

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

**( DOKTORA TEZİ )**

**BAZI BİTKİLERDEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN  
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI VE FORMÜLASYONLARININ  
HAZIRLANMASI**

**S. YAĞMUR YAŞAR**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. AFİFE MAT**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI  
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2011**

## TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Farmakognozi Programında S. Yağmur Yaşar tarafından hazırlanan "Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması ve Formülasyonlarının Hazırlanması" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

27 / 10 / 2011

### Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>                                    | <u>İmzası</u>   |
|--|---|
| 1.Prof. Dr. Afife Mat (Tez Danışmanı) (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi A.D.) |    |
| 2.Prof. Dr. Ali H. Meriçli (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi A.D.)            |   |
| 3.Doç. Dr. Emine Akalın (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik A.D.)        |   |
| 4.Doç. Dr. Leyla Bitiş (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.D.)                |  |
| 5.Yrd. Doç. Dr. Sedef Erdal (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.D.)  |  |

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

S. Yağmur YAŞAR

## İTHAF

*“Her zaman yanımda olan canım annem, babam, kardeşim,  
biricik eşim ve minik Rüzgar’a...”*

## TEŞEKKÜR

Bu tezin yapılmasına olanak sağlayan, bilgi birikimi ve deneyimleriyle yol gösteren Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali Hikmet Meriçli'ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmamın her aşamasında ilgi ve desteğini hissettiğim, değerli fikirleri, bilgi ve deneyimleri ile bana destek olan, çalışmalarımı yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Afife Mat'a saygı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi için her türlü olanağı sağlayan İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Araman'a çok teşekkür ederim. Değerli fikir ve deneyimleriyle beni yönlendiren, ilgi gösteren, ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez bitki örneklerimin toplanmasında yardımcı olan sevgili babam İnş. Yük. Müh. İ. Mansur Toprak'a teşekkür ederim. Tezimin hazırlanması sırasında bana destek olan Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, yardımcıları, elemanları ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bitki örneklerimin teşhisinde ve botanik incelenmesinde yardımcı olan Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Neriman Özhatay ve Doç. Dr. Emine Akalın ve tüm Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'na teşekkür ederim.

Tezimin antimikrobiyal aktivite çalışmalarını yürütmeme olanak sağlayan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülten Ötük ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Berna Özbek Çelik'e teşekkür ederim. Antioksidan aktivite çalışmalarım konusunda laboratuvar desteği sağlayan, bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan kaçınmayan Araş. Gör. Esra Eroğlu Özkan'a çok teşekkür ederim. Formülasyon çalışmalarım boyunca değerli bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarımı özenle yönlendiren, bana destek olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Sedef Erdal'a teşekkür ederim.

Tezimin başından sonuna kadar her aşamasında beni hep destekleyen, yüreklendiren ve tüm yaşamım boyunca her zaman arkamda olan beni bugünlere getiren canım anneme, babama ve kardeşim Amil'e sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresince anlayış ve sabırla bana her zaman güç veren, pozitif enerji veren, her türlü sıkıntıma katlanan eşim Deniz Yaşar'a ve daha doğmamış oğlum minik Rüzgar'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6889

## İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| TEZ ONAYI .....   | İİ  |
| BEYAN.....  | İİİ |
| İTHAF.....  | İV  |
| TEŞEKKÜR.....   | V   |
| İÇİNDEKİLER .....   | VI  |
| TABLolar LİSTESİ.....   | XI  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....  | Xİİ |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                               | XVI |
| ÖZET .....  | XX  |
| ABSTRACT.....   | XXİ |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....   | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....   | 7   |
| 2.1. Botanik Bölüm .....  | 7   |
| 2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyası .....                    | 7   |
| 2.1.1.1. <i>Hypericum</i> L. Cinsi .....                            | 7   |
| 2.1.1.2. <i>Hypericum perforatum</i> L.....                         | 8   |
| 2.1.2. Asteraceae (Compositae) Familyası.....                       | 10  |
| 2.1.2.1. <i>Calendula</i> L. Cinsi .....                            | 10  |
| 2.1.2.2. <i>Calendula officinalis</i> L.....                        | 11  |
| 2.1.2.3. <i>Matricaria</i> L. Cinsi .....                           | 13  |
| 2.1.2.4. <i>Matricaria chamomilla</i> L. var. <i>recutita</i> ..... | 13  |
| 2.1.3. Hippocastanaceae Familyası .....                             | 15  |
| 2.1.3.1. <i>Aesculus hippocastanum</i> L.....                       | 16  |
| 2.2. Kimyasal Bölüm .....   | 19  |
| 2.2.1. <i>H. perforatum</i> Bitkisinin Kimyasal Bileşimi .....      | 19  |
| 2.2.1.1. Naftodiantronlar .....                                     | 20  |
| 2.2.1.2. Floroglusinoller .....                                     | 21  |
| 2.2.1.3. Flavonoidler .....   | 22  |
| 2.2.1.4. Biflavonlar.....   | 23  |
| 2.2.1.5. Fenilpropanlar .....                                       | 24  |

|  |    |
|--|----|
| 2.2.1.6. Proantosiyanidinler .....   | 25 |
| 2.2.1.7. Uçucu yağlar .....  | 25 |
| 2.2.1.8. Diğer kimyasal bileşenler.....                                      | 25 |
| 2.2.2. <i>C. officinalis</i> Bitkisinin Kimyasal Bileşimi .....              | 26 |
| 2.2.2.1. Terpenler .....   | 26 |
| 2.2.2.2. Flavonoidler .....  | 29 |
| 2.2.2.3. Kumarinler .....  | 30 |
| 2.2.2.4. Kinonlar.....   | 30 |
| 2.2.2.5. Uçucu yağlar .....  | 30 |
| 2.2.2.6. Karotenoitler .....   | 31 |
| 2.2.2.7. Amino asitler.....  | 32 |
| 2.2.2.8. Karbohidratlar .....  | 32 |
| 2.2.2.9. Lipitler.....   | 32 |
| 2.2.2.10. Diğer Bileşenler .....   | 33 |
| 2.2.3. <i>Matricaria chamomilla</i> L. Bitkisinin Kimyasal Bileşimi .....    | 34 |
| 2.2.3.1. Flavonoidler ve Fenolik bileşenler.....                             | 34 |
| 2.2.3.2. Kumarinler .....  | 35 |
| 2.2.3.3. Uçucu yağlar .....  | 36 |
| 2.2.3.4. Diğer Bileşenler .....  | 37 |
| 2.2.4. <i>A. hippocastanum</i> Bitkisinin Kimyasal Bileşimi .....            | 38 |
| 2.2.4.1. Triterpenik Saponozitler.....                                       | 38 |
| 2.2.4.2. Triterpen Alkoller ve Esterler .....                                | 39 |
| 2.2.4.3. Steroller .....   | 39 |
| 2.2.4.4. Flavonoidler .....  | 40 |
| 2.2.4.5. Fenolik Bileşikler .....  | 41 |
| 2.2.4.6. Diğer Bileşikler .....  | 41 |
| 2.3. Farmakolojik Bölüm .....  | 43 |
| 2.3.1. <i>Hypericum perforatum</i> L. Bitkisinin Farmakolojik Etkileri ..... | 43 |
| 2.3.1.1. Antimikrobiyal Etkisi.....  | 45 |
| 2.3.1.2. Antioksidan Etkisi.....   | 52 |
| 2.3.1.3. Yara İyileştirici Etki .....  | 57 |
| 2.3.1.4. Diğer Etkiler.....  | 61 |
| 2.3.2. <i>C. officinalis</i> Bitkisinin Farmakolojik Etkileri.....           | 66 |

|   |     |
|---|-----|
| 2.3.2.1. Antimikrobiyal ve Anti-viral Etki .....  | 68  |
| 2.3.2.2. Antioksidan Etki.....  | 70  |
| 2.3.2.3. Yara İyileştirici Etki .....   | 74  |
| 2.3.2.4. Diğer Etkiler .....  | 79  |
| 2.3.3. <i>M. chamomilla</i> Bitkisinin Farmakolojik Etkileri .....  | 84  |
| 2.3.3.1. Antimikrobiyal Etkisi.....   | 86  |
| 2.3.3.2. Antioksidan Etki.....  | 87  |
| 2.3.3.3. Yara İyileştirici Etki .....   | 91  |
| 2.3.3.4. Diğer Etkiler.....   | 94  |
| 2.3.4. <i>A. hippocastanum</i> Bitkisinin Farmakolojik Etkileri .....   | 103 |
| 2.3.4.1. Antioksidan Etki.....  | 104 |
| 2.3.4.2. Yara İyileştirici Etki .....   | 106 |
| 2.3.4.3. Diğer etkiler .....  | 108 |
| 2.4. Formülasyon Çalışmaları için Ön Bilgiler .....   | 113 |
| 2.4.1. Deri.....  | 113 |
| 2.4.1.1. Subkütan Yağ Tabakası (Hipodermis) .....   | 114 |
| 2.4.1.2. Dermis (Corium) .....  | 114 |
| 2.4.2. Deri ve <i>Stratum Corneum</i> 'un İncelenmesinde Kullanılan Biyofiziksel Yöntemler.....                           | 115 |
| 2.4.2.1. Deri Üzerinden Gerçekleşen Su Kaybının (TransEpidermal Su Kaybı, TransEpidermal Water Loss, TEWL) İzlenmesi..... | 116 |
| 2.4.2.2. Deri Neminin ve Yüzey Lipitlerinin İzlenmesi.....  | 117 |
| 2.4.3. Yara İyileşmesi .....  | 123 |
| 2.5. Türkiye'de Bulunan Yara İyileştirici Topikal Preparatlar .....   | 130 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....   | 132 |
| 3.1. Materyal .....   | 132 |
| 3.1.1. Kimyasal Maddeler .....  | 132 |
| 3.1.2. Kullanılan Cihazlar .....  | 132 |
| 3.1.3. <i>Hypericum perforatum</i> .....  | 134 |
| 3.1.4. <i>Calendula officinalis</i> .....   | 134 |
| 3.1.5. <i>Matricaria chamomilla</i> var. <i>recutita</i> .....  | 135 |
| 3.1.6. <i>Aesculus hippocastanum</i> .....  | 135 |
| 3.2. Genel metotlar.....  | 136 |



|   |     |
|---|-----|
| 3.2.1. Ekstrelerin Eldesi .....   | 136 |
| 3.2.1.1. Ekstrelerin Liyofilizasyon İşlemi .....  | 136 |
| 3.2.1.2. <i>H. perforatum</i> Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması:.....                     | 136 |
| 3.2.1.3. <i>C. officinalis</i> Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması: .....                   | 136 |
| 3.2.1.4. <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i> Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması: ... | 137 |
| 3.2.1.5. <i>A. hippocastanum</i> Liyofilize Tohum Ekstresinin Hazırlanması: .....                 | 137 |
| 3.2.2. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini .....   | 137 |
| 3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini .....   | 139 |
| 3.2.4. Topikal Jel Formülasyonlarının Hazırlanması .....  | 139 |
| 3.2.4.1. <i>H. perforatum</i> Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-HP).....                        | 142 |
| 3.2.4.2. <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i> Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-MC)        | 142 |
| 3.2.4.3. <i>A. hippocastanum</i> Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-AH) .....                    | 142 |
| 3.2.4.4. <i>C. officinalis</i> (Hekzanlı Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COH).....    | 142 |
| 3.2.4.5. <i>C. officinalis</i> (Etanollü Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COE)         | 143 |
| 3.2.4.6. <i>C. officinalis</i> (Metanollü Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COM) .....  | 143 |
| 3.2.4.7. <i>C. officinalis</i> (Sulu Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COS)             | 143 |
| 3.2.4.8. Kombinasyon Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-KM).....                                 | 143 |
| 3.2.5. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Görsel İncelenmesi .....                              | 144 |
| 3.2.6. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Viskozite Tayini.....                                 | 144 |
| 3.2.7. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının pH Tayini .....                                       | 144 |
| 3.2.8. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının <i>In vivo</i> Uygulanması .....                      | 144 |
| 3.2.9. Hazırlanan Jellerin TEWL ve Korneometre Ölçümleri .....                                    | 145 |
| 3.2.9.1. Deri üzerinden gerçekleşen su kaybının (Trans Epidermal Water Loss, TEWL) ölçülmesi..... | 145 |
| 3.2.9.2. Deri neminin Korneometre ile ölçülmesi .....   | 146 |
| 3.2.10. ATR-FTIR Spektroskopisi Analizleri .....  | 147 |
| 4. BULGULAR.....  | 149 |
| 4.1. Ekstrelerin Verimleri .....  | 149 |
| 4.2. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini Sonuçları.....  | 149 |
| 4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları .....  | 159 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.4. Formülasyonlardan Elde Edilen Sonuçlar .....  | 161 |
| 4.4.1. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Görsel İnceleme Sonuçları.....   | 161 |
| 4.4.2. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Viskozite ve pH Tayinine ait Sonuçlar                                  | 164 |
| 4.4.3. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının <i>İn vivo</i> Uygulanmasına ait Sonuçlar ...                          | 164 |
| 4.4.3.1. Deri üzerinden gerçekleşen su kaybı (TEWL) ve deri neminin Korneometre ile ölçülmesine ait sonuçlar ..... | 164 |
| 4.4.4. ATR-FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Sonuçlar .....   | 166 |
| 5. TARTIŞMA .....  | 193 |
| KAYNAKLAR .....  | 199 |
| ETİK KURUL KARARI .....  | 231 |
| ÖZGEÇMİŞ .....   | 235 |

**TABLolar LİSTESİ**

|  |     |
|--|-----|
| Tablo 2-1: Türkiye’de bulunan topikal preparatlar.....   | 130 |
| Tablo 3-1: Jel Formülasyonlarında Kullanılan Ekstrelerin literatürde bildirilen %minimum ve % maksimum oranları .....              | 140 |
| Tablo 3-2: Ekstre İçeren Jel formülasyonları ve Formülasyon Kodları .....  | 141 |
| Tablo 3-3: Kombine jel formülasyonu (F-KM).....  | 141 |
| Tablo 4-1: Liyofilizasyon Sonrası Ekstrelerin Verimleri .....  | 149 |
| Tablo 4-2: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin ve Standartların Ortalama IC <sub>50</sub> Değerleri ve Standart Sapmaları ..... | 157 |
| Tablo 4-3: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları  | 160 |
| Tablo 4-4: Bitkisel ekstre içeren jel formülasyonlarının viskozite ve pH değerleri.....  | 164 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|   |     |
|---|-----|
| Şekil 2-1 <i>Hypericum perforatum</i> L. İSTE Örneği .....  | 9   |
| Şekil 2-2: <i>Calendula officinalis</i> L. İSTE örneği .....  | 12  |
| Şekil 2-3: <i>Matricaria chamomilla</i> L. İSTE örneği .....  | 14  |
| Şekil 2-4: <i>Aesculus hippocastanum</i> L. İSTE örneği .....   | 18  |
| Şekil 2-5: <i>H. perforatum</i> 'un içerdiği naftodiantronların kimyasal yapısı .....                         | 21  |
| Şekil 2-6: <i>H. perforatum</i> 'un içerdiği floroglusinollerin kimyasal yapısı .....                         | 22  |
| Şekil 2-7: <i>H. perforatum</i> 'un içerdiği flavonoidlerin kimyasal yapısı.....                              | 23  |
| Şekil 2-8: <i>H. perforatum</i> 'un içerdiği biflavonoidlerin kimyasal yapısı .....                           | 24  |
| Şekil 2-9: <i>H. perforatum</i> 'un içerdiği fenilpropanların kimyasal yapısı.....                            | 24  |
| Şekil 2-10: <i>C. officinalis</i> bitkisinin içerdiği triterpen alkol kimyasal yapısı .....                   | 26  |
| Şekil 2-11: <i>C. officinalis</i> bitkisinin içerdiği triterpen monoester kimyasal yapısı.....                | 28  |
| Şekil 2-12: <i>C.officinalis</i> bitkisinin içerdiği flavonozitlerin kimyasal yapısı .....                    | 29  |
| Şekil 2-13: <i>C.officinalis</i> bitkisinin içerdiği kumarinlerin kimyasal yapısı .....                       | 30  |
| Şekil 2-14: <i>M. chamomilla</i> bitkisinde başlıca bulunan flavonozitin kimyasal yapısı ....                 | 35  |
| Şekil 2-15: <i>M. chamomilla</i> bitkisinin içerdiği kumarinlerin kimyasal yapısı.....                        | 36  |
| Şekil 2-16: <i>M. chamomilla</i> bitki uçucu yağının içerdiği seskiterpenlerin kimyasal yapısı .....          | 37  |
| Şekil 2-17: <i>A. hippocastanum</i> bitkisinde bulunan triterpenik saponozit kimyasal yapısı .....            | 38  |
| Şekil 2-18: <i>A. hippocastanum</i> bitkisinde bulunan essin'in kimyasal yapısı.....                          | 39  |
| Şekil 2-19: <i>A. hippocastanum</i> bitkisinde bulunan flavonoidlerin kimyasal yapısı .....                   | 40  |
| Şekil 2-20: <i>A. hippocastanum</i> Kabuk ve Yapraklarından İzole Edilen Kumarin ve Kumarin Glikozitleri..... | 41  |
| Şekil 2-21: Derinin Tabakaları .....  | 113 |
| Şekil 2-22: Michelson İnterferometresinin Bileşenleri.....  | 119 |
| Şekil 2-23: ATR kristali şeması.....  | 120 |
| Şekil 3-1: 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) - Huang ve ark. (2005).....                                  | 138 |
| Şekil 3-2: Deri üzerinden gerçekleşen su kaybının Tewameter cihazı ile ölçülmesi ...                          | 146 |
| Şekil 3-3: Deri neminin Corneometer cihazı ile ölçülmesi.....   | 147 |
| Şekil 3-4: ATR-FTIR Spektroskopisi analizlerinin gerçekleştirilmesi.....                                      | 148 |
| Şekil 4-1: <i>H. perforatum</i> Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi.....                        | 150 |

|  |     |
|--|-----|
| Şekil 4-2: <i>C. officinalis</i> (Hekzan) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi            | 152 |
| Şekil 4-3: <i>C. officinalis</i> (Etanol) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi.           | 152 |
| Şekil 4-4: <i>C. officinalis</i> (Metanol) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi           | 153 |
| Şekil 4-5: <i>C. officinalis</i> (Su) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi                | 153 |
| Şekil 4-6: <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i> Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi | 154 |
| Şekil 4-7: <i>A. hippocastanum</i> Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi                   | 155 |
| Şekil 4-8: $\alpha$ -tokoferol Standardının Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi                         | 156 |
| Şekil 4-9: Gallik asit Standardının Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi                                 | 156 |
| Şekil 4-10: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin ve Standartların Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi | 158 |
| Şekil 4-11: F-HP jel formülasyonu  | 161 |
| Şekil 4-12: F-MC jel formülasyonu  | 161 |
| Şekil 4-13: F-AH jel formülasyonu  | 162 |
| Şekil 4-14: F-COH jel formülasyonu   | 162 |
| Şekil 4-15: F-COE jel formülasyonu   | 162 |
| Şekil 4-16: F-COM jel formülasyonu   | 163 |
| Şekil 4-17: F-COS jel formülasyonu   | 163 |
| Şekil 4-18: F-KM jel formülasyonu  | 163 |
| Şekil 4-19: Korneometre ölçümlerine ait ortalama sonuçlar (i.u)  | 165 |
| Şekil 4-20: TEWL ölçümlerine ait ortalama sonuçlar ( $\text{g/m}^2\text{h}$ )                          | 165 |
| Şekil 4-21: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1             | 167 |
| Şekil 4-22: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2             | 168 |
| Şekil 4-23: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3             | 169 |
| Şekil 4-24: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1             | 170 |
| Şekil 4-25: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2             | 171 |

|   |     |
|---|-----|
| Şekil 4-26: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 .....  | 172 |
| Şekil 4-27:F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 .....   | 173 |
| Şekil 4-28: F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 .....  | 174 |
| Şekil 4-29: F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 .....  | 175 |
| Şekil 4-30: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 ..... | 176 |
| Şekil 4-31: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 ..... | 177 |
| Şekil 4-32: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 ..... | 178 |
| Şekil 4-33: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 ..... | 179 |
| Şekil 4-34: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 ..... | 180 |
| Şekil 4-35: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 ..... | 181 |
| Şekil 4-36: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 ..... | 182 |
| Şekil 4-37: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 ..... | 183 |
| Şekil 4-38: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 ..... | 184 |
| Şekil 4-39: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 ..... | 185 |
| Şekil 4-40: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 ..... | 186 |
| Şekil 4-41: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 ..... | 187 |

|  |     |
|--|-----|
| Şekil 4-42: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1 .....                                   | 188 |
| Şekil 4-43: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2 .....                                   | 189 |
| Şekil 4-44: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3 .....                                   | 190 |
| Şekil 4-45: Asimetrik gerilme absorbandsına ait ortalama dalga numaralarının ( $\text{cm}^{-1}$ ) grafik olarak gösterilmesi ..... | 191 |
| Şekil 4-46: Simetik gerilme absorbandsına ait ortalama dalga numaralarının ( $\text{cm}^{-1}$ ) grafik olarak gösterilmesi .....   | 191 |
| Şekil 4-47: Amid 1 bandı/Amid 2 bandı yükseklik oranı .....  | 192 |

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

|                  |   |
|------------------|---|
| A                | : <i>A. hippocastanum</i> hidroalkolik ekstresi       |
| AAPH             | : 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride      |
| ABTS             | : 2,2-aziro-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit  |
| ADP              | : Adenozin Difosfat                                   |
| AR               | : Androjen reseptör                                   |
| ATCC             | : American Type Culture Collection                    |
| ATPaz            | : Adenozin Tri Fosfataz                               |
| ATR              | : Attenuated Total Reflectance                        |
| BHA              | : Butilhidroksi Anisol                                |
| BHT              | : Butil Hidroksi Toluen                               |
| CAT              | : Katalaz   |
| CE               | : <i>C. officinalis</i> L. etanollü ekstresi          |
| CFU              | : Colony-forming unit                                 |
| CH               | : <i>C. officinalis</i> L. hekzan ekstresi            |
| CM               | : <i>C. officinalis</i> metanollü ekstresi            |
| C-NMR            | : Karbon 13 Nükleer Manyetik Rezonans                 |
| COX              | : Siklooksijenaz                                      |
| CS               | : <i>C. officinalis</i> sulu ekstresi                 |
| Cu <sup>+2</sup> | : Bakır iyonu   |
| CyOx             | : Sitokromoksidaz                                     |
| 2D-NMR           | : Çift Dimensiyonlu Nükleer Manyetik Rezonans         |
| DAD              | : Diode Array Dedektör                                |
| DEN              | : Dietilnitrozamin                                    |
| DMSO             | : Dimetilsülfoksit                                    |
| DNA              | : Deoksiribonükleik asit                              |
| DPPH             | : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                        |
| EPR              | : Elektron Paramanyetik Rezonans                      |
| ESCOOP           | : The European Scientific Cooperative On Phytotherapy |



|                   |  |
|-------------------|--|
| ESR               | : Elektron Spin Rezonans                                 |
| FeSO <sub>4</sub> | : Demir sülfat   |
| FEHP              | : Flavonoit içeriği açısından zengin ekstre              |
| F-AH              | : <i>A. hippocastanum</i> ekstresi jel formülasyonu      |
| F-COE             | : <i>C. officinalis</i> etanol ekstresi jel formülasyonu |
| F-COH             | : <i>C. officinalis</i> hekzan ekstresi jel formülasyonu |
| F-COM             | : <i>C. officinalis</i> metanol ekstresi                 |
| F-COS             | : <i>C. officinalis</i> sulu ekstre jel formülasyonu     |
| F-KM              | : Kombine jel formülasyonu                               |
| F-HP              | : <i>H. perforatum</i> ekstresi jel formülasyonu         |
| F-MC              | : <i>M. chamomilla</i> ekstresi jel formülasyonu         |
| FRAP              | : Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü               |
| FTIR              | : Fourier Transformed IR Spectroscopy                    |
| FT3               | : Serbest Triiyodotironin                                |
| FT4               | : Serbest Tiroksin                                       |
| EMEA              | : European Medicines Agency                              |
| GABA              | : Gamma Aminobütirik asit                                |
| GC-MS             | : Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi                |
| GI                | : Growth Inhibition                                      |
| GOT               | : Glutamo-oksalat Transaminaz                            |
| GPT               | : Glutamo-piruvat Transaminaz                            |
| GSH               | : Glutasyon  |
| GSHPx             | : Glutasyon peroksidaz                                   |
| H                 | : <i>H. perforatum</i> metanollü ekstresi                |
| HCMV              | : Human Cytomegalo Virus                                 |
| HDF               | : İnsan Diploit Fibroblast                               |
| HDL               | : Yüksek Dansiteli Lipoprotein                           |
| HDL-C             | : Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol                |
| HIV               | : Human Immunodeficiency Virus                           |
| HL-60             | : İnsan promiyelositik lösemi hücre dizisi               |

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| H-MNR                         | : Proton Nükleer Manyetik Rezonans                          |
| HPLC                          | : High Performance Liquid Chromatography                    |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | : Hidrojen peroksit   |
| HPGL                          | : Çok dallanmış poligliserol                                |
| 5-HT                          | : 5-Hidroksitriptamin                                       |
| IC                            | : Inhibition Concentration                                  |
| IL                            | : İnterlökin  |
| IPF2 $\alpha$ -VI             | : İzoprostan F2 $\alpha$ -VI                                |
| IR                            | : Infrared Spektroskopisi                                   |
| IRE                           | : Internal Reflectance Element                              |
| ISTE                          | : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu     |
| i.u                           | : instrumental unit   |
| LC                            | : Liquid Chromatography                                     |
| LDH                           | : Laktat dehidrogenaz                                       |
| LDL                           | : Düşük Dansiteli Lipoprotein                               |
| LDL-C                         | : Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol                    |
| M                             | : <i>M. chamomilla</i> L. hidroalkolik,                     |
| MCE                           | : <i>M. chamomilla</i> etanolik ekstresi                    |
| Mg                            | : Magnezyum   |
| MDA                           | : Malondialdehit  |
| MIC                           | : Minimum Inhibition Concentration                          |
| MİK                           | : Minimum İnhibitör Konsantrasyon                           |
| MRSA                          | : Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>          |
| MSSA                          | : Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>           |
| MS                            | : Kütle Spektroskopisi                                      |
| MTT                           | : 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür |
| Na <sup>+</sup>               | : Sodyum iyonu  |
| NADPH                         | : Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat                     |
| NB4                           | : İnsan promiyelositik lösemi hücre dizisi                  |
| NF-KB                         | : Nükleer Faktör Kappa B                                    |

|               |  |
|---------------|--|
| NPY           | : Nöropeptid Y                                       |
| PC12          | : Feokromositoma'dan türeyen hücre hattı             |
| PG            | : Prostaglandin                                      |
| PMN           | : Polimorfonükleer Nötrofil                          |
| PSA           | : Prostat Spesifik Antijen                           |
| PTTC          | : Persian Type Culture Collection                    |
| PUFA          | : Çoklu doymamış yağ asiti                           |
| REEDA         | : Kızarıklık, ödem, ekimoz, cerahat ve aproksimasyon |
| RNS           | : Reaktif Nitrojen Türleri                           |
| ROS           | : Reaktif Oksijen Türleri                            |
| rTNF          | : Rekombinant Tümör Nekroz Faktör                    |
| OH            | : Hidroksil  |
| 8-OHdG        | : 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin                       |
| SC            | : <i>Stratum corneum</i>                             |
| SDH           | : Süksinat Dehidrogenaz                              |
| SHP           | : Standardize <i>Hypericum perforatum</i> ekstresi   |
| SOD           | : Süperoksit Dismutaz                                |
| STAT-3        | : Sinyal Transdüser ve Aktivatör Transkripsiyon-3    |
| STZ           | : Streptozotosin                                     |
| TBARS         | : Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler               |
| TE            | : Total etanollü ekstre                              |
| TNF- $\alpha$ | : Tümör Nekroz Faktör - $\alpha$                     |
| TPA           | : 12-O-tetradekanoil forbol-13-asetat                |
| TRAP          | : Toplam Radikal Tutma Parametresi                   |
| TEWL          | : Trans Epidermal Water Loss                         |
| UDS           | : Programsız DNA sentezi                             |
| UV            | : Ultraviyole  |

## ÖZET

Yaşar, S.Y. (2011). Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması ve Formülasyonlarının Hazırlanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada yara iyileştirici olarak kullanılan 4 bitki, Balıkesir çevresinden toplanan *Hypericum perforatum*, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* var. *recutita* ve İstanbul Üniversitesi Merkez kampüs bahçesinden toplanan *Aesculus hippocastanum*, antimikrobiyal, serbest radikal süpürücü etkileri ve liyofilize edilmiş ekstrelerini tek tek ve kombine şekilde içeren topikal jel formülasyonları açısından incelenmiştir. Hazırlanan formülasyonların sağlıklı deri üzerindeki kısa süreli etkileri, deri yüzey nemi ve deri üzerinden gerçekleşen su kaybı ölçülerek değerlendirilmiş, *Stratum corneum* üzerindeki etkiler ATR-FTIR spektroskopisi ile araştırılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite tayini sonucuna göre; *H. perforatum* metanol ekstresi *Staphylococcus aureus*, Metisilin'e dirençli *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *C. officinalis* hekzan, *C. officinalis* etanol, *C. officinalis* metanol, *C. officinalis* su, *A. hippocastanum* etanol ve *M. chamomilla* var. *recutita* sulu-etanol ekstreleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemesine rağmen çalışılan suşlardan *Staphylococcus*'lara karşı antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. *Candida albicans*'a karşı ise aktivite sadece *M. chamomilla*, *A. hippocastanum* ve *C. officinalis* etanol ekstrelerinde gözlenmiştir.

DPPH metodu ile saptanan serbest radikal süpürücü etki çalışmasında kullanılan standart maddelerin IC<sub>50</sub> sonuçları ile karşılaştırıldığında, *H. perforatum* metanol ekstresinin serbest radikal süpürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. *M. chamomilla* var. *recutita* sulu-etanol ve *C. officinalis* etanol ekstrelerinin düşük de olsa serbest radikal süpürücü etki gösterdiği saptanmıştır.

Formülasyon çalışmalarında, derinin hidrasyon seviyesi ve bariyer özellikleri üzerinde en olumlu etkiyi yaratan formülasyonun, antimikrobiyal ve serbest radikal süpürücü etkileri de en iyi olan *H. perforatum* ekstresini içeren F-HP formülasyonunun olduğu görülmektedir.

Bu araştırmaların, kullanılan bitki ekstrelerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine dayalı yara iyileştirici farmasötik formülasyonlar geliştirilmesinde öncü olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Hypericum perforatum*, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* var. *recutita*, *Aesculus hippocastanum*, Yara İyileştirici Aktivite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6889

## ABSTRACT

Yaşar, S.Y. (2011). Investigation on the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts From Some Plants and Preparing Formulations. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacognosy. PhD Thesis. İstanbul.

Four plants used as wound healing activity, *Hypericum perforatum*, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* var. *recutita* collected from Balıkesir and *Aesculus hippocastanum* collected from İstanbul University Centre campus garden, have been investigated for antimicrobial activity, free radical scavenging capacity and as well as their individually and combined topical gel formulations including lyophilized extracts. Formulations are evaluated by measuring the transepidermal water loss, surface hydration of the skin and short-lasting effects on healthy skin. ATR-FTIR spectroscopy is used for investigating the effects on *Stratum corneum*.

The following results have been obtained from the antimicrobial activity tests; the methanol extract of *H. perforatum* showed strong antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, methicillin resistant *S. aureus* ve *S. epidermidis*. The hexane extract of *C. officinalis*, ethanol extract of *C. officinalis*, methanol extracts of *C. officinalis*, water extract of *C. officinalis*, ethanol extract of *A. hippocastanum* and hydroalcoholic extract of *M. chamomilla* var. *recutita* showed antibacterial activity against *Staphylococcus* strains. Hydroalcoholic extracts of *M. chamomilla*, ethanol extracts of *A. hippocastanum* and *C. officinalis* have shown antifungal activity against *C. albicans*.

The methanol extracts of *H. perforatum* showed free radical scavenging activity (DPPH method) comparing with IC<sub>50</sub> of standards. The hydroalcoholic extracts of *M. chamomilla* var. *recutita* and ethanol extract of *C. officinalis* showed less free radical scavenging activity.

The formulation, including *H. perforatum* extract which has strong antimicrobial and free radical scavenging activities, has positive effects on hydration state and barrier function of the skin.

These studies are considered to be helpful for the development of wound healing pharmaceutical formulations based on antimicrobial and antioxidant activity of used plant extracts.

**Key Words:** *Hypericum perforatum*, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* var. *recutita*, *Aesculus hippocastanum*, Wound Healing Activity

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 6889

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlığın geçmişten gelen ve kültürel birikimlerinin bir bölümünü oluşturan halk ilaçlarının hem dünyada hem de yurdumuzda sağlık alanında önemli yeri olduğu bir gerçektir. Dünyanın az gelişmiş yörelerinde çeşitli sağlık sorunlarının giderilmesinde geleneksel tedavi yöntemleri hala çok geçerlidir. Bununla birlikte günümüzde gelişmiş ülkelerde de bu konuya ilgi çoktur ve “doğaya dönüş” kavramı kapsamında bu ilgi gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Geleneksel halk ilaçları aynı zamanda bilim alanında çeşitli araştırmaların konusunu oluşturmaktadır. Bunlar ilaç endüstrisinde yeni ilaçların yaratılmasında kılavuz bilgiler içeren önemli bir kaynak durumundadır.

Geleneksel halk ilaçlarının en önemli kaynağını bitkiler oluşturur. Bu ilaçlarda bitkinin tümü veya çeşitli organları (kök, yaprak, çiçek, meyve, tohum vb.) veya bitkiden sekonder olarak elde edilen bitkisel maddeler (süt, terementi, sakız, balsam vb.) kullanılmıştır. Bitkilerden ilaç olarak doğrudan veya çeşitli şekillerde (hap, toz, infüzyon, dekoksasyon, merhem, jel, yakı) yararlanılır. Yurdumuzda en çok bilinen ve yaygın olarak kullanılan geleneksel ilaç şekilleri infüzyon ve dekoksasyondur. Halk ilaçlarında bitkiler ya çoğunlukla olduğu gibi tek başına ya da birçoğu birlikte kullanılırlar. Halk ilaçlarında yararlanılan bitkiler arasında kolay tanınan, belirli bir tanıtıcı özelliği bulunan, yerleşim alanları çevresinde yetişenler daha çok bilinmektedir (Baytop 1999; Tuzlacı 2006).

Bu tez çalışmasında halk arasında antimikrobiyal, antioksidan ve yara iyileştirici özellikleri nedeniyle en çok kullanılan türlerden *Hypericum perforatum* L., *Calendula officinalis* L., *Matricaria chamomilla* L. var. *recutita* ve *Aesculus hippocastanum* L. ele alınmıştır.

Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) familyası, Avrupa, Asya, Afrika, Kuzey Amerika, tropik ve subtropik bölgelerde, 46 cins ve 1000 türden oluşmaktadır (Davis 1972; Saroglou ve ark. 2007; Mosaleeyanon ve ark. 2005). Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) familyasına ait olan *Hypericum* cinsi ise tüm dünyada yaklaşık 400 tür içermektedir (Çırak ve ark 2007; Çırak ve ark 2008). Türkiye’de, *Hypericum* cinsinin 35’i endemik olan 82 türü vardır (Davis ve ark. 1988; Güner ve ark. 2000; Özhatay ve Kültür 2006; Özhatay ve ark. 2011). *Hypericum perforatum* L. bitkisi çiçekli ve

yapraklı dallardan ibarettir. Çiçekler 5 parçalı, korolla altın sarısı renkli ve kenarları siyah renkli guddeli tüyler ile çevrilidir. Petal boyu 8-15 mm. erkek organlar çok adette ve 3 demet halinde bir araya toplanmıştır. Yapraklar ışığa karşı tutulduğunda, yağ guddeleri, parlak noktacıklar halinde kolaylıkla görülür. Bitkiye binbirdelik otu denmesi bu özellikten ileri gelmektedir. Bitkinin diğer isimleri ise St. John's Wort, kanotu, kılıçotu, koyunkıran, kuzukıran, mayasılotu, sarı kantaron ve yaraotudur (Mosaleeyanon ve ark. 2005; Baytop 1999).

*H. perforatum* bitkisi pek çok biyoaktif bileşik içermektedir. Bunlar; flavonoitler, fenilpropanlar, tanenler, uçucu yağlar, aminoasitler, ksantonlar ve prosiyanidinlerdir (Çırak ve ark. 2008; Baytop 1999; Mukherjee ve ark. 2000).

Çok sayıda *Hypericum* türü yüzyıllardır geleneksel tıpta, yaralarda haricen yara iyileştirici olarak, gastrik ülserde, bakterisid, antienflamatuvar, diüretik, antidepresan, antiseptik ve antispazmodik etkileri ile kullanılmaktadır (Mosaleeyanon ve ark. 2005; Çırak ve ark. 2007; Çırak ve ark. 2008; Çırak 2008; Smelcerovic ve ark. 2008; McCue ve Phang 2008; Tortoriello ve ark. 2003).

Son yıllarda yapılan çalışmalar bitkinin, antiviral, antiretroviral, antikanser, antimikrobiyal, antioksidan, antidepresan, antitümoral ve antipsöriyatik ilaçlar için kaynak olabileceğini belirtmekte ve bu etkilerin bitkide bulunan biyoaktif moleküller olan hiperisin ve psödohiperisinden ileri geldiği gösterilmektedir (Mosaleeyanon ve ark. 2005; Çırak ve ark. 2008; Mukherjee ve ark. 2000; McCue ve Phang 2008; Tortoriello ve ark. 2003; Öztürk ve ark. 2007).

Tavuk embriyonik fibroblastları üzerinde *H. perforatum* bitki ekstresinin yara iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Döllenmiş yumurtalardan elde edilen tavuk embriyonik fibroblastlar bitki ekstresi ile inkübe edilmiştir. Sonuç olarak, *H. perforatum* ekstresinin yara iyileştirici etkisinin, çoğunlukla fibroblast kollajen üretimindeki ve fibroblast hücrelerinin aktivasyonundaki yükselmeden dolayı olduğu görülmüştür (Öztürk ve ark. 2007).

Yapılan bir başka çalışmada *H. perforatum* bitkisinde bulunan lipofilik floroglusin-türevi hiperforin'in antibakteriyel ve antienflamatuvar etkilerinin olduğu ve bu etkilerden dolayı da enfeksiyonlu yaralar ve diğer dermatozların topikal tedavisinde etkili olabileceği saptanmıştır (Schempp ve ark. 2002).

