



**MALATYA YÖRESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Hypericum* L.
(KANTARON) TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMASÖTİK
BOTANİK ARAŞTIRMALAR**

İsmet GÜRHAN

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

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

Doktora tezi– 2023

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

**MALATYA YÖRESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *Hypericum* L. (KANTARON)
TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR**

İsmet GÜRHAN

**Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

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

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TDK-2020-1976 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2023**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Prof. Dr. Turan ARABACI” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Malatya Yöresinde Yayılış Gösteren *Hypericum* L. (Kantaron) Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar” başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 21/08/2023

İsmet GÜRHAN

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) ile İlgili Genel Bilgiler	3
2.2. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Genel Özellikleri	3
2.2.1. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Betimi	3
2.2.2. <i>Hypericum</i> L. Cinsinin Ülkemizdeki Durumu.....	4
2.2.3. <i>Hypericum</i> L. Cinsinin Malatya'daki Durumu	4
2.4. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Anatomik ve Palinolojik Özellikleri	5
2.5. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Kimyasal Özellikleri	6
2.6. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Uçucu Yağ Özellikleri.....	8
2.7. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Antioksidan Aktivite Özellikleri	8
2.7.1 Antioksidan Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Tayin Yöntemleri	10
2.7.2 <i>Hypericum</i> L. Türleriyle Yapılmış Olan Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	10
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Bitki Materyalinin Temini	12
3.2. Morfolojik Çalışmalar.....	13
3.3. Anatomik Çalışmalar	13
3.3.1 Sartur reaktifinin içeriği ve hazırlanışı	14
3.4. Palinolojik Çalışmalar.....	15
3.4.1. Işık Mikroskobu Yöntemi	15
3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Yöntemi.....	16
3.5. Ekstrelerin Hazırlanması.....	17
3.6. Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	17
3.6.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması	18
3.6.2. <i>Hypericum</i> L. Örneklerinin Hazırlanması	18
3.6.3. Kromatografik Şartların Belirlenmesi	18

3.7. Uçucu Yağ Çalışmaları	19
3.8. Antioksidan Aktivite Çalışmaları	20
3.8.1. DPPH Metodu	20
3.8.2. ABTS Metodu	21
3.9. Kullanılan Kimyasallar	22
4. BULGULAR	23
4.1. Morfolojik Bulgular	23
4.2. Anatomik Bulgular	42
4.3 Palinolojik Bulgular	64
4.4. Fenolik İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Bulgular	77
4.4.1. Hazırlanan Ekstre Verimleri	77
4.4.2. HPLC ile Belirlenen Fenolik Bileşiklere Ait Validasyon Parametreleri	77
4.4.3. HPLC ile Belirlenen Fenolik Bileşiklere Ait Bulgular	80
4.4.4. Ekstrelerdeki Fenolik Bileşik Miktarlarının Belirlenmesi	81
4.5. Uçucu Yağ Çalışmalarının Bulguları	88
4.6. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları	100
5. TARTIŞMA	109
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	119
KAYNAKLAR	121
EKLER	130
EK1.Özgeçmiş	130
EK 2. Etik Kurul Kararı	132

TEŞEKKÜR

Bu çalışma boyunca daima yardımcı olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Turan ARABACI'ya,

Tez izleme komitesinde bulunarak desteklerini sunan Prof. Dr. Selim ERDOĞAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Narin SADIKOĞLU'na,

HPLC çalışmalarında değerli bilgi ve birikimini benimle paylaşan, Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ebru BÜYÜKTUNCEL'e,

Antioksidan aktivite çalışmalarında laboratuvarını bize açan, Dr. Öğr. Üyesi Burçin UYUMLU'ya ve Arş. Grv. Yakup YILMAZTEKİN'e,

GC-MS ve SEM analizlerini yaptığımız İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan eşim Esmâ GÜRHAN'a,

Çalışmaya kaynak temin eden İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje Numarası: TDK-2020-1976),

Teşekkür ediyorum.

ÖZET

Malatya Yöresinde Yayılış Gösteren *Hypericum* L. (Kantaron) Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar

Amaç: Bu tezin amacı, Malatya'da yayılış gösteren *Hypericum* L. cinsine ait 11 taksonun morfolojik, anatomik, palinolojik özelliklerini, antioksidan aktivitelerini, uçucu yağ bileşimlerini ve içerdikleri bazı fenolik bileşiklerin miktarlarını belirlemektir.

Materyal ve Metot: Bitki materyalleri takson lokasyonlarına yapılan arazi çalışmalarıyla toplanmıştır. Morfolojik, anatomik ve palinolojik çalışmalar toplanan örnekler üzerinde yapılmıştır. Antioksidan aktivite çalışmaları toplanan örneklerden hazırlanan su ve metanol ekstraktları ile, DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Toplanan örneklerin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar GC-MS cihazında analiz edilmiştir. Ekstrelerdeki fenolik bileşiklerin tayini için HPLC cihazı kullanılmıştır.

Bulgular: Anatomik incelemelerde, örneklerin kök ve gövdelerinin benzer yapıda, yaprak anatomilerinin ise bazı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Yaprakta; salgılı ya da salgısız emergens, tek ya da iki sıralı epiderma, salgı kanalı içeren veya içermeyen floem hücreleri, ekvifasiyal ya da bifasiyal mezofil tabakası gibi özellikler bakımından farklılıklar göstermektedir. Tüm örneklerde stoma anizositik tiptedir. Fenolik içeriği örneklerle ve ekstrelerle göre değişiklik göstermektedir. Uçucu yağ analizlerinde ana bileşenler α -pinene, spathulenol ve limonene olarak belirlenmiştir. DPPH ve ABTS yöntemlerinde en yüksek antioksidan aktivite *H. perforatum*'un metanol ekstresinde gözlenmiştir.

Sonuç: *H. microcalycinum*, *H. retusum*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum* ve *H. malatyanum*'un anatomik özellikleri, *H. spectabile*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. thymopsis* ve *H. malatyanum*'un palinolojik özellikleri ilk kez bu çalışmada verilmiştir. Subprolat ve prolat polen şekilleri örnekler arasında daha sık gözlenmiştir. Örneklerden elde edilen ekstraktlerdeki bazı fenolik bileşikler HPLC ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivite çalışmaları iki farklı yöntem ile yapılmıştır. *H. malatyanum* türünün uçucu yağ bileşenleri ilk kez bu çalışmada verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Antioksidan Aktivite, Hypericaceae, Morfoloji, Uçucu Yağ

ABSTRACT

Pharmaceutical Botanical Studies on *Hypericum* L. Species Distributed in Malatya Province

Aim: The aim of this thesis is to determine the morphological, anatomical, palynological features, antioxidant activities, essential oil compositions and the amounts of some phenolic compounds of 11 taxa of the genus *Hypericum* L. distributed in Malatya.

Material and Method: The plant materials were collected during the field studies from the locations of taxa. Morphological, anatomical and palynological studies were performed on the collected specimens. Antioxidant activity studies were carried out with water and methanol extracts prepared from the collected samples, by using the DPPH and ABTS methods. The essential oils obtained from the aerial parts of the collected samples were analyzed by the GC-MS equipments. HPLC device was used in phenolic studies.

Results: In the anatomical examinations, it was determined that the roots and stems of the samples had a similar structure, while the leaf anatomy showed some differences. In the leaf; It shows differences in terms of features such as secretory or non-secretory emergences, single or double layered epiderm, phloem cells with or without secretory canals, equifacial or bifacial mesophyll layer. The stomatas are anisocytic in the all specimens. Phenolic contents are varies according to samples and extracts. The main components were found as α -pinene, spathulenol and limonene in the essential oil. The highest antioxidant activity was observed in the methanol extract of *H. perforatum* in the DPPH and ABTS methods.

Conclusion: The anatomical features of *H. microcalycinum*, *H. retusum*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum* and *H. malatyanum*, the palynologically properties of *H. spectabile*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. thymopsis* and *H. malatyanum* were given for the first time in this study. Subprolate and prolate pollen shapes were more frequently observed among the specimens. Some phenolic contents of the specimens were determined by HPLC. Antioxidant activity studies were carried out with two different methods. Essential oil components of *H. malatyanum* were given for the first time in this study.

Keywords: Anatomy, Antioxidant Activity, Essential oil, Hypericaceae, Morphology

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABS	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ae	: Alt epiderma
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
CUPRAC	: Cu (II) indirgeyici antioksidan yöntemi
DAD	: Diyot dizinli dedektör
dak	: Dakika
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
e	: Emergens
EE	: Ekvatorial eksen uzunluğu
en	: Endoderma
ep	: Epiderma
ET	: Elektron transferine dayanan yöntemler
FCR	: Toplam Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik madde yöntemi
fl	: Floem
FRAP	: Ferrik iyonu indirgeme yöntemi
FTC	: Ferrik tiyosiyanat
GC-FID	: Gaz Kromatografi Alev İyonlaşmalı Dedektör
GC-MS	: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektroskopisi
GST	: Glutatyon S-Transferazlar
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
HAT	: Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler
HCOOH	: Formik asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HS	: <i>Hypericum spectabile</i>
HM	: <i>Hypericum microcalycinum</i>
HL	: <i>Hypericum lydium</i>
HR	: <i>Hypericum retusum</i>

HU	: <i>Hypericum uniglandulosum</i>
HC	: <i>Hypericum capitatum</i> var. <i>luteum</i>
HSc	: <i>Hypericum scabrum</i>
HT	: <i>Hypericum thymopsis</i>
HMLt	: <i>Hypericum malatyanum</i>
HP	: <i>Hypericum perforatum</i>
HTr	: <i>Hypericum triquetrifolium</i>
IC₅₀	: %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonları
İG	: İsmet Gürhan
k	: Kütikula
km	: Kilometre
ks	: Ksilem
L	: Litre
LC-MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LOD	: Saptama alt sınırı
LOQ	: Tayin alt sınırı
m	: Metre
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
ORAC	: Oksijen radikali absorbands kapasitesi
ö	: Öz
p	: Parenkima
pe	: Periderma
PE	: Polar eksen uzunluğu
PE/EE	: Polar eksen uzunluğunun ekvatorial eksen uzunluğuna oranı
pk	: Parenkimatik korteks
pp	: Palizat parenkiması
ppm	: Milyonda bir birim
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSD	: Bağlı standart sapma
RT	: Alıkonma zamanı

se	: Salgılı emergens
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
sp	: Sünger parenkiması
SOD	: Süperoksit dismutaz
st	: Stoma
TA	: Turan Arabacı
TBHQ	: Tersiyer bütihidrokinon
TEAC	: Troloks eşdeğeri aktivite yöntemi
TRAP	: Toplam radikal yakalayıcı kapasite
üe	: Üst epiderma
w/w	: Ağırlıkça yüzde
µm	: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 3.1. Morfolojik çalışmalarda kullanılan stereo mikroskop.....	13
Şekil 3.2. Anatomik ve palinolojik çalışmalarda kullanılan ışık mikroskobu ve kamera sistemi	14
Şekil 3.3. Palinolojik çalışmalarda kullanılan SEM cihazı	16
Şekil 3.4. Hazırlanan ekstrelelere ait örnekler ve rotavoporda solvent uzaklaştırma	17
Şekil 3.5. Clevenger apareyi ve elde edilen uçucu yağ örneği.	20
Şekil 3.6. Mikroplak örnekleri.....	22
Şekil 4.1. <i>H. spectabile</i> herbaryum ve tip örneği	23
Şekil 4.2. <i>H. spectabile</i> morfolojisi	24
Şekil 4.3. <i>H. microcalycinum</i> herbaryum ve tip örneği.....	25
Şekil 4.4. <i>H. microcalycinum</i> (İG 1019 nolu örnek) genel görünüşü.....	25
Şekil 4.5. <i>H. microcalycinum</i> morfolojisi.....	26
Şekil 4.6. <i>H. lydium</i> herbaryum ve tip örneği.....	27
Şekil 4.7. <i>H. lydium</i> morfolojisi	27
Şekil 4.8. <i>H. retusum</i> herbaryum ve tip örneği.....	28
Şekil 4.9. <i>H. retusum</i> (İG 1020 nolu örnek) genel görünüşü.....	28
Şekil 4.10. <i>H. retusum</i> morfolojisi	29
Şekil 4.11. <i>H. uniglandulosum</i> herbaryum ve tip örneği.....	30
Şekil 4.12. <i>H. uniglandulosum</i> (TA3089 nolu örnek) genel görünüşü.....	30
Şekil 4.13. <i>H. uniglandulosum</i> morfolojisi.....	31
Şekil 4.14. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> herbaryum ve tip örneği	32
Şekil 4.15. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> (İG 1014 nolu örnek) genel görünüşü	32
Şekil 4.16. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> morfolojisi	33
Şekil 4.17. <i>H. scabrum</i> herbaryum ve tip örneği.....	34
Şekil 4.18. <i>H. scabrum</i> (İG 1026 nolu örnek) genel görünüşü.....	34
Şekil 4.19. <i>H. scabrum</i> morfolojisi.....	35
Şekil 4.20. <i>H. thymopsis</i> herbaryum ve tip örneği.....	35
Şekil 4.21. <i>H. thymopsis</i> morfolojisi	36
Şekil 4.22. <i>H. malatyanum</i> herbaryum ve tip örneği.....	37
Şekil 4.23. <i>H. malatyanum</i> (İG 1027 nolu örnek) genel görünüşü.....	37

Şekil 4.24. <i>H. malatyanum</i> morfolojisi.....	38
Şekil 4.25. <i>H. perforatum</i> L. herbaryum ve tip örneği	39
Şekil 4.26. <i>H. perforatum</i> (İG 1022 nolu örnek) genel görünüşü	39
Şekil 4.27. <i>H. perforatum</i> morfolojisi	40
Şekil 4.28. <i>H. triquetrifolium</i> Turra herbaryum ve tip örneği	41
Şekil 4.29. <i>H. triquetrifolium</i> (İG 1025) genel görünüşü	41
Şekil 4.30. <i>H. triquetrifolium</i> morfolojisi.....	42
Şekil 4.31. <i>H. spectabile</i> anatomik özellikleri.....	43
Şekil 4.32. <i>H. spectabile</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü.....	44
Şekil 4.33. <i>H. microcalycinum</i> anatomik özellikleri	45
Şekil 4.34. <i>H. microcalycinum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	46
Şekil 4.35. <i>H. lydium</i> anatomik özellikleri	47
Şekil 4.36. <i>H. lydium</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	48
Şekil 4.37. <i>H. retusum</i> anatomik özellikleri	49
Şekil 4.38. <i>H. retusum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	50
Şekil 4.39. <i>H. uniglandulosum</i> anatomik özellikleri	51
Şekil 4.40. <i>H. uniglandulosum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	52
Şekil 4.41. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> anatomik özellikleri	53
Şekil 4.42. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	54
Şekil 4.43. <i>H. scabrum</i> anatomik özellikleri	55
Şekil 4.44. <i>H. scabrum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	56
Şekil 4.45. <i>H. thymopsis</i> anatomik özellikleri	57
Şekil 4.46. <i>H. thymopsis</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	58
Şekil 4.47. <i>H. malatyanum</i> anatomik özellikleri	59
Şekil 4.48. <i>H. malatyanum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	59
Şekil 4.49. <i>H. perforatum</i> anatomik özellikleri	60
Şekil 4.50. <i>H. perforatum</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	61
Şekil 4.51. <i>H. triquetrifolium</i> anatomik özellikleri	62
Şekil 4.52. <i>H. triquetrifolium</i> yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü	63
Şekil 4.53. <i>H. spectabile</i> polen görüntüleri	65
Şekil 4.54. <i>H. microcalycinum</i> polen görüntüleri.....	66
Şekil 4.55. <i>H. lydium</i> polen görüntüleri.....	67
Şekil 4.56. <i>H. retusum</i> polen görüntüleri.....	68
Şekil 4.57. <i>H. uniglandulosum</i> polen görüntüleri.....	69

Şekil 4.58. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> polen görüntüleri	70
Şekil 4.59. <i>H. scabrum</i> polen görüntüleri.....	71
Şekil 4.60. <i>H. thymopsis</i> polen görüntüleri	72
Şekil 4.61. <i>H. malatyanum</i> polen görüntüleri.....	73
Şekil 4.62. <i>H. perforatum</i> polen görüntüleri	74
Şekil 4.63. <i>H. triquetrifolium</i> polen görüntüleri	75
Şekil 4.64. Fenolik bileşiklerin kromatografik ayrımı ($\lambda = 280$ nm)	82
Şekil 4.65. <i>H. perforatum</i> türünün metanol ekstresine ait kromatogram	82
Şekil 4.66. <i>H. lydiu</i> m türünün metanol ekstresine ait kromatogram	83
Şekil 4.67. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen gallik asit içeriklerinin karşılaştırılması	85
Şekil 4.68. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen (+) kateşin içeriklerinin karşılaştırılması	85
Şekil 4.69. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen klorojenik asit içeriklerinin karşılaştırılması	86
Şekil 4.70. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen (-) epikateşin içeriklerinin karşılaştırılması	86
Şekil 4.71. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen hiperozit içeriklerinin karşılaştırılması	87
Şekil 4.72. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen rutin içeriklerinin karşılaştırılması.....	87
Şekil 4.73. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen mirisetin içeriklerinin karşılaştırılması	87
Şekil 4.74. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin belirlenen kuersetin içeriklerinin karşılaştırılması	88
Şekil 4.75. DPPH yöntemi ile örneklere ve standartlara ait konsantrasyon (mg/L)-inhibisyon (%) grafikleri.....	102
Şekil 4.76. ABTS yöntemi ile örneklere ve standartlara ait konsantrasyon (mg/L)-inhibisyon (%) grafikleri.	105

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Toplanan <i>Hypericum</i> L. örneklerinin lokaliteleri.	12
Tablo 3.2. PE/EE oranına göre polen şekilleri.....	16
Tablo 3.3. Fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik HPLC cihaz koşulları.	18
Tablo 3.4. Analizi yapılan fenolik bileşikler ve dalga boyları.....	19
Tablo 3.5. Uçucu yağ analizinde kullanılan GC-MS cihaz koşulları.....	20
Tablo 3.6. Tez çalışmalarında kullanılan kimyasallar ve özellikleri.	22
Tablo 4.1. <i>Hypericum</i> örneklerinin kök ve gövde anatomisi karakterleri.....	63
Tablo 4.2. <i>Hypericum</i> örneklerinin yaprak anatomisi karakterleri.....	64
Tablo 4.3. <i>Hypericum</i> örneklerinin polenlerinin polar ve ekvatorial eksen ölçümleri ...	76
Tablo 4.4. <i>Hypericum</i> örneklerinin polen morfolojileri.....	76
Tablo 4.5. <i>Hypericum</i> örneklerinin solvent ekstraksiyonlarının ekstre verimleri.....	77
Tablo 4.6. <i>Hypericum</i> ekstreleri için uygulanan HPLC metodu.....	77
Tablo 4.7. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-1.....	78
Tablo 4.8. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-2.....	78
Tablo 4.9. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-3.....	79
Tablo 4.10. Fenolik bileşiklerin kalibrasyon eğrileri.....	80
Tablo 4.11. <i>Hypericum</i> ekstrelerinde belirlenen fenolik madde miktarları.....	84
Tablo 4.12. <i>Hypericum</i> örneklerinin uçucu yağ miktarları.....	88
Tablo 4.13. <i>H. spectabile</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	89
Tablo 4.14. <i>H. microcalycinum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	90
Tablo 4.15. <i>H. lydium</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	91
Tablo 4.16. <i>H. retusum</i> uçucu yağın analiz sonuçları.....	92
Tablo 4.17. <i>H. uniglandulosum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	93
Tablo 4.18. <i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	94
Tablo 4.19. <i>H. scabrum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	95
Tablo 4.20. <i>H. thymopsis</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	96
Tablo 4.21. <i>H. malatyanum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	97
Tablo 4.22. <i>H. perforatum</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	98
Tablo 4.23. <i>H. triquetrifolium</i> uçucu yağ analiz sonuçları.....	99
Tablo 4.24. <i>Hypericum</i> örneklerinden elde edilen uçucu yağların ana bileşikleri.....	100

Tablo 4.25. <i>Hypericum</i> ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri.....	101
Tablo 4.26. Standartların IC ₅₀ değerleri	101
Tablo 5.1. <i>Hypericum</i> örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin daha önceki çalışmalarla karşılaştırılması	115



1. GİRİŞ

Dünya üzerinde yayılış gösteren tohumlu bitkilerin sayılarıyla alakalı oldukça fazla miktarda çalışma yer almaktadır. Bu çalışmalardaki sayılar değişiklik göstermekte ve net bir sayı verilememektedir. Bu durum daha çok sinonim isimlendirmelerden kaynaklanmaktadır (1).

Türkiye’de ise bu sayı sistematik çalışmaların artışı sebebiyle gün geçtikçe değişkenlik göstermekle beraber takson sayısı yaklaşık 11.707, endemizm oranı ise % 32’dir (2).

Hypericaceae familyasının üyesi olan *Hypericum* L. cinsi neredeyse tüm dünyada yayılış gösteren yaklaşık 500 türe sahiptir (3). Ağırlıklı olarak Kuzey Yarım Küre’de yayılış gösteren cinsin üyeleri Türkiye’de de yayılış göstermektedir (4). Türkiye’nin doğusu ve Transkafkasya, cins için bir tür gen dağılım merkezidir (3, 5,6).

Oldukça zengin tür çeşitliliğine sahip olan floramız bitkileri, tedavi amaçlı yıllardır kullanılmaktadır.

Hypericum cinsine ait olan türlerin, tedavi edici özellikleri nedeniyle uzun yıllardır kullanıldığı bilinmektedir. *Hypericum* türleri içerisinde tedavi amaçlı olarak birçok çalışmada yer alan, Avrupa ve Amerika’da “St. John’s Wort” adıyla da tanınan *Hypericum perforatum* L. (Sarı kantaron) türü kullanılmaktadır. *H. perforatum* fitokimyasal açıdan en iyi araştırılan tıbbi bitkilerden biridir. Bu bitki fenilpropanlar, flavonol türevleri, biflavonlar, proantosiyanidinler, ksantonlar, floroglusinoller, bazı amino asitler, naftodiantronlar ve uçucu yağ bileşenleri gibi biyolojik olarak aktif bileşikler içermektedir (7-9).

Ülkemizde *Hypericum* türlerinin infüzyonu, dekoksasyonu, tentürü, yağı ve ekstresi kullanılmaktadır. Uzun yıllardır taze tomurcuk ve çiçeklerini içeren toprak üstü kısımlarının zeytinyağı içerisinde bekletilmesiyle hazırlanan yağı; yara, yanık, egzama, kas ve sinir ağrıları ile eklem romatizması gibi durumlarda kullanılmaktadır (10). Ekstreleri antidepresan olarak (11), infüzyonu ise mide ve bağırsak rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (12).

Hypericum türlerinin çeşitli biyolojik aktiviteleri içerdikleri bileşiklere, yani floroglusinol türevleri olan hiperforin ve adhiperforin, naftodiantron bileşikler olan hiperisin ve psödohiperisin, hiperozit, rutin, kersitrin, quercetin ve biapigenin gibi

flavonoidler, fenilpropanlar, kafeik ve klorojenik asitler ve biyolojik özelliklere sahip olan uçucu yağlara bağlanmıştır (13). Sarı kantarondaki ana bileşenlerden ikisi hiperisin ve hiperforin olsa da, etkilerinin birçok bileşenin sinerjik etkilerinin bir sonucu olduğu tahmin edilmektedir (14). Flavonoidler, antioksidanlar olarak bilinirler ve ayrıca antidepresan aktiviteye de önemli bir katkı sağlamaktadırlar (15).

Bu tez kapsamında;

1. Malatya ilinde yayılış gösteren *Hypericum* örneklerinin yapılacak arazi çalışması ile toplanması,
2. Örneklerin genişletilmiş betimlerinin yapılması,
3. Örneklerin anatomik ve palinolojik özelliklerinin belirlenmesi,
4. Örneklerin antioksidan aktivitelerinin DPPH ve ABTS yöntemlerini kullanarak belirlenmesi,
5. Örneklerin clevenger aparatı ile su distilasyonu yöntemiyle alınan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonunun GC/MS ile belirlenmesi,
6. Örneklerin ekstraktları hazırlanarak, içerdikleri fenolik bileşiklerin HPLC yardımıyla tespit ve tayin edilmesi,
7. Yapılan çalışmalarla elde edilen sonuçların yayınlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) ile İlgili Genel Bilgiler

Bu familya 9 cins ve yaklaşık 540 türden oluşmaktadır (16). Ülkemizde monotipik olup, *Hypericum* L. cinsine ait türlerle temsil edilmektedir (17).

Hypericaceae (Guttiferae) familyası; genellikle uçucu yağlar içeren yarı saydam glandlar ve bazen de hiperisin içeren kırmızı veya siyah glandlara sahip çalılar veya bitkiler içerir. Yapraklar basit, karşılıklı ve nadiren dairesel dizilişlidir. Sepal 5, tomurcukta kiremit dizilişlidir. Petal 5, serbest, tomurcuk durumunda burulmuştur. Stamenler demetler şeklinde veya dağınıktır. Ovaryum üst durumlu, plasentalanma eksensel ya da yanaldır. Tohumları endospermasızdır (17).

Familya üyelerinde, koyu kırmızı renkli hiperisin ve pseudohiperisin gibi naftodiantraon türevi bileşikler yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bileşikler, bitkilerin farklı yerlerinde siyah ya da kırmızı salgı bezlerinde veya salgı kanallarında yer almaktadır. Bu bileşiklerin ışığa karşı duyarlılığa sebep oldukları bilinmektedir (18).

2.2. *Hypericum* L. Cinsi Genel Özellikleri

Hypericum cinsi türleri, ılıman kuşakta yayılışı olan, çalı ya da otsu formda olabilen yaklaşık 450 türü bulunan bitkilerdir (19). *Hypericum* cinsi, tropik ve subtropik bölgelerde, Afrika, Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa’da yayılışa sahiptir (20).

Türkiye’de halk arasında “sarı kantaron, binbirdelik otu, kılıç otu ve yara otu” gibi isimlerle bilinirler. Tıbbi etkilerinden dolayı uzun yıllardır bilinmektedirler. Günümüzde halk arasında antiseptik, antispazmodik, sedatif etkili, yara ve yanık iyi edici gibi durumlarda kullanılmaktadırlar (21).

2.2.1. *Hypericum* L. Cinsi Betimi

Çiçekler iki eşeylidir. Sepal ve petal sayısı 5’tir. Petaller genellikle sarı renkli, sıklıkla hafif kırmızı veya kırmızı damarlı, nektaryumlar nadiren eklidir. Stamenler 5’li demetler halinde, petallerin önünde, serbest veya 4’ü birleşik sepallerin önünde 2’li birleşik demet şeklinde, 3-125 stamenli, nadiren verimsizdir. Ovaryum 3-5 gözlü ya da her bir plasentada 2’den çok tohum taslağı taşıyan birleşik 1 gözlüdür. Stiluslar 3-5, serbest ve incedir. Kapsular meyve septumdan (perdeden) açılır, çeperde reçine taşıyan

salgı cepli veya keseli, nadiren etlenmiş ve açılmayandır (17).

2.2.2. *Hypericum* L. Cinsinin Ülkemizdeki Durumu

Cinsin son zamanlarda yapılan yayınlarla beraber ülkemizde yayılış gösteren 100 türü mevcuttur (2, 22-25).

Bu türler aşağıda verilen 20 seksiyon altında toplanmışlardır (17).

- 1- *Eremanthe* (Spach) Endl.
- 2- *Androseaemum* (Duham.) Endl.
- 3- *Inodorum* Stef.
- 4- *Bupleuroides* Stef.
- 5- *Arthrophyllum* Jaub. & Spach.
- 6- *Triadenioides* Jaub. & Spach.
- 7- *Heterophyllum* Robson.
- 8- *Triadenia* (Spach)
- 9- *Drosanthe* (Spach) Endl.
- 10- *Taeniocarpium* Jaub. & Spach.
- 11- *Coridium* Spach.
- 12- *Adenosepalum* Spach.
- 13- *Drosocarpium* Spach.
- 14- *Oligostema* (Boiss.) Stef.
- 15- *Thasia* Boiss.
- 16- *Crossophyllum* Spach.
- 17- *Olympia* (Spach) Endl.
- 18- *Campylopus* (Spach) Endl.
- 19- *Origanifolia* Stef.
- 20- *Hypericum* sect.

2.2.3. *Hypericum* L. Cinsinin Malatya'daki Durumu

Türkiye Florası adlı esere göre Malatya'da *Hypericum* cinsine ait 7 taksonun yayılış gösterdiği belirtilmiştir (17).

Bitkilerin toplanması amacıyla düzenlenen arazi çalışmaları sonucunda, *Hypericum* cinsine ait 11 takson toplanmış ve çalışılmıştır. Bu 11 takson ve ait oldukları seksiyonlar aşağıda verilmiştir.

Drosanthe (Spach) Endl. Seksiyonu

H. spectabile Jaub. & Spach (Endemik)

H. microcalycinum Boiss. & Heldr.

H. lydium Boiss.

H. retusum Aucher

H. uniglandulosum Hausskn. ex Bornm. (Endemik)

H. capitatum Choisy var. *luteum* N. Robson

H. scabrum L.

H. thymopsis Boiss. (Endemik)

***Taeniocarpium* Jaub. & Spach.**

H. malatyanum Peşmen (Endemik)

***Hypericum* sect.**

H. perforatum L.

H. triquetrifolium Turra

2.4. *Hypericum* L. Cinsi Anatomik ve Palinolojik Özellikleri

Hypericum türleri biyolojik etkili maddelerin sentezi ve toplanmasında özelleşmiş salgı yapıları ile büyük fitokimyasal yapıya sahiptir (26,27)

Hypericum cinsi yarı saydam bezler veya boşluklar, siyah nodüller ve salgı kanallarının varlığı ile karakterize edilmektedir. Salgı nodülleri 1 veya 2 tabakalı bir kılıfla çevrili olan hücre kümelerinden oluşmaktadır (28).

Hypericum türlerinin mikroskopik özelliklerinde; stoma tipi, stoma indeksi ve salgı bezi yapıları, parenkima hücre düzeninde farklılıklar olduğu belirlenmiştir. En önemli yaprak karakterlerinin epidermal hücrelerin şekli, salgı bezlerinin dağılımı ve mezofil özellikleri olduğu belirtilmiştir (29). Yaprak enine kesitinde sırasıyla; kutikula, üst epiderma, mezofil tabakası ve alt epiderma yer alır. Orta damar bölgesinde ise iletim demetleri parenkima hücrelerinin arasında yer alır.

Gövde anatomisi, enine kesitlerde benzer yapıdadır. Dıştan içe doğru; epiderma, kollenkima, kalın bir korteks parenkiması, endoderma, floem, ksilem ve parenkimatik yapıda olan özden oluşmaktadır. Türler arasında farklı sayıda olabilen emergensler bulunmaktadır. Ayrıca salgı kanalları, korteks parenkiması ve floemde yer almaktadır (30).

Kök anatomisi de örneklerden alınan enine kesitlerde benzer özellikler göstermektedir. Dıştan içe doğru; ekzoderma, periderma, floem, ksilem ve öz bölgesinden oluşmaktadır (31).

Palinoloji; bitkileri polen ve spor özelliklerini inceler. Preparat hazırlama teknikleri çalışma yapılacak olan alana göre değişiklikler göstermektedir. Şu andaki bitkilere ait spor ve polenlerin incelenmesinde güncel palinolojiden yararlanılır. Burada temel olarak iki yöntem vardır (32).

1-Wodehouse yöntemi (33)

2-Asetoliz (Erdtman) yöntemi (34)

Palinolojik çalışmalarda, polenin özellikleri için şekli, tipi, yapısı ve ornemantasyon özellikleri gibi bilgiler verilmelidir.

Hypericum türleri ile yapılan çalışmada, örneklerin çoğunluğunun polen şeklinin subprolat, apertür yapılarının trikolporat ve ornemantasyonlarının ise mikroretikulat olduğu belirtilmiştir (35).

2.5. *Hypericum* L. Cinsi Kimyasal Özellikleri

Fenolik bileşikler bitkilerin sekonder yollarından türetilen metabolitlerdir. Polifenoller bitkilerin çeşitli kısımlarında doğal olarak bulunan flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, lignanlar ve kumarinler gibi bileşikler içermektedir (36).

Hypericum türlerine ait yapılan kimyasal araştırmalarda tıbbi olarak aktif yedi grup bileşik belirlenmiştir (9). En yaygın sınıflar; naftodiantronlar, floroglusinoller, ve flavonoidler (flavonol glikozitler ve biflavonlar gibi) ile uçucu yağlardır (7, 37, 38) . Hiperisin ve hiperforin olmak üzere iki temel bileşik belirlenmiştir. Ayrıca içerdikleri bileşiklerin yaklaşık 1/5'inin biyolojik aktivite gösterdikleri bilinmektedir (39, 40).

Naftodiantronlar

En yaygın olan naftodiantronlar arasında hiperisin ve türevi olan bileşikler bulunmaktadır (37). Bunlardan hiperisin en iyi bilinenidir. Kantaron yağının kırmızı renginden sorumlu olan ve antrakınon türevi bir pigmenttir. Hiperisin özellikle çiçeklerde petal boyunca yer alan siyah noktalarda bulunur. Psödohiperisin, *H. perforatum*'daki ana naftodiantron bileşiğidir ve farklı türlerdeki miktarı hiperisine göre daha yüksektir (41-43). Hiperisinler çiçek tomucuklarında %1-14 oranında bulunurken, yapraklarda bu oran % 0.03-0.3 şeklindedir (44,45) .

H. perforatum L. ekstrelerinde psödohiperisinin oksidasyon ürünleri olan siklopsödohiperisin ve izopsödohiperisin eser miktarda bulunduğu belirlenmiştir (46). Bununla beraber, bu bileşiklerin bitkide doğal olarak mı bulundukları yoksa ekstraksiyon sırasında psödohiperisinden mi türevlendikleri tam olarak bilinmemektedir (47). Otlatılan hayvanların çok miktarlarda *Hypericum* bitkisini yemesi sonucu, ışığa aşırı duyarlılık durumu olan hiperizm olarak bilinen semptomlara sebep olduğu gösterilmiştir (41,48, 49). Psödohiperisin fototoksik etkiye sahip değildir (50).

Hiperisine olan ilgi, bilhassa insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) içeren zarflı virüsler sınıfı olmak üzere bazı virüslere ve tümörlere karşı aşırı toksisiteye sahip olduğunun ve bu toksisitenin de ışık gerektirdiğinin tespit edilmesiyle başlamıştır. Fotodinamik özelliklerinden dolayı hiperisin antiviral, antiretroviral ve antitümoral olarak farmasötik öneme sahip olduğu belirtilmiştir (51).

Floroglusinoller

Floroglusinol türevli bileşikler farklı doğal kaynaklarda bulunabilen geniş dağılıma sahip fenolik bileşiklerdir (52). *H. perforatum* ekstrelerinin floroglusinol türevi bileşikleri içerdikleri gösterilmiştir. %2-4.5 oranında elde edilen hiperforin hem ışıklı hem de oksijenli ortamda kararsız bir yapıya sahiptir (41,53,54). Hiperforin dışında, adhiperforin, furohiperforin gibi hiperforin bileşikler de bulunmaktadır (37,42).

Hiperforinin önemli bir antidepresan bileşeni olduğu gösterilmiştir. Deneysel çalışmalar etkinliğini farklı depresyon davranış modellerinde açıkça göstermiştir. Aynı zamanda klinik çalışmalar, *Hypericum* ekstrelerinin terapötik etkinliği doza bağlı olarak hiperforine bağlanmıştır. Hiperforinin moleküler etki mekanizması çalışmaları halen devam etmektedir (55).

Flavonoidler

Flavonoidler, bitkinin farklı kısımlarında değişik oranlarda bulunurlar (56). Çiçek ve yapraklarda daha fazla bulunurken gövdelerde bu miktar daha azdır. Flavonoidler, biyogenetik olarak ilişkili olan flavonoller (kamferol, kersetin), flavonlar (luteolin), glikozitler (hiperozit, izokersitrin ve rutin), biflavonlar (biapigenin), amentoflavon ve mirisetin gibi bileşiklerden ve kateşinlerden (çoğunlukla yoğunlaşmış tanenlerle ilişkili flavonoidler) oluşmaktadır (37, 38, 57).

2.6. *Hypericum* L. Cinsi Uçucu Yağ Özellikleri

Hypericum cinsinin fitokimyasal özellikleri uzun yıllardır araştırılmaktadır. Uçucu yağ bileşimleri mevsimsel değişiklikler, coğrafik dağılım, uçucu yağın üretildiği ve biriktiği organa göre uçucu yağ kompozisyonu farklılıklar göstermektedir (58).

Hypericum türleri uçucu yağ miktarı açısından genellikle fakir olan bitkilerdir. (Genellikle yağ verimi $< 1\%$ w/w) (59, 60).

H. perforatum türünün uçucu yağında toplam içeriğin % 92.32'sini temsil eden 54 kimyasal bileşen ayrılmış ve tanımlanmıştır. Uçucu yağının temel bileşimini seskiterpenler oluşturmaktadır (61).

H. scabrum L. ile yapılmış olan çalışmada ise, bitkinin farklı kısımları kullanılmış ve toprak üstü kısımları, çiçek ve meyvedeki uçucu yağlar monoterpenleri içerirken kökten elde edilen yağlarda ise alkanların bulunduğu gösterilmiştir. GC-FID ve GC-MS analizi sonucu elde edilen yağların ana bileşenlerini undekan (% 66.1), α -pinen (% 17.5) ve γ -terpinen (% 17.4) oluşturmaktadır (62).

H. thymopsis Boiss. türünden elde edilen uçucu yağ analizi sonucunda ana bileşenlerinin α -pinen, spathulenol ve limonen olarak belirlenmiştir (63).

2.7. *Hypericum* L. Cinsi Antioksidan Aktivite Özellikleri

Reaktif oksijen türleri (ROS) olarak da adlandırılan serbest radikaller bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektronları bulunan reaktif moleküllerdir. İnsan vücudunda serbest radikaller sürekli oluşmaktadır. Serbest radikallere hidroksil radikali, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit, singlet oksijen radikali (1O_2) örnek verilebilir (64). Örneğin süperoksit radikali ve H_2O_2 'in in vivo olarak sinir sisteminde ve beyinde üretildiği bilinmektedir. İnsan beyninin çeşitli bölgeleri demir açısından zengindir ve bu da serbest radikal reaksiyonlarını kolaylıkla uyarabilmektedir. $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'yi ortadan kaldıracak mekanizmalar mevcuttur. Süperoksit dismutazlar (SOD), H_2O_2 'ye dönüşümünü büyük ölçüde hızlandırarak $O_2^{\cdot-}$ 'yi ortadan kaldırır. Peroksizomlardaki katalazlar, H_2O_2 'yi suya ve O_2 'ye dönüştürür ve bu durum organellerde bulunan oksidaz enzimlerinin etkisiyle oluşan H_2O_2 'nin atılmasına yardımcı olur. İnsan hücrelerindeki diğer önemli H_2O_2 giderici enzimler glutatyon peroksidazlardır. Aşırı üretildiğinde, ROS doku hasarına neden olabilir. Bununla birlikte, doku hasarının kendisi ROS oluşumuna neden olabilir (65).

Serbest radikaller, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi yaşlanmaya bağlı hastalıkların gelişiminde önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. Bu ilişki gıda,

bitkisel ve diğ er antioksidan besin takviye edicilerin antioksidan kapasitelerinin değ erlendirilmesine büyük ilgi gösterilmesine yol açmıştır (66).

Serbest radikaller paylaşılmamış elektron içermelerinden dolayı reaktif özellik gösterirler. Bu durum kimyasal bağları kırılarak, elektron kaybederek veya transfer ederek olabilmektedir (67).

Antioksidan maddeler serbest radikal oluşumunu inhibe eden ya da mevcut olanları süpüren, hücre hasarını önleyen ve yapılarında çoğunlukla fenolik grup barındıran maddelerdir (68).

Normal koşullar altında insan hücreleri serbest radikallerin neden olabileceğ i hasarlar mevcut antioksidan savunma sistemleriyle engellenebilir (69). Enzim olan ve enzim olmayan şekilde ikiye ayrılmaktadır.

Enzim olan antioksidanlar:

- 1) Süperoksit dismutaz (SOD)
- 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)
- 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST)
- 4) Katalaz (CAT)
- 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz
- 6) Hidroperoksidaz

Enzim olmayan antioksidanlar:

1. Doğal antioksidanlar
 - a) α - tokoferol (Vitamin E)
 - b) Askorbik asit (Vitamin C)
 - c) Polifenolik bileşikler
 - d) Karotenoidler
2. Doğal olmayan antioksidanlar
 - a) Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)
 - b) Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)
 - c) Gallik asit
 - d) Tersiyer bütihidrokinon (TBHQ)
 - e) Troloks

2.7.1 Antioksidan Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite yöntemleri genel olarak iki gruba ayrılır.

Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler (HAT);

- a) Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC)
- b) Toplam radikal yakalayıcı kapasite (TRAP)
- c) Krosin beyazlatma yöntemleri

Elektron transferine dayanan yöntemler (ET);

- a) Toplam Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik madde yöntemi (FCR)
- b) Troloks eşdeğeri aktivite yöntemi (TEAC)
- c) Ferrik iyonu indirgeme yöntemi (FRAP)
- d) Cu (II)'yi oksidan olarak kullanılan toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC)
- e) DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) yöntemi yer almaktadır (70).

