 mg alınarak tekrarlandı.



**Şekil 3.4.** Geri soğutucuda Reflux İşlemi

#### **3.4.3.3. Etil asetat ile sıvı-sıvı ekstraksiyon**

Bütün tablet ve /veya kapsül 1 adet tablet veya kapsüle eşdeğer olacak şekilde tartıldı. Tartılan örnekler üzerine 3\*15 mL ultra saf su ilave edildi ve ultrasonikte ekstraksiyonları sağlandı. Her ekstraksiyon sonrası çözünen kısımlar biriktirildi ve son hacim olarak 50 mL ye

saf su ile tamamlandı. Ekstraktlar ayırma hunisine alınarak 3\*20 mL Etil asetat ile sıvı sıvı ekstraksiyonu sağlandı. Etil asetatlı organik fazlar birleştirilerek kuruluğa kadar uçuruldu. Elde edilen kalıntı 10 mL analitik saflıkta (%99) MeOH ile 10 mL ye tamamlandı. LC-MS analizleri için buzdolabında + 4 °C de muhafaza edildi. Aynı işlemler aktardan temin edilen toz örneği için 100 mg alınarak tekrarlandı. Hem standartlar hem de örnekler için üç farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanmış olup, elde edilen ekstraksiyon verimi ve % geri kazanım değerleri dikkate alındığında Flavon glikozitleri için en uygun ekstraksiyon yönteminin metanol ile çözünürleştirme işlemi sonrası asit hidrolizi olduğu görülmüştür. Terpen trilaktonlar için ise Etil asetat ile sıvı sıvı ekstraksiyon yönteminin en uygun ekstraksiyon yöntemi olduğuna karar verilmiştir.



**Şekil 3.5.** Fazla çözücünün evaporatör ile buharlaştırılması **Şekil 3.6.** Sıvı-sıvı ekstraksiyon

#### 3.4.4. Toplam Fenol Miktarının Belirlenmesi

Elde edilen ekstraktların toplam fenol miktarları, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanarak spektrofotometrik olarak tayin edildi [33]. 100 µL alınan ekstre örneği üzerine 7900 µL distile su ve 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi (%10, v/v suda), vortekslendi ve 2 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Hemen sonrasında karışıma 1.5 mL %20'lik (w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenerek tekrar vortekslendi. Elde edilen karışım oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra oluşan mavi renkli çözeltilerin absorbansı UV-spektrofotometrede, 765 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Standart olarak gallik asit kullanıldı. Elde edilen sonuçlar üç ölçümün ortalaması şeklinde ve mg GAE/g kuru ağırlık cinsinden hesaplandı.

### 3.4.5. Toplam Flavonoid Miktarının Belirlenmesi

Elde edilen ekstraktların toplam flavonoid miktarları Alüminyum klorür/Sodyum Nitrit metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü[34]. Belli oranda seyreltilmiş 500 µL ekstrakt örneği içinde 3 mL distile su bulunan bir tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 0.3 mL % 5'lik sulu NaNO<sub>2</sub> çözeltisi eklenerek vorteksledi. 5 dakika sonra karışıma 0.3 mL % 10'luk sulu AlCl<sub>3</sub> çözeltisi eklendi, 1 dakika sonra karışıma 2 mL, 1 M NaOH eklenerek tüpteki toplam hacim distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Son karışım tekrar vorteksledi ve 510 nm'deki absorbansı suya karşı okundu. Elde edilen sonuçlar üç ölçümün ortalaması şeklinde ve mg Kersitin/g kuru ağırlık cinsinden hesaplandı.

### 3.4.6. DPPH• Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Ekstraktların serbest radikal süpürücü aktivite değerleri DPPH yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçüldü [37]. Hazırlanan ekstraktların ve standart olarak kullanılan farklı derişimdeki askorbik asit çözeltisinden 100 µL alınarak üzerine taze olarak metanolde hazırlanan 80 µM DPPH çözeltisinden 2,9 ml ilave edildi, vorteksledi ve karanlıkta 1 saat inkübasyona bırakıldı. İşlem sonunda her bir karışım 517 nm'de köre karşı okundu. Sonuçlar üç ölçümün ortalaması şeklinde ve % inhibisyon şeklinde verildi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Abs \text{ kontrol} - Abs \text{ örnek}) / Abs \text{ kontrol}] \times 100$$

### 3.4.7. LC-MS Cihazı

#### 3.4.7.1. LC-MS Cihazının Çalışma Koşulları

**Tablo 3.4.** LC-MS Cihazı özellikleri ve çalışma koşulları

LC-MS Cihazı	Çalışma koşulları
Kolon	Poroshell 120 EC-C18 (3.0X50 mm, particle size 2.7 µm)
Mobil faz	% 0.1 sudaki formik asit (A) ve %100 metanol (B)
Gradyan elüsyonu	0 - 2 dk, 0%B→5%B; 2- 4dk, 5%B→95%B, 4 - 30dk, 95%B).
Analiz süresi	32dk
Kolon sıcaklığı	30 °C.
Enjeksiyon	10.0 µL

hacmi	
Akış hızı	1.0 mL/min.
Kurutma gazı akışı	10.0 L/Ddk; nebulizatör basıncı, 35 psi; gaz kurutma sıcaklığı, 325; azot 12L/dk
Tarama aralığı	m/z 100-1400

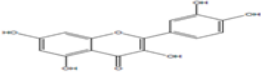
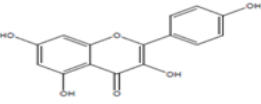
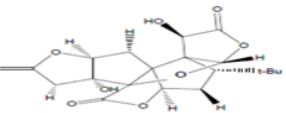
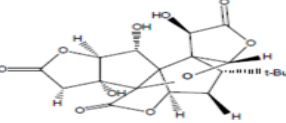
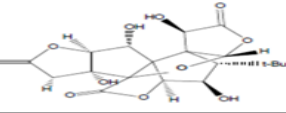
#### 3.4.7.2. LC-MS için stok çözeltilerin hazırlanması

Ginkgolit A, Ginkgolit B, Ginkgolit C'nin stok çözeltileri (200mg/L):2'er mg Ginkgolit A, B, C hassas terazide tam tartılarak 10 mL'lik balon jodelere alındı. Bir miktar metanol ile ultrasonik banyoda çözünmeleri sağlandı ve 10 mL'ye tamamlandı. HPLC çalışmalarında kullanılan standart ginkgolit çözeltileri, bu stok çözeltiden istenilen derişime metanol ile seyreltilerek hazırlandı.

Kersetin (400mg/L), kemferol'ün (200mg/L) stok çözeltileri: 4 mg kersetin ve 2 mg kemferol standartları hassas terazide tam tartılarak 10 mL'lik balon jodelere alındı. Bir miktar metanol ile ultrasonik banyoda çözünmeleri sağlandı ve balon jodede 10 mL'ye tamamlandı.

Standart olarak kullanılan Kersetin, Kemferol, Ginkgolit A, Ginkgolit B, Ginkgolit C'nin moleköl yapıları ve moleköler iyon pikleri **Tablo 3.5.**'de belirtildiğı gibidir.