*Hypericum* bitkisi uzun zamandır hem oral hem de topikal olarak antimikrobiyal etkilerinden dolayı yara ve yanık iyileştirici olarak kullanılmaktadır. İkinci ve üçüncü derece yanıklar ile ilgili yapılan bir çalışmada, topikal olarak *Hypericum* bitkisi ile hazırlanan merhemle tedavi edilen yaraların, geleneksel metotlarla tedavi edilen yaralarla karşılaştırıldığında, üç misli daha hızlı tedavi edildiği ve yaralarda keloit oluşumunun önlendiği görülmüştür (Saljic 1975).

Başka bir çalışmada, *Hypericum* bitkisi ile hazırlanan tentür ve *Calendula* bitkisinin topikal olarak kullanımı karşılaştırılmıştır. Ensizyon, eksizyon ve derin boşluklu yaraların tedavisinde, oral olarak kullanılan *Hypericum* ile hazırlanan tentürün topikal olarak kullanılan *Calendula* bitkisinden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Rao ve ark. 1991).

*Calendula officinalis* L. bitkisi Asteraceae (Compositae) familyasına ait açık sarı ve turuncu çiçekli, tek yıllık bir bitkidir. Bitki, Akdeniz ülkelerinde, Batı ve Güney Avrupa ülkelerinde doğal olarak yetişmektedir. Bitki, doğal olarak yetiştiği ve kültürü yapıldığı ülkelerde çoğunlukla “marigold” olarak adlandırılmaktadır (Davis 1972; Danielski ve ark. 2007; Bisset 1994; Silva ve ark. 2007). Bitkinin ülkemizde bilinen isimleri tıbbi öküzgözü ve tıbbi nergis’dir (Baytop 1999).

*C. officinalis* bitkisi, uçucu yağ, flavonoidler, alkaloidler, triterpen saponinleri, antosiyaninler, tanenler, polisakkaritler, fenolik asitler ve karotenoidleri içermektedir (Kishimoto ve ark. 2005; Kurkin ve Sharova 2007; Bashir ve ark. 2006). Bitki petallerinin sarı ve turuncu rengi, içerdiği karotenoid pigmentlerinden ileri gelmektedir (Kishimoto ve ark. 2005).

*C. officinalis* bitkisi, petallerinden hazırlanmış merhem ve infüzyon şeklinde geleneksel ve homeopatik tıpta geniş çapta kullanılmaktadır. *C. officinalis* bitkisinin spazmolitik, astrenjan, antipiretik, yara iyileştirici, gastroprotektif, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antitümör, sitotoksik, antioksidan, antiviral, immunostimulan ve antimutajenik gibi pek çok terapötik etkisi vardır (Danielski ve ark. 2007; Silva ve ark. 2007; Bashir ve ark. 2006; Preethi ve ark. 2006; Lauten ve ark. 2005; Perez-Carreón ve ark. 2002; Ukiya ve ark. 2006). Yapılan çok sayıda araştırma, organik çözücülerle hazırlanan bitki ekstresinin terapötik etkilerinin özellikle flavonoidler, uçucu yağlar, seskiterpenler ve triterpenlerden kaynaklandığını göstermektedir (Danielski 2007).



*C. officinalis* bitkisinin Komisyon E tarafından onaylanan tıbbi kullanımları sadece, oral ve faringeal mukoza (topikal ve dahili kullanım) için antienflamatuvar ve günde 150 ml suda 1-2 g kurutulmuş çiçekleri halinde cilt yaraları ve yanıkları (topikal kullanım) için sikatrizan ajan şeklindedir (Silva ve ark. 2007).

Brezilya'da, *C. officinalis* bitkisinden hazırlanan merhemler antienflamatuvar ve yara iyileştirici etkilerinden dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Silva ve ark. 2007).

Yapılan bir çalışmada, *C. officinalis* bitki ekstresinin, radyasyona maruz kalma sonucu oluşan akut dermatite karşı koruyucu etkisi olduğu klinik denemelerle ortaya konmuştur (Preethi ve ark. 2006).

Diğer bir çalışma, *C. officinalis* bitki ekstresinin topikal uygulamada önemli antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Logia ve ark. 1994).

*C. officinalis* çiçeklerinden hazırlanan ekstre ile yapılan bir çalışmada; ekstrenin, ratlar üzerinde deneysel olarak oluşturulmuş termal yanıklara karşı etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak, ekstre ile tedavi edilen hayvanlarda, kollajen-hidroksipirolin ve heksosamin içeriği gibi yara iyileştirici indikatörlerin yükseldiği gözlemlenmiştir. Kontrol gruba göre tedavi edilen grupta, lipid peroksidasyonunun önemli derecede azaldığı görülmüştür. Cilt dokusunun histopatolojik analizleri, yanık sonrası ekstrenin uygulanması ile iyileşmenin arttığını göstermiştir (Chandran ve Kuttan 2008).

Asteraceae familyasına ait *Matricaria chamomilla* L. bitkisi 20-50 cm yükseklikte, çok dallı, yaprakları parçalı, tüsüz, çiçekleri küçük başlar (kapitulum) şeklinde, tek yıllık otsu bir bitkidir. Türkiye'de yol kenarları ve boş tarlalarda bol miktarda yetişmektedir. Avrupa'nın bazı ülkelerinde kültürü de yapılmaktadır. Bitki halk arasında adi papatya, babunç, mayıs papatyası, tıbbi papatya olarak bilinmektedir (Davis 1972, Baytop 1999).

*M. chamomilla* çiçeklerinin kimyasal içeriği incelendiğinde, bitkinin uçucu yağ, seskiterpen laktonlar, flavonoidler, kumarinler, reçine ve müsilaj içerdiği görülmektedir (Bisset 1994, Jarrahi 2008).

*M. chamomilla* bitkisinin kurutulmuş çiçekleri, antienflamatuvar, spazmolitik, antiseptik, yara iyileştirici, sedatif, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etkilerinden dolayı yüzyıllardır geleneksel tıpta geniş oranda kullanılmaktadır. Bitkinin yağı ve

ekstresi de tıpta, kozmetikte, alkollü-alkolsüz içeceklerde aroma verici ve gıda maddesi olarak kullanılmaktadır (Jarrahi 2008; Nemtanu ve ark. 2008).

Yara iyileştirici etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, *M. chamomilla* çiçekleri ile hazırlanan ekstrenin, albino ratlardaki kütanöz yanık yarasını iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Kısa prelinik araştırmalar sonucunda, *M. chamomilla* çiçeklerinden hazırlanan ekstrenin önemli derecede yanık yarası iyileştirici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Jarrahi 2008).

Yapılan başka bir araştırmada ise, *M. chamomilla* bitki ekstresinin, erkek Wistar ratlarda oluşturulan kesikler üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda zeytinyağ içinde çözüldürülerek uygulanan bitki ekstresinin, ratlarda oluşturulan kesik yara modelini önemli derecede tedavi ettiği görülmüştür (Jarrahi ve ark. 2008).

Almanya'da *Matricaria* ekstrelerinin tek ya da kombine halde 90'dan fazla lisanslı ürünü bulunmaktadır (Bisset 1994).

*Aesculus hippocastanum* L. bitkisi Hippocastanaceae familyasına aittir. Bu tür 25 m kadar yükselebilen, yaprakları 5-7 yaprakçıklı, çiçekleri beyaz ve nadiren kırmızı renkli olan bir ağaçtır. Meyva, 1-3 tohumlu bir kapsüldür. Vatanı Asya (Hindistan) olmakla beraber Türkiye ve Avrupa'da süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Avrupaya (Fransa) XVII. Yüzyıl başlarında İstanbul'dan götürülmüştür. Bitki halk arasında at kestanesi olarak bilinmektedir (Davis 1972, Baytop 1999).

*A. hippocastanum* bitkisinin tohumunda, kumarin glikozitleri (eskulin, frakzin, skopolin ve bunların aglikonları), flavanol glikoziti (kersitrin ve aglikonu kersetin), triterpenik saponozit karışımı (essin), tanen, sabit yağlar, allantoin, steroller, lökoantosyanidinler (lökosyanidin, lökodelfinidin), kondanse tanenler ve alkanlar bulunmaktadır. Tohumda çok miktarda bulunan essin antiöksudatif (ödem inhibe edici) etkiye sahiptir ayrıca kan dolaşımını düzenleyerek varis görüntüsünün azalmasına, hemoroit ağrılarının hafiflemesine ve tedavisine yardımcı olmaktadır (Bisset 1994; Baraldi ve ark. 2007).

Bitki halk tıbbında soğuk algınlığında, artrit ve romatizmada, diyare ve hemoroitte astrenjan, kan kesici, ateş düşürücü, haricen yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Baytop 1999; Bisset 1994).

*A. hippocastanum* bitkisinin cilt üzerine etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada, bitki ekstresinin kollajen jelleri üreten fibroblastlardaki bazı hücre kontraksiyon güçlerinin oluşumunu indükleyebildiği bulunmuştur. Bunun sonucunda ekstrenin, hücre morfolojisinin belirlenmesinde, vazokonstriksiyonda ve yara iyileştirmede çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Fujimura ve ark. 2006).

*Hypericum perforatum* L., *Calendula officinalis* L., *Matricaria chamomilla* L. var. *recutita* ve *Aesculus hippocastanum* L. türleri üzerinde gerçekleştirilen biyolojik aktivite çalışmaları bu bitkilerin yara iyileştirici etkilerini gözönüne çıkarmaktadır.

Çalışmamızda, *Hypericum perforatum* L., *Calendula officinalis* L., *Matricaria chamomilla* L. var. *recutita* ve *Aesculus hippocastanum* L. türlerinin liyofilize edilmiş ekstrelerini tek tek ve kombine şekilde içeren topikal jel formülasyonları geliştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonların sağlıklı deri üzerindeki kısa süreli etkileri, deri yüzey nemi ve deri üzerinden gerçekleşen su kaybı ölçülerek değerlendirilmiş, boynuzsu tabaka (*Stratum corneum*, SC) üzerindeki etkiler ATR-FTIR spektroskopisi ile araştırılmıştır. Bu araştırmaların, kullanılan bitki ekstrelerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine dayalı yara iyileştirici farmasötik formülasyonlar geliştirilmesinde öncü olacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Bölüm

#### 2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyası

Genellikle otsu, bazen çalı şeklinde ve genel olarak bileşiminde hiperisin etken maddesi içeren siyah veya kırmızı renkli glandlar veya bileşiminde uçucu yağ içeren şeffaf glandlar taşıyan bitkilerdir. Yapraklar tam, karşılıklı, nadiren halka şeklinde dizilmiş. Sepaller 5 adet, tomurcukta imbrikat dizilişli. Petaller 5 adet, serbest, tomurcukta burulmuş. Stamenler demetler halinde veya dağınık. Ovaryum üst durumlu, plasenta eksensel veya yanal. Tohumlar endospermasız (Davis 1967).

##### 2.1.1.1. *Hypericum* L. Cinsi

Çiçekler erdişi. Sepaller 5 adet. Petaller 5 adet, genellikle sarı renkli, çoğunlukla hafif kırmızı renkli veya kırmızı renkli damarlı, nektaryum uzantılıları nadiren bulunur. Stamenler 5'li demetler halinde, petallerin önünde, serbest veya 4'ü birleşerek sepallerin önünde 2 li birleşik demet şeklinde, her biri 3'ten 125' e kadar stamenli, nadiren verimsiz demet te taşır. Ovaryum 3-5 gözlü veya her plasentanın 2 veya daha çok ovül taşıdığı tek gözlü. Stiluslar 3-5 adet, serbest, ince. Meyva septisit kapsula, dış yüzeyinde reçine taşıyan salgı cebi veya keseler bulunur, nadiren etlenmiştir ve açılmaz (Davis 1967).

*Hypericum* çok yaygın bir genustur. Yeryüzünde 350'ye yakın türüne rastlandığı gibi Türkiye'de şimdiye kadar tespit edilenlerin sayısı 82 civarındadır. Bu türlerden 35 tanesi endemik türlerdir (Davis ve ark. 1988; Güner ve ark. 2000; Özhatay ve Kültür 2006; Özhatay ve ark. 2011).

### 2.1.1.2. *Hypericum perforatum* L.

#### **Botanik Özellikleri:**

10-110 cm' e kadar uzayan, dik gövdeli bitkiler. Gövde bazen köklenmiş, 2 çizgili, dallar yükselici veya değil. Yapraklar 5-35 mm uzunluğunda, dar ovat veya lanseolattan, eliptik-oblonga kadar değişen şekillerde veya şeritsi, bazen oblanseolat, sapsız veya hafifçe saplı, yüzeyi daima büyük saydam noktalı. Sepaller lanseolat-oblong veya eliptik, tepesi akut-akkuminat veya kısa aristalı, kenarları tam, siyah noktasız veya birkaç yüzeysel siyah noktalı. Petaller (5)-8-15 mm uzunlukta, kenarlarda birkaç siyah noktalı ve bazen yüzeysel siyah çizgili. Kapsüla (4)-5-9 mm uzunluğunda, ovoit-piramidal, sırtta salgı kanalları ve yanlarda keseler bulunur.

**Çiçeklenme Zamanı:** Nisan, Mayıs – Ağustos, Eylül.

**Yetiştirme Ortamı:** Mezofitik bölgelerin kuru habitatlarda, su kenarında başka yerlerde, deniz seviyesinden 2500 m'ye kadar yükseklikte yetişebilir.

**Türkiye' deki Yayılışı:** Türkiye florasında çok geniş yayılış göstermektedir.

**Drog:** Hyperici herba



**Şekil 2-1 *Hypericum perforatum* L. İSTE Örneği**

(Foto: Uzm. Bio. Yeter Yeşil)

### 2.1.2. Asteraceae (Compositae) Familyası

Tek, iki veya çok yıllık otsu, nadiren çalı tipinde bazen süt taşıyan bitkiler. Yapraklar alternan veya bazen karşılıklı dizilişte, stipulasız (nadiren stipulalı), yaprak laminası tam, dişli, loblu veya değişik şekillerde parçalanmış. Çiçekler çok sayıda (nadiren tek), sapsız ve kapitulum şeklinde biraraya toplanmış. Kapitulum bir veya çok sıralı braktelerden yapılmış koruyucu bir involukrum ile çevrili. Kapitulumlar bazen ikincil olarak kapitulum benzer bir başlı (psödokapitulum). Reseptakulum çıplak; veya pullu, uzun tüylü veya sert kıllı. Epigin çiçeklerin ya hepsi erdişi ve protandri, veya dişi ya da erkek (en azından fonksiyonel olarak) veya steril. Kaliks ovaryumun tepesinde tüy, sert kıl, pul veya dikensi (meyva halinde genişleyen) bir papus şeklinde, veya sürekli bir taç şeklinde; bazen papus tamamen indirgenmiş. Korolla birleşik petalli, tüpsü (huni şeklinde, veya alt kısmında dar silindirik, üstte çan biçiminde), ipliksi, dilsi veya nadiren iki dudaklı, genellikle 3 veya 5 dişli, nadiren eksik. Stamenler (4-)5, epipetal, filamentler genellikle serbest; anterler ise stilus etrafında yanyana bir silindir şeklinde birleşik (singenezik), nadiren serbest; anterlerin açılması içe doğru. Ovaryum alt durumlu, 1-gözlü ve anatrop 1-ovüllü; stilus uçta ikiye çatallanmış. Disk şeklindeki kapitulumlardaki çiçeklerinin (tubulat, erdişi, çiçekler) stilusları toplayıcı tüyler taşır. Meyva genellikle tepesinde sapsız veya gaga şeklinde kalıcı ya da düşücü papus taşıyan bir aken. (Davis 1975)

Compositae familyası yaklaşık 1100 cins ve 25000 tür ile çiçekli bitkilerin en zengin familyasıdır. Ülkemizde 133 cins ve 1297 kadar da türü yetişmektedir. Bu türlerin 430'u endemiktir (Güner ve ark. 2000; Özhatay ve Kültür 2006; Özhatay ve ark. 2009; Özhatay ve ark. 2011; Simpson 2006)

#### 2.1.2.1. *Calendula* L. Cinsi

Bazen tabanda odunsu, genellikle salgı bezi taşıyan aromatik, tek veya çok yıllık bitkiler. Yapraklar tam veya dişli, sapsız ve çoğunlukla kısmen gövdeyi sarar. Çiçek durumu dallanmış veya tek. Kapitulum heterogam, radyal. Involukrum genişçe

kampanulat; brakteler eşit ve 2 seri halinde, linear-lanseolat, akuminat, kenarları zarımsı. Receptakulum düz, çıplak. Dıştaki çiçekler dilsî, sarı veya turuncu renkli, dışî, fertil; içteki çiçekler tüpsü, sarı, turuncu, kahverengi veya eflatun-mor renkli, fonksiyonel olarak erkek. Akenler tüysüz, heteromorfik (Türkiye’de), dıştakiler dar sivri, kayık şeklinde veya üç kanatlı, içtekiler küçük, kuvvetli kıvrık veya halka şeklinde, arka yüzeyleri enine kırışık-kabarcıklı. (Davis 1975)

### **2.1.2.2. *Calendula officinalis* L.**

#### **Botanik Özellikleri:**

Çok yıllık veya nadiren tek yıllık, otsu, tabanda odunsu bitkiler. Gövde dik ve toprak üstünde yayılmış, genellikle çok dallanmış 20-50 cm uzunluğundadır. Yapraklar linear-lanseolat, oblanseolat veya oblong, 2-7 (-12) x 0.5-1.5 (-2) cm boyutlarında, tam veya tama yakındır, gövdenin üst kısımlarına doğru küçülür ve yerini yapraksız saplara bırakır. Kısa yumuşak salgı tüyü veya bazen araknoit kolayca düşen yünsü tüylü. Kapitulum gösterişli, 2.5-5 cm genişliğinde (dilsî çiçekler dahil); dilsî çiçeklerin boyu braktelerin en az 2 katı, parlak sarı, tüpsü çiçekler sarı veya turuncu. Akenler heteromorf, uç kısımları kuvvetlice içeri doğru kıvrık ve kısa ve şişkindir, bazen kültür bitkilerinde eksiktir.

**Çiçeklenme zamanı:** Yaz

**Yetiştirme ortamı:** Kültürü yapılmaktadır.

**Türkiye’deki yayılışı:** Türkiye’de kültürü yapılmaktadır. Dünya’nın bir çok yerinde kültürü yapılmakta olup, orijini bilinmemektedir (Davis 1975).

**Drog:** Calendulae flos





**Şekil 2-2: *Calendula officinalis* L. İSTE örneği**

(Foto: Uzm. Bio. Yeter Yeşil)

### 2.1.2.3. *Matricaria L. Cinsi*

Tek yıllık otsu bitkiler. Gövdeler dik veya yükselici, genellikle dallanmış, yapraklı. Yapraklar 2-3-pennatisekt, son parçası dar. Kapitulum uçta tek veya korimboz, radiat ve heterogam veya disk biçiminde ve homogam. Brakteler imbrikat dizilişli, 2-3 sıralı, kuru zarımsı kenarlı. Reseptakulum çıplak, olgunlukta koni şeklinde. Dilsî çiçeklerdeki petaller beyaz, tüpsü çiçeklerdeki sarı renkli. Aken düz ve yuvarlak, 3-10-çıkıntılı; çıkıntılar arka yüzeyde daha güçlü gelişmiş. Pappus yok veya koronat (Davis 1975)

### 2.1.2.4. *Matricaria chamomilla L. var. recutita*

#### **Botanik Özellikleri:**

10-45 cm'e kadar uzayan, tüsüz, otsu bitkiler. Alt yapraklar 5-7 cm uzunlukta, tüsüz, oblong, başlıca 10-12 çift şeklinde parçalanmış. Kapitulum genellikle tek, bazen hemen hemen korimboz. İnvolutrum önce 5-6 mm genişliğinde, sonra 8 mm'e kadar genişliyor; brakteler oblanseolat, tepesi obtus veya akut, 2.5-3.5 mm uzunluğunda. Dilsî çiçekler 12-15 adet; petalleri 4-8 mm uzunlukta, önce yatık, sonra geriye kıvrık. Tüpsü çiçekler 1.25 – 1.5 mm uzunlukta. Akenlerin hepsi çıplak, koronasız, kahverengi, 0.75 mm uzunlukta, arka yüzeyde 5 beyazımsı çıkıntılı. Aken hepsi çıplak, koronası yok.

#### **Çiçeklenme zamanı:** Mart-Nisan

**Yetiştirme ortamı:** Yol kenarlarında, çöp ve ekim alanları, 0-900 m yüksekliklerde yetişir.

**Türkiye'deki yayılışı:** A1(A) Balıkesir: Marmara adası, A2(E) Kocaeli: İzmit'in batısı 40 km, 20m. A5 Kastamonu: Tosya, B1 İzmir: Salhane, B4 Ankara: Tuz Gölü'nün kuzey kıyısı, 900 m, C1 İzmir: Selçuk'tan Belevi'ye, C2 Denizli: Pamukkale, Denizli'nin kuzeyi 10 km, 300m, C5 İçel: Gozlukuli, Tarsus, Adana: Karataş.

(Davis 1975).

#### **Drog:** Chamomillae flos



**Şekil 2-3: *Matricaria chamomilla* L. İSTE örneği**

(Foto: Uzm. Bio. Yeter Yeşil)

### 2.1.3. Hippocastanaceae Familyası

Yaprak döken ağaç veya çalılar. Gövde kabukları gri veya kahverengi renkte, düz veya kaba. Genç dallar kahverengi, yeşil veya pembemsi, düz ve yuvarlak, çıplak veya genç evrede yoğun villoz tüylü, beyaz-sarı renkli kovucuklu. Kışın tomurcuklar uç veya terminal durumlu, imbrikat dizilişli. Yapraklar karşılıklı, uzun saplı, 5-11 foliolü (*Billia* cinsinde 3 foliolü), palmat damarlı. Yaprakçıklar sapsız veya saplı, eşit olmayan parçalı (ortadaki bir parça en uzun), lanseolat, oblanseolat veya oblong, üst yüzeyler çıplak veya tüylü, alt yüzey çıplak, tabandan kuneat veya oblong, yaprak kenarları krenat, serrat veya tam, uçta akut veya kaudat. Çiçek durumu dik durumlu terminal, silindirikten koniğe kadar değişen şekillerde, dallar tam veya bileşik, brakteler subulat, küçük, *Aesculus* cinsinde tamamen indirgenmiş. Çiçekler uzun ve gösterişli, bazen zigomorfik, iki eşeyli ve bazen fonksiyonel dişi. Sepaller 4-5 adet, serbest veya korolla tübüne birleşik. Petaller 4-5 adet, serbest, kiremit şeklinde dizili, eşit veya değil. Nektaryum diski küçük, genellikle şekilsiz, parçalı veya değil. Stamenler 5-8 adet, hipogin, diskin içinde, serbest, farklı boylarda, petallerin dışına taşmış, içeride 5 li halka şeklinde dizili, filmanentler yay şeklinde kıvrık, anterler boyuna uzamış. Ovaryum üst durumlu, (2-)3(-4) gözlü, her ovül 2 şer gözlü, eksensel plasentalanma, stilus 1 adet, terminal durumlu, uzun, silindirik veya kısa, stigma tam veya 3 loblu. Meyva lokulisit kapsül, küremsi veya armutsu formda, uzun ginoforlu (*Handeliodendron*), fonksiyonel olarak olgunlaşmamış 1 tohumlu ve 1 çenetli, mukronat, perikarp derimsi, bazen kalınlaşmış, genellikle düz, bazen noktalı, nadiren kabarcıklı veya dikenli, batıcı. Tohumlar basık küre veya armut şeklinde, çoğunlukla uzun; testa kahverengi veya parlak siyah renkli, sert derimsi; hilum uzun, soluk veya arilluslu (*Handeliodendron*); embriyo uzun, kıvrık, bol nişastalı, endosperm taşımaz.

Dünyada 3 cins ve 15 türü vardır: Asya (Himalayalar, Japonya), G.D. Avrupa, K. Amerika, Orta ve G. Amerika (*Billia*), Çin (Wu ve ark. 2007).

### 2.1.3.1. *Aesculus hippocastanum* L.

#### Botanik Özellikleri:

15-25 m' e kadar boyda, sık dallı ve yapraklı ağaçlar. Gövde üzerinde karşılıklı durumda bulunan uzun saplı, oldukça büyük olan yapraklar, kenarları dişli, ucu sivri, taban kısmına doğru daralan uzunca oval biçimli 5-7 parçadan ibaret, parmaksı tipte aya kısmına sahip. Yaşlandıkları zaman tüysüz olan yapraklar erken safhada alt taraflarında damarların çıktığı yerlerde tüy demetleri taşır. Epeyce büyük ve dik olan piramid biçimli çiçek-durumları akrepsi tipte kimoiz durumlardaki çiçeklerin bileşik-salkım tarzında birleşmesiyle meydana gelmiş tirsus tipinde. Aynı çiçek durumlarında bulunan çiçekler ya erdişi veya dişi organın körelmesiyle erkek çiçek haline gelmiş. Eğik tek-simetri gösteren güzel kokulu çiçeklerin dışında, çan şeklinde birleşmiş, eşit olmayan 5 dişe malik kaliks ile 2 yukarıda, 3 aşağıda olmak üzere buruşuk ve tüylü 5 serbest yapraktan ibaret korolla bulunur. Korolla yapraklarından alt ortadaki bazen eksik. Korolla yaprakları beyaz renkli, taban kısımlarında genç fazda sarı renkli, anterlerin açılmasından sonra kırmızı renk alan lekeler taşır. İki daire üzerine dizilmiş olan erkek organların sayısı, kaliks yapraklarıyla karşılıklı durumda bulunanlardan umumiyetle 3'ünün kaybolmasıyla 7'ye inmiş. Erkek organlar, çiçeğin taban kısmında bulunan nektaryum diskinin iç kısmından çıkan, çiçeğin bir tarafında yukarıya doğru kavis meydana getirerek bir yay gibi kıvrılan, farklı uzunlukta filamentlere sahip. Üstdurumlu, 3 meyva yaprağından yapılmış olan dişi organ, sivri ve ince tek stigma ile nihayetlenen, aşağı yukarı erkek organların uzunluğunda bir stilusa sahip. Dişi organ erkek organlardan önce olgunlaşır (protogini). Her gözünde üst üste, aksiller plasentalanma gösteren ikişer tohum taslağı bulunan 3 gözlü genç meyva gelişme sonucunda genellikle bir, bazen iki tohum içeren, eksokarpı derimsi ve dikenli, sarımsı yeşil renkte, küre biçiminde, oldukça büyük, 3 parçaya yarılarak açılan lokulusid kapsül tipinde bir meyva verir. Oldukça büyük, küremsi veya yumurtamsı biçimli tohum geniş sarımsı renkte hilum gösteren, düzgün parlak kahverengi bir tohum kabuğuna sahip. Endospermasız olan tohumun iç kısmı tamamiyle yağ ve nişasta içeren geniş çeneklere sahip, kendi üzerinde kıvrık embriyo ile dolu bulunur (Küçüker 2004).

**Çiçeklenme zamanı:** Nisan-Temmuz

**Yetiştirme ortamı:** Park ve bahçelerde kültürü yapılmaktadır.

**Türkiye' deki yayılışı:** Türkiye' de kültürü yapılmaktadır. İSTE kayıtlarına göre kültürü yapılan bazı lokaliteler;

A2(E) İstanbul: Yıldız Parkı, 27.V.1988, Alper Mert Acar, İSTE 59280

A2(E) İstanbul: Florya, İstasyon caddesi, 22.VI.1985, Seray İlkmen, İSTE 55612

A2(E) İstanbul: Florya, İstasyon caddesi, 18.IX.1984, Seray İlkmen, İSTE 54993

A2(E) İstanbul: Üniversite bahçesi, 26.IV.1972, Asuman Baytop, İSTE 21448

**Drog:** Hippocastani semen



**Şekil 2-4: *Aesculus hippocastanum* L. İSTE örneği**

(Foto: Uzm. Bio. Yeter Yeşil)

## 2.2. Kimyasal Bölüm

Bu bölümde çalışma konumuz olan *H. perforatum*, *C. officinalis*, *M. chamomilla* var. *recutita* ve *A. hippocastanum* bitkilerinin kimyasal yapısı gösterilmektedir.

### 2.2.1. *H. perforatum* Bitkisinin Kimyasal Bileşimi

*H. perforatum*'un en önemli aktif bileşikleri floroglusinoller, naftodiantronlar ve flavonoidlerdir. Kimyasal bileşiklerin miktarının tür içinde farklılık göstermesi genetik çeşitlilik, ekolojik büyüme şartları, örneklerin toplanma zamanı, ışığa maruz kalma, kurutma yöntemleri ve depolama şartlarının değişikliğinden kaynaklanmaktadır (Tanker ve Tanker 1991; Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Çaycı MK 2006; Gruenwald ve ark. 2007).

Bitkinin toprak üstü kısımlarının hidroalkolik (%60 etanol veya %80 metanol) ekstraktları başlıca 6 doğal bileşik grubu içermektedir.

Naftodiantronlar

Floroglusinoller

Flavonoidler

Biflavonlar

Fenilpropanlar

Proantosiyandinler

Buna ek olarak, az miktarda tanenler, ksantonlar, uçucu yağlar ve amino asitler bulunmaktadır. Tüm bunlar kuru *H. perforatum* bitkisinin başlıca bileşenleridir (Tanker ve Tanker 1991; Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Nahrstedt ve Butterweck 1997; Gruenwald ve ark. 2007; Bruneton 1999).

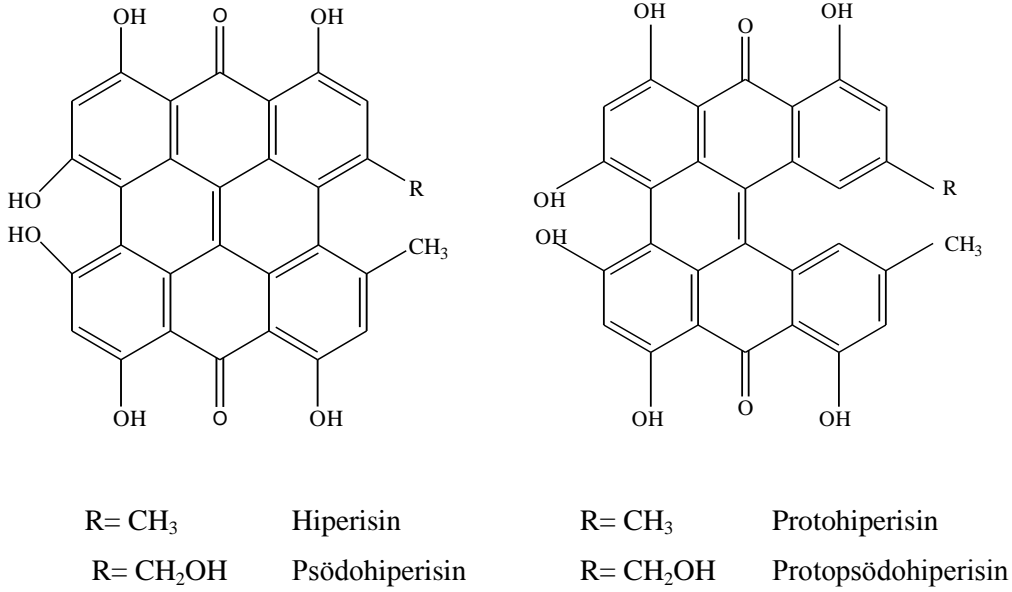


### 2.2.1.1. Naftodiantronlar

Bu bileşikler *Hypericum* cinsinin tipik bileşenleridir, yoğun kırmızı renkli ve fototoksik özellikleri vardır. Bu grubun başlıca bileşenleri, hiperisinlerdir. İki prototürevleri protohiperisin ve psödoprotohiperisin bitkiden izole edilmektedir (Şekil 2-5), ancak stabil olmayan durumlarından dolayı stabil olan bileşikler hiperisin ve psödohiperisin'e dönüşmektedir (Şekil 2-5). Hiperisin ve psödohiperisin bitkinin çiçeklerinde ve yapraklarında %0,1–0,15 oranında bulunur (Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Schey ve ark. 2000; Cellarova ve ark. 1994; Lavagna ve ark. 2001; Bruneton 1999).

*H. perforatum* bitkisinin en ilgi çekici bileşiği hiperisindir ve pek çok farmakolojik özelliğe sahiptir. Hiperisin ve psödohiperisin sırasıyla IC<sub>50</sub> 1,7 mg/L ve ile IC<sub>50</sub> 15 mg/L protein kinaz C'yi spesifik olarak inhibe etmekte ve memeli hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite göstermektedir. Bu durum viral enfeksiyon sırasında protein kinaz C ile fosforilasyonun inhibisyonu neden olan hiperisin ve psödohiperisinin antiretroviral aktivitesini açıklamaktadır (Takahashi ve ark. 1989; WHO Monographs 2002; Demirezer ve ark. 2007).

Hiperisin, *H. perforatum* bitkisinin başlıca ışığa duyarlı yapıda bileşenidir ve fotodinamik kanser tedavisinde fotosensibilizan olarak gösterilmiştir (Tanker ve Tanker 1991; Vandenbogaerde ve ark 1998).



**Şekil 2-5: *H. perforatum*'un içerdiği naftodiantronların kimyasal yapısı**

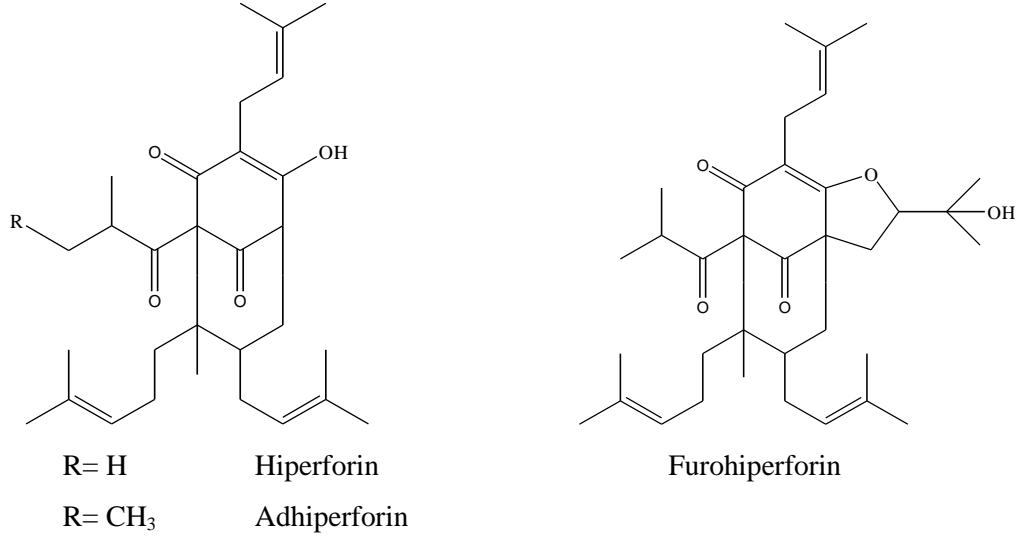
### 2.2.1.2. Floroglusinoller

*H. perforatum*'da iki benzer bileşik bulunmaktadır. Bunlar hiperforin (%2,0-4,5) ve bir ilave metil grubu taşıyan adhiperforin (%0,2- 1,9)'dir (Şekil 2-6). Bunlar sadece üretken kısımlarda (çiçekler, olgun ve olgun olmayan meyvelerde) bulunmaktadır (Hobbs 1989; Upton 1997; Bruneton 1999; Evans 2002).

Furohiperforin, hiperforinin başlıca oksidasyon ürünüdür ve toprak üstü kısımlarda bulunmaktadır. Hiperforin, ışık ve ısıya maruz kaldığında ve özellikle sulu çözeltilerde stabil olmayan bir bileşik olmasına rağmen %6'ya kadar olan konsantrasyonlarda pek çok ticari ekstrede bulunmaktadır (Verotta ve ark. 1999; Melzer ve ark. 1998).

Hiperforin *in vitro* olarak çeşitli nörotransmitter sistemleri inhibe etmektedir. Sinaptosomal preparatlarda serotonin, dopamin ve noradrenalin'in güçlü bir alım inhibitörüdür (Chatterjee ve ark. 1998). Hiperforinin bu rolü bitkinin antidepresan aktivitesini desteklemektedir. Antidepresan aktivitesinin mekanizması, nörotransmitterlerin sinaptik geri-alımının inhibisyonu olarak bilinmektedir. Hiperforin

yeni bir antineoplastik ajan olarak incelenmiştir. Aynı zamanda hiperforin antimalaryal aktiviteye sahiptir ve *Plasmodium falciparum*'a karşı etkili bulunmuştur (Chatterjee ve ark. 2001; Schempp ve ark. 2002; Verotta ve ark. 2007; Saddiqe ve ark. 2010; Gruenwald ve ark. 2007).



**Şekil 2-6: *H. perforatum*'un içerdiği floroqlusinollerin kimyasal yapısı**

### 2.2.1.3. Flavonoitler

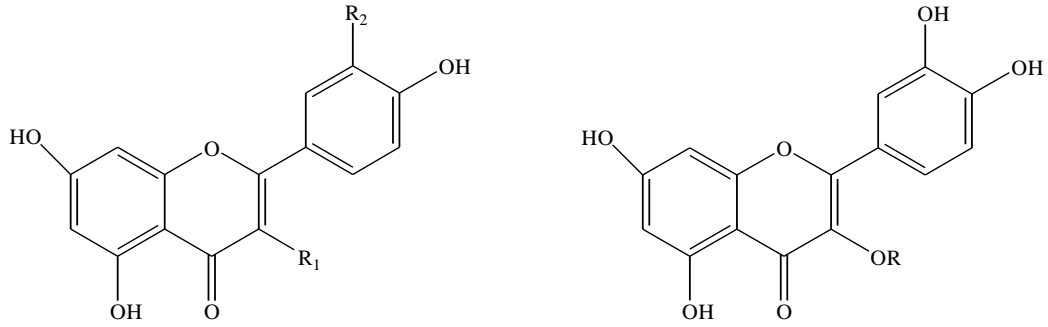
Flavonoitler (%2-4), bitkide bulunan biyolojik aktif bileşiklerin başlıca grubudur. Flavonol aglikonları kemferol, luteolin, mirsetin ve kersetin'dir (Şekil 2-7) (Nahrstedt ve Butterweck 1997; Kurth ve Spreemann 1998; Hansen ve ark. 1999; Naeem ve ark. 2010; Barnes ve ark. 2007; ).

Hiperozit (hiperin) ve rutin bitkinin glikozitleri arasında baskın olanlardır, bunları takiben kersitrin ve izokersitrin gelmektedir (Şekil 2-7) (Pietta ve ark. 2001; ESCOP 2003). Butterweck ve ark. (2000) bitkiden mikuelianin (kersetin 3-O-glukuronit) ve astilbin (taksifolin 3-O-ramnopiranozit) izole etmiştir.