2.7.2 *Hypericum* L. Türleriyle Yapılmış Olan Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Adıyaman Çelikhan bölgesinde toplanan *H. perforatum* ile yapılmış olan çalışmada ekstrelerin DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivite çalışmaları yapılmış ve aktivite gösterdiği belirlenmiştir (71).

Biyolojik olarak aktif fenolik içeriği sebebiyle uzun yıllardır kullanılan *Hypericum perforatum*'un LC-MS ile ana bileşenlerin ayrılması ve tanınması sağlanmıştır. Analiz edilen fraksiyonların çoğu, sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldığında çok yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu aktivite flavonoidler ve fenolik asitlere bağlanırken, floroglusinoller ve naftodiantronların önemli bir aktivite göstermedikleri belirtilmiştir (72).

H. androsaemum L. infüzyonunun reaktif oksijen türlerinin (süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hipokloröz asit) süpürücü etkileri araştırılmış ve infüzyonun en fazla süperoksit radikali üzerinde, hidroksil radikalleri ve hipokloröz asit için orta düzeyde süpürücü aktivite gösterdiği belirtilmiştir (73).

Bulgaristan'da yayılış gösteren 13 *Hypericum* türüyle yapılan çalışmada, hazırlanan metanol ekstralarının serbest radikal süpürücü aktivite, toplam tanen ve toplam flavonoid içeriği araştırılmıştır. Çalışmada DPPH, ABTS ve ferrik tiyosiyanat (FTC) yöntemleri ve ayrıca pozitif kontroller için askorbik asit ve bütillenmiş hidroksitoluen

kullanılmıştır. *H. cerastoides* (Spauch) N. Robson, *H. perforatum* ve *H. maculatum* Crantz'dan elde edilen metanolik ekstreler, en yüksek antioksidan aktiviteleri gösterdiği ve doğal antioksidan bileşik kaynağı oldukları belirtilmiştir (74).

Hypericum hyssopifolium subsp. *elongatum* var. *elongatum* L. ile yapılmış olan çalışmada; etil asetat, petrol eteri ve kloroform fraksiyonlarından etil asetat fraksiyonu en yüksek DPPH süpürme aktivitesi göstermiş ve toplam fenolik bileşik miktarı da en yüksek olduğu belirtilmiştir (75).

H. perforatum'un kullanıldığı çalışmada, bitkinin etanolik ekstresinin ve fraksiyonlarının antioksidan aktivite özellikleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar fenolik içerikleri ile ilişkilendirilmiştir. Flavonoidlerin ve fenolik asitlerin antioksidan aktiviteden sorumlu oldukları, hiperisin ve hiperforinlerin antioksidan aktiviteye katkıda bulunmadıkları gösterilmiştir (76).

Türkiye'de yayılış gösteren üç *Hypericum* ve üç *Achillea* L. türleriyle yapılan bir çalışmada ise, hazırlanan ekstrelerin koruyucu etkileri bütillenmiş hidroksitoluen ve α - tokoferol ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak etanol ekstrelerinin vitamin E ile karşılaştırılabilir bulunmuştur (77).

Hypericum retusum Aucher'in çiçek, meyve ve tohum metanol ekstreleri ile yapılan çalışmada DPPH yöntemi kullanılarak çiçek ve tohum metanol ekstrelerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (78).

Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren dört *Hypericum* türünün bazı biyoaktif özellikleri ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlendiği çalışmada, en yüksek antioksidan aktiviteye *H. linaroides* Bosse'nin sahip olduğu ve bu durumun yüksek fenolik içeriğinden kaynaklanabileceği gözlenmiştir (79).

H. thymopsis'in farklı lokaliteleri ile *H. perforatum*'un metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin belirlendiği çalışmada, DPPH yönteminde en yüksek aktiviteyi *H. perforatum*'un çiçek örneği gösterirken ABTS yönteminde ise en yüksek aktiviteyi *H. thymopsis*'in yaprak ekstresi göstermiştir (63).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyalinin Temini

Türler, literatür çalışmaları sonucu belirlenen lokasyonlara yapılan arazi çalışmalarıyla bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde toplanmış ve türlere ait lokasyon bilgileri Tablo 3.1’de verilmiştir (17, 80). Toplanan örnekler kurutularak hem herbayum örneği olarak muhafaza edilmiş hem de tez kapsamında çalışmaları yapılmıştır. Türlerin teşhisinde “Flora of Turkey and the East Eagen Island” adlı eser esas alınmış, Tip örneklerine ait dijital görüntüler ilgili herbaryumlardan ve İnönü Üniversitesi Herbaryumu’nda yer alan *Hypericum* örnekleri incelenerek toplanan örneklerle karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.1. Toplanan *Hypericum* L. örneklerinin lokaliteleri

Toplayıcı No	Takson	Lokale
İG-1031	<i>Hypericum spectabile</i> Jaub. & Spach	B6 Akçadağ Dümüklü Köyü’nü geçtikten sonra 1. km, meşelik alanlar, 1500 m, 05/06/2021
İG-1019	<i>Hypericum microcalycinum</i> Boiss. & Heldr.	B6 Balaban-Malatya arası 16. km 1700 m, 07/06/2020
İG-1011	<i>Hypericum lydium</i> Boiss.	B7 Malatya-Hekimhan arası Kocaözü köyü 1000 m, 07/06/2020
İG-1020	<i>Hypericum retusum</i> Aucher.	B7 Hekimhan-Saz arası Deveci yol ayrımı 1600 m, 07/06/2020
TA-3089	<i>Hypericum uniglandulosum</i> Hausskn. Ex Bornm	B7 İnönü Üniversitesi, Kampüs, 950 m, 22/07/2021
İG-1014	<i>H. capitatum</i> Choisy var. <i>luteum</i> N. Robson	B7 Hekimhan-Darende arası 59.km 1500 m step, 07/06/2020
İG-1026	<i>Hypericum scabrum</i> L.	B7 Eskiköy üzeri, yamaçlar, 14/06/2020
İG-1024	<i>Hypericum thymopsis</i> Boiss.	B6 Darende-Gürün arası 11.km, 07/06/2020
İG-1027	<i>Hypericum malatyanum</i> Peşmen	B7 Eskiköy Melekbaşı mezarı kayalık 1800 m, 14/06/2020
İG-1022	<i>Hypericum perforatum</i> L.	B7 Hekimhan-Darende arası bahçe kenarları 1150 m, 07/06/2020
İG-1025	<i>Hypericum triquetrifolium</i> Turra	B7 İnönü Üniversitesi, Kampüs, 950 m, 16/07/2020

3.2. Morfolojik Çalışmalar

Morfolojik çalışmalar, arazi çalışmaları sonucu toplanan örnekler, gazete kağıtları içerisinde tahta presler arasında kurutuldu. Tamamen kurutulan bu örnekler derin dondurucuda (-20 °C) birkaç gün bekletildi ve kartonlara yapıştırılarak herbaryum materyali haline getirildi. Teşhis çalışmaları hazırlanan bu herbaryum materyalleri üzerinde yapıldı. Çalışılan örneklerin betimlerinde Türkiye Florası'nda yer alan betimleri temel alınmış ve genişletilerek verilmiştir (17). Ölçümlerde bitkinin büyük kısımları için cetvel ve daha küçük kısımları için ise milimetrik cetvel kullanılmıştır. Ölçümler stereo mikroskop altında yapılmıştır. Bu işlemde “Leica-MZ6” stereo mikroskop ve “Leica DFC290” kamera sistemi kullanılmıştır (Şekil 3.1). Ölçümlerde önce boy daha sonra en yazılmış ve aralarına (×) işareti konulmuştur.



Şekil 3.1. Morfolojik çalışmalarda kullanılan stereo mikroskop

3.3. Anatomik Çalışmalar

Toplanan örnekler kurutulduktan sonra anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere %70'lik etanol içeren renkli şişelerde muhafaza edilmiştir. Daha sonra bekletilen örneklerden kök, gövde ve yapraklarından jilet yardımıyla enine kesitler alınmıştır. Uygun olan kesitler Sartur reaktifi ile ısıtılarak incelenmiştir. Mikroskopik çalışmalarda “Leica-DM1000” ışık mikroskobu ve “Leica DFC290” kamera sistemi kullanılmıştır (Şekil 3.2).

3.3.1. Sartur reaktifinin içeriği ve hazırlanışı

Anatomik çalışmalarda kullanılan Sartur reaktifi içerisindeki maddeler, miktarları ve hazırlanışı aşağıda verilmiştir (81).

Saf laktik asit (60 mL), soğukta Sudan III ile doyurulmuş laktik asit (45 mL), saf anilin (2 g), iyot (0.2 g), potasyum iyodür (1 g), % 96'lık alkol (10 mL), distile su (80 mL).

1. Aşırı doygun sudan III çözeltisi laktik asit içerisinde hazırlanır ve ara sıra çalkalanarak birkaç gün buzdolabında bekletilir. Daha sonra pamuktan süzülür.

2. 60 mL laktik asit içerisine 2 g anilin konur ve doyurulmuş sudan III çözeltisi ilave edilir.

3. 1 g potasyum iyodür, 10 mL'de suda çözülür, 10 mL alkol ve 0.2 g iyot eklenir. İyot tamamen çözüldükten sonra sudan III'lü çözeltiye ilave edilir ve üzerine 70 mL distile su eklenir.

Örneklerin yapraklarından hem alt hem de üst yüzeylerinden küçük parçalar alınmış, alüminyum stablarda çift taraflı yapıştırıcı bantlar üzerine yapıştırılmış ve taramalı elektron mikroskopunda (SEM) görüntüleri alınarak stoma özellikleri belirlenmiştir. Bu işlem için İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezi Laboratuvarları (İBTAM) bünyesinde bulunan "LEO EVO 40" SEM cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Anatomik ve palinolojik çalışmalarda kullanılan ışık mikroskobu ve kamera sistemi

3.4. Palinolojik Çalışmalar

Palinolojik çalışmalar; kurutulmuş *Hypericum* örneklerinden alınan çiçekler kullanılarak yapılmıştır. Polenlerin; tipi, şekli, apertür tipleri belirlenerek polar (PE) ve ekvatorial (EE) eksen uzunluk ölçümleri yapılmıştır.

3.4.1. Işık Mikroskobu Yöntemi

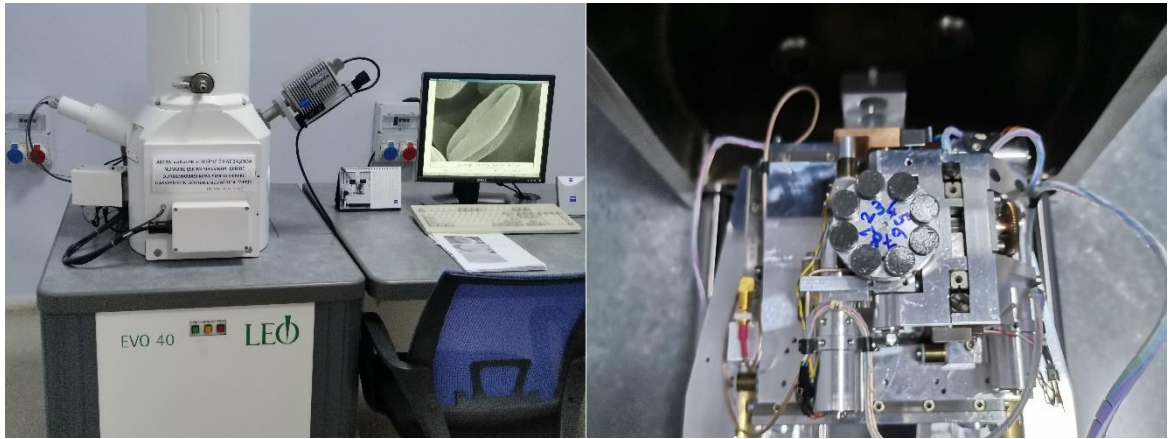
Hypericum örneklerine ait polen preparatları Wodehouse yöntemine göre incelenmiştir (33). Toplanan örneklerin çiçeklerinden alınan polen taneleri toplu iğne yardımıyla lamın üzerine kondu. Üzerine % 96'lık etanolden birkaç damla damlatıldı. Böylelikle preparat içerisindeki safsızlıklar giderilmiş oldu. Lam kuruduktan sonra üzerine daha önceden hazırlanmış olan bazik fuksinli gliserin-jelatinden, lamelden taşmayacak büyüklükte küçük bir parça eklendi ve ısıtılarak erimesi sağlandı. Bu sırada toplu iğne yardımıyla karıştırılarak polenlerin karışması sağlandı. Polenlerin lamel tarafına düşmesi ve X100 objektifte daha rahat görüntü alabilmek amacıyla preparat ters çevrilerek soğutuldu. Hazırlanan preparatlar “Leica-DM1000” ışık mikroskobu ve “Leica DFC290” kamera sistemi ile incelenmiştir. Her takson için 50 polen üzerinde immersiyon yağı kullanarak X100 objektif ve X10 oküler kullanılarak 1000 kez büyütme yapılmıştır. “Leica Application Suite” programı yardımıyla polenlerin polar ve ekvatorial eksen uzunlukları ölçülmüştür. Polen şekli, polar eksen uzunluğunun ekvatorial eksen uzunluğuna bölünmesiyle (PE/EE) belirlenir. “Microsoft Office Excel 2013 programı” ile örneklerin PE/EE değerleri hesaplanmış ve şekilleri Erdtman’a göre Tablo 3.2’ye verilmiştir (34).

Tablo 3.2. PE/EE oranına göre polen şekilleri

Polen şekli	PE/EE oranı
Peroblat	< 0.5
Oblat	0.5-0.75
Suboblat	0.76-0.88
Oblat-sferoidal	0.89-0.99
Sferoidal	1.00
Prolat-sferoidal	1.01-1.14
Subprolat	1.15-1.33
Prolat	1.34-2.00
Perprolat	> 2

3.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Yöntemi

Polenler alüminyum stablardaki çift taraflı yapıştırıcılı bantlar üzerine toplu iğne yardımıyla stereo mikroskop altında yapıştırarak hazırlanmıştır. Polenlerin taramalı elektron mikroskobunda inceleyebilmek için hazırlanan preparatların altın kaplaması yapılmıştır. Örnekler ait polen görüntüleri İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezi Laboratuvarları (İBTAM) bünyesinde bulunan “LEO EVO 40” SEM ile alınmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Palinolojik çalışmalarda kullanılan SEM cihazı

3.5. Ekstrelerin Hazırlanması

Ekstraksiyonda su ve metanol olmak üzere iki farklı solvent kullanılmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından 10'ar gr tartılmış ve üzerlerine 100'er mL su veya metanol ilave edilerek oda sıcaklığında maserasyona bırakılmıştır. Bu işlem süzöntü alınıp tekrar çözücü ilave edilerek üç kez tekrarlanmış ve alınan süzöntüler birleştirilip rotavoporda çözücülerini uzaklaştırılmıştır (82). Kalan ekstraktlar ise çalışmalarda kullanılıncaya kadar -18 °C'de derin dondurucuda saklanmışır. Bu şekilde her bitkiden iki farklı ekstrakt (metanol ve su) elde edilmiştir.



Şekil 3.4. Hazırlanan ekstreler için örnekler ve rotavoporda solvent uzaklaştırma

3.6. Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

Bu bölümde arazi çalışmaları sonucu toplanan 11 *Hypericum* taksonunun çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ve metanol ekstraktları kullanılarak bitkilerin fenolik içerikleri belirlenmiştir. Bu fenolik bileşikler; klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, mirisetin, kuersetin, kamferol, kateşin, epikateşin, hiperozit ve rutin şeklindedir. Aynı zamanda metot validasyon çalışmaları da yapılmıştır. Bu kapsamda kesinlik, doğruluk, geri kazanım, çalışma aralığı, saptama (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırları parametreleri belirlenmiştir.

3.6.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Saf standart maddelerden 10 mg tartılarak 10 mL'lik balon jojelerde metanolde 1000 ppm'lik ana stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu ana stok çözeltileri çalışmada kullanılıncaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Ara stok çözeltileri çalışma gününde taze olarak hazırlanmıştır. Seyreltmeler için yapılan denemeler sonucu standartlar için en uygun çözücü sistemi 35:65 metanol:su olarak belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler farklı günlerde olmak üzere 3 tekrarlı çalışılmıştır.

3.6.2. *Hypericum L.* Örneklerinin Hazırlanması

Hazırlanan örneklerden farklı konsantrasyonlarda numuneler alınmış ve enjekte edilmiştir. Denemeler sonucunda örnekler için en uygun çözücü sistemi 50:50 metanol:su olarak belirlenmiştir. Hem metanol hem de su ekstraktları 10 mg ekstrakt 2 mL çözücüde (50:50 metanol:su) hazırlanmıştır. Örnekler farklı günlerde olmak üzere 3 tekrarlı çalışılmıştır.

3.6.3. Kromatografik Şartların Belirlenmesi

Fenolik bileşiklerin tayininde ters faz sıvı kromatografisi uygulanmıştır. Farklı oranlarda su, metanol ve formik asit kullanılarak fenolik bileşiklerin ayrılması için denemeler sonucu uygun şartlar hazırlanmıştır. Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan standart maddelerin kendi dalga boylarında verdikleri değerler ve alıkonma zamanları ile örneklerdeki değerler karşılaştırılarak karar verilmiştir. Bu amaçla çalışma sırasında standart madde karışımları da cihaza enjekte edilerek analiz edilmiştir.

Tablo 3.3. Fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik HPLC cihaz koşulları

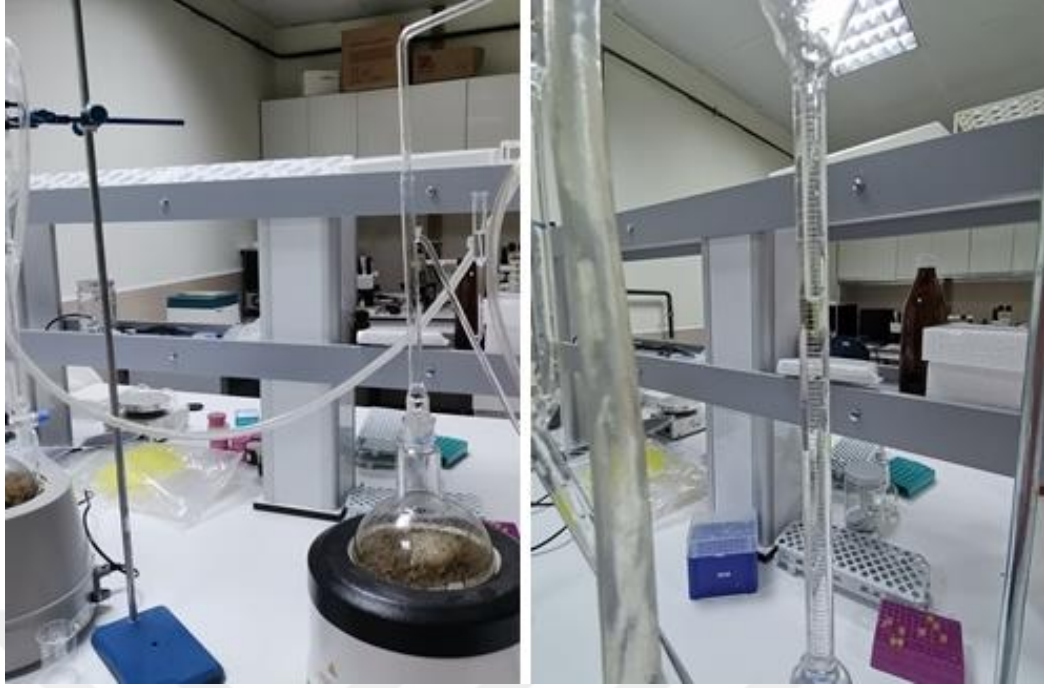
Kromatografik şartlar	
Cihaz	Agilent 1100G serisi
Kolon	SVEA C18 Gold 5µm 250×4.6 mm
Dedektör	Diyot dizisi dedektör (DAD)
Dalga boyları	280 nm, 323 nm, 365 nm
Hareketli faz	MeOH:H ₂ O:HCOOH
Akış hızı	1 mL/dak
Analiz süresi	32 dakika
Enjeksiyon hacmi	20 µl

Tablo 3.4. Analizi yapılan fenolik bileşikler ve dalga boyları

Fenolik bileşik	Dalga boyu (λ)
Gallik asit (+) Kateşin (-) Epikateşin	280 nm
Klorojenik asit Kafeik asit Ferulik asit p-kumarik asit	323 nm
Hiperozit Rutin Mirisetin Kuersetin Kamferol	365 nm

3.7. Uçucu Yağ Çalışmaları

Uçucu yağlar; örneklerin kurutulmuş toprak üstü kısımları kullanılarak, clevenger aparatı yardımıyla su distilasyonu yöntemiyle elde edilmiştir (Şekil 3.5). Bunun için belli miktarlarda alınan kuru örnekler kabaca parçalanarak cam balonlara konulup, üzerlerine yaklaşık 10 katı olacak şekilde su ilave edilerek yaklaşık 3.5 saat boyunca distile edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların miktarları belirlenmiş ve yüzde yağ miktarları hesaplanmıştır. Bu yağların GC-MS cihazında analizi ve kütüphane taraması yapılmıştır. Böylece bitkilerin uçucu yağ kompozisyonları belirlenmiştir. Uçucu yağların analizi; İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.



Şekil 3.5. Clevenger apareyi ve elde edilen uçucu yağ örneği

Tablo 3.5. Uçucu yağ analizinde kullanılan GC-MS cihaz koşulları

GC-MS Cihaz koşulları	
Cihaz	Agilent Technologies 6890N Network GC System
Kolon	HP- Innowax column (60 m × 0.250 mm i.d., 0.25µm film thickness)
Dedektör	Agilent Technologies 5973 inert Mass Selective Detector
Fırın sıcaklığı	40 °C'den 260 °C'ye kademeli olarak
Helyum gazı akış hızı	1.7 mL/dak.
Enjeksiyon	Otomatik

3.8. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Antioksidan aktivite çalışmalarında DPPH ve ABTS olmak üzere iki yöntem uygulanmıştır. DPPH ve ABTS yöntemlerine göre örnekler hazırlanmış ve Bio Tek Synergy H1 Plate Reader cihazı ile absorbans değerleri ölçülmüştür.

3.8.1. DPPH Metodu

DPPH serbest radikali giderim yöntemi, Brand-Williams tarafından verilen metotta küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (83). Hazırlanmış olan metanol ve su ekstraktlarından 1000 µg/mL stoklar hazırlanmış ve 1000, 500, 250, 125, 62.5,

31.25 µg/mL, standartlar ise metanolde çözünmüş ve 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 ve 7.8125 µg/mL'ye kadar seyreltmeler yapılmıştır. Bu yöntemde kullanılacak olan DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) solüsyonu 1×10^{-3} M taze hazırlanmıştır. Standart olarak gallik asit, troloks ve α -tokoferol çalışılmıştır.

Çalışmada 96 kuyucuklu mikropalak kullanılmıştır. Kuyucuklara aynı numuneden 3 tekrarlı olacak şekilde 150 µl örneklerden ve standartlardan konulmuştur. Daha sonra üzerlerine 50 µl taze hazırlanmış olan DPPH solüsyonundan eklenmiş ve 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası mikropalakların 517 nm'de absorbens değeri okunmuştur. IC₅₀ değeri kalibrasyon eğrisi denkleminde hesaplanmıştır.

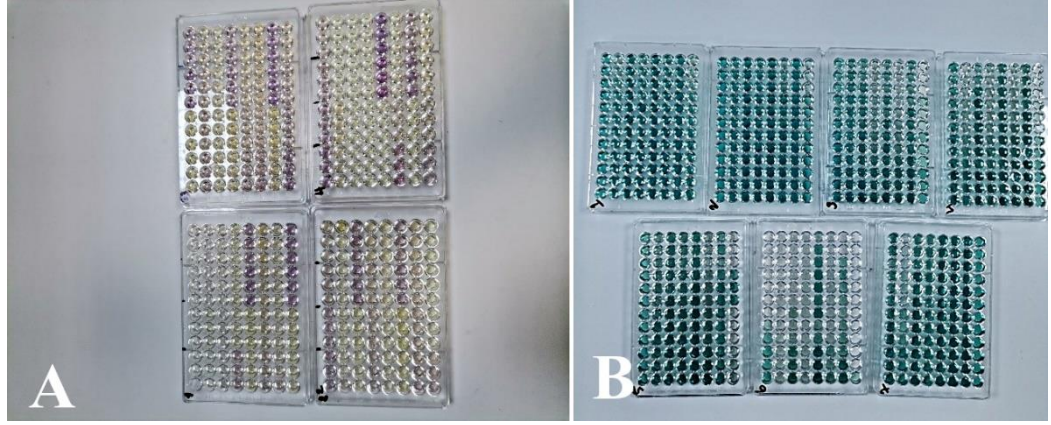
$$\% \text{ İnhibisyon} = (\text{ABS kontrol} - \text{ABS örnek}) / \text{ABS kontrol} \times 100$$

(ABS: Absorbans)

3.8.2. ABTS Metodu

ABTS katyon radikali giderim yöntemi, Re tarafından verilen metotta küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (84). Kullanılacak olan ABTS (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate) reaktifi; 2.45 mM potasyum persülfat (K₂S₂O₈) hazırlanır. Daha sonra hazırlanan bu çözelti ile 7 mM ABTS çözeltisi hazırlanır. Bir gece karanlıkta bekletilip ertesi gün 1:90 oranında saf su ile seyreltilerek kullanıma hazır hale getirilir. Ekstrelerden 1000, 500, 250, 125, 62.5 ve 31.25 µg/mL standartlardan ise 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 ve 7.8125 µg/mL konsantrasyonlarda numuneler hazırlanmıştır. Standart olarak gallik asit, troloks ve α -tokoferol kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak olan 96 kuyucuklu mikropalaklara herbir kuyucuğa aynı numuneden 3 tekrarlı olacak şekilde 20 µl örnek ve 200 µl ABTS reaktifinden ilave edilmiş ve 734 nm'de absorbens değeri ölçülmüştür. IC₅₀ değeri kalibrasyon eğrisi denkleminde hesaplanmıştır.

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



Şekil 3.6. Mikroplak örnekleri (A. DPPH, B. ABTS metoduna göre hazırlanmış)

3.9. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3.6. Tez çalışmalarında kullanılan kimyasallar ve özellikleri

Madde adı	Özellikleri	Katalog No	Firma adı
Metanol	HPLC grade	V91020029L	CARLO ERBA
Potasyum peroksodisülfat	%99	252154	J&K
Formik asit	%98	27001	ALDRICH
(±)-α- Tokoferol	≥%96 (HPLC)	T3251	SIGMA
Troloks			CARBOSYNTH
DPPH	≥%97		TCI
ABTS	%99,11 (HPLC)	000001	CHEM-IMPEX INTL INC
Gallik asit	≥%99	028K0113	ISOLAB
Klorojenik asit	≥%95	048K1313	SIGMA
Kafeik asit	≥%98	088K1060	SIGMA
Ferulik asit	≥%99	12,870-8	ALDRICH
p-kumarik asit		078K1386	SIGMA
Mirisetin	≥%96	WA10960	FLUKA
Kuersetin	%98,24	BD30401	BLD PHARM
Kamferol	%96	WA12099	FLUKA
(+)-Kateşin	≥%98	WA13685	SIGMA
(-)-Epikateşin	≥%90	WA23030	SIGMA
Hiperozit		BD33758	BLD PHARM
Rutin	≥%98	BD32066	BLD PHARM

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

Hypericum spectabile Jaub. & Spach

Hypericum spectabile Jaub. & Spach. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde 35-60 × 0.2-0.3 cm, dik, bazen sürünücü ve tabanda köklenir, salgısız, tüysüz. Gövde yaprakları üçgenimsi-ters yumurtamsıdan yarı dairemsiye kadar, 20-45 × 15-30 mm, tabanda serbest ve gövdeyi sarı-cı-kalpsiden perfoliata kadar, donuk mavimsi yeşil, alt yüzeyde seyrek üst yüzeyde sık guddeli, tüysüz. Çiçek düzeni 8-13 × 7-10 cm, piramidal, çok sayıda çiçekli. Sepaller oblong, obtuzdan yuvarlağa kadar (nadiren akut), 2.5-4 × 1-2 mm, kenarı salgılı, siliat, siyah guddeli (yaklaşık 15 adet), tabanda ¼'üne kadar birleşik, 3 belirgin damarlı. Petaller 9-14 mm sarı, bazen kırmızı damarlı, kenarlarında siyah guddeli. Kapsül yumurtamsı-yuvarlağımsı, 9-10 × 2.5-3 mm, gagalı.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran

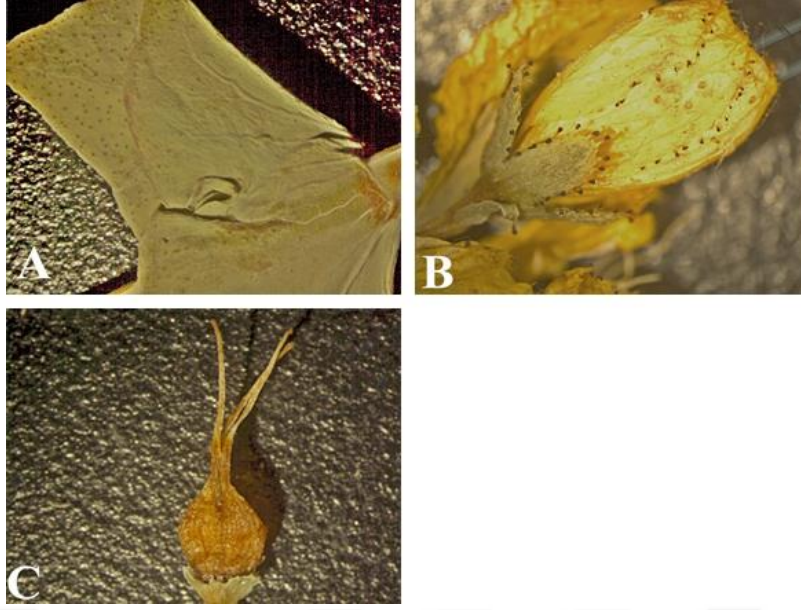
Yetiştirme ortamı: Tarla kenarları ve nadasa bırakılmış alanlar, 570-1280 m.

Dünya'daki yayılışı: Endemik, İran-Turan elementi.

İncelenen Örnekler: B6 Akçadağ, Dümüklü Köyünü 1 km geçince, meşelik alanlar, 1500 m, 05/06/2021, İG 1031.



Şekil 4.1. *H. spectabile*, A. Herbaryum örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.2. *H. spectabile* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum microcalycinum* Boiss. & Heldr.**

Hypericum microcalycinum Boiss. & Heldr. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

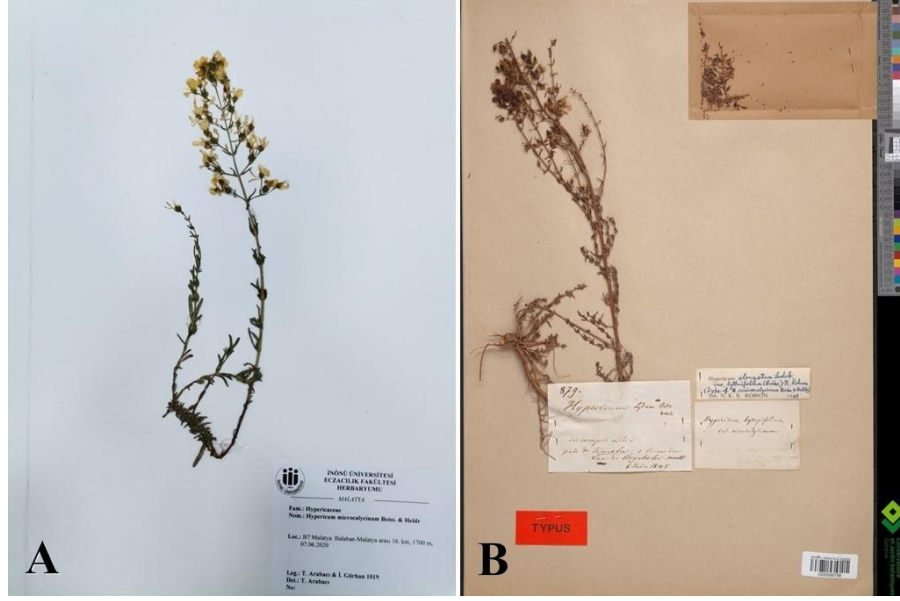
Gövde $10-70 \times 0.15-0.3$ cm, dik, salgısız ya da çok sayıda soluk sarı guddeli, tüysüz. Gövde yaprakları $5-32 \times 1-2$ mm, oblongtan lineere kadar, $\pm$ alta doğru kıvrık, tabanı paralel ya da dar, ucu obtuzdan yuvarlağa kadar, glandlar basık değil, eşit, genelde hepsi soluk, $\pm$ donuk mavimsi yeşil ya da değil, tüysüz. Çiçek düzeni silindirikten darca piramide kadar, $5-30 \times 3-14$ cm, çok sayıda çiçekli, yan dallar 1-5 çiçekli, brakte ovat triangularlardan lanseolata kadar, tam kenarlı, siyah guddesiz. Sepaller eşit ya da değil, oblongdan lanseolata kadar, $2-3 \times 0.8-1.2$ mm, genellikle kenarında düzenli guddeli, kiremit dizilişli değil, tabanda $1/4-1/5$ 'ine kadar birleşik, belirgin 3 damarlı. Petaller 7-12 mm, sarı, uçlarında düzensiz saplı siyah guddeli. Kapsül $7-8 \times 2-2.5$ mm, yumurtamsı, gagasız.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran

Yetiştirme ortamı: Kayalık ve çimenli yamaçlar ya da açık ormanlık alanlar, 1100-1200 m.

Dünya'daki yayılışı: İran-Turan elementi.

İncelenen Örnekler: Balaban-Malatya arası 16. km, 1700m, 07/06/2020, İG 1019.



Şekil 4.3. *H. microcalycinum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.4. *H. microcalycinum* (İG 1019 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.5. *H. microcalycinum* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum lydium* Boiss.**

Hypericum lydium Boiss. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde $10-75 \times 0.1-0.2$ cm, dik-yükselici, çok sayıda belirgi kırmızı amber renkli guddeli, tüysüz. Gövde yaprakları $5-35 \times 1-2$ mm, lineer ya da darca oblong-lanseolat, alta doğru kıvrık, yuvarlak, bazen mukrolu, salgılı, bazen donuk mavimsi yeşil tüysüz ya da bazen dalgalı papilloz. Çiçek düzeni silindirik ya da darca piramidalen hafifçe spikaya kadar, $5-12 \times 2-3$ cm, 10-çok çiçekli. Sepaller eşit, $2-3.5 \times 0.7-1.2$ mm, tabandan itibaren $1/4-1/5$ 'ine kadar birleşik, lanseolattan oblonga kadar, akut ya da hafifçe akut, tüm kenar boyunca düzgün dişli-guddeli ya da sapsız guddeli, belirgin 1-3 damarlı. Petaller 6-12 mm, sarı, kenarları seyrek guddeli, nadiren kırmızı damarlı. Kapsül $6-8 \times 2-2.2$ mm yumurtamsı ve dereceli olarak aküminattan yarı küremsiya kadar ve gagalı.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

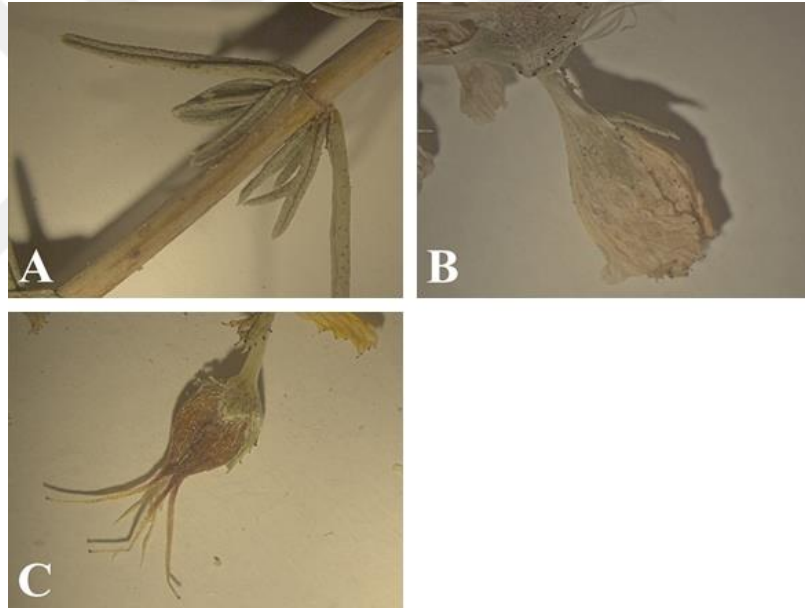
Yetiştirme ortamı: Kayalık yamaçlar ve *Pinus* ormanı, 400-2700 m.

Dünya'daki yayılışı: Kuzey Irak, Kafkasya. İran-Turan elementi.

İncelenen Örnekler: Malatya-Hekimhan arası Kocaözü köyü, 1000 m, 07/06/2020, İG 1011.



Şekil 4.6. *H. lydium*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.7. *H. lydium* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum retusum* Aucher**

Hypericum retusum Aucher türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde 15-50 × 0.2-0.3 cm, dik, düzensiz siyah gудde-noktalı, tüysüz. Gövde yaprakları 10-30 × 0.5-2 mm, lineer, alta doğru kıvrık, retuz, uçta siyah guddeli ve yüzeyde seyrek siyah guddeli donuk mavimsi yeşil, tüysüz. Çiçek düzeni 6-10 × 3-5 cm,

silindirik ya da nadiren piramidal, çok çiçekli. Sepaller oblong, $2.5-4 \times 1-2$ mm, obtus-yuvarlak, kenarı salgılı ya da salgısız guddeli ya da düz, tabanda 1/3-1/4'üne kadar birleşik, 2 tane boyuna siyah çizgili. Petaller 7-10 mm, sarı, kenarlarında düzgün siyah guddeli. Kapsül $5-7 \times 1.5-2$ mm, yumurtamsı, kısa gagalı.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetiştirme ortamı: Kalkerli bozkır ve yamaçlar, tarla kenarları, 360-1150 m.

Dünya'daki yayılışı: Suriye Çölü. İran-Turan elementi

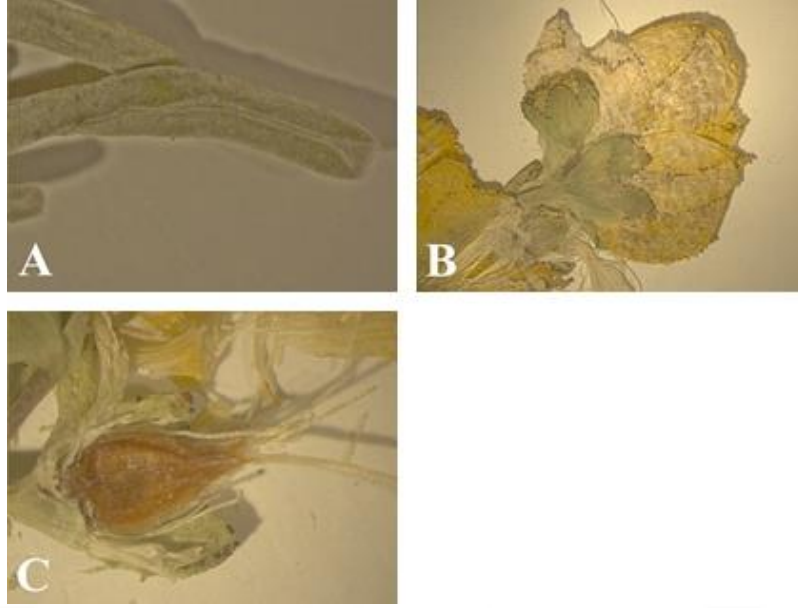
İncelenen Örnekler: Hekimhan-Saz arası Deveci yol ayrımı 1600 m, 07/06/2020, İG 1020.



Şekil 4.8. *H. retusum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.9. *H. retusum* (İG 1020 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.10. *H. retusum* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm.**

Hypericum uniglandulosum Hausskn. ex Bornm. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde (10-)14-30(-33) × 0.1-0.12 cm, dik ya da uçta yükselici yatık ve tabandan dallanmış, tüysüz ya da kısa havlı, gудde-nokta yoktur. Gövde yaprakları 5-20 × 0.5-1 mm, linear, alta doğru kıvrık, akut ya da mukronat, bazen uçta tek siyah guddeli, papilloz-kısa havlıdan tüysüze kadar, sıklıkta donuk mavimsi yeşil. Çiçek düzeni oldukça dar üçgenimsi ya da hafifçe spika şeklinde, yaklaşık 6-30 çiçekli. Pedisel 2-4 mm. Çiçekler 6-8 × 8-10 mm. Sepaller oblongdan yumurtamsı ya da ters yumurtamsıya kadar, tabanda 1/2-1/3'üne kadar birleşik, belirgin 5 damarlı, 2.5-3 × 1.5-2 mm, ucu akut, obtuz ya da yuvarlak, kenarı sapsız guddeli ya da siliat guddeli (yaklaşık 15-17). Petaller 6-8 × 3-4 mm, kenarlarında guddeli ve silli. Kapsül 2.5-3 × 2-2.2 mm, yuvarlak, gagasız.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetiştirme ortamı: Magmatik tepeler ve step, 850-1650 m.