**Tablo 3.5.** Kullanılan Standartların Molekül Yapısı ve Formülü

Standart	Molekül yapısı	Molekül formülü
<u>Kersetin</u>		$C_{15}H_{10}O_7$
<u>Kemferol</u>		$C_{15}H_{10}O_6$
<u>Ginkgolit A</u>		$C_{20}H_{24}O_9$
<u>Ginkgolit B</u>		$C_{20}H_{24}O_{10}$
<u>Ginkgolit C</u>		$C_{20}H_{24}O_{11}$

### 3.5. Gerçekleştirilen Validasyon Çalışmaları

#### 3.5.1. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve Alt tayin sınırı (LOQ)

Gözlenebilme sınırı her bir standart için gerçekleştirilen 10 okuma sonucu bulunan standart sapma olarak hesaplandı. Alt tayin sınırı ise gözlenebilme sınırınının 3 katı şeklinde hesaplandı [38].

#### 3.5.2. Geri Kazanım

Bilinen konsantrasyonlarda LC-MS cihazına verilen standartların elde edilen konsantrasyon değerleri hesaplanara % Geri kazanım değerleri elde edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Dezentegrasyon Testleri

Avrupa Farmakopesi'ne göre hazırlanan suni mide vasatı, 2L hazırlandı. Mide vasatı cihaza yerleştirildi. Dezentegrasyon cihazının haznelere 6'şar adet numuneler (kapsül - tablet) cihaza yerleştirildi. Suni mide vasatı 37°C'ye getirildi. Sonra her numune için ayrı ayrı dağılma süresi hesaplandı.

**Tablo 4.1.** Suni Mide Vasatında numunelerin dağılmaya başlama anı (dk)

Numune	DENEY 1	DENEY2	DENEY 3	Ort±std
A	3.51	3.50	3.58	3.53 ± 0.0436
B	2.35	2.48	2.55	2.46 ± 0.1015
C	4.05	4.20	4.31	4.19 ± 0.1305
D	2.22	2.5	2.8	2.51 ± 0.29
E	2.56	2.4	2.59	2.52 ± 0.1024
F	2.9	3.05	3.13	3.03 ± 0.1136
G	7.5	9.6	12.3	9.8 ± 2.406

**Tablo 4.2.** Suni Mide Vasatında ürünlerin dağılma toplam süresi (dk)

Numune	DENEY 1	DENEY 2	DENEY 3	Ort±std
A	26.50	21.38	22.58	23.49 ± 2.677
B	14.01	11.05	13.4	12.82 ± 1.5629
C	20.19	16.14	19.50	18.61 ± 2.1667
D	25.07	23.34	24.30	24.24 ± 0.8667
E	23.10	19.58	22.03	21.57 ± 1.8045
F	21.18	22.50	25.03	22.9 ± 1.9564
G	145	168	196	169.66±25.540

**Tablo 4.1** ve **Tablo 4.2.**' den de görüleceği üzere aktardan temin edilen tablet örneğine ait suni mide vasatında dağılma süreleri eczaneden temin edilen tabletlere oranla çok daha uzundur.

### 4.2. Friabilite Testleri

Eczaneden ve aktardan temin edilen tabletlerin sırasıyla friabilite sonucu ve kayıp oranları **Tablo 4.3'**te verildiği gibidir.

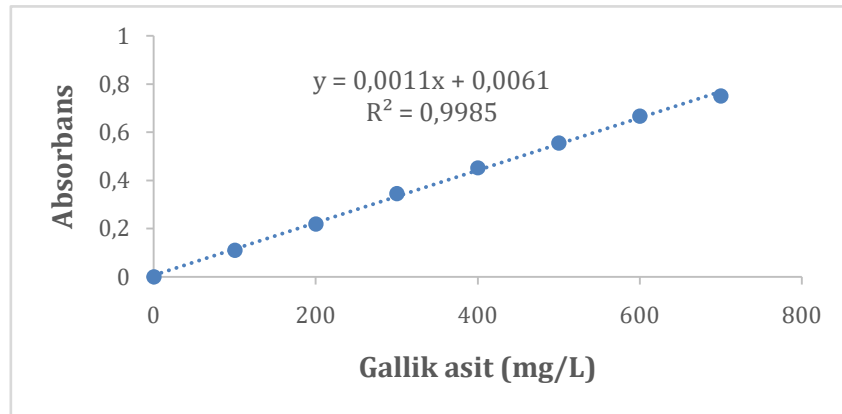
**Tablo 4.3.**Tabletlerin Friabilite test sonucu madde kayıp oranları

Tabletler	Friabilite Öncesi Toplam Miktar	Friabilite Sonrası Toplam Miktar	KAYIP ORANI %
D	12,56	12,46	0,796
E	5,78	5,73	0,865
F	8,76	8,74	0,2277
G	7,88	5,78	26,649

D, E, F ilaçlarda friabilite sonucu madde kayıp oranı %1'in altındadır ve kırılmalık/sertlik oranı istenilen ölçülerdedir. G tabletinin friabilite test sonucu %1'in üzerinde olup dayanıklılık oranı çok düşüktür.

#### 4.3.Toplam Fenol Miktarının Belirlenmesi ile Elde Edilen Bulgular

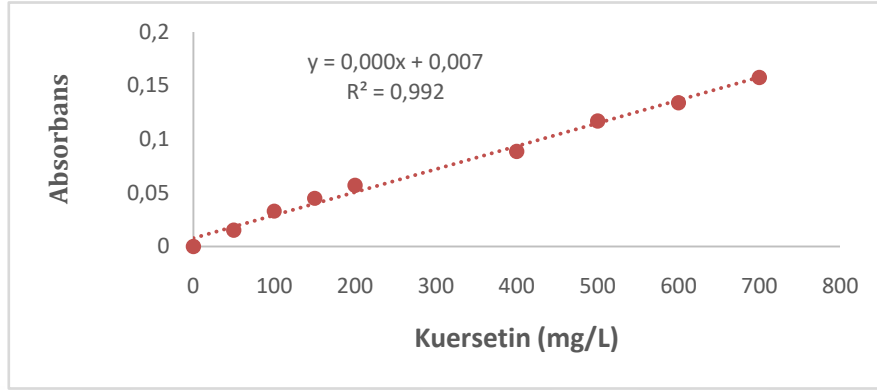
Toplam fenol tayini Folin-Ciocalteu reaktifi ile spektrofotometrik yöntem ile tespit edildi. Standart olarak kullanılan gallik asitin belirli konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu **Şekil 4.1.**'de elde edilen  $y=0,0011x+0,0061$ ,  $R^2=0,9985$ , regresyon denklemi ve yapılan seyreltmeler dikkate alınarak ekstredeki örnek miktarı Gallik asit ekivalanı cinsinden mg(GAE)/g şeklinde hesaplandı. Elde edilen sonuçlar **Tablo 4.4'** de toplu olarak gösterildi.