Flavonol glikozitlerinin spazmolitik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu bileşikler biyojenik aminlerin katabolizmasından sorumlu enzim monoamin oksidaz A ve kateşol-O-metiltransferaz'ı inhibe etmektedir (Morales ve Lozoya 1994;

Thiede ve Walper 1994). Sparenberg ve ark. (1993) yaptıkları bir çalışmada flavonoid aglikonları kersetin, kemferol ve luteolinin çok iyi aktivite gösterdiğini glikozitlerin ise az aktif olduğunu göstermiştir.

Rutin'in, *H. perforatum* ekstralarının antidepresan aktivitesinde önemli olduğunu göstermişlerdir (Şekil 2-7) (Nöldner ve Schötz 2002; Saddique ve ark. 2010).



R<sub>1</sub>= OH      R<sub>2</sub>= H      Kemferol  
R<sub>1</sub>= H      R<sub>2</sub>= OH      Luteolin

R= Glu-Ra      Rutin  
R= Gal      Hiperozit  
R= Glu      İzokersitrin  
R= Ra      Kersitrin  
R= H      Kersetin

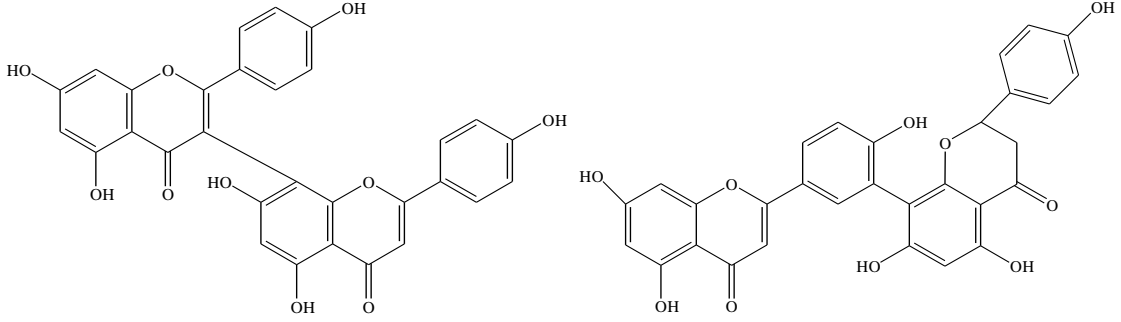
Şekil 2-7: *H. perforatum*'un içerdiği flavonoidlerin kimyasal yapısı

#### 2.2.1.4. Biflavonlar

Biflavonlar, dimerik flavonların nadir bulunan bir grubudur. *H. perforatum*'da 3 biflavon teşhis edilmiştir. Bunlar; 3'-8''-biapigenin (%0,1-0,5), amentoflavon (%0,01-0,05) ve 6',8''-dikersetin'dir (Şekil 2-8) (Berghöfer ve Höezl 1987; 1989; Kurkin ve Pravdivtseva 2007; Bruneton 1999; Evans 2002).

Amentoflavon'un antiinflamatuar, analjezik ve antiülserojenik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark. 1998; Gruenwald ve ark. 2007).

Braureithel ve ark. (1997) amentoflavon'un, diazepam ile karşılaştırılabilir afinite ile beyin benzodiazepin reseptörlerine bağlandığını rapor etmişlerdir.



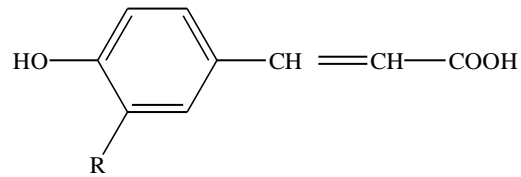
I3 – II8- Biapigenin

Amentoflavon

**Şekil 2-8: *H. perforatum*'un içerdiği biflavonoitlerin kimyasal yapısı**

### 2.2.1.5. Fenilpropanlar

Bu bileşikler başlıca hidroksisinnamik asitlerin esterleri olarak oluşmaktadır. Bunlar p-kumarik asit ve kafeik asit'tir. Klorojenik asitler *H. perforatum* ekstresinde %1'in altında saptanmıştır (Nahrstedt ve Butterweck 1997). Klorojenik asitin yanında, kafeik, p-kumarik, ferulik, izoferulik, gentsik ve şikimik asitler rapor edilmiştir (Şekil 2-9) (Hobbs 1989; Upton 1997; Bilia ve ark. 2001; Saddiqe ve ark. 2010; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007; Evans 2002).



R= OMe Ferulik asit

R= OH Kafeik asit

R= H p-kumarik asit

**Şekil 2-9: *H. perforatum*'un içerdiği fenilpropanların kimyasal yapısı**

### 2.2.1.6. Proantosiyanidinler

Bu bileşikler tanenler olarak ifade edilmektedir. Dimerik prosiyanidin trimerik, ve tetramerik prosiyanidinler ile birlikte bitkiden izole edilmiştir (Brantner ve ark. 1994; Melzer ve ark. 1989; Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007).

Proantosiyanidinlerin antioksidan, antiviral ve antimikrobiyal etkiler gibi çeşitli biyolojik etkileri vardır (Bagchi ve ark. 2000; De Bruyne ve ark. 1999; Scalbert 1991).

### 2.2.1.7. Uçucu yağlar

*H. perforatum* uçucu yağı alifatik bileşikler (2-metil oktan, n-nonan, n-dekan, n-undekan, n-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan) ve terpenler ( $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, geraniol,  $\beta$ -karyofilen,  $\beta$ -farnesen, humulen ve germakren D içermektedir (Bronz ve ark. 1983; Gudzić ve ark. 1997; Mockute ve ark. 2003; Akhbari ve Batooli 2009; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007).

### 2.2.1.8. Diğer kimyasal bileşenler

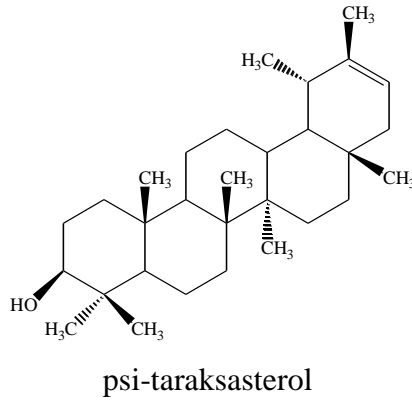
*H. perforatum* bitkisinde bulunan diğer tipik bileşenler, ksantonlar (1,3,6,7-tetrahidroksiksanton ve kielkorin C), asitler (izovalerianik, nikotinik, miristik, palmitik ve stearik), karotenoitler, kolin, nikotinamid, pektin,  $\beta$ -sitosterol, yağ asitleri, amino asitler, vitamin C, tanenler, hidroperoksikadiforin ve bisantrakinon glikozitleri'dir (Nielsen ve Arends 1978; Duke 1985; Rucker ve ark. 1995; Wirz ve ark. 1995; Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007; Saddiqe ve ark. 2010).

### 2.2.2. *C. officinalis* Bitkisinin Kimyasal Bileşimi

Bitki ile yapılan pek çok fitokimyasal çalışma, bitkinin terpenler, flavonoidler, kumarinler, kinonlar, uçucu yağlar, karotenoidler ve aminoasitleri içerdiğini göstermiştir.

#### 2.2.2.1. Terpenler

*C. officinalis* çiçeklerinin petrol eteri ekstresinin çeşitli terpen bileşiklerini içerdiği rapor edilmiştir. Bunlar, sitosteroller, stigmasteroller, diollerin diesterleri, taraksasterol'ün 3-monoesteri,  $\psi$ -taraksasterol, lupeol, eritrodiol, ursadiol'dür (Şekil 2-10) (Adler ve Kasprzyk 1975; Wilkomirski ve Kasprzyk 1979; Wilkomirski 1985; Zittwel-Eglseer ve ark. 1997; Sliwowski ve ark. 1973; Muley ve ark. 2009; Barnes ve ark. 2007).



Şekil 2-10: *C. officinalis* bitkisinin içerdiği triterpen alkol kimyasal yapısı

Bunların yanısıra bitkide bulunan triterpen monoesterleri; faradiol-3-O-palmitat, faradiol-3-O-miristat, faradiol-3-O-laurat, arnidiol-3-O-palmitat, arnidiol-3-O-miristat, arnidiol-3-O-laurat, kalenduladiol-3-O-palmitat, kalenduladiol-3-O-miristat (Şekil 2-11), oleanolik asit saponinleri: kalendulozit A-H, oleanan triterpen glikoziti: kalendulaglikozit A, kalendulaglikozit A6-O-n-metil ester, kalendulaglikozit A6-O-n-butyl ester, kalendulaglikozit B, kalendulaglikozit B 6-O-n-butyl ester, kalendulaglikozit C, kalendulaglikozit C 6-O-n-metil ester, kalendulaglikozit C 6-O-n-butyl ester, kalendulozit F 6-O-n-butyl ester, kalendulozit G 6-O-n-metil ester, oleanolik asit

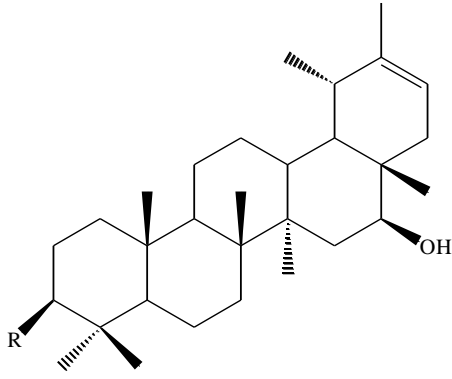
glikozitleri (başlıca olgun ve yaşlanmış bitkinin köklerinde) I, II, III, VI, VII ve glukuronitler (başlıca çiçekler ve yeşil bitkilerde) F, D, D<sub>2</sub>, C, B ve A'dır (Neukiron ve ark. 2004; Ukiya ve ark. 2006; Vecherko ve ark. 1974; 1975; Vecherko ve ark. 1971; Vecherko ve ark. 1969; Vidal-Ollivier ve Balansard 1989; Bruneton 1999; Evans 2002; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007; Muley ve ark. 2009).

Bitkide bulunan faradiol-3-miristat ve faradiol-3-palmitat bileşiklerinin anti-ödem aktivitesi, fare kulağının kroton yağı indüklü ödem inhibisyonu aracılığıyla test edilmiş ve her iki faradiol esteri, doza bağlı olarak anti-ödem aktivite göstermiştir. Bitkinin antienflamatuvar etkisi, içeriğinde bulunan faradiol monoester ve faradiol içeriğinden kaynaklanmaktadır (Zitterl-Eglseer ve ark. 1997; Bruneton 1999; ESCOP 2003; Gruenwald ve ark. 2007; Meenatchisundaram ve ark. 2009; Braga ve ark. 2009).

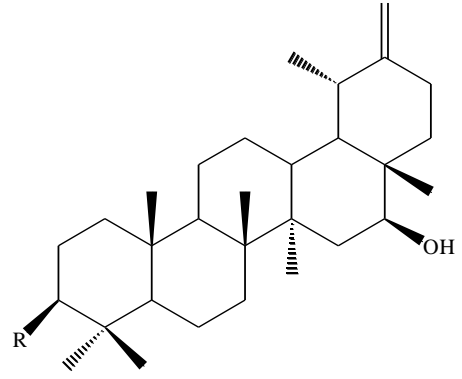
Bitkinin çiçeklerinden, Oleanan serisinin yeni bir triterpenik esteri Kornulakik asit asetat'ı izole edilmiştir (Naved ve ark. 2005).

*C. officinalis* bitkisinin içerdiği triterpen monoester kimyasal yapısı takip eden sayfada verilmektedir.

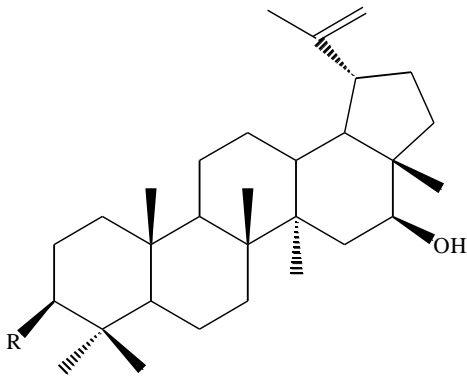




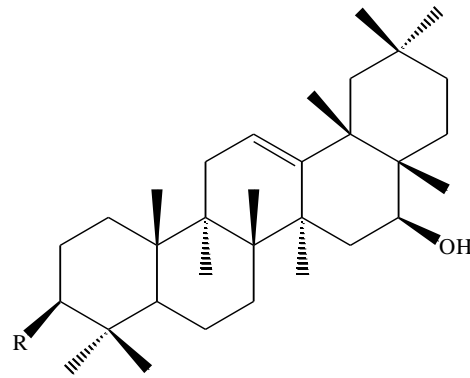
Faradiol



Arnidiol



Kalenduladiol



Maniladiol

**R**CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>COOCH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COO**Triterpen Monoesterler**

Faradiol-3-O-palmitat

Faradiol-3-O-miristat

Faradiol-3-O-laurat

Arnidiol-3-O-palmitat

Arnidiol-3-O-miristat

Arnidiol-3-O-laurat

Kalenduladiol-3-O-palmitat

Kalenduladiol-3-O-miristat

Kalenduladiol-3-O-laurat

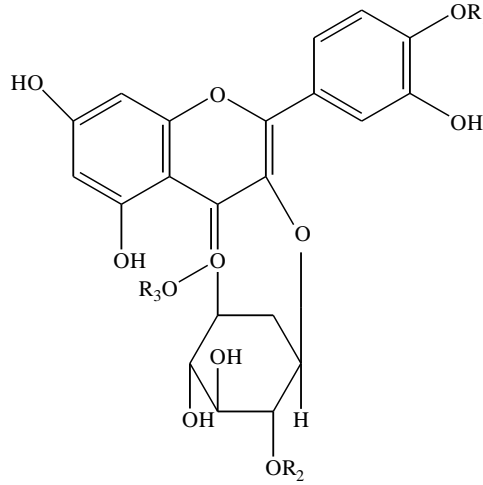
Maniladiol-3-O-miristat

Maniladiol-3-O-laurat

**Şekil 2-11: *C. officinalis* bitkisinin içerdiği triterpen monoester kimyasal yapısı**

### 2.2.2.2. Flavonoitler

*C. officinalis* bitkisinin çiçek durumunun etanollü ekstresinden çeşitli flavonoitler izole edilmiştir. Bunlar; kersetin, izoramnetin, izokersetin, izoramnetin-3-O- $\beta$ -D-glikozit, narsisin, kalendoflazit, kalendoflavozit, kalendoflavobiozit, rutin, izokersitrin, neohesperidozit, izoramnetol-3-O-neohesperidozit, izoramnetol-3-O-2<sup>G</sup>-ramnozil rutinozit, izoramnetol-3-O-rutinozit, kersetin-3-O-glukozit ve kersetin-3-O-rutinozit'tir (Şekil 2-12) (Vidal-Ollivier 1989; Evans 2002; ESCOP 2003; Ukiya ve ark. 2006; Barnes ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007).



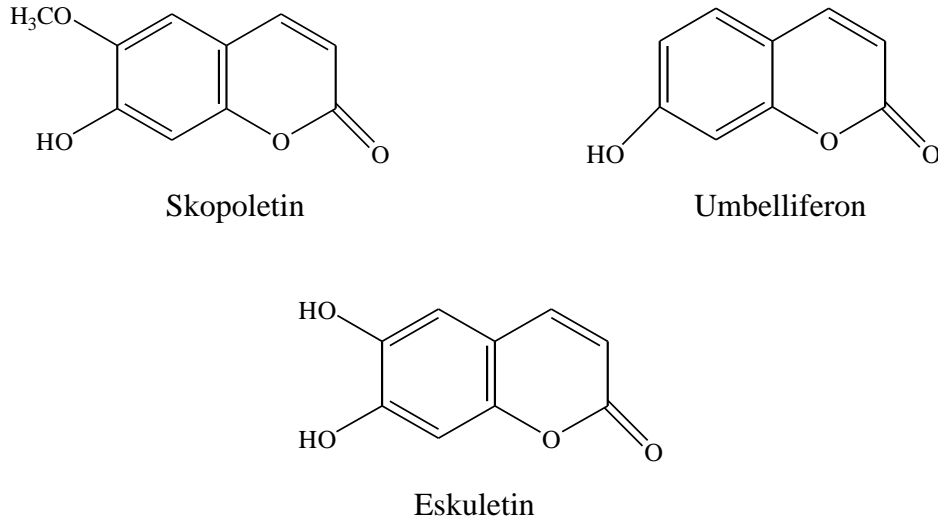
| R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | Flavonozit  |
|-----------------|----------------|----------------|---|
| H               | H              | Ramnoz         | Rutin   |
| H               | Ramnoz         | H              | Kersetol-3-O-neohesperidozit                      |
| H               | Ramnoz         | Ramnoz         | Kersetol-3-O-2 <sup>G</sup> -ramnozilrutinozit    |
| CH <sub>3</sub> | H              | H              | İzoramnetol 3-O-glikozit                          |
| CH <sub>3</sub> | H              | Ramnoz         | İzoramnetol 3-O-rutinozit                         |
| CH <sub>3</sub> | Ramnoz         | H              | İzoramnetol 3-O- neohesperidozit                  |
| CH <sub>3</sub> | Ramnoz         | Ramnoz         | İzoramnetol 3-O-2 <sup>G</sup> -ramnozilrutinozit |

Şekil 2-12: *C.officinalis* bitkisinin içerdiği flavonozitlerin kimyasal yapısı

Bitkinin çiçeklerinden izole edilen flavonoitlerin *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve flavonların *Klebsiella pneumoniae*, *Sarcina lutea* ve *Candida monosa*'ya karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Gruenwald ve ark. 2007).

### 2.2.2.3. Kumarinler

*C. officinalis* bitkisinin çiçek durumunun etanollü ekstresinin skopoletin, umbelliferon ve eskuletin kumarinlerini içerdiği rapor edilmiştir (Şekil 2-13) (Derkach ve ark. 1986; Gruenwald ve ark. 2007).



Şekil 2-13: *C.officinalis* bitkisinin içerdiği kumarinlerin kimyasal yapısı

### 2.2.2.4. Kinonlar

*C. officinalis*'den elde edilen kinonlar; kloroplastlarda plastokinon, fillokinon,  $\alpha$ -tokoferol, mitokondride ubikinon, fillokinon,  $\alpha$ -tokoferol ve yapraklarda fillokinondur (Janiszowska ve ark. 1976).

### 2.2.2.5. Uçucu yağlar

*C. officinalis* çiçekleri maksimum uçucu yağı (% 0,97) bitkinin tamamen çiçekli olduğu dönemde, minimum uçucu yağı (% 0,13) ise çiçeklenme öncesi dönemde içermektedir. Uçucu yağ bileşimi, bitkisel siklusun farklı fazlarında farklı içerik göstermektedir. Uçucu yağda birçok monoterpen ve seskiterpen rapor edilmiştir. Bunlar;  $\alpha$ -tuyen,  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -pinen, limonen, 1,8-sineol, p-simen, trans- $\beta$ -

osimen,  $\gamma$ -terpenen,  $\delta$ -3-karen, nonanal, terpen-4-ol, 3-sikloheksen-1-ol,  $\alpha$ -fellandren,  $\alpha$ -terpenol, geraniol, karvakrol, bornil asetat, sabinil asetat,  $\alpha$ -kübeben,  $\alpha$ -kopaen,  $\alpha$ -burbonen,  $\beta$ -kübeben,  $\alpha$ -gurjunen, aromadendren,  $\beta$ -karyofilen,  $\alpha$ -ylangen,  $\alpha$ -humulen, epibisiklo-sekifellandren, germakren D, alloaromadendren,  $\beta$ -salien, kalaren, murolen,  $\delta$ -kadinen, kadina 1,4-dien,  $\alpha$ -kadinen, nerolidol, palustron, endoburbonen, oplopenon,  $\alpha$ -kadinol, t-murolol'dür (Okoh ve ark. 2007; Gruenwald ve ark. 2007; Barnes ve ark. 2007; Muley ve ark. 2009).

Çiçeklenme dönemi sonrasında uçucu yağın,  $\alpha$ -kadinen,  $\alpha$ -kadinol, t-murolol, limonen ve 1,8-sineol içeriği açısından zengin olduğu bulunmuştur (Okoh ve ark. 2007; Khalid ve Teixeira da Silva 2010).

#### 2.2.2.6. Karotenoitler

*C. officinalis* çiçeklerinin polenleri, petalleri ve yapraklarının metanollü ekstresi birtakım karotenoitleri içermektedir. Karotenoitler tetraterpenoid yapıda maddelerdir. Polen ve petallerde bulunan karotenoitler; neoksantin, 9Z-neoksantin, violaksantin, lutoeksantain, auroksantin, 9Z-violaksantin, flavoksantin, mutatoksantin, 9Z-antroksantin, lutein, 9/9'A lutein, 13/13'Z-lutein,  $\alpha$ -kriptoksantin,  $\beta$ -kriptoksantin, z-kriptoksantin, likopen,  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten. Total karotenoitler (mg/g kuru ağırlık üzerinden) petaller için % 7,71 ve polenler için % 1,61'dir.

Yapraklar ve gövdeden rapor edilen karotenoit bileşikleri, neoksantin, 9Z-neoksantin, violaksantin, luteoksantin, 9Z-violaksantin, 13Z-violaksantin, anteraksantin, mutatoksantin epimer 1, mutatoksantin epimer 2, lutein, 9/9' 2-lutein,  $\alpha$ -kriptoksantin,  $\beta$ -kriptoksantin,  $\beta$ -karotendir. Total karotenoitler (mg/g kuru ağırlık üzerinden) yapraklar için % 0,85 ve gövde için % 0,18'dir (Bako ve ark. 2002; Goodwin 1954; Gruenwald ve ark. 2007; Muley ve ark. 2009; Meenatchisundaram ve ark. 2009).

Yapılan çalışmalar karotenoitlerin fibroblastların hücre siklusu ilerlemesini etkileyerek epitelizasyon prosesinde yararlı bir etkisi olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda karotenoitlerin fotoprotektif ajan olarak rol almakta olduğunu ve güneş yanığı,

fotoalerji ve cilt kanseri tiplerinin oluşma risklerini azaltabileceğini ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu açıklamışlardır (Pintea ve ark. 2003).

#### **2.2.2.7. Amino asitler**

Yapılan çalışmalar, bitki çiçeklerinin etanollü ekstresinin serbest halde 15 aminoasit içerdiğini göstermiştir. Bu aminoasitler; alanin, arginin, aspartik asit, aspargin, valin, histidin, glutamik asit, lösin, lizin, prolin, serin, tirozin, treonin, metiyonin ve fenilalanin'dir. Amino asit içeriği, yapraklarda % 5, gövdede % 3,5 ve çiçeklerde % 4,5'dir (Abajova ve ark. 1994).

#### **2.2.2.8. Karbohidratlar**

Bitkinin çiçek durumunun etanollü ekstresi, polisakkaritleri içermektedir (Varlijen 1989; Wagner ve ark. 1985). Bitkide bulunan polisakkaritler immunostimülan ve antitümör aktivite göstermiştir. (Evans 2002; Muley ve ark. 2009).

#### **2.2.2.9. Lipitler**

*C. officinalis* tohum, yaprak ve çiçeklerinin petrol eteri ekstresinde lipitlerin bulunduğu gösterilmiştir. Tohumdaki nötr lipitlerin miktarı % 15,7, fosfolipitlerin miktarı % 0,6 ve glikolipitlerin miktarı % 0,9'dur. Çiçeklerde rapor edilen monol, steorol ester, 3-monoester, 3-monoester diollerin yağ asitleri; laurik, miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asittir. Bitki tohumlarında bulunan yağ asitleri, yaklaşık % 59 oranında 18:3 konjuge trienik (trans-8,trans-10, cis-12) asit ve % 5 oranında 9-hidroksi-18:2 (trans-9,cis-11) asit –dimorfekolik asit'tir (Ul'chenko ve ark. 1998; Wilkomirski ve Kasprzyk 1979). *C. officinalis* tohumlarında oksijenli yağ asiti olan D-(+)-9-hidroksi-10,12-oktadekadienoik asit rapor edilmiştir (Badami ve Morris 1965; Muley ve ark. 2009).

### **2.2.2.10. Diğer Bileşenler**

Diğer fitokimyasal bileşenler; loliolid (kalendin), kalendulin ve n-parafinlerdir (Willuhn ve Westhaus 1987; Fleisonner 1985; Komoe ve Hayashi 1971; Barnes ve ark. 2007).

### 2.2.3. *Matricaria chamomilla* L. Bitkisinin Kimyasal Bileşimi

Bitki çiçeklerinde 120'nin üzerinde bileşen teşhis edilmiştir. Flavonoitler ve fenolik bileşenler, hidroksikumarinler, uçucu yağlar (kamazulen, bisabolol türevleri ve asetilenik bileşiklerce zengin), seskiterpen laktonlar (matrisin, matrikarin), amino asitler, polisakkaritler, yağ asitleri ve müsilajlar çiçek başlarında bulunmaktadır. Çiçeklerden elde edilen uçucu yağ % 0,4-2,0'dır (Gruenwald ve ark. 2007; Çubukçu ve ark. 2002).

#### 2.2.3.1. Flavonoitler ve Fenolik bileşenler

Bitkide bulunan başlıca flavonoitler; flavon glikozitleri; apigenin aglikonları, luteolin, krisoeriol, apigenin-7-O-glikozit, apigenin glukozit asetat, -flavonol glikozit, kersetin, rutin izorhamnetin, patuletin gibi aglikonlar'dır (Şekil 2-14) (McKay ve Blumberg 2006, Gruenwald ve ark. 2007, Barnes ve ark. 2007).

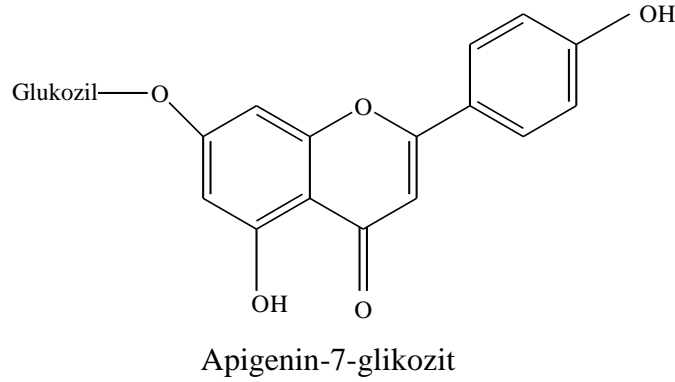
Bitkinin çiçek başlarının çeşitli kısımlarında (dilsî çiçek, tüpsü çiçek ve reseptakulumda) çeşitli flavonoitler ve fenolik bileşenler teşhis edilmiştir. Bunlar apigenin (%16,8), kersetin (%9,9), patuletin (%6,5), luteolin (%1,9) ve glikozitleridir. Bu konsantrasyonlar bitkinin çiçek kısımlarda değişik oranlardadır. Örneğin; apigenin % 68 oran gibi yüksek bir konsantrasyonda dilsî çiçeklerde ve daha sonra % 0,9 oranda tüpsü çiçeklerde ve % 0,8 oranda reseptakulumda; kersetin ise % 2,1 gibi en düşük oranda dilsî çiçeklerde ve % 12,4 gibi en yüksek oranda tüpsü çiçeklerde ve % 10 oranda reseptakulumda bulunmaktadır (McKay ve Blumberg 2006).

Yapılan çalışmalar, apigenin, luteolin ve kersetinin etkili bir radikal süpürücü bileşik ve antimikrobiyal özelliğe sahip olduğunu göstermiştir (Repcak ve Krausova 2009; Monograph 2008).

Apigenin, antiflojistik (iltihabı azaltan) ve spazmolitik aktiviteleri ile az-toksik ve non-mutajenik bir bileşiktir. Apigeninin anksiyolitik etkisi ile merkezi benzodiazepin reseptör ligantıdır ve papatya ilaçlarının sedatif etkisinden sorumludur.

Apigenin'in, UV radyasyona karşı kemopreventif etkiye ve/veya birkaç tümör tipine karşı anti-kanser özelliğe sahip olduğu ve *in vitro* olarak güçlü sitostatik ve anti-anjiogenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada, apigenin, protein kinazın inhibitörü olarak ve insan göğüs kanseri hücrelerinin proteazomal degradasyonu boyunca apoptozis indüklenmesinde bir bileşen olarak bulunmuştur. Son dönemlerde yapılan bir çalışmada, apigenin'in insan prostat kanserinde kanser ilerlemesine bağlı hipoksi-aktive edilmiş yolları inhibe ettiği bulunmuştur (Repçak ve Krausova 2009).

Mulinacci ve ark.ları (2000) bitkinin çiçeklerinde sinnamik asit türevleri olan kafeik asit ve ferulik asit'in çok miktarda (%39,1) bulunduğunu rapor etmiştir.



**Şekil 2-14: *M. chamomilla* bitkisinde başlıca bulunan flavonozitin kimyasal yapısı**

### 2.2.3.2. Kumarinler

Yapılan bir çalışma, herniarin ve umbelliferon kumarinlerinin total bileşenlerinin yaklaşık %0,1'ini oluşturduğunu göstermiştir. Bitkide bulunan herniarin umbelliferonun metil eteridir (Şekil 2-15). Flavonoitler ve fenolik bileşikler gibi bu bileşikler de sıcak suda çözünmektedir, infüzyon ya da çayın sık tüketiminde elde edilen miktarları göz ardı edilemeyecek seviyededir (Barnes ve ark. 2007; Mckay ve Blumberg 2006).



Diğer çalışmalarda, herniarinin antimikrobiyal, antifungal, zayıf antispazmodik ve belirgin antienflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Repcak ve Krausova 2009; Monograph 2008; McKay ve Blumberg 2006).



**Şekil 2-15: *M. chamomilla* bitkisinin içerdiği kumarinlerin kimyasal yapısı**

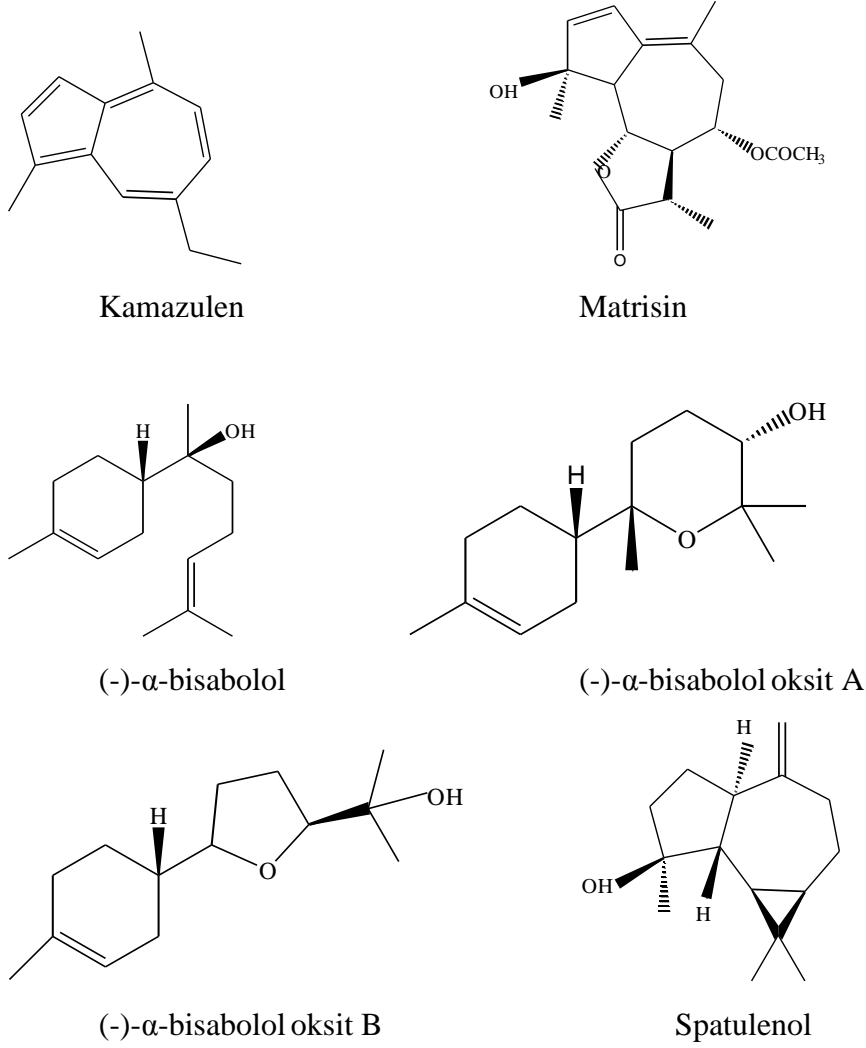
### 2.2.3.3. Uçucu yağlar

Bitki çiçek başlarından elde edilen uçucu yağ % 0,4-2,0'dır. Uçucu yağ, kamazulen, bisabolol türevleri ve asetilenik bileşiklerce zengindir. Uçucu yağda bulunan diğer bileşikler ise (-)- $\alpha$ -bisabolol oksit A ve B, (-)- $\alpha$ -bisabolon oksit A, spiroeterler, seskiterpenler, kadinen, farnesen, furfural, spatulenol ve proazulenler (matrisin ve matrikarin)'dir (Şekil 2-16) (Gruenwald ve ark. 2007; Çubukçu ve ark. 2002; Gardiner 1999; Barnes ve ark. 2007).

Uçucu yağın açık mavi rengi kamazulenden dolayıdır. Kamazulen bitkide tek başına bulunmaz, buhar distilasyonu sırasında seskiterpen laktonu (matrisin)'nden oluşmaktadır (Evans 2002). Kamazulenin, antienflamatuvar, antioksidan, antialerjik ve antispazmodik etkileri vardır (Gruenwald ve ark. 2007).

Başka bir çalışma, kamazulen,  $\alpha$ -bisabolol, flavonoidler ve umbelliferonun, *Trichophyton mentagrophytes* ve *T. rubrum*'a karşı antifungal özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Diğer bir çalışma azulenlerin (kamazulen, prokamazulen ve gayazulen), pituiter ve böbrek üstü bezinde, kortizon salımını yükselterek ve histamin salımını azaltarak antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Monograph 2008).

Bisabolol, sindirim sistemi düz kaslarında spazmolitik etkilidir ve antiinflamatuvar, antibakteriyel, antipiretik, ülser-koruyucu ve antifungal özellikleri vardır (Gardiner 1999; Monograph 2008; Kamatou ve Viljoen 2010).



Şekil 2-16: *M. chamomilla* bitki uçucu yağının içerdiği seskiterpenlerin kimyasal yapısı

#### 2.2.3.4. Diğer Bileşenler

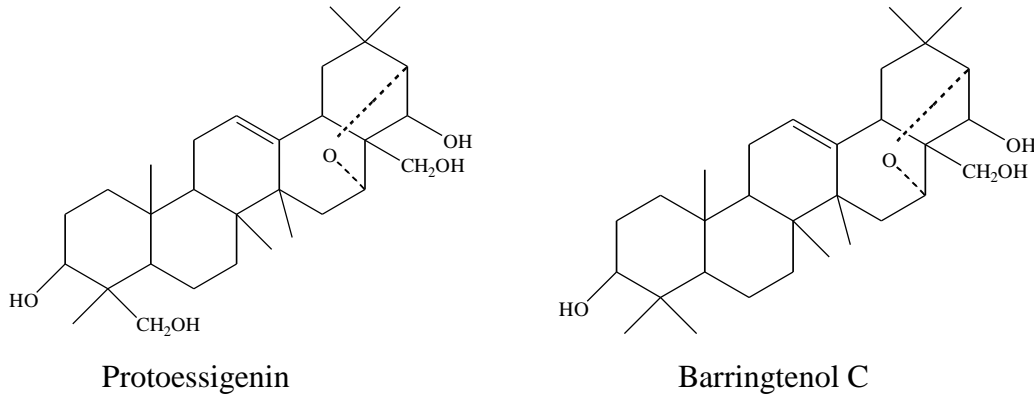
Bitkide bulunan diğer bileşenler, aminoasitler, antemik asit, kolin, polisakkaritler, bitki ve yağ asitleri, tanen ve triterpen hidrokarbonlardır (triakontan) (Barnes ve ark. 2007).

## 2.2.4. A. *hippocastanum* Bitkisinin Kimyasal Bileşimi

Bitkide triterpenik saponozitler, steroller, flavonoidler, fenolik bileşikler (kumarinler) ve diğer bileşikler (fitosteroller, kateşin tanenler, adenin, adenosin, guanin, lizin, triptofan), yağ asitleri (başlıca oleik, linoleik, linolenik, stearik ve palmitik asit), nişasta, şekerler ve proteinler bulunmaktadır (Wilkinson ve Brown 1999; Bruneton 1999; Gruenwald ve ark. 2007; Barnes ve ark. 2007; ESCOP 2003).

### 2.2.4.1. Triterpenik Saponozitler

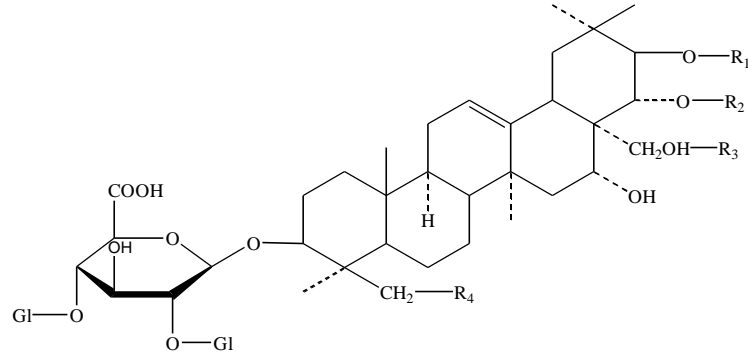
*A. hippocastanum* bitkisinin tohumlarında saponinlerin otuzdan fazlası triterpenik yapıda olup bunlar başlıca protoessigenin ve barringtonol C türevlerinden oluşmaktadır (Şekil 2-17) (Tanker ve Tanker 1998; Bruneton 1999; ESCOP 2003; Gruenwald ve ark. 2007).



Şekil 2-17: *A. hippocastanum* bitkisinde bulunan triterpenik saponozit kimyasal yapısı

Essinler çoğunlukla tohum kotiledonlarında, kuru tohumların da ağırlıkça % 28'ine kadar ulaşabilen miktarlarda bulunurlar. Ayrıca tohum zarında, kabukta, yapraklarda, tomurcukta ve olgunlaşmamış meyve perikarpında da essin varlığı tespit edilmiştir (Wilkinson ve Brown 1999). *A. hippocastanum*'un embriyo ve kaliksinden High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile hesaplanmış essin miktarının, tohumdaki miktara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Profumo ve ark. 1991).