Dünya'daki yayılışı: Endemik, İran-Turan elementi

İncelenen Örnekler: B7 İnönü Üniversitesi, Kampüs, 950 m, TA 3089, 22/07/2021.



Şekil 4.13. *H. uniglandulosum* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül.

***Hypericum capitatum* Choisy var. *luteum* N. Robson**

Hypericum capitatum Choisy var. *luteum* N. Robson taksonunun genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde 14-50 × 0.08-0.12 cm, dik ya da uçta yükselici yatık, salgısız ya da belirli belirsiz küçük kırmızı guddeli, tüysüz. Gövde yaprakları 8-12 × 1-4 mm, oblongdan lineere kadar bazen alta doğru kıvrık, ucu akuttan yuvarlağa kadar, alt yüzeyde salgısız üst yüzeyde sık salgılı, ±donuk mavimsi yeşil, tüysüz. Çiçek düzeni hafifçe korimbus şeklinde, 2-6 × 2-5 cm, çok çiçekli. Sepaller oblongdan yumurtamsı lanseolata kadar 1.5-2 × 1-1.5 mm akuttan yuvarlağa kadar, tabanda ½'sine kadar birleşik, guddeli dişli ya da değil. Petaller 5-7 mm, sarı, bazen uç kısmında seyrek siyah guddeli. Kapsül 5-7 × 1.5-2 mm, hafifçe küremsi, belirsiz gagalı ya da değil.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetiştirme ortamı: Kuru kalkerli yamaçlar veya step, 360-900 m.

Dünya'daki yayılışı: Suriye Çölü, İran-Turan elementi

İncelenen Örnekler: B7 Hekimhan-Darende arası 59. km 1500 m step, 07/06/2020, İG 1014.



Şekil 4.14. *Hypericum capitatum* var. *luteum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.15. *H. capitatum* var. *luteum* (İG 1014 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.16. *H. capitatum* var. *luteum* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül.

***Hypericum scabrum* L.**

Hypericum scabrum L. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde (10-)15-45(-60) × 0.05-0.4 cm, dik ya da uçta yükselici yatık, dallanmamış siyah guddeli biten skabrit dikenli ya da nadiren düz ve salgısız. Gövde yaprakları 5-20(-25) × 1.5-7 mm, üst yüzeyde seyrek salgılı, oblong-eliptikten lanseolata ya da lineere kadar bazen alta doğru kıvrık, yuvarlakdan mukronata kadar, nadiren donuk mavimsi yeşil, tüysüz ya da hafifçe dalgali papillalı. Çiçek düzeni korimboz, 1.5-7 × 1.5-5 cm, çok çiçekli. Sepaller oblong, subakuttan yuvarlağa kadar, 2-2.5 × 0.7-1 mm, kenarı düzgün dişli guddeliden siliata ya da salgısız siliattan düze kadar, tabandan 1/2'sine kadar birleşik, 1-2 belirgin çizgili. Petaller 5-7(-8) mm, sarı, bazen uç kısmında seyrek siyah guddeli. Kapsül 5-8 × 2-2.5 mm yumurtamsıdan üçgenimsiye kadar, gagasız ya da hafifçe gagalı.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetişme ortamı: Kuru kayalık yamaçlar, açık ormanlık alanlar veya step, 750-3200 m.

Dünya'daki yayılışı: Güneydoğu Asya, İran-Turan elementi.

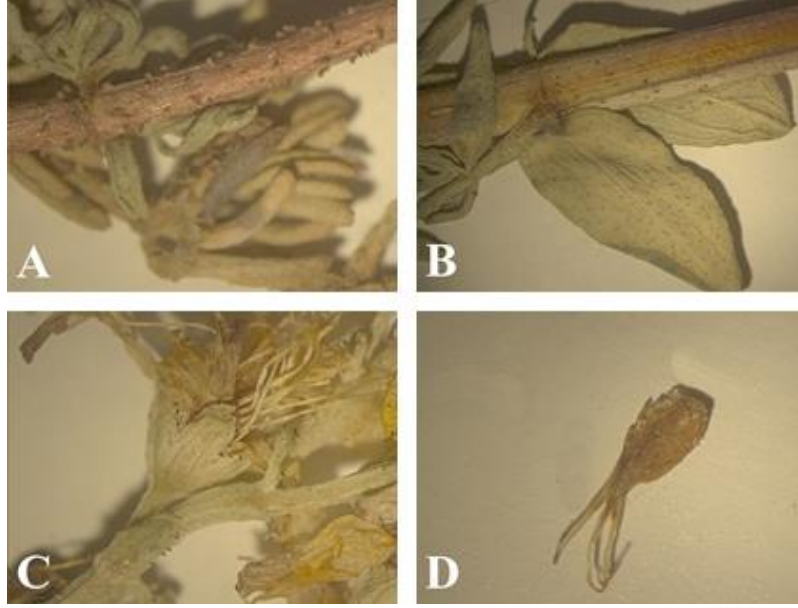
İncelenen Örnekler: B7 Eskiköy üzeri, yamaçlar, 14/06/2020, İG 1026.



Şekil 4.17. *H. scabrum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.18. *H. scabrum* (İG 1026 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.19. *H. scabrum* morfolojisi; A. Gövde, B. Yaprak, C. Çiçek, D. Kapsül

***Hypericum thymopsis* Boiss.**

Hypericum thymopsis Boiss. türünün genişletilmiş betimi daha önce yapılmış olan tez çalışmasında verilmiştir (63).

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz.

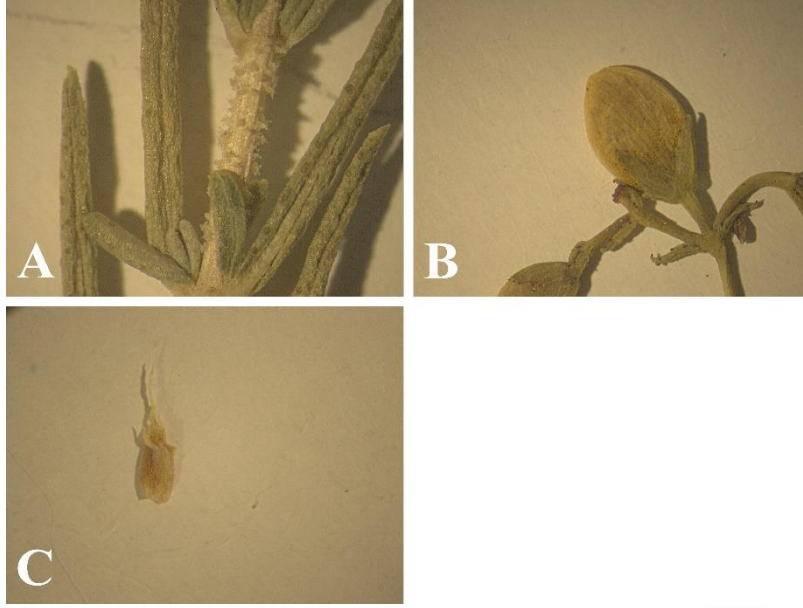
Yetiştirme ortamı: Kalkerli tepe kenarları ve lavlar.

Dünya'daki yayılışı: Endemik. İran-Turan elementi

İncelenen Örnekler: B6 Darende-Gürün arası 11.km 07/06/2020.



Şekil 4.20. *H. thymopsis*, A. Herbaryum örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.21. *H. thymopsis* morfolojisi; A. Yaprak alt, üst yüzey ve gövde, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum malatyanum* Peşmen**

Hypericum malatyanum Peşmen türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş betimi

Gövde $4-12 \times 0.08-0.1$ cm, odunsu, tabandan itibaren yükseliciden yatığa kadar, tüysüz. Gövde yaprakları ters yumurtamsı-eliptik, (2-) $3-7$ (9) $\times$ $1-3$ mm (0.5-1 mm petiyol hariç), kenarları düz ya da $\pm$ sertleşmiş, alta doğru kıvrık, yeşil- donuk mavimsi yeşil, üst yüzeyde ve alt yüzeyin kenar çizgisinden biraz içerde belirgin ve yüzeysel guddeli, tüysüz. Çiçek düzeni 1-3 çiçekli. Pedisel 3-6 mm, kırmızı-morumsu ya da yeşil. Çiçekler $5-10 \times 6-10$ mm. Sepaller ters yumurtamsı-eliptik, $2-4 \times 1-1.75$ mm, akuttan subobtuza kadar, kenarı kırmızı-morumsu küçük dişli siyah guddeli (yaklaşık 20), tabanda $1/4-1/5$ ine kadar birleşik, 3-belirgin damarlı. Petaller 5-10 mm, sarı, bazen uçlarda hafif morumsu, siyah gudde tek ya da yok. Kapsül $4-5 \times 1-1.5$ mm, yumurtamsı, gagalı.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetişme ortamı: Kireçli kaya yarıkları, 1900-2000 m.

Dünya'daki yayılışı: Malatya'ya endemik. İran-Turan elementi.

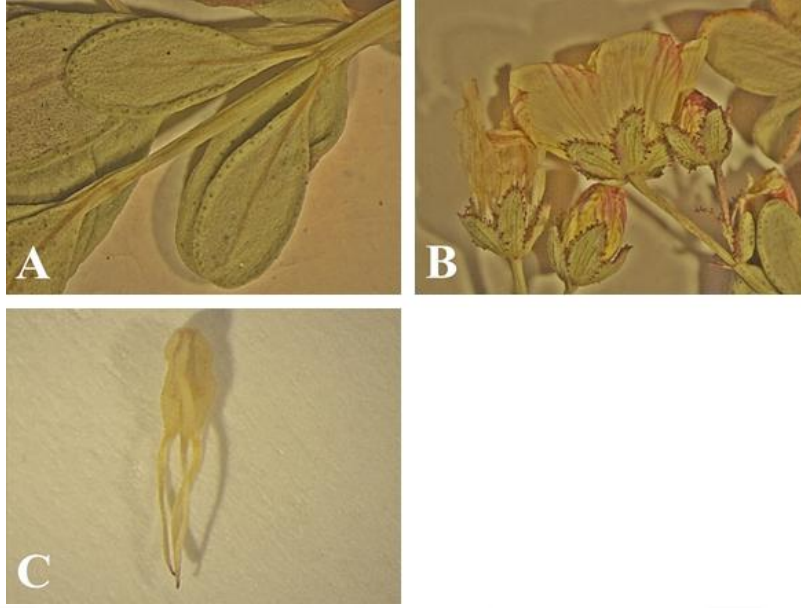
İncelenen Örnekler: B6 Malatya: Doğanşehir, Eskiköy Melekbaşı mezrası kayalık alanlar, 1800m, 14/06/2020, İG 1027.



Şekil 4.22. *H. malatyanum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.23. *H. malatyanum* (İG 1027 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.24. *H. malatyanum* morfolojisi; A. Yaprak alt yüzey, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum perforatum* L.**

Hypericum perforatum L. türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde 10-110 × 0.1-0.4 cm, dik, bazen tabanda köklenir, boyuna iki çizgili, dallanmış, ±yükselici, siyah guddeli, tüysüz. Gövde yaprakları 5-35 × 1-5 mm, darca ovat ya da lanseolattan eliptik-oblonga kadar ya da lineer, nadiren oblanseolat, saplı ya da sapsız düz genellikle geniş şeffaf noktalı, ucu obtuzdan akuta kadar, yeşil, tüysüz. Çiçek düzeni piramidal bazen silindirik, 5-10 × 3-5 cm, çok çiçekli. Sepaller lanseolattan oblong ya da eliptiğe kadar, 3-4 × 0.5-1.5 mm, akuttan akuminata kadar, bazen kısa kılçıklı, tabandan itibaren serbest, seyrek düzensiz guddeli ya da değil, belirgin bir damarlı. Petaller 8-15 mm, sarı, kenarında seyrek siyah salgılı, bazen yüzeysel siyah çizgili. Kapsül 4-9 × 1.5-2 mm, yumurtamsıdan piramidale kadar, sırtta salgı kanallı ve yanıl veziküllü.

Çiçeklenme zamanı: Haziran-Temmuz

Yetişme ortamı: Mezofitik alanlarda kuru yerlerde, su kenarlarında deniz seviyesinden 2500 m yükseklikliğe kadar.

Dünya'daki yayılışı: Avrupa, Kuzey Afrika, Asya.

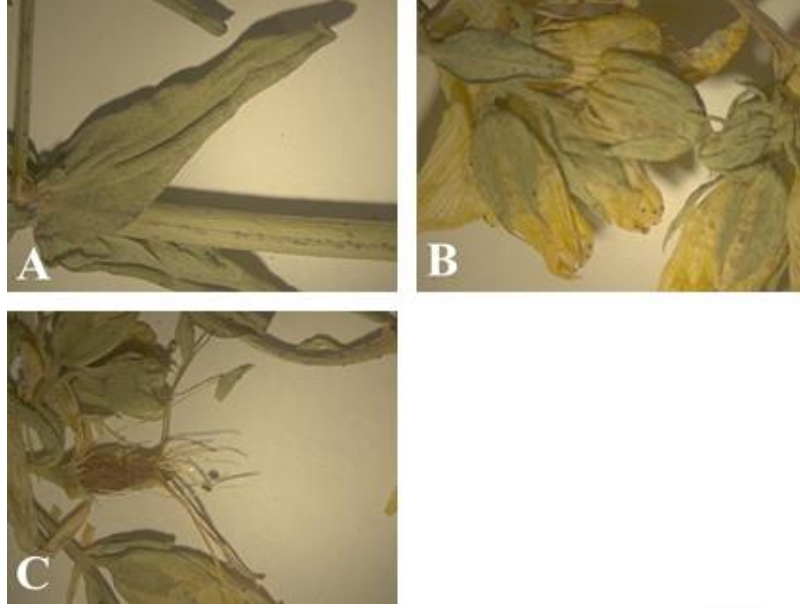
İncelenen örnekler: B7 Hekimhan-Darende arası bahçe kenarları 1150 m, 07/06/2020, İG 1022.



Şekil 4.25. *H. perforatum*, A. Herbarium örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.26. *H. perforatum* (İG 1022 nolu örnek) genel görünüşü



Şekil 4.27. *H. perforatum* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül

***Hypericum triquetrifolium* Turra**

Hypericum triquetrifolium Turra türünün genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir (17).

Genişletilmiş Betimi

Gövde $50-55 \times 0.2-0.3$ cm, dik ya da uçta yükselici yatık, boyuna iki çizgili ya da yuvarlak, piramit şeklinde genişçe dallanmış, uçlarda seyrek siyah guddeli, tüysüz. Yapraklar $3-20 \times 1-8$ mm, üç köşeli-lanseolat ya da nadiren dar yumurtamsıdan lineer-oblonga kadar gövdeyi sarıcı, kenarı dalgalı, ucu obtuzdan akuminata kadar, bazen orta büyüklükten küçüğe kadar şeffaf noktalı, alt ve üst yüzeyinde küçük ya da büyük siyah guddeli. Çiçek düzeni tek ya da dikazyum. Pedisel 0.5-1 mm. Çiçekler $4-8 \times 2-4$ mm, sepaller oblongdan dar yumurtamsıya kadar, $1.5-2.5 \times 0.6-1.2$ mm, akut-akuminat, tepecikli ya da yuvarlak, tabanda 1/4-1/5'ine kadar birleşik, belirgin bir damarlı, guddesiz. Petaller $5-8 \times 1.5-2$ mm, sarı, siyah gudde tek ya da yok. Stamenler anterde siyah guddeli. Kapsül $3-5 \times 1-1.5$ mm, yumurtamsı, boyuna salgı kanallı ve bazen birkaç yanal veziküllü.

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Ağustos

Yetiştirme ortamı: Açık kuru taşlı ve kumlu toprak, ekili alanlar, deniz seviyesinden 1250 m'ye kadar olan yerler.

Dünya'daki yayılışı: Güney Afrika, Kuzeybatı Afrika, Sirenayka, Kıbrıs, Batı Suriye, Suriye Çölü, Sina Yarımadası Kuzey Irak, Güney İran.

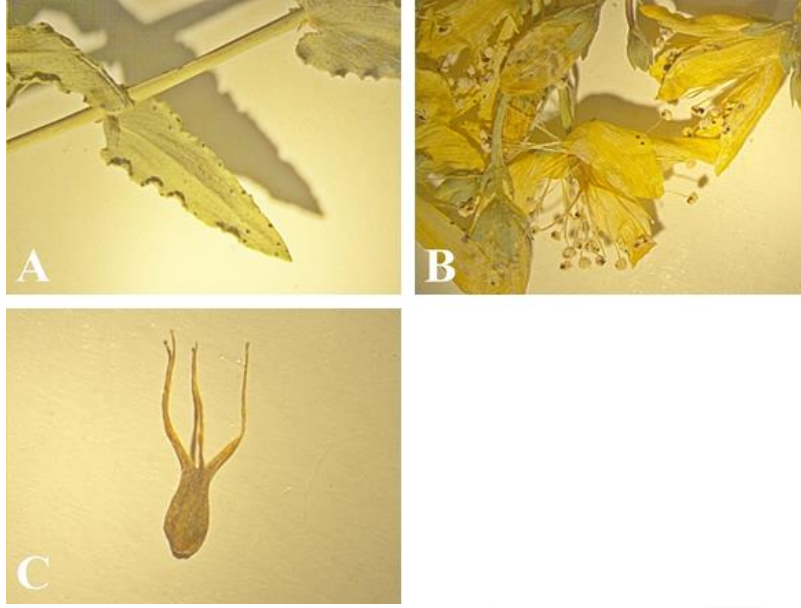
İncelenen örnekler: B7 İnönü Üniversitesi, kampüs, 16/07/2020, İG 2025.



Şekil 4.28. *H. triquetrifolium*, A. Herbaryum örneği, B. Tip örneği



Şekil 4.29. *H. triquetrifolium* (İG 1025) genel görünüşü



Şekil 4.30. *H. triquetrifolium* morfolojisi; A. Yaprak, B. Çiçek, C. Kapsül.

4.2. Anatomik Bulgular

Hypericum örneklerinin kök, gövde ve yaprak anatomisi özellikleri ile yaprak laminası ve stoma özellikleri aşağıda verilmiştir.

Kök anatomileri benzer yapıda özellikler göstermektedir. Yapılan incelemelerde en dışta kalın bir kütikula tabakası yer alır. Daha sonra sırasıyla; periderm, parenkimatik korteks, floem ve ksilem ayırt edilmektedir. Öz bölgesi ise ksilem elemanlarından oluşmaktadır. Bazı örneklerde salgı kanalları gözlenmiştir.

Gövde anatomileri de kök anatomisinde olduğu gibi benzer özellikler göstermektedir. Enine kesitte dairesel şekildedir. Değişen sayılarda salgılı veya salgısız olabilen emergensli ya da emergens bulunmayan örnekler de bulunmaktadır. En dıştan içe doğru, kütikula, epiderma, kollenkima ve parenkimatik korteks yer alır. Epiderma tek veya iki sıralı olabilmektedir. Sırasıyla; endoderma, floem tabakası, oldukça geniş yer tutan ksilem ve merkezde ise parenkimatik öz ve öz boşluğu yer almaktadır.

Yaprak anatomileri ise kök ve gövde anatomilerine göre bazı farklılıklar göstermektedir. Genellikle 2-3 adet olabilen büyük şizogen salgı kanalları bulunmaktadır. Alınan kesitlerde genel olarak orta damarda dıştan içe doğru; kütikula, üst epiderma (dairesel şekilde), iletim demetini çevreleyen parenkimatik hücreler, floem (bazı türlerde salgı kanalı içeren), ksilem ve alt epiderma (dörtgen şekilde) ve kütikula şeklindedir.

Orta damar dışındaki bölgede ise; dıştan içe doğru; kütikula, üst epiderma, mezofil tabakası (palizat ve sünger parenkimaları), alt epiderma ve kütikula şeklinde sıralanır. Mezofil tabakası ekvifasiyal veya bifasiyal olmak üzere iki şekilde bulunmaktadır.

Anatomik şekiller üzerinde kullanılan kısaltmalara ait açıklamalar şöyledir: ae: alt epiderma, e, emergens; en, endoderma; ep, epiderma; fl, floem; k, kütikula; ks, ksilem; ö, öz; p, parenkima; pe, periderma; pk, parenkimatik korteks; pp, palizat parenkiması; se, salgılı emergens, sp, sünger parenkiması; st, stoma; üe, üst epiderma.

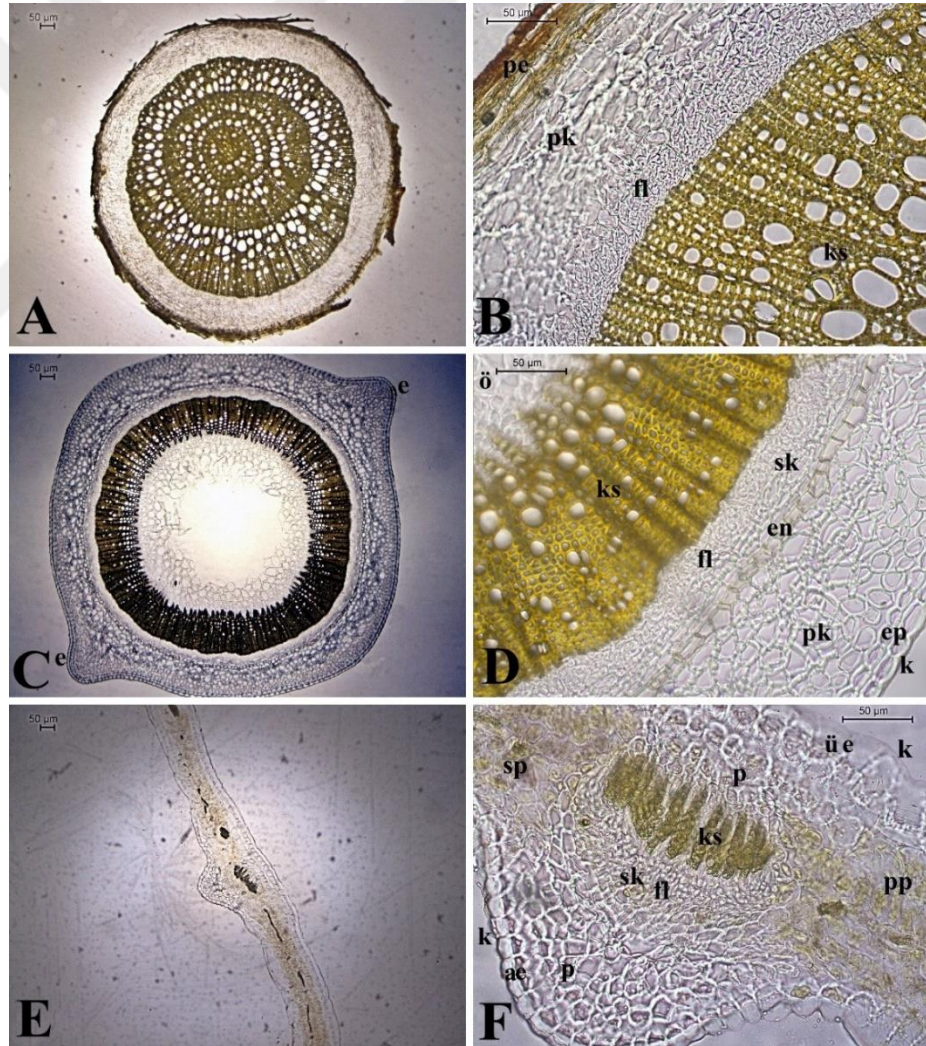
***Hypericum spectabile* Jaub. & Spach**

Kök; 4-5 sıralı periderma, parenkimatik korteks, floem ve ksilemden oluşmaktadır. Öz bölgesi ksilem elemanlarından oluşur. Salgı kanalı gözlenmemiştir.

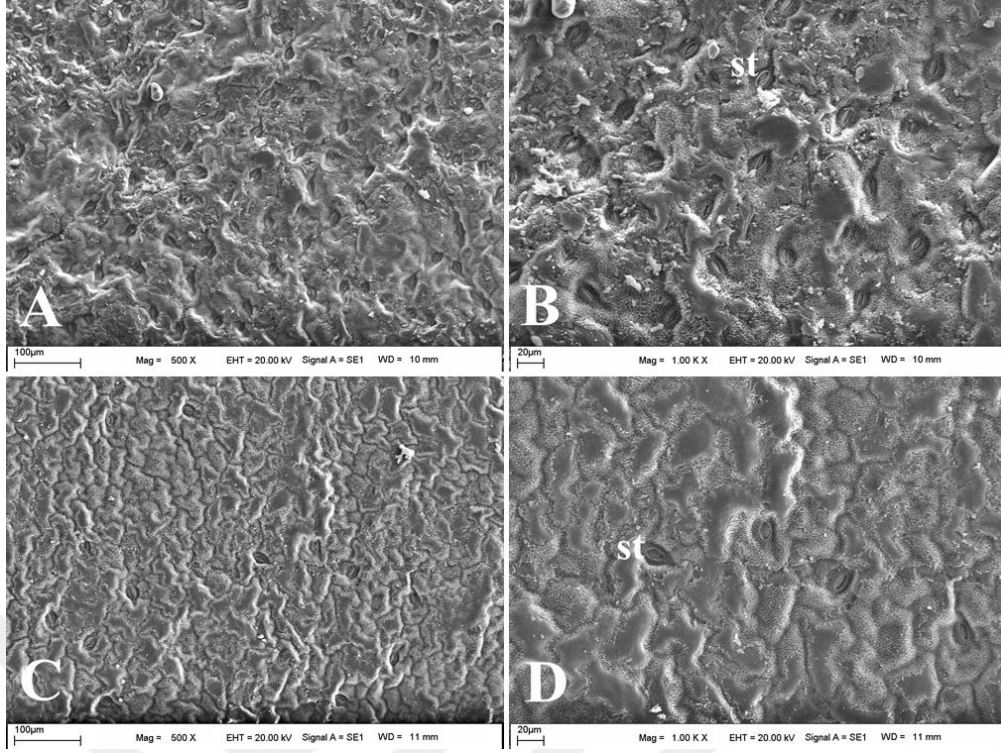
Gövde; belirgin salgısız iki emergenslidir, epiderma hücreleri iki sıralıdır, salgı kanalları gözlenmiştir.

Yaprak; mezofil bifasiyaldır, floemde salgı kanalı gözlenmiştir.

Stoma anizositik ve hafif batıktır (Şekil 4.31, 32).



Şekil 4.31. *H. spectabile* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.32. *H. spectabile* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

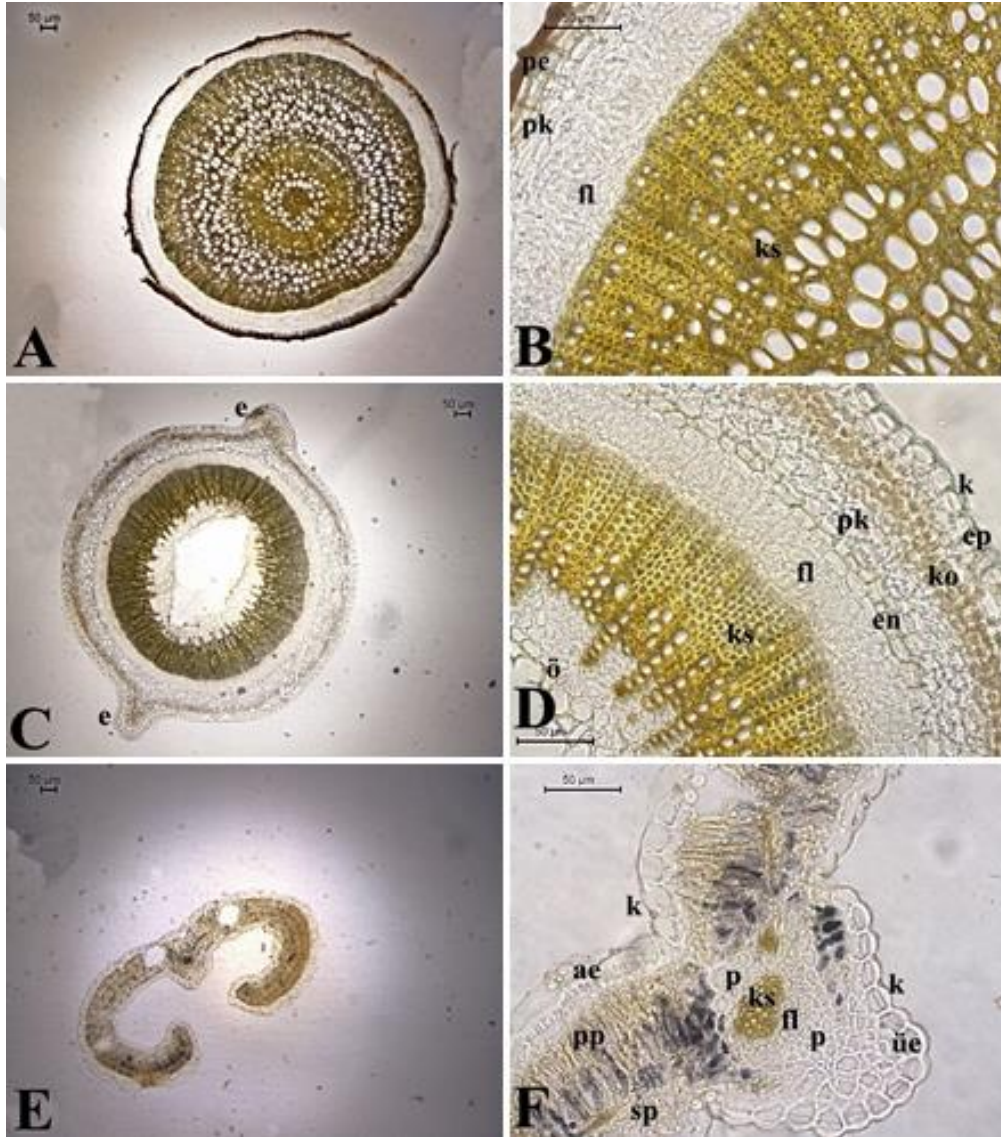
***Hypericum microcalycinum* Boiss. & Heldr.**

Kök; periderm 4-5 sıralıdır. Salgı kanalı gözlenmemiştir.

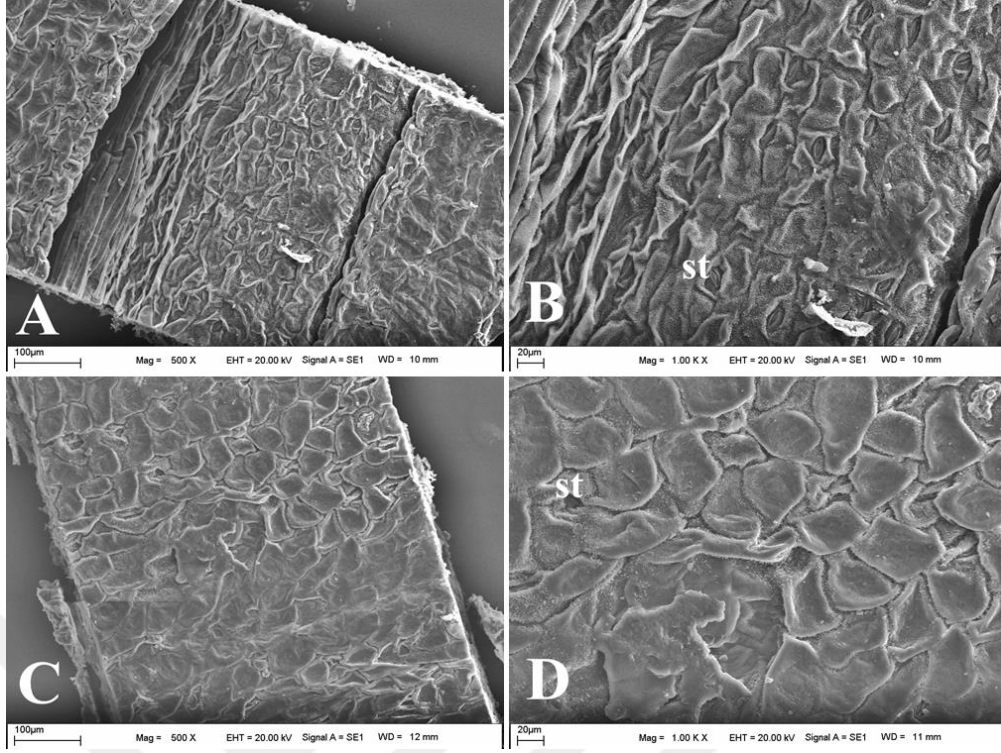
Gövde salgısız iki emergenslidir. Epiderma tek sıralı hücrelerden oluşur. Salgı kanalı içermemektedir.

Yaprak enine kesitte üç şeklidir. Mezofil tabakası bifasiyaldir. Floemde salgı kanalı gözlenmemiştir.

Stoma anizositik ve hafif batıktır (Şekil 4.33, 34).



Şekil 4.33. *H. microcalycinum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.34. *H. microcalycinum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü. (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

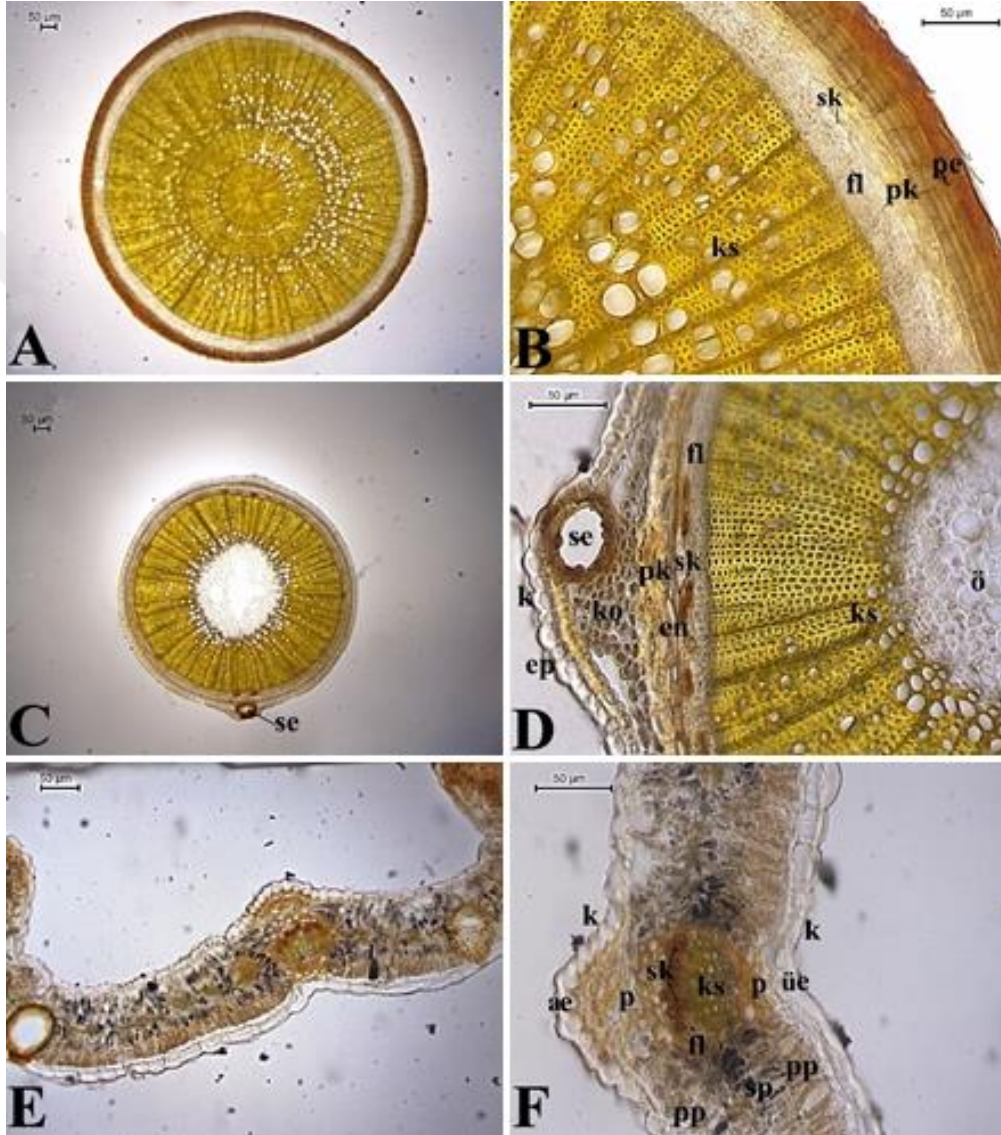
***Hypericum lydium* Boiss.**

Kök; periderm tabakası 4-5 sıralıdır. Salgı kanalı gözlenmiştir.

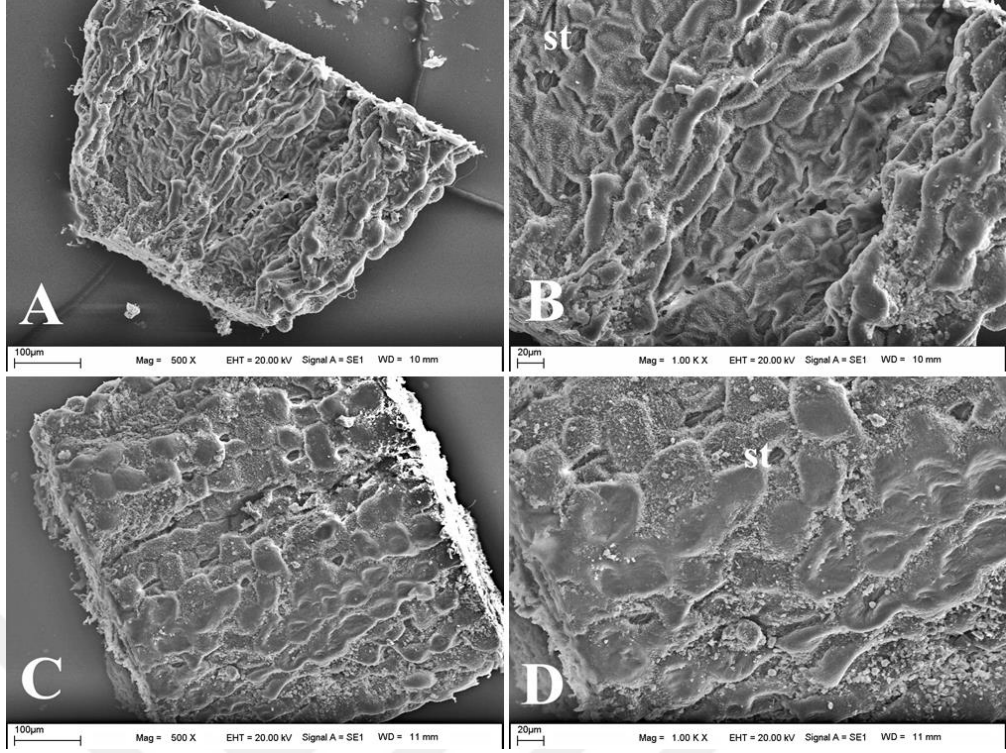
Gövde; salgılı tek emergenslidir. Epiderma iki sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Salgı kanalları yoğun şekilde bulunmaktadır.

Yaprak; mezofil tabakası ekvifasiyaldir. Floemde yoğun salgı kanalları bulunur.

Stoma anizositik ve hafif batıktır (Şekil 4.35, 36).