**Şekil4.1.** Gallik asit için kalibrasyon eğrisi

#### 4.4.Toplam Flavonoid Miktarının Belirlenmesi ile Elde Edilen Bulgular

Toplam flavonoid içeriği Alüminyum klorürü/Sodyum Nitrit yöntemi ile spektrofotometrik yöntem ile tespit edildi. Standart olarak kullanılan kuersitin belirlenen konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.Elde edilen

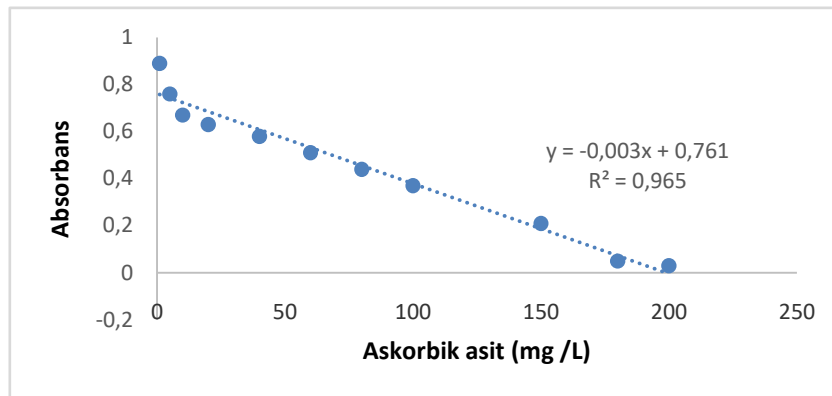
$y=0,0002x+0,0076$ ,  $R^2=0,9924$ , regresyon denklemi ve yapılan seyreltmeler dikkate alınarak ekstredeki örnek miktarı Kuersetin ekivalanı cinsinden  $mg(KUE)/g$  şeklinde hesaplandı. **Tablo 4.4.**'de toplu olarak gösterildi.



**Şekil 4.2.** Kersetin kalibrasyon eğrisi

#### 4.5.DPPH• Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesiile Elde Edilen Bulgular

Ekstrelerin DPPH radikal süpürücü aktivite değerleri antioksidan aktivitenin göstergesi olarak kullanılan % inhibisyon şeklinde verildi. Hesaplamalar  $y=- 0,0038x+0,7616$  regresyon denklemi **Şekil 4.3.**' de ve Eşitlik 1 dikkate alınarak yapıldı. **Tablo 4.4.**' de toplu olarak gösterildi.



**Şekil 4.3.** Askorbik asit için kalibrasyon eğrisi

**Tablo 4.4.** Ekstrakt ve tüm örnekler için toplam fenolik, flavonoid ve inhibisyon değerleri

Numuneler	Toplam Fenol mg(GAE)/g	Toplam Flavonoid mg(KUE)/g	DPPH aktivite % inhibisyon
Ekstrakt	72.815±0.248	60.894±0.356	53.817±0.485
A	35.506±0.524	27.533±0.289	17.471±0.62
B	38.142±0.138	23.7±0.51	17.709±0.54
C	40.475±0.105	22.867±0.287	17.893±0.37
D	36,507±0.368	16.033±0.288	19.072±0.43
E	37.473±0.106	18.2±0.5	19.191±0.78
F	32.778±0.104	12.367±0.3	18.551±0.29
G	18.415±0.152	9.033±0.55	8.980±0.87
H	50.051±0.524	45.367±0.31	26.689±0.44

Sonuçlar kuru ağırlık üzerinden ve üç ölçümün ortalaması şeklinde verildi.

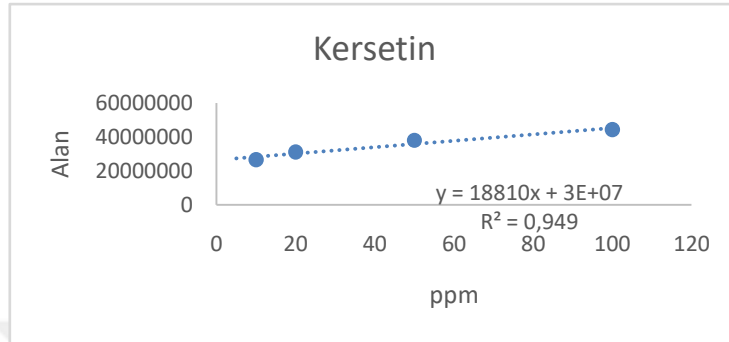
Tablo 4.4. 'de satın alınan Ginkgo biloba(ikincil standart) ekstresi ve tezde çalışılan farmasotik preparatların toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri üzerinde sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek adına Ginkgo biloba standartı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde beklenildiği üzere en yüksek toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerlerinin Ginkgo biloba standarında olduğu sonucuna varılmıştır. Eczaneden temin edilen tablet ve kapsüllerde elde edilen toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri değerleri standarda oranla daha düşük çıkmıştır. Eczaneden temin edilen tablet ve kapsüllerde Ginkgo biloba ekstraktı dışında diğer yardımcı maddelerin var olması bu sonucu doğrulamaktadır. Diğer yandan aktardan temin edilen tablet örneğinde elde edilen toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri diğer tabletlere oranla en düşük seviyededir. Şaşırtıcı olan sonuç ise aktardan alınan toz örneğinde elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre toz örneğinde elde edilen toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri en yüksek seviyededir. Çünkü bir sonraki bölüm de de görüleceği üzere toz örneğinde *Ginkgo biloba* ekstresinde var olan hiçbir aktif tür toz örneğinde rastlanmamıştır(Tablo 4.7.).

#### 4.6. Standartların Kalibrasyon Doğrularının Çizilmesi

Standart maddelerin *Ginkgobiloba* içeren ürünlerdeki miktarlarının tayini için öncelikle kalibrasyon doğruları oluşturuldu. Standart maddelerin farklı konsantrasyonlarına karşı (x eksen, ppm), her bir konsantrasyondaki pik alanları kullanılarak (y eksen) kalibrasyon eğrileri çizildi.

#### 4.6.1. Kersetin

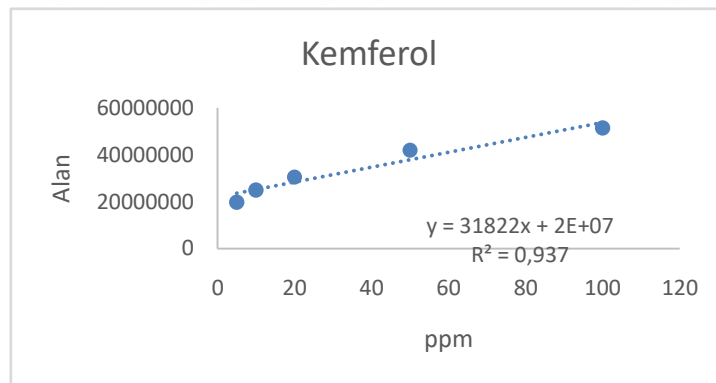
Kersetinin kalibrasyon doğrusu için bölüm 3.4.7.2. 'de ki gibi hazırlanan stok kersetin çözeltisinden belli oranda seyreltmeler yapılarak hazırlanan standartlar cihaza enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılarak **Şekil 4.4.**'de görüldüğü gibi kalibrasyon doğrusu çizildi, denklemleri ve  $R^2$  değeri hesaplandı.