*A. hippocastanum* bitkisinde bulunan essinin kimyasal yapısı Şekil 2-18'de verilmektedir.



|         | R <sub>1</sub>                                   | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|---------|--|----------------|----------------|----------------|
| β-essin | Tiglik, anjelik, izobütirik, α-metilbütirik asit | Asetil         | -H             | -H veya -OH    |

Şekil 2-18: *A. hippocastanum* bitkisinde bulunan essin'in kimyasal yapısı

#### 2.2.4.2. Triterpen Alkoller ve Esterler

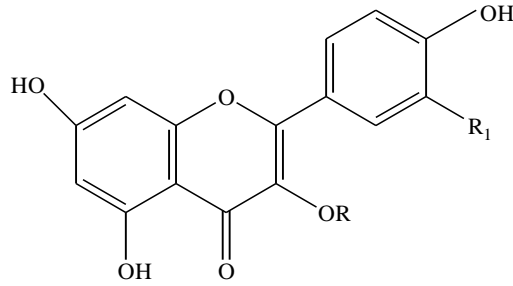
*A. hippocastanum* tohumlarından elde edilen triterpen alkol yapısında olan tarakserol, butirospermol ve α- ve β-amirin, parkeol, 5α-tirukalla-8,23-dien-3β-ol ve 24-metilsikloartenol tayin edilmiştir (Stankovic ve ark. 1985).

#### 2.2.4.3. Steroller

*A. hippocastanum* tohumlarından kampesterol, stigmasterol, sitosterol, spinasterol, α-spinasterol ve stigmastadienol, δ-7 steroller, δ-5 steroller, 4-metilsteroller, 4-α-metillergosta-8,24(28)-dien-3β-ol, obtusifoliol, sikloökalenol, gramisterol ve sitrostadienol izole edilmiştir (Stankovic 1984; 1985; ESCOP 2003).

#### 2.2.4.4. Flavonoitler

Bitkide çeşitli flavonoitler bulunmaktadır, bunlar başlıca kersetin ve kemferol heterozitleri, astragalin (kemferol-3-O-glikozit), kersitrin, izokersitrin (kersetin-3-glikozit), lükosiyanidin (3, 3', 4, 4', 5, 7 heksahidroksiflavon) ve rutin (kersetin-3-rutinozit), lükodelfinidin ve kateşol tanenleri tespit edilmiştir (Şekil 2-19) (Wilkinson ve Brown 1999; Bruneton 1999; Matysik ve ark. 1994; ESCOP 2003; Gruenwald ve ark. 2007; Barnes ve ark. 2007).

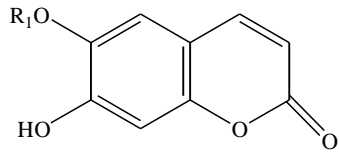


| Flavonoitler           | R        | R <sub>1</sub> |
|------------------------|----------|----------------|
| Rutin                  | Rutinoz  | -OH            |
| Kersitrin              | Ramnoz   | -OH            |
| İzokersitrin           | Glikoz   | -OH            |
| Kersetin 3-arabinozit  | Arabinoz | -OH            |
| Kemferol 3-O-rutinozit | Rutinoz  | -              |
| Kemferol 3-O-ramnozit  | Ramnoz   | -              |
| Astragalin             | Glikoz   | -              |
| Kemferol 3-arabinozit  | Arabinoz | -              |

Şekil 2-19: *A. hippocastanum* bitkisinde bulunan flavonoitlerin kimyasal yapısı

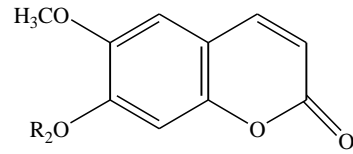
### 2.2.4.5. Fenolik Bileşikler

*A. hippocastanum* gövde kabuklarında kumarin yapısında olan eskuletin, skopoletin, fraksetin, eskuletin glikoziti (eskulin), skopoletin glikoziti (skopolin) ve fraksetin glikoziti (fraksin) bulunmaktadır (Şekil 2-20) (Wilkinson ve Brown 1999; Bruneton 1999; Matsyik ve ark. 1994; Gruenwald ve ark. 2007; Barnes ve ark. 2007).



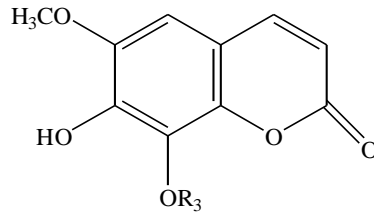
$R_1 = H$  Eskuletin

$R_1 = \text{Glikoz}$  Eskulin



$R_2 = H$  Skopoletin

$R_2 = \text{Glikoz}$  Skopolin



$R_3 = H$  Fraksetin

$R_3 = \text{Glikoz}$  Fraksin

**Şekil 2-20: *A. hippocastanum* Kabuk ve Yapraklarından İzole Edilen Kumarin ve Kumarin Glikozitleri**

### 2.2.4.6. Diğer Bileşikler

Bitkide bulunan diğer bileşikler; fitosteroller, kateşin tanenler, adenin, adenozin, guanin, lizin, triptofan, yağ asitleri (başlıca oleik, linoleik, linolenik, stearik ve palmitik asit), nişasta, şekerler ve proteinler'dir (Bruneton 1999; ESCOP 2003; Gruenwald ve ark. 2007; Barnes ve ark. 2007; Wilkinson ve Brown 1999).

*A. hippocastanum* tohumları ağırlıkça % 40–50 oranında nişasta, şeker, protein (globulin, hipokastanin), yağ asitleri (oleik, linoleik, linolenik, stearik, palmitik, laurik, miristik ve araşidik asit) ve aminopurinler (adenozin, adenin, guanin, ürik asit) içermektedir (Bruneton 1999; Wilkinson ve Brown 1999; Srijayanta ve ark. 1999).

*A. hippocastanum* polenlerinde eskulaksantin, eskulaksantol, lutein ve  $\beta$ -sitraurin isimli karotenoitler de bulunmaktadır (Deli ve ark. 1998).

## 2.3. Farmakolojik Bölüm

Bu bölümde çalışma konumuz olan *H. perforatum*, *C. officinalis*, *M. chamomilla* ve *A. hippocastanum* bitkilerinin antimikrobiyal, antioksidan, yara iyileştirici ve diğer etkileri ile ilgili yapılan çalışmaların bazıları özetlenmiştir.

### 2.3.1. *Hypericum perforatum* L. Bitkisinin Farmakolojik Etkileri

*H. perforatum* bitkisi, antik Yunan ve Roma dönemlerinden beri geleneksel tıpta yara iyi edici ve antienflamatuvar ajan olarak, ülser, diyabet, soğuk algınlığı, gastrointestinal rahatsızlıklar, sarılık, karaciğer ve safrayla ilgili rahatsızlıklara karşı kullanılmaktadır. Bugünlerde bitki geniş çapta antidepresan ilaç olarak Avrupa ve Amerika'da kullanılmaktadır (Kalogeropoulos ve ark. 2010; Baytop 1999; Öztürk ve ark. 2007).

Türkiye'de halk arasında çok iyi bilinen bitkinin topraküstü kısımları, dalları, yaprakları, çiçekleri, meyveleri ve tohumları dahilen iştah açıcı, yatıştırıcı, spazm giderici, ishal kesici ve kurt düşürücü olarak; ülser, hemoroit gibi hastalıkların tedavisinde; mide, bağırsak ve böbrek rahatsızlıklarında; karın ve mide ağrısında; prostat, sistit ve bazı kadın hastalıklarında; romatizma, bademcik ve soğuk algınlığı gibi rahatsızlıklarda; nefes darlığı, verem ve akciğer kanseri tedavisinde; kan dolaşımı bozukluklarında kullanılmaktadır. Ayrıca öksürük giderici ve balgam söktürücü olarak veya idrar söktürücü olarak da yararlanılmaktadır. Haricen, yara-yanık iyi edici olarak, romatizma, kas ve eklem ağrılarına karşı da kullanıldığı kayıtlıdır (Baytop 1999; Çubukçu ve ark. 2002; Demirezer ve ark. 2007; Tanker ve Tanker 1991; ESCOP 2003).

Resmi monograflar, *H. perforatum* toprak üstü kısımlarının ve ekstrelerinin, ilaç olarak depresyona, ülsörlere, dispepsiye, abdominal ağrılara, yanıklara, bakteriyel enfeksiyonlara, migrene, başağrılarına ve siyatik ağrısına karşı kullanıldığını göstermektedir (Süntar ve ark. 2009).



*H. perforatum* bitkisi çeşitli Avrupa ülkelerinde haricen cilt yaraları, egzema ve yanıklarda dahilen merkezi sinir sistemi ve beslenmeye ait sistem rahatsızlıkları için geleneksel tıpta kullanılmaktadır. *Hypericum* dünya çapında en çok kullanılan antidepresandır. Pek çok çalışma *H. perforatum* çiçek ekstralarının antidepresan, antiviral, yara iyileştirici, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiğini açıklamıştır (Reichling ve ark. 2001; Giotti ve ark. 2009; Chen ve ark. 2009; Conforti ve ark. 2005).

Bitkinin *in vitro* olarak iyi bir antioksidatif aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu nedenle *H. perforatum* gelecek vaat eden doğal bir antioksidan kaynak olarak görülmektedir (Chen ve ark. 2009).

Ticari olarak kullanılan *H. perforatum* bitkisinden üretilen ürünler, fitofarmasötikler ve nutrasötikler, çaylar, tentürler, sular ve yağlı maseratlardır. Bitki antidepresif ve yara iyileştirici özelliklerinden dolayı bitki çayı ya da gıda desteği olarak kullanılmaktadır (Silva ve ark. 2005; Germ ve ark. 2010).

Çeşitli ülkelerde, *H. perforatum* oral ve topikal olarak yaraların iyileşmesinde geleneksel olarak kullanılır. Depresyon, anksiyete, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ajan ve yara iyileştirici etkileri gibi geniş oranda terapötik etkileri ile önemli tıbbi bir bitkidir (Samadi ve ark. 2010).

Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan *H. perforatum*, Amerika bitki farmakopesi, Amerika Farmakopesi, Alman drog kodeksi, Alman farmakopesi, Çek Cumhuriyeti, Polonya, Fransa, Romen, Rus farmakopelerinde, İngiliz bitki farmakopesinde, Almanya'da Komisyon E ve ESCOP monograflarında yer almaktadır (Demirezer ve ark. 2007; ESCOP 2003).

*H. perforatum* bitkisinin çok çeşitli farmakolojik etkileri bulunmaktadır. Bitkinin antimikrobiyal, antioksidan, yara iyileştirici ve diğer pek çok etkileri ile ilgili çalışmalardan bazıları takip eden sayfalarda özetlenmiştir.

### 2.3.1.1. Antimikrobiyal Etkisi

Bu çalışmada, Balkanlarda doğal olarak yetişen 9 *Hypericum* türünün (*H. barbatum*, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. olympicum*, *H. perforatum*, *H. richeri*, *H. rumeliacum* ve *H. tetrapterum*) metanollü ekstresinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi *in vitro* olarak fosfomolibden metodu ve standardize bakteri ve mantar paneline karşı disk difüzyon metodu kullanılarak incelenmiştir. Tüm ekstreler, geniş spektrum göstererek güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Total antioksidan kapasitesi sonuçları, çalışılan *Hypericum* türlerinin metanollü ekstresinin önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. *H. perforatum* çiçeklerinin total metanol ekstresi en yüksek antioksidan kapasite göstermiş. Bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesinin total metanol ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin bitki organlarındaki flavonoidlerin dağılımı ile ilişkili olduğu görülmüştür (Radulovic ve ark. 2007).

İtalya'da Kalabriya ve Sardunya'da doğal olarak yetişen *Hypericum perforatum* bitkisinin biyolojik aktivitesi ve kimyasal bileşimi çalışılmıştır. Kalabriya'da yetişen bitkinin metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi, Sardunya'da yetişen bitki ekstresinden daha etkili bulunmuştur. Metanollü ekstrelerin, 50 µg/ml MIC (Minimum Inhibitor Concentration) değeri ile gram pozitif ve gram negatif bakterilere (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e en önemli aktivite) karşı antibakteriyel aktivitesi vardır. Ayrıca ekstrelerin antifungal aktivitesi test edilmiş ve özellikle fitopatojen mantar *Pythium ultimum*'a karşı etkili olduğu görülmüştür. Sonuçların değişkenliği kimyasal-fiziksel özellikler, toprağın bileşimi, coğrafik koşullar, yükseklik ve güneş ışınlarına maruz kalma gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Fitokimyasal analizler ve biyolojik aktivite sonuçları, *H. perforatum* ekstrelerinin gıda, kozmetik ve farmasötik alanlarda kullanımını önermektedir (Conforti ve ark. 2005).

*H. perforatum* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarının petrol eteri ekstresinin, gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğu rapor edilmiştir. Floroglusin türevi olan hiperforin antimikrobiyal özellik göstermiştir. Hiperforin, 1,0 µg/ml MIC değeri ile metisiline dirençli *S. aureus*'a karşı çok iyi etki göstermiştir. Bitkinin bütanol fraksiyonu, 15,6 ve 31,2 µg/ml MIC değerleri arasında anti-*Helicobacter pylori* aktivitesi göstermiştir. Son zamanlarda *H. perforatum* çaylarının sulu çözeltisinin, *S. aureus* (MIC değerleri: 1,3 –

2,5 mg bitki/ml)'un metisiline dirençli türlerine karşı özel aktivite ile gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur (Reichling ve ark. 2001).

*H. perforatum* bitkisinin antibakteriyel etkisi üzerinde yapılan başka bir çalışmada bitkinin çiçekli ve kuru meyveli kısmının petrol eteri ve aseton ekstresinin *S. aureus*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur (Reichling ve ark. 2001). Diğer bir çalışmada, bitkinin çiçekli topraküstü kısımlarının petrol eteri, metanol, kloroform ve su ile ekstraları hazırlanmıştır. Bitkinin petrol eterli ekstresi, *S. aureus*, *S. oxford*, *Streptococcus mutans* ve *S. sanguis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Proteus vulgaris*'e karşı, kloroform ekstresi *S. oxford*, *S. aureus* ve *S. mutans*'a karşı, metanol ekstresi *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. oxford* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Sulu ekstre ise sadece *S. oxford*'a karşı etkili bulunmuştur. Sonuçlar organik çözücülerin antibakteriyel bitki içeriklerinin ekstraksiyonu sudan daha uygun olduğunu göstermiştir (Barbagallo ve Chisari 1987).

Rusya'da, *H. perforatum*'un aseton ekstresinin bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için klinik olarak kullanılmaktadır. Bu ekstre yaygın olarak Novoimanin isimli antibiyotik preparat olarak kullanılmaktadır (Reichling ve ark. 2001). Rus bilim adamları yaptıkları bir çalışmada, aseton ekstresinin antibakteriyel etkili ana maddesi olarak hiperforini izole etmiş ve teşhis etmiştir. Hiperforinin gram pozitif bakterilere karşı çok etkili olduğunu bulmuşlardır. 1,0 µg/ml konsantrasyonda hiperforinin, *S. aureus* ve *Sarcinia lutea*'ya karşı çok etkili olduğu gösterilmiştir (Bystrov ve ark. 1975; Gurevich ve 1971).

Schempp ve ark. (1999), hiperforinin antibakteriyel etkisi üzerinde yaptıkları çalışmada 1,0 µg/ml MIC değeri ile *S. aureus*'un çok dirençli türlerine karşı etkili olduğunu ilk defa rapor etmişlerdir.

Türkiye'de *H. perforatum* preparatları halk arasında mide ağrısı ve peptik ülser gibi gastrik rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Peptik ülserin patogeneğinde *Helicobacter pylori*'nin rolü iyice anlaşılmıştır. Yeşilada ve ark. (1999) *H. perforatum* çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstralar ve fraksiyonlarının standart ve klinik *H. pylori*

izolatlarına karşı anti-helicobacter aktivitesini tayin etmişlerdir. Ekstreler 1,95 – 250 µg/ml arasındaki MIC değerlerinde aktivite göstermiştir.

Hiperisin içeren merhemlerin, bakteriyel cilt enfeksiyonları ve ülserleri tedavi ettiği ile ilgili çalışmalar vardır. Hiperisinin antibakteriyel etkisinin, güneşten yayılan ışığın eşzamanlı etkisi ile direkt olarak ilgili olduğu gözlenmiştir (Reichling ve ark. 2001).

Pek çok Avrupa ülkesinde, *H. perforatum*'dan yapılan çay ya da sulu ekstre, yüzeysel yanıklar, yaralar ve egzema, özellikle mide rahatsızlıkları ve mukoz membranda iritasyonun tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, bitkiden filtre edilerek yapılmış çayın antimikrobiyal etkisi broth mikrodilüsyon metodu ile incelenmiştir. 3 g ya da 18 g filtre edilmiş çay 150 ml kaynayan suya konmuştur. 10 dk sonra çay süzülerek alınmıştır. Çaylar, gram pozitif bakterilere karşı çok iyi antibakteriyel etki göstermiştir. Çalışma sonuçlarında Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'a karşı, süzülen çay preparatlarının üstün antibakteriyel etkisi göze çarpmaktadır (Reichling ve ark. 2001).

Yapılan bir çalışmada, *H. perforatum* ile tedavi edilen depresyon hastalarında *S. aureus*'un, antibakteriyel etkili olduğu bilinen hiperforine karşı resistans geliştirebileceğini düşünerek bu durumun hiperforinin ileriki dönemde antibiyotik olarak kullanılmasını engelleyebileceği fikri ortaya atılmıştır. Bu doğrultuda yapılan çalışmada, antidepresan amaçlı kullanılan *H. perforatum*'un 900 mg/gün'lük dozunun yaklaşık 100 ng/ml hiperforin içerdiğini göz önünde bulundurulmuş ve *S. aureus* suşları üzerinde yapılan deneylerle sonuçlar yorumlanmıştır. *H. perforatum* ile tedavi gören hastalardaki hiperforin konsantrasyonunun, *S. aureus*'un hiperforine karşı direnç geliştirmesine neden olacak düzeyde olmadığı saptanmıştır. Hiperforin metabolitlerinin etkisinin de araştırılması amacıyla benzer bir klinik çalışmanın yapılmasının gerekliliği vurgulanmıştır (Hubner 2003).

Yaralar, cilt ve enfeksiyöz hastalıkları tedavi etmek için geleneksel tıptaki *H. perforatum* bitkisinin kullanımını destekleyen, bitkinin topraküstü kısımlarının ekstresinin *in vitro* antibakteriyel etkisi ile ilgili pek çok sayıda çalışma vardır.

*Hypericum* ekstreleri, *Staphylococcus*, *Shigella* ve *Escherichia coli*'ye karşı dekoksionlarından daha etkilidir ve gram pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilerden daha belirgin aktivite göstermiştir (Saddiqe ve ark. 2010).

Medina ve ark.'nın, yaptıkları bir araştırmada, *H. perforatum*'un gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ancak gram negatif bakterilerin gelişimi üzerinde herhangi bir inhibitör etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir (Medina ve 2006).

Mazandarani ve ark.ları (2007) *H. perforatum* çiçekli toprak üstü kısımlarının etanollü ekstrelerinin, 25-26 mm aralığında büyüme-inhibisyon zonları ile Gram pozitif bakterilere (*Enterococcus faecalis* ve *S.aureus* PTCC 112) karşı gram negatif bakterilerden (*Salmonella typhi* PTCC 1595, *Shigella dysenteriae* PTCC 1188, *Yersinia enterocolitica* PTCC 1151, *E.coli* PTCC 1330 ve *Pseudomonas aeruginosa* PTCC 1704) daha yüksek antibakteriyel aktivitesi olduğunu rapor etmiştir.

Yapılan bir çalışmada su, %10 ve %30 su/etanol (h/h) çözeltileri ile hazırlanan *H. perforatum* ekstrelerinin insan kalın bağırsağından izole edilmiş 4 test bakterisi, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus plantarum* ve *E coli*'ye karşı antagonistik özellikleri değerlendirilmiştir. En yüksek inhibitör özellik %30 etanol çözeltisi ile gözlenmiştir (Saddiqe ve ark. 2010).

Molochko ve ark. (1990), farklı çözücü kombinasyonlarında *H. perforatum* ekstrelerinin (su/alkol/glisierol, WAG; su/alkol, WA; ve alkol/glisierol, AG ekstreleri) anti-stafilokokal aktivitelerini, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'e karşı analiz etmişler ve bunları cildi enflamatuvar rahatsızlığı olan hastalardan izole etmişlerdir. Sonuç olarak, WAG (su/alkol/glisierol) ekstresi en etkili bulunmuştur.

Meral ve Karabay (2002), *H. perforatum* metanollü ekstresinin 1000 µg/ml konsantrasyonda gram pozitif (*S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* 65381/P, *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *E. faecalis* ATCC 29212) ve gram negatif (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. cloacae* ATCC 13047, *E. coli* ATCC 29998 ve *E. coli* ATCC 8737) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesini rapor etmiştir.

Yapılan bir çalışmada, %10 amonyak çözeltisi ve %70 etanol ile ekstre edilen *H. perforatum* preparatlarının hastalanmış hayvanlardan elde edilen gram pozitif bakteriler (*S. aureus* ve *S. pyogenes*) ve gram negatif bakterilerin (*Pasteurella haemolytica*, *E. coli* ve *P. vulgaris*) büyümesi üzerine antimikrobiyal etkilerini çalışmışlardır. Ekstreler 1:4 – 1:160 oranlarındaki dilüsyonda aktivite göstermiştir (Saddiçe ve ark. 2010).

Borchardt ve ark. (2008) *H. perforatum* ekstrelerinin antibakteriyel etkisi üzerine mevsimsel değişikliklerin etkilerini tayin etmişlerdir. Dondurulmuş bitki materyalinden hazırlanan *H. perforatum* bitkisinin sulu etanollü ekstresinin antimikrobiyal etkisi, bir gram pozitif (*S. aureus* ATCC 12600) ve iki gram negatif (*E. coli* ATCC 8677 ve *P. aeruginosa* ATCC 9721) bakteriyel türlerine karşı çalışılmıştır. Ekstreler, tüm test edilen türlere karşı aktivite göstermiştir. Çalışma, antimikrobiyal aktivitenin derecesinin bitkinin toplanma zamanından etkilendiğini göstermiştir. Temmuz'da toplanan örnekler antimikrobiyal aktivite göstermemiş, ancak Ağustos'ta toplanan örnekler aktif bulunmuştur. Bu sonuçlar, fitokimyasal üretimin mevsimsel değişikliğinin bu türde meydana geldiğini göstermektedir.

*H. perforatum* bitki ekstrelerinin *S. aureus*'un metisiline dirençli ve hassas türlerine karşı olan antimikrobiyal aktivite ile ilgili yapılan çalışmalarda; *H. perforatum* bitkisinden perkolasyon metodu ile elde edilen sulu ve etanollü ekstrelerin antibakteriyel aktivitesini metisiline dirençli (MRSA) ve duyarlı (MSSA) *S.aureus*'un 14 klinik ve standart türlerine karşı tayin etmişlerdir. Sonuçlar etanollü ekstrenin sulu ekstreten daha iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve etanollü ekstrenin anti-stafilokokal aktivitesinin MRSA'ya karşı MSSA'dan daha yüksek olduğunu göstermiştir (Dadgar ve ark. 2006; Saddiçe ve ark. 2010).

Yapılan bir çalışmada, *H. perforatum* uçucu yağlarının mikrobiyolojik etkisini disk difüzyon metodu kullanarak test etmişlerdir. Uçucu yağ, test edilen mikroorganizmalara (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteridis*, *Sarcina lutea* 9341, *S. aureus* 6538, *E.coli* 95, *B. subtilis* "S" ve *B.subtilis* 841) karşı mikrobiyolojik aktivite göstermiştir (Gudzic ve ark. 1997).

*H. perforatum* bitkisinin antibakteriyel aktivitesi ile ilgili yapılan *in vivo* çalışmada, Zakharova ve ark. (1986), hayvanların doğal immünite indeksleri üzerine bitkinin etkisini çalışmışlardır. *H. perforatum* yaprak ekstresinin farelerde *S. aureus* ve *Bordetella pertussis*'e karşı immüniteyi (daha dirençli hale getirerek) arttırdığını bulmuşlardır.

*H. perforatum* bitkisinin antibakteriyel etkili başlıca bileşiği olan hiperforin ile ilgili yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Hindistan'da 1950'li yıllarda *H. perforatum* bitkisinin çeşitli kısımlarının antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmış ve antibakteriyel özellikte hiperforin (tetraketon) izolasyonu yapılmıştır. Daha sonraki çalışmalar bu bileşiğin antidepresan özelliği olduğunu göstermiştir. Bileşiğin kimyasal yapısı 1975 yılında açıklanmıştır. Hiperforinin ayrıca Novoimanin'in başlıca antibiyotik bileşeni olduğu da rapor edilmiştir (Gaind ve Ganjoo 1959; Schemmp ve ark. 1999; Chatterjee ve ark. 1998; Bystrov ve ark. 1975; Gurevich ve ark. 1971; Saddiqe ve ark. 2010;).

Diğer bir çalışmada *H. perforatum*'dan deoksihiperforin, furohiperforin, furoadhiperforin, furohiperforin A, piranohiperforin gibi hiperforin türevi bileşikler izole edilmiş ve gram pozitif bakterilerden *S. aureus*, *B. subtilis* spor formu, gram negatif bakterilerden *E. coli* ve mantarlardan *C. albicans*'a karşı agar difüzyon metoduyla antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır. Gram negatiflere ve gram pozitiflerden *B. subtilis* spor formuna karşı hiçbir bileşik etki göstermezken *S. aureus*'a karşı furohiperforin A etki göstermiştir. *C. albicans*'a karşı hiperforinin ve furohiperforinin etkili olmadığı görülmüş, ancak metabolitlerinden piranohiperforinin anlamlı, furohiperforin A'nın ise zayıf etki gösterdiği saptanmıştır (Vajs ve ark. 2003).

Agar-dilüsyon metodu kullanarak yapılan bir çalışmada, hiperforinin gram pozitif bakteriler ile metisiline ve penisiline dirençli *S.aureus* (1-100µg/ml) içeren test edilmiş tüm türlerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir (Fiebich ve ark. 1999; Saddiqe ve ark. 2010).

Avato ve ark. (2004), *H. perforatum* toprak üstü kısımlarının farklı ekstrelerinin (metanol, petrol eteri, kloroform ve etil asetat) seçilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Etil asetat fraksiyonunun en etkili olduğunu bulmuşlardır. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) analizleri ile tayin edilen bu ekstrenin başlıca bileşenlerinin flavonoidler, hiperisin ve hiperforin olduğunu göstermişlerdir. Seçilmiş mikroorganizmaların saf kimyasallar ile inkübasyonu, hiperisin, hiperforin ve stabil disikloheksilamonyum tuzu tarafından büyümelerinin önemli inhibisyonu ile sonuçlanmıştır.

*H. perforatum* bitki uçucu yağı, ekstresi ve izole edilen flavonoidleri ile yapılan antifungal aktivite çalışmalarından bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Yapılan bir çalışma, *H. perforatum* bitkisinin alkollü ekstresinin suda çözünen fraksiyonu ve uçucu yağının antifungal aktivitesini çalışmışlardır. Her iki fraksiyonun da *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata* ve *Fusarium vasinfectum*'a karşı antifungal etkili olduğu gösterilmiştir. Sıcak sulu ekstrenin inhibisyon indeksi *M. gypseum* ve *T. rubrum* için 10 mg/ml (MIC) ve diğerleri için 6 mg/ml'dir. Uçucu yağ test edilen tüm türlerde inhibisyon göstermiştir. Diğer bir çalışmada, bitki uçucu yağının *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu ancak *C. albicans*'a karşı etkili olmadığı gösterilmiştir (Khosa ve Bhatia 1982; Gudziec ve ark. 1997; Saddique ve ark. 2010).

Milosevic ve ark. (2007), *H. perforatum* bitkisinin etanol ekstresinin antifungal aktivitesini spor sayma metodu kullanarak 5-45 mg/ml konsantrasyonlarda *Fusarium oxysporum* ve *Penicillium canescens*'e karşı incelemişlerdir.  $1 \times 10^2$  CFU/ml sporun başlangıç inokulasyonu ile *P. canescens* için 15 spor ve *F. oxysporum* için 5 spor olarak sporlarda azalma ile ekstre 45 mg/ml konsantrasyonda çok büyük fungustatik aktivite göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, dilüsyon (MIC) ve mikroskopik metotlar kullanarak *P. canescens* ve *F. oxysporum*'un büyümesini inhibe etmede *H. perforatum* etanol ekstresinin etkisini çalışmışlardır. İki mantar türü için ekstrenin MIC değeri 10 mg/ml'dir. Mikroskopik metot, ekstre konsantrasyonundaki yükselmenin her iki



mantarın (*P. canescens* % 62; 0-45 mg/ml konsantrasyon aralığında ekstre ile spor sayısı 104'den 40 CFU/ml'ye düşmüş) ve (*F. oxysporum* %72; 0-45 mg/ml konsantrasyon aralığında ekstre ile spor sayısı 100'den 24 CFU/ml'ye düşmüş) sporlarının sayısında bir azalma yaptığını göstermiştir. Sonuç olarak *H. perforatum* ekstresinin yüksek konsantrasyonları antifungal etki göstermiştir (yüksek ekstre konsantrasyonu ile daha yüksek antifungal etki sağlanmıştır) (Maskovic ve Solujic 2009).

Yan-Hua ve ark.ları (2002), *H. perforatum* toprak üstü kısımlarından izole edilen 6 bilinen flavonoitin; kersitrin, hiperozit, avikularin, rutin, kersetin ve kemferol ve yeni bir flavonol glikoziti 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allozit'in antifungal aktivitesini değerlendirmiştir. Tüm bileşiklerin antifungal deneyleri sonucunda, 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allozit, kersitrin ve kersetin'in fitopatogenik mantar olan *Helminthosporium sativum*'un büyümesinde sırasıyla MIC değeri 25, 50 ve 100 µg/ml ile inhibitör olduğunu göstermiştir. Bundan başka, 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allozit ve kersitrinin MIC değeri 100 µg/ml ile *Fusarium graminearum*'un büyümesini de inhibe ettiği gösterilmiştir.

*H. perforatum*'un antiviral aktivitesi üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bir çalışmada *H. perforatum*'un total metanol ekstresi ve fraksiyonlarının gansiklovire karşı Human Cytomegalo Virüs (HCMV)'e etkisi incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında bir fraksiyon hariç tüm fraksiyonların ve total metanol ekstresinin antiviral etkiye sahip olduğu görülmüştür (Buttke ve Sandstrom 1994).

### 2.3.1.2. Antioksidan Etkisi

*H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarının metanol, etanol ve sulu ekstralarının, bioaktif bileşenleri açısından bileşimini ve antioksidan aktivitesini tayin etmek için çalışılmıştır. Sonuçlar, gelişme fazında tomurcukların bitkinin çiçeklerinden daha yüksek konsantrasyonda hiperforin ve karşılaştırılabilir konsantrasyonda da hiperisin ve psödohipersin içerdiğini göstermiştir. Çalışılan çeşitli bitki fraksiyonları arasından,

filizler ve dallar yüksek fenolik içeriklerinden dolayı önemli antioksidan aktivite göstermiştir. HPLC-DPPH antioksidan aktivite ölçümü ile ekstrelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) antioksidan aktivitesinin ölçümü, bu antioksidan özelliğın hiperforin, adhiperforin ve analoglarından kaynaklandığını göstermiştir (Gioti ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışmada, Balkanlarda doğal olarak yetişen 9 *Hypericum* türünün (*H. barbatum*, *H. hirsutum*, *H. linarioides*, *H. maculatum*, *H. olympicum*, *H. perforatum*, *H. richeri*, *H. rumeliacum* ve *H. tetrapterum*) metanol ekstrelerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri *in vitro* olarak fosfomolibden metodu ve standardize bakteri ve mantar paneline karşı disk difüzyon metodu kullanılarak incelenmiştir. Tüm ekstreler, geniş spektrum göstererek güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Total antioksidan kapasitesi sonuçları, çalışılan *Hypericum* türlerinin metanol ekstresinin önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. *H. perforatum* çiçeklerinin total metanol ekstresi en yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesinin total metanol ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin bitki organlarındaki flavonoidlerin dağılımı ile ilişkili olduğu görülmüştür (Radulovic ve ark. 2007).

Diğer bir çalışmada *H. perforatum*, *H. sampsonii* ve *H. japonicum* toprak üstü dokularında antioksidan içerikleri, antioksidan enzimleri ve aktiviteleri incelenmiştir. Sıcak hava ile kurutulmuş *H. perforatum* materyalleri, dondurularak kurutulan ve taze materyale göre daha fazla tiyol (208,7  $\mu\text{mol/g}$  kuru ağırlık) ve fenolik madde (352,82  $\text{mg/g}$  kuru ağırlık) içermektedir. *H. perforatum* toprak üstü dokularında antioksidan enzimlerin aktivitesi her iki kurutma şeklinde de azalmıştır. Bununla birlikte dondurularak kurutulmuş *H. perforatum*, dondurularak kurutulmuş ve sıcak hava ile kurutulmuş dokulardan ölçülen antioksidan enzimler arasında en yüksek süper oksit dismutaz aktivitesi içermektedir. Sonuçlar *H. perforatum*'un *in vitro* olarak iyi antioksidatif aktiviteye sahip olmasıyla üstünlüğünü doğrulamıştır (Chen ve ark. 2009).

*H. perforatum* bitkisinin etanollü ekstresinin, süperoksit radikal süpürücü, -OH radikal yakalama, demir-şelasyon, indirgenmiş glutatyon ve demir sülfat ( $\text{FeSO}_4$ ) indüklü lipit peroksidasyon üzerindeki potansiyel etkisi incelenmiştir. Ekstre, doza bağlı

olarak FeSO<sub>4</sub> indüklü lipit peroksidasyonunda azalma, 1 mg/ml konsantrasyonda –OH radikalinde inhibisyon (%13,41) ve aynı konsantrasyonda süperoksit anyon radikalinde %81,50'ye varan inhibisyon göstermiştir. Sonuçlar *H. perforatum* bitkisinin tıpta antioksidan olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Tripathi ve ark. 1999).

*H. perforatum* ve diğer bazı bitkilerin hidroalkolik ekstrelerinin gösterdiği antienflamatuvar aktivitenin, muhtemel antioksidan potansiyelleri ile ilgili olduğu düşüncesine dayanılarak bir çalışma yapılmıştır. Bitkilerin Hofigal Stock firmasının ürettiği standart hidroalkolik ekstrelerinin, antioksidan kapasitelerinin bir sonucu olarak, insan akciğerinde aktive edilmiş nötrofilleri yönlendirebildikleri görülmüştür. Antioksidan kapasiteyi ölçmek için kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Ölçüm sonucunda *H. perforatum* sulu alkollü ekstresinin belirgin potansiyel antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Reaktif oksijen parçaları üreten sistemler kullanıldığında, ekstrenin çok güçlü reaktif oksijen süpürücü özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Hidroalkolik ekstre bu özellikleri sebebi ile değişik iltihaplı alerjik hastalıklara karşı ilaç olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir, yeni antioksidan ve antienflamatuvar ajanların içeriğine girebilir (Herold ve ark. 2003).

İtalya'da Kalabriya ve Sardunya'da doğal olarak yetişen *H. perforatum* bitkisinin biyolojik aktivitesi ve kimyasal bileşimi çalışılmıştır. Kalabriya'da yetişen bitkinin metanollü ekstresinin antioksidan aktivitesi, Sardunya'da yetişen bitki ekstresinden daha etkilidir. Bitki metanollü ekstrelerinin, 50 µg/ml MIC değeri ile gram pozitif ve gram negatif bakterilere (*S. aureus* subsp. *aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e en önemli aktivite) karşı antibakteriyel aktivitesi vardır. Ayrıca ekstrelerin antifungal aktivitesi test edilmiş ve özellikle fitopatojen mantar *Pythium ultimum*'a karşı etkili olduğu görülmüştür. Sonuçların değişkenliği kimyasal-fiziksel özellikler, toprağın bileşimi, coğrafik koşullar, yükseklik ve güneş ışınlarına maruz kalma gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Fitokimyasal analizler ve biyolojik aktivite sonuçları, *H. perforatum* ekstrelerinin gıda, kozmetik ve farmasötik alanlarda kullanımını önermektedir (Conforti ve ark. 2005).

*H. perforatum* bitkisinin total etanol ekstresi (TE) ve fraksiyonlarının antioksidan aktivitesi değerlendirilmiş ve fenolik içerikleri ile ilişki kurulmuştur. Ekstreler HPLC-DAD-MS-MS ile analiz edilmiştir. TE ekstralarında ilk olarak kemferol 3-rutinozit ve rutin-asetil teşhis edilmiştir. TE ( $EC_{50} = 21 \mu\text{g/ml}$ ) ve fraksiyonlarının serbest radikal süpürücü özellikleri ve DPPH kullanılarak çalışılmıştır. Flavonoit ve/veya kafeoilkinik asitler içeren fraksiyonlar, TE'nin serbest radikal süpürücü aktivitesinin başlıca nedenidir. Askorbat/ $Fe^{+2}$  ile indüklü lipit peroksidasyonu, flavonoit ve/veya kafeoilkinik asitler içeren fraksiyonlar ve TE ( $EC_{50} = 26 \mu\text{g/ml}$ ) varlığında önemli ölçüde azalmıştır. Çalışmanın sonucunda, *H. perforatum* total etanolik ekstresinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve *H. perforatum* ekstraları ya da fraksiyonlarının insanlar tarafından tüketiminin faydalı olabileceği gösterilmiştir (Silva ve ark. 2005).

*H. perforatum* L. bitkisinin flavonoit içeriği açısından zengin ekstresi (FEHP), etanol ile dezorpsiyon ve makroporlu reçine üzerinde adsorpsiyon ile hazırlanmıştır. FEHP'nin total flavonoit içeriği kolorimetrik yöntem ile belirlenmiştir. FEHP'nin rutin, hiperozit, izokersitrin, avikularin, kersitrin ve kersetin gibi başlıca bileşenleri HPLC analizleri ile tayin edilmiş ve LC-MS ile doğrulanmıştır. FEHP'nin antioksidan aktivitesi ve serbest radikal süpürücü aktivitesini değerlendirmek için farklı antioksidan deneyler kullanılmıştır. FEHP, DPPH ( $IC_{50} 10,63 \mu\text{g/ml}$ ) ve superoksit radikali ( $IC_{50} 10,63 \mu\text{g/ml}$ ) için etkili bir süpürücüdür. FEHP, peroksil radikali ve demir-askorbik asit ile oluşturulmuş hidroksil radikalleri ile indüklenen lipozom peroksidasyonuna inhibitör etki göstermiştir. Sonuçlara göre, FEHP güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir ve FEHP'nin antioksidan mekanizması, serbest radikal süpürücü aktivitesi, metal-şelatlama aktivitesi ve reaktif oksijen tutma aktivitesine bağlıdır (Zou ve ark. 2004).