Şekil 4.35. *H. lydium* anatomik özellikleri. (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.36. *H. lydium* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

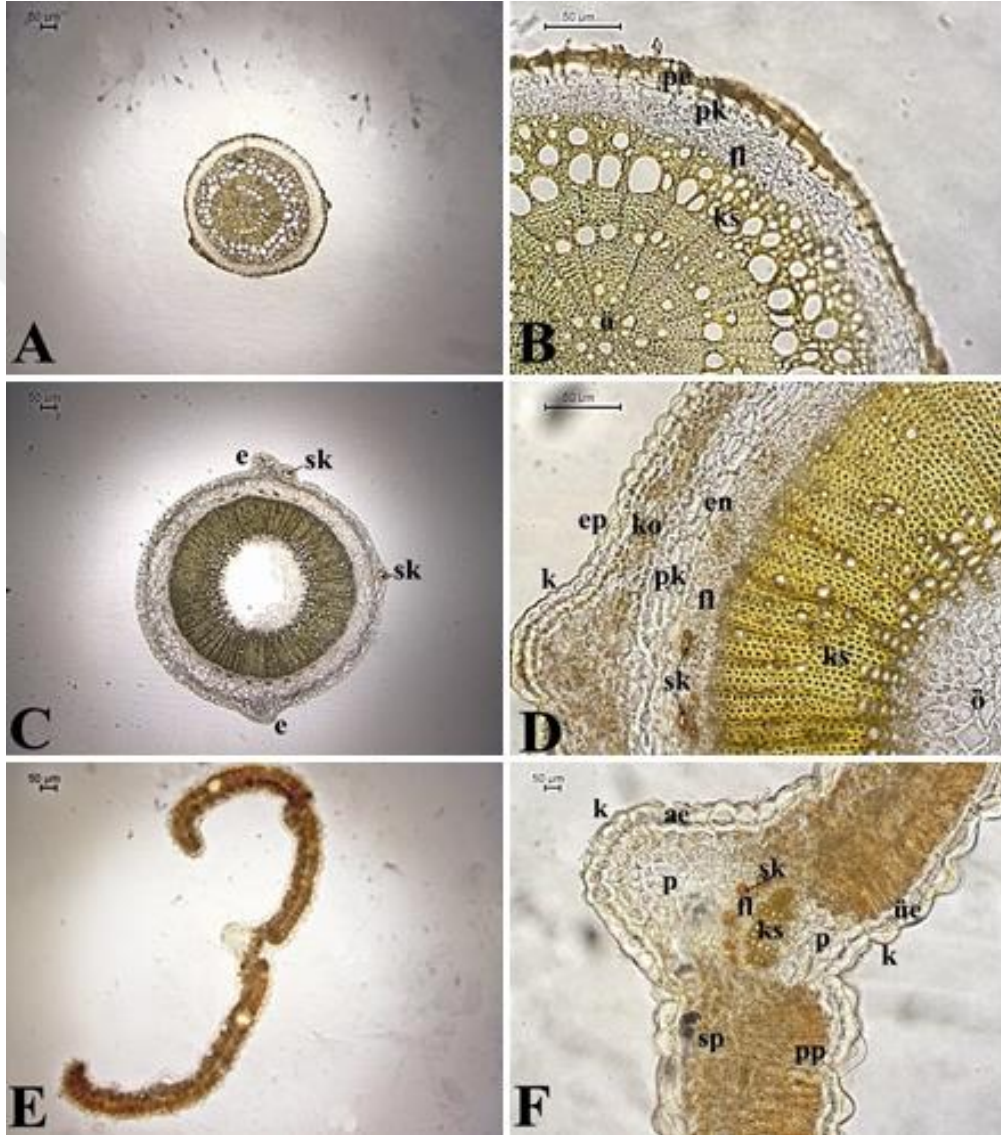
***Hypericum retusum* Aucher**

Kök; 2-3 sıralı periderm tabakası yer almaktadır. Salgı kanalı mevcut değildir.

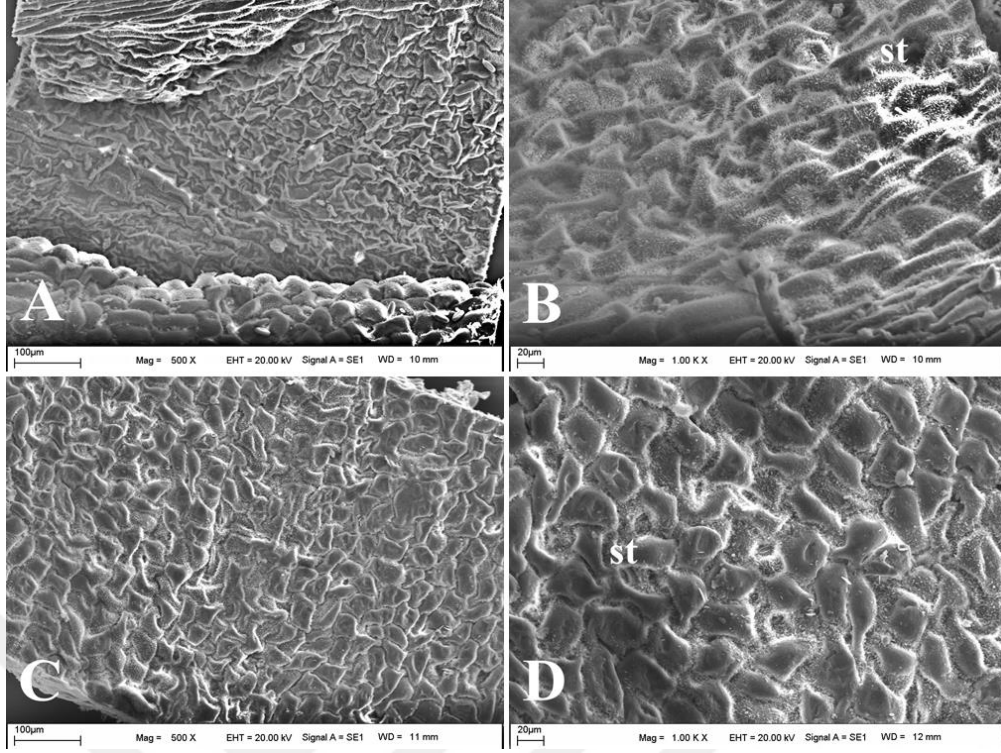
Gövde iki emergenslidir. Epiderma hücreleri iki sıralıdır. Salgı kanalları mevcuttur.

Yaprak; mezofil tabakası bifasiyaldır, floemde salgı kanalları bulunmaktadır.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.37, 38).



Şekil 4.37. *H. retusum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.38. *H. retusum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 μ m, B-D=20 μ m)

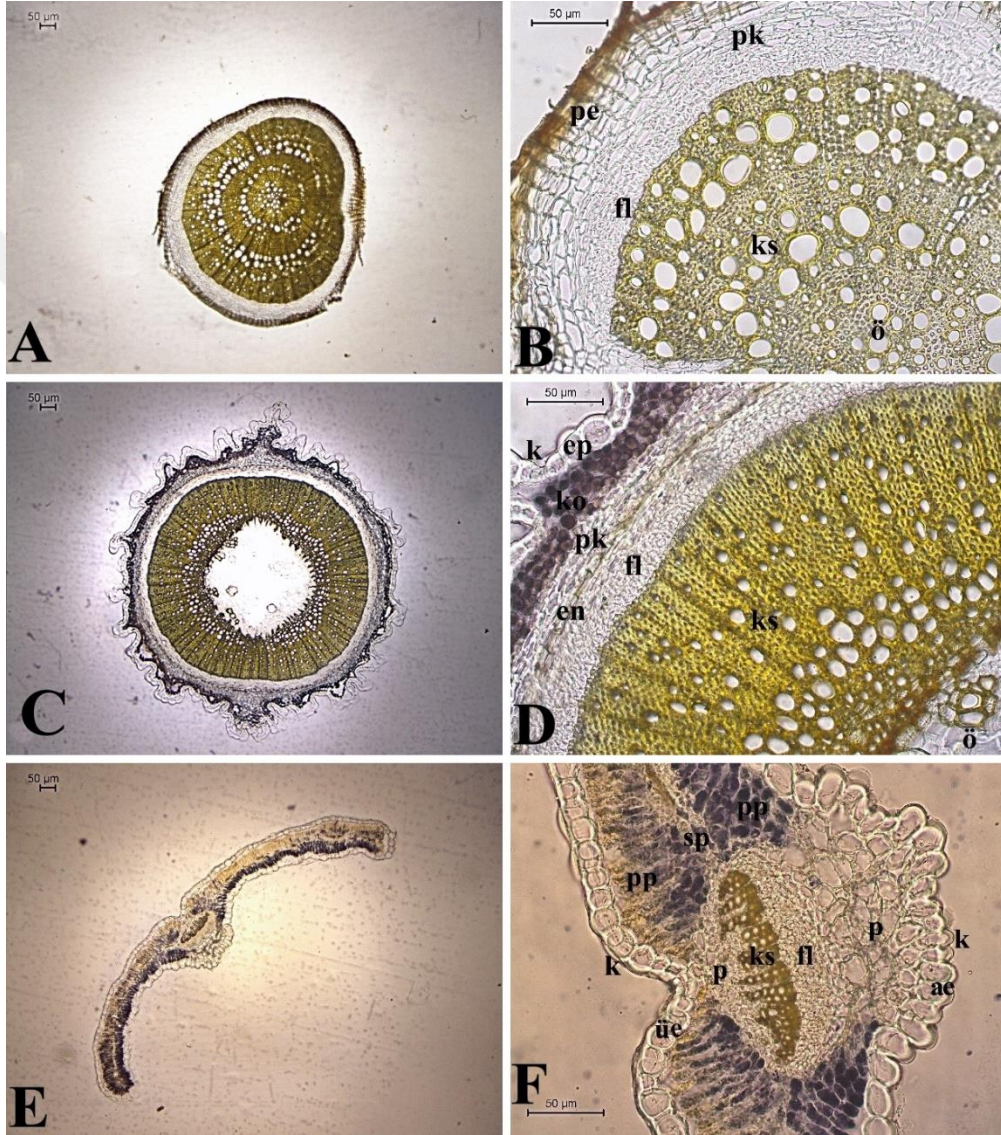
***Hypericum uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm.**

Kök; periderm tabakası 4-5 sıralıdır. Salgı kanalı bulunmamaktadır.

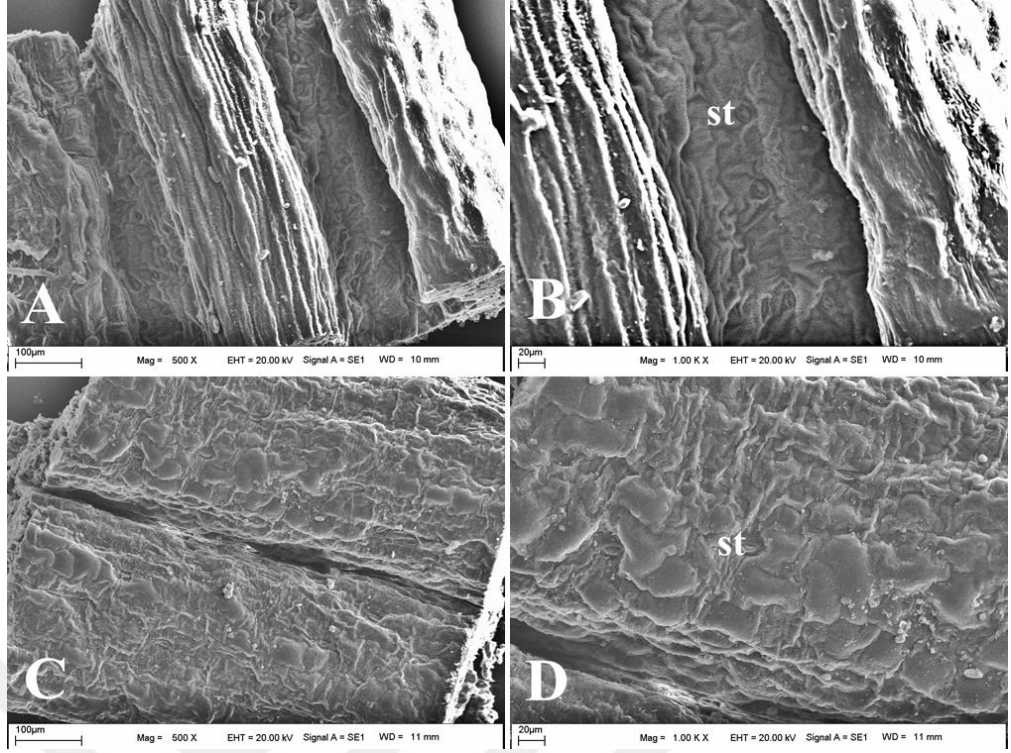
Gövde; çok sayıda ince emergenslidir. Epiderma tek sıralıdır. Salgı kanalı gözlenmemiştir.

Yaprak özellikleri; mezofil ekvifasiyaldir. Floemde salgı kanalı görülmemiştir.

Stoma anizositik ve hafif batıktır (Şekil 4.39, 40).



Şekil 4.39. *H. uniglandulosum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.40. *H. uniglandulosum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

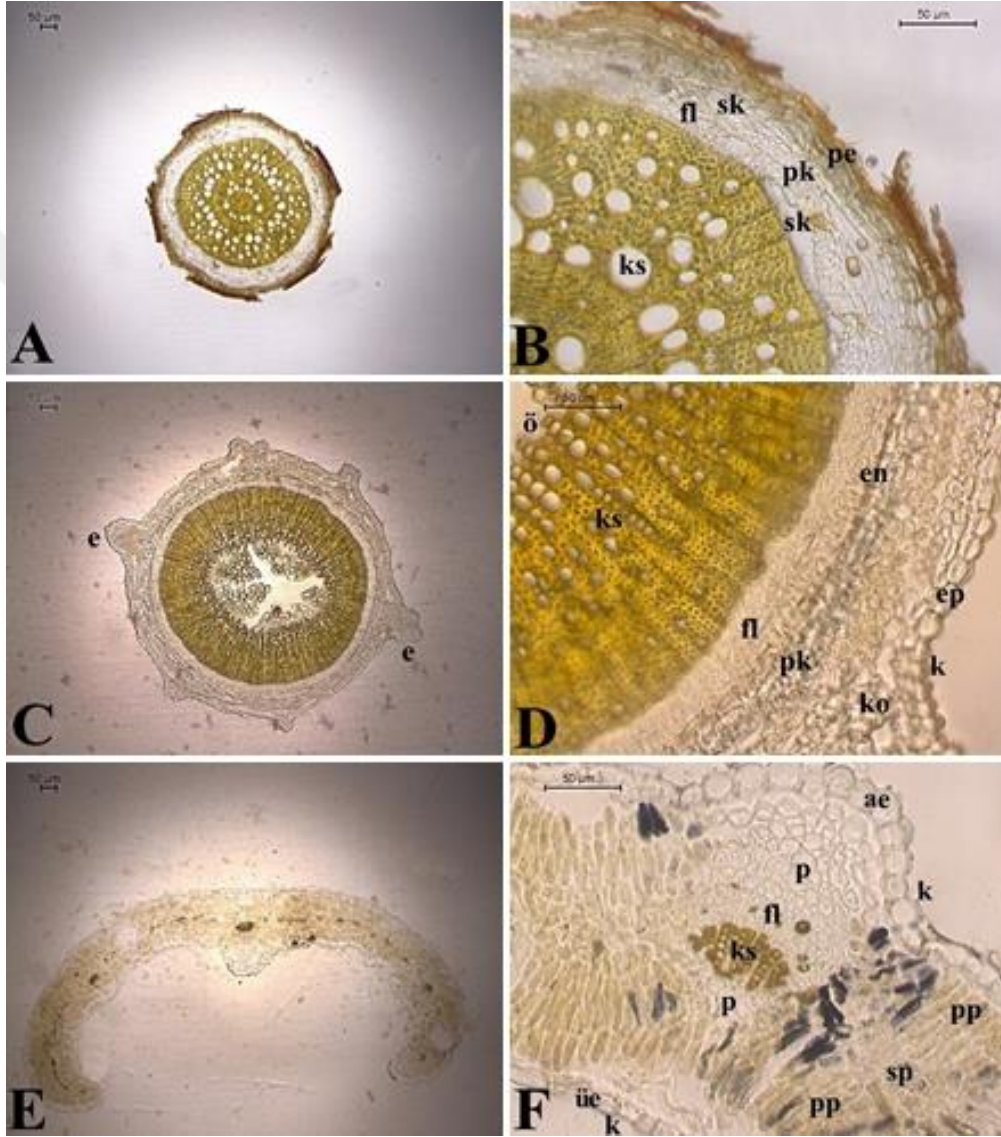
***Hypericum capitatum* Choisy var. *luteum* N.Robson**

Kök; periderm 4-5 sıralıdır. Geniş lümenli salgı kanalları mevcuttur. Salgı kanalları; belirgin, geniş lümenli ve çok sayıdadır.

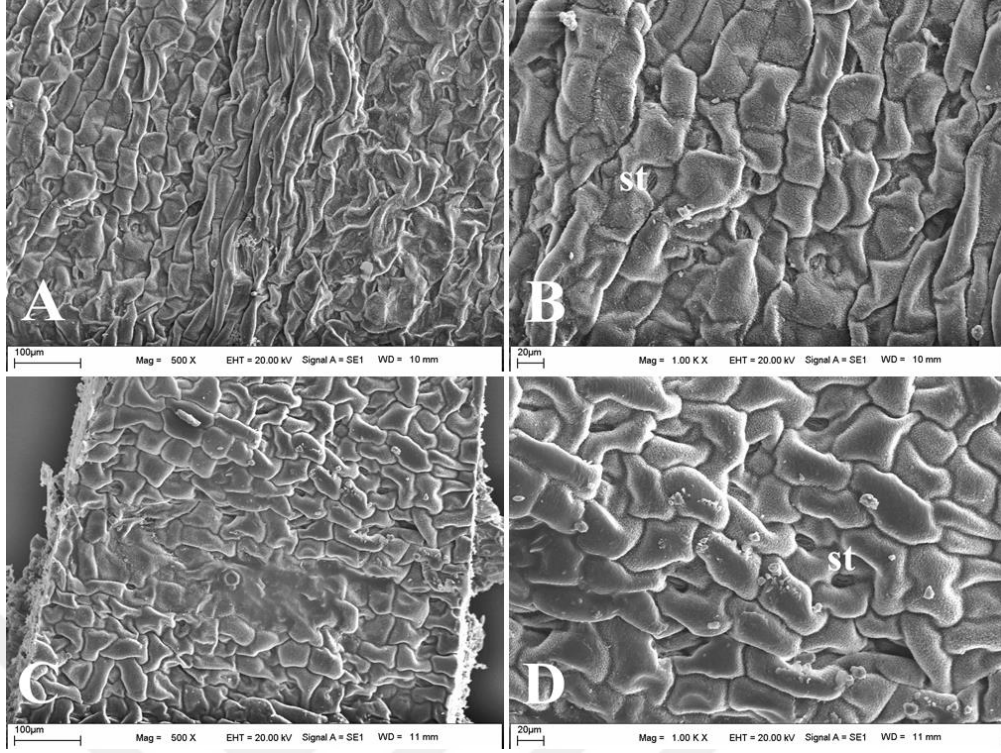
Gövde; 4-5 emergenslidir, epiderma iki sıralıdır, salgı kanalları görülmemiştir.

Yaprak; ekvifasiyaldir, floemde salgı kanalı bulunmamaktadır.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.41, 42).



Şekil 4.41. *H. capitatum* var. *luteum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.42. *H. capitatum* var. *luteum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

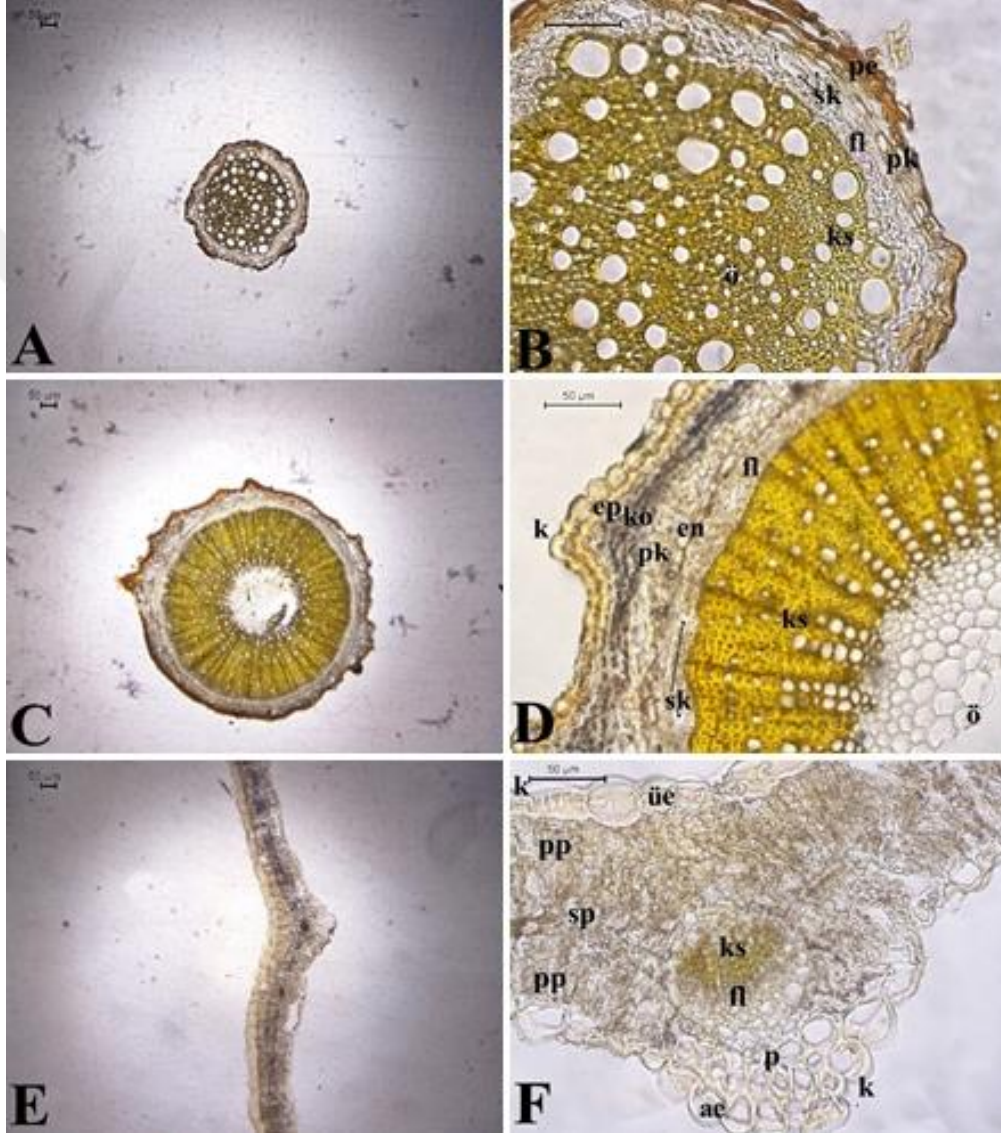
***Hypericum scabrum* L.**

Kök; 2-3 sıralı periderm ve enine kesitlerde çok sayıda geniş lümenli salgı kanalları mevcuttur.

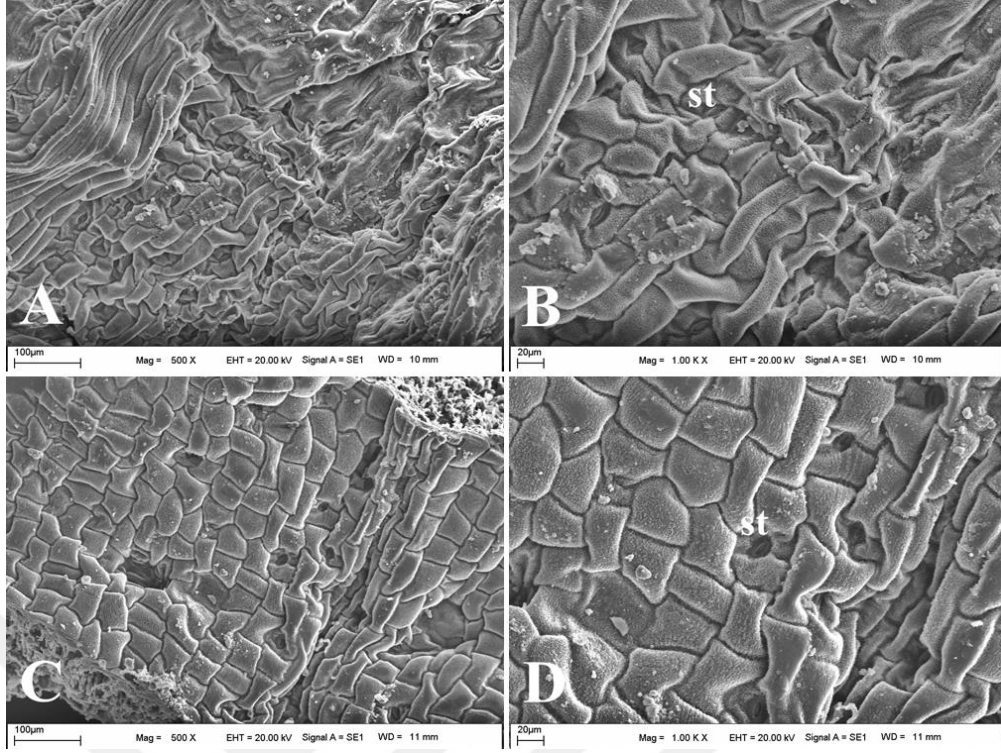
Gövdede ise dalgalı gövde çıkıntıları bulunur. Epiderma iki sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Salgı kanalı gözlenmiştir.

Yaprak; mezofil ekvifasiyaldir. Floem salgı kanalları içermektedir.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.43, 44).



Şekil 4.43. *H. scabrum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.44. *H. scabrum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

***Hypericum thymopsis* Boiss.**

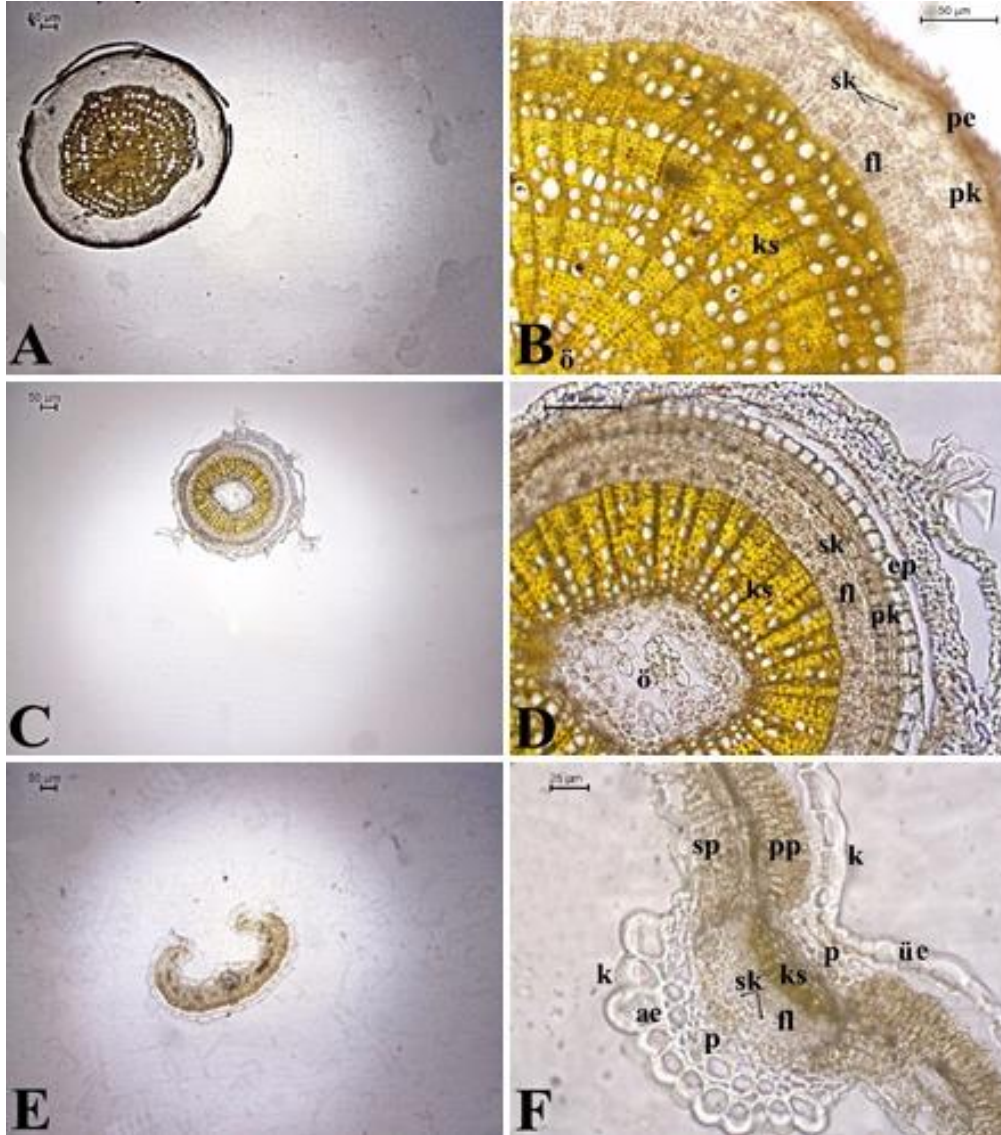
Kök; periderm 2-3 sıradan oluşmaktadır. Çok sayıda salgı kanalları yer almaktadır.

Gövde; en dışta belirgin, yumuşak çıkıntılara sahip olan epiderma tek sıralıdır.

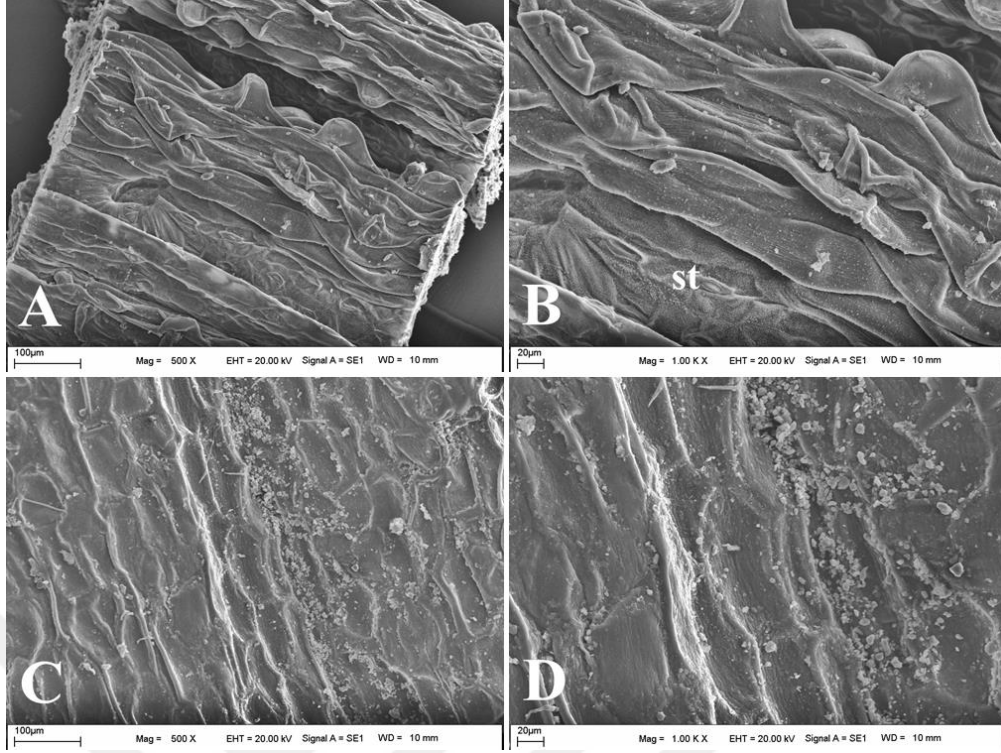
Salgı kanalları bulunmaktadır.

Yaprak enine kesitte üç şeklindedir ve bifasiyaldir. Floemde salgı kanalları görülmüştür.

Stoma anizositik ve yüzeyseldir (Şekil 4.45, 46).



Şekil 4.45. *H. thymopsis* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.46. *H. thymopsis* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

***Hypericum malatyanum* Peşmen**

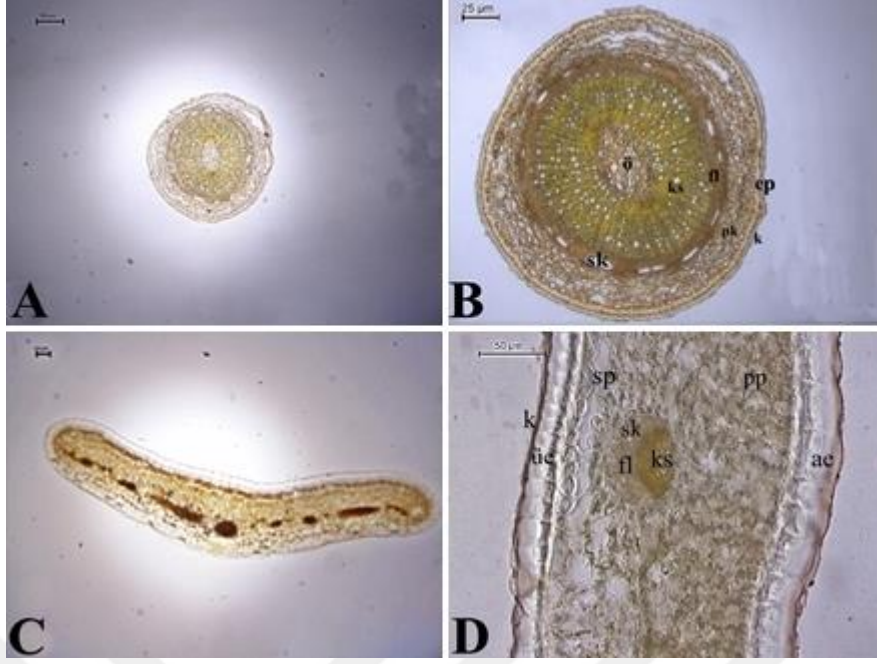
Bitkiden kök örnekleri alınmadığından anatomik özellikleri çalışılamamıştır.

Gövde; dairesel şekildedir ve emergens bulunmamaktadır. Epiderma tek sıralıdır.

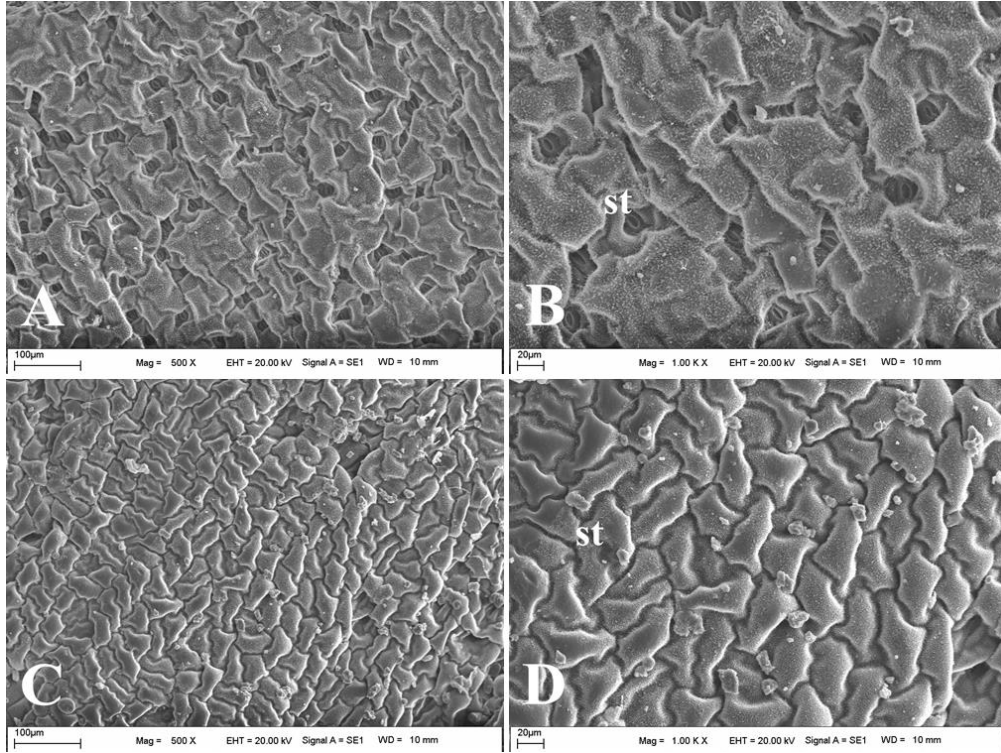
Salgı kanalları gözlenmiştir.

Yaprak; mezofil bifasiyaldir. Floemde salgı kanalları gözlenmiştir.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.47, 48).



Şekil 4.47. *H. malatyanum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 μ m)



Şekil 4.48. *H. malatyanum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 μ m, B-D=20 μ m)

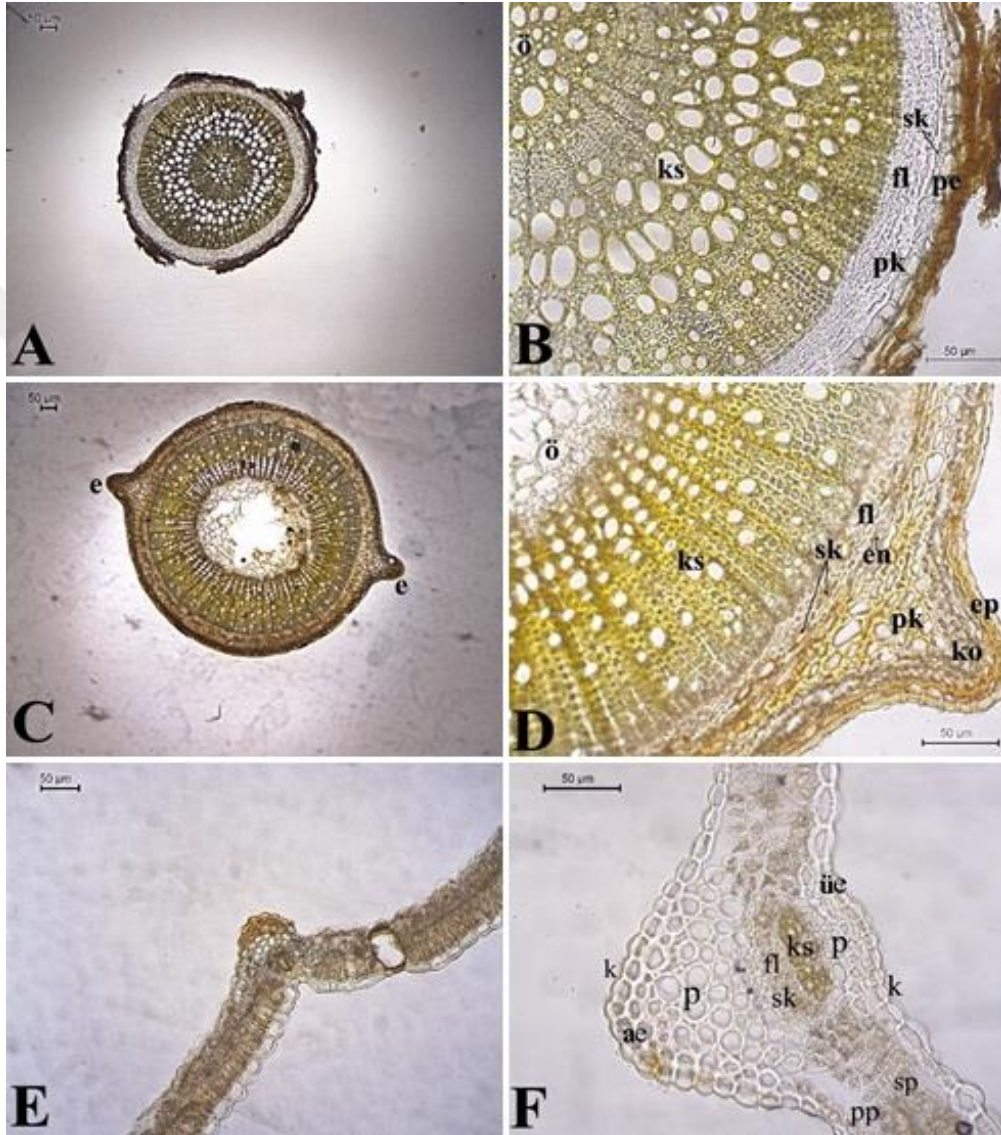
***Hypericum perforatum* L.**

Kök; periderm tabakası 2-3 sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Salgı kanalları mevcuttur.

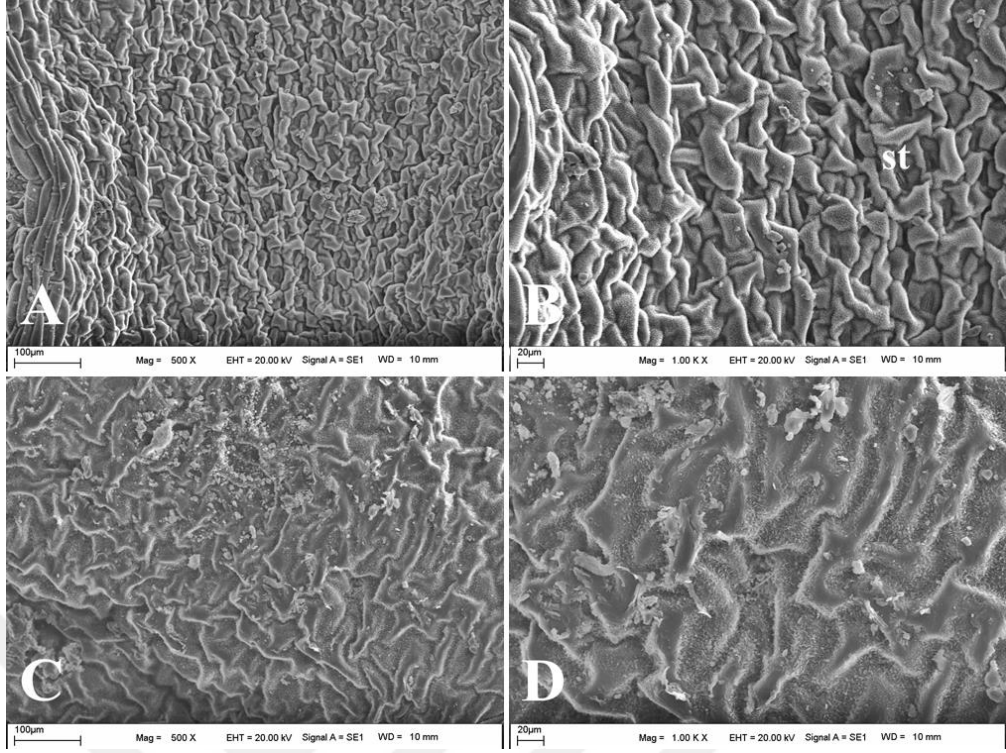
Gövde; iki emergenslidir. Epiderma tek sıralıdır. Salgı kanalları gözlenmiştir.