**Şekil 4.4.** Kersetine ait kalibrasyon doğrusu

#### 4.6.2. Kemferol

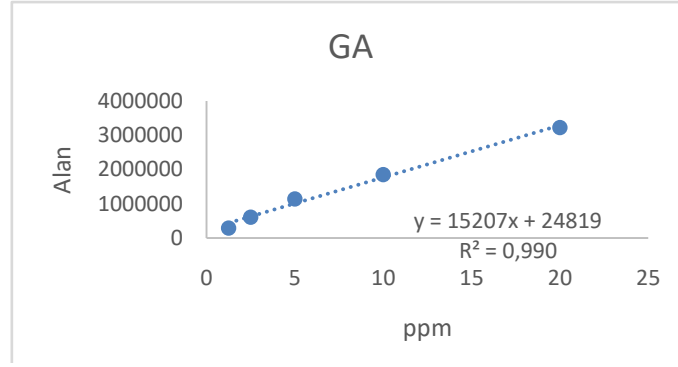
Kemferolün kalibrasyon doğrusu için bölüm 3.4.7.2.'deki gibi hazırlanan stok kemferol çözeltisinden belli oranda seyreltmeler yapılarak hazırlanan standartlar cihaza enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılarak **Şekil 4.5.**'de görüldüğü gibi kalibrasyon doğrusu çizildi, denklemleri ve  $R^2$  değeri hesaplandı.



**Şekil 4.5.** Kemferola ait kalibrasyon doğrusu

#### 4.6.3. Ginkgolit A

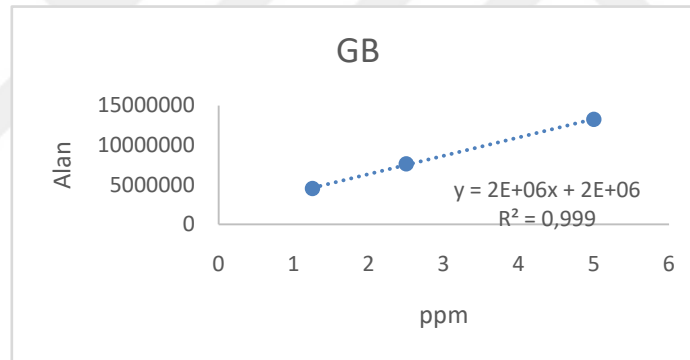
Ginkgolit A'nın kalibrasyon doğrusu için Bölüm 3.4.7.2. 'deki gibi hazırlanan stok Ginkgolit A çözeltisinden belli oranda seyreltmeler yapılarak hazırlanan standartlar cihaza enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılarak **Şekil 4.6.**'de görüldüğü gibi kalibrasyon doğrusu çizildi, denklemleri ve  $R^2$  değeri hesaplandı.



Şekil 4.6.Ginkgolit A'ya ait kalibrasyon doğrusu

#### 4.6.4. Ginkgolit B

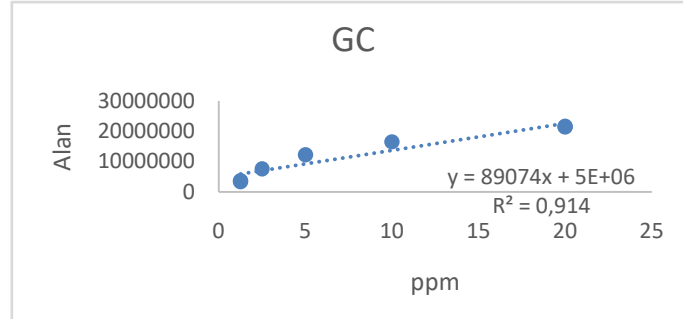
Ginkgolit B'nin kalibrasyon doğrusu için Bölüm 3.4.7.2.'de ki gibi hazırlanan stok Ginkgolit B çözeltisinden belli oranda seyreltmeler yapılarak hazırlanan standartlar cihaza enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılarak Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi kalibrasyon doğrusu çizildi, denklemi ve  $R^2$  değeri hesaplandı.



Şekil 4.7.Ginkgolit B'ye ait kalibrasyon doğrusu

#### 4.6.5. Ginkgolit C

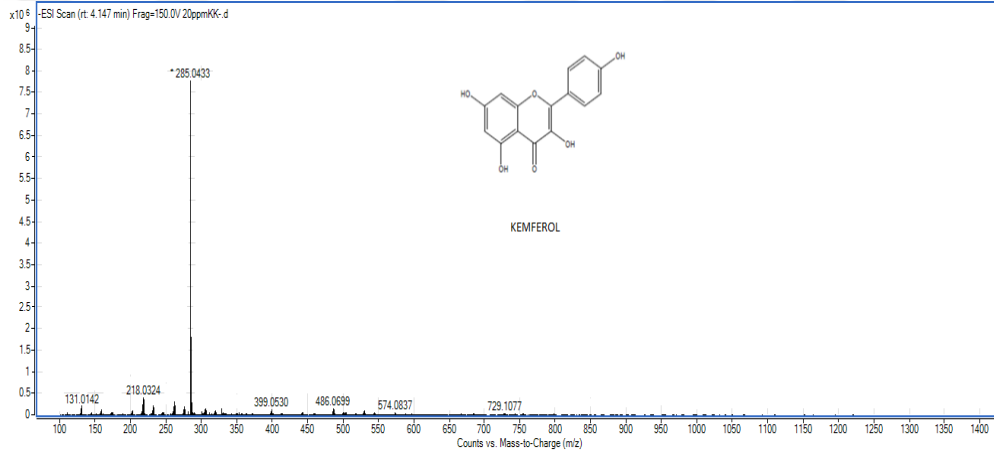
Ginkgolit C'nin kalibrasyon doğrusu için Bölüm 3.4.7.2.'deki gibi hazırlanan stok Ginkgolit C çözeltisinden belli oranda seyreltmeler yapılarak hazırlanan standartlar cihaza enjekte edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılarak Şekil 4.8.'de görüldüğü gibi kalibrasyon doğrusu çizildi, denklemi ve  $R^2$  değeri hesaplandı.