*H. perforatum* standardize ekstresi (SHP)'nin serbest radikal süpürücü ve antioksidan aktiviteleri, lipit peroksidasyon inhibisyonu, hidroksil radikal süpürücü aktivitesi ve sabit serbest radikal DPPH ile etkileşimi için incelenmiştir. 1 ve 50  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyon arasında SHP,  $Fe^{+2}$ /askorbat ya da NADPH sistemi ile indüklü rat beyin mitokondrisinin lipit peroksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe etmiştir. Sonuçlar SHP'nin doza bağlı olarak DPPH radikalini süpürdüğünü ve ayrıca ksantin oksidaz aktivitesinde de inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir. Feokromositoma hücre hattı

PC12'de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indüklü oksidatif hasara karşı standardize ekstrenin koruyucu etkisi, 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT), laktat dehidrogenaz (LDH) deneyleri, kaspaz-3-enzim aktivitesi ve reaktif oksijen türlerinin birikimi aracılığıyla hücre yaşama kabiliyeti ölçülerek incelenmiştir. Yapılan deneylerin sonucunda *H. perforatum* standardize ekstresi, hücre sisteminde ve *in vitro* olarak serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonun inhibe edilmesi vasıtasıyla antioksidan aktivite göstermiştir. Antioksidan özelliklerinden dolayı antidepresan olduğu gibi, standardize *H. perforatum* ekstresi serbest radikal oluşumunu içeren yaşlılık rahatsızlıklarında da değerli olmaktadır (Benedi ve ark. 2004).

*Hypericum perforatum* bitkisinin total etanol ekstresi (TE) antioksidan aktivitesi değerlendirilmiş ve fenolik içerikleri ile ilişki kurulmuştur. Ekstre HPLC-DAD ve HPLC-MSn ile analiz edilmiş ve fenolik bileşikler yarı-preparatif HPLC ile izole edilmiştir. TE'nin serbest radikal süpürücü özellikleri DPPH kullanarak (EC<sub>50</sub> = 49 µg/ml), AAPH (EC<sub>50</sub>= 28 µg/ml) çalışılmıştır. Bundan başka TE, nitrik oksit ve hipokloröz asiti süpürebilmiştir. Sonuç olarak *H. perforatum* bitkisinin total etanol ekstresi, birçok serbest radikali süpürebilmekte ve bu da oksidatif stres karşısında yararlı hücrel korumayı göstermektedir (Silva ve ark. 2008).

Yapılan bir çalışmada, ratlarda skopolaminin (1,4 mg/kg ip) akut uygulaması ile indüklenen öğrenme ve hafıza zayıflamasının, değişmiş beyin oksidatif stres durumları ile ilgili olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada antioksidan aktivitesi ile bilinen flavonoidleri içeren *H. perforatum* alkol ekstresinin (4,0, 8,0, 12,0 ve 25,0 mg/kg intraperitonal) akut uygulamasının, skopolaminin amnestik dozu ile tedavi edilen ratların beyin oksidatif durumu üzerine olan etkisi incelenmiştir. Oksidatif stres göstergeleri olarak süperoksit dismutaz, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri/aktivitelerinin biyokimyasal değerlendirmesi yapılmıştır. Sonuçlar, 1,4 mg/kg intraperitonal skopolamin uygulanmasının ratların hafızasını zayıflattığını ve bu gibi hafıza kaybının yükselmiş MDA ve azalmış GSH beyin seviyeleri ile ilgili olduğunu göstermiştir. Ratların *Hypericum* ekstreleri ile tedavisi beyin MDA, GSHPx, ve GSH seviye/aktivite değiştirmesiyle bir antioksidan etki ile sonuçlanmıştır. Çalışma sonucunda, *Hypericum* ekstresinin düşük dozlarında, antioksidan aktivite göstererek, değişmiş beyin oksidatif

durumu görülen hafıza kaybı olan hastalar için değerli olabileceği gösterilmiştir. Depresyon genellikle hafıza kaybı ile birlikte olduğu için antidepresan etkisi bilinen *Hypericum* ekstrelerinin diğer çeşitli antidepresan ilaçlardan daha iyi bir alternatif olabileceği gösterilmiştir (El-Sherbiny ve ark. 2003).

Diğer bir çalışmada, *H. perforatum* bitkisinin metanol ekstresinin flavonoid bileşikleri açısından zengin olduğu gösterilmiştir. Basit polifenoller GC-MS ile tayin edilmiş ve bunlar epikateşin, kateşin ve kersetindir. LC-MS analizleri sonucunda *Hypericum* ekstresinin başlıca kersetin glukozitleri, kateşin ve kersetinden oluştuğu görülmüştür. *H. perforatum* bitkisinin metanol ekstresinin antioksidan aktivite tayini DPPH ve demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) deneyleri ile yapılmıştır. Deneylerin sonucunda, *H. perforatum* ekstresinin önemli antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Kalogeropoulos ve ark. 2010).

*H. perforatum* ekstresinde bulunan rutin, kersetin ve kersitrin gibi flavonoidler sebebiyle, ekstrenin sıçanlarda antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Kersetinin bu etkiyi beyin lipid peroksidasyonunu inhibe ederek meydana getirdiği gösterilmiştir (Di Carlo ve ark. 2001).

Yapılan çalışmalar, flavonoidlerin bilinmiş etkin antioksidan bileşikler olduğunu ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonundan sorumlu olduğunu göstermiştir. Bu bileşiklerin hücre hasarının önlenmesine ve kollajen fibrillerin yaşama yeteneğinin yükselmesine sebep olduğu sonucuna varılmıştır (Getie ve ark. 2002; Shetty ve ark. 2008; Süntar ve ark. 2009).

### **2.3.1.3. Yara İyileştirici Etki**

*H. perforatum* çiçekli topraküstü kısımlarının zeytin yağı ekstreleri, Türkiye’de yaraların iyileştirilmesi için ilaç olarak halk arasında kullanılmaktadır.

Bitkinin iddia edilen kullanımını kanıtlamak için, ekstrelerin ve fraksiyonların etkileri biyoaktivite rehberli prosedürler kullanarak incelenmiştir. Başlangıç incelemeleri, *H. perforatum* zeytinyağı ekstresinin eksizyon ve dairesel insizyon yara modellerinde önemli yara iyileştirici etki gösterdiğini kanıtlamıştır. Aktif yara iyileştirici içeriği belirlemek için, bitkinin topraküstü kısımları etanol ile ekstre edilmiştir. Önemli yara iyileştirici aktivite profili, yara modelleri ile gözlenmiştir. Eksizyon modelinde %18,3 ile %95,6 arasında ve insizyon modellerinde %13,9'den %100'e kadar inhibisyon belirlenmiştir. Etanol ekstresi, hekzan, kloroform ve etilasetat ile çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Her bir çözücü ekstresi, aynı yara modellerine uygulanmıştır. Sonuç olarak etilasetat ekstresi, eksizyon modellerinde %17,9 ve %100, insizyon modellerinde %9,4 ve %100 arasında yaraları inhibe ederek etkili bulunmuştur. Aktif ekstreler ve fraksiyonlarının re-epitelizasyonu arttırdığı ve *H. perforatum*'un etanol, etilasetat ekstreleri ve sefadeks fraksiyonlarının doza bağlı antienflamatuvar etkisi olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, bu aktif ekstre ve fraksiyonların antienflamatuvar etkisinin, bitkinin yara iyileştirici etkisinde yardımcı bir rolü olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, *H. perforatum* toprak üstü kısımlarının, Türk halk tıbbında kullanımını destekleyen çok önemli yara iyileştirici ve antienflamatuvar aktivitesi olduğunu göstermiştir. Flavonoidler (hiperozit, izokersitrin, rutin ve (-)-epikateşin) ve naftokinonların (hiperisinler), *H. perforatum*'un etkili yara iyi edici bileşikleri olduğu bulunmuştur (Süntar ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışma, hiperforinin, yara iyileştirici etkiden sorumlu etkin bileşik olduğunu göstermiştir (Süntar ve ark. 2009). Başka bir araştırmada laboratuvar çalışmalarında, hiperforinin yara iyileşmesini geciktiren ve enfekte eden tüm gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Samadi ve ark. 2010).

Yapılan çalışmalar, *Hypericum* türlerinin antibakteriyel ve antiviral özelliklere sahip olduğunu ve bu etkilerin yara iyileştirici aktiviteden de sorumlu olduğunu göstermiştir. Bilindiği gibi, yara idaresinin ilk amacı yarayı enfeksiyon ve komplikasyonlardan korumaktır (Andersen ve ark. 1991; Cecchini ve ark. 2007; Süntar ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışmada *H. perforatum* bitkisinin ksanton ve hiperforin gibi farklı fitokimyasal bileşenleri gibi farklı ekstrelerinin de, gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel ve antiviral ajan olarak etkili olduğu ve yara iyileştirici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Mukherjee ve ark. 2000).

Öztürk ve ark. (2007), *H. perforatum*'un yara iyi edici etkisini tavuk embriyonik fibroblast kültüründe dekspantenol ve *Centella asiatica*'nın titre edilmiş ekstresi ile kıyaslayarak değerlendirmişlerdir. Döllenmiş yumurtalardan sağlanan embriyonik fibroblastlar 1; 5; 10 ve 100 µg/ml dozlarda *H. perforatum* etanollü ekstresi, 1; 10 µg/ml dozlarda dekspantenol ve 5; 10 µg/ml dozlarda *C. asiatica* ile inkübasyona bırakılmıştır. Mikroskopik yöntemlerle hücre boyama özelliği kullanılarak mitotik kabiliyet, morfolojik değişimler ve kollajen üretimi tespit edilerek yara iyileşme düzeyi tespit edilmiştir. Sonuçlar, *H. perforatum*'un yara iyileştirici mekanizmasının kollajen üretiminin artışı ve fibroblastların migrasyonu ile *C. asiatica*'nın etki mekanizmasına benzer olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda *H. perforatum* bitkisinden elde edilen ham drogun %20'lik ekstresinin kobay ve tavşanlarda oluşturulan yaralarda iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir. Yaprakların %60'lık etanollü ekstresi ise sıçanlarda (0,1 ml/hayvan) oluşturulan yaralarda epitelizasyon oran ve kuvvetini arttırarak iyileşme sağlamıştır (ESCOP 2003).

Samadi ve ark. (2010) tarafından *H. perforatum* bitki ekstresinden elde edilen merhemlin sezaryen yarası iyileşmesi ve hipertrofik yara izi üzerine etkileri tayin edilmiştir. Cerrahi yolla doğum yapmış 144 bayan hastada, randomize çift-kör klinik çalışma yapılmıştır. Hastalar 3 gruba ayrılmıştır. Tedavi ve plasebo gruplarına *H. perforatum* ve plasebo merhemi günde 3 kez 16 gün uygulanmıştır. Yara iyileşmesi REEDA skalası (REEDA: kızarıklık, ödem, ekimoz, cerahat ve aproksimasyon) kullanarak sezaryen sonrası 10. günde tayin edilmiştir. 40. günde, yara izi oluşma derecesi Vancouver yara skalası kullanarak tayin edilmiştir. Tedavi grubunda yara iyileşmesinde 10.günde ve yara izi oluşmasında 40. günde önemli farklılıklar vardır. Plasebo ve kontrol grubunda yara iyileşmesi ve yara izi oluşmasında değişiklik gözlenmemiştir. Sonuç olarak, *H. perforatum* merheminin topikal uygulanması



güvenilir ve merhem sezaryen yara iyileşmesine etkili bir şekilde yardımcı olabilmış ve yara izi oluşumunu minimize edebilmiştir.

Yapılan bir çalışma, *H. perforatum*'un inflamasyonu kısalttığını ve enfeksiyonlara karşı rezistans oluşturduğunu göstermiştir. Bitkinin yara iyileşmesi periyodunun başlangıcında mikrobiyal kontaminasyona karşı bariyer sağladığını göstermiştir. Sonuç olarak bitkinin hızlı ve iyi yara iyileşmesini sağlayan hiperforin ve flavonoidler gibi etkin antibakteriyel maddeler içerdiğini göstermiştir (Herrera ve ark. 1996; Cecchini ve ark. 2007).

Rao ve ark. (1991), insizyon ve eksizyon yaralarının iyileşmesi ile ilgili ratlar ile yaptıkları deneysel çalışmada, *H. perforatum* tentürünün oral uygulanması ile iyileşmenin arttığını rapor etmişlerdir. Diğer bir çalışmada, *H. perforatum*'un alkol ekstresinin farklı hayvan modellerinde *in vivo* olarak yara iyileştirici etkisi rapor edilmiştir. Bu çalışmada yara izi oluşması ile sonuçlanan yara iyileşmesinin proliferatif fazı için bir model olan fibroblast hücrelerinde *H. perforatum* ekstresinin yara iyileştirici aktivitesi test edilmiştir. Sonuçlar *Hypericum* ekstresinin yara iyileştirici aktivitesi olduğunu göstermiştir.

Lavagna ve ark. (2001), *H. perforatum* ve *Calendula arvensis* yağlı ekstrelerinin sezaryen yaralarının tedavisindeki etkilerini araştırmışlardır. Bitki ekstrelerinin hazırlanmasında 320:1000 (g/g) (bitki/yağ) oranında buğday yağı kullanılmıştır. Maseratlar 50°C' de 60 dakika bekletilerek *Hypericum*'un kırmızı renginin, *Calendula*'nın ise sarı renginin yağa geçmesi sağlanmıştır. Deney, ortalama 33 yaşlarında, sezaryen doğum yapmış olan 24 bayan üzerinde yapılmıştır. Hastalar iki gruba ayrılmış, bir grup %70 *H. perforatum*, %30 *C. arvensis* yağlı ekstre karışımı ile tedavi edilirken, diğer grup için buğday yağı kullanılmıştır. Ekstreler, günde iki defa 16 gün boyunca uygulanmıştır. Yara alanları ölçülerek alandaki yüzde küçülme oranından iyileşme tespit edilmiştir. Sonuçta deney grubunun yara alanında %37,6 oranında küçülme gözlenirken, kontrol grubunun yara alanında %15,83 oranında iyileşme gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda *H. perforatum*'da bulunan flavonoidler ve ksantonların varlığı poligonal fibroblastların yüzdesinde yükselmeye ve kollajen sentezinin stimülasyonuna neden olmuş ve epitel hücre proliferasyonu ve migrasyonu etkilemiştir. Flavonoidlerin, hem hücre nekrozunun başlangıcını yavaşlatarak ya da önleyerek hem de damarlılığı geliştirerek lipid peroksidasyonunu azalttığı bilinmektedir. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe ederek yaranın sirkülasyonunu ve kollajen liflerinin boyunu arttırmakta ve DNA sentezini geliştirerek hücre hasarından korumaktadır (Samadi ve ark. 2010).

#### **2.3.1.4. Diğer Etkiler**

*H. perforatum*'un topraküstü kısımları hiperisinden dolayı antidepresan; biflavonoidleri ve hiperforinden dolayı sedatif, antiinflamatuar, antiülserojenik ve analjezik; flavonoid ve tanenlerinden dolayı diüretik ve astrenjan; uçucu yağı ise antiflojistik etkilidir. *H. perforatum* bitkisi dahilen orta şiddette depresyon, anksiyete, sinirsel rahatsızlıklar, özellikle menopozda endişe ve sıkıntı giderici olarak kullanılmaktadır (Çubukçu ve ark. 2002, Demirezer ve ark. 2007).

*H. perforatum* bitkisinin pek çok farmakolojik etkileri bulunmakta ve bu etkiler yapılan araştırmalarla aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Bitkinin farmakolojik etkileri ve yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

#### **Antidepresan Etki**

Yapılan bir çalışmada, *H. perforatum*'un bileşenlerinin antidepresan aktiviteden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bileşenlerden hiperisin ve hiperforinin serotoninin seviyesini yükselttiği, serotoninin nöronal hücrelerde oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olduğu rapor edilmiştir (Benedi ve ark. 2004).

Diğer bir çalışmada, monoamin transmitterlerin astrosit denilen sinaptik uçları saran hücrelere transferini incelemek suretiyle standardize *H. perforatum* ekstresinin serotonin ve norepinefrin geri alım inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, *H. perforatum*'un doza bağımlı olarak serotonin geri alımını %50, norepinefrin geri alımını ise 4,5 kat düşürdüğünü göstermektedir. *H. perforatum*'un sulu metanollü ekstresi serotonin ve norepinefrinin astrositlerde doza bağlı olarak geri alımını (reuptake) inhibe etmiştir (Neary ve Bu 1999).

Di Carlo ve ark. (2001), serotonin, noradrenalin, dopamin, glutamat ve GABA'nın sinaptozomal alımını inhibe eden ana aktif bileşenin hiperforin adlı bileşik olduğunu göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, hiperforinin sadece serotonin, norepinefrin ve dopaminin nöronlardan alımını inhibe etmekle kalmadığını; aynı zamanda gamma aminobütirik asit (GABA) ve L glutamat alımını da inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu durumun hücre içi  $Na^+$  konsantrasyonunun yükselmesine ve belki de  $Na^+$  geçirgen yolakların aktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Müller ve ark. 2001).

Diğer bir çalışma, bitkinin kurutulmuş çiçeklerinin metanollü ekstresinin sıçan beyinde GABA-A reseptörlerinin benzodiazepin bağlanma yerlerine (3H) flumazenil bağlanmasını inhibe ettiğini göstermiştir ( $IC_{50}$ : 6,83  $\mu$ g/ml). Hiperisin, kersetin, luteolin, rutin, hiperozit, kersitrin ve 13,II8-biapigenin  $1\mu$ M'a kadar bağlanmayı inhibe etmezken; amentoflavon  $IC_{50}$ :  $14,9 \pm 1.9$  nM'de bu etkiyi göstermiştir (Demirezer ve ark. 2007). Başka bir çalışma, amentoflavonun reseptöre ulaşmadan önce kan-beyin engelini aşması gerektiğini ve bileşiğin pasif difüzyonla bu engeli aşabildiğini göstermiştir (Demirezer ve ark. 2007).

Gobbi ve ark. (2001) bitkinin sulu metanollü ekstresi, lipofilik ekstresi, hiperforin, hiperisin ve biapigenin ile depresyon, anksiyete ve etanol tüketimine katılan nöromedyatör reseptörleri arasında etkileşimler *in vitro* bağlama deneyleriyle incelemiştir. İki ekstre de 10  $\mu$ g/ml dozda serotonin 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>, benzodiazepin, sigma ve nöropeptit Y (NPY) Y1 ve Y2 reseptörlerine ligant bağlanmasını inhibe etmemiştir. Her iki ekstre de dopamin taşıyıcıları ile etkileşirken; sadece sulu metanol

ekstresi GABA<sub>A</sub> reseptörleriyle bir etkileşme göstermiştir. Biapigenin (1 µg/ml, 2 µg/ml) benzodiazepin reseptörlerine ligant bağlamasını inhibe etmiştir. Her ne kadar IC<sub>50</sub> değeri (5µM) sinaptosomal geri alım inhibisyon IC<sub>50</sub> değerinden (0,8 µM) yüksek olsa da hiperforin (1 µg/ml, 2 µg/ml) sadece dopamin taşıyıcılarına bağlanmasını inhibe etmiştir. Bu bulgu monoamin geri alım inhibisyonunun mekanizmasının sentetik antidepreasanlardan farklı olduğu görüşünü desteklemiştir. Hiperisin NPY-Y1 ve Y2 reseptörlerine ve sigma reseptörlerine mikromolar düzeyde (IC<sub>50</sub> 3-4 µM) afinite göstermiştir. NPY ve sigma reseptörlerin anksiyetik düzensizlikler, depresyon ve etanol tüketimi ile ilişkisi olduğu için hiperisinin bu etkileri merak uyandırıcı olabileceği düşünülmüştür. Bu *in vitro* bulgular *H. perforatum* bitkisinin etkisinin hiperisin ve hiperforin dışındaki bileşiklere veya şu ana kadar kabul edilenlerin dışındaki bir mekanizmaya bağlı olduğunu işaret etmektedir.

#### Oksidatif Strese Bağlı Nörodejeneratif Hastalıklara Etki

Yapılan bir çalışmada, *H. perforatum* bitkisinin flavonoidlerce zengin ekstresi (FEHP)'nin koruyucu etkisi, PC12 hücrelerinin hidrojen peroksit indüklü sitotoksitesine karşı çeşitli biyokimyasal deneyler kullanarak incelenmiştir. Çalışma, rat feokromositoma'dan türeyen hücre hattı (PC12)'de hidrojen peroksit-indüklü apoptozis'e karşı MTT deneyi, LDH salınım deneyi, akış sitometri analizi ve DNA fragmentasyon deneyi ile yapılmıştır. PC12 hücrelerine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruz kalınmasından 4 saat sonra, hücre yaşama kabiliyetinde önemli bir düşüş ve LDH salınım seviyesinde yükselme gözlenmiştir. Buna rağmen, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruziyetinden önce FEHP ile PC12 hücrelerinin tedavisi, hücre yaşama kabiliyetini yükseltmiştir, LDH salınım seviyesini düşürmüş ve apoptozis hücrelerinin meydana gelişini azaltmıştır. Bu sonuçlar, *H. perforatum* bitki ekstresinin PC12 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-indüklü apoptozis'e karşı önemli koruyucu etkisi olduğunu ve ekstrenin Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi oksidatif strese bağlı nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde faydalı olacağını göstermiştir (Zou ve ark. 2010).

### Hiperkolesterolemiye Etkisi

Zou ve ark. (2005), *Hypericum perforatum*'un flavonoit bileşikleri açısından zengin ekstresinin (FEHP) hipokolesterolemik etkisi, kolesterolce zengin diyet ile beslenen ratlarda test edilmiştir. 40 Wistar rat kolesterolce zengin diyet ile 16 hafta boyunca beslenmiştir. Serum lipit seviyeleri, serum ve karaciğerdeki MDA ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri incelenmiştir. Kolesterolce zengin diyet indüklü hiperkolesterolemi, total kolesterol, total trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-C) gibi serum lipit seviyelerinde yükselme ortaya çıkmıştır. FEHP'nin orta (75 mg/kg vücut ağırlığı/gün) ve yüksek (150 mg/kg vücut ağırlığı/gün) dozlarda uygulanması TC, TG ve LDL-C'nin serum seviyelerini önemli ölçüde düşürürken, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-C) serum seviyelerini yükseltmiştir. Ayrıca, serum ve karaciğerdeki MDA içeriği FEHP'nin oral uygulanmasından sonra önemli ölçüde düşmüştür. Buna ek olarak FEHP serum ve karaciğerdeki SOD aktivitesini yükseltmiş ama CAT aktivitesi sadece karaciğerde önemli ölçüde yükselmiştir. Bu sonuçlar, FEHP'nin hipokolesterolemik etkisinin antioksidan enzim aktivitesini yükseltmesi, lipit peroksidasyonu prosesini azaltması, serum total kolesterol, total trigliserit ve LDL-C seviyelerini düşürebilmesi özelliği ile ilgili olduğunu göstermiştir.

### Antienflamatuvar Etki

Menegazzi ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada karagen nedenli akciğer hasarı oluşturulmuş erkek farelere 30 mg/kg dozda oral yolla uyguladıkları *H. perforatum* ekstresinin antienflamatuvar etkisini değerlendirmişlerdir. Plevral boşluğa karagen enjeksiyonu sonucu akut enflamatuvar cevap, nötrofillerle istila edilmiş pleural boşluğa sıvı akışı, polimorfo nükleer hücrelerin akciğer dokusuna infiltrasyonu, lipit peroksidasyonu ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  ile interlökin üretiminin artması ile gözlenmiştir. Tüm bu yangı parametrelerinin *H. perforatum* ekstresi ile azaldığı tespit edilmiştir. *H. perforatum* ekstresinin akciğerdeki NF- $\kappa$ B (nükleer faktör- $\kappa$ B) ve STAT-3 (Sinyal Transdüser ve Aktivatör Transkripsiyon-3) aktivasyonunu engellediği ve dolayısı ile akut yangı oluşumunu önlediği belirlenmiştir.

Pek çok çalışmada hiperisinin proteinkinaz C enziminin potent bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Hiperisin, epidermal büyüme faktörünün tirozin kinaz reseptör aktivitesini inhibe etmektedir. Bu etkinin antiviral ve antineoplastik etkisiyle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Proteinkinaz C inhibisyonu antienflamatuvar etkiyi de desteklemektedir. Hiperisin aynı zamanda araşidonik asit ve lökotrien B4 sistemlerini de inhibe etmiştir (WHO Monographs, 2002).

Albert ve ark. (2002), *H. perforatum* ekstresi ile *Hypericum*'un açılfloroglusinol türevi olan hiperforinin araşidonik asitten proenflamatuvar eikozanoidlerin oluşumu için gerekli iki anahtar enzim olan 5-lipoksijenaz ve siklooksijenaz üzerindeki baskılayıcı etkilerini araştırmışlardır. Kalsiyumla uyarılmış izole insan polimorfonükleer lökositleri üzerinde yapılan deneyde hiperforinin eksojen araşidonik asidin varlığında ya da yokluğunda 5-lipoksijenaz ürün oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. Hiperforin ayrıca, trombin ya da iyonofor ile uyarılmış insan plateletlerinde siklooksijenaz-1 ürün oluşumunu engellemektedir. Bu özelliği ile aspirinden 3 ila 18 kat daha etkilidir. Hiperforinin siklooksijenaz-2 ürün oluşumu üzerinde etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, hiperforinin siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenazı inhibe ederek antienflamatuvar aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Hiperforinin ayrıca lökositlerin proenflamatuvar cevabıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Medina ve ark. 2006).

### 2.3.2. *C. officinalis* Bitkisinin Farmakolojik Etkileri

*C. officinalis* bitkisi antik çağlardan beri halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Bitki, yüzyıllardır geleneksel tıpta ve homeopatik tıpta, deri şikayetleri, yara ve yanıklar, konjunktivit ve görüş bozukluğu, menstrual düzensizlik, varis, dahili ve harici enflamasyon durumları, gastrik ve duodenal ülser, hemoroiti tedavi etmek için kullanılır (Preethi ve ark. 2006; Bezbradica ve ark. 2005).

Bitkinin kullanımı 13. yüzyılda daha da yayılmış ve ilk olarak yaraları iyileştirmede yararlanılmıştır. Kuzey Amerika Sivil Savaşı ve dünya savaşında antiseptik ve antienflamatuvar olarak merhem şeklinde kullanılmıştır (Parente ve ark. 2011).

Avrupa'da bitkinin yaprakları çözücü ve terletici olarak, çiçekleri ise stimulan, antispazmodik ve emanogog olarak kullanılmaktadır. İngiltere'de bitki çiçeklerinin dekoksyonu kızamık ve çiçek hastalığının tedavisinde ve taze suyu sarılık, konstipasyon ve menstrual akıntıyı durdurmada ilaç olarak kullanılmaktadır. Hindistan'da bitkinin çiçekleri, yaraların tedavisinde merhem olarak, uçukta, ülsörde, soğuk ısırmasında, cilt hasarında, yara izinde ve kan temizlemede; yaprakları, infüzyon olarak, haricen varisli damarların tedavisinde kullanılmaktadır (Muley ve ark. 2009).

Bitkinin pek çok farmakolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir, bunlar; antioksidan, antienflamatuvar, antibakteriyel, antifungal ve antiviral, immunostimulan, analjezik, antiseptik, anti-ödem ve anti-hemorajik, astrenjan, antisüpuratif, antiflojistik, diüretik, antispazmodik ve anthelmintik etkilerdir. Ayrıca bitki, antitümoral ve sitotoksik etkiye de sahiptir (Chandran ve Kuttan 2008; Gopinathan ve ark. 2006; Duran ve ark. 2005; Preethi ve ark. 2006).

*C. officinalis*'in farmakolojik etkisi, uçucu yağ, flavonoit, polifenolik bileşikler, sterol, karotenoid, tanen, saponin, triterpen alkol, polisakkarit, müsilaj ve reçine gibi sekonder metabolitlerin çeşitli sınıflarının içeriklerine bağlıdır. Son 10 yılda, yüksek oranda polifenolik ve karotenoit içeriğinden dolayı *C. officinalis* ekstreleri (infüzyon ve tentürler)'nin antioksidan özelliklerine ilgi artmıştır. Bitkide bulunan saponinler

tarafından antimitojenik, triterpen oligoglikozitler, kalendasaponinler A, B, C, D tarafından hipoglisemik, gastrik boşaltma inhibitörü ve gastroprotektif ve çok sayıda etkin bileşimin yara iyileştirici ve antiinflamatuar aktivitesi bulunmuştur (Cetkovic ve ark. 2004; Frankic ve ark. 2009; Preethi ve ark. 2006).

*Calendula* ekstreleri, emoliyan, koruyucu, yatıştırıcı, antiirritan ve antiseptik özelliklerinden dolayı kozmetikte de kullanılmaktadır. Banyo preparatları, el bakım ürünleri, topikal cilt ve saç preparatları, güneş kremi, hassas ciltler için ürünler ve bebek tuvalet malzemelerinin önemli bileşenidir. Kozmetik ve tıbbi kullanımı yanında, *Calendula* çiçekleri, salata ve omletlerde safrana ilave olarak, peynir ve yağda renk verici olarak kullanılmaktadır (Bezbradica ve ark. 2005; Graf 2000).

*C. officinalis*'in sarı veya altın sarısı çiçekleri taze veya kurutulmuş olarak baharat, çay, tentür, merhem, krem ve ilaçlarda kullanılmaktadır (Cetkovic ve ark. 2004).

*C. officinalis* bitkisinin pek çok farmakolojik etkisi bulunmaktadır. Bitkinin antimikrobiyal, antioksidan, yara iyileştirici ve diğer etkileri ile ilgili çalışmalardan bazıları takip eden sayfalarda özetlenmiştir.



### 2.3.2.1. Antimikrobiyal ve Anti-viral Etki

*C. officinalis* çiçek, yaprak, gövde ve köklerinin etanol, distile su ve n-butanol ekstralarının *Staphylococcus aureus coagulase* negatif, *Staphylococcus aureus coagulase* pozitif, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus sp.*, *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis*'e karşı yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür (Goyal ve Mathur 2011).

Yapılan bir çalışmada bitki çiçeklerinin metanol ekstresi ve % 10'luk dekoksionunun anaerobik ve fakültatif aerobik dış etrafında bulunan bakteriler olan *Porphyromonos gingivalis*, *Furobacterium nucleatum*, *Caphocytophaga gingivalis*, *Veilonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Peptostreptococcus micros* ve *Actinomyces odontolyticus*'a karşı aktivitesi incelenmiştir. Sonuçlar, MIC  $\geq$ 2048 mg/L ile tüm test edilen mikroorganizmalara karşı belirgin inhibisyon göstermiştir (Lauk ve ark. 2003).

Akut ve kronik gastrite neden olan ajan ve peptik ülser hastalığı ve gastrik karsinoma için başlıca faktör olan *Helicobacter pylori* ile gastrik hastalıkların yaygınlığı artmaktadır. *Campylobacter jejuni*, özellikle çocuklar arasında şiddetli diyare ile sonuçlanan enterik enfeksiyonların en fazla görülen nedenidir. Bu bakterilere karşı kullanılan standart antibiyotiklerin artan direnci, sindirim ve bağırsak fonksiyonlarına etkili olan fitoterapötiklere ilgiyi artırmaktadır. 21 hidroetanollü bitki ekstresi ve 4 uçucu yağın, mikro dilüsyon metodu ile antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve antibiyotiklerin inhibitör etkisi ile karşılaştırılmıştır. Çalışılan bitkiler arasında *C. officinalis* çiçeklerinin etanol ekstresi, *C. jejuni*'nin en yüksek büyüme inhibisyonunu göstermiştir. Bu çalışma, gastrointestinal etkileri için pazarda olan fitoterapötiklerin yararlı etkileri için destekleyici olmuş ve daha henüz bilinmeyen gastrointestinal problemler için bazı tıbbi bitkilerin yararlı yeni antibakteriyel etkilerini tespit etmiştir (Cwikla ve ark. 2010).

Yapılan bir çalışma, *C. officinalis* çiçeklerinden izole edilen flavonoidlerin (1 mg/ml konsantrasyonda) *S. aureus*'e karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Diğer çalışmalar flavonların *Klebsiella pneumonia*, *Sarcinia lutea* ve *Candida monosa*'ya karşı etkili olduğunu göstermiştir (Gruenwald ve ark. 2007).

Janssen ve ark.ları, bitkiden elde edilen uçucu yağın *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'ın büyümesini inhibe ettiğini ve bu etkinin terpen alkoller ve terpen laktonları tarafından olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada bitki uçucu yağı *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton concentricum* ve *Epidermophyton floccosum* gibi dermal mantarlara karşı zayıf fungusit aktivite göstermiştir (EMEA 2008).

Yapılan bir çalışmada *C. officinalis* çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ disk difüzyon metodu kullanarak *Candida albicans*, (ATCC64548) *C. dubliniensis* (ATCC777), *C. parapsilosis* (ATCC22019), *C. glabrata* (ATCC90030), *C. krusei* (ATCC6258) ve insanlarda izole edilen mayalara karşı (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guiliermondii*, *C. krusei* ve *Rhodotorella* ssp) test edilmiş ve uçucu yağ 15µl/disk konsantrasyonda çok iyi antifungal aktivite göstermiştir (Gazim ve ark. 2008).

Kalvatchev ve ark. (1997) *C. officinalis* çiçeklerinin diklorometan-metanol (1:1) ekstresinin, *in vitro* MTT/tetrazolyum-temelli deneyde, güçlü anti-HIV aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu aktivitenin, 500 µg/ml konsantrasyonda HIV-aracılı füzyonun baskılanmasının yanısıra önemli bir dozda ve zamana bağlı olarak HIV1-ters transkripsiyon'un inhibisyonundan da kaynaklandığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada, bitki çiçeklerinden elde edilen kloroformlu ekstre *in vitro* akut olarak enfekte olmuş lenfotik Molt-4 hücrelerinde HIV Tip I'in replikasyonunu inhibe etmiştir. Ayrıca kloroformlu ekstrenin doza bağlı olarak HIV-I ters transkriptaz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (EMEA 2008).

Yapılan başka bir çalışma, *C. officinalis* çiçeklerinden elde edilen tentürün, *Herpes simplex*, influenza A2 ve influenza APR-8 virüslerinin replikasyonunu *in vitro* olarak durdurduğunu göstermiştir (Muley ve ark. 2009).

*C. officinalis* çiçeklerinin %70'lik hidroalkolik tentürünün influenza virüsüne karşı yüksek viral aktivite gösterdiği ve *Herpes simplex* virüsünün büyümesini fark edilir biçimde baskıladığı tespit edilmiştir (ESCOP 2003).

### 2.3.2.2. Antioksidan Etki

Preethi ve ark. (2006) yaptıkları bu çalışmada, *C. officinalis* ekstresinin *in vitro* ve *in vivo* olarak antioksidan etkisini incelemiştir. *C. officinalis* ekstresinin *in vivo* olarak Fenton reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikallerini ve riboflavinin fotoredüksiyonu sonucu oluşan superoksit radikallerini süpürücü, *in vitro* olarak lipid peroksidasyonunu inhibe edici özellikte olduğu görülmüştür. Ekstre, ABTS ve DPPH radikallerini süpürmüştür ve IC<sub>50</sub> değerleri sırası ile 6,5 ve 100 µg/ml'dir (IC<sub>50</sub> değerleri standart bir antioksidan ekstre olan zencefil ekstresi ile karşılaştırılmıştır). Lipid peroksidasyonunun %50 inhibisyonu için gerekli konsantrasyonlar sırası ile, 500, 480 ve 2000 µg/ml olarak bulunmuştur. *Calendula* ekstresi ayrıca kültürde doza bağımlı nitrikoksit süpürücü etki de göstermiştir; IC<sub>50</sub> 575 µg/ml olarak bulunmuştur. *Calendula* ekstresinin *in vivo* olarak 100 ve 250 mg/kg dozlarda oral yolla alımı, makrofajlarda süperoksit oluşumunu %12,6 ve %38,7 oranında inhibe ettiği görülmüştür. *C. officinalis*'in farelere 1 ay boyunca oral yolla verilmesiyle katalaz aktivitesinde, karaciğer ve kanda glutatyon değerlerinde belirgin artış olduğu görülmüştür. Glutatyon redüktaz yükselmiş olarak bulunmuştur, *Calendula* ekstresi uygulanmasından sonra glutatyon peroksidaz azalmış bulunmuştur. Bu sonuçlar, *C. officinalis* ekstrelerinin *in vivo* ve *in vitro* olarak önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Doğal olarak yetişen *Calendula arvensis* ve kültürü yapılmış olan *C. officinalis*'in metanolik ve sulu ekstrelerinin etkisi 3 farklı serbest radikal türünde, DPPH, hidroksil radikal ve elektron spin rezonans spektroskopisi (ESR) kullanarak lipid peroksil radikal, incelenmiştir. Her iki bitkinin ekstreleri, uygulandıkları konsantrasyonlara bağlı olarak, incelenen radikallerin tümüne süpürücü etki göstermiştir. Genel olarak, *C. officinalis* ekstrelerinin, *C. arvensis* ekstrelerine göre, daha iyi radikal süpürücü olduğu görülmüştür. *C. officinalis* sulu ekstrelerin metanolik ekstrelerine göre daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *C. officinalis*'in 0,75 mg/ml konsantrasyonda sulu ekstresinin Fenton sistemde hidroksi radikalleri tamamen yok ettiği, ekstrenin aynı konsantrasyonunun lipid peroksidasyonu esnasında oluşan %92 DPPH ve %95 peroksil radikalleri de süpürdüğü görülmüştür. Antioksidan

özelliklerin ekstredeki total fenolik madde bileşimi (14,49 – 57,47 mg/g) ve flavonoid bileşimi (5,26 – 18,62 mg/g) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ekstreler sentetik antioksidan butilhidroksianisol (BHA) gibi serbest radikal avlayıcı özelliğe sahiptir, lipid peroksidasyon sisteminde o-semikinon radikallerinin rutin ve kafeik asitten oluşması bu mekanizmayı kanıtlamıştır (Cetkovic ve ark. 2004).

Yapılan bir çalışma, bitkinin %70 metanollü ekstresini, sıra ile eter, kloroform, etil asetat ve arta kalan sulu ekstre vererek n-butanol ile ekstre etmişlerdir. Bu ekstreler, lipozomal lipit peroksidasyon-indüklü  $Fe^{+2}$  ve askorbik asit ile antioksidan aktivite için test edilmiştir. Flavonoitleri içeren eter, butanol ve sulu ekstreler antioksidan aktivite göstermiştir (Muley ve ark. 2009).

Miliauskas ve ark. (2004) tıbbi ve aromatik 12 bitki ekstresinin, DPPH ve ABTS yöntemlerini kullanarak radikal süpürücü aktivitesini incelemiştir. *C. officinalis* bitki ekstresinin de bulunduğu ekstrelerin total fenolik bileşiklerin, flavonoitlerin ve falvonollerin içerikleri ölçülmüştür. Total fenolik bileşik içerikleri ile ekstrelerin radikal süpürücü kapasiteleri arasındaki korelasyon gözlenmiştir. Sonuç olarak, *C. officinalis*'in metanol, etil asetat ve aseton ekstresi antioksidan etki göstermiştir.