Yaprak; mezofil bifasiyaldır. Floemde salgı kanalları mevcuttur.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.49, 50).



Şekil 4.49. *H. perforatum* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.50. *H. perforatum* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D 20 µm)

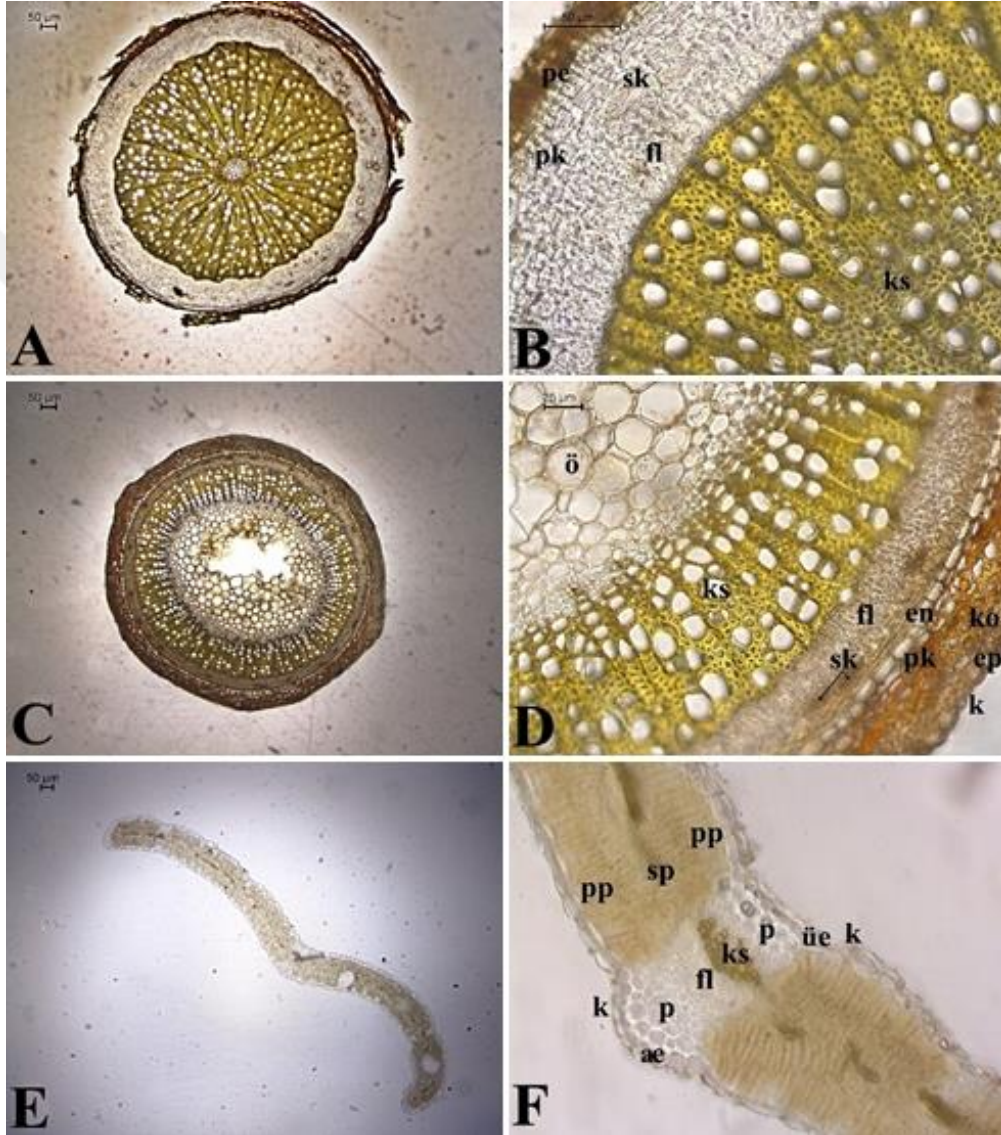
***Hypericum triquetrifolium* Turra**

Kök; periderm tabakası 4-5 sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Salgı kanalı gözlenmiştir.

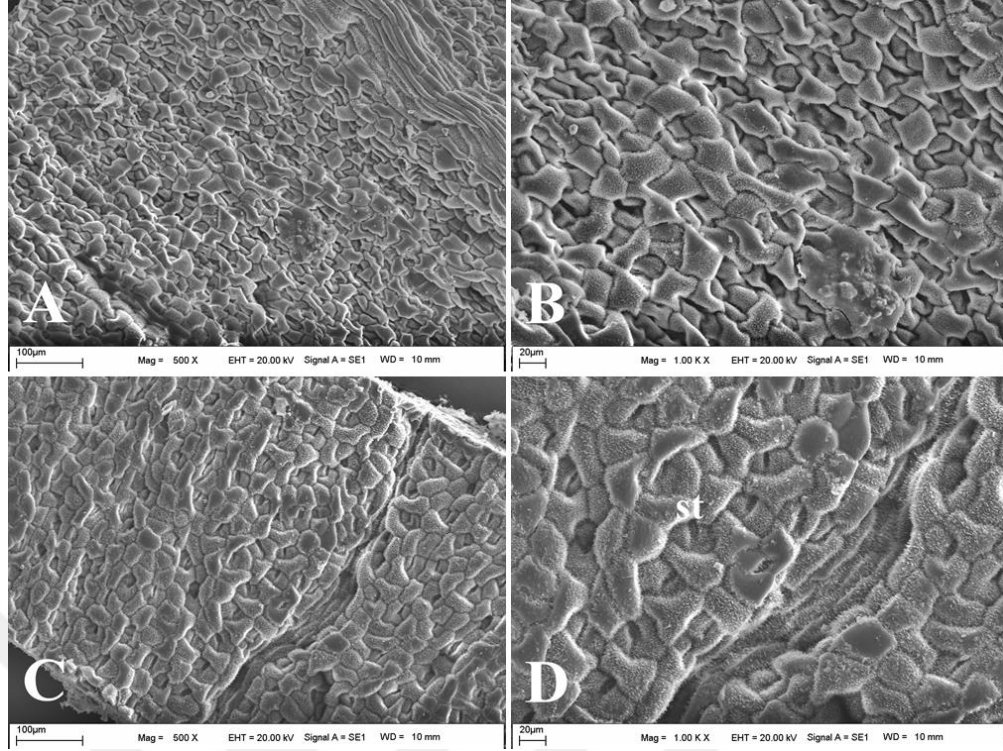
Gövde; emergens bulunmamaktadır, epiderma tek sıralı hücrelerden oluşur. Salgı kanalları mevcuttur.

Yaprak; mezofil ekvifasiyaldir. Floemde salgı kanalları içermektedir.

Stoma anizositik ve batıktır (Şekil 4.51, 52).



Şekil 4.51. *H. triquetrifolium* anatomik özellikleri (A, C, E genel görünüş; B, D, F ayrıntılı görünüş) (Ölçek 50 µm)



Şekil 4.52. *H. triquetrifolium* yaprak alt ve üst yüzey SEM görüntüsü (A-B alt yüzey, C-D üst yüzey) (Ölçek A-C=100 µm, B-D=20 µm)

Tablo 4.1. *Hypericum* örneklerinin kök ve gövde anatomisi karakterleri

Takson	KÖK			GÖVDE	
	Periderm	Salgı kanalı	Emergens	Epiderma	Salgı kanalı
<i>H. spectabile</i>	4-5 sıralı	-	2	2 sıralı	+
<i>H. microcalycinum</i>	4-5 sıralı	-	2	1 sıralı	-
<i>H. lydium</i>	4-5 sıralı	+	1	2 sıralı	+
<i>H. retusum</i>	2-3 sıralı	-	2	2 sıralı	+
<i>H. uniglandulosum</i>	4-5 sıralı	-	Çok sayıda ince	1 sıralı	-
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	4-5 sıralı	+	4-5	2 sıralı	-
<i>H. scabrum</i>	2-3 sıralı	+	dalgalı kenarlı	2 sıralı	+
<i>H. thymopsis</i>	2-3 sıralı	+	epidermal tabakada tüylü	1 sıralı	+
<i>H. malatyanum</i>	-	-	-	1 sıralı	+
<i>H. perforatum</i>	2-3 sıralı	+	2	1 sıralı	+
<i>H. triquetrifolium</i>	4-5 sıralı	+	-	1 sıralı	+

Tablo 4.2. *Hypericum* örneklerinin yaprak anatomisi karakterleri

Takson	Mezofil yapısı	Salgı kanalı	Stoma
<i>H. spectabile</i>	bifasiyal	4-6	anizositik, hafif batık
<i>H. microcalycinum</i>	bifasiyal	-	anizositik, hafif batık
<i>H. lydium</i>	ekvifasiyal	10-12	anizositik, hafif batık
<i>H. retusum</i>	bifasiyal	4-6	anizositik, batık
<i>H. uniglandulosum</i>	ekvifasiyal	-	anizositik, hafif batık
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	ekvifasiyal	-	anizositik, batık
<i>H. scabrum</i>	ekvifasiyal	4-6	anizositik, batık
<i>H. thymopsis</i>	bifasiyal	4-6	anizositik, yüzeysel
<i>H. malatyanum</i>	bifasiyal	4-6	anizositik, batık
<i>H. perforatum</i>	bifasiyal	4-6	anizositik, batık
<i>H. triquetrifolium</i>	ekvifasiyal	2-4	anizositik, batık

4.3 Palinolojik Bulgular

Bu bölümde tez kapsamındaki *Hypericum* örneklerinin palinolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu özellikler aşağıda verilmiştir.

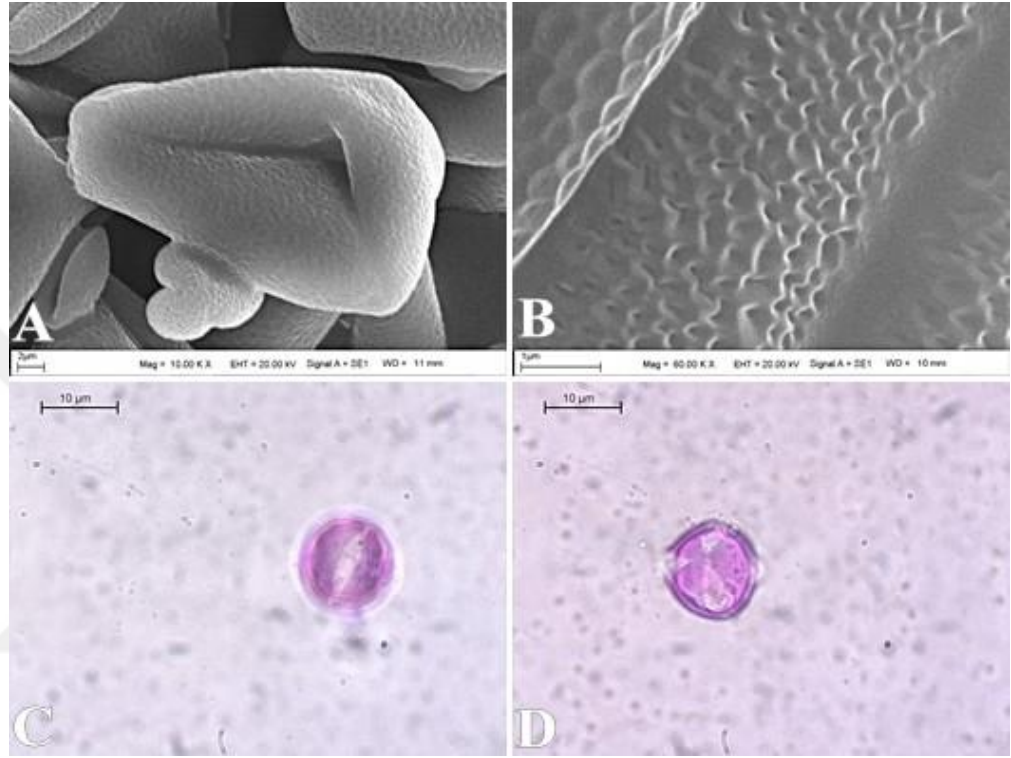
***H. spectabile* Jaub. & Spach (Şekil 4.53)**

PE/EE: 1.03

Polen şekli: Prolat-sferoidal

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyon: Foveolat



Şekil 4.53. *H. spectabile* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

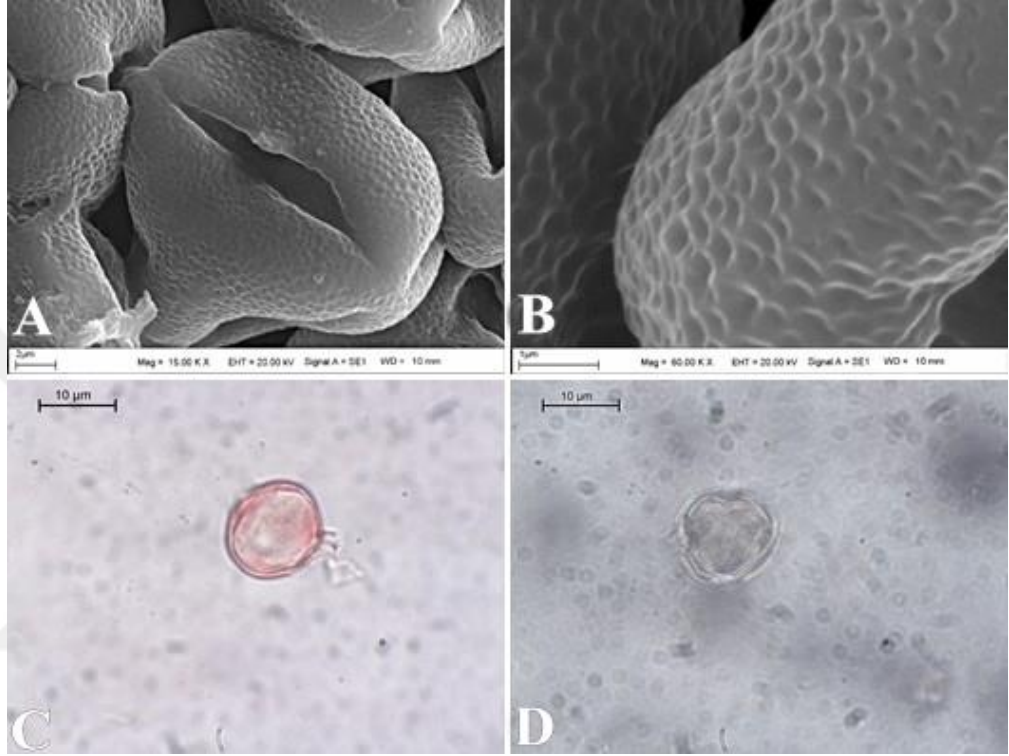
***H. microcalycinum* (Şekil 4.54)**

PE/EE: 1.28

Polen şekli: Subprolat

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.54. *H. microcalycinum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu) (Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

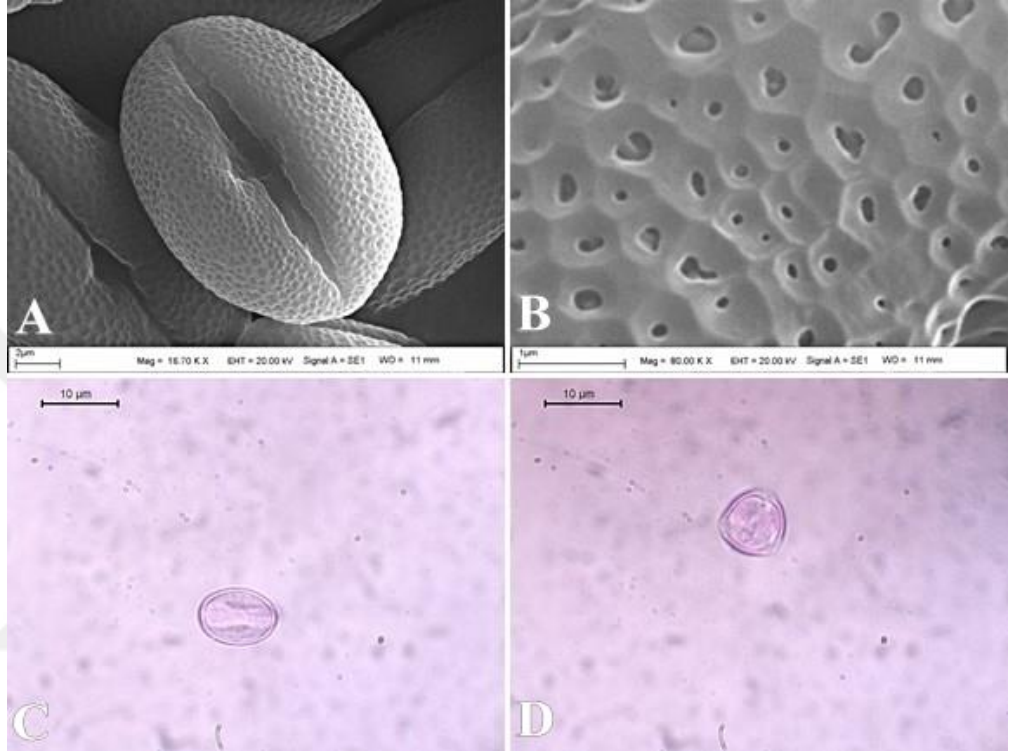
***Hypericum lydium* Boiss. (Şekil 4.55)**

PE/EE: 1.21

Polen şekli: Subprolat

Apertür tipi: Trikolporat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.55. *H. lydium* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu) (Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

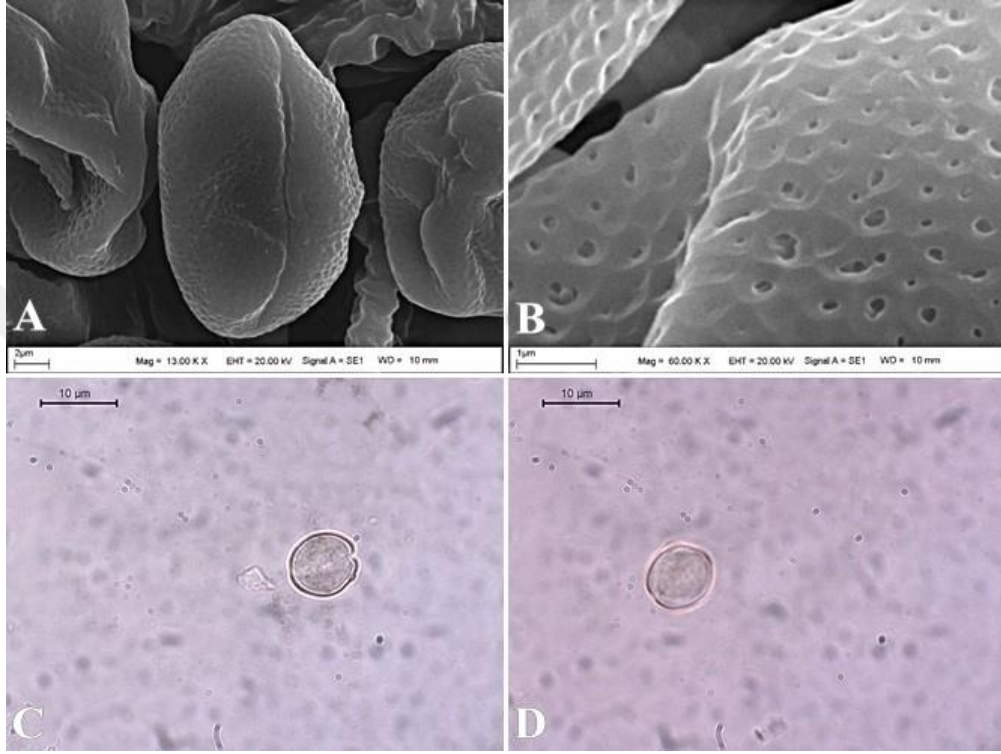
***H. retusum* Aucher (Şekil 4.56)**

PE/EE: 1.22

Polen şekli: Subprolat

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.56. *H. retusum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu) (Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

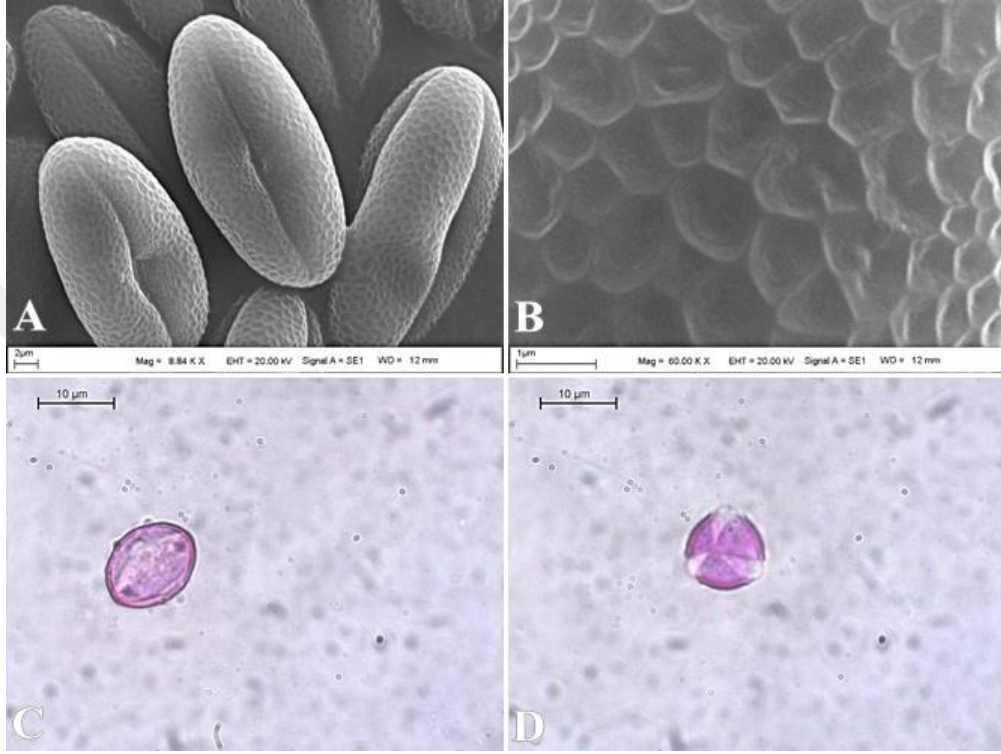
***H. uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm. (Şekil 4.57)**

PE/EE: 1.08

Polen şekli: Prolat-sferoidal

Apertür tipi: Trikolporat

Yüzey ornamentasyonu: Retikulat



Şekil 4.57. *H. uniglandulosum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu) (Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

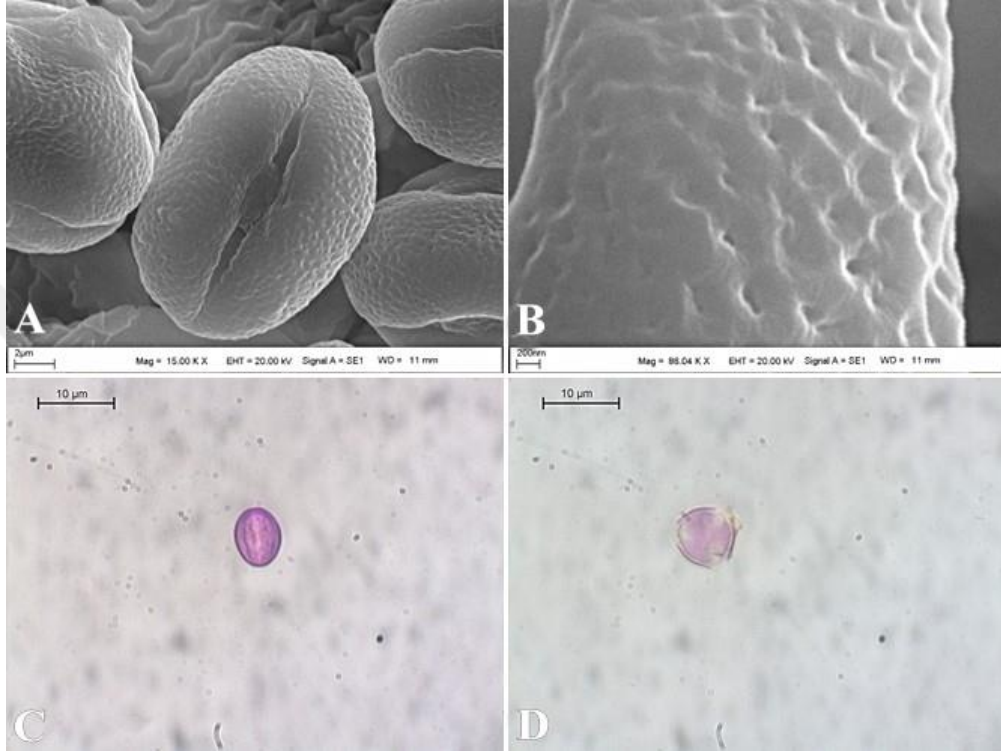
***H. capitatum* Choisy var. *luteum* N.Robson (Şekil 4.58)**

PE/EE: 1.37

Polen şekli: Prolat

Apertür tipi: Trikolporat

Ornamentasyon: Foveolat



Şekil 4.58. *H. capitatum* var. *luteum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu) (Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

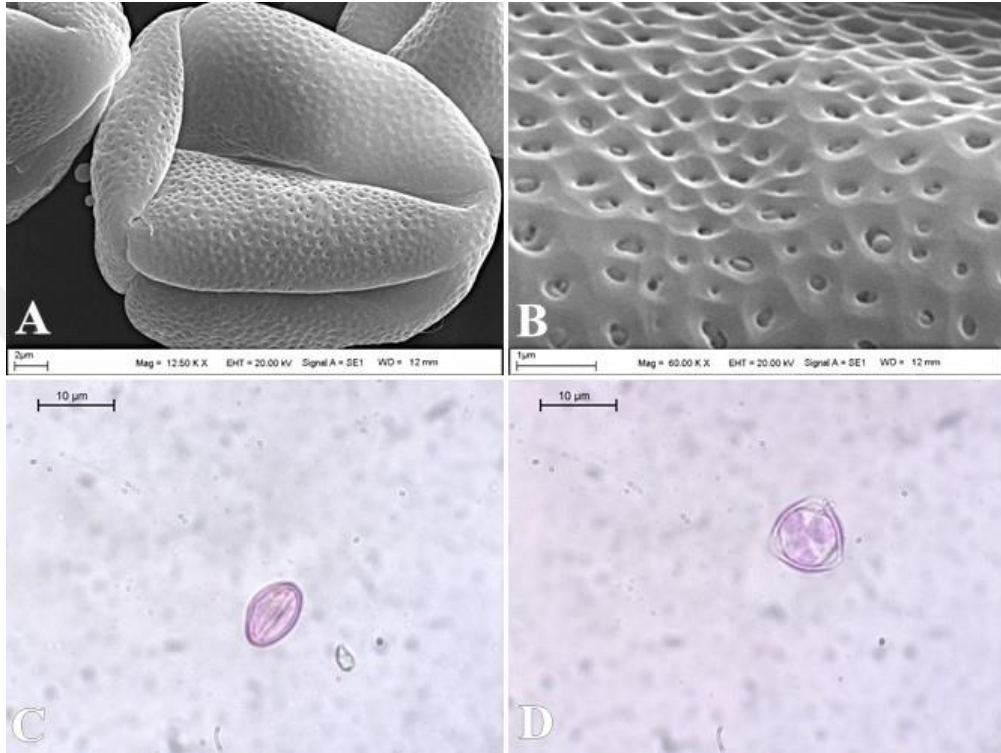
***H. scabrum* L. (Şekil 4.59)**

PE/EE: 1.45

Polen şekli: Prolat

Apertür tipi: Trikolporat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.59. *H. scabrum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

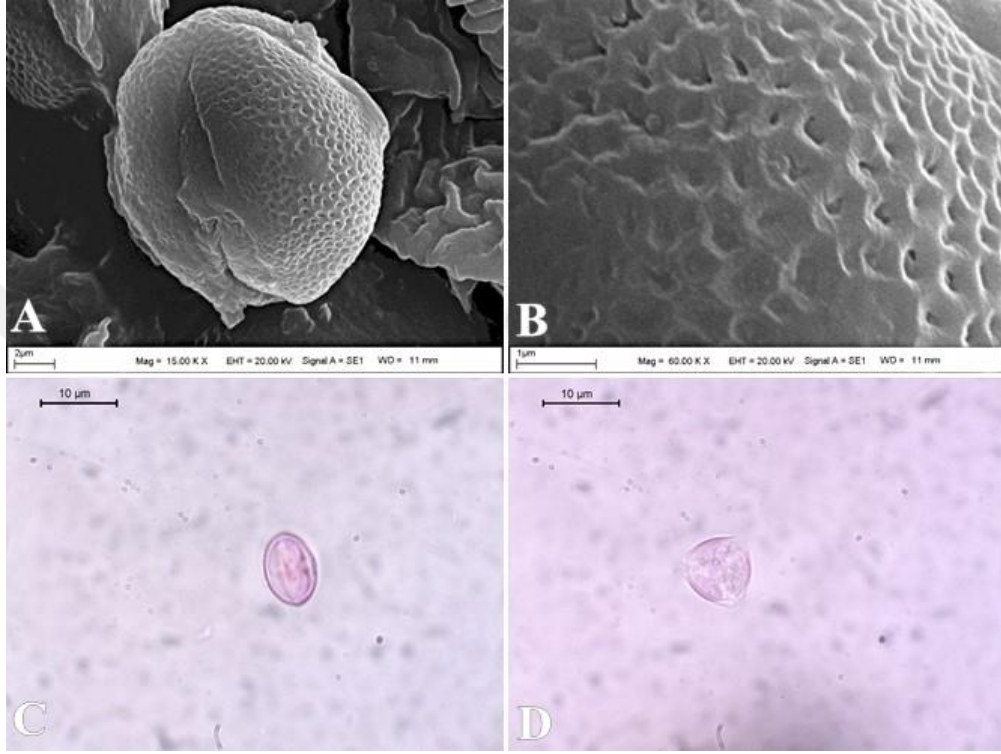
***H. thymopsis* Boiss. (Şekil 4.60)**

PE/EE: 1.20

Polen şekli: Subprolat

Apertür tipi: Trikolporat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.60. *H. thymopsis* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

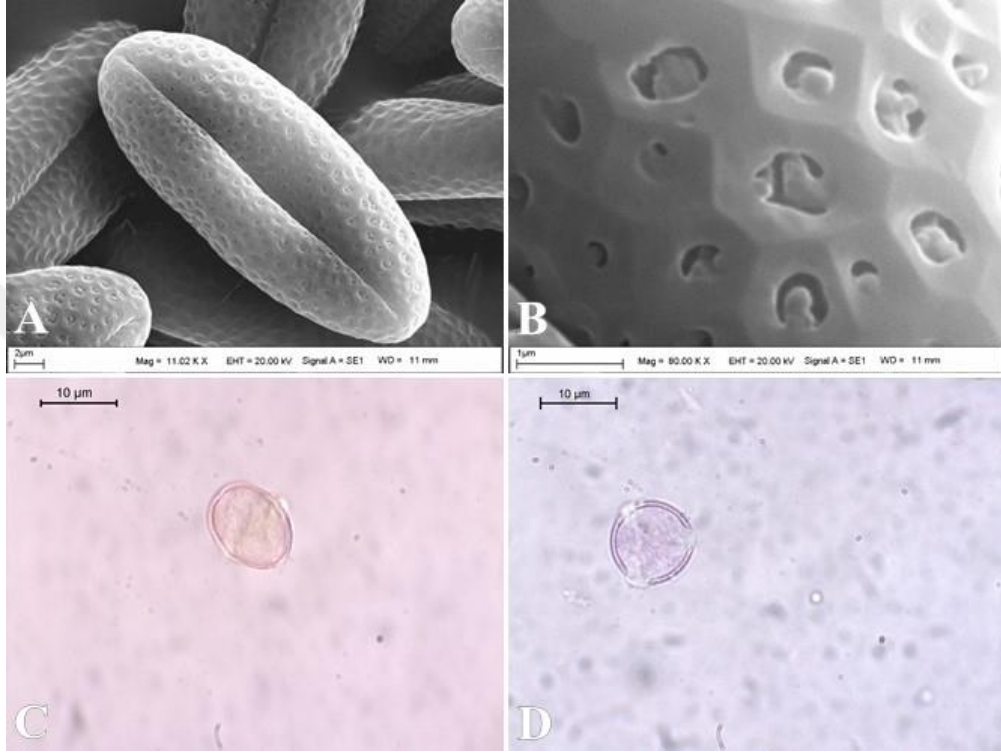
***H. malatyanum* Peşmen (Şekil 4.61)**

PE/EE: 1.29

Polen şekli: Subprolat

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.61. *H. malatyanum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

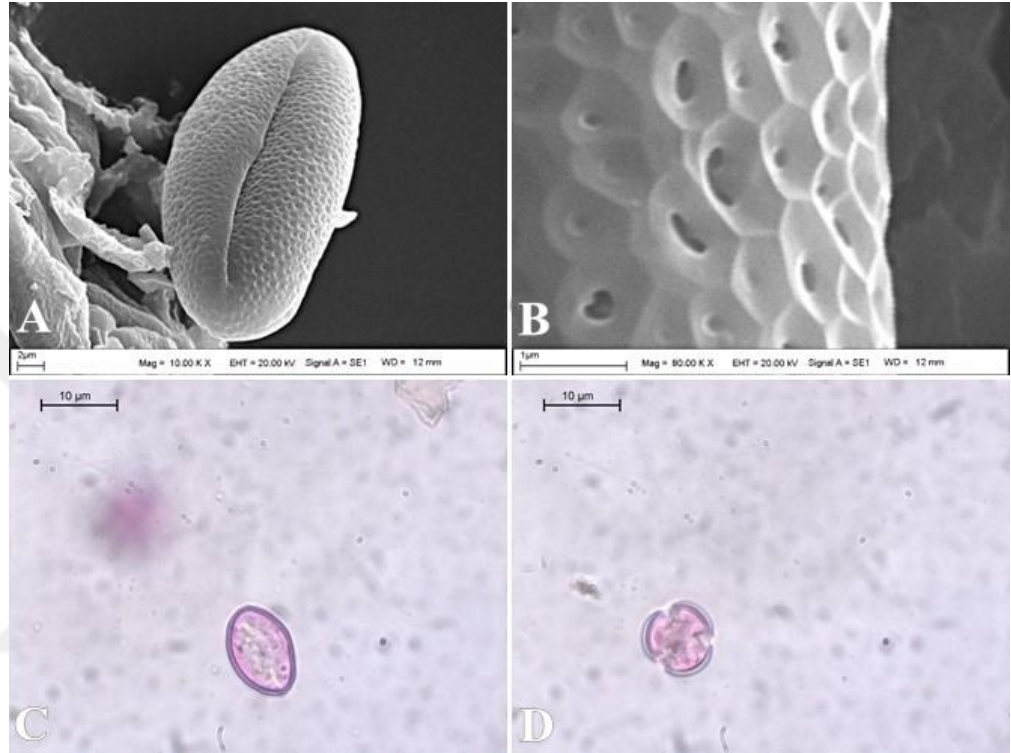
***H. perforatum* L. (Şekil 4.62)**

PE/EE: 1.44

Polen şekli: Prolat

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.62. *H. perforatum* polen görüntüleri (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

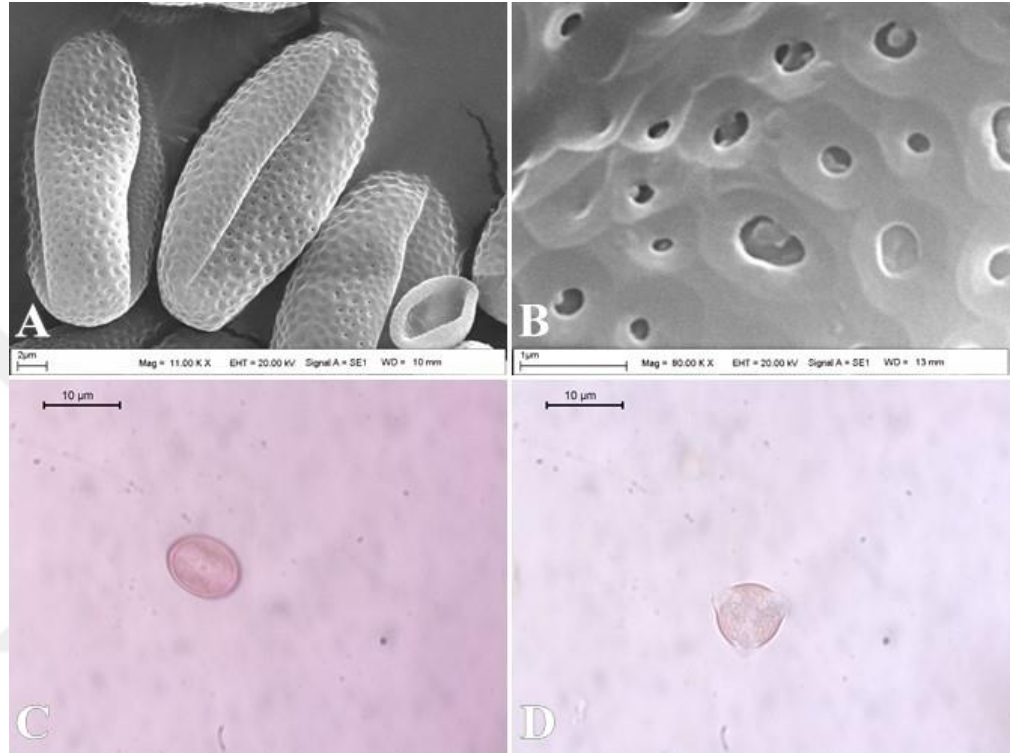
***H. triquetrifolium* Turra (Şekil 4.63)**

PE/EE: 1.43

Polen şekli: Prolat

Apertür tipi: Trikolpat

Yüzey ornamentasyonu: Foveolat



Şekil 4.63. *H. triquetrifolium* polen görüntüleri. (A-B SEM, C-D ışık mikroskobu)
(Ölçek A=2 µm, B=1 µm, C-D=10 µm)

Türlere ait polen morfolojileri ve ölçümleri Tablo 4.3 ve 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.3. *Hypericum* örneklerinin polen polar ve ekvatorial eksen ölçümleri

Takson	Polar Eksen (PE)		Ekvatorial Eksen (EE)		PE/EE
	PE ortalama (µm)	Min-Max (µm)	EE ortalama (µm)	Min-Max (µm)	
<i>H. spectabile</i>	13.11±0.64	11.71-15.77	12.66±0.61	10.98-14.25	1.03±0.06
<i>H. microcalycinum</i>	11.31±2.01	6.10-14.44	9.15±2.45	3.70-12.88	1.28±0.19
<i>H. lydium</i>	9.44± 0.74	8.02-11.35	7.87±0.97	4.73-9.32	1.21± 0.16
<i>H. retusum</i>	9.47±0.53	7.7-10.29	7.88±1.12	4.52-9.20	1.22±0.19
<i>H. uniglandulosum</i>	10.93±0.67	9.94-13.25	10.07±0.62	6.99-11.77	1.08±0.08
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	8.37±0,99	7.12-12.65	6.24±1.40	4.83-10.15	1.37±0.19
<i>H. scabrum</i>	9.67±0.94	7.61-12.40	6.76±1.06	5.39-10.63	1.45±0.18
<i>H. thymopsis</i>	9.05±0.50	8.11-10.10	7.60±0.82	5.75-9.98	1.20±0.13
<i>H. malatyanum</i>	10.03±1.33	4.37-12.11	8.04±2.05	2.95-11.33	1.29±0.23
<i>H. perforatum</i>	11.78±0.81	9.62-13.62	8.32±1.22	6.13-10.98	1.44±0.21
<i>H. triquetrifolium</i>	9.59±0.65	8.09-10.83	6.85 ±1.08	5.19-9.32	1.43±0.22

Tablo 4.4. *Hypericum* örneklerinin polen morfolojileri

Takson	Polen şekli	Apertür tipi	Yüzey ornemantasyonu
<i>H. spectabile</i>	Prolat-Sferoidal	Trikolpat	Foveolat
<i>H. microcalycinum</i>	Subprolat	Trikolpat	Foveolat
<i>H. lydium</i>	Subprolat	Trikolporat	Foveolat
<i>H. retusum</i>	Subprolat	Trikolpat	Foveolat
<i>H. uniglandulosum</i>	Prolat-sferoidal	Trikolporat	Retikulat
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	Prolat	Trikolporat	Foveolat
<i>H. scabrum</i>	Prolat	Trikolporat	Foveolat
<i>H. thymopsis</i>	Subprolat	Trikolporat	Foveolat
<i>H. malatyanum</i>	Subprolat	Trikolpat	Foveolat
<i>H. perforatum</i>	Prolat	Trikolporat	Foveolat
<i>H. triquetrifolium</i>	Prolat	Trikolpat	Foveolat

4.4. Fenolik İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Bulgular

4.4.1 Hazırlanan Ekstre Verimleri

Hazırlanan ekstrelerin verimleri ve uygulanan HPLC metodu Tablo 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.5. *Hypericum* örneklerinin solvent ekstraksiyonlarının ekstre verimleri.