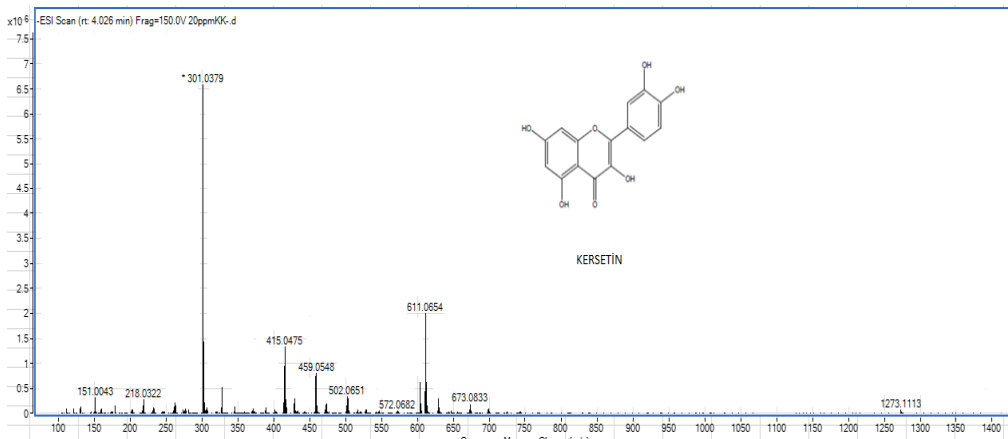
Şekil 4.8.Ginkgolit C'ye ait kalibrasyon doğrusu

#### 4.7. Standartlara ait LC-MS Kromatogramları

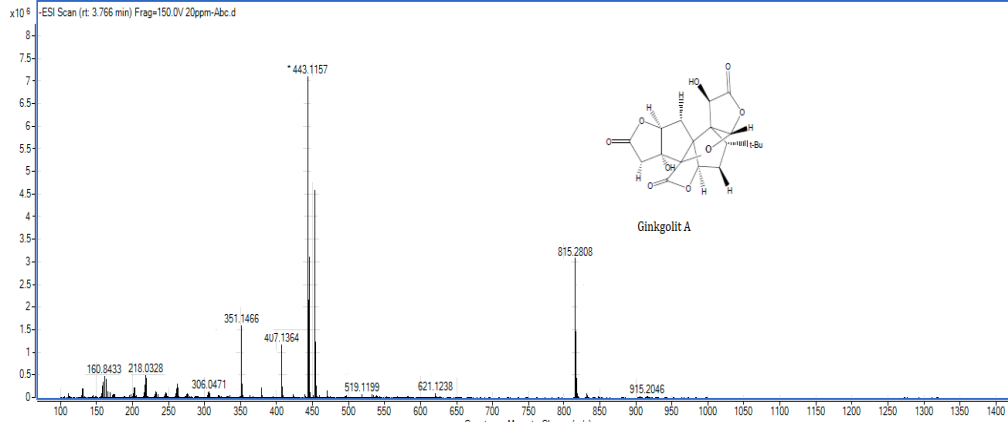
Kemferol, Kersetin, Ginkgolit A, Ginkgolit B ve Ginkgolit C'ye ait LC-MS kromatogramları sırasıyla Şekil 4.9. - 4.13.'de verilmiştir.



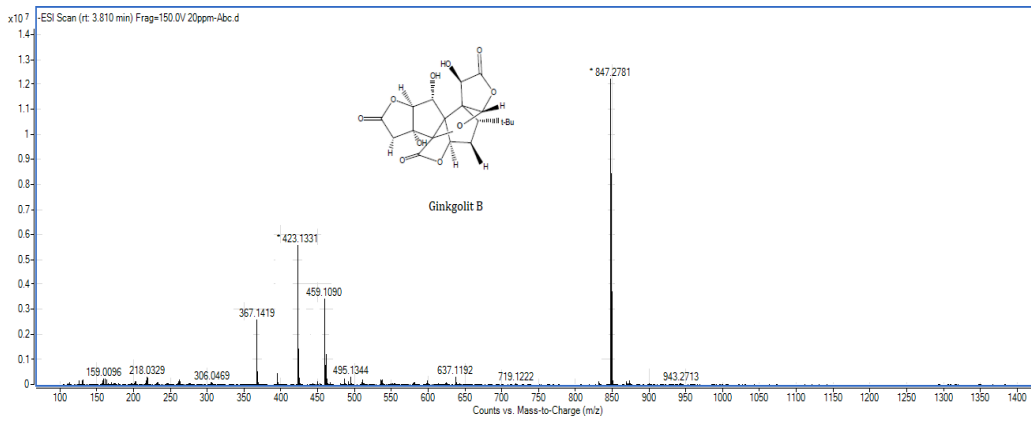
Şekil 4.9.Kemferol'e ait kütle spektrumu



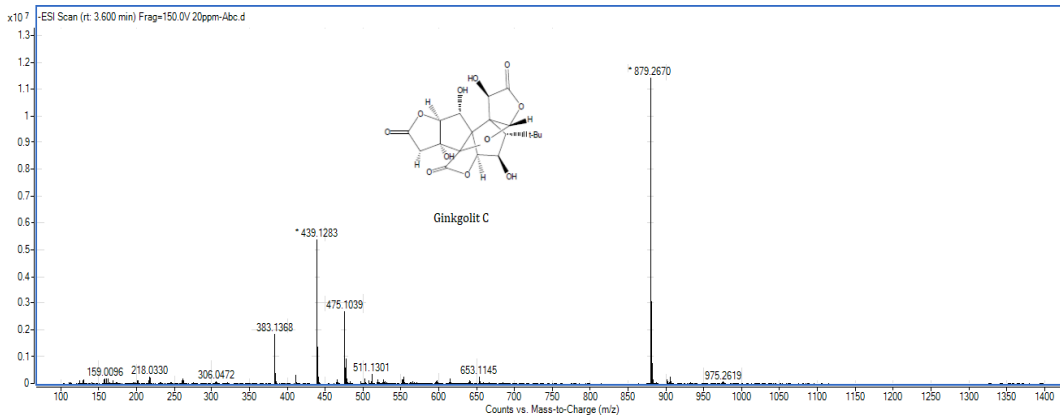
Şekil 4.10.Kersetin'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.11.Ginkgolit A'ya ait kütle spektrumu

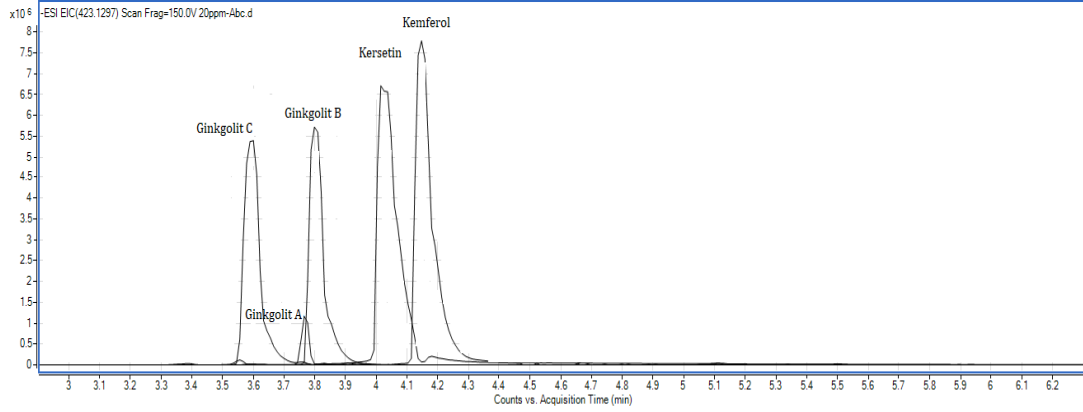


Şekil 4.12.Ginkgolit B'ye ait kütle spektrumu



Şekil 4.13.Ginkgolit C'ye ait kütle spektrumu

Tüm standart karışımına ait kromatogram ise Şekil 4.14.'de gösterildiği gibidir.