Diğer bir çalışma, *C. officinalis* propilen glikol ekstresinin, polimorfo-nükleer lökosit (PMNs) solunumuyla ilgili çatlama sırasında reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'ne engel olması ile ilgilidir. Elektron paramanyetik rezonans (EPR) spektroskopisi, *C. officinalis* bitki ekstresinin antiradikal aktivitesini doğrulamak için kullanılmıştır. *C. officinalis* ekstresi, anti-ROS ve anti-RNS aktivitesini, konsantrasyona bağlı olarak göstermektedir. EPR çalışması, *C. officinalis* ekstresinin 0,20 µg/ml gibi düşük konsantrasyonda DPPH radikalini önemli ölçüde indirgediğini doğrulamıştır. Bu sonuçların, bitki türevli moleküller ile insan hücrelerinde redoks dengesini onarmak ve antioksidan ağı geliştirmek için kaynak olabileceği gösterilmiştir (Braga ve ark. 2009).

Kaurinovic ve ark. (2003) *C. officinalis* bitkisinin çiçekleri, yaprakları, gövdesi ve köklerinden hazırlanan bütün ekstrelerin dezoksiribozun kimyasal bozunması sonucu

oluşan hidroksi radikallerini inhibe ettiğini, özellikle etilasetatlı ekstresinin en yüksek hidroksi radikal süpürücü etki sergilediğini göstermiştir.

Cetkovic ve ark. (2003) *C. officinalis* çiçeklerinin metanol, petrol eteri, kloroform, etil asetat, n-butanol ve sulu ekstrelerini ekstraksiyonla elde etmiştir. Total fenolik bileşik içeriği, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanarak UV spektrofotometrik metot ile tayin edilmiştir. 0,6 – 1,2 mg/ml konsantrasyon aralığında ekstrelerin DPPH üzerine etkisi, elektron spin rezonans (ESR) spektroskopisi ile incelenmiştir. Tüm ekstreler süpürücü aktivite göstermiştir. Süpürücü etki, ekstrelerin artan konsantrasyonu ile artmıştır. *C. officinalis* ekstresinin süpürücü aktivitesinin, fenolik bileşiklerin (flavonoidler ve fenolik asitler) hidrojen verme yeteneği ve süpürücü etkisinden dolayı olduğu gösterilmiştir.

*C. officinalis* ve diğer bazı bitkilerin hidroalkolik ekstrelerinin gösterdiği antiinflamatuvar aktivitenin, muhtemel antioksidan potansiyelleri ile ilgili olduğu düşüncesine dayanılarak bir çalışma yapılmıştır. Bitkilerin Hofigal Stock firmasının ürettiği standart hidroalkolik ekstrelerinin, antioksidan kapasitelerinin bir sonucu olarak, insan akciğerinde aktive edilmiş nötrofilleri yönlendirebildikleri görülmüştür. Antioksidan kapasiteyi ölçmek için kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Ölçüm sonucunda *C. officinalis* sulu alkollü ekstresinin belirgin potansiyel antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Reaktif oksijen parçaları üreten sistemler kullanıldığında, ekstrenin yine güçlü reaktif oksijen süpürücü özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Hidroalkolik ekstre bu özellikleri sebebi ile değişik iltihaplı alerjik hastalıklara karşı ilaç olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir, yeni antioksidan ve antiinflamatuvar ajanların içeriğine girebilir (Herold ve ark. 2003).

Yapılan bu çalışmada, *C. officinalis* çiçeklerinin propilen glikol ekstrelerinin, genç domuzlarda yüksek çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) ile indüklenmiş lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkisi incelenmiştir. 40 genç domuz 5 tedavi grubuna ayrılmıştır. Gruplar, kontrol; keten tohumu yağı; *C. officinalis* 1 ve 2 grupları (keten tohumu yağı ve 3 ml/gün *C. officinalis* propilen glikol ekstresi); vitamin E grubu (keten tohumu yağı ve 100 mg/kg Vitamin E)'dur. DNA hasarını tayin etmek için, lenfosit DNA fragmentasyonu ve 24-saat üriner 8-hidroksi-2'-

deoksiguanozin (8-OHdG) atılımı ölçülmüştür. Lipid peroksidasyonu, plazma ve ürün malondialdehit (MDA), ürün izoprostan konsantrasyonları (İPF2 $\alpha$ -VI), plazma ve glutasyon peroksidaz deneylerinin total antioksidan durumları analiz edilerek çalışılmıştır. Petallerden elde edilen *C. officinalis* 1 ekstresi, DNA'yı oksidatif hasardan etkili bir şekilde korumaktadır. Bu ekstre, plazma MDA ve üriner İPF2 $\alpha$ -VI atılımının azalmasına karşı eğilim göstermiştir. Ekstrenin etkisi vitamin E ile karşılaştırılabilir durumdadır. Çiçek başlarından elde edilen *C. officinalis* 2 ekstresi, petal ekstresinden daha az antioksidan potansiyel göstermiştir. Sonuç olarak, dahili kullanım için önerilen miktarda *C. officinalis* ekstresi, yüksek PUFA alımı ile indüklü DNA hasarına karşı organizmayı korumuştur (Frankic ve ark. 2009).

Başka bir çalışmada, *C. officinalis* ekstresinin potansiyel kullanımının, ciltte UV radyasyon indüklü oksidatif strese karşı koruması incelenmiştir. İlk olarak, ekstrenin (hidroalkolik ekstre) fiziko-kimyasal bileşimi tayin edilmiş ve değişik yöntemler kullanarak *in vitro* antioksidan etkisi incelenmiştir. Daha sonra, MTT deneyi ile L929 ve HepG2 hücrelerinde sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Son olarak, metalloproteinaz'ın sekresyon/aktivite görüntülenmesi ve indirgenmiş glutasyon seviyelerinin tayini ile tüysüz fare derisinde UVB-indüklü oksidatif strese karşı ekstrenin *in vivo* koruyucu etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak, 150 ve 300 mg/kg dozda ekstre ile oral olarak tedavi edilen tüysüz farelerde, kontrol farelerine göre GSH seviyeleri aynı kalmıştır. Buna ek olarak, bu ekstre UVB irradyasyona maruz kalma ile stimule edilen matriks metalloproteinaz 2 ve 9'un aktivite/sekresyonunu etkilemiştir. Bu çalışma, *C. officinalis* ekstresinin UV-indüklü cilt hasarına karşı potansiyel uygulanabilirliğini göstermiştir. Çünkü ekstre, oral alımdan sonra tüysüz farelerin UVB irradyasyon-indüklü GSH tüketimini engellemiş ve farklı radikallere karşı *in vitro* antioksidan aktivite göstermiştir. Jelatinaz aktivitesindeki bu yükselme, cilt iyileşmesi ve prokollajen sentezi için faydalı olabilir (Fonseca ve ark. 2010).

Cordova ve ark. (2002) tarafından *C. officinalis*'in bütanolik fraksiyonu hem toksik özelliği olmaması hem de bitkinin aktif bileşenleri olduğu düşünülen flavonoidler ve terpenoidlerce zengin olması sebebiyle reaktif oksijen ve nitrojen parçalarına karşı çalışılmak için seçilmiştir. Süperoksit radikaller ve hidroksi radikaller, bütanolü fraksiyonun artan konsantrasyonlarıyla muamele edildiğinde, miktarlarında azalma

görülmüştür. Karaciğer mikrozomlarındaki Fe(2+)/askorbat indüklü lipid peroksidasyonu, 0,5 mg/ml bütanollü fraksiyon varlığında %100 inhibe edilmiştir. Ekstrenin toplam radikal tutma parametresi (TRAP) 368, 14+/- 23,03 µM ve toplam antioksidan reaktivitesi 249,19+/-14,5 µM olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar *C. officinalis*'in bütanollü ekstresinin serbest radikal süpürücü ve antioksidan aktivitesinin olduğunu göstermiş, terapötik etkisi buna dayandırılmıştır.

### 2.3.2.3. Yara İyileştirici Etki

Fronza ve ark. (2009), pozitif kontrol olarak büyüme faktöründen türetilmiş tek tabakalar ve plateletlerdeki Swiss 3T3 albino sıçan fibroblastlarını kullanmıştır. *C. officinalis* ve *Matricaria recutita*'dan elde edilen hekzan ve etanolik ekstratlar ile çalışmıştır. Proliferasyon ve migrasyonu birbirinden ayırmak için antimitotik mitomisin C eklenmiştir. Sonuç olarak *C. officinalis* bitkisinin her iki ekstresi düşük konsantrasyonlarda fibroblastların proliferasyonu ve migrasyonunu stimule etmiştir. Örneğin 10µg/ml konsantrasyonda sırasıyla %64,35 ve %70,53 oranında hücre sayısını arttırmıştır. Proliferasyonun inhibisyonu, bu etkinin başlıca migrasyonun stimülasyonundan kaynaklandığını göstermiştir.

*C. officinalis* çiçeklerinin etanollü ekstresinin, deneysel olarak oluşturulan ratlardaki termal yanıklara karşı etkisi incelenmiştir. Yanık yarası, anestezi altında ratların tıraşlanmış sırt kısmına yapılmış ve hayvanlar, *C. officinalis* çiçek ekstresinin farklı dozları (20 mg, 100 mg, ve 200 mg/kg vücut ağırlığı) ile oral olarak tedavi edilmiştir. Ekstre ile tedavi edilen hayvanlar, kontrol olan tedavi edilmemiş hayvanlarla karşılaştırıldığında iyileştirmede önemli bir gelişme göstermiştir. Yara iyileştirmede kollajen-hidroksiprolin ve heksosamin gibi indikatörlerin içerikleri, tedavi edilmiş hayvanlarda hızlandırılmış yara iyileşmesi göstererek tedavi edilmiş grupta önemli şekilde artmıştır. Yanık yarasından dolayı yükselen akut faz proteinlerinin haptoglobin ve orosomukoit, 200 mg/kg vücut ağırlığı ekstre ile tedavi edilen hayvanlarda önemli ölçüde düştüğü bulunmuştur. Yanık yarası sırasında karaciğerde azalan antioksidan defans mekanizmasının tedavi edilen hayvanlarda arttığı bulunmuştur. Tedavi edilmiş

grupta kontrol gruba göre, lipit peroksidasyon önemli ölçüde düşmüştür. Tedavi edilmiş grupta, doku hasarı belirleyici enzimler – alkalın fosfotaz, alanin ve aspartam transaminaz – doza bağılı şekilde önemli ölçüde düşmüştür. Cilt dokusunun histopatolojik analizleri, yanık yarası sonrasında ekstrenin artmış iyileşme potansiyelini desteklemektedir (Chandran ve Kuttan 2008).

Başka bir çalışmada, *C. officinalis*'in yanık yaralarına etkisi buzağı ve düveler üzerinde çalışılmıştır. Çalışma için her biri en az altı hayvan içeren dört farklı grup seçilmiştir. Grup 1 sadece *Calendula* gliserin, Grup 2 *Calendula* gliserin ve himaks, Grup 3 *Calendula* gliserin ve *Calendula* merhemi, Grup 4 *Calendula* gliserin ve loraksan olarak ayrılmış ve karşılaştırılmıştır. *Calendula* gliserin ve bunu takiben *Calendula* gliserin loraksan kombinasyonu ile yara tedavisi, yara küçülmesi, eksüdanın tipi ve boyu, granülasyon doku oluşumu ve epiteliyal yara kabuğunun oluşumu gibi parametreler göz önüne alındığında yanık yarası iyileşmesinde iyi sonuç vermiştir. *Calendula* gliserinin himaks ile ve *Calendula* merhemi ile kombinasyonu, düşük yara küçültücü etki göstermiş fakat uygulama periyodu sonunda yaralar kurumuştur (Gopinathan ve ark. 2006).

*C. officinalis* çiçeklerinin, *Momordica charantia*, *Cassi tora* tohumlarının sulu ekstresi ve *Azadirachta indica* bitki tohumunun yağı, geleneksel olarak psoriyazis gibi cilt hastalıklarının tedavi edilmesinde kullanılmaktadır. Bu bitkiler ve yağ tek tek güvenli bir şekilde kullanılırken, kombinasyon olarak kullanımı ile ilgili bir çalışma yoktur. Dişi ratlara, bu bitkisel karışımdan 5000 mg/kg (vücut ağırlığı) tek oral doz ve 3 kontrol dişi rata 2 ml distile su verilmiş. Sonuç olarak, bitki karışımı ratlara 5000 mg/kg dozda oral olarak verildiğinde bu çalışma koşullarında önemli derecede toksikolojik etki göstermemiştir (Roopashree ve ark. 2009).

Bu çalışmada, *C. officinalis* bitkisinin etanolik ekstresi ile diklormetan ve hekzan fraksiyonlarının özellikle iyileştirici aktivitesi göz önüne alınarak anjiogenik aktivitesi incelenmiştir. Bunun için model olarak, fertilize tavuk yumurtalarının korioallantoik membranı ve ratların kütanoz yaraları kullanılmıştır. Bitki fraksiyonu ve ekstrelerinin anjiogenik aktivite ve iyileşmesi, cilt yaralarının indüklenmesi ile 36 rat ve korioallantoik membran vasıtasıyla 90 embriyon evresinde yumurta kullanarak



değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, ratlardaki kütanoz yaralarda vasküler endotel büyüme faktörünün ekspresyonunun yoğunluğunu doğrulamak için çalışmada, vasküler proliferasyon da test edilmiştir. *C. officinalis*'in iyileşme aktivitesi, anjiogenezis üzerindeki pozitif etkisi ile ilgili ve neovaskularizasyonun indüklenmesi ile karakterizedir. Sonuç olarak *C. officinalis* kullanılan her iki modelde (tavuk fertilize yumurtalarının korioallantoik membranı ve ratların kütanoz yaraları) de önemli anjiogenik aktivite göstermiştir (Parente ve ark. 2011).

Duran ve ark. (2005) yaptıkları bu çalışmada, *C. officinalis* çiçeklerinin etanol ekstresi ile yapılan merhem, alt bacaklardaki venöz ülserlerde epitelizasyon etkisini çalışmıştır. Deney venöz bacak ülserli 34 hastada gerçekleştirilmiştir. Hastalar iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup, Soxhlet apareyi ile hazırlanmış *C. officinalis* ekstresi içeren merhem ile tedavi edilmiştir. Tedavi 3 hafta boyunca günde 2 kez uygulanmıştır, 21 hastada 33 venöz ülser iyileşmiştir. İkinci grup, kontrol grubudur. Kontrol grubun ülserleri 3 hafta tuz çözeltisi ile pansuman yapılmıştır. Birinci grupta tedavinin başlangıcında tüm ülserlerin yüzey alanı 67,544 mm<sup>2</sup> iken 3. haftanın sonunda ülserlerin toplam yüzey alanı 39,373 mm<sup>2</sup>'ye inmiştir (azalma %41,71'dir). 7 hastada epitelizasyonun tamamlanması başarı ile gerçekleşmiştir. Kontrol grubunda, tedavinin başlangıcında ülserlerin toplam yüzey alanı 69,722 mm<sup>2</sup>'dir. 3. haftanın sonunda, ülserlerin toplam yüzey alanı 58,743 mm<sup>2</sup>'ye inmiştir (azalma % 14,52'dir). 4 hastada epitelizasyonun tamamlanması başarı ile gerçekleşmiştir. Birinci grupta, yara iyileşmesinde istatistiksel olarak (p<0,05) anlamlı bir hızlanma görülmüştür. Deneyler sonucunda *Calendula* merheminin venöz ülser epitelizasyonunda pozitif etkilerinin olduğu sonucu çıkarılmıştır.

Başka bir çalışmada, %2'lik *C. officinalis* jelinin günlük uygulamasının, antioksidan ve antimikrobiyal özelliğinden dolayı çok iyi bir yara iyileştirici olduğu sonucuna varılmıştır (Muley ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışmada, *C. officinalis* bitki ekstresini içeren topikal formülasyonlarının Ultraviyole B irradyasyon (UVB) indüklü cilt hasarına karşı potansiyel kullanımı incelenmiştir. Geliştirilen topikal formülasyonların cilt penetrasyon kapasitesi, fiziksel ve fonksiyonel stabiliteleri değerlendirilmiştir. Tüm

formülasyonlar fiziksel ve fonksiyonel olarak stabil bulunmuştur. Formülasyonlar arasında jel formülasyonu, *Calendula* ekstresinin topikal serbest bırakılması açısından en etkili formülasyon bulunmuştur. Bu formülasyon radyasyon uygulanmamış hayvanlardaki indirgenmiş glutatyon seviyelerini korumakta, ancak UVB radyasyonuna maruziyet ile yükselmiş jelatinaz-9 ve miyeloperoksidaz aktivitelerini etkilememiştir. Buna ek olarak, jel formülasyonu UVB radyasyonu ile indüklü histolojik cilt değişikliklerini azaltmıştır. Sonuç olarak, *Calendula* ekstresinin jel formülasyonu şeklinde topikal olarak uygulanması ile tüysüz farelerdeki fotoprotektif etkisi, subepidermal bağlayıcı dokudaki kollajen sentezindeki gelişme ile ilgilidir (Fonseca ve ark. 2011).

Ansari ve ark. (1997) yaptıkları bu çalışma *C. officinalis*'den elde edilen merhem, sığırlar üzerinde yara iyileştirici etkisi ile ilgilidir. *C. officinalis* bitkisinin yara tedavisinde topikal ajan olarak kullanımı, iyileşmede lokal ve sistematik toksisite olmadan daha önce rapor edilmiştir. 12 hayvanın her birine 96 açık yara oluşturulmuştur. Bu hayvanlar 4 hayvan içeren 3 gruba ayrılmıştır. Omurganın sol kısmındaki yaralar kontrol olarak bırakılmış ve normal tuz çözeltisi ile tedavi edilmiştir. Her bir grubun sağ kısmındaki yaralar, *C. officinalis* merhemi ile tedavi edilmiştir. Yara iyileşmesi klinik olarak ve tedaviden sonra 3, 7, 15 ve 25. günlerde toplanan biopsi örneklerinin mikroskopik incelemesi ile değerlendirilmiştir. Bu gözlemler temel alınarak, *C. officinalis* merheminin doku onarımını arttırdığı gösterilmiştir.

Vargas ve ark. (2010), yara pansumanı uygulamaları için etkin ajan salımının sağlanmasında elektrospun çok dallanmış poligliserol (HPGL) nanofiberlerinin performans özelliğini rapor etmiştir. Çalışmanın amacı yara iyileştirici ve anti-enflamatuvar bir ajan olan *C. officinalis* içeren Elektrospun HPGL nanofiberlerini hazırlamaktır. *C. officinalis*'in elektrospun HPGL liflerinden salınımı, fizyolojik bir sıcaklıkta (37°C) HPLC ile tayin edilmiştir. *Calendula officinalis*'in salınım hızı, HPGL nanofiberlerindeki *C. officinalis* miktarına bağlıdır. Ratlarda yapılan *in vivo* deney sonuçları, HPGL-*C. officinalis*'in klinik uygulamalar için ilgi çekici bir bioaktif yara pansuman materyali olabileceğini göstermektedir.

Yatak yarası, evde ya da hastanede uzun süre yatan hastalarda yaygın olarak görülmektedir. Bu gibi yaraları tedavi pahalı ve çeşitli prosedürlerle gerçekleştirilmektedir. Yaralar, ülserler ve kütanoz inflamasyonların tedavisindeki *C. officinalis* bitkisinin etkili rolü göz önüne alındığında, bu çalışma yatak yarası iyileştirmede *C. officinalis* kreminin etkisini tayin etmek için yapılmıştır. Çalışmada yatak yarası mevcut olan 20 hasta kullanılmıştır. Hastaların yatak yarası süresi ve yaranın büyüklüğü gibi durumları kaydedilmiştir. Yara normal tuz çözeltisi ile yıkanmış, kurulanmış, bunu takiben 4 hafta boyunca günde 3 kez *Calendula* kremi uygulanmıştır. Her hafta, iyileşmenin büyüklüğü ve oranı gözlenmiş ve kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda hastalardaki iyileşme oranı % 56,6'dır. Hastaların çoğu (%55) kısmi iyileşmiştir. Hafta olarak iyileşme zamanı  $3,5 \pm 1,2$  ( $p < 0,001$ )'dir. İyileşmenin tamamlanması, tedavinin başlangıcından sonraki 3. ve 4. haftalarda meydana gelmiştir. Sonuç olarak, kremin kullanılabilirliği ve gücü göz önüne alındığında, krem yatak yaralarının tedavisinde kullanılabilir. Buna ek olarak, hastane ya da evlerinde olan hastaların tedavisi için ilaç olarak da kullanılabilir (Esmaili ve ark. 2008).

Başka bir çalışmada, Haziran 1999-Temmuz 2001 döneminde meme kanseri sebebi ile operasyon geçirmiş ve operasyon sonrası radyoterapi uygulanmış 254 hasta, trolamin ve *Calendula* merheminin akut dermatitlerden koruyucu etkilerini kıyaslamak için (trolamin 128 hasta ve *Calendula* 126 hasta) rastgele seçilmiştir. *Calendula* uygulaması ile trolamine göre ikinci ve daha yüksek derecedeki dermatitlerde belirgin düşüş olduğu gözlenmiştir. Bundan başka *Calendula* merhemi uygulanan hastalarda radyoterapiye daha az ara verilmiş ve radyasyonun oluşturduğu ağrılarda belirgin düzelme görülmüştür. *Calendula*'nın uygulama açısından daha zor ama daha tatmin edici olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple meme kanserinde operasyon sonrası adjuvan radyoterapi uygulanan hastalara, ikinci ve daha yüksek derecedeki akut dermatitlerden korunmak için önerilmektedir (Pommier ve ark. 2004).

### 2.3.2.4. Diğer Etkiler

#### Antienflamatuvar ve Antiödem Aktivite

Ukiya ve ark. (2006), *C. officinalis* çiçeklerinin metanol ekstresinin etil asetatta çözünen fraksiyonunun, referans ilaç indometasin ile karşılaştırıldığında farelerde 12-O-tetradekanoil forbol-13-asetat (TPA) indüklü inflamasyonu %84 oranında inhibe ettiğini göstermiştir. Buna ek olarak, aktivite-rehberli izolasyon antienflamatuvar aktivitenin başlıca oleanan-tip triterpen glikozitlerinden (kalendulaglikozit) kaynaklı olduğunu göstermiştir.

Bitkinin sulu etanollü ekstresinin 1200 µg/kulak dozunda, kroton yağı-indüklü fare ödeminde %20 oranında inhibisyon yaptığı gösterilmiştir. Aktivite, triterpenlerin en aktif bileşiklerinden faradiol-3-miristik asit, faradiol-3-palmitik asit ve 4-taraksasterol esterlerinin varlığına bağlanmaktadır (Muley ve ark. 2009).

Diğer bir çalışmada *C. officinalis* çiçek başlarından elde edilen faradiol esterlerinin separasyonu ve izolasyonu, kolon kromatografisi ve HPLC kullanarak gerçekleştirilmiştir. Faradiol -3-miristik asit ester, faradiol-3-palmitik asit ester ve ψ-taraksasterol'ün yapı aydınlatılması, MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve 2D-NMR deneyleri ile yapılmıştır. Bu üç bileşiğin anti-ödem aktivitesi, fare kulağının kroton yağı-indüklü ödeminin inhibisyonu aracılığıyla test edilmiştir. Her iki faradiol ester doz bağımlı olarak yaklaşık aynı anti-ödem aktiviteyi göstermiş ve karışımlarında hiçbir sinerjizm görülmemiştir. Serbest monol olan psi-taraksasterol biraz daha düşük aktivite göstermiştir. Faradiolün, esterlerinden ve psi-taraksasterolden daha aktif ve indometazinin eşit dozuyla aynı aktivitede olduğu görülmüştür (Zitterl-Eglseer ve ark. 1997).

*Calendula* ekstresini içeren bir kremin, ratlardaki akut limfoödemde olduğu gibi yanık ödemlerinde de etkili olduğu rapor edilmiştir. Limfoödeme karşı aktivite, başlıca makrofaj proteolitik aktivitenin artmasından kaynaklıdır (Muley ve ark. 2009).

Bezakova ve ark.ları *Calendula* çiçeklerinden izole edilen izorhamnetin 3-glikozitin  $1,5 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonda rat akciğer sitozolündeki lipooksigenazı (lökotrien sentezindeki anahtar enzim) inhibe ettiğini göstermiştir (EMEA 2008).

#### Antikanser ve Lenfosit Aktivasyonu (çift yönlü aktiviteler)

*C. officinalis* çiçeklerinin metanollü ekstresinin etil asetatta çözünen fraksiyonu *in vitro* olarak sitotoksik etki göstermiştir. Ayrıca, fraksiyonun aktivite-rehberli izolasyonu etkin bileşiklerin kalendulozit F6'-O-butil ester ve kalendulozit G6'-O-metil ester olduğunu göstermiştir. Kalendulozit F6'-O-butil ester bileşiği, lösemi (MOLT-4 ve RPMI 8226), kolon kanseri (HCC-2998) ve melanom (LOXIMVI, SK-MEL-5 ve UACC-62), böbrek kanseri (AK-1, 17,2  $\mu$ mol; UO-31, 12,7  $\mu$ mol) ve göğüs kanserine karşı (NCI/ADR-RES, >50  $\mu$ mol) etkilidir. Kalendulozit G6'-O-metil ester bileşiği, ovaryum kanseri (IGROVI,  $GI_{50} = 20,1$  mol ve böbrek kanseri (VO-31, 33,3  $\mu$ mol) hariç,  $GI_{50} \leq 20$   $\mu$ mol ile yukarıda bahsedilen tüm kanser hücrelerine karşı etkilidir (Ukiya ve ark. 2006).

Lazer ile aktive edilmiş *C. officinalis* çiçeklerinin sulu ekstresi, insan ve fare tümör hücrelerinin geniş bir çeşidine karşı analiz edildiğinde tümör hücresi proliferasyonunda güçlü *in vitro* inhibisyon göstermiştir. İnhibisyon, 60  $\mu$ g/ml  $IC_{50}$  konsantrasyon ile %70 – %100 aralığındadır. İnhibisyonun mekanizması, kaspaz-3 indüklü apoptozis ve G0/G1 evresinde hücre siklusunun bloke edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Jimenez-Medina ve ark. 2006).

Diğer bir çalışmada bitkinin yaprak, çiçek ve tüm kısımlarının çeşitli ekstralarının, Ehrlich karsinomadan elde edilen hücrelere, HeP2 ve MRC5'e karşı sitotoksik olduğu bulunmuştur. Bu ekstraların saponince zengin fraksiyonu, Erhlich fare karsinoma modelinde *in vivo* olarak antitümöral aktivite göstermiştir (Muley ve ark. 2009).

### Hepatoprotektif Aktivite

Rusu ve ark. (2005) tarafından *C. officinalis* çiçeklerini sulu-alkollü ekstresinin karbontetraklorürlü karaciğerdeki etkinliği albino erkek Wistar ratlar üzerinde araştırılmıştır. Biyokimyasal parametreler, serum transaminaz aktivitesi (glutamo-piruvat-transaminaz, GPT ve glutamo-oksalat-transaminaz, GOT), histoenzimatik ölçümler (LDH; süksinat dehidrogenaz, SDH; sitokromoksidaz, CyOx; Mg<sup>+2</sup>-bağımlı adenozin trifosfat, ATPaz) ve histokimyasal (sudan siyahı) ve histolojik araştırmalar (hematoksilin-eosin) karaciğerde yapılmıştır. Hepatositosis ve steatosisin redüksiyonu, enzimlerin normal değerlere dönmeleri gibi bazı olumlu etkiler görülmüştür.

Başka bir çalışmada *C. officinalis* çiçeklerinin sıcak sulu ekstresi 2000 µg/ml dozda %25-26 oranında inhibitör etki ile, insan karaciğer kanser hücrelerine karşı antihepatoma aktivitesi göstermiştir (Lin ve ark. 2002).

### İmmunostimulan Aktivite

*C. officinalis* ekstresinin polisakkarit fraksiyonu, *in vitro* granulosit testini temel alarak, immunostimulan aktivite göstermiştir. Polisakkarit III, 10<sup>-5</sup> ve 10<sup>-6</sup> mg/ml konsantrasyonda en yüksek (%54-100) fagositozisi gösterirken, polisakkarit-I ve II'de ise sırasıyla %40-57 ve %20-30 oranında fagositozis gözlenmiştir (Muley ve ark. 2009).

### Spazmolitik ve Spazmojenik (çift yönlü aktivite)

Bashir ve ark. (2006) *C. officinalis* çiçeklerinin sulu-etanollü ekstresinin tavşan jejunumunda çalışıldığında, spontan ve K<sup>+</sup>-indüklü kasılmada doza bağlı (0,03 – 3,0 mg/ml) bir rahatlama meydana getirdiğini göstermiştir. Buna ilave olarak, ekstrenin diklormetan ile fraksiyonlanması, spontan kasılmada inhibisyon göstermiştir. Sonuç olarak *C. officinalis* ekstresinin spazmolitik ve spazmojenik bileşenler içerdiği ve

spazmolitik aktivitenin kalsiyum kanal blokajından kaynaklı olduğu bulunmuştur. Bu çalışma bitkinin karın ağrısı ve konstipasyondaki halk kullanımına bilimsel bir temel sağlamaktadır.

#### Antiülser Aktivite

Fareler ve ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada *C. officinalis* çiçeklerinin metanolik ekstresi ve bütanolde çözünebilen fraksiyonundan elde edilen kalendulaglikozit A, B, C, D ve F kullanılmıştır. Bu maddelerin farelerde gastrik boşalmayı ve ratlarda etanol-indometazin indüklü gastrik lezyonları inhibe ettikleri görülmüştür (Yoshikawa ve ark. 2001).

#### İnsektisidal Aktivite

Bitki çiçeklerinin aseton:metanol (2:1 h/h) ekstresi, ipekotu böceğinde test edildiğinde insektisidal aktivite göstermiştir (Alexenizer ve Dorn 2007).

#### Kalp atım hızında inhibisyon etkisi

Yapılan bir çalışmada bitkinin sulu ekstresi, erkek Wistar ratların kalbinde test edilmiş ve 0,3 mg/L dozda % 100'e varan oranda kalp hızı kontraktilesini inhibe ettiği bulunmuştur (Perez-Gutierrez ve ark. 1998).

#### Genotoksik ve antigenotoksik çift yönlü aktivite

Perez-Carreón ve ark. (2002) *C. officinalis* çiçeklerinin sulu, sulu-etanollü, etanollü ve kloroformlu ekstralarının, rat karaciğer kültüründe programsız DNA sentezi (UDS)'nin indüklemesi ve dietilnitrozamin (DEN)-indüklü UDS'nin tersine dönmesine neden olup olmadığını tayin ederek değerlendirmiştir. Karaciğer kültüründeki UDS

testinde, 1,25 µmol seviyesinde DEN, %40 oranında <sup>3</sup>H-timidin birleşmesinde maksimum yükselme yaparken *C. officinalis* çiçeklerinin sulu ve sulu-etanollü ekstraları 50 ng/ml seviyesinde DEN etkisinin tamamen tersine döndüğünü göstermiştir. Rat karaciğer hücre kültüründe DEN yokluğunda, bu iki polar ekstre UDS'yi indüklemiştir. Bu yüzden bu polar ekstralar (*C. officinalis* çiçeklerinin sulu ve sulu-etanollü) düşük konsantrasyonlarda antigenotoksik etki göstermiş, yüksek konsantrasyonlarda ise genotoksik etki göstermiştir.

*C. officinalis* propilen glikol ekstresi, genç domuzlarla yapılan bir çalışmada antigenotoksik etki göstermiştir. Çalışma, lenfosit DNA parçalanmasının atılımının ve 24 saat üriner 8-hidroksi-2'-deoksiguanozinin ölçülmesini içermektedir (Frankic ve ark. 2009).



### 2.3.3. *M. chamomilla* Bitkisinin Farmakolojik Etkileri

*M. chamomilla* bitkisi yüzyıllardır geniş çapta kullanılan tıbbi bir bitkidir. Bitki halk arasında yara, ülser, egzema, gut hastalığı, cilt iritasyonları, nevralji, siyatik, romatizmal ağrı, hemoroit, mastit ve diğer rahatsızlıklarda tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bitki, haricen pişik, göğüs ucu çatlakları, suçiçeği, zehirli sarmaşık ve konjunktivitte tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Srivastava ve Gupta 2007).

*M. chamomilla* bitkisinin kurutulmuş çiçekleri ve bitkiden hazırlanan preparatlar (merhem, inhalasyonlar, tentürler ve çaylar) idrar çoğaltıcı, iştah açıcı, gaz ve safra söktürücü, antienflamatuvar, spazmolitik, antiseptik, yara iyileştirici, sedatif, antifilojistik, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etkilerinden dolayı yüzyıllardır geleneksel ve modern tıpta geniş oranda kullanılmaktadır. Bitkinin yağı ve ekstresi de tıpta, kozmetikte, alkollü-alkolsüz içeceklerde aroma verici ve gıda maddesi olarak kullanılmaktadır (Jarrahi 2008; Nemtanu ve ark. 2008; Baytop 1999; Karbalay-Doust ve Noorafshan 2009).

Alman Komisyon E, antienflamatuvar, antioksidan ve hafif astrenjan etkisine dayanarak bitkinin; cilt ve mukoz membran enflamasyonunda ve cilt, ağız boşluğu, dişeti ve solunum yolunun çeşitli bakteriyel enfeksiyonlarında kullanıldığını doğrulamıştır (Srivastava ve Gupta 2007).

Ülkemizde *M. chamomilla* bitkisi idrar söktürücü, iştah açıcı, yatıştırıcı, gaz ve safra söktürücüdür. İnfüzyonları haricen boğaz iltihaplarına karşı gargara halinde, iltihaplı yaralara (basur gibi) karşı ise pansuman halinde, ağrı kesici ve yara iyi edici olarak kullanılmaktadır (Baytop 1999).

Taze ve kurutulmuş çiçek başlarından elde edilen uçucu yağ ve infüzyonların aromatik, tat verici ve renklendirme özellikleri vardır. Her ikisi de, sabun, deterjan, parfüm, losyon, merhem, saç ürünleri, şekerleme, alkollü içecekler ve bitkisel çaylar gibi ticari ürünlerde kullanılmaktadır (McKay ve Blumberg 2006). Ayrıca bitkinin

uçucu yağı sıtma ve parazitik kurt enfeksiyonu, sistit, soğuk algınlığı ve nezle tedavisinde kullanılmaktadır (Srivastava ve Gupta 2007).

*M. chamomilla* bitkisi sulu ekstresi şeklinde, sinirleri sakinleştirmede hafif sedatif olarak ve anksiyeteyi azaltmak, histeri, kabus, uykusuzluk ve diğer uyku problemlerini tedavi etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Aynı zamanda bitki, sindirim kolaylaştırıcı olarak değerlendirilmiş ve mide gazı, hazımsızlık, diyare, anoreksi, hareket hastalığı, mide bulantısı ve kusma gibi çeşitli gastrointestinal bozuklukları tedavi etmek için de kullanılmaktadır.

*M. chamomilla* bitkisinin diğer bildirilen etkileri, antiülser, karaciğer stimülatörü ve antimikotik etkilerdir. Bitki çocuklarda, karın ağrısı, kuş palazı hastalığı ve ateşi tedavi etmek için kullanılmaktadır, kadınlarda, emenagog ve rahim toniği olarak kullanılmaktadır. Bitkinin kanıtlanabilir etkileri, bitkide bulunan lipofilik ve hidrofilik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Srivastava ve Gupta 2007; Karbalay-Doust ve Noorafshan 2009)

*M. chamomilla* bitkisinin çok çeşitli farmakolojik etkileri bulunmaktadır. Bitkinin antimikrobiyal, antioksidan, yara iyileştirici ve diğer etkileri ile ilgili çalışmalardan bazıları takip eden sayfalarda özetlenmiştir.

### 2.3.3.1. Antimikrobiyal Etkisi

Cinco ve ark. (1983) tarafından yapılan bir çalışmada *M. chamomilla* bitkisinin toprak üstü kısımlarının hidroalkolik ekstresinin, *in vitro* olarak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, grup B *Streptococcus* ve *Streptococcus salivarius*'un büyümesini tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir. Buna ek olarak ekstrenin *Bacillus megatherium* ve *Leptospira icterohaemorrhagiae*'ye karşı bakterisidal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda ekstre trikomonidal aktivite sergilemektedir.

Yapılan bir çalışmada *M. chamomilla* ekstresi *Helicobacter pylori* ve çeşitli *E. coli* türlerinin agregasyonunu bloke ettiği ve aynı zamanda, poliovirus ve herpes virus büyümesini de inhibe ettiği görülmüştür. Diğer bir çalışmada *M. chamomilla* esterleri ve laktonları, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Mycobacterium avium*'a karşı aktivite göstermiştir. Başka bir çalışmada, kamazulen, a-bizbolol, flavonoidler ve umbelliferon, *Trichophyton mentagrophytes* ve *T. rubrum*'a karşı antifungal özellik göstermiştir (Monograph 2008).

Lis-Balchin ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada, *M. chamomilla*'dan elde edilen uçucu yağlar, bakteri, mantar ve virüslerin bazı türlerine karşı *in vitro* olarak antimikrobiyal etki göstermiştir. Almanya kaynaklı *Matricaria* uçucu yağı, 25 farklı gram-pozitif ve gram-negatif bakteri ve *Listeria monocytogenes*'in 20 türüne karşı, Roman ve Fas kaynaklı *Matricaria* uçucu yağından daha etkilidir.

Soliman ve Badaea'nın (2002) yaptıkları bir çalışmada *M. chamomilla*'dan elde edilen uçucu yağın *Aspergillus* türlerine (*A. flavus*, *A. parasiticus*) ve *F. moniliforme*'ye karşı antifungal aktivitesi rapor edilmiştir. Bu çalışmada, uçucu yağın en yüksek konsantrasyonu (2000 ppm) test edilen tüm mikroorganizmaları tamamen inhibe etmiştir.