Takson	Metanol (% , g/g)	Su Ekstresi (% , g/g)
<i>H. spectabile</i>	20.7	19.7
<i>H. microcalycinum</i>	19.9	19.8
<i>H. lydium</i>	9.4	14
<i>H. retusum</i>	19.2	22.2
<i>H. uniglandulosum</i>	19.1	16.6
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	25.6	21.4
<i>H. scabrum</i>	18	12.2
<i>H. thymopsis</i>	10.9	9.4
<i>H. malatyanum</i>	19.3	28.1
<i>H. perforatum</i>	24.9	29.1
<i>H. triquetrifolium</i>	30.2	15.4

Tablo 4.6. *Hypericum* ekstreleri için uygulanan HPLC metodu

Zaman (dakika)	Formik asit: metanol: su
0-26	0.2:35:64.8
26.1-32	0.2:70:29.8

4.4.2. HPLC ile Belirlenen Fenolik Bileşiklere Ait Validasyon Parametreleri

Kullanılan 12 fenolik bileşiğe ait validasyon parametreleri Tablo 4.7-9’da verilmiştir.

Tablo 4.7. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-1

Fenolik bileşikler	Çalışma aralığı (mg/L)	Alıkonma zamanı	% RSD Alıkonma zamanı	Eğim	% RSD Eğim
GA	1-40	3±0.008	0.28	54.707	2.95
(+) KAT	5-80	3.8±0.003	0.07	15.123	2.17
KLA	1-40	4.43±0.01	0.35	65.24	2.74
(-) EPK	5-80	5.57±0.007	0.13	15.435	2.94
KA	1-40	6.992±0.02	0.31	99.139	1.47
FA	1-40	12.04±0.02	0.24	112.34	2.79
p-KA	2-40	12.95±0.02	0.22	95.57	4.36
H	10-80	22.89±0.05	0.23	51.062	2.81
R	20-120	24.26±0.07	0.28	24.99	4.98
M	0.6-40	29.53±0.003	0.01	86.98	8.02
K	1-40	30.49±0.003	0.01	61.143	2.42
KAM	1-40	31.76±0.003	0.01	81.46	3.61

Tablo 4.8. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-2

Fenolik bileşikler	R²	LOD (mg/L)	% RSD LOD	LOQ (mg/L)	% RSD LOQ
GA	0.9984	0.3	6.24	1	3.55
(+) KAT	0.9998	2	8.95	5	4
KLA	0.9991	0.5	12.58	1	4.43
(-) EPK	0.9997	2	9.53	5	5.82
KA	0.9981	0.4	9.63	1	7.4
FA	0.9993	0.5	5.64	1	6.56
p-KA	0.999	0.5	9.74	2	7.17
H	0.9998	4	7.68	10	5.13
R	0.9983	10	2.73	20	10.23
M	0.9973	0.2	11.14	0.6	6.36

Tablo 4.8. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-2 (Devamı)

K	0.9964	0.4	13.24	1	8.08
KAM	0.998	0.4	12.09	1	7.76

Tablo 4.9. Fenolik bileşiklere ait validasyon parametreleri-3

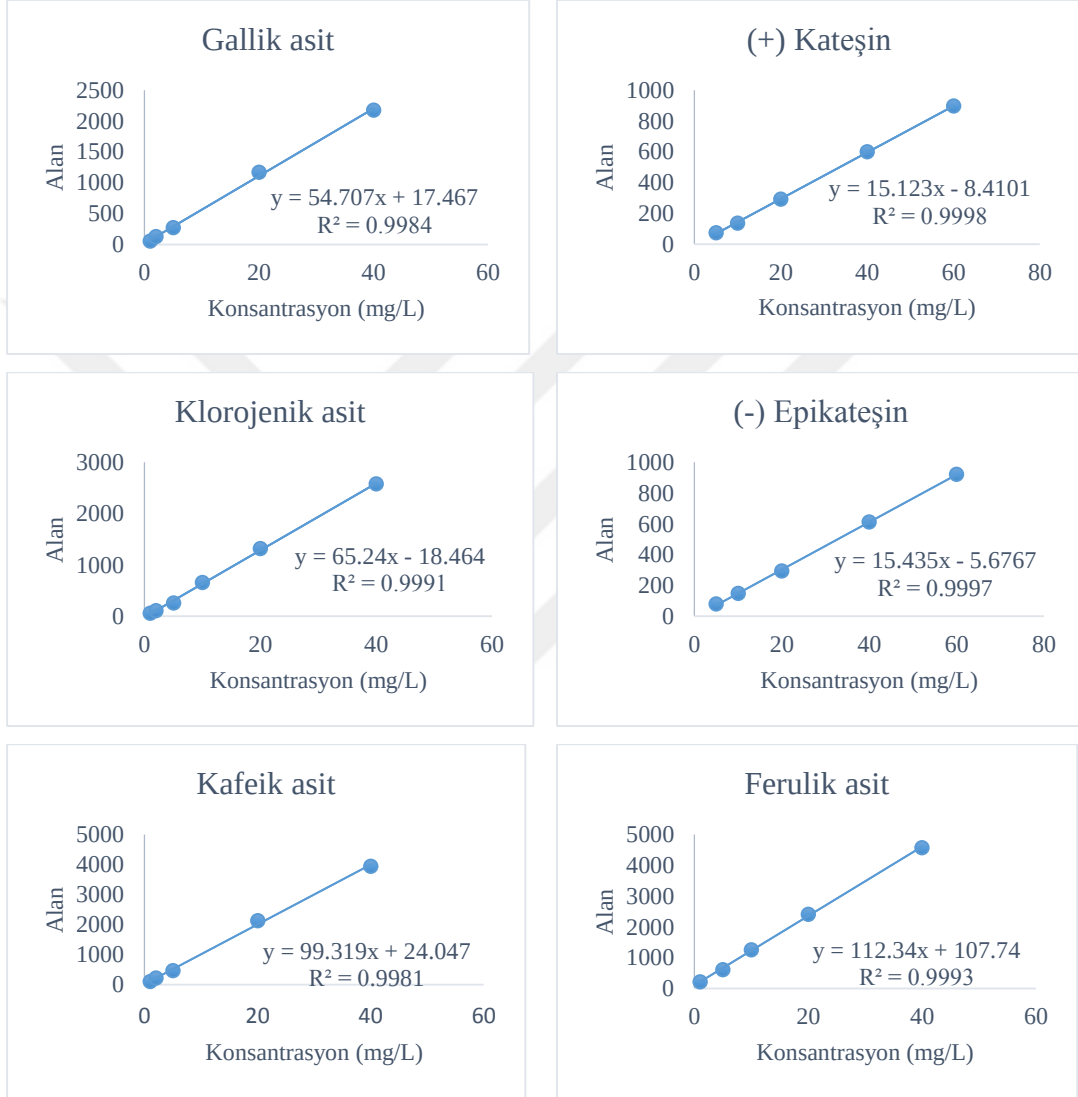
Fenolik bileşikler	Eklenen (mg/L)	Doğruluk (% Geri kazanım)	Kesinlik (%RSD)
GA	10	79.25 ±2.47	3.12
(+) KAT	10	89.5 ±2.12	2.37
KLA	10	95.5 ±0.7	0.74
(-) EPK	10	96 ±1.41	1.47
KA	10	81.15 ±1.62	2
FA	10	97.5 ±2.12	2.17
p-KA	10	84.9 ±0.14	0.16
H	10	122 ±1.41	1.15
R	10	103.8 ±0.28	0.27
M	10	108.5 ±0.7	0.65
K	10	90.9 ±2.96	3.26
KAM	10	113 ±2.82	2.5

(GA; gallik asit, (+) KAT; (+) kateşin, KLA; klorojenik asit, (-) EPK; (-) epikateşin, KA; kafeik asit, FA; ferulik asit, p-KA; parakumarik asit, H; hiperozit. R; rutin, M; mirisetin, K; kuersetin, KAM; kamferol)

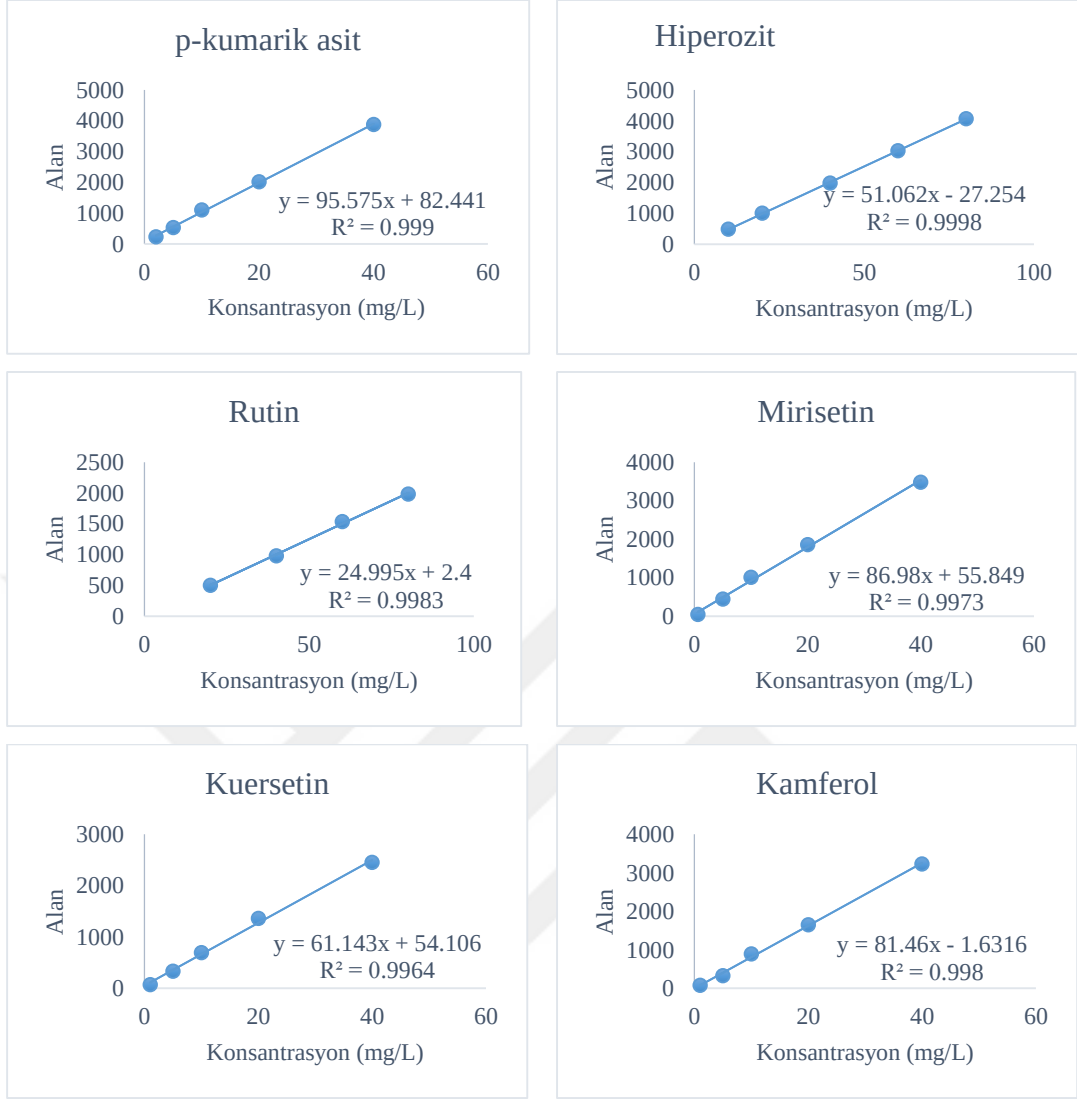
4.4.3. HPLC ile Belirlenen Fenolik Bileşiklere Ait Bulgular

Hazırlanmış olan fenolik bileşikler için farklı konsantrasyonlar kullanılmış ve 3 tekrarlı olarak kolondan geçirilmiştir. Yapılan hesaplamalardaki kullanılan alanlar cihazın verdiği alanlardır. Çalışmada 12 fenolik bileşik kullanılmış ve kalibrasyon eğrileri Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Fenolik bileşiklerin kalibrasyon eğrileri



Tablo 4.10. Fenolik bileşiklerin kalibrasyon eğrileri (Devamı)



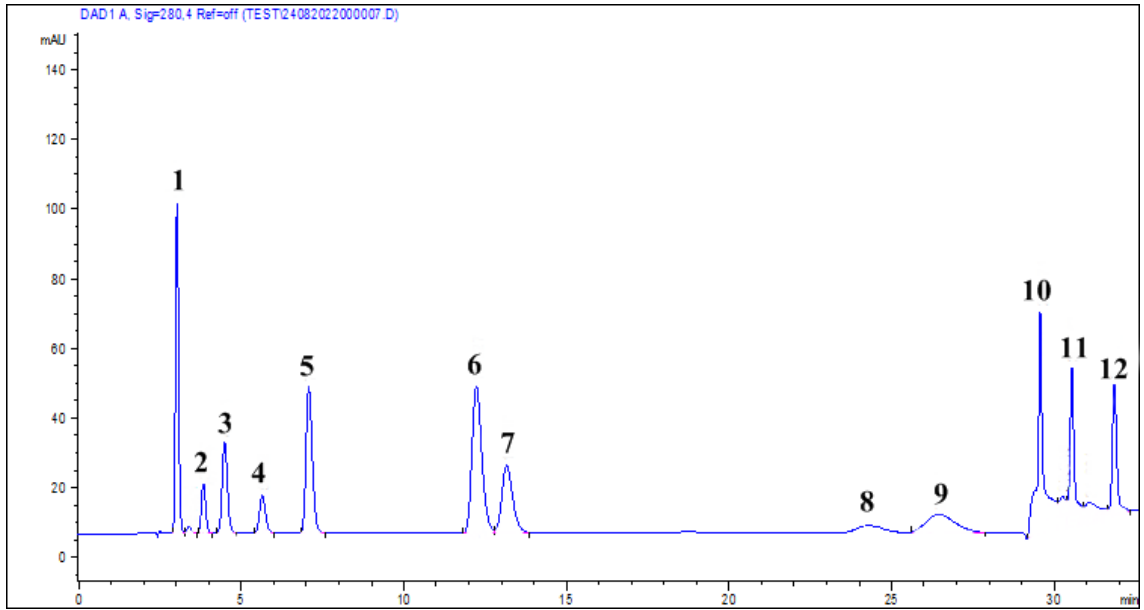
4.4.4. Ekstrelerdeki Fenolik Bileşik Miktarlarının Belirlenmesi

Fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesinde, örneklere ait kalibrasyon eğrilerinden ve kromatogramlarından yararlanılmıştır. Ekstrelerde fenolik bileşiklerin kendi dalga boylarındaki alanlara göre karar verilmiş ve hesaplamalarda kullanılmıştır. Bu şekilde hesaplanan fenolik madde miktarları Tablo 4.11’de verilmiştir.

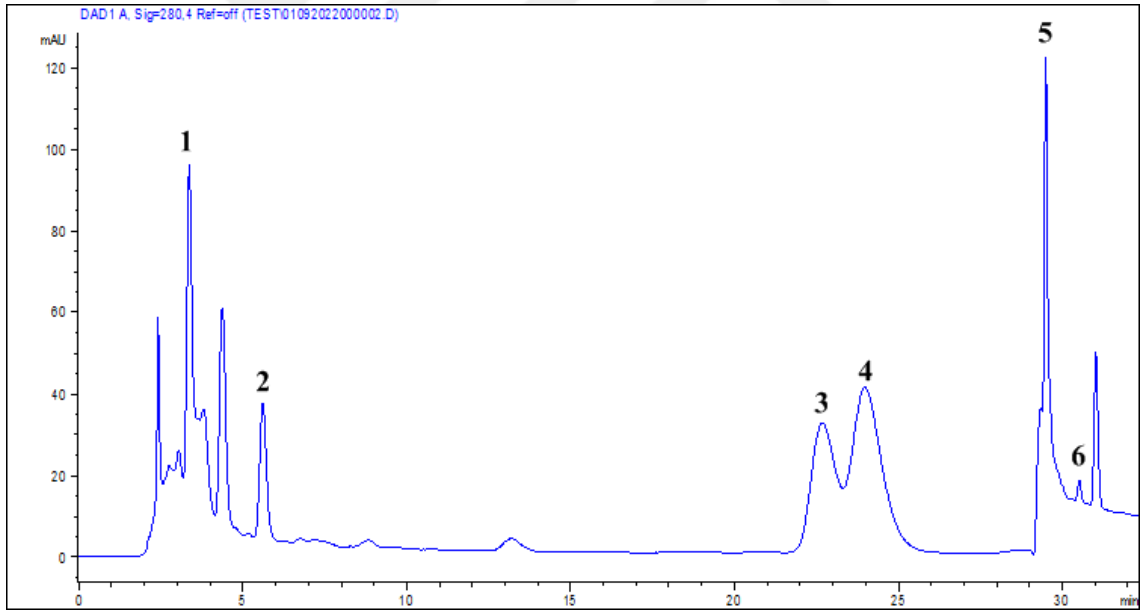
Hesaplamalarda;

Çıkan sonuç(mg/L) $\times$ Hacim (L)/g formülü kullanılmıştır.

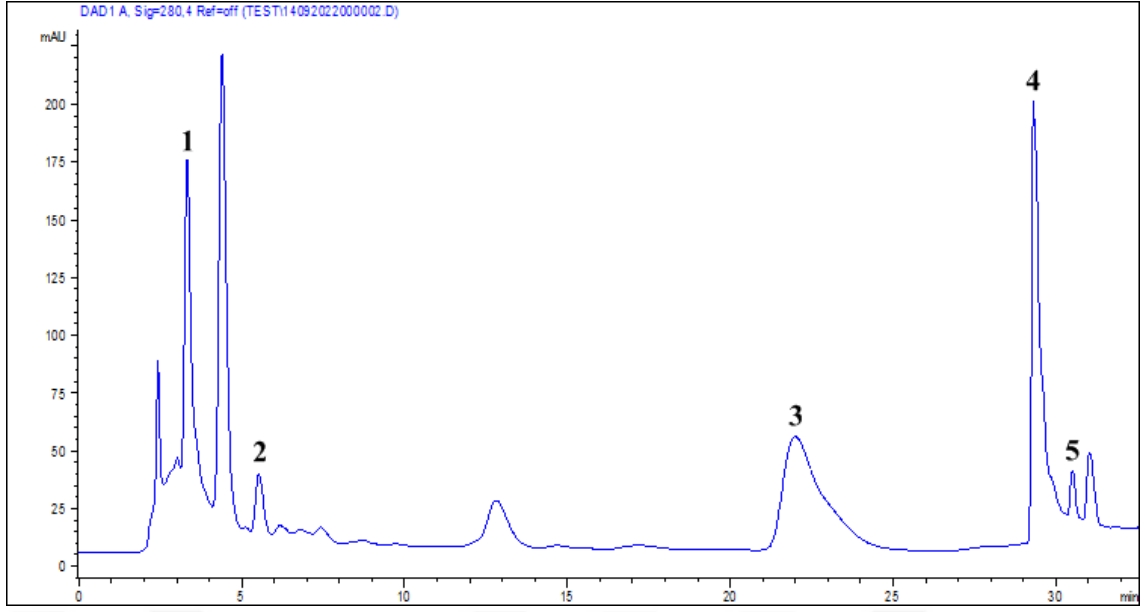
Fenolik bileşiklerin ayrımını gösteren kromatogram Şekil 4.64’de, ekstrelerdeki ayrımı gösteren örnek kromatogramlar ise Şekil 4.65, 66’da verilmiştir.



Şekil 4.64. Fenolik bileşiklerin kromatografik ayrımı ($\lambda=280$ nm) (1. Gallik asit, 2. (+)-Kateşin, 3. Klorojenik asit, 4. (-) Epikateşin, 5. Kafeik asit, 6. Ferulik asit, 7. p-kumarik asit, 8. Hiperozit, 9. Rutin, 10. Mirisetin, 11. Kuersetin, 12. Kamferol)



Şekil 4.65. *H. perforatum* türünün metanol ekstresine ait kromatogram ($\lambda=280$ nm) (1; (+) kateşin, 2; (-) epikateşin, 3; hiperozit, 4; rutin, 5; mirisetin, 6; kuersetin)



Şekil 4.66. *H. lydium* türünün metanol ekstresine ait kromatogram ($\lambda = 280$ nm) (1; klorojenik asit, 2; (-) epikateşin, 3; hiperozit, 4; mirisetin, 5; kuersetin)

Tablo 4.11. *Hypericum* ekstrelerinde belirlenen fenolik madde miktarları (mg/g)

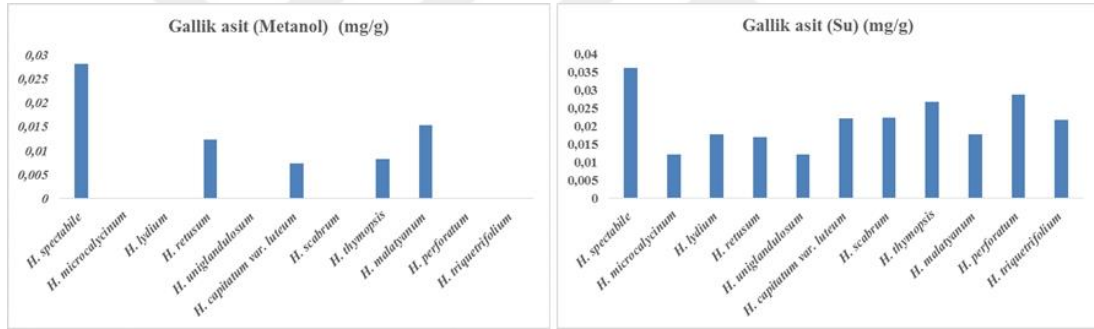
Rutin	Hiperozit	Ferulik Asit	Kafeik Asit	(-) Epikateşin	Klorojenik Asit	(+) Kateşin	Gallik Asit	
-	0.0866±0.006	-	-	0.0982±0.0029	0.2574±0.0084	-	0.0281±0.0008	HS Met
-	-	-	-	0.0463±0.004	0.2532±0.011	-	0.0362±0.0031	HS Su
-	0.2849±0.003	-	-	0.0543±0.004	-	-	-	HM Met
-	-	-	-	0.041±0.007	0.0164±0.003	-	0.0121±0.002	HM Su
-	0.2833±0.012	-	-	0.0738±0.0024	0.1945±0.005	-	-	HL Met
-	-	-	-	0.027±0.0033	0.2725±0.025	0.0472±0.0024	0.0177±0.002	HL Su
-	0.2822±0.0147	-	-	0.0319±0.0043	-	-	0.0124±0.0011	HR Met
-	-	-	-	0.2675±0.012	0.0103±0.009	0.0191±0.0035	0.0169±0.0017	HR Su
0.0351±0.0028	0.0342±0.0024	-	-	0.0136±0.0014	-	0.0176±0.0011	-	HU met
-	-	-	-	0.0176±0.004	0.0544±0.0018	0.023±0.0034	0.0121±0.0024	HU Su
-	0.2809±0.003	-	-	0.0236±0.001	-	0.02715±0.001	0.0074±0.001	HC Met
-	-	-	0.015±0.007	0.0055±0.002	0.1862±0.0067	0.0309±0.0014	0.0222±0.0027	HC Su
-	0.1471±0.0085	-	-	0.0518±0.006	0.0242±0.0012	-	-	HSc Met
-	-	-	-	0.0234±0.0012	0.1305±0.077	-	0.0224±0.005	HSc Su
0.0644±0.0053	0.0316±0.009	-	-	0.0286±0.005	-	-	0.0083±0.001	HT Met
-	-	0.0069±0.002	-	0.0192±0.002	0.0814±0.0024	0.0678±0.006	0.0267±0.006	HT Su
-	0.5974±0.022	-	-	0.0411±0.0074	0.2691±0.0094	-	0.0154±0.0012	HMLt Met
-	-	-	-	0.027±0.0033	0.2725±0.025	0.0472±0.0024	0.0177±0.002	HMLt su
0.8866±0.047	0.2746±0.011	-	-	0.1401±0.0074	-	0.1676±0.0107	-	HP Met
-	-	-	-	0.0661±0.006	0.064±0.0072	0.1098±0.0045	0.0288±0.0024	HP Su
0.0724±0.0025	0.2482±0.0266	-	-	0.1316±0.001	0.1977±0.014	0.2044±0.0202	-	HTr Met
-	-	-	-	0.0654±0.0015	0.2313±0.007	-	0.0217±0.0013	HTr Su

Tablo 4.11. *Hypericum* ekstrelerinde belirlenen fenolik madde miktarları (mg/g)
(Devamı)

Kuersetin	Mirisetin
-	0.1613±0.0104
-	0.0751±0.0002
0.0122±0.0002	-
-	-
0.0151±0.0008	0.018±0.0008
0.0272±0.0001	0.1049±0.00027
0.0136±0.0007	0.0594±0.0017
-	-
-	0.2861±0.0007
-	0.0291±0.00043
-	-
-	0.0318±0.00045
0.0092±0.0001	-
-	-
-	-
-	-
-	0.1852±0.00087
0.0272±0.0001	0.105±0.00028
0.0223±0.0008	0.28±0.0284
-	-
-	-
-	0.0122±0.0006

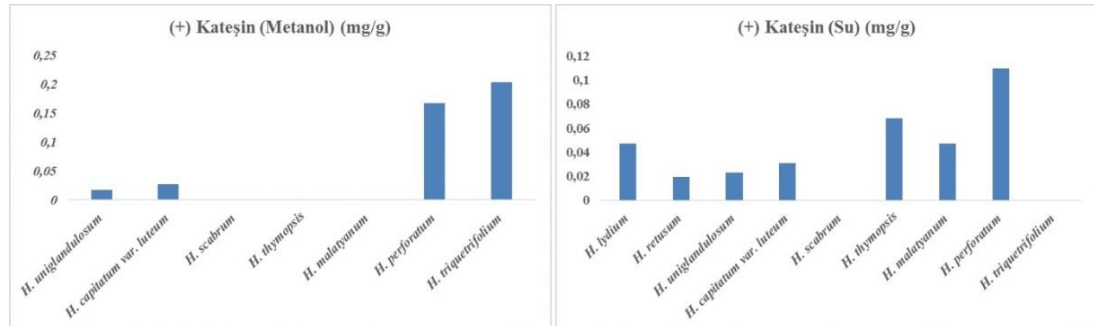
Hypericum ekstrelerindeki fenolik madde miktarları karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.67-74)

Gallik asit



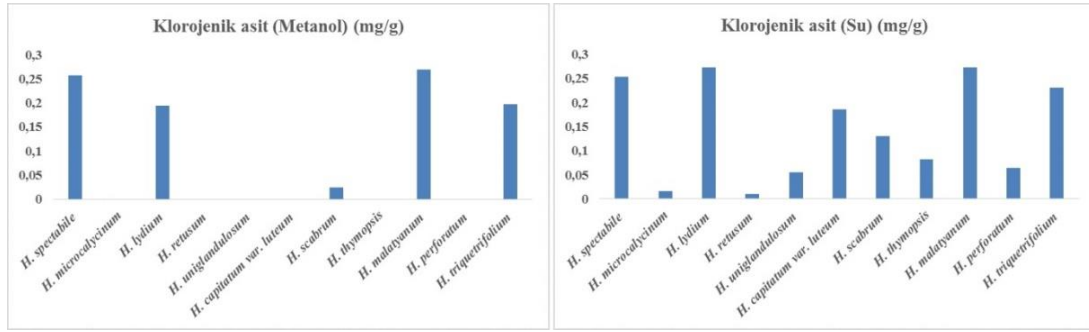
Şekil 4.67. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen gallik asit içeriklerinin karşılaştırılması

(+) Kateşin



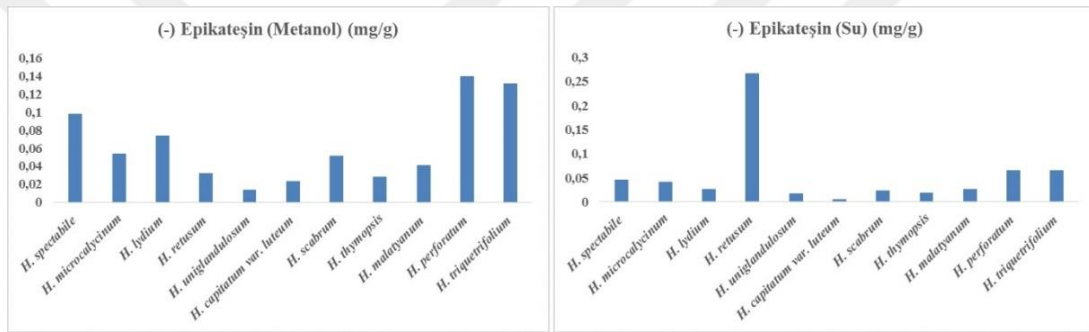
Şekil 4.68. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen (+) kateşin içeriklerinin karşılaştırılması

Klorojenik asit



Şekil 4.69. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen klorojenik asit içeriklerinin karşılaştırılması

(-) Epikateşin



Şekil 4.70. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen (-) epikateşin içeriklerinin karşılaştırılması

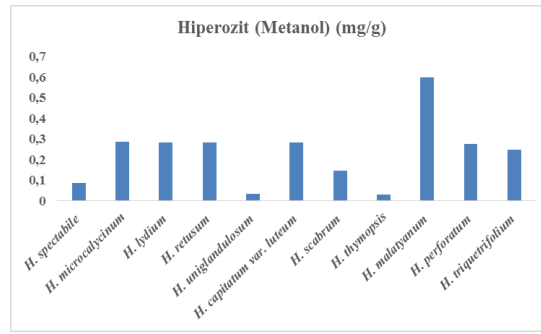
Kafeik asit

H. capitatum var. *luteum*'un sulu ekstresinde gözlenmiştir.

Ferulik asit

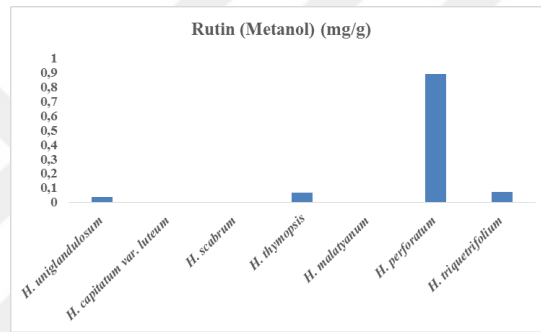
H. thymopsis türünün sulu ekstresinde gözlenmiştir.

Hiperozit



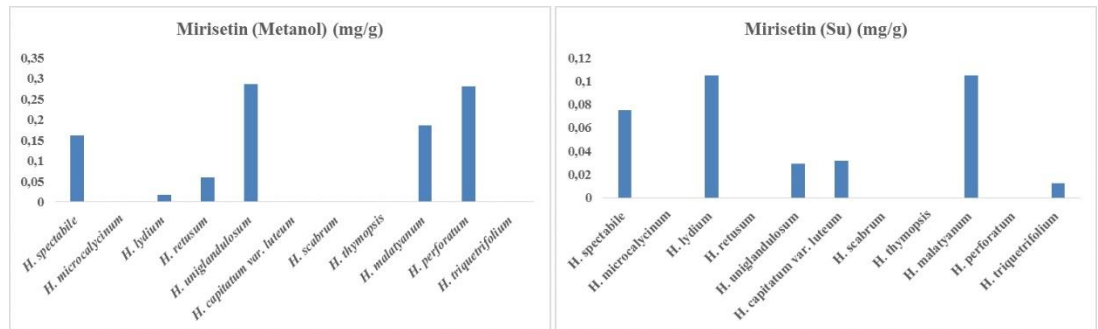
Şekil 4.71. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen hiperozit içeriklerinin karşılaştırılması

Rutin



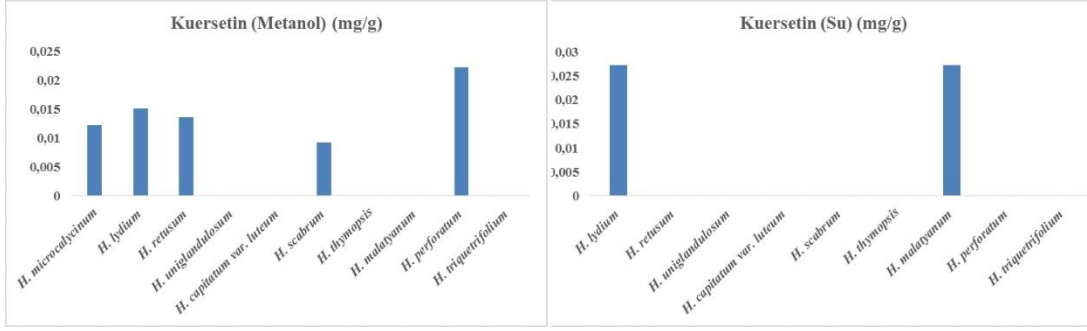
Şekil 4.72. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen rutin içeriklerinin karşılaştırılması

Mirisetin



Şekil 4.73. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen mirisetin içeriklerinin karşılaştırılması

Kuersetin



Şekil 4.74. *Hypericum* ekstrelerinin belirlenen kuersetin içeriklerinin karşılaştırılması

4.5. Uçucu Yağ Çalışmalarının Bulguları

Uçucu yağ çalışmaları toplanan 11 taksonun toprak üstü kısımları kullanılarak yapılmış ve uçucu yağları GC/MS cihazı kullanılarak kimyasal bileşenleri belirlenmiştir.

Çalışılan örneklerden elde edilen uçucu yağ yüzde verim miktarları Tablo 4.12’de verilmiştir.

En yüksek yüzde yağ verimi *H. lydiun*’da, en düşük yağ verimi ise *H. capitatum var. luteum* taksonun da gözlenmiştir.

Tablo 4.12. *Hypericum* örneklerinin uçucu yağ miktarları

Takson	Uçucu yağ miktarı (%)
<i>H. spectabile</i>	0.03
<i>H. microcalycinum</i>	0.07
<i>H. lydiun</i>	0.13
<i>H. retusum</i>	0.05
<i>H. uniglandulosum</i>	0.125
<i>H. capitatum var. luteum</i>	0.02
<i>H. scabrum</i>	0.1
<i>H. thymopsis</i>	0.125
<i>H. malatyanum</i>	0.04
<i>H. perforatum</i>	0.04
<i>H. triquetrifolium</i>	0.07

Elde edilen uçucu yağlara ait analiz sonuçları, aynı bileşik farklı bağıl indeksle verilmiştir. Bundan dolayı her örnek için ayrı tablo hazırlanmış, bileşiklerin alıkonma zamanları (RT) ve yüzde değerleri verilmiştir (Tablo 4.13-23).