**Şekil 4.14.**Standart karışımına ait kromatogram

Analizi yapılan bütün farmasötik preparatlarda aranan standartlar MS detektöre tanıtılarak, örnek içerisinde **Tablo 4.5.**'de belirtilen standartların çağrılması sağlandı. Moleküler iyon pikleri ve alıkonma zamanları tespit edildi. Böylelikle seçimli analizler gerçekleştirilmiş oldu.

**Tablo 4.5.**Standartlara ait moleküler iyon pikleri ve alıkonma zamanları

Standart Madde	m/z	t <sub>R</sub> (dk)
<b>Kersetin</b>	301,0379	4,025
<b>Kemferol</b>	285,0433	4,151
<b>Ginkgolit A</b>	443,1157	3,773
<b>Ginkgolit B</b>	423,1331	3,804
<b>Ginkgolit C</b>	439,1283	3,595

Analizleri gerçekleştirilen farmasötik preparatların içerisinde var olan Kersetin, Kemferol, Ginkgolit A, Ginkgolit B ve Ginkgolit C 'ye ait alıkonma zamanları **Tablo 4.6.**'de verilmektedir.

**Tablo 4.6.** Örneklerle ait alıkonma zamanları

Ürün Kodu	Kersetin t <sub>R</sub> (dk)	Kemferol t <sub>R</sub> (dk)	Ginkgolit A t <sub>R</sub> (dk)	Ginkgolit B t <sub>R</sub> (dk)	Ginkgolit C t <sub>R</sub> (dk)
A	4.028	4.150	3.769	3.802	3.598
B	4.033	4.154	3.774	3.807	3.597
C	4.031	4.152	3.766	3.805	3.599
D	4.037	4.153	3.772	3.811	3.595
E	4.035	4.151	3.770	3.810	3.599
F	4.029	4.145	3.764	3.803	3.587
G	4.032	4.143	3.767	3.800	3.601
H	-	-	-	-	-

LC-MS den elde edilen sonuçlar doğrultusunda Örneklerde bulunan ve bulunması beklenen Flavon glikozit, GA, GB, GC miktarları (mg/tablet, mg/kapsül) değerleri **Tablo 4.7.** 'de özetlendiği gibidir.

**Tablo 4.7.** Örneklerde bulunan ve bulunması beklenen Flavon glikozit, GA, GB, GC miktarları (mg/tablet, mg/kapsül)

Ürün Kodu	Flavonglikozit Bulunması beklenen miktar (mg)	Flavonglikozit Bulunan miktar (mg)	GA GB GC Bulunması beklenen miktar (mg)	GA GB GC Bulunan miktar (mg)
A	19,8-24,3	21,79	2,52-3,06	2,249
B	22-27	19,482	2,8-3,4	1,093
C	27,5-33,75	12,427	3,5-4,25	2,134
D	26,4-32,4	28,575	3,36-4,08	3,563
E	26,4-32,4	28,119	3,36-4,08	3,985
F	17,6-21,6	18,504	2,24-2,72	2,8205
G	13,2-16,2	9,114	1,68-2,04	0,808
H	13,2-16,2	-	1,68-2,04	-

Elde edilen sonuçlara göre, eczaneden temin edilen ilaç ve takviye edici gıdaların tümünde kalitatif olarak flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C içerdiği tespit edildi. Ayrıca tablet/kapsül başına düşen miktarı beyan edilen limitler içeriğinde olduğu bulundu. Ancak aktardan alınan bitkisel ürünlerden toz olanda (H) ne kalitatif ne de kantitatif flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C'ye rastlanmadı. Diğer bitkisel üründe ise (G) kalitatif olarak rastlanan flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C'nin miktar olarak etiketinde belirtilen den çok daha düşük olduğu sonucuna varıldı.

#### 4.8. Validasyon Çalışmaları

##### 4.8.1. %Geri Kazanım hesaplanması

**Tablo 4.8.** %Geri Kazanım değerleri

	% Geri kazanım
<b>Kersetin</b>	98.72
<b>Kemferol</b>	99.25
<b>GA</b>	95.32
<b>GB</b>	92.33
<b>GC</b>	93.84

Standartlara ait elde edilen %Geri kazanım ve LOD, LOQ değerleri sırasıyla **Tablo 4.8. ve Tablo 4.9.** 'de verildiği gibidir.

##### 4.8.2. % LOD, LOQ değerlerinin hesaplanması

**Tablo 4.9.** LOD, LOQ değerleri

	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
<b>Kersetin</b>	0.00263613	0.00790839
<b>Kemferol</b>	0.00153153	0.00459459
<b>GA</b>	0.00602913	0.01808739
<b>GB</b>	0.00539112	0.01617336
<b>GC</b>	0.00563140	0.0168942

## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkisel ürünlerin, tamamen doğal ve hiçbir yan etkisinin olmayacağına dair pazarlama stratejileri ile satılması toplum sağlığı için büyük risk oluşturmaktadır. Çünkü terapotik etkinlikleri kanıtlanırsa bile bitkilerin kullanılmasında, tür farkı, yetiştiği bölge, üretim koşulları, çevresel faktörler ve muhafaza koşulları gibi çok sayıda değişken etkin rol oynamaktadır. Dünya da ve Türkiye de en çok kullanılan bitkisel ürünlerden biri de *Ginkgo biloba* dır.Reçeteli ve reçetesiz şekilde farklı dozaj formlarında sunulan *Ginkgo biloba* içeren ürünler başlıca beyin fonksiyon bozukluklarında, demans, vertigo ve kulak çınlaması gibi hastalıkların tedavisinde etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmıştır.

Ancak standardize *Ginkgo biloba* ekstresinden hazırlanan bitkisel ilaçlar ile Sağlık Bakanlığı kontrolünde geçmeyen *Ginkgo biloba* içeren bazı preparatlar, birbirleriyle eşdeğer kabul edilebilmektedir. Bu durumun merkezinde bitkisel ve doğal olan her şeyin zararsız olduğuna dair kabul edilen yanlışlardır.

Bilindiği üzere standardize *Ginkgo biloba* ekstresi %24 flavonol glikozid, %6 terpen trilakton ve 5 ppm den az ginkgolik asit içerir [39]. Standardize EGb 761 ekstresi kullanan ürünlerin etiketlerinde söz konusu değerler belirtilmektedir. Ancak dünya pazarında *Ginkgo biloba* ekstresi içeren ürünlere ilişkin gerçekleştirilen araştırmalarda büyük ölçüde değişen konsantrasyonlarda miktarlar tespit edildiği farklı çalışmalarda rapor edilmektedir [40-41].Bu durum etken maddenin daha ucuz ve kolay bulunabilir daha ucuz botanik malzemelerle karıştırılabileceğini ortaya koymaktadır [42].