Lu ve ark. (1998) Alman kaynaklı *Matricaria chamomilla*'dan elde edilen ester ve laktonların *Mycobacterium tuberculosis* ve *M. avium*'a karşı aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, *M. chamomilla* uçucu yağının antimikrobiyal etkisi Gram (+) (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*), Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*) bakterilere ve bir fungusu (*C. albicans*) karşı incelenmiştir. Uçucu yağ konsantrasyonu % 0,05 h/h olduğunda Gram (+) bakterilere karşı bakteriyostatik ve bakterisit, fungusu karşı ise antifungal etki gözlenmiştir. % 0,02 h/h konsantrasyonda tüm mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki gözlenmiştir. % 0,05 h/h konsantrasyonda *S. aureus*'u 2,5 saatte tamamen yok etmiştir. *S. aureus* yaygın olarak deri ve mukoz membran irritasyonuna ve özellikle deri lezyonlarında ve yaralanmalarda enfeksiyona neden olur. Topikal uygulamalarda kullanılan uçucu yağ preparatları *S. aureus* enfeksiyonlarına karşı etkilidir. Test edilen uçucu yağ Gram (-) bakteriler üzerinde daha az etkilidir. %8 gibi yüksek konsantrasyonlarda bile bakterilerin tamamını öldürememiştir (Aggag ve Yousef 1972).

Diğer bir çalışma bitkinin sulu ekstresinin küf ve maya'lara karşı daha etkili, alkollü ekstresinin de bakterilere karşı yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Al-İsmail ve Aburjai 2003).

### 2.3.3.2. Antioksidan Etki

El-Agbar ve ark. (2008) yenilebilir bitkiler olan *Terminalia chebula*, *Salvia officinalis*, *Calamintha incana*, *Thymus vulgaris*, *M. chamomilla* ve *Nigella sativa* bitkileri ile çalışmıştır. Çalışmada, bitkilerin metanolik ekstresinin, DPPH serbest radikal süpürücü etkisi yöntemi ile antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Tüm metanolik ekstreler, önemli ölçüde antioksidan aktivite göstermiştir. Metanolik ekstrelerin IC<sub>50</sub> değerleri 3,8 ± 0,1 ve 168,8 ± 2,1 µg/ml arasında değişirken askorbik asidin değeri ise 8,6 ± 0,1 µg/ml olarak ölçülmüştür. Çalışma, bu bitkilerin kullanılmasının antioksidan aktivite açısından yararlı olacağını göstermiştir.

Yapılan bir çalışma, iki farklı deney sistemi kullanarak kurutulmuş *M. chamomilla* buhar distilasyonu çözeltisinin (20g/L su) diklormetan ekstresinin

antioksidan aktivitesini rapor etmiştir. Aldehit/karboksilik asit deneyinde, standart olarak Butil hidroksi tolüen (BHT) ve  $\alpha$ -tokoferol kullanılmış, *Matricaria* ekstresinin en yüksek dozu (500  $\mu\text{g/ml}$ ), 40 günden fazla bir sürede %50 ile hekzanal oksidasyonunu inhibe etmiştir. Bu deneyde kullanılan tüm bitki ekstraları, 10-500  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarda doza bağlı olarak inhibitör etki ve antioksidan etki göstermiştir. Bu deney sisteminde bitki ekstraları *Matricaria* ekstresi ile karşılaştırıldığında, kekik ve fesleğen bitki ekstresi inhibisyon konsantrasyonu (%100) daha yüksek, lavanta ve tarçın ekstresi inhibisyon konsantrasyonu (%5-6) daha düşük ve biberiye bitkisi inhibisyon konsantrasyonu karşılaştırılabilir orandadır (%59). Metil linoleattan elde edilen hidroperoksit oluşumu inhibisyonunun ölçülmesi olan konjuge dien deneyinde, inhibisyon sonuçları hekzanal oksidasyonu ile elde edilen sonuçlar ile benzerdir. *Matricaria* ekstresinin en yüksek dozunda (200  $\mu\text{g/ml}$ ), %31 oranında konjuge dien oluşumunun inhibisyonu gözlenmiştir (Lee ve Shibamoto 2002; McKay ve Blumberg 2006).

Rekka ve ark. (1996), *M. chamomilla*'dan elde edilen kamazulen bileşiğinin, konsantrasyon ve zamana bağlı şekilde tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARS) ile ölçülen  $\text{Fe}^{+2}$ /askorbat indüklü lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı zamanda, kamazulenin %76 oranında dimetilsülfoksit (DMSO) (33 mM) otoksidasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir.

Al-İsmail ve Aburjai (2003), susuz tereyağının uzun dönem saklanması üzerine *M. chamomilla* çiçeklerinin sulu ve alkollü ekstralarının antioksidan etkilerini incelemişlerdir. Her iki ekstre, peroksit değeri ve serbest yağ asitleri ile ölçüldüğünde hidrolitik acılık kontrol edilmesinde yeterli etkiyi göstermiştir. Sulu ekstrenin antioksidan etkisi alkollü ekstreten önemli derecede yüksektir.

*M. chamomilla* ekstraları ile yapılan farklı bir çalışmada, kemferol, mirsetin ve rutin ile birlikte kersetin ve apigeninin,  $\text{Cu}^{+2}$  ve 2,2'-azobis (2-amindinopropan) dihidroklorid (AAPH)-indüklü oksidasyon kullanarak LDL'nin oksidatif modifikasyonu üzerindeki etkilerini test etmiştir. Kersetinin,  $\text{Cu}^{+2}$ -aracılı LDL oksidasyonunun en güçlü inhibitörü olduğunu göstermiştir. 0,5  $\mu\text{mol/L}$  konsantrasyonda kersetin,  $64,3 \pm 5,6$  dk. ile  $\text{Cu}^{+2}$ -indüklü LDL gecikme zamanını yükseltmiştir. Aynı konsantrasyonda,

kersetin  $58,3 \pm 3,1$  dk. ile AAPH-indüklü gecikme zamanını da yükseltmiş ve yayılma oranını  $1,2 \pm 0,1$ 'den  $0,8 \pm 0,1$  abs ünite/dk'ya düşürmüştür (McKay ve Blumberg 2006).

Cemek ve ark. (2008) tarafından yapılan bu çalışmada, streptozotosin (STZ; 70 mg/kg) indüklü diyabetik ratlardaki *M. chamomilla* toprak üstü kısımlarının etanolik ekstresi (MCE)'nin olası antihiperglisemik ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Tayin edilen gruplar; herhangi bir madde almayan grup, STZ + distile su (kontrol), STZ + 5 mg/kg glibenklamid, STZ + 20 mg/kg MCE, STZ + 50 mg/kg MCE, STZ + 100 mg/kg MCE. Diyabetik ratlar, 14 gün boyunca gavaj ile beslenmiştir. Tüm gruplarda, postprandiyal kan glukozu, malondialdehit, indirgenmiş glutatyon (GSH), nitrat, nitrit, askorbik asit, retinol,  $\beta$ -karoten, superoksit dismutaz ve katalaz seviyeleri ölçülmüş ve immunohistokimyasal çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, STZ'nin oksidatif stres meydana getirdiği ve antioksidan durumları etkilediğini göstermiştir. MCE'nin farklı dozları ile tedavi, postprandiyal hiperglisemi ve oksidatif stresi önemli ölçüde azaltmış ve antioksidan sistemi geliştirmiştir. Histolojik incelemelerde, MCE ile tedavi kontrol gruba göre, pankreas adacık hücrelerinin çoğunluğunu korumuştur. Sonuç olarak, MCE doza bağlı olarak önemli ölçüde antihiperglisemik etki göstermiş ve STZ-diyabetik ratlarda  $\beta$ -hücrelerini korumuş ve hiperglisemi nedenli oksidatif stresi azaltmıştır.

Diğer bir çalışmada, *M. chamomilla* bitkisinin toprak üstü kısımlarının hidroalkolik ekstresinin (MCE) antiülserojenik ve antioksidan özellikleri, ratlardaki etanol-indüklü gastrik mukozal hasar üzerinde incelenmiştir. Gastrik mukozal hasar indüklenmesinden sonra, tüm gruplar kurban edilmiştir. Gastrik ülser indeksi hesaplanmıştır. Tüm kanda ve gastrik dokuda MDA ve azalmış GSH seviyeleri ve serum askorbik asit, retinol ve  $\beta$ -karoten seviyeleri tüm gruplarda ölçülmüştür. Bazı dozlarda MCE ile tedavi gastrik lezyonları önemli ölçüde azaltmıştır. Tüm kanda ve gastrik dokuda, bazı dozlarda MCE, MDA'yı önemli ölçüde azaltmış ve GSH seviyelerini önemli ölçüde yükseltmiştir. Serum  $\beta$ -karoten ve retinol seviyeleri, kontrol grubuna göre 200 mg/kg MCE uygulanmış grupta önemli derecede daha yüksektir. Sonuç olarak MCE'nin etanol-indüklü gastrik mukozal lezyonlara karşı koruyucu bir etkisi vardır ve bu etki, antioksidan aktivitedeki artmaya ve lipid peroksidasyonundaki

azalmaya bağlıdır. MCE gastroprotektif aktivite göstermektedir. MCE'nin antiülser aktivitesi, bu bitkinin mide ağrısı tedavisinde geleneksel kullanımını desteklemektedir (Cemek ve ark. 2010).

*M. chamomilla* bitkisinin antioksidan etkisini incelemek için yapılan plazmanın FRAP yönteminde, Dragland ve ark. (2003), bitkinin antioksidan kapasitesini tayin etmişler ve bitkinin ortalama değerinin (17,7 mmol/100g) *Coriandrum sativum*'dan (3,3 mmol/100g) yüksek olduğunu göstermiştir.

Yapılan bu çalışmada *M. chamomilla* çiçeklerinden ve *Marjorana hortensis* kurutulmuş yapraklarından elde edilen uçucu yağların antikanser aktivitesi, lösemi HL-60 ve NB4 hücrelerine karşı *in vitro* olarak test edilmiştir. Viyabilite testi için HL-60 ve NB4 hücrelerini 25, 50, 75, 100 ve 200 ppm'de uçucu yağlar ile inkübe etmişlerdir. *M. chamomilla* uçucu yağı ile tedaviden 24 saat sonraki HL-60 hücrelerinin ölüm yüzdeleri sırasıyla %22,8, %36, %46,2, %67,5, %78,4 ve NB4 hücrelerinin ölüm yüzdeleri sırasıyla %17,1, %26,67, %55,86, %76,1 ve %86,03'dür. Uçucu yağın antioksidan aktivite tayini DPPH radikaline karşı *in vitro* yapılmıştır. Deneyde uçucu yağların farklı konsantrasyonları 25, 50, 75, 100, 200 ppm ile çalışılmıştır. *Matricaria* uçucu yağı ile tedaviden sonraki DPPH inhibisyon yüzdeleri %19,57, %34,41, %45,39, %63,11 ve %94,03'dür. *Matricaria* uçucu yağı GC-MS ile analiz edilmiştir. Uçucu yağda başlıca 47 bileşen teşhis edilmiş, başlıca bileşenler; bisabolol oksit A ve B (%37,85), kamazulen (%14,77), gayazulen (%12,42), a-bisabolol (%9,81) ve bisabolon oksit (%4,12)'dir. 200 pmm konsantrasyonda *Matricaria* uçucu yağı %94,03 oranında DPPH inhibisyonu ile aynı konsantrasyonda vitamin C ile yaklaşık olarak aynı (%98,58) inhibisyonu yapmıştır. Çalışmada antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerin kamazulen ve gayazulen olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak *Matricaria* uçucu yağı, doğal antioksidan olarak kullanılabilir (Romeilah 2009).

Diğer bir çalışmada, *M. chamomilla* kapitulularının ve *Artemisia dracunculus* toprak üstü kısımlarının uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi ve kimyasal bileşimi incelenmiştir. GC-MS analizleri sonucunda *M. chamomilla* bitkisinde (E)-beta-farnesen (%24,19), oksit A gayazulen (%10,57), alfa-bizabolol oksit A (%10,21), alfa-farnesen (%8,7) ve alfa-bisabolol (%7,27)'dur. Uçucu yağların antioksidan aktivitesi, DPPH

serbest radikal süpürücü ve beta-karoten/linoleik asit metotları kullanarak araştırılmıştır. *M. chamomilla* uçucu yağının EC<sub>50</sub> değeri 5,63 ± 0,20 mg'dır. *Matricaria* uçucu yağı, 60°C'de hızlandırılmış koşullar altında soya fasülyesi yağının oksidasyon hızını düşürmüştür (Ayoughi ve ark. 2011).

Ticari olarak kullanılabilir *Matricaria* uçucu yağını agar plakları metodu kullanarak test etmişlerdir. Uçucu yağlar, β-karoten ve linoleik asit içeren plaklara eklenmiş, daha sonra arka plan beyazlayana kadar 45°C'de inkübe edilmiştir. Antioksidan değerleri, renk alıkonma alan çapı ve elde edilen renk şiddeti olarak rapor edilmiştir. Sonuç olarak, *Matricaria* uçucu yağı antioksidan özellik göstermiştir (Lis-Balchin ve ark. 1998; McKay ve Blumberg 2006).

Yapılan çalışmalarda kamazulen, *Matricaria* ekstresi ve uçucu yağın potansiyel antioksidan etkisi olduğu görülmüştür. Kamazulenin, lipit peroksidasyonu inhibisyonu ile antioksidan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kamazulen, antioksidan ve antienflamatuvar etki için araşidonik asitin kimyasal peroksidasyonunu da bloke etmektedir (Gruenwald ve ark. 2007).

### 2.3.3.3. Yara İyileştirici Etki

Yapılan bir çalışmada, albino ratlardaki kütanoz yanık yarası üzerinde *M. chamomilla* çiçek ekstresinin etkileri incelenmiştir. Daha önceki çalışmalar, *M. chamomilla* ekstresinin anti-enflamatuvar, antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini göstererek, albino ratlardaki yanık yarası üzerinde topikal *M. chamomilla* ekstresinin etkilerini incelemek için öncü olmuştur. 30 erkek albino rat (250-300 g) rastgele seçilmiş ve kontrol, taşıyıcı ve tedavi grubu olarak 3 grup oluşturulmuştur. Hayvanların sırt kısmında, vücut yüzey alanlarının %20'si kadar ikinci derece yanık yapılmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlara tedavi uygulanmamıştır. Taşıyıcı ve tedavi grubundaki hayvanlar, yanık oluşturulmasından yara iyileşmesi tamamlanana kadar günde iki defa sırasıyla zeytinyağı ve zeytinyağında çözülmüş ekstre ile tedavi edilmiştir. Yara iyileşmesinin yüzdesi haftalık hesaplanmıştır. Sonuçlar, taşıyıcı ve tedavi grubu



arasında önemli farklılık ( $p<0,05$ ) olduğunu göstermiştir. Ovalama yağı şeklinde *M. chamomilla* ekstresinin, ratlarda yanık yarası iyileşmesinin hızlanması için iyi bir potansiyel olduğu sonucuna varılmıştır (Jarrahi 2008).

Jarrahi ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada *M. chamomilla* ekstresinin topikal olarak albino ratlardaki linear kesi yara iyileşmesi üzerine etkisi değerlendirilmiştir. 30 erkek Wistar ratlerin sırt kısmında 3 cm'lik linear kesi yapılmıştır. Hayvanlar, kontrol, zeytinyağı ve tedavi grubu olarak rastgele üç gruba ayrılmıştır. Zeytin yağı grubuna, yara iyileşmesi tamamlanana kadar deneyin başlangıcından itibaren günde bir kez topikal olarak zeytin yağı verilmiştir. Tedavi grubuna, zeytin yağında çözülmüş *M. chamomilla* ekstresi topikal olarak uygulanmıştır. Yara iyileşmesinin yüzdesini hesaplamak için deneyin başlangıcında ve ileriki 2, 5, 8, 11, 14, 17 ve 20. günlerde yara alanı ölçülmüştür. Yara alanının ölçülmesinden sonra Walker formülü ile yara iyileşmesi yüzdesi hesaplanmıştır. Sonuçlar, tedavi grubu ve zeytin yağı kullanılan grup arasında istatistiksel olarak ( $p<0,05$ ) önemli ölçüde farklılık olduğunu göstermiştir. *M. chamomilla* ekstresinin topikal olarak uygulandığında, ratlardaki linear kesi yara modelinde yara iyileştirici potansiyeli olduğu sonucuna varılmıştır.

Başka bir çalışmada dövme yaptırmış ıslak yarası olan 14 hastaya dermabrazyon sonrası topikal olarak *chamomilla* ekstresinin terapötik etkisi çift kör deneyleri ile incelenmiştir. *M. chamomilla* ekstresi plaseboya göre, iltihaplı yara alanını istatistiksel olarak önemli derecede azaltmış ve kurumayı arttırmıştır (Monograph 2008).

Pek çok çalışmada, atopik dermatit ya da egzema, radyasyon terapi ve kızarıklık ile ilgili cilt inflamasyonu üzerinde topikal olarak uygulanan *M. chamomilla* preparatlarının etkileri test edilmiştir. Aergeerts ve ark. (1985), ellerinde, kollarında ve bacaklarında ekzaması olan 161 hastada *M. chamomilla* içeren kremin etkinliğini, hem steroid (%0,25 hidrokortizon, %0,75 fluokortin butil ester) hem de nonsteroidal (%5 bufeksamid) olan ve ekzama türü hastalıkların tedavisinde kullanılan dermatolojik ajanlar ile karşılaştırmışlardır. Hastalar başlangıç olarak %0,1 difluokortolon valerat ile tedavi edilmiştir. 3-4 hafta tedavi periyodu sırasında, *Matricaria* kreminin %0,25

hidrokortizondan biraz daha az etkili, %5 bufeksamak ve %0,75 fluokortin butil esterden daha fazla etkili olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada çocukken episiotomi geçiren 147 kadın hasta 6 gün boyunca *M. chamomilla* çiçek ekstresi içeren merhemle ya da %5 dekspantenollü kremle tedavi edilmiştir. Bu iki preparatın yara iyi edici etkileri kıyaslanabilir düzeyde bulunmuştur (Demirezer ve ark. 2007).

İki haftalık bir denemede, Patzelt-Wenczler ve Ponce-Poschl (2000) isimli araştırmacılar, orta derecede atopik egzemalı hastalarda, chamomilla içeren kremin etkileri ile %0,5 hidrokortizon ve plasebonun etkilerini karşılaştırmıştır. *M. chamomilla* ile tedavi edilen grup, kaşıntı, kızarıklık ve deri soyulmasında (dökülmesi) yaklaşık %50 gelişme göstermiştir. Buna rağmen hidrokortizonlu gruptaki gelişmenin derecesi, plasebo ve *M. chamomilla* kremi ile karşılaştırıldığında hafiftir.

Baş ve boyun kanser kemoterapisi gören 78 hastayla (bu hastaların yaklaşık 20 tanesi radyasyon terapisi almış) *Matricaria chamomilla* gargarası kullanarak kontrollü olmayan karşılaştırmalı bir klinik çalışma gerçekleştirilmiştir. Kemoterapi uygulanan hastalar arasında 16 tanesine kemoterapinin ikinci tekrarlayan evresinde bitki gargarası (10-15 damla/100 ml ağızda kuvvetli bir şekilde ılık suyla çalkalanmaktadır) verilmiştir. Hastalardan 32 tanesine mukositis gelişmesinden sonra oral yolla gargara verilmiştir. Hastaların 5'inde birinci aşamada, 13'ünde ikinci aşamada, 14'ünde ise üçüncü aşamada mukositis gelişmiştir. *Matricaria* gargarası mukositisin iyileşmesine yardımcı olmuştur. Birinci aşamadaki hastalara gargara uygulanmasından itibaren 5 gün ile 7 gün arasında birinci aşama ve sıfırcı koşul denilen durum ortaya çıkmıştır. Bu hastalarda uygulamadan 3 gün sonra önemli gelişmeler gözlenmiş ve her hasta bu rahatsızlıktan kurtulduğunu ve rahatladığını belirtmiştir. İkinci aşamada mukositi olan hastalara gargara uygulandığında 3 ila 5 gün sonra birinci aşama ve sıfırcı koşul denen duruma dönmüş ve hastaların daha fazla kötüye gitmesinin önüne geçilmiştir. Diğer kemoterapi uygulanan 46 hastaya ise *Matricaria* gargarası verilmiş fakat klinik olarak mukositis belirtileri görülmemiştir. Kemoterapinin tekrarlayan evresinde *Matricaria* gargarası alan 16 hastanın 3 tanesinde 1. aşama, 9 tanesinde 2. aşama, 4 tanesinde ise 3. aşama mukositis görülmüştür. Bu hastalara aynı gün *Matricaria* gargarası verildiğinde

15 tanesinde klinik olarak dikkate değer doku değişimleri gözlenmezken sadece 1 hastada dilde 1. aşama mukositik etki gözlenmiştir. Sonuç olarak kemoterapi alan hastalarda *Matricaria* gargarasının mukositi ortadan kaldırma etkisinin %78 olduğu görülmüştür (McKenna ve ark. 2002, Demirezer ve ark. 2007).

Anderson ve ark. (2000), *M. chamomilla* yağını da içeren aromaterapötik uçucu yağları ile masaj yapılmasının, geleneksel tedavilere cevap vermeyen atopik egzemalı 8 çocuktaki (3-7 yaşlarında) gece rahatsızlık skorunu ve gündüz tahriş skorunu önemli ölçüde geliştirdiğini göstermiştir.

*M. chamomilla* bitkisinin antienflamatuvar ve yara iyileştirici etkisi, uçucu yağ ve hidrofilik ekstresi ile ilgilidir. Çift-kör çalışması, bitki ekstresinin plasebo ile karşılaştırıldığında yara alanını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. *Matricaria chamomilla* bitkisini içeren bir krem elleri, ön kolları ve bacaklarında enflamatuvar dermatozlu hastalar için etkili bir tedavidir (Gruenwald ve ark. 2007).

#### 2.3.3.4. Diğer Etkiler

##### Antienflamatuvar Etki:

Yapılan bir çalışmada, *Matricaria recutita* kurutulmuş çiçeklerinin etil asetat ekstresi ile çalışılmıştır. Bitki ekstresini %1,2 a/a oranında içeren bir diyet ile 11 gün boyunca fareler beslenmiştir. Farelerdeki kaşınma davranışı doza bağlı olarak önlenmiştir. Buna ek olarak, *Matricaria* bitkisinin etanol ekstresinin etil asetat fraksiyonu ve sıcak su infüzyonunun etanol ekstresi de kaşınmaya karşı güçlü inhibisyon göstermiştir. Bu bitki ekstrelerinin inhibitör etkileri, antialerjenik bir ajan olan 10 mg/kg dozda oxatamid ile ortaya çıkan etki ile karşılaştırılabilir. Sonraki çalışmalar, bitkinin etil asetat ekstresinin antipirüritik etkisinin doza bağlı olduğunu göstermiştir. Etil asetat preparatının (300 mg/kg), kombine uygulama ile hem anihistamik ajan oxatamid hem de fexofenadin (10 mg/kg)'in etkilerini arttırdığı gösterilmiştir (Kobayashi ve ark. 2003; Kobayashi ve ark. 2005).

Panes ve ark. (1996) apigenin ile ön tedavi (50 mg/kg, p.o) yapılan ratlarda, rTNF ile tedaviden 5 saat sonra TNF- $\alpha$ -indüklü hücrelerarası adezyon molekülü-1'in upregülasyonu etkili bir şekilde bloke edildiğini göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, Wistar albino ratlara verdikleri *Matricaria chamomilla* bitkisinin dondurarak kurutulmuş ekstresi enflamatuvar etkiyi ve karragenan ve prostaglandin E1'in birlikte enjeksiyonu ile indüklenmiş lökosit infiltrasyonunu önlemiştir (McKay ve Blumberg 2006).

Al-Hindawi ve ark. (1989), kurutulmuş *Matricaria* bitkisinin liyofilize etanol ekstresini Wistar ratlara uygulamıştır. Sadece karragenan verilmiş kontrol ratlar ile karşılaştırıldığında, etanol ekstresi farelerdeki pençe ödemi %41,1 oranında inhibe etmiştir. Karşılaştırma yapıldığında, 100 mg/kg asetilsalisilik asit ile tedavi edilmiş ratlardaki ödem %32,4 oranında inhibe edilmiştir.

Başka bir çalışma *in vitro* olarak, *M. chamomilla* ekstresinin, siklooksijenaz ve lipooksijenazı sonuç olarak prostaglandinleri ve lökotrienleri inhibe ettiğini göstermiştir. Diğer bir çalışma, azulenlerin (kamazulen, prokamazulen ve gayazulen), pituiter ve böbrek üstü bezinde, kortizon salımını yükselterek ve histamin salımını azaltarak antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Monograph 2008).

Yapılan çalışmalarda kamazulen, lökotrien B4 oluşumunun inhibisyonunu göstererek antienflamatuvar etki meydana getirmiştir. En-in-disikloeter, histamin salımını önlemek için mast hücrelerinin degranulasyonunu inhibe etmiştir. Apigenin sitokinlere cevap olarak, intraselüler adezyon moleküllerinin düzenlenmesini ve lökosit adezyonunu etkili bir şekilde bloke etmiştir (Gruenwald ve ark. 2007).

İsviçre farelerinde yapılan bir çalışmada, *M. chamomilla* ekstresinin kulağın içindeki alana topikal uygulaması ile kroton yağının %2,5'lik emülsiyonu uygulanarak indüklenen ödemi azalttığı görülmüştür. Bu deneyde 0,05 mg/ml bizabolol, 0,45 mg/ml bizabolol oksit, 0,4 mg/ml apigenin ve glikozitleri, 0,02 mg/ml azulen içeren etanol ekstresi, 0,75, 0,25 ve 0,08 mg dozlarda her hayvana uygulanmıştır. Kontrol hayvanları ile karşılaştırıldığında, 0,25 mg bitki ekstresi ile tedavi edilen farelerde ödemde %8,5 ve

0,75 mg bitki ekstresi ile tedavi edilen farelerde ödemde % 23,4 oranında azalma görülmüştür. Bitki ekstresinin 0,75 mg dozu ile oluşan ödemdeki azalma, referans olarak kullanılan nonsteroidal antienflamatuvar ajan 0,45 mg benzidamin (% 26,6) ile elde edilenle benzerdir. Buna benzer yapılan başka bir çalışmada ise, kroton indüklü ödem oluşturulan farelerdeki enflamasyonun önlenmesinde, 51,8 mg/100g bisabolol, 29,6 mg/100g matrisin ve 5,3 mg/100 g apigenin içeren taze *Matricaria* bitki ekstresinin 750 µg dozunda topikal tedavinin, referans ilaç olan 0,60 mg benzidamin kadar etkili olduğu bulunmuştur. Benzidamin, taze bitki ekstresi ve kurutulmuş bitki ekstresi bu modeldeki enflamatuvar cevabı sırasıyla %31,6, %31,6 ve %23,7 oranında inhibe etmiştir (Tubaro ve ark. 1984; Della Logia ve ark. 1990; McKay ve Blumberg 2006).

Başka bir çalışmada izole sıçan mast hücrelerinde protamin sülfat aracılığıyla histamin salınımı uyarılmıştır. *M. chamomilla* bitkisinden elde edilen kamazulen, trans-en-in-disikloeter veya (-)- $\alpha$ -bizabolol'ün (konsantrasyon aralığı  $10^{-9}$  ve  $10^{-5}$  M) etkisi altında bu sürenin değişimi incelenmiştir. Kamazulen ve (-)- $\alpha$ -bizabololün  $10^{-9}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyon aralığında mast hücrelerinin degranülasyonunda protamin sülfatın uyarılması üzerinde etkisi çok az olmuştur.  $10^{-5}$  M gibi daha yüksek konsantrasyonda ise histamin salınımını stimüle etmişlerdir. Trans-en-in-disikloeter  $10^{-4}$  M'dan daha düşük konsantrasyonlarda orta seviyede stimulan etki göstermiştir. Bundan daha yüksek konsantrasyonlarda da histamine salınımı üzerine güçlü bir inhibitör göstermiştir (Miller ve ark. 1996; Demirezer ve ark. 2007).

Başka bir çalışmada antienflamatuvar ajan olarak apigeninin terapötik potansiyeli, insan endotel hücrelerindeki adezyon protein artışı ve lökosit adezyonunu engelleme yeteneği ile *in vitro* olarak gösterilmiştir (Gerritsen ve ark. 1995). Aynı zamanda, apigenin interlökin-1 (IL-1)  $\alpha$ -indüklü prostaglandin sentezi, tümör nekroz faktör (TNF)-  $\alpha$ -indüklü IL-6 ve IL-8 üretimini inhibe etmiş ve lökositlerin sitokin uygulanmış endotel hücrelerine adezyonun bloke etmiştir. Fare makrofaj hücrelerinde, 3,7 ve 37 µM dozda apigenin, liposakkarit-indüklü IL-6 üretimini doza bağlı olarak önemli ölçüde inhibe etmiştir (Smolinski ve Pestka 2003).

Hücre kültürü modellerinde apigenin kullanılarak yapılan diğer çalışmalar, bu flavonoidin adezyon molekül ekspresyonu, prostaglandin (PG) E2, siklooksigenaz (COX)-2 ve nitrik oksit üretimi üzerinde inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir (McKay ve Blumberg 2006).

Yapılan bir çalışmada bitkinin anti-alerjik aktivite potansiyeli insan bazofillerinde *in vitro* olarak gösterilmiştir. Doğal olarak bulunan test edilmiş 22 flavonoit arasından kersetin ve apigenin, bazofillerden salınan antijen-indüklü histaminin en etkili inhibitörleridir. 50 µM dozda kersetin, histamin salımını %95,8, apigenin % 89,4 oranında inhibe etmiştir (Middleton ve Drzewiecki 1982).

#### Antispazmodik Etki:

Rastgele seçilen çift kör çok merkezli bir araştırmada akut, komplike olmayan diyaresi bulunan 79 çocuk (6 aylıktan 5 yaşına kadar) denek üzerinde çalışılmıştır. Bu çocuklara rehidrasyon ve diyet ek olarak içinde elma pektini ve *M. chamomilla* ekstresi taşıyan bir preparat ya da plasebo verilmiştir. Tedavinin 3. gününün sonunda diyare, plasebo gruba kıyasla pektin-*M. chamomilla* grubunda anlamlı bir şekilde çabuk iyileşmiştir. Pektin-*M. chamomilla* diyarenin süresini en az 5 saat kısaltmıştır (Gardiner 1999).

Yapılan bir çalışmaya göre *M. chamomilla* ekstreleri, antispazmodik etki göstermektedir. Apigenin, α-bizabolol ve cis-spiroeterler önemli antispazmodik etki sağlamaktadır. Baryum klorit indüklü izole edilmiş domuz ileum'unun spazmları test edildiğinde, 10 mg apigenin antispazmodik aktivite sağlamıştır. Benzer sonuçlar α-bizabolol ve cis-spiroeterlerde de gözlenmiştir (Monograph 2008).

Başka bir çalışmada *M. chamomilla* uçucu yağı ile bisabolol A ve B izole düz kaslarda tüm papaverinler gibi doza bağlı spazmolitik aktivite göstermiştir. Bununla beraber (-)-α-bizabolol, papaverine eşit potansiyelde etki gösterirken bisabolol oksit A ve B'ye göre iki kat daha etkilidir. *M. chamomilla*'nın diğer bileşenleri arasında

apigenin, luteolin, patuletin, kersetin, apigenin 7-glukozit'e göre daha güçlü bir antispazmodiktir (McKenna ve ark. 2002; Demirezer ve ark. 2007).

### Hipokolesterolemik Etki

*M. chamomilla* bitkisinin sulu ekstresinin hiperlipidemik Wistar ratlardaki serum kolesterol seviyelerine etkisini rapor etmişlerdir. 10 günün sonunda, % 6'lık *Matricaria* sulu ekstresi ile oral olarak tedavi edilen hiperlipidemik farelerde kontrollerle karşılaştırıldığında serum kolesterolü düşmüştür (Al-Jubouri ve ark. 1990; McKay ve Blumberg 2006).

### Antiülser Etki

Karbalay-Doust ve Noorafshan (2009), *M. chamomilla* ekstrelerinin antiülser etkisini değerlendirmek için, 15 dişi fare kullanmış ve 3 gruba ayırmıştır. İlk gruba 400mg/kg sukralfat ve ikinci gruba 400 mg/kg ekstre intragastrik yolla verilmiştir. Kontrol grubuna 1,0 ml distile su verilmiştir. 30 dk. sonra tüm hayvanlara %60'lık etanol içinde 0,3 M HCl çözeltisinin 1,0 ml'si oral olarak verilerek gastrik ülserasyon oluşturulmuştur. 1 saat sonra gastrik lezyonların alanı ve hemoraji (kanama) stereolojik metod ile ölçülmüştür. Ekstrenin toksisitesini değerlendirmek için, 10 erkek ve 10 dişi fare kontrol ve deneysel gruplara ayrılmıştır. Kontrol ve deneysel gruplara intragastrik yolla sırasıyla su ve 5000 mg/kg ekstre verilmiştir. 14 gün sonra farelerin, karaciğer, böbrek, akciğer ve kalpleri makroskopik olarak incelenmiş ve bağıl ağırlıkları (organ/vücut) belirlenmiştir. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak, *M. chamomilla* ekstresinin 400 mg/kg oral uygulanması farelerde gastrik ülserasyonu önlemede etkilidir ve 5000 mg/kg'a kadar dozlarda toksik etki meydana getirmemiştir. *M. chamomilla* çiçek ekstresinin antiülser etkisi sukralfat ile benzerdir.

Yapılan bir antiülser aktivite çalışmasında albino sıçanlar kullanılmış ve farklı ülser modelleriyle (indometazin, etanol, asetik asit ile uyarılmış ülser, koterizasyon

ülseri, stres ülseri yöntemleri) bisabolol ve *M. chamomilla* ekstresi içeren Kamillosan'ın antiülser etkileri incelenmiştir. Bisabolol, indometazin, stres ve etanolle uyarılan ülserlerin oluşumunu inhibe etmiştir. Bisabolol kimyasal stres (asetik asit ile) veya ısı koagülasyonu ile uyarılan ülserin iyileşme süresini kısaltmıştır. Kamillosan ise etanol ile uyarılmış ülserin oluşumunu inhibe etmiştir (Demirezer ve ark. 2007).

### Gastrointestinal Etki

Yapılan bir çalışmada, gastrointestinal sistemde (-)-alfa-bisabololün pepsinin proteolitik aktivitesini düşürdüğü gösterilmiştir. Sonuçta, (-)-alfa bisabolol, asetilsalisilik asit ile oluşan gastrik toksisiteden koruyucu bir etki meydana getirmiştir (Gruenwald 2007).

### Antiplatelet Aktivite

Pierre ve ark. (2005) 28 sulu ekstreden *M. chamomilla* ekstresinin *in vitro* olarak önemli ölçüde anti platelet aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bitki ekstresi, kontrollerle karşılaştırıldığında ( $p < 0,05$ ) kollajen (%30) ile indüklenmiş tüm kan agregasyonunda olduğu gibi ADP (%60) ve kollajen (%84) ile indüklenmiş platelet agregasyonunu da inhibe etmiştir. Ayrıca, bitki ekstresi, ADP ve kollajen indüklü Tromboksan B2 sentezini de güçlü bir şekilde inhibe etmiştir.

### İmmünostimülan Etki

*M. chamomilla*'da bulunan heteroglikan polisakkaritlerin farelerde fagositozisi artırdığı bulunmuştur. Fagositik aktivitedeki artış test edilen tüm dozlarda *Echinacea purpurea*'dan elde edilen benzeri polisakkaritlerden daha fazladır.  $10^{-3}$  mg/ml konsantrasyonda maksimum artışın % 64 olduğu gözlenmiştir (McKenna ve ark 2002; Demirezer ve ark. 2007).



### Kemopreventif Etki

Geleneksel tıpta yaygın bir şekilde yüzyıllardır kullanılan *M. chamomilla* bitkisi pek çok hastalığın tedavisi için kullanılmakta ve antikanser etkisi bilinmektedir. Bu çalışmada, çeşitli insan kanser hücrelerine karşı bitkinin su ve metanol ekstresinin antikanser özellikleri değerlendirilmiştir. Bitki ekstresi uygulanması, normal hücrelerde minimal büyüme inhibitör cevap meydana getirirken, çeşitli insan kanser hücrelerinde hücre viabilitesinde önemli bir düşüş gözlenmiştir. Benzer dozlarda, bitki uygulanması normal hücrelerde değil ama kanser hücrelerinde farklı özellikte apoptosis ile sonuçlanmıştır. Bitki ekstresinin HPLC analizi, bitkide başlıca bileşen olan apigenin 7-O-glukozit ve bazı minör glikozit bileşenlerinin varlığını doğrulamıştır. Apigenin glukozitleri kanser hücre büyümesini inhibe etmiştir. Bu çalışma, kanser hastalarında, bu bitkisel ilacın potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Srivastava ve Gupta 2007).

*M. chamomilla*, ticari kullanım için dils çiçeklerinden ekstre edilen apigenin flavonunun en zengin doğal kaynağıdır (840 mg/100g). Apigeninin hücre siklusu progresyonunu içeren bir dizi hücresel proses üzerine etkisi vardır. Yapılan bir hücre siklusu progresyonu çalışmasında, akış-sitometrik analizleri apigeninin nöronal hücreleri, fare cilt hücreleri, insan HL-60 hücreleri ve insan diploit fibroblastlarını (HDF) doza bağlı olarak ve geri dönüşümlü biçimde G2/M fazında bloke edebileceğini göstermiştir. Çalışma aynı zamanda, G0'da senkronize edilmiş hücreler kullanarak G0/G1 fazında HDF'nin apigenin indüklü bloke oluşunu göstermiştir (McKay ve Blumberg 2006).

Yapılan çalışmalarda apigeninin, hücre içi sinyal verme basamağını içeren seçilmiş enzimleri inhibe ettiği ve proto-onkogen ekspresyonunu durdurduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak apigenin mitojen-aktive edilmiş protein kinazın güçlü bir inhibitörüdür (Kuo ve Yang 1995; Kanda ve ark. 1998). Diğer bir çalışmada fare hepatoma hücrelerinde apigeninin, kinon redüktaz aktivitesinin (20 µm'de % 50 yükselme) etkili bir indükleyicisi olduğu gösterilmiştir (Uda ve ark. 1997; McKay ve Blumberg 2006).

Yapılan bir çalışmada insan sitokrom P450 3A4, ticari olarak kullanılabilir *M. chamomilla* etanol ekstresi ile %50 (IC<sub>50</sub>) inhibe edilmiştir (Budzinski ve ark. 2000).

Huang ve ark. (1996) yaptıkları bu çalışmada 10 µM dozda apigeninin, adenozin trifosfat ile yarışarak fare fibroblast hücrelerinde protein kinaz C aktivitesini (%50) inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca, hücrel proteinlerin TPA ile stimüle edilmiş fosforilasyon seviyesini azaltmış ve onkojenler C-JUN ve C-FOS'un TPA indüklü ekspresyonunu önlemiştir.

Diğer çalışmalar apigeninin tirozin kinazı inhibe edebileceğini ve prostat kanser hücreleri olması halinde hiperfosforilasyonu azaltabileceğini, NF-kappa B/p65, AR protein ekspresyonunu baskılayabileceğini ve prostat spesifik antijen (PSA)'nın hücre-içi ve salgılanmış şeklini azaltabileceğini göstermiştir (Kuo ve ark 1994; Lee ve ark. 1998, Gupta ve ark. 2002).