Tablo 4.13. *H. spectabile* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Alıkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	4.457	Nonane	1.25
2	5.859	α -Pinene	20.42
3	8.125	β -Pinene	0.99
4	9.824	Undecane	0.82
5	11.054	Myrcene	0.93
6	12.851	Limonene	0.78
7	14.104	β -Ocimene	2.55
8	14.900	3-Carene	4.48
9	23.723	α -Longipinene	1.62
10	24.890	1,4-Cadinadiene	0.48
11	26.527	β -Caryophyllene	6.49
12	28.587	γ -Murolene	1.12
13	29.313	Germacrene D	1.88
14	30.149	δ -Cadinene	1.63
15	38.199	Caryophyllene oxide	1.59
16	45.752	Spathulenol	0.77
17	49.289	Guaiol	1.37
18	50.342	α -Elemene	1.58
19	52.487	α -Eudesmol	3.94
20	53.246	Decanoic acid	0.35
21	58.547	Farnesylacetone	0.17
22	59.314	1-Octadecene	0.49
23	60.240	Dodecanoic acid	1.13
24	61.860	Tetracosane	2.96
25	64.801	Myristic acid	2.16
26	67.181	Heptacosane	4.84
27	68.251	Palmitic acid	7.6
28	75.535	Linolenic acid	4.89
		TOPLAM	79.28

Tablo 4.14. *H. microcalycinum* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Ahkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5.722	α -Pinene	46.55
2	8.039	β -Pinene	1.81
3	10.808	Myrcene	1.8
4	12.685	Limonene	1.91
5	14.785	γ -Terpinene	0.29
6	15.495	α -Phellandrene	0.3
7	16.330	δ -3-Carene	0.59
8	22.224	2-Methyl-1-phenyl-1-propene	0.08
9	24.158	Bisabolene	0.63
10	26.693	Himachala-2,4-diene	1.05
11	28.581	γ -Murolene	1.45
12	29.519	Valencene	1.42
13	30.126	δ -Cadinene	1.77
14	31.327	β -Himachalene	0.51
15	32.352	Calamenene	0.59
16	34.200	Lauryl acetate	0.26
17	35.064	α -Calacorene	0.25
18	35.762	β -Ionone	0.22
19	36.729	1-Dodecanol	0.6
20	42.216	Naphthalene	0.13
21	42.777	γ -Gurjunene	0.17
22	45.678	Spathulenol	1.28
23	52.384	Cadalene	0.72
24	53.391	Decanoic acid	0.26
25	55.732	Valencene	0.3
26	58.541	Farnesyl acetone	0.12
27	59.165	Cyclohexadecane	0.39
28	60.223	Lauric acid	0.81
29	63.262	Heptacosane	0.25
30	63.760	Eicosane	0.72
31	64.807	Myristic acid	0.79
32	65.505	Palmitic acid	6.65
33	67.158	Heptacosane	2.54
34	69.442	Tetracosane	3.24
35	70.351	Nonacosane	3.16
		TOPLAM	83.61

Tablo 4.15. *H. lydium* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Ahkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5682	α -Pinene	46.77
2	7919	β -Pinene	2.34
3	10597	Myrcene	1.59
4	12514	Limonene	1.49
5	14539	γ -Terpinene	0.37
6	15277	p-Cymene	0.27
7	16101	Terpinolene	0.35
8	22115	p, α -Dimethylstyrene	0.07
9	24003	Terpinolene	1.05
10	26550	Valencene	0.76
11	28489	γ -Muurolene	1.08
12	29182	Germacrene D	1.53
13	30023	δ -cadinene	1.69
14	32272	Calamenene	0.69
15	33937	Lauryl acetate	1.56
16	36403	1-dodecanol	0.82
17	45438	Spathulenol	2.61
18	49014	T-cadinol	0.89
19	52178	Cadalene	1.66
20	53288	Decanoic acid	0.34
21	60212	Lauric acid	0.5
22	63771	Pentacosane	0.62
23	64801	Myristic acid	1.42
24	67176	Tetracosane	1.03
25	68246	Hexadecanoic acid	3.22
26	70351	Nonacosane	3.16
		TOPLAM	78.28

Tablo 4.16. *H. retusum* uçucu yağının analiz sonuçları

No	Alınma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5.756	α -Pinene	32.88
2	8.039	β -Pinene	2.07
3	9.550	Undecane	0.97
4	10.894	Myrcene	0.86
5	12.684	Limonene	2.08
6	14.196	δ -3-carene	0.43
7	15.289	p-Cymene	2.52
8	23.385	α -Campholenic aldehyde	0.4
9	24.432	α -Copaene	0.88
10	26.521	β -Caryophyllene	4.91
11	27.911	β -Farnesene	1.24
12	28.552	γ -Muurolene	1.94
13	30.263	α -Amorphene	3.14
14	31.305	α -Muurolene	0.63
15	32.277	Calamenene	0.86
16	34.103	Cyclododecane	0.3
17	35.665	β -Ionone	0.66
18	36.718	Cyclodecane	0.64
19	37.971	β -Caryophyllene oxide	4.84
20	42.714	Hexyl benzoate	0.4
21	45.672	Spathulenol	1.3
22	49.151	Naphthalene	0.41
23	50.862	Germacrene D	0.44
24	52.333	Cadalene	1.09
25	53.351	Decanoic acid	0.59
26	59.468	Heptadecane	0.49
27	60.229	Lauric acid	1.05
28	63.805	Heptadecane	0.74
29	67.181	Docosane	1.48
30	68.251	Palmitic acid	5.52
31	70.263	Nonacosane	5.53
		TOPLAM	81.29

Tablo 4.17. *H. uniglandulosum* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Alıkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	3244	2,2,7,7-Tetramethyloctane	11.05
2	5653	α -Pinene	42.26
3	8668	β -Pinene	3.18
4	10099	β -Terpinene	0.5
5	11438	Undecane	0.49
6	11930	Myrcene	2.32
7	13921	Limonene	1.48
8	16107	γ -Terpinene	0.24
9	16656	β -Ocimene	0.31
10	17286	Terpinolene	0.23
11	18699	Methyl heptenone	0.25
12	19803	2,2,6,6-Tetramethyl-3,5-heptanedione	5.51
13	23373	Linalool oxide (furanoid)	0.25
14	23912	α -Campholenic aldehyde	0.09
15	24341	Linalool	1.82
16	27751	Isoborneol	0.47
17	28215	α -Terpineol	0.45
18	28632	Citral	0.19
19	29250	γ -Murolene	0.46
20	29754	Myrtenol	1.02
21	31202	γ -cadinene	0.49
22	32157	Myrtanol	0.27
23	34858	Lauryl acetate	0.75
24	36637	1-dodecanol	0.82
25	40809	Nerolidol	0.12
26	45993	3-Hexenyl benzoate	0.23
27	46443	Spathulenol	0.39
28	53134	Decanoic acid	0.59
29	59422	(3Z)-hexadec-3-ene	0.48
30	60246	Lauric acid	0.79
31	64189	Benzyl benzoate	0.47
32	64830	Myristic acid	0.62

Tablo 4.17. *H. uniglandulosum* uçucu yağ analiz sonuçları (Devamı)

33	66615	Pentadecanoic acid	0.39
34	67353	Docosane	0.25
35	68131	Palmitic acid	2.32
36	70489	Tetracosane	1.94
37	74980	Linolenic acid	1.1
		TOPLAM	84.59

Tablo 4.18. *H. capitatum* var. *luteum* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Alıkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5.366	Nonane	1.33
2	57.04	α -Pinene	37.69
3	7.793	β -Pinene	10.48
4	10.494	Myrcene	1.29
5	11.260	α -Terpinene	0.94
6	12.222	Limonene	2.78
7	14.030	γ -Terpinene	1.65
8	14.774	p-Cymene	8.2
9	21.726	p, α -Dimethylstyrene	0.35
10	22.956	α -Campholenic aldehyde	2.04
11	25.560	4-Carvomenthenol	1.12
12	26.395	Alloaromadendrene	2.04
13	27.740	α -Terpineol	0.71
14	28.415	γ -Muurolene	1.97
15	29.130	Germacrene D	1.34
16	29.771	δ -Cadinene	1.65
17	31.087	Carveol	0.77
18	32.209	Calamenene	0.44
19	35.613	β -Ionone	0.27
20	37.919	β -Caryophyllene oxide	2.76
21	39.058	Octanoic acid	0.11
22	45.449	Spathulenol	2.32
23	49.907	Carvacrol	0.58
24	52.270	Cadalene	0.61
25	53.368	Decanoic acid	0.2
26	55.663	Valencene	0.38
27	59.268	Tricosane	0.17

Tablo 4.18. *H. capitatum* var. *luteum* uçucu yağ analiz sonuçları (Devamı)

28	60.235	Lauric acid	0.34
29	61.831	Tetracosane	0.54
30	67.158	Docosane	0.58
31	68.257	Palmitic Acid	1.49
		TOPLAM	87.14

Tablo 4.19. *H. scabrum* uçucu yağ analiz sonuçları

No	Alıkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	4.383	Nonane	0.78
2	5.681	α -Pinene	48.51
3	7.902	β -Pinene	3.31
4	10.637	Myrcene	0.96
5	11.415	γ -Terpinene	0.29
6	12.376	Limonene	2.77
7	15.117	p-Cymene	2.66
8	21.960	p, α -Dimethylstyrene	0.13
9	23.145	α -Campholene aldehyde	0.78
10	23.986	α -Bisabolene	0.49
11	25.794	4-Carvomenthenol	0.17
12	26.487	Eremophilene	1.12
13	27.831	Terpinolene	0.94
14	28.489	γ -Murolene	0.98
15	29.554	Valencene	1.57
16	29.983	δ -Cadinene	1.29
17	31.167	Carveol	0.43
18	32.254	Calamenene	0.6
19	34.057	Cyclododecane	0.22
20	34.932	Dehydro-ar-ionene	0.23
21	35.625	β -Ionone	0.33
22	36.489	1-Dodecanol	0.39
23	42.588	γ -Gurjunene	0.36
24	44.293	β -caryophyllene oxide	0.3
25	45.432	Spathulenol	3.83
26	49.048	Naphthalene	0.68
27	50.193	α -Cadinol	0.72
28	52.024	α -Bisabolol	2.7
29	53.328	Decanoic acid	0.4

Tablo 4.19. *H. scabrum* uçucu yağ analiz sonuçları (Devamı)

30	54.593	Aromadendrene oxide 2	0.87
31	55.561	Aromadendrene	0.63
32	59.416	Tricosane	0.22
33	60.212	Dodecanoic acid	0.9
34	63.765	Eicosane	0.47
35	64.801	Myristic acid	0.59
36	68.251	Palmitic acid	3.44
		TOPLAM	85.06

Tablo 4.20. *H. thymopsis* uçucu yağ analiz sonuçları

	Alıkönme zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5.739	α -Pinene	21.48
2	8.010	β -Pinene	0.47
3	10.659	Myrcene	0.44
4	12.159	Limonene	9.8
5	16.158	Terpinolene	0.67
6	24.301	α -Copaene	1.17
7	26.549	β -Caryophyllene	0.87
8	28.495	γ -Muurolene	1.4
9	29.181	Germacrene D	1.73
10	30.017	δ -Cadinene	2.39
11	31.310	α -Muurolene	0.39
12	32.237	Calamenene	0.37
13	40.414	Ledol	0.24
14	42.542	Globulol	0.25
15	45.283	Spathulenol	7.52
16	46.977	Eremophilene	0.48
17	49.752	Valencene	0.9
18	50.765	δ -Cadinene	0.42
19	53.351	Decanoic acid	0.46
20	60.229	Lauric acid	0.72
21	63.839	Pentacosane	1.09
22	64.932	Myristic acid	1.01
23	75.816	Heneicosane	2.74
24	76.994	Palmitic acid	3.18
25	82.270	Nonacosane	4.98
		TOPLAM	65.17

Tablo 4.21. *H. malatyanum* uçucu yağ analiz sonuçları

	Alıkonma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	4.394	Nonane	1.13
2	5.784	α -Pinene	15.87
3	7.942	β -Pinene	1.58
4	9.303	Undecane	1.6
5	12.491	Limonene	1.44
6	23.082	α -Cubebene	0.44
7	23.986	α -Copaene	2.29
8	26.275	β -Caryophyllene	5.6
9	27.528	Alloaromadendrene	3.59
10	28.300	γ -Muurolene	4.02
11	28.976	Germacrene D	8.8
12	29.891	δ -Cadinene	7.87
13	31.167	α -Muurolene	0.96
14	32.094	Calamenene	2.16
15	38.039	Caryophyllene oxide	1.63
16	45.501	Spathulenol	1.46
17	48.974	γ -Muurolene	0.81
18	50.158	T-Muurolol	1.12
19	50.759	α -Copaene	0.49
20	52.436	α -Cadinol	2.68
21	53.311	Decanoic acid	0.35
22	60.189	Lauric acid	0.4
23	63.857	Benzyl benzoate	1.12
24	64.732	Myristic acid	0.62
25	66.586	α -Cuparenol	6.55
26	68.251	Palmitic acid	5.72
27	70.305	Nonacosane	3.73
		TOPLAM	84.03

Tablo 4.22. *H. perforatum* uçucu yağ analiz sonuçları

	Alınma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	5.933	α -Pinene	0.1
2	15.621	4-Ethyl-o-xylene	0.11
3	20.948	Nonanal	0.1
4	23.196	3-Hexenyl 2-methylbutanoate	0.04
5	24.163	α -Copaene	0.74
6	26.023	β -Cedrene	0.65
7	26.380	γ -Cadinene	0.69
8	27.757	β -Farnesene	0.6
9	28.358	γ -Murolene	1.91
10	28.838	Valencene	1.59
11	29.382	α -Selinene	11
12	31.219	α -Cadinene	0.32
13	32.237	Calamenene	0.77
14	34.228	1,1,2-Trimethylcyclopentane	1.06
15	35.585	β -Ionone	0.28
16	36.105	1-Dodecanol	4.39
17	39.001	Cyclotetradecane	0.27
18	39.664	Nerolidol	1.57
19	41.913	Naphthalene	0.32
20	42.554	Globulol	0.41
21	43.595	α -Ylangene	1.55
22	45.833	1-Decene	8.05
23	46.170	2-Methyl-4-nonene	4.54
24	48.779	Selina-3,7(11)-diene	0.96
25	49.809	Cyclododecane	11
26	51.944	Guaiazulene	2.21
27	57.448	1-Hexadecene	1.88
28	58.856	Cyclohexadecane	3.89
29	60.160	Lauric acid	1.33
30	61.002	Cyclotetradecane	0.1
31	61.797	1-Heptadecene	0.26
32	62.999	Cyclohexadecane	0.18
33	63.708	Tetracosane	1.26
34	64.383	Phytol	3.25

Tablo 4.22. *H. perforatum* uçucu yağ analiz sonuçları (Devamı)

35	66.586	Pentadecanoic acid	0.7
36	67.135	Heptacosane	1.22
37	68.205	Palmitic acid	6.29
38	70.357	Nonacosane	1.96
39	73.716	Linoleic acid	2.49
40	75.444	Linolenic acid	3.83
		TOPLAM	83.87

Tablo 4.23. *H. triquetrifolium* uçucu yağ analiz sonuçları

	Alınma zamanı	Bileşik	Yüzde
1	3.250	3-methyl pentane	26.07
2	4.737	2-methyl octane	0.25
3	25.834	α -Cubebene	1.45
4	27.694	β -Caryophyllene	1.44
5	29.399	α -Amorphene	4.41
6	30.091	γ -Murolene	0.5
7	30.406	α -Murolene	0.44
8	30.830	δ -Cadinene	1.01
9	33.147	Calamenene	1.6
10	36.569	β -Ionone	0.57
11	38.846	β -Caryophyllene oxide	4.25
12	46.359	Spathulenol	2.39
13	53.197	Decanoic acid	1.55
14	59.697	Farnesyl acetone	0.28
15	60.304	Lauric acid	1.9
16	64.234	Benzyl benzoate	0.8
17	64.847	Myristic acid	2.71
18	68.108	Palmitic acid	7.38
19	69.012	Tetracosane	6.82
20	72.394	Oleic acid	0.65
21	73.481	Linoleic acid	0.93
22	75.112	Linolenic acid	0.6
		TOPLAM	68

Tablo 4.24. *Hypericum* örneklerinden elde edilen uçucu yağların ana bileşikleri

Takson	Ana Bileşikler
<i>H. spectabile</i>	α -pinene, palmitic acid, β - caryophyllene, linolenic acid
<i>H. microcalycinum</i>	α -pinene, palmitic acid, tetracosane, nonacosane
<i>H. lydium</i>	α -pinene, hexadecanoic acid, spathulenol, β -pinene
<i>H. retusum</i>	α -pinene, β - caryophyllene, β - caryophyllene oxide, β -pinene
<i>H. uniglandulosum</i>	α -pinene, β -pinene, myrecene, palmitic acid
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	α -pinene, β -pinene, p-cymene, limonene
<i>H. scabrum</i>	α -pinene, β -pinene, limonene, p-cymene
<i>H. thymopsis</i>	α -pinene, limonene, spathulenol, nonacosane
<i>H. malatyanum</i>	α -pinene, germakren D, δ -cadinene, α -cuparenol
<i>H. perforatum</i>	1-decene, palmitic acid, 2-metil-4-nonene, 1-dodecanol
<i>H. triquetrifolium</i>	3-methylpentane, palmitic acid, tetracosane, α -amorphene

4.6. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

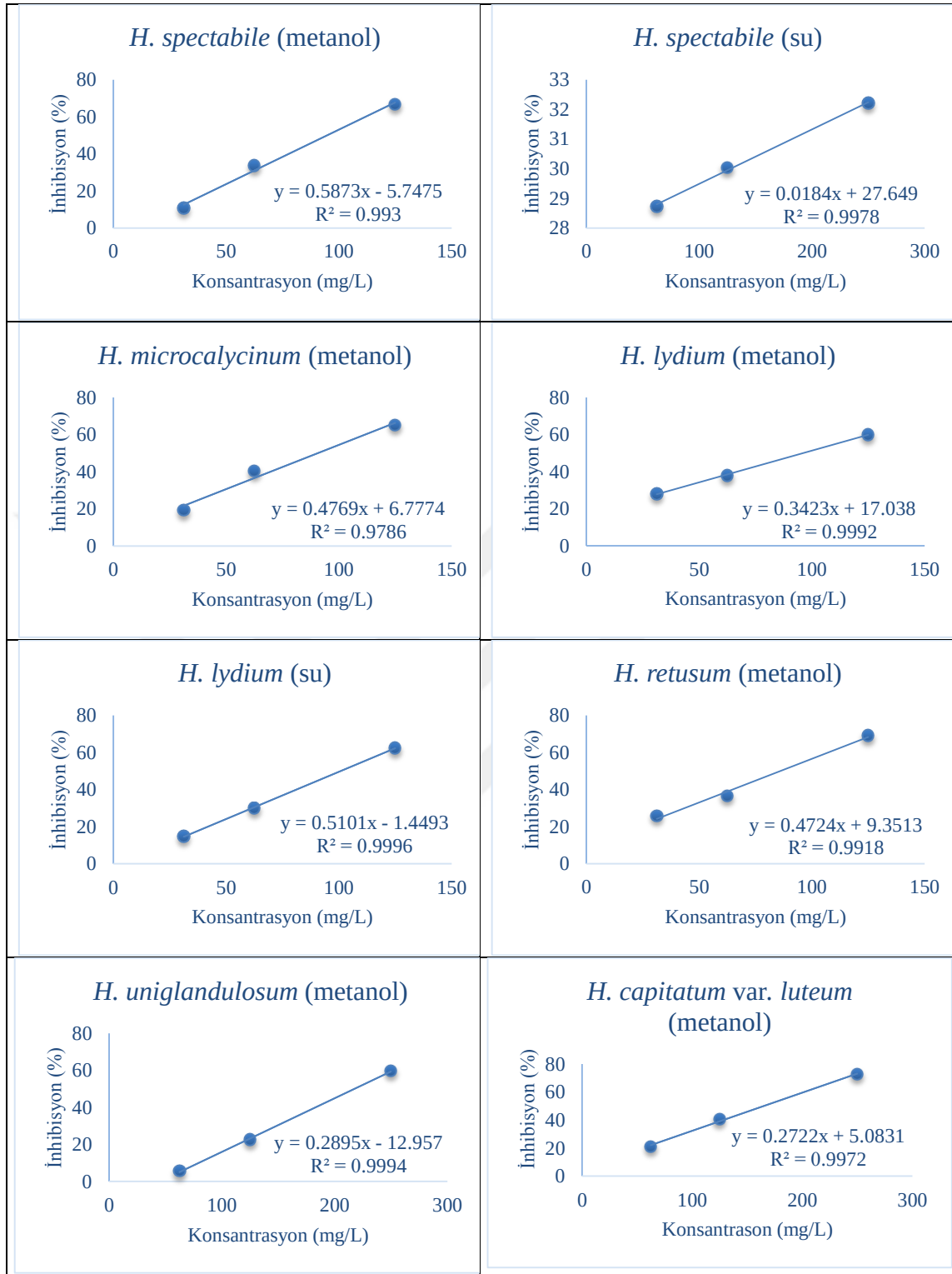
Hypericum örneklerine ait antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS metotları olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Burada toplanan 11 taksonun metanol ve sulu ekstraktları kullanılmıştır. Örneklerin ve standartların IC₅₀ değerleri kalibrasyon eğrisi denkleminde hesaplanmış ve bu değerler Tablo 4.25 ve 26'da, örneklere ve standartlara ait konsantrasyon (mg/L)-inhibisyon (%) grafikleri ise Şekil 4.75 ve 76'da verilmiştir. IC₅₀ değerleri üç ölçümün ortalaması ve standart sapması alınarak verilmiştir.

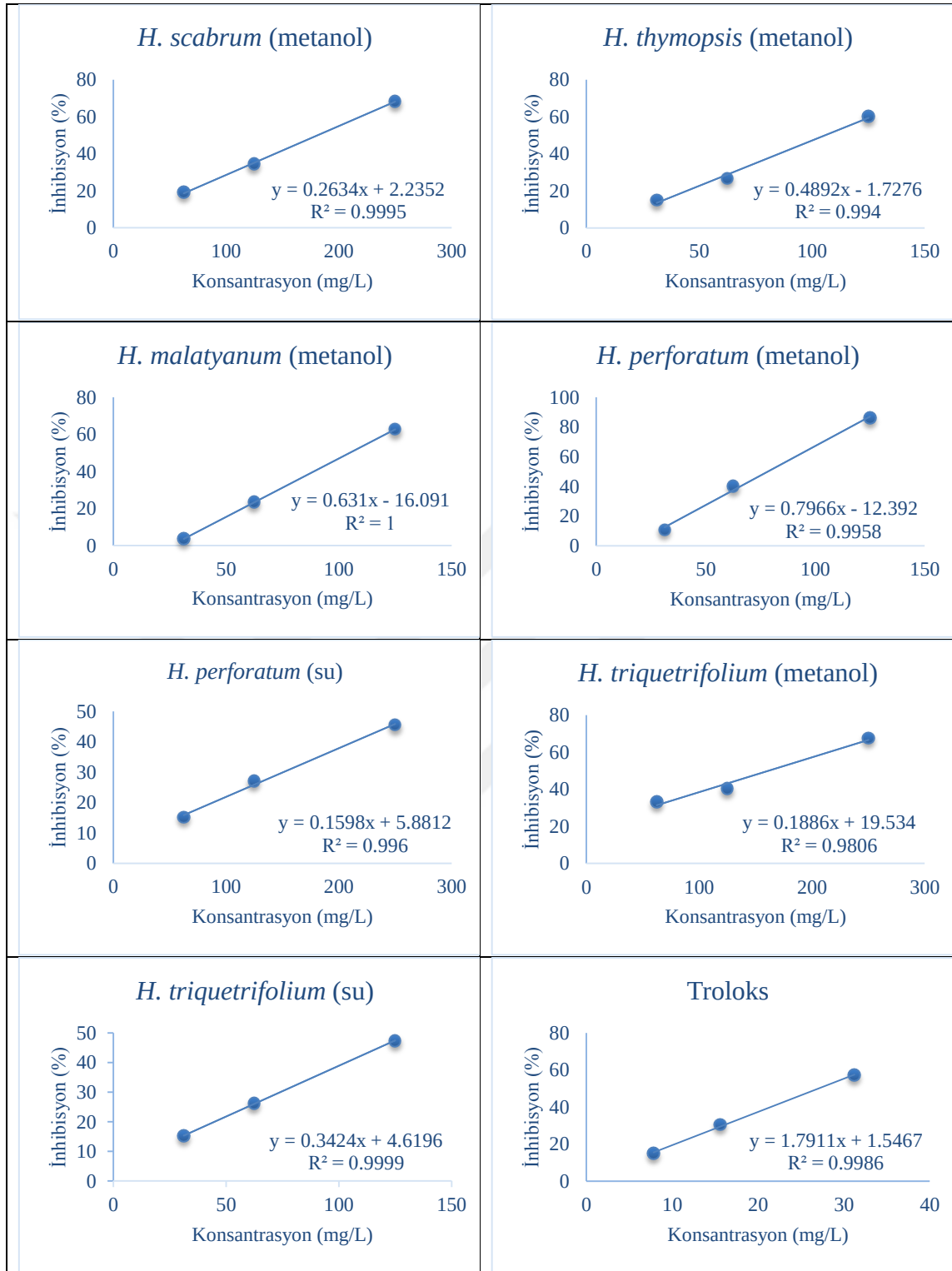
Tablo 4.25. *Hypericum* ekstrelerinin IC₅₀ değerleri (mg/L)

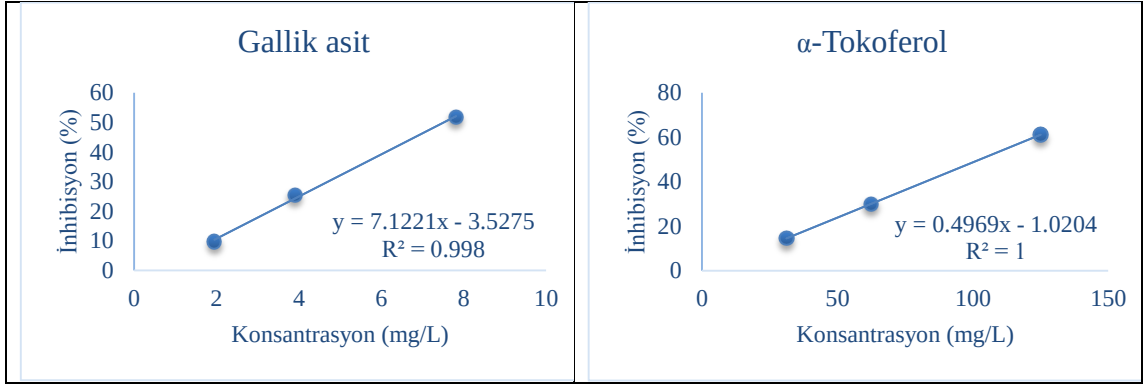
Ekstreler	IC₅₀ DPPH	IC₅₀ ABTS
<i>H. spectabile</i> (Metanol)	96.51±1.48	155.14±5
<i>H. spectabile</i> (Su)	-	170.18±18.55
<i>H. microcalycinum</i> (Metanol)	91.79±4.75	132.63±7.96
<i>H. microcalycinum</i> (Su)	-	238.5±2.86
<i>H. lydium</i> (Metanol)	95.46±5.17	106.54±1.77
<i>H. lydium</i> (Su)	100.86±3.29	122.48±23.58
<i>H. retusum</i> (Metanol)	87.77±1.5	160.16±8.54
<i>H. retusum</i> (Su)	-	303.47±6.91
<i>H. uniglandulosum</i> (Metanol)	214.82±2.92	272.85±19.08
<i>H. uniglandulosum</i> (Su)	-	-
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> (Metanol)	167.58±2.43	293.9±24.22
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i> (Su)	-	296.14±21.12
<i>H. scabrum</i> (Metanol)	180.98±8.44	106.75±3.37
<i>H. scabrum</i> (Su)	-	123.27±25.89
<i>H. thymopsis</i> (Metanol)	105.72±4.55	159.05±21.24
<i>H. thymopsis</i> (Su)	-	327.65±17.72
<i>H. malatyanum</i> (Metanol)	104.74±1.76	98.15±12.2
<i>H. malatyanum</i> (Su)	-	206.39±6.57
<i>H. perforatum</i> (Metanol)	78.9±0.95	81.72±3.15
<i>H. perforatum</i> (Su)	285.69±57	168.86±5.97
<i>H. triquetrifolium</i> (Metanol)	161.24±1.42	88.86±7.51
<i>H. triquetrifolium</i> (Su)	132.68±4.64	91.54±8.71

Tablo 4.26. Standartların IC₅₀ değerleri (mg/L)

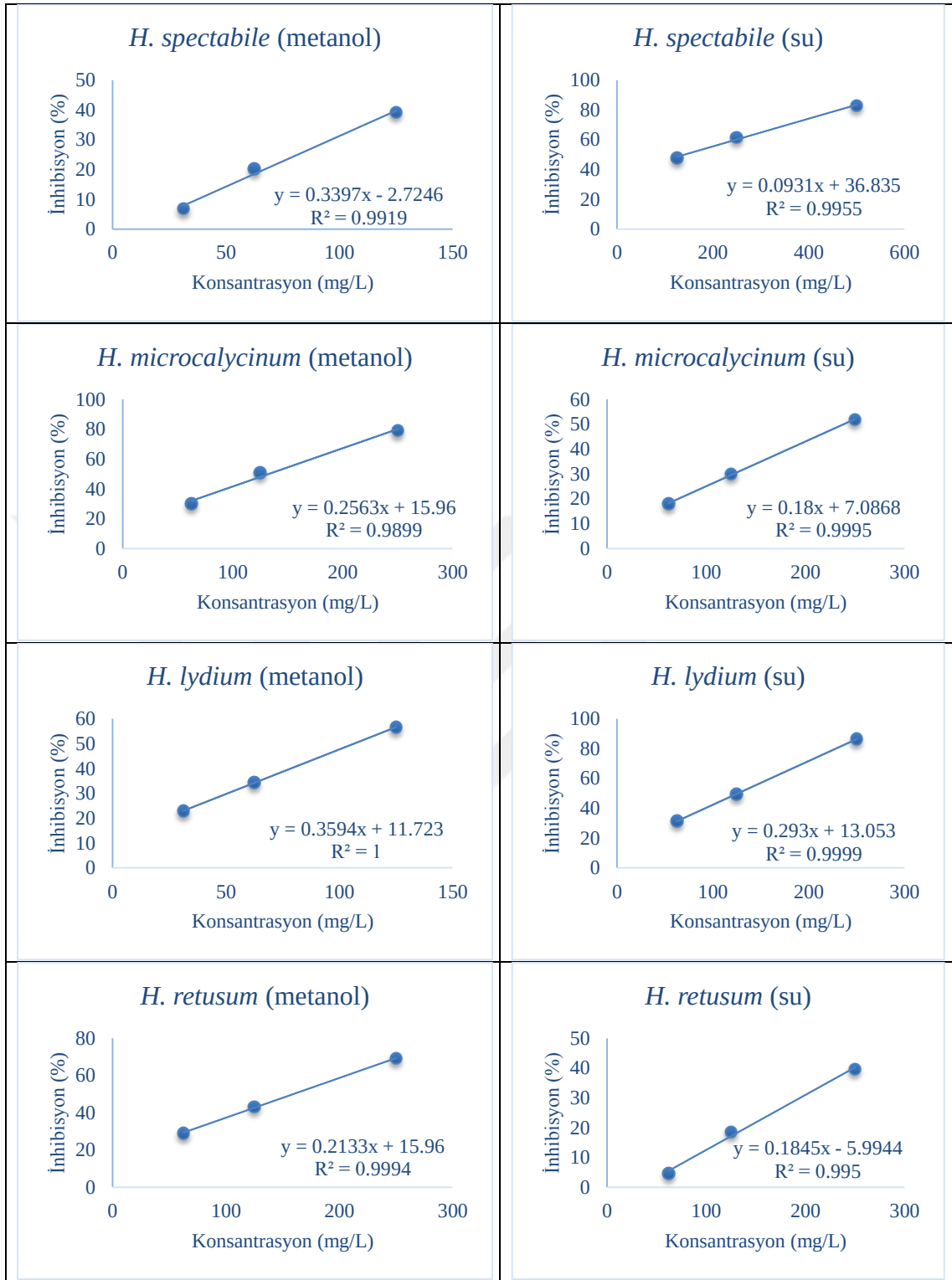
Standartlar	IC₅₀ DPPH	IC₅₀ ABTS
Troloks	27.06±0.53	46.31±2.67
Gallik asit	7.39±0.14	8.15±0.33
Alfa tokoferol	103±5.78	226.33±16.51

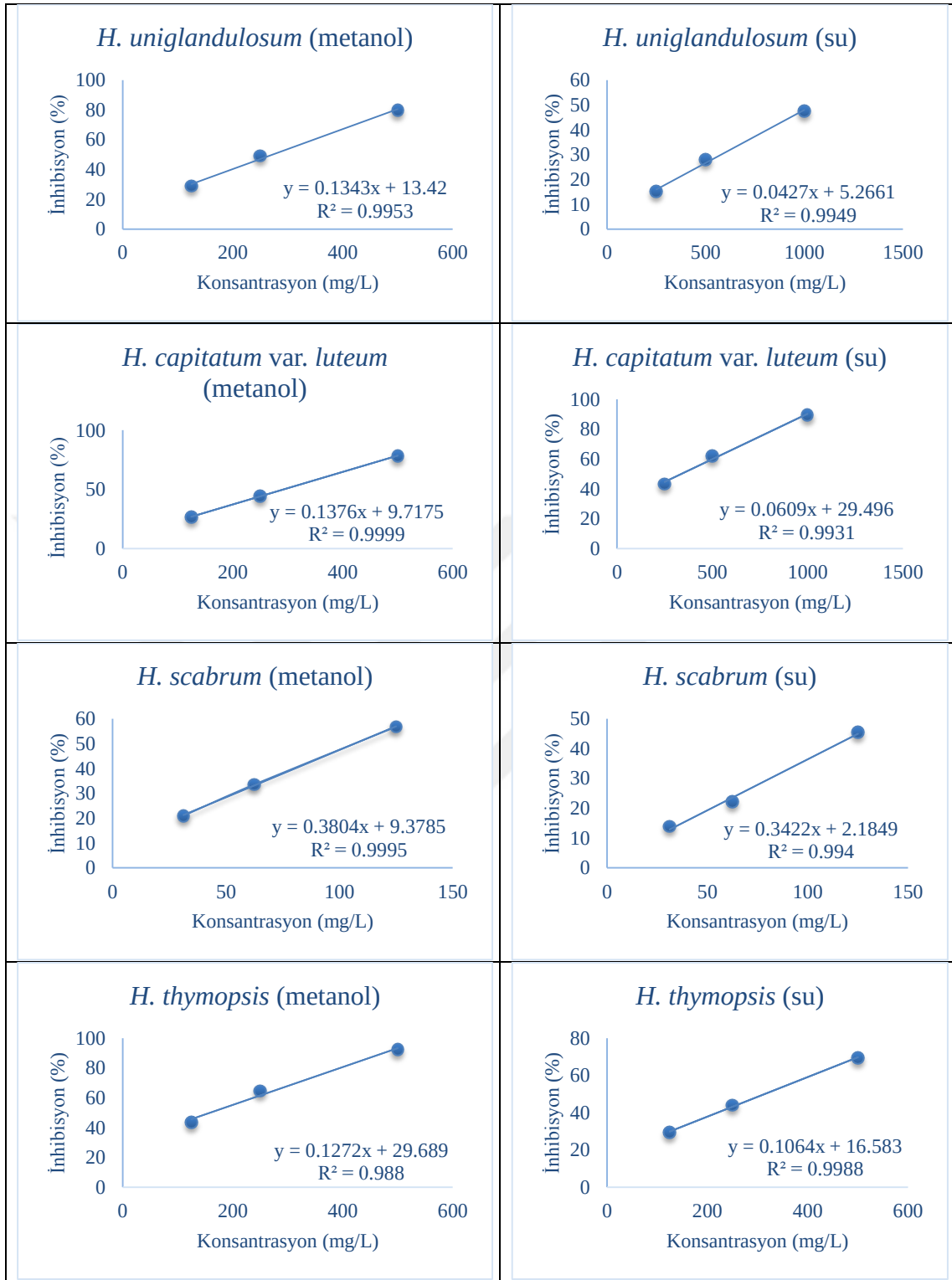


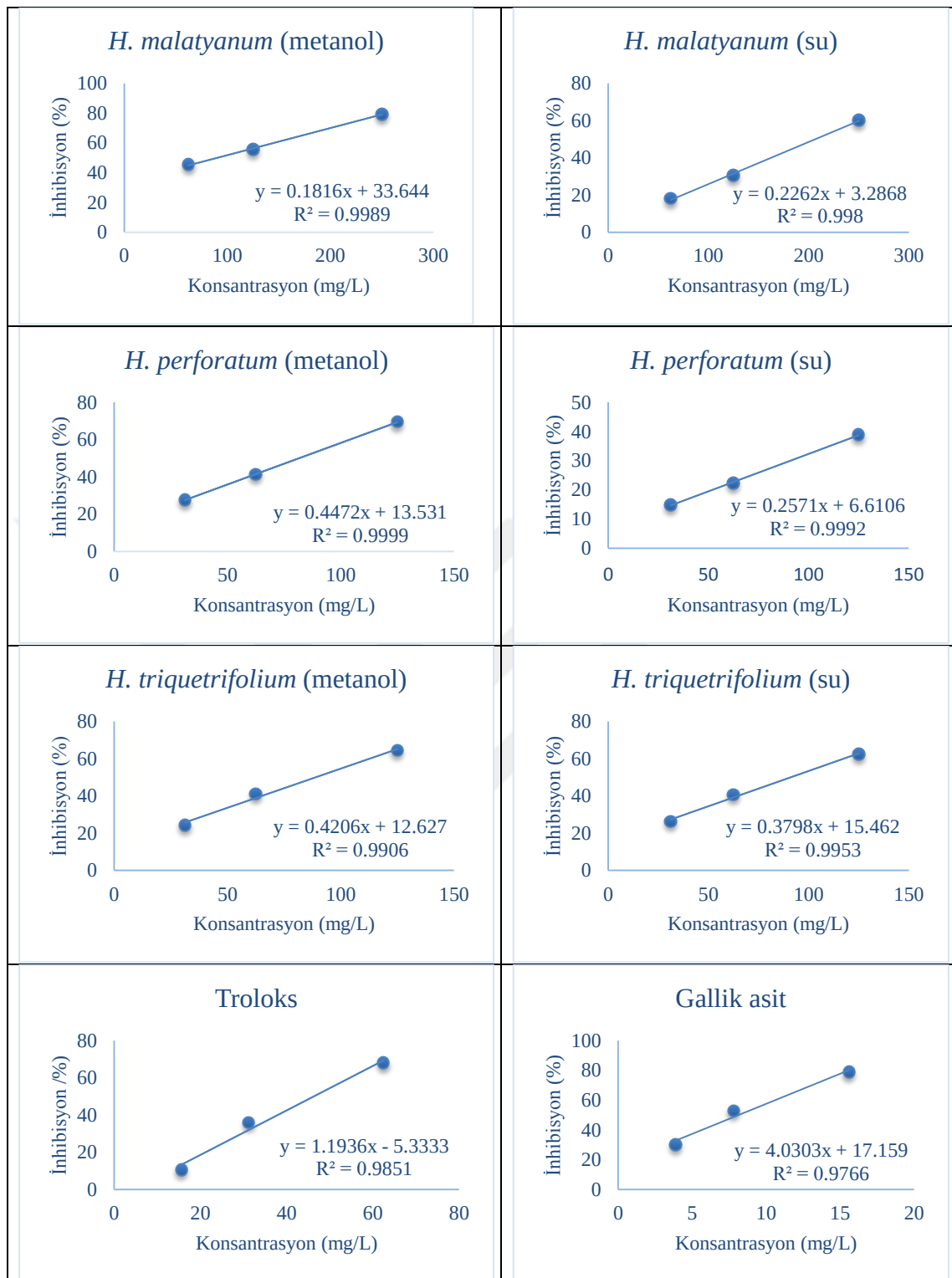


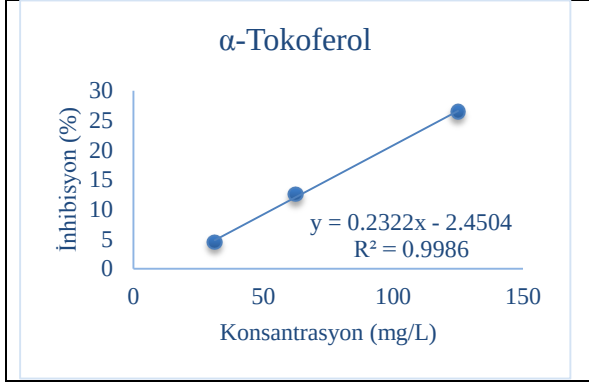


Şekil 4.75. DPPH yöntemi ile örneklere ve standartlara ait konsantrasyon (mg/L)-inhibisyon (%) grafikleri









Şekil 4.76. ABTS yöntemi ile örneklere ve standartlara ait konsantrasyon (mg/L)-inhibisyon (%) grafikleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *Hypericum* cinsinin Malatya ilinde yayılış gösteren örneklerinin farmasötik botanik özellikleri incelenmiştir. Toplamda 11 taksonun morfolojik, anatomik ve palinolojik özellikleri, fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi, uçucu yağ kompozisyonu ve antioksidan aktivite çalışmaları yapılarak hem botanik özellikleri hem de kimyasal özellikleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

Yapılan anatomik çalışmalarda kök özellikleri; periderm hücre sıra sayısı ve salgı kanalı içerip içermemesi özellikleri açısından değerlendirilmiş ve bu açıdan birbirlerine oldukça benzerlikler gösterdiği belirlenmiştir.

Gövde anatomisi özellikleri; enine kesitte emergens sayısı, epiderma hücre sıra sayısı ve salgı kanalı içerip içermemesi açısından değerlendirilmiştir. Bu özellikler bakımından incelendiğinde, örneklerin çoğunlukla 2 emergens içerdiği gözlenmiştir. *Hypericum capitatum* var. *luteum* 4-5 emergens içerirken *H. scabrum*'da dalgalı kenarlı bir yapıya sahiptir. *H. thymopsis* gövde enine kesitinde epidermal tabakada tüylüdür. *H. malatyanum* ve *H. triquetrifolium* türlerinde emergens bulunmamaktadır.

Yaprak anatomisinde ise enine kesitte; epiderma hücre sıra sayısı, örnekler göre değişmekle birlikte 1 ya da 2 sıralı olabilmektedir. Mezofil yapısı, salgı kanalı içerip içermemesi ve stoma tipi bakımından değerlendirilmiştir. Ayrıca SEM görüntülerinden yararlanarak stomaları yaprak yüzeyindeki konumu belirtilmiştir. Yaprak enine kesitlerinde örneklerin mezofil yapıları çoğunlukla bifasiyal olduğu görülmüştür. *H. microcalycinum*, *H. uniglandulosum* ve *H. capitatum* var. *luteum* hariç diğer örneklerde salgı kanalı gözlenmiştir. Stomalar *H. thymopsis*'te yüzeysel iken diğer örneklerde epiderma yüzeyine göre batık ya da hafif batık şekilde bulunmaktadır. Stoma tipi ise bütün örneklerde anizositiktir.

Ciccarelli ve ark. tarafından yapılan çalışmada *Hypericum perforatum*'da gözlenen yarı saydam bezleri ve salgı kanallarını sınıflandırmışlardır (85). Yapılan çalışmada ise *H. perforatum*'un kök, gövde ve yaprak enine kesitlerinde salgı kanallarına rastlanmıştır.

Polat ve ark. yaptıkları çalışmada Giresun ve çevresinde yayılış gösteren *Hypericum* türleri (*H. androsaemum*, *H. lydium*, *H. scabrum*, *H. linaroides*, *H. orientale*, *H. perforatum*) karşılaştırmalı olarak mikromorfolojik ve anatomik yönden incelemişler

(30). *Hypericum perforatum*'da gövde ve yapraklarında salgı kanallarının daha yoğun bulunduğunu belirtmişlerdir. Stomaların anizositik ya da nadiren diasitik olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda, *Hypericum lydium*, *H. scabrum* ve *Hypericum perforatum*'un kök, gövde ve yapraklarından alınan enine kesitlerde salgı kanalları gözlenmiştir. En yoğun salgı kanallarına *Hypericum lydium*'un yapraklarından alınan enine kesitlerde rastlanmıştır.

Perrone ve ark.; yaptıkları çalışmada *Hypericum perforatum*'da yaprak mezofilinin dorsiventral, gövdenin enine kesiti incelendiğinde ise iki emergense sahip olduğunu ve salgı kanalları bulunduğunu belirtmişlerdir (86). Çalışmamızda *Hypericum perforatum*'un kök, gövde ve yapraklarından alınan enine kesitlerde salgı kanalları, yaprak mezofilinin bifasiyal yapıda ve gövde enine kesitinin iki emergensli olduğu gözlenmiştir.

Potoğlu ve Tokur; Eskişehir ve yöresinde doğal yayılış gösteren *Hypericum montbretii* Spach, *H. origanifolium* Willd. ve *H. perforatum* türlerinin bazı morfolojik ve anatomik özelliklerini saptamaya çalışmışlardır (87). Kök enine kesitlerinde ksilemin geniş yer tuttuğunu, gövde enine kesitinde genç gövdelerde parenkimatik hücrelerin daha büyük ve yaşlı gövdelerde ise öz boşluğu olduğunu, yaprak enine kesitlerinde ise yaprak alt yüzeyinde stoma sayısının üst yüzeye göre daha yoğun olduğunu ve stoma tipini anizositik bildirmişlerdir. Mevcut çalışmamızda, bu türlerden *H. perforatum*'un kök, gövde ve yaprak enine kesitleri incelenmiştir. Kök enine kesitinde, öz bölgesinde ksilem elemanları geniş yer tutmaktadır. Gövde enine kesitinde, yaşlı gövdelerde öz boşluğu, yaprak SEM görüntülerinde alt yüzeyde daha yoğun olmak üzere her iki yüzeyde de anizositik tipte stoma bulunmaktadır.

Ergin ve ark. tarafından yapılan çalışmada; *H. scabrum* türünün anatomik ve fitokimyasal özelliklerinin incelemişlerdir (62). Bitkinin kök, gövde ve yapraklarından alınan kesitlerde elde sonuçlar mevcut çalışmamızla örtüşmektedir.

Palinolojik çalışmalarda 11 *Hypericum* taksonunun çiçeklerinden hazırlanan preparatlar kullanılmıştır. Görüntülenen polenlerin polar ve ekvatorial eksen ölçümleri yapılmış ve ölçümler sonucunda polen şekli, apertür tipi ve yüzey ornemantasyonu bakımından değerlendirilmiştir.

Polar eksen ortalaması en dar olan takson *H. capitatum* var. *luteum* iken en geniş olan takson *H. spectabile*'dir. Ekvatorial eksen ortalaması en dar olan takson *H. capitatum* var. *luteum*, en geniş olan ise *H. spectabile*'dir. Polar eksen ve ekvatorial eksen oranı (PE/EE) ise 1.03-1.45 arasında değişmektedir.