*Ginkgo biloba* ekstresi içeren ilaçlar dışında *Ginkgo biloba* içeren (yaprak, ekstre) ilaç dışı ürünler reçetesiz, internet üzerinden legal ve/veya legal olmayan yollarla temin edilebilmektedir. Bu nedenle gerçek pazar yüzdesini tam olarak belirtmek oldukça güç. Ancak van Beek ve Montoro bu değeri bir milyar ABD doları olduğunu bildirmiştir [39].*Ginkgo biloba* ürünleri, günümüzde bazen herhangi bir bilimsel alt yapı ve kontrol olmaksızın birçok farklı preparatta sunulmaktadır. Bununla birlikte, kanıta dayalı tıpta ve tüm klinik araştırmalarda ve tedavilerde *Ginkgo biloba*, yalnızca özel bir bileşim ve üretim süreci ile tanımlanan standartlaştırılmış EGb 761Ginkgo biloba ekstresi formunda kullanılmalıdır [43]. Bu bilgiler ışığı altında planlanan tez çalışmasında Türkiye piyasasında var olan ve eczaneden temin edilen *Ginkgo biloba* ekstresi içeren üç tane ilaç, üç tane besin takviyesi ve aktardan temin edilen bitkisel ürünler üzerine kalite kontrol ve içerik karşılaştırmaları gerçekleştirildi. Elde edilen

sonuçlar eczaneden temin edilen ilaç ve besin takviyelerinin friabilite, dezentegrasyon gibi testlerinin sonuçları kabul edilen standartlarda olduğunu gösterdi. Aktardan temin edilen tablet örneğinin dezentegrasyon testinde çok uzun sürede dağıldığı ve eczaneden temin edilen diğer tablet örneklerine kıyasla dayanıklılığının çok düşük olduğu gösterildi. Toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri incelendiğinde en yüksek değerlerin ikincil standart olarak kullanılan *Ginkgo biloba* ekstresinde olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Formülasyonda içerdikleri diğer yardımcı maddeler dikkate alındığında tablet ve kapsüllerde elde edilen toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerlerinin standart ekstreye oranla daha düşük bulunmuştur. Bir diğer sonuç ise aktardan temin edilen tablet örneğinden elde edilen toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri bulunan en düşük değerdir. Tam aksine yine aktardan temin edilen toz örneğine ait toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri ise diğer farmasötik preparatlara göre en yüksek değerdedir. Bu noktada şaşırtıcı olan en önemli nokta ise aktardan temin edilen toz örneğinde LC-MS sonuçlarına göre *Ginkgo biloba* da var olan flavon glikozid ve ginkgolid A, B, C'ye rastlanmamıştır. İçeriğinde *Ginkgo biloba* yokken bu kadar yüksek toplam fenol, flavonoid ve DPPH aktivite inhibisyon değerleri söz konusu bitkisel ürünün daha düşük maliyetli diğer botanik malzemelerle tağşiş edilmiş olabileceğidir. Yapılan bir araştırmada piyasada *Ginkgo biloba* özü veya *ginkgo biloba* yaprağı içeren pekçok ürünün yüksek/düşük dozlarda olduğu analiz edilmiştir. Beyan edilenden farklı dozlarda olması yabancı maddelerin eklenildiği şüphesini uyandırmıştır[44].

Sonuç olarak, bitkisel ürünlerin tedavi edici özellikleri yüzyıllardır bilinmektedir ve bu doğrultuda çok etkili sonuçlar da alınmaktadır. Ancak bir ürünün bitkisel içerikli olması o ürünün insan, hayvan ve ekosistem için herhangi bir sorun teşkil etmeyeceği, toksik olmayacağı veya sağlık açısından herhangi bir risk oluşturmayacağı ve sağlıklı bireyler için tehdit oluşturmayacağı anlamına gelmez ve gelmemelidir. Bitkinin doğru kısımlarının doğru zamanda ve doğru yöntem ile toplanması, tedavi edici biyoaktif türlerin valide edilmiş analitik yöntem ve cihazlarla tespit edilmesi, herhangi bir ağır metal birikimi veya kontaminasyon riskinin olmaması, ürünle ilgili gerçekleştirilen kalite kontrol çalışmalarının eksiksiz şekilde yapılması ve standardizasyonlara uygunluğunun belirlenmesi hayati önem taşıyan son derece önemli konu başlıklarıdır. Bu nedenle özellikle standardize *Ginkgo biloba* ekstresi içeren ve Sağlık Bakanlığı onaylı ilaç ve besin takviyelerinin, Sağlık Bakanlığı onayı almayan ve aktar, internet aracılığıyla çok daha makul fiyatlarla temin edilebilen bitkisel ürünler ile eşdeğer sayılıp kullanılmaması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1]. Wilt, T, J; Ishani, A, Stark G., Saw palmetto extracts for treatment of benign prostatic hyperplasia: A sytematic review **1998**, 281, (6), 280-1604.
- [2]. Blumenthal M., *American Botanical Council/Thieme. 67th.;The ABC Clinical Guide to Herbs*:New York, **2003**, 24, (2), 1-149.
- [3]. Chan, K.; Aspects of toxic contaminants in herbal medicines: *Chemosphere. 2003*, 52, (9), 71-1361.
- [4]. Temel, M.; Tınmaz, B.; Öztürk, M.; Gündüz, O.,*Dünyada ve Türkiye’de Tıbbi -Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti. 2018*, 21, 198-214.
- [5]. Chan, M.; WHO traditional medicine strategy: Essential medicines and health products **2002**. 13, (12), 1-76.
- [6]. Willcox, M.L.; Bodeker, G., Traditional herbal medicines for malaria. *BMJ***2004**, 13, (11), 329-11569.
- [7]. Chan, M.; WHO traditional medicine strategy:*Essential medicines and health products 2002-2005*. 13, (12), 1-76.
- [8]. Tilburt, J. C.; Kaptchuk, T.J., Herbal medicine research and global health: an ethical analysis: *Journal of Medical* **2018**, 2, (4), 1-5.
- [9]. De Smet, P. A., Herbal medicine in Europe-relaxing regulatory standards: *N Engl J Med***2005**, 352, (12), 352:1176.
- [10]. World Health Organization, *WHO monographs on Selected Medicinal Plants Volume 1. World Health Organization, Geneva, <https://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js2200e/>, 1999.*
- [11]. Mahadevan, S.; Park, Y., Multifaceted therapeutic benefits of Ginkgo biloba L: Chemistry, efficacy, safety, and uses: *Journal of Food Science***2008**, 73,(1), 14-19.
- [12]. Gruenmald, J.; Brendler, T.; Taenicke, C., *Thomson Healthcare Inc 4th ed.; Physician's Desk Reference for Herbal Medicines: Montvale: 2007; p990.*
- [13]. DeFeudis, F., Ginkgo biloba extract (EGb 761) From chemistry to the clinic: *WiesbadenUllstein Medical***1998**, 36, (1),119-133.
- [14]. Szczurko, O.; Boon, H. S., A systematic review of natural health product treatmant for vitiligo: *BMC Dermatology***2009**, 8, (2), 4-341.
- [15]. Ersöz. T., Bitkisel İlaçlar ve Gıda Takviyeleri ile İlgili Genel Yaklaşım ve Sorunlar. Türk Eczacılık Birliği/Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi.2020,27-28.
- [16]. Büyükkaya, A., Ginkgo Biloba L. Ekstresi İçeren Bitkisel İlaçlar Ve Bitkisel Ürünler Üzerinde Karşılaştırmalı Fitoeşdeğerlik Çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Ankara, 2009.
- [17]. Cruz, M. B.; Place, B. J.; Wood, L. J.; Urbas, A.; Wasik, A.; Fortunato, W.; Rocha, C., A nontargeted approach to determine the authenticity of Ginkgo biloba L. plant materials and dried leaf extracts by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) and chemometrics **2020**, 6969-6982.
- [18].Çelik, Ş.; İki Cinsli İki Evcikli Bazı Taksonların Morfolojik Etüdü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1995.