Polenlerde, subprolat ve prolata daha yoğun, *H. spectabile* ve *H. uniglandulosum*'un şeklinin ise prolat-sferoidal olduğu belirlenmiştir. Örneklerin tamamı 3 kolpus içerirken, bazı türlerde hem kolpus hem de por görülmüştür. *H. uniglandulosum* dışındaki diğer örnekler foveolat yüzey ornamantasyonu göstermektedir.

Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren 16 takson üzerinde hem ışık hem de elektron mikroskobu ile palinolojik çalışmalar yapılmış ve *H. perforatum* ve *H. triquetrifolium*'un şeklinin subprolat, apertür tiplerinin trikolporat ve ornamantasyon şekillerinin *H. perforatum*'da perforat-mikroretikulat *H. triquetrifolium*'da mikroretikulat olarak belirtilmiştir (35). Çalışmamızda ise, iki türün de polen şekillerinin prolat, apertür tiplerinin *H. perforatum*'da trikolporat, *H. triquetrifolium*'da trikolpat ve yüzey ornamantasyonlarının da her iki türde de foveolat şeklinde olduğu gözlenmiştir.

Başka bir çalışmada ise İran'da yayılış gösteren *Hypericum* türlerinin palinolojik özellikleri belirlenmiş (88), çalışmamızda yer alan *H. triquetrifolium* için polen şekli prolat ve *H. scabrum* için subprolat olduğu verilmiştir. Yaptığımız çalışmada her iki türün polen şekilleri prolat şeklinde görülmüştür.

H. perforatum bulunduğu üç *Hypericum* türü ile yapılan çalışmada (89); *H. perforatum*'un polen şeklinin prolat, apertür tipinin trikolporat ve yüzey ornamantasyonunun skabrat olduğu belirtilmiştir. Mevcut çalışmamızda, polen şeklinin prolat, apertür tipi trikolporat ve yüzey ornamantasyonu foveolat şeklinde gözlenmiştir.

Fenolik içeriklerin belirlenmesi kapsamında yapılan HPLC çalışmaları sonucunda örneklerin metanol ve sulu ekstraktlarının kullanılan standartlara bağlı olarak fenolik madde içerikleri aşağıda verilmiştir.

H. spectabile, hem metanol hem de sulu ekstraktlarında klorojenik asit miktarları daha fazla içerirken gallik asidin daha az olduğu görülmüştür.

H. microcalycinum'un metanol ekstresinde hiperozitin daha yoğun, kuersetin miktarının ise en az olduğu tespit edilmiştir. Sulu ekstresinde ise (-) epikateşin daha fazla iken gallik asit miktarı daha azdır.

H. lydium'un hem metanol hem de sulu ekstraktları ile yapılan analizlerde daha fazla fenolik madde içerdiği gözlenmiştir. Metanol ekstresinde en fazla hiperozit bulunurken kuersetin ise en azdır Sulu ekstresinde klorojenik asit miktarı daha fazla iken gallik asit miktarı daha azdır.

H. retusum'un metanol ekstresinde hiperozit, sulu ekstresinde ise (-) epikateşin daha fazla bulunmaktadır.

H. uniglandulosum'un metanol ekstresinde mirisetin daha yoğun, (-) epikateşin en az miktardadır. Sulu ekstresinde ise klorojenik asit en yüksek, gallik asit en düşük miktardadır.

H. capitatum var. *luteum*'un metanol ekstresi en fazla hiperozit, en az gallik asit içermektedir. Sulu ekstresinde ise klorojenik asidin yoğun olduğu, (-) epikateşinin en az miktarda olduğu gözlenmiştir. Ayrıca sulu ekstresinde kafeik aside rastlanmıştır.

H. scabrum'da metanol ekstresi hiperozit, sulu ekstresinde ise klorojenik asit daha fazla miktardadır.

H. thymopsis metanol ekstresinde hiperozit, sulu ekstresinde ise klorojenik asit daha fazladır. Ayrıca sulu ekstresinde ferulik asit olduğu tespit edilmiştir.

H. malatyanum'un metanol ekstresi hiperozit miktarı bakımından en yüksek, sulu ekstrede ise klorojenik asit yüksek miktardadır.

H. perforatum'un metanol ekstresinde rutin, sulu ekstrede ise (+) kateşin daha fazla bulunmaktadır.

H. triquetrifolium' un metanol ekstresinde hiperozit, sulu ekstrede klorojenik asit daha yoğun bulunmaktadır.

Çalışılan örneklerin içerdikleri fenolik madde miktarları bakımından karşılaştırıldıklarında ise aşağıda verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Gallik asit, sulu ekstrelerin tamamında gözlenirken, *H. spectabile*'nin hem metanol hem de sulu ekstrelerinde en fazla miktarda bulunmaktadır.

(+) Kateşin, çoğunlukla sulu ekstrelerde gözlenmiştir. *H. perforatum*'un sulu ekstresinde en yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.

Klorojenik asit, sulu ekstrelerin tamamında bulunmaktadır. *H. lydium* ve *H. malatyanum* türlerinin sulu ekstrelerinde en yüksek ve eşit miktarlarda içerdiği belirlenmiştir. Metanol ekstreleri içerisinde ise en fazla *H. malatyanum* içermektedir.

(-) Epikateşin, metanol ve sulu ekstrelerin tamamında gözlenmiştir. Metanol ekstreleri içerisinde en fazla *H. perforatum*, sulu ekstreler içerisinde ise *H. retusum* içermektedir.

Kafeik asit, *H. capitatum* var. *luteum*'un sulu ekstresinde gözlenmiştir.

Ferulik asit, *H. thymopsis* türünün sulu ekstresinde gözlenmiştir.

Hiperozit, metanol ekstrelerinin hepsinde bulunmaktadır. *H. malatyanum*'un metanol ekstresinin en fazla içerdiği belirlenmiştir.

Rutin, sadece metanol ekstrelerinde gözlenmiştir. *H. perforatum* rutin içeriği bakımından öne çıkmaktadır.

Mirisetin, metanol ve sulu ekstrelerde gözlenmiştir. Metanol ekstreleri içerisinde en fazla *H. uniglandulosum*'da, sulu ekstreler içerisinde *H. lydium* ve *H. malatyanum*'da bulunmaktadır.

Kuersetin, metanol ekstrelerinde en fazla *H. perforatum*'da, sulu ekstrelerde ise *H. lydium* ve *H. malatyanum*'un içerdiği belirlenmiştir.

Dört *Hypericum* türünün biyoaktif bileşiklerinin ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada; *H. perforatum*'un metanol ekstrelerinin hiperozit ve rutin içerdiği, sulu ekstrelerinin içermediği belirlenmiş ve metanol ekstrelerinin 12 standart madde içerisinde en fazla rutin içerdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca her iki ekstrede de p-kumarik asit ve ferulik asit varlığını belirtmişlerdir (90). Yapmış olduğumuz çalışmada ise; hiperozit ve rutin sadece metanol ekstresinde gözlenmiş ve rutin miktarı en yüksek *H. perforatum* türünde tespit edilmiştir. p-kumarik asit ve ferulik asit gözlenmemiştir.

H. neurocalycinum ve *H. malatyanum*'un kimyasal içerikleri ile ilgili bir çalışmada; metanol ekstresinde klorojenik asit, rutin, hiperozit ve kuersetin varlığı belirlenmiştir. Bu maddeler içerisinde hiperozit en fazla miktarda olan bileşiktir (91). Bizim çalışmamızda ise *H. malatyanum* türünde bu bileşiklerden klorojenik asit ve hiperozitin bulunduğu gözlenmiştir. Hiperozit miktarı belirlenen bileşikler içerisinde en fazla bulunan bileşiktir (0.5974 mg/g).

H. perforatum'la yapılan başka bir çalışmada ise Litvanya'da yayılış gösteren bitkinin biyoaktif bileşenlerinin konsantrasyonları araştırılmış ve farklı metotlarla hazırlanan ekstrelerinde hiperozit, rutin, kuersetin, kuersitrin ve biapigenin varlığı tespit edilmiştir (92). Mevcut çalışmamızda bitkinin metanol ekstresinde hiperozit ve rutin içeriğini yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.

Drosanthe ve Olympia seksiyonlarından *Hypericum* türlerinin sekonder metabolileri çalışmasında, tez bitkilerinden olan *H. capitatum* var. *luteum*, *H. retusum* ve *H. spectabile*'nin sekonder metabolitleri belirlenmiştir. Bu bitkilerin farklı kısımlarından hazırlanan ekstrelerinden klorojenik asit, hiperozit, kuersetin, (+) kateşin ve (-) epikateşin varlığı tespit edilmiştir (93). Yapmış olduğumuz çalışmada ise; *H. capitatum* var. *luteum*'da klorojenik asit, hiperozit, (+) kateşin ve (-) epikateşin gözlenirken kuersetin bulunamamıştır. *H. retusum*'da klorojenik asit, hiperozit, kuersetin, (+) kateşin ve (-) epikateşin tespit edilmiştir. *H. spectabile*'de ise klorojenik asit, hiperozit, ve (-) epikateşin varlığı belirlenmiş (+) kateşin bulunamamıştır.

Türkiye'de yetişen *Hypericum triquetrifolium* bitkisinin fenolik bileşenlerinin incelendiği çalışmada; farklı populasyonlardan toplanan bitkinin klorojenik asit,

hiperozit, rutin ve kuersetin içerdği belirtilmiştir (94). Mevcut çalışmamızda; bitkinin analizi yapılan ekstrelerinde klorojenik asit, hiperozit ve rutin varlığı tespit edilmiştir. Hiperozit çalışılan standartlar arasında ekstrelerde en fazla bulunan bileşiktir.

H. scabrum ve *H. bupleuroides* türlerinin sekonder metabolitlerinin belirlendiği bir çalışmada, *H. scabrum*'un gövde, yaprak ve çiçeklerinin etanol ekstrelerinde klorojenik asit, rutin, kamferol ve kuersetin varlığı gösterilmiştir (95). Yapmış olduğumuz çalışmada ise *H. scabrum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinde kullanmış olduğumuz standart maddelerden klorojenik asit, (-) epikateşin, hiperozit ve kuersetin, sulu ekstresinde ise gallik asit, klorojenik asit, ve (-) epikteşin içerdği belirlenmiştir.

H. triquetrifolium türünün farklı fenolojik dönemlerde hazırlanan metanol ekstrelerinin sekonder metabolitleri HPLC kullanılarak belirlenmiş ve klorojenik asit, rutin, hiperozit, kuersetin ve kamferolun vejetatif, çiçeklenme ve meyve oluşumu dönemlerinde alınan örneklerde olduğu tespit edilmiştir (96). Yaptığımız çalışmada, toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinde klorojenik asit, hiperozit ve rutin varlığı tespit edilirken kuersetin ve kamferol belirlenmemiştir. Sulu ekstrelerde ise klorojenik asit gözlenmiştir.

Uçucu yağ çalışmalarında, 11 taksonun uçucu yağ miktarları % 0.02-0.13 arasında değişiklik göstermektedir. Analiz sonucunda en fazla bileşik ayrımı *H. perforatum*'da en az ise *H. triquetrifolium*'da olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılmış uçucu yağ çalışmaları ile sonuçlarımızın karşılaştırılması Tablo 5.1'de verilmiştir. Tabloda en yüksek miktarda bulunan dört bileşik belirtilmiştir.

Tablo 5.1. *Hypericum* örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin daha önceki çalışmalarla karşılaştırılması

Takson	Önceki çalışmalar	Mevcut çalışma
<i>H. spectabile</i>	α -pinene, β -ocimene, β -caryophyllene, trans- β -farnesene (97)	α -pinene, palmitic acid, β -caryophyllene, linolenic acid
<i>H. microcalycinum</i>	α -pinene, β -pinene, (E)- β -Ocimene, germacren D (98)	α -pinene, palmitic acid, tetracosane, nonacosane
<i>H. lydium</i>	α -pinene, β -pinene, β -caryophyllene (99)	α -pinene, hexadecanoic acid, spathulenol, β -pinene
	α -pinene, β -pinene, undecane, caryophyllene oxide, nonacosane, hexadecanoic acid (100)	
<i>H. retusum</i>	α -pinene, β -pinene, spathulenol, germacren D, β -myrecene, nonane, copaene (101)	α -pinene, β -caryophyllene, β -caryophyllene oxide, β -pinene
<i>H. uniglandulosum</i>	α -pinene, β -pinene, undecane, benzoic acid, allaocimene, cyclohexasiloxane (99)	α -pinene, β -pinene, myrecene, palmitic acid
<i>H. capitatum</i> var. <i>luteum</i>	α -pinene, α -myrecene, cis-Ocimene, camphor, borneol, α -caryophyllene, α -Cubebene, germacren D, spathulenol, caryophyllene oxide (102)	α -pinene, β -pinene, p-cymene, limonene
<i>H. scabrum</i>	α -pinene, β -pinene, β -myrecene, (E)- β -Ocimene, limonene, carvacrol (103)	α -pinene, β -pinene, limonene, p-cymene
	α -pinene, γ -Terpinene, α -Thujene, undecane, sabinene, p-cymene (62)	
	α -pinene, β -pinene, myrcene (104)	

Tablo 5.1. *Hypericum* örneklerinin uçucu yağ bileşenlerinin daha önceki çalışmalarla karşılaştırılması (Devamı)

<i>H. thymopsis</i>	Spathulenol, δ -cadinene, germacren D, γ -muurolene, 2,3,6-trimethylbenzaldehyde, γ -cadinene (105)	α -pinene, limonene, spathulenol, nonacosane
	α -pinene, spathulenol, limonene (63)	
<i>H. malatyanum</i>	-	α -pinene, germakren D, δ -cadinene, α -cuparenol
<i>H. perforatum</i>	α -pinene, β -pinene, 3-metilnonane, nonacosane (98)	1-decene, palmitic acid, 2-metil-4-nonene, 1-dodecanol
	α -pinene, β -pinene, undecane, germakren D, α -Selinene (103)	
<i>H. triquetrifolium</i>	1-hexanal, 3-methylnonane, α -pinene (106)	3-methylpentane, palmitic acid, tetracosane, α -amorphone
	Germacren D, β -caryophyllene, δ -cadinene, trans- β -farnesene, α -humulene (107)	

Antioksidan aktivite çalışmaları kapsamında örneklerin hazırlanmış olan su ve metanol ekstrelerinden DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri belirlenmiş ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir.

DPPH yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite çalışmasında; metanol ekstreleri içerisinde, en yüksek aktivite *H. perforatum*'da en düşük aktivite ise *H. uniglandulosum*'da gözlenmiştir.

İncelenen örneklerin metanol ekstrelerinin DPPH yöntemine göre aktivite sıralaması şu şekildedir: *H. perforatum* > *H. retusum* > *H. microcalycinum* > *H. lyidium* > *H. spectabile* > *H. malatyanum* > *H. thymopsis* > *H. triquetrifolium* > *H. capitatum* var. *luteum* > *H. scabrum* > *H. uniglandulosum*.

Sulu ekstrelerde yapılan çalışmada ise kullanılan DPPH yöntemi 3 türde sonuç vermiştir. Bu türlerin sıralaması *H. lydium* > *H. triquetrifolium* > *H. perforatum* şeklindedir.

ABTS yöntemi kullanılarak yapılan antioksidan aktivite çalışmasında; metanol ekstreleri içerisinde, en yüksek aktivite *H. perforatum*'da en düşük aktivite ise *H. capitatum* var. *luteum*'da gözlenmiştir. Örnekler, *H. perforatum* > *H. triquetrifolium* > *H. malatyanum* > *H. lydium* > *H. scabrum* > *H. microcalycinum* > *H. spectabile* > *H. thymopsis* > *H. retusum* > *H. uniglandulosum* > *H. capitatum* var. *luteum* şeklinde sıralanmaktadır.

Sulu ekstrelerde ise en yüksek aktiviteyi *H. triquetrifolium*, en düşük aktiviteyi *H. thymopsis* göstermiştir. *H. uniglandulosum* herhangi bir sonuç vermemiştir. *H. triquetrifolium* > *H. lydium* > *H. scabrum* > *H. perforatum* > *H. spectabile* > *H. malatyanum* > *H. microcalycinum* > *H. capitatum* var. *luteum* > *H. retusum* > *H. thymopsis* şeklinde sıralanmaktadır.

Kullanılan üç farklı standardın aktivite sıralaması; her iki yöntem için de Gallik asit > Troloks > α - tokoferol şeklindedir.

H. thymopsis ile yapılan bir çalışmada; metanolle hazırlanan yaprak ve çiçek ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi ile belirlenen antioksidan aktiviteleri ABTS yöntemine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (63). Yaptığımız çalışmada ise bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerde benzer sonuçlar elde edilmiştir (DPPH IC₅₀:105.72 μ g/mL ve ABTS IC₅₀:159.05 μ g/mL).

H. perforatum, *H. scabrum* ve *H. origanifolium* türlerinin antioksidan aktivitelerinin ve ana bileşenlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, DPPH radikal süpürücü aktivitede en yüksek aktiviteyi *H. perforatum*, en düşük aktiviteyi *H. origanifolium*'un gösterdiği verilmiştir (108). Mevcut çalışmamızda ise *H. perforatum* ve *H. scabrum* türleri çalışılmış ve hem DPPH radikal süpürücü aktivitede hem de ABTS kation radikali süpürücü aktivitede *H. perforatum* *H. scabrum*'dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde yetişen üç *Hypericum* taksonunun (*H. scabrum*, *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* ve *H. retusum*) kullanıldığı çalışmada DPPH radikal süpürücü aktivite yönteminde; *H. retusum*, *H. scabrum*'dan daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (77). Yapmış olduğumuz çalışmada; *H. retusum*, *H. scabrum*'dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (*H. retusum* IC₅₀: 87.77 μ g/mL ve *H. scabrum* IC₅₀:180.98 μ g/mL).

H. perforatum'un da aralarında olduğu 32 bitkinin fenolik bileşikleri ve antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmada; *H. perforatum* DPPH yönteminde ABTS'ye göre daha yüksek aktivite göstermiştir (109). Çalışmamızda da *H. perforatum* her iki yöntem için yakın IC₅₀ değerlerine sahip olsa da DPPH yönteminde daha yüksek aktiviteye sahiptir (DPPH IC₅₀:78.9 µg/mL ve ABTS IC₅₀:81.72 µg/mL).

H. lyidium'un antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmada; *H. lyidium*'un DPPH radikal süpürücü aktivitede yüksek bir aktivite gösterdiği belirtilmiştir (110). Mevcut çalışmamızda ise *H. lyidium*'un antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

H. triquetrifolium'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi kullanarak antioksidan aktivitesi çalışmasında *H. triquetrifolium* antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (111). Çalışmamızda *H. triquetrifolium*'dan hazırlanan metanol ekstresi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında Malatya’da yayılış gösteren 11 *Hypericum* taksonu belirlenmiş ve toplanmıştır. Bu örnekler üzerinde morfolojik, anatomik ve palinolojik çalışmalar yapılarak örneklerin botanik özelliklerinin belirlenmesini yanı sıra 12 standart madde kullanılarak fenolik bileşik tespiti ve tayini, uçucu yağ kompozisyonunun belirlenmesi, DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivite özellikleri incelenerek kimyasal çalışmaları yapılmıştır.

Anatomik çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla benzer özellikler taşımaktadır. *H. microcalycinum*, *H. retusum*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum* ve *H. malatyanum*’un anatomik özellikleri, *H. spectabile*, *H. uniglandulosum*, *H. capitatum* var. *luteum*, *H. thymopsis* ve *H. malatyanum*’un da palinolojik çalışmaları ilk kez bu tez kapsamında yapılmıştır.

Bitkilerin toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS analizleri yapılarak kimyasal kompozisyonları belirlenmiştir. Belirlenen ana bileşenlerin daha önceki çalışmalarla benzer olduğu gözlenmiştir. α -pinene çalışmalarda ortak ana bileşen olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun yanında uçucu yağlarda diğer ağırlıklı bileşikler ise; β -pinene, palmitic acid, caryophyllene ve caryophyllene oxide gibi bileşiklerdir. Çalışmamızda farklı olarak α -pinene *H. perforatum* ve *H. triquetrifolium*’da gözlenmemiştir. Literatür taraması sonucunda tez kapsamında yer alan *Hypericum malatyanum*’un uçucu yağ analizi ilk kez yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda diğer *Hypericum* örneklerinden farklı olarak δ -cadinene ve germakren D ana bileşikler arasında yer almaktadır.

Bitkilerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ve sulu ekstraktlarının DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitelerine bakılmış, hazırlanan metanol ekstraktları her iki yöntem için daha iyi sonuçlar vermiştir. Sulu ekstraktlar özellikle DPPH yönteminde sonuç vermemiştir. Bu durum özellikle DPPH yöntemi için suyun iyi bir çözücü olmadığını göstermektedir. *H. perforatum*’un metanol ekstresi her iki yöntem için de en yüksek aktiviteyi göstermiştir. *H. lydiun*’un sulu ekstresi DPPH, *H. triquetrifolium*’un sulu ekstresi ise ABTS yönteminde en yüksek aktivite göstermiştir.

Sonuç olarak, Malatya’da yayılışı olan *Hypericum* rneklerinin farmasötik botanik özelliklerini belirlemeye yönelik yapılan bu tez ileride yapılacak olan diğerk farmasötik çalışmalar için önemli bir kaynak oluşturacaktır.



KAYNAKLAR

1. Scotland RW, Wortley AH. How many species of seed plants are there? *Taxon* 2003, 52: 101-4.
2. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi, 2012.
3. Robson, NKB. Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) 9. Addenda, corrigenda, keys, lists and general discussion. *Phytotaxa* 2012, 72:1-111.
4. Meseguer AS, Aldasoro JJ, Sanmartin I. Bayesian inference of phylogeny, morphology and range evolution reveals a complex evolutionary history in St. John's wort (*Hypericum*). *Mol Phylogenet Evol* 2013, 67(2): 379-403.
5. Robson NKB. Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) 5(1). Sections 10. Olympia to 15/16. Crossophyllum. *Phytotaxa* 2010, 4: 5-126.
6. Robson NKB. Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) 5(2). Sections 17. Hirtella to 19. Coridium. *Phytotaxa* 2010, 4: 127-258.
7. Bombardelli E, Morazzoni P. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia* 1995, 66: 43–68
8. Nahrstedt A. Antidepressant constituents of *Hypericum perforatum*. In: Chrubasik S, Roufogalis BD, editors. *Herbal medicinal products for the treatment of pain*. Lismore: Southern Cross University Press, 2000: 144–53.
9. Nahrstedt A, Butterweck V. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* 1997,30(2): 129–34
10. Baytop T. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. (2nd ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 1999.
11. Butterweck V. Mechanism of action of St. John's wort in depression: what is known? *CNS Drugs* 2003, 17: 539–62.
12. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey 10: Folk medicine in central Anatolia. *J Ethnopharmacol* 2001, 75: 95-115.

13. Kasper S, Caraci F, Forti B, Drago F, Aguglia E Efficacy and tolerability of *Hypericum* extract for the treatment of mild to moderate depression. *Eur Neuropsychopharm* 2010, 20: 74–765
14. Nahrstedt A, Butterweck V. Lessons learned from herbal medicinal products: the example of St. John's wort. *J Nat Prod* 2010, 73:1015–21.
15. Zheng M, Fan Y, Shi D, Liu C. Antidepressant-like effect of flavonoids extracted from *Apocynum venetum* leaves on brain monoamine levels and dopaminergic system. *J Ethnopharmacol* 2013, 147:108–13.
16. Aslan, SM. *Hypericum L.* (Editör) Akkemik, Ü. Ankara, *Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları*. II. Orman Genel Müdürlüğü Yayınları 2014: 58-65.
17. Robson NKB. *Hypericum*. P.H. Davis (Ed.), In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press 1966, Volume II; 355- 401.
18. NKB Robson. St. John's Wort Family, http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=10436. Son Erişim Tarihi 13 Ocak 2023.
19. Edzard E. *The genus Hypericum*, New York, CRC Press, 2003.
20. Campbell MH, Delfosse ES. The biology of Australian weeds 13. *Hypericum perforatum* L. *J Agric Sci.* 1984, 50: 50-63.
21. Baytop T. *Therapy with Medicinal plants in Turkey*. Istanbul, Istanbul University press 1999:66-167.
22. Babacan EY, Aytaç Z, Pınar NM. *Hypericum ekerii* (Hypericaceae), A new species from Turkey. *Pak J Bot.* 2017, 49 (5): 1763–8.
23. Başköse İ, Savran A. A new species from southern Anatolia (Dedegöl Mountain Series–Çürük Mountain) in Turkey: *Hypericum bilgehan-bilgili* (Hypericaceae). *Phytotaxa* 2018, 374(2): 110-8.
24. Özbek MU, Koç M, Hamzaoglu E. Contributions to the *Hypericum* L. section Oligostema (Boiss.) Stef. (Hypericaceae), and *Hypericum turcicum* sp. nov. as a new species from Turkey. *Turk J Bot* 2019, 43(5): 694-702.
25. Dirmenci T, Robson NKB. Two new taxa of *Hypericum* (Hypericaceae) from Turkey. *Kew Bulletin* 2019, 74:66.
26. Metcalfe CR, Chalk L, Chattaway MM, Hare CL, Richardson FR, Slatter EM. Hypericaceae. In: Metcalfe CR, Chalk L (eds.). *Anatomy of the dicotyledons*, Oxford, 1. Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses, Clarendon Press, 1950: 165–9.

27. Baroni Fornasiero R, Maffi L, Benvenuti S, Bianchi A. Morphological and phytochemical features of secretory structures in *Hypericum richeri* (Clusiaceae). *Nord J Bot* 2000, 20: 427–34.
28. Ciccarelli D, Andreucci AC, Pagni AM. The 'black nodules' of *Hypericum perforatum* L. subsp. *perforatum*: morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Isr J Plant Sci* 2001, 49: 33-40.
29. Teixeira G, Monteiro A. Leaf phytognostic characters of six species of *Hypericum* L. (Hypericaceae). *RA J Appl Res* 2017, 3:1303-14.
30. Polat R, Türkmen Z, Hayta Ş, Çakılcıoğlu U, Selvi S. Investigation of micromorphological and anatomic characteristics of genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) exhibiting distribution in Giresun/Turkey, *Biodivers Conserv* 2016, 9(2):108-14.
31. Altınbaşak O. Türkiye'de Doğal Yayılış Gösteren Bazı *Hypericum* L. Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2019.
32. Pınar NM, Akgül G, Tuğ GN. *Palinoloji Laboratuvar Kılavuzu*. Ankara, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi yayınları, 2003:24-6.
33. Wodehouse, RP. *Pollen Grains*, New York and London, McGraw-Hill Book Company Inc., 1935:101-10.
34. Erdtman G. *An introduction to pollen analysis*. Stockholm, Almquist and Wiksell, 1943:1-239.
35. Ocak A, Potoglu Erkara İ, Koyuncu O, Osoydan K, Yaylaci OK, Özgişi K, Kurt F. Palynological investigations on some *Hypericum* taxa (Hypericaceae) growing naturally in Turkey, *Plant Syst Evol* 2013, 299:379–88.
36. Luna-Guevara ML, Luna-Guevara JJ, Hernández-Carranza P, Ruíz-Espinosa H, Ochoa-Velasco CE. Phenolic Compounds: A good choice against chronic degenerative diseases. *Stud Nat Prod Chem* 2018, 59: 79-108.
37. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology, and clinical properties. *J Pharm Pharmacol* 2001,53:583–600.
38. Reuter H. Chemistry and biology of *Hypericum perforatum* (St. John's wort). *ACS Symp Ser* 1998, 691:287–98.
39. Erdelmeier CA. Hyperforin, possibly the major non-nitrogenous secondary metabolite of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* 1998, 31:2–6.

40. Staffeldt B, Kerb R, Brockmoller J, Ploch M, Roots I. Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of *Hypericum* extract LI 160 in healthy volunteers. *J Geriatr Neurol*. 1994, 7: 47–53.
41. Patočka J. The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *J Appl Biomed* 2003, 1: 61–70.
42. Greeson JF, Sanford B, Liu Monti DA. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacol* 2001, 153: 402–14.
43. Karioti A, Bilia AR. Hypericins as potential leads for new therapeutics. *Int J Mol Sci* 2010, 11(2): 562–94.
44. Zobayed SMA, Afreen F, Goto E, Kozai T. Plant–environment interactions: accumulation of hypericin in dark glands of *Hypericum perforatum*. *Ann Bot* 2006, 98: 793–804..
45. Tekel'ová D, Repčák M, Zemková E, Tóth J. Quantitative changes of dianthrones, hyperforin and flavonoids content in the flower ontogenesis of *Hypericum perforatum*. *Planta Med* 2000, 66: 778–80.
46. Kirakosyan A, Sirvent TM, Gibson DM, Kaufman PB. The production of hypericins and hyperforin by in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Biotechnol Appl Biochem* 2004, 39: 71–81.
47. Wirz A, Meier B, Sticher O. Stability of hypericin and pseudohypericin in extract solutions of *Hypericum perforatum* and in standard solutions. *Pharm Ind* 2001, 63: 410–5.
48. Seigler DS. Benzoquinones, naphthoquinones, and anthraquinones. In Seigler DS (ed) *Plant Secondary Metabolism*. Boston, Kluwer Academic Press 1998: 76–93.
49. Falk H. From the photosensitizer hypericin to the photoreceptor stentorin – the chemistry of phenanthroperylene quinones. *Angew Chem Int Ed* 1999, 38(21): 3116–36.
50. Eatemadnia A, Ansari S, Abedi P, Najar S. (2019). The effect of *Hypericum perforatum* on postmenopausal symptoms and depression: A randomized controlled trial. *Complement Ther Med*. 2019, 45:109-13
51. Miskovsky P. Hypericin – a new antiviral and antitumor photosensitizer: mechanism of action and interaction with biological macromolecules. *Curr Drug Targets* 2002, 3: 55–84.

52. Singh IP, Bharate SB. Phloroglucinol compounds of natural origin *Nat Prod Rep* 2006, 23(4): 558-91.
53. Chatterjee SS, Bhattacharya SK, Wonnemann M, Singer A, Muller WE. Hyperforin as possible antidepressant component of Hypericum extracts. *Life Sci* 1998, 63(6): 499–510.
54. Liu F, Pan C, Drumm P, Ang CYW. Liquid chromatography-mass spectrometry studies of St. John's wort methanol extraction: Active constituents and their transformation. *J Pharm Biomed Anal* 2005, 37(2): 303–12.
55. Zanolini P. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John's Wort. *CNS Drug Rev* 2004, 10(3): 203-18.
56. DerMarderosian A, Beutler J. *The Natural Review of Products*. St. Louis, MO: Facts and Comparisons; 2002.
57. Ollivier B, Balansard G, Maillard C, Vical E. Separation et identification des acides phénols par chromatographie liquide hauteperformance et spectroscopie ultra-violette. Application à la parietaire (*Parietaria officinalis* L.) et au millepertuis (*Hypericum perforatum* L.). *J Pharm Belg* 1985, 40: 173-7.
58. Guedes AP, Franklin G, Fernandes-Ferraria M. *Hypericum* sp.: essential oil composition and biological activities. *Phytochem Rev* 2012, 11:127–52.
59. Roth L. *Hypericum, hypericin: Botanik, Inhaltsstoffe, Wirkung*. Ecomed Verlagsgesellschaft GmbH, Landsberg, Germany 1990.
60. Stjepanović L, Corović M, Nikolić R, Palović S, Zivanović P. Essential oil content and number of oil vesicles in *Hypericum* species from various habitats of Tara mountain. *Arhiv za Farmaciju* 1965, 15:177–88.
61. Zeng H, Zhou P. Studies on chemical components of the volatile oil from the leaves of *Hypericum perforatum*. *Zhong Yao Cai* 2000, 23(12):752-4.
62. Ergin KN, Karakaya S, Göger G, Sytar O, Demirci B, Duman H. Anatomical and phytochemical characteristics of different parts of *Hypericum scabrum* L. extracts, essential oils, and their antimicrobial potential. *Molecules* 2022, 27(4):1228.
63. Koç E. *Hypericum thymopsis* Boiss. (Hypericaceae) Türünün Bazı Fenolik Bileşiklerinin, Antioksidan Kapasitesinin ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2019.
64. Boots AW, Haenen Guido RMM, Bast A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol* 2008, 585(2-3) 325-37.

65. Halliwell B, Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 1998, 75(2): 199–212.
66. Prior RL, Cao GH. 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *J AOAC Int* 2000, 83 (4): 950-6.
67. Kılınç, K, Kılınç, A. Oksijen toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002, 33(2): 110-8.
68. Kahkönen, MP, Hopia, AI, Vuorela, HJ, Rauha, JP, Pihlaja, K, Kujala, TS, Heinonen, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999, 47(10): 3954-62.
69. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Sci* 1997, 2: 152-9.
70. Albayrak S, Sağdıç O, Ahmet Aksoy A. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2010, 26(4):401-9.
71. Güzel A, Akyüz M, Şanda MA. Determination of antioxidant activity of *Hypericum perforatum*. *Journal of Integrative and Anatolian Medicine* 2019, 1(1): 9-18.
72. Orcic DZ, Mimika-Dukic NM, Franciskovic MM, Petrovic SS, Jovin ED. Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. *Chem Cent J* 2011, 5: 34.
73. Valentao P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, Bastos ML. Antioxidant activity of *Hypericum androsaemum* infusion: Scavenging activity against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biol Pharm Bull* 2002, 25(10):1320-3.
74. Zheleva-Dimitrova D, Nedialkov P, Kitanov G. Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacogn Mag* 2010, 6 (22):74-8.
75. Çakır A, Mavi A, Yıldırım A, Duru ME, Harmandar M, Kazaz C. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol* 2003, 87(1): 73-83.
76. Silva BA, Ferreres F, Malva JO, Dias ACP. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* L. alcoholic extracts. *Food Chem* 2005, 90:157-67.

77. Barış D, Kızıl M, Aytekin Ç, Kızıl G, Yavuz M, Çeken B, Ertekin AS. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. *Int J Food Prop* 2011, 14 (2):339-55.
78. Keskin C, Aktepe N, Yükselten Y, Sunguroglu A, Boğa M. In-vitro antioxidant, cytotoxic, cholinesterase inhibitory activities and anti-genotoxic effects of *Hypericum retusum* Aucher flowers, fruits and seeds methanol extracts in human mononuclear leukocytes. *Iran J Pharm Res* 2017, 16 (1): 210-20.
79. Gül LB, Özdemir N, Gül O, Çırak C, Çon AH. Some bioactive properties and antimicrobial activity of some *Hypericum* species growing wild in Black Sea Region of Turkey. *Eur Food Scie Eng* 2021, 2 (1):1-6.
80. Karakuş Ş. Malatya İli Florası. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2016.
81. Çelebioğlu S, Baytop T. *Bitkisel Tozların Tetkiki için Yeni Bir Reaktif*, Farmakognozi Enstitüsü Yayınları No.10, *Farmakolog* 1949, 19: 301.
82. Radulovic N, Stankov-Jovanovic V, Stojanovic G, Smelcerovic A, Spiteller M, Asakawa Y. Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chem* 2007, 103 (1): 15-21.
83. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* 1995, 28(1): 25-30.
84. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999, 26(9): 1231-7.
85. Ciccarelli D, Andreucci AC, Pagni A M. Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): Morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Ann Bot* 2001, 88(4): 637-44.
86. Perrone R, De Rosa P, Castro O, Colombo P. Leaf and stem anatomy in eight *Hypericum* species (Clusiaceae). *Acta Bot Croat* 2013, 72(2): 269-86.
87. Potoglu Erkara İ, Tokur S. Morphological and anatomical investigations on some *Hypericum* L. species growing naturally in and around Eskişehir. *Trakya Univ J Sci* 2004, 5(2): 97-105.
88. Faghir, MB, Razaz M, Attar F, Salehi Z, Vafadar M. Palynological survey of the genus *Hypericum* (Hypericaceae) in Iran and its taxonomic importance. *Iran J Bot* 2018, 24 (1): 1-16.

89. Mazari P, Liu Q, Khan MA, Sadia S, Ahmad L. Pollen morphology and pollen fertility estimation of three medicinal plant species of *Hypericum* L. from Kaghan Valley, Northern Pakistan. *Am J Plant Sci* 2017, 8:3073-83.
90. Gitea D, Vicas S, Gitea MA, Nemeth S, Tit DM, Pasca B, Purza L, Iovan C. HPLC screening of bioactives compounds and antioxidant capacity of different *Hypericum* species. *Revista de Chimie (Bucharest)* 2018, 69(2):305-9
91. Özkan EE, Özden TY, Özsoy N, Mat A. Evaluation of chemical composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of *Hypericum neurocalycinum* and *Hypericum malatyanum*. *S Afr J Bot* 2018, 114:104-10.
92. Bagdonaitė E, Mártonfi P, Repčák M, Labokas J. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Hypericum perforatum* L. from Lithuania. *Ind Crops Prod* 2012, 35(1):302-8.
93. Çırak C, Radusiene J, Jakstas V, Ivanauskas L, Yayla F, Seyis F, Camas N. Secondary metabolites of *Hypericum* species from the Drosanthe and Olympia sections. *S Afr J Bot* 2016, 104:82-90.
94. Çırak C, Radušienė J, Janulis V, Ivanauskas L, Çamaş N, Ayan AK. Phenolic constituents of *Hypericum triquetrifolium* Turra (Guttiferae) growing in Turkey: variation among populations and plant parts. *Turk J Biol* 2011, 35: 449-56.
95. Ayan AK, Radušienė J, Çırak C, Ivanauskas L, Janulis V. Secondary metabolites of *Hypericum scabrum* and *Hypericum bupleuroides*. *Pharm Biol* 2009, 47: 847-53
96. Hosni K, Msaada K, Taarit MB, Marzouk B. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Biochem Syst Ecol* 2011, 39: 43-50.
97. Gedik O. Fixed and essential oil composition of *Hypericum venustum*, *Hypericum scabrum* and *Hypericum spectabile* species. *Prog Nutr* 2022, 24(2): e2022035.
98. Kıyan HT, Demirci B, Başer KHC, Demirci F. The in vivo evaluation of anti-angiogenic effects of *Hypericum* essential oils using the chorioallantoic membrane assay. *Pharm Biol* 2014, 52: 44–50.
99. Yüce-Babacan E, Bağcı E. Essential oil composition of *Hypericum uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm. and *Hypericum lydiu*m Boiss. from Turkey. *Int J Nat Life Sci* 2017, 1: 12–16.
100. Şerbetçi T, Özsoy N, Demirci B, Can A, Kültür Ş, Başer KHC. Chemical composition of the essential oil and antioxidant activity of methanolic extracts

- from fruits and flowers of *Hypericum lydium* Boiss. *Ind Crops Prod* 2012, 36: 599–606.
101. Bağcı E, Yüce E. Composition of the essential oil of *Hypericum salsolifolium* Hand.-Mazz. and *Hypericum retusum* Aucher from Turkey. *Acta Bot. Gallica* 2011, 158(2): 169-73.
 102. Bağcı E, Yüce E. Constituents of the essential Oils of two *Hypericum capitatum* Choisy varieties (var. *capitatum* and var. *luteum* Robson) from Turkey. *J Essent Oil-Bear Plants* 2013, 14(1): 106-13.
 103. Ghasemi Pirbalouti A, Fatahi-Vanani M, Craker L, Shirmardi H. Chemical composition and bioactivity of essential oils of *Hypericum helianthemoides*. *Hypericum perforatum* and *Hypericum scabrum*. *Pharm Biol* 2014, 52: 175–81.
 104. Tabanca N, Demirci B, Ali A, Khan SI, Jacob MR, Aytac Z, Khan IA. Chemical composition, biting deterrent, antimalarial and antimicrobial activity of essential oil from *Hypericum scabrum* L. *Curr. Bioact Compd* 2015, 11: 62–72.
 105. Özkan AMG, Demirci B, Başer KHC. Essential Oil Composition of *Hypericum thymopsis* Boiss. *J Essent Oil Res* 2009, 21:149-53.
 106. Yüce E, Bağcı E. The essential oils of the aerial parts of two *Hypericum* taxa (*Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum* (Clusiaceae)) from Turkey. *Nat Prod Res* 2012, 26: 1985–90.
 107. Sajjadi SE, Mehregan I, Taheri M. Essential oil composition of *Hypericum triquetrifolium* Turra growing wild in Iran. *Res Pharm Sci* 2015, 10: 90–4.
 108. Seyrekoglu F, Temiz H, Eser F, Yıldırım C. Comparison of the antioxidant activities and major constituents of three *Hypericum* species (*H. perforatum*, *H. scabrum* and *H. organifolium*) from Turkey. *S Afr J Bot* 2022, 146:723-7.
 109. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* 2007, 105(3): 940-9.
 110. Boran R, Ugur A. The mutagenic, antimutagenic and antioxidant properties of *Hypericum lydium*. *Pharm Biol* 2017, 55(1):402–5.
 111. Conforti F, Statti GA, Tundis R, Menichini F, Houghton P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. *Fitoterapia* 2002, 73(6): 479-83.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş





Ek 2. Etik Kurul Kararı