- [19]. Gutierrez, N. L.; Gonzalez, R. R.; Vidal, J, L, M.; Frenich, A. G., Quality control evaluation of nutraceutical products from Ginkgo biloba using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry, **2016**, 152-159.
- [20]. Ma, L.; Zhang, J.; Jin, W.; Wang, S., Simultaneous Determination of Contents of Flavonol Glycosides and Terpene Lactones in Ginkgo Biloba Tablets by Ultra HighPerformance Liquid Chromatography Tandem Single Quadrupole Mass Spectrometry Detecto **2020**, 1-15.
- [21]. Hussein, N. M., Owaïd. M. N., Khalaf. B. H.; Effects of Lipopolysaccharides of Pseudomonas Aeruginosa and Aqueous Extract of Ginkgo Biloba, Ginkgoaceae, on Cellular Immune Response in Mice Balb/c. Ginkgo Biloba on immune response **2018**, 29, 206-210.
- [22]. Karahan, M. Y. Ginkgo Biloba Bitkisinin Yapraklarından Toplam Fenoliklerin Ve Toplam Flavonoidlerin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Uşak, 2017.
- [23]. European Pharmacopoeia. Eighth Edition, November 1, **2011**.
- [24]. Singh B, Kaur P, Gopichand, et al. Biology and chemistry of Ginkgo biloba. Fitoterapia. 2008;79(6):401-418.
- [25]. Leistner E, Drewke C. Ginkgo biloba and ginkgotoxin. J Nat Prod. 2009;73(1):86-92.
- [26]. Demirezer. L. Ö., Büyükkaya. A., Uçaktürk. E., Kuruüzüm. A., Güvenalp. Z., Palaska. E.; Adulteration Determining of Pharmaceutical Forms of Ginkgo biloba Extracts from Different International Manufacturers **2014**, 8:4, 394-400.
- [27]. Bilia, A. R., Costa. C.; Medicinal plants and their preparations in the European market: Why has the harmonization failed? The cases of St. John's wort, valerian, ginkgo, ginseng, and green tea. Phytomedicine 81, **2021**, 1-11.
- [28]. Tıbbî Bitkisel Ürünler; *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 2012, 27-28.
- [29]. Aybastier. Ö., Farklı Formlardaki Ginkgo biloba'nın Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, **2020**, S. 206-212.
- [30]. Shahidi. S., Ghahremanitamadon. F., Soleimani. S., Komaki. A., Afshar. S., Hashemi. N.; Electrophysiological, Behavioral and Molecular Study of Vitamin E and Ginkgo biloba in a Rat Model of Alzheimer's Disease. Research Journal of Pharmacognosy **2020**, 8(1), 39-51.
- [31]. Penchevaa. I. P., Maslarska. V. N., Stoimenova. A. C., Manova. M. M., Zdraveva. P. K.; Quality Control Optimization Solutions for Determination of Rutin in Supplements Containing Ginkgo Biloba Extract Current Pharmaceutical Analysis **2016**, 12, 386-390.
- [32]. Zaneb. H., Rehman. M., Numan. A., Masud. F., Khawaja. İ. K., Khan. F. F., Qureshi. A. B., Burney. S., Ashraf. K., Ahmad. N., Yousa. M. S., Rabbani. İ., H.; Clinical and electrophysiological efficacy of leaf extract of Ginkgo biloba L (Ginkgoaceae) in subjects with diabetic sensorimotor polyneuropathy Tropical Journal of Pharmaceutical Research October **2016**, 15, (10), 2137-2145.
- [33]. Numan. A., Masud. F., Khawaja. İ. K., Khan. F. F., Qureshi. A. B., Burney. S., Ashraf. K., Ahmad. N., Yousa. M. S., Rabbani. İ. M., Zaneb. H., Rehman. H.; Clinical and electrophysiological efficacy of leaf extract of Ginkgo biloba L (Ginkgoaceae) in subjects with diabetic sensorimotor polyneuropathy Tropical Journal of Pharmaceutical Research October **2016**, 15, (10), 2137-2145.
- [34]. Boateng. I. D., Yang. X.; Effect of different drying methods on product quality, bioactive and toxic components of Ginkgo biloba L. Seed. Published online in Wiley Online Library **2020**, 101, 3290-3297.
- [35]. Slinkard K. Singleton VL. Total phenols analysis: Automation and comparison with manual Methods. Am. J. Enol. Vitic, 1977;28: 49 - 55.

- [36].Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums, *Food Chem.* 2003;81 (3): 321 – 326.
- [37].Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compost Anal.* 2011;24: 1043–1048.
- [38].Konieczka,P.,Namiesnik,J, Quality Assurance andQuality Control in the Analytical ChemicalLaboratory,Taylor and Francis Group LLC:New york,2009, ss.145-147.
- [39]. Van Beek TA, Montoro P. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. *J Chromatogr A.* 2009;1216(11):2002–32.
- [40]. Kressmann S, Muller WE, Blume HH. Pharmaceutical quality of different Ginkgo biloba brands. *J Pharm Pharmacol.* 2002;54(5): 661–669.
- [41]. Booker A, Frommenwiler D, Reich E, Horsfield S, Heinrich M. Adulteration and poor quality of Ginkgo biloba supplements. *J Herb Med.* 2016;6(2):79–87.
- [42]. Harnly JM, Luthria D, Chen P. Detection of adulterated Ginkgo biloba supplements using chromatographic and spectral fingerprints. *J AOAC Int.* 2012;95(6):1579–1587.
- [43].Christian Ude, Manfred Schubert-Zsilavec, Mario Wurglics Ginkgo biloba Extracts: A Review of the Pharmacokinetics of the Active Ingredients. *Clin Pharmacokinet* (2013) 52:727–749.
- [44].Czigle, S.; T, Jaroslav,; Jedlinszki, N.; Háznagy. E.; Csupor. D,;Tekeova. D,, Ginkgo biloba Food Supplements on the European Market – Adulteration Patterns Revealed by Quality Control of Selected Samples (2018) 475–482.