Başka bir çalışmada, östrojen-bağlı MCF-7 hücrelerinde, 10 µm dozda apigenin östradiol-indüklü DNA sentezini inhibe etmiştir. Daha sonraki deneylerde, 200ng/ml ticari olarak bulunan *M. chamomilla* etanol ekstresi içeren jel kapsülleri, zayıf östrojenik ve progestasyonel aktivite göstermiştir (Wang ve Kurzer 1998; Rosenberg ve ark. 2001; McKay ve Blumberg 2006).

Diğer çalışmalar apigeninin antimutajenik aktivitesini *Salmonella typhimurium* deneyi ile ve Çin hamster ovaryum hücrelerinde belirlemiştir. Apigenin varlığında 2-aminoantrasen, benzo(a)piren, 1-nitropiren ya da 1,6-dinitropiren indüklü mutagenesis etkili bir şekilde inhibe edilmiştir (Birt ve ark. 1986; Kuo ve ark. 1992).

*M. chamomilla* çiçeklerinin majör flavonoiti olan apigeninin önemli ölçüde *in vitro* kemopreventif etki gösterdiği görülmüştür. Dolayısıyla apigenin antitümör bir ilaç geliştirmek için iyi bir aday bileşik olarak kabul edilmektedir. Bu etki için önemli mekanizmalardan biri, düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde önemli bir rolü olduğu düşünülen anjiyogenezisin inhibisyonudur. McKenna ve ark. (2002) apigeninle ilgili bu tip hücreler üzerinde yaptıkları *in vitro* çalışmalar ile endothelial hücrelerin çoğalmasının %74, göçünün ise %48 oranında inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı

zamanda apigenin (5µg/ml) kapiler benzeri yapıların oluşumunu %70 oranında inhibe etmiştir. Diğer taraftan vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasının apigenin tarafından (5 µg/ml) güçlü bir şekilde stimüle edildiği gösterilmiştir. Bu etkinin oluşumuna, düz kas hücrelerindeki inhibitor proteinlerin azalması ve sonradan hücre döngüsünün uyarılması katkıda bulunmaktadır (McKenna ve ark. 2002; Demirezer ve ark. 2007).

### 2.3.4. A. *hippocastanum* Bitkisinin Farmakolojik Etkileri

*A. hippocastanum* tohumları, uzun yıllardır Avrupa fitoterapisinde venöz rahatsızlıkları özellikle varisli damarlar, hemoroid, artrit gibi enflamatuvar rahatsızlıklar, bel ağrısı, tendonit ve spor yaralanmalarını tedavi etmek için kullanılmaktadır. *A. hippocastanum* tohum ekstresinin venöz ve enflamatuvar hastalıklar gibi hastalıklarda iyileşme etkisinin, vücuttaki oksidatif strese karşı olan potansiyel etkisi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Küçükkurt ve ark. 2010).

Son yıllarda Avrupa'da antienflamatuvar bir ilaç hammaddesi olarak, Hippocastani semen ekstreleri yerine daha çok saponozitleri, birçok müstahzarın hazırlanmasında kullanılmaktadır (Tanker ve Tanker 1998).

Avrupa konseyi, bitkiyi selülit, anti-ödem, antikuperoz, vazoprotektif ve periferik vazokonstriktör olarak listelemiştir (Dweck 1995).

Ülkemizde halk arasında, ezilmiş tohumlarından hazırlanmış çay böbrek taşı düşürmek için ve mide ağrısına karşı kullanılmaktadır (Küçükkurt ve ark. 2010).

At kestanesi ekstresinde başlıca essin bulunmakta ve geleneksel olarak kronik venöz yetersizliğinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar at kestanesi ekstrelerinin antiöksudatif, antiödem, antienflamatuvar ve vazoprotektif etkilerinin essinden kaynaklandığını göstermiştir (Reuter ve ark. 2010, Küçükkurt ve ark. 2010; Wilkinson ve Brown 1999). Buna ek olarak essin hemolitik, astrenjan, dolaşımda tonik etkili, dermatolojik ajan, periferik vazodilatör ve topikal vulvenerdir. Essin venöz yetersizlikte, kollajen sentezinde, ülserde ve yara iyileşmesinde çok etkilidir. Özellikle cerrahi sonrası sikatrizan etki için ve cilt hastalıklarında kullanılmaktadır. Damarlarda içteki duvarların nemlenmesini artırarak, vasküler duvarlar üzerinde essinin nemlendirici ya da deterjan etkisi vardır. Bu etki doku sıvısının kapillerlere sızmasını kolaylaştırmaktadır. Yükselmiş onkotik (ya da kolloid-osmotik) basıncı, aynı anda kapiller içine emilen perivaskular ödeme neden olmaktadır. Bu anti-ödem etki, tüm koşullarda özellikle çürüklerin eziklerin şişmesini azaltmada ve diğer ödem durumlarında çok kullanışlıdır (Dweck 1995).

*A. hippocastanum* bitkisinin çeşitli farmakolojik etkileri bulunmaktadır. Bitkinin antimikrobiyal etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır, ancak antioksidan, yara iyileştirici ve diğer etkileri ile ilgili çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

#### 2.3.4.1. Antioksidan Etki

Küçükkurt ve ark. (2010) tarafından yapılan bu çalışmada, standart pellet diyeti ve yüksek-yağ diyeti verilen erkek farelerde kan ve doku antioksidan defans sistemi üzerindeki *Aesculum hippocastanum* tohumlarından elde edilen essin karışımının *in vivo* etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, essin karışımı oksidatif stresin yan etkilerini engellemiş ve standart pellet diyeti ve yüksek-yağ diyeti verilen farelerde karaciğer üzerinde koruyucu etki göstermiştir. Mevcut sonuçlar, *Aesculus hippocastanum*'un vücudun antioksidatif defans sitemini yükselttiğini ve erkek farelerde yüksek-yağ diyeti-indüklü lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, *A. hippocastanum* kabuk özütlerinin sitotoksik ve antioksidan özelliklerini araştırmak için tasarlanmıştır. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş kabuklar, metanol, etanol, su, ve etil asetat çözeltileri içerisinde 1:6 (v/w) oranında ekstre edilmiştir. Her ekstrenin antioksidan kapasitesi, DPPH radikalini yakalama yeteneğiyle tespit edilmiştir. Metanol, etanol, su ve etilasetatlı ekstreler için etkili konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) değerleri sırasıyla 0,010 mg/mL, 0,011 mg/mL, 0,019 mg/mL ve 0,009 mg/mL olarak hesaplanmıştır. At kestanenin dört farklı kabuk ekstresi arasında, en yüksek DPPH radikali yakalama yeteneğini etilasetat göstermiştir. Bununla birlikte, HPLC metodunu kullanarak fenolik bileşiklerin ayırma, tanımlama ve ileriki miktar belirlenmesinde metanol kullanılmıştır. Analitik ve yarı-preparatif HPLC, izolatların nitelik ve niceliğini ölçmede uygulanmıştır. Çoğalma çalışmaları için model olarak HL-60 kullanılmıştır. HL-60 hücreleri, metanol kabuk ekstresi ve eskuletin standardının farklı konsantrasyonları varlığında büyütülmüştür. HL-60 hücrelerinin yaşayabilmesi, tripan mavi boyası ve tetrazolyum tuzunun metabolizması ile incelenmiştir. Çoğalma çalışmaların da, metanol ekstresi ve eskuletin standardının tetrazolyum tuzunun metabolizmasında etkili doz değerleri, sırasıyla 56,18 µg/mL ve

21,23 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, at kestanesi metanol kabuk ekstresi ve eskuletin'in etkili bir antioksidan ve sitotoksik ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Özdoğan 2007).

Masaki ve ark. (1995) tarafından yapılan bir çalışmada, *A. hippocastanum* tohumlarının alkol ekstresinin, dermal fibroblast kültür hücrelerindeki oksidasyona karşı etkileri incelenmiş, ekstrenin hidroksil ve süperoksit anyon radikallerini ve lipid peroksitlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. *A. hippocastanum* bitkisinin cilt için yaşlanmayı geciktirici veya kırışıklık giderici olarak uygulanmasını önermişlerdir.

Yalınkılıç ve Enginar (2008) tarafından yapılan bir çalışmada saponin içeren bitkiler olan *A. hippocastanum* metanollü tohum ekstresi, *Medicago sativa* metanollü ekstresi, *Spinacia oleracea* metanollü ekstresinin X-ışınlarına maruz kalmış ratlardaki antioksidan sistem ve lipid peroksidasyonu üzerine olan etkileri incelenmiştir. Ratlar üç kategoriye ayrılmıştır. Birinci kategori kontrol ve sadece standart diyet verilmiştir. İkinci kategori radyasyon ve 5 ve 10 Gy doz X-ışını verilmiştir. Üçüncü kategori ekstre ve radyasyon ve 25,0 ya da 50,0 mg/kg ekstre + 5 yada 10 Gy X-ışını verilmiştir. MDA, indirgenmiş GSH, plazma vitamin C, beta-karoten ve retinol içerikleri için kan örnekleri analiz edilmiştir. Kan örnekleri karşılaştırıldığında, üçüncü kategori (ekstre ve radyasyon grubu) de kontrol grubuna göre GSH, beta-karoten, retinol ve vitamin C değerleri önemli ölçüde yükselmiş ama MDA seviyesi önemli ölçüde düşmüştür. Sonuçlar tüm ekstrelerin X-ışınına maruz kalmış ratların kan örneklerinde serbest radikal-indüklü lipid peroksidasyonu insidansını azalttığını ve antioksidan durumları artırdığını göstermiştir. Bununla birlikte *A. hippocastanum* ekstresi verilen hayvanların antioksidan etkisi, diğer iki ekstre verilen hayvanlardan daha etkilidir. *A. hippocastanum* ekstresi radyasyona karşı çok büyük dayanıklılık göstermiştir. Sonuç olarak saponin içeren ekstreler özellikle *A. hippocastanum* ekstresi antioksidan sistemi desteklemekte ve X-ışını ile hasar gören hücrelere karşı koruyucu etki göstermektedir.

Cilt yaşlanmasının serbest radikaller ve ultraviyole ışınlarla bağlı olduğu pek çok araştırmacı tarafından belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, *A. hippocastanum* ekstresinin, hücrel hasar ve enflamasyona neden olan aktif oksijen, hidroksil

radikallerini ve süperoksit anyonları, askorbik asitin absorbe edişinden 20 kat daha fazla absorbe ettiği ve bu güçlü antioksidan etkisine bağlı olarak ekstrenin yaşlanmayı geciktirdiği tespit edilmiştir (Wilkinson ve Brown 1999).

Guillaume ve Padioleau (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, essinlerin sıçanlarda 200-400 mg/kg (po) ve 1-10 mg/kg (iv) dozlarda enzimatik ve non-enzimatik lipit peroksidasyonunu inhibe ederek serbest radikalleri temizlediği tespit edilmiştir.

#### 2.3.4.2. Yara İyileştirici Etki

Fibroblastlar tarafından oluşturulan kasılma kuvvetleri, hücre morfolojisi ve vazkonstriksiyon yara iyileşmesinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bu çalışmada fibroblast bulunan kollajen jeller kullanarak hücre kasılma kuvvetleri meydana getiren içerikleri için çeşitli bitki ekstreleri arasından seçim yapılmıştır. Bu modeli kullanarak, *A. hippocastanum* ekstresinin fibroblastlarda kasılma kuvvetleri oluşturabildiğini göstermiştir. Gerilim doku oluşumunun katılımı, sitokalasin D ve rodamin falloidin ile bu tür kuvvet oluşumunun inhibisyonunu ortaya çıkarmıştır. Ekstrenin klinik olarak test edilmesinde, 40 sağlıklı gönüllü kadın kullanılmıştır. %3 ekstre içeren jel formülasyonu, 9 hafta boyunca günde 3 kez göz çevresine topikal olarak uygulanmıştır. Kırışıklıkları azaltmada ekstrenin etkililiği değerlendirilmiştir. 6 hafta sonra göz çevresinde ve göz kapağında kontrol ile karşılaştırıldığında önemli azalma gözlenmiştir. 9 hafta sonra, benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlar, at keşanesi ekstresinin fibroblastlarda kasılma kuvveti oluşturduğunu ve güçlü bir anti-aging etkeni olduğunu göstermiştir (Fujimura ve ark. 2006).

Yapılan alışmalar, essinin dermatolojik ajan, periferal vazodilatör ve topikal vulvener olduğunu ve essinin venöz yetersizlikte kollajen sentezinde, ülserde ve yara iyileşmesinde çok etkili olduğunu göstermiştir. Özellikle cerrahi sonrası sikatrizan etki için ve cilt hastalıklarında kullanılmakta olduğunu belirtmişlerdir (Dweck 1995).

Başka bir çalışmada da *A. hippocastanum* ekstresinin fibroblastlarda kasılma kuvvetleri oluşturabildiği gösterilmiştir. Kuvvet oluşumunda aktin polimerizasyon ve gerilim doku oluşumunun ilgisi, bu etkinin sitokalazin D ve rodamin falloidin ile inhibisyonu ile gösterilmiştir. Rho kinaz inhibitörleri ve Rho inhibitörü, *A. hippocastanum* ekstresi ile indüklü kuvvet oluşumunu önemli ölçüde inhibe etmiştir. Bununla birlikte diğer protein kinazlar örneğin miyosin kinaz, protein kinaz C, protein kinaz A ve tirozin kinazın at kestanesi ile indüklü kuvvet oluşumunda etkisi yoktur. Bu sonuçlar, *A. hippocastanum* ekstresinin Rho protein ve Rho kinazın aktivasyonunu takiben gerilim doku oluşumu vasıtasıyla fibroblastlardaki kasılma kuvvetlerinin oluşumunu uyardığını göstermiştir (Fujimura ve ark. 2006).

Pabst ve ark. (2001) essin kombinasyonu içeren jellerin hastalar üzerinde etkinliklerini çift kör kontrollü klinik çalışmada Reparil-N jel<sup>®</sup> (1 g essin, 5 g dietilaminsalisilat), Reparil jel<sup>®</sup> (1 g essin, %1 eskinin heparinoit özellikteki sülfatları, 5 g dietilaminsalisilat), Reparil sportjel<sup>®</sup> (2 g essin, 5 g dietilaminsalisilat) ve plasebo jel kullanarak araştırmıştır. Araştırmada, Reparil<sup>®</sup> jellerin plaseboya göre çok daha etkin olduğu ve jellerdeki kombinasyonların birbirleri arasında etkinlik açısından çok fazla farkları olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak Reparil<sup>®</sup> jellerin, ekstremitedeki eziklerde, spor yaralanmalarında güvenli ve etkili olduğu anlaşılmıştır.

*A. hippocastanum* tohum ekstresinin plasebo kontrollü, rastgele ve üç-körlü bir çalışmada venöz ülserasyon tedavisinde oral olarak alınımının klinik etkileri tayin edilmiştir. 0, 4, 8 ve 12. hafta boyunca iyileşmiş bacak ülseri sayısı ya da yara yüzeyi alanı, derinliği, hacmi, ağrısı veya iltihabındaki değişiklik bakımından ekstre ve plasebo verilen gruplar arasında ülser durum tespiti yapılmıştır. *A. hippocastanum* tohum ekstresi verilen grupta 12. hafta sonunda plaseboya göre yara iyileşme yüzdesi önemli derecede artmıştır. Çalışma ekstrenin venöz bacak ülseri tedavisinde potansiyel bir değeri olduğunu göstermiştir (Leach ve ark. 2006; Gruenwald ve ark. 2007).



### 2.3.4.3. Diğer etkiler

#### Antienflamatuvar Etki

Yapılan bir çalışmada, *A. hippocastanum* tohumundan elde edilen ekstrelerin, kan damarları ve dokular arasında gıda ve gazların yayıldığı bağlayıcı doku bariyeri üzerinde eksudasyonu ve ödem gelişimini inhibe ederek ve vaskular kırılabilirliği azaltarak etkili olduğunu göstermiştir. Damar duvarı daha az geçirgen hale gelmekte ve bu, ödemi inhibe etmektedir. Kapiller membrandaki küçük porların sayısı ve çapı azalmış ve böylece sıvılara daha az geçirgen hale gelmiştir. Hayvan deneylerinde, essinin antiödem etkisinin klasik rutin ilaçlara göre 600 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Essinin ikinci önemli etkisinin de damar duvarlarındaki ton gelişimi olduğu gösterilmiştir (Dweck 1995).

Yapılan bir çalışmada, essin ve aglikonu essinolün anti-hyaluronidaz etkinliğine bağlı olarak kapiller geçirgenliği azalttığı ve dolayısıyla damar koruyucu ve antienflamatuvar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Wilkinson ve Brown 1999).

Hu ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada, beyin hasarı oluşturulmuş sıçanlarda sodyum  $\beta$ -essinin nötrofillerin yer değiştirmesi üzerine etkisi myeloperoksidaz enzim aktivitesi ile ölçülmüş ve sodyum  $\beta$ -essinin, serebral hacmi belirgin oranda azalttığı, nötrofil göçünü engellediği görülmüştür.

Lorenz ve ark.ları *A. hippocastanum* tohumlarının farklı etanol ekstreleri üzerinde inceleme yapmışlardır. Parenteral uygulama ile, ekstreler rat pençesinde ovalbumin nedenli ödemi inhibe etmiştir. Oral dozlar etki göstermemiştir. Etki uzun sürelidir ve uygulamadan 16 saat sonra pik konsantrasyona ulaşmıştır. Ekstrelerin parenteral uygulanması, ratlardaki vasküler kırılabilirliği azaltmıştır. Sonuç olarak bu etkilerden essinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (EMEA 2009).

Yapılan bir çalışmada, essinin, farelerde karragen nedenli arka ayak ödemi ve asetik asit nedenli kapiller geçirgenlik artışı üzerindeki etkisi incelendiğinde belirlenen kuvvetli antienflamatuvar etkinin deksametazonun antienflamatuvar etkisine benzediği

görülmüştür. Essinin dalak ve timus indeksi, dalak hücrelerinin çoğalma kapasitesi, lenfosit miktarı, serum TNF- $\alpha$  ve fagositik hız üzerine önemli bir etkinliği tespit edilmemiştir. Essinin deksametazona göre etkinliğinin daha uzun sürdüğü belirlenmiştir (Wang ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışmada, 0,2 ve 2,5 mg/kg dozda essinin uygulanması ile rat pençesindeki yumurta albumin nedenli ödem önemli şekilde inhibe edilmiştir. Başka bir çalışmada, 4 mg/kg dozda essinin i.p uygulanması ile rat pençesinde dekstran indüklü ödemi inhibe ettiği gösterilmiştir. Diğer bir çalışma, 2,5 mg/kg dozda essinin ratlara i.v uygulanması ile vasküler permeabilitenin arttığı gösterilmiştir (EMEA 2009).

Başka bir çalışmada, ratlarda,  $\alpha$ -naftiltiyöüre'nin neden olduğu akut akciğer hasarı üzerine  $\beta$ -essin'in etkisi araştırılmıştır.  $\beta$ -essin'in uygulanması ile  $\alpha$ -naftiltiyöüre nedenli enflamasyonu ve bronko-alveolar hasarın inhibe edildiği tespit edilmiştir (Yıldırım 2007).

Yapılan bir çalışmada, 240 tane kronik venöz yetmezlik hastalığı olan gönüllüye, 50 mg essin içeren *A. hippocastanum* ekstresi oral olarak günde iki kez verilmiş, paralel, plasebo kontrollü olarak kompresyon tedavisi ile karşılaştırılmıştır. 12 hafta sonunda hastalardaki bacak hacimleri ölçüldüğünde essinlerle ve kompresyonla tedavi edilen hastalarda plaseboya göre hastalarda belirgin düzelme görülmüştür. Essinle yapılan tedavi sonucu bacak hacimlerinde ortalama 43,8 ml, kompresyon tedavisi sonucu ortalama 46,7 ml azalma olduğu, plasebo grubunun bacak hacimlerinde ise ortalama 9,8 ml artış olduğu tespit edilmiştir (Diehm ve ark. 1996).

Dickson ve ark (2004) yaptıkları bir çalışmada *A. hippocastanum* tohum ekstresinden hazırlanan ticari preparat Aesculaforce<sup>®</sup> 50 mg tableti gönüllü hastalara sekiz hafta boyunca günde iki kez vermiştir. Sonuç olarak hastaların bacak hacimlerinde önemli oranda azalma olduğunu belirlemişlerdir.

Venöz ödemi olan 40 hasta üzerinde yapılan plasebo kontrollü paralel çift kör klinik çalışmada, *A. hippocastanum* tohum ekstresinin plaseboya göre ödemi belirgin şekilde inhibe ettiği görülmüştür. *A. hippocastanum* tohum ekstresi ile ödem tedavisi,

kompresyon tedavisinin yararlı bir tamamlayıcısıdır. (Diehm ve ark. 1992; Gruenwald ve ark. 2007).

Yapılan çift kör kontrollü klinik bir çalışmada, Venostatin® kapsülün (50 mg essin içeren ticari preparat) plaseboya göre kronik venöz yetmezlikteki etkisi incelenmiştir. Günde 2 kez 3 saat arayla, 22 kronik venöz yetmezliği olan gönüllü hastaya verilen Venostatin® kapsülün, plaseboya göre % 22 oranında kapiller geçirgenliği azalttığı ve ödem oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (Bisler ve ark. 1986).

Bir başka çalışmada, kronik yetmezlik sonucu ödem oluşmuş 52 hamile bayana 50 mg essin içeren ticari preparat Venostatin® retard kapsül verilerek yapılmıştır. Çift kör plasebo kontrollü ve çaprazlama yapılan çalışmada, venostatin verilen gruptaki ödem önemli derecede azalmış ve ödem oluşumuna çok büyük rezistans gelişmiştir. Ayrıca, venostatin alan gruptaki hastalarda ağrı, şişkinlik ve kaşıntı semptomları da azalmıştır (Steiner ve Hillemanns 1990; Gruenwald ve ark. 2007).

Yapılan bir çalışmada,  $\beta$ -essinin ameliyat sonrası oluşan ödemler üzerindeki etkinliği termometrik ölçümlerle incelenmiştir.  $\beta$ -essin verilen hastalarda plasebo gruba göre cilt ısısında düşüş,  $\beta$ -essin verilmeyen hastalarda ise ameliyatın dördüncü gününden sonra cilt ısısının yavaş yavaş düştüğü belirlenmiştir. Bu sonuçlar, essin kullanımından sonra operasyon sonrası enflamasyon ve ödem oluşumunda hızlı bir düşüş olduğunu göstermiştir (Wilhelm ve Feldmeier 1977).

### Venoprotektif Etki

Yapılan bir çalışmada, *A. hippocastanum* ekstresinin, ratlarda 100-400 mg/kg (p.o) dozlarda histamin ve seratonin nedenli, tavşanlarda 50-300 mg/kg (p.o) ve 2,5-5 mg/kg (i.v) dozlarda kloroform nedenli kütanoz kapiller damar geçirgenliği azalmasına etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, ekstrenin doza bağlı olarak geçirgenliği azalttığı belirlenmiştir (Guillaume ve Padioleau 1994).

Başka bir çalışmada, kronik venöz yetmezliğin erken ve ileri evresinde *A. hippocastanum* tohum ekstresinin etkisi araştırılmıştır. Erken ve ileri evre kronik venöz yetmezlik hastası gönüllüler üzerinde yapılan testler sonucunda erken evre kronik venöz yetmezlikte kompresyonla ve oral yolla ekstre tedavisi plaseboya göre etkili, ileri evre kronik venöz yetmezlikte ise kompresyon tedavisi plaseboya göre etkili ancak ekstre ile oral yolla tedavi etkisiz bulunmuştur (Ottillinger ve Greeske 2001).

Wang ve ark. (2008),  $\beta$ -essinin, insan göbeğine ait damarlardaki endotelial hücrelerin çoğalması, göçü ve ölümleri üzerine etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak,  $\beta$ -essinin sodyum tuzunun endotelial hücrelerinin hızlı bir şekilde bölünüp çoğalmasını doza bağlı olarak engellediği, hücre ölümünü azalttığı (40  $\mu$ g/ml), hücre göçünü inhibe ettiği, hücre hareketliliğini ve hücre içi protein miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar  $\beta$ -essinin sodyum tuzunun endotelial hücrelere direkt etkisinden dolayı potansiyel anti-anjiogenik aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir.

Frick (2000) tarafından yapılan bir çalışmada essin, hidroksietilrutozit ve Daflon<sup>®</sup>'un, kronik venöz yetmezlik hastalığındaki mekanizmaları karşılaştırıldığında her üç flebotonik ajanın da hipoksia sırasında damar endotelial hücrelerindeki ATP içeriğini azalttığı gösterilmiştir. Her üç bileşiminde geçirgenliği ve kırılabilirliği azalttığı; Daflon<sup>®</sup> ve hidroksietilrutozitin damar yapısına doğrudan etki ederken, essinin hyaluronidaz enziminin inhibisyonu ile etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

### Antiobezite Etki

Avcı ve ark. (2010) yaptığı bir çalışmada, *A. hippocastanum* tohumlarının etanollü ekstresinden elde edilen essinin, yağlı diyetle beslenmiş farelerdeki bazı hormonların (leptin, insülin, FT3, FT4) ve biyokimyasal parametrelerin (glikoz, trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL) plazma seviyeleri üzerindeki *in vivo* etkisi incelenmiştir. Fareler 5 hafta boyunca yağlı diyetle beslenmiştir. Yağlı diyetle beslenen farelerde kontrol grubuna göre plazma leptin, total kolesterol ve LDL konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir. Essinlerle kombine edilmiş yağlı diyetle

beslenen farelerde ise leptin seviyesi %31,6, FT4 seviyesi %36,0 oranında azalmış, HDL konsantrasyonu %17 artmış, LDL konsantrasyonu etkilenmemiştir. Sonuçlar, essinin obezite tedavisinde yararlı olabileceğini göstermiştir.

#### Antitümör ve Sitotoksik Etki

Yapılan bir çalışmada,  $\beta$ -essinin sıçanlarda kolon kanseri üzerine koruyucu etkisi araştırılmıştır. %0,025 ve %0,05  $\beta$ -essin içeren diyetle beslenmiş farelerde kanser oluşumunun %40 ve %50 oranında inhibisyona uğradığı,  $\beta$ -essinin, HT-29 hücrelerinin G1-S fazında büyümelerini engellediği görülmüştür. Bu durum, sikline bağlı kinaz inhibitör olan p21 waf1/cip1'in indüksiyonu ve bunun, retinoblastoma proteinin fosforilasyonunu azaltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak,  $\beta$ -essinin kolon kanser hücrelerini büyümesini inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Bu çalışma,  $\beta$ -essinin kolon kanserinde koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılabilir bir ajan adayı olabileceğini düşündürmektedir (Patlolla ve ark. 2006).

#### Antiülser Etki:

Marhuenda ve ark. (1994) essinin ratlarda etanol nedenli mide ülser modelinde, midedeki asit sekresyonunu azaltarak mideyi ülserden koruduğunu göstermiştir. Essinin gastroprotektif etkinliğinin, gastrik mukusun miktarını veya glikoprotein içeriğini artırarak sağlanmadığı, asit sekresyonunu inhibe edici mekanizma ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir.

#### Antihemoroidal Etki:

Yapılan bir çalışmada, 40 mg essin içeren *A. hippocastanum* ekstresinin antihemoroid etkisini araştırmıştır. Çalışma çift körlü, plasebo kontrollü olarak 80 hasta ile yapılmıştır. Ekstre hastalara 2 ay boyunca günde 3 kez uygulanmıştır. Endoskopik inceleme sonucu plasebo ile karşılaştırıldığında, ekstre uygulanan hastalarda akut semptomatik hemoroitteki kanama ve şişmede önemli derece azalma gözlenmiştir (Abascal ve Yarnell 2005; Gruenwald ve ark. 2007).

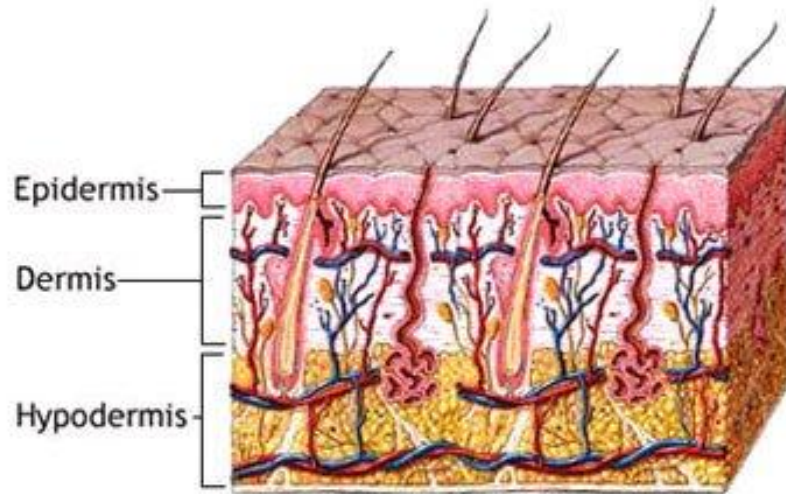
## 2.4. Formülasyon Çalışmaları için Ön Bilgiler

### 2.4.1. Deri

İnsan derisi, vücudumuzu bir örtü gibi kaplayarak fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal dış etkenlere, ultraviyole (UV) radyasyona ve serbest radikallerin tahrip edici etkilerine karşı koruyan, vücut sıcaklığının korunmasında bir termostat gibi görev yapan organımızdır (Ağabeyoğlu 2002; Bayraktar 1978; Menon 2002; Morganti ve ark. 2001; Güngör ve ark. 2011).

Deri başlıca üç tabakadan oluşmuştur (Şekil 2-21). Bu tabakalar en alttan yukarıya doğru;

1. Subkütan Yağ Tabakası (Hipodermis)
2. Dermis (Corium)
3. Epidermis olarak sıralanmaktadır (McGrath ve ark. 2004;, Prashch ve Förster 2002).



Şekil 2-21: Derinin Tabakaları

#### **2.4.1.1. Subkütan Yağ Tabakası (Hipodermis)**

Subkütan yağ tabakası (hipodermis), dermis ile vücut bileşenleri arasında bir köprü gibi görev yapmaktadır. Vücudun birçok bölgesinde 1-2 mm kalınlığında olan bu doku, gözkapaklarımızda bulunmamaktadır. Özellikle fiziksel şoka karşı mekanik koruma sağlayan subkütan yağ tabakası üzerinden kan damarları ve sinirler deriye taşınmaktadır. Yağların depolandığı kısımdır, termal yalıtım sağlar ve derinin dayanıklılığında katkısı bulunmaktadır (Williams 2003).

#### **2.4.1.2. Dermis (Corium)**

Dermis, insan derisinin ana bileşenidir ve genellikle 3-5 mm kalınlığındadır. Deriye mekanik destek sağlayacak yığın halindeki materyali, mukopolisakkarit yapısında bir jele gömülü halde içermektedir. Dermiste lif demetleri şeklinde bulunan ve kolajen adını alan oluşumlar, kan ve lenf kılcal damarlarını fiziksel olarak destekler ve korurlar. Dermis, transdermal ilaç taşıyıcı sistemler açısından ele alındığında, polar etkin maddelerin birçoğu için engel oluşturmayan, jelleşmiş bir su olarak düşünülebilirken, lipofilik karakterdeki maddeler için önemli bir engeldir. Kan ve lenf damarları, sinir uçları, kıl folikülleri, yağ ve ter bezleri gibi birçok yapıya da ev sahipliği yapmaktadır (Ağabeyoğlu 2002; Bouwstra ve ark. 2003; Foldvari 2000; Li 2003; McGrath ve ark. 2004; Schaefer ve Redelmeier 1996; Williams 2003).

Dermis'in yoğun damar yapısı vücut sıcaklığının korunması bakımından çok önemlidir. Ayrıca dokuya, oksijen ve besin maddelerinin taşınması, toksinlerin ve atık ürünlerin uzaklaştırılması açısından yaşamsal öneme sahiptir.

Dermis kaynaklı olan ve insan derisinin yüzeyinde bulunan üç ana uzantı kıl folikülleri, yağ bezleri (sebaköz bezler) ve ter bezleridir. Yağ bezleri, kıl folikülünün sonlandığı yerde bulunur ve sebum salgılar. Sebum, bileşiminde serbest yağ asitleri,

munlar ve trigliseritlerin yer aldığı, deri yüzeyini kayganlaştıran ve yüzey pH'sının 5 civarında olmasını sağlayan salgıdır (Williams 2003).

## **Epidermis**

Epidermis, göz kapaklarında 0.06 mm'den topuk ve avuç içlerinde 0.8 mm'ye kadar değişebilen kalınlıkta, düzenli olarak kendini yenileyen, kan damarları içermeyen bir tabakadır (Bouwstra ve ark. 2003; Denda 2000; Pilgram 2000; Williams 2003). İnsanlarda epidermis 4 ana tabakaya ayrılmakta ve bu tabakalar en alttan en yukarıya doğru şu şekilde sıralanmaktadır (Menon 2002; Morganti 127; Pilgram 2000):

- *Stratum basale*
- *Stratum spinosum*
- *Stratum granulosum*
- *Stratum corneum (SC)*

### **2.4.2. Deri ve *Stratum Corneum*'un İncelenmesinde Kullanılan Biyofiziksel Yöntemler**

İnsan derisi, özellikle de derinin engel işlevini üstlenmiş olan SC'un çeşitli özelliklerinin tanımlanması ve topikal uygulanan ürünlerle epidermal biyokimya arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması, derinin bakım ve tedavisine yönelik formülasyonların geliştirilmesine yardımcı olan önemli faktörlerdir (Loden 2001).

Deri üzerinden gerçekleşen su kaybı, insan derisi ve SC'un nem içeriği ve yüzey lipidlerinin miktarı, derinin mekanik (esneklik ve gerginlik) ve yüzey (kırısklık ve ince çizgiler) özellikleri, epidermal lipidlerin farklı sıcaklık değerleri ve hidrasyon seviyelerindeki davranış biçimleri gibi parametrelerin, *in vivo*, *ex vivo* ve *in vitro* olarak incelenmesi ve uygulanan ürünlerin etkinliğinin ispat edilmesi amacı ile çok çeşitli biyofiziksel yöntemler kullanılmaktadır.



Bu yöntemler kullanılarak yapılan değerlendirmelerde uygun sonuçlar alınabilmesi için bir dizi koşul yerine getirilmelidir. Aşağıda belirtilen bu koşullar, birçok biyofiziksel yöntem için geçerlidir (Lambers ve Pronk 2002):

- Deneyler, şartlandırılmış hava koşulları olan laboratuvar ortamında gerçekleştirilmelidir. Sabit sıcaklık (20-23°C) ve sabit nem (%40-60 bağıl nem) koşulu sağlanmalıdır.
- *İn vivo* deneylerde, denekler ölçümlerden en az 30 dakika önce analizin gerçekleştirileceği odada bulunmalı ve analiz süresince odadan dışarı çıkmamalıdır. Bu şekilde ölçümleri etkileyebilecek kısa süreli koşulların etkisi en aza indirilebilir.
- Topikal uygulanan ürünlerin deri üzerindeki etkilerinin ölçülmesinde en uygun vücut bölgesi seçilmelidir. Genellikle kolun iç yüzeyinin kullanılması uygundur.
- Ölçümü yapan kişinin deneyimli olması aranılan bir özelliktir.

#### **2.4.2.1. Deri Üzerinden Gerçekleşen Su Kaybının (TransEpidermal Su Kaybı, TransEpidermal Water Loss, TEWL) İzlenmesi**

Derinin bariyer özelliğindeki değişiklikleri izlemeye yönelik olarak kullanılan biyofiziksel yöntemlerden en bilineni transepidermal su kaybının (TransEpidermal Water Loss, TEWL) ölçülmesidir. TEWL'nin oranı SC bütünlüğü ve sağlığının bir göstergesidir. Birçok deri hastalığının TEWL'nin artması ile birlikte seyrettiği belirlenmiştir (Berndt ve ark. 2000; Jadoul ve ark. 1999; Lavrijsen ve ark. 1995; Leveque ve ark. 2002; Loden ve ark. 1999; Loden ve Barany 2000; Loden 2001; Loden 2003; Menon 2002; Paepe ve ark. 2000; Paepe ve ark. 2002; Tanojo ve ark. 1997; Güngör ve ark. 2011).

Normal koşullar altında derinin hidrasyon seviyesi %10'un altına düşmemelidir. Deri lipitlerinin organik çözücüler ile ekstraksiyonu veya yapışkan bant ile soyma işlemi uygulanarak korneosit ve lipitlerin uzaklaştırılması, TEWL'nı artırır. Bu artış, epidermin alt tabakalarına sinyaller aracılığı ile haber verilerek hücrelerarası lipitlerin

yenilenmesi ve engel işlevinin tamiri sağlanır. TEWL'nın izlenmesi ile tamir cevabının ne kadar sürdüğü saptanabilir (Kalia ve ark. 2000; Menon 2002).

#### **2.4.2.2. Deri Neminin ve Yüzey Lipitlerinin İzlenmesi**

Deri ve SC nem seviyesinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntem elektriksel kapasitenin ölçülmesidir. Bu amaçla Korneometre (Corneometer) olarak tanımlanan cihaz kullanılmaktadır (Choi ve ark. 2003; Zhai ve Maibach 2002; Güngör ve ark. 2011). Korneometre elektrodu deriye uygulandığında, su ve ilgili iyonların sirkülasyonunu, dolayısı ile epidermal hidrasyona bağlı olarak değişen elektrik kapasitesini ölçmektedir. Korneometre ile yapılan nem ölçümlerinde, SC'un 20 nm derinlikteki su içeriği belirlenmektedir. 1 Korneometre ünitesi,  $0.02 \text{ mg/cm}^2$ 'deki su içeriğine eşdeğerdir (Jemec ve Na 2002; Sator ve ark. 2003; Swatschek ve ark. 2002). Ölçümlerde, deri yüzeyinin elektrot ile tam olarak temas etmesi sonuçlarda kararlılığın sağlanması bakımından elzemdir (Paepe ve ark. 2000).

#### **Stratum corneum Hücrelerarası Lipitlerinin Yapı ve Davranışlarının Infrared (IR) Spektroskopisi ile İzlenmesi**

Infrared (IR) Spektroskopisi, SC hücrelerarası lipitlerinin yapısı ve epidermin işlevsel özelliklerinin araştırılmasında çok fazla kullanılan biyofiziksel bir yöntemdir (Mendelsohn ve Moore 1998; Mendelsohn ve Moore 2000; Tanojo ve ark. 1997; Güngör ve ark. 2011). Elektromanyetik enerji ile etkileşimde bulunması sonucunda meydana gelen moleküler hareketleri belirlemektedir (Naik ve Guy 1997).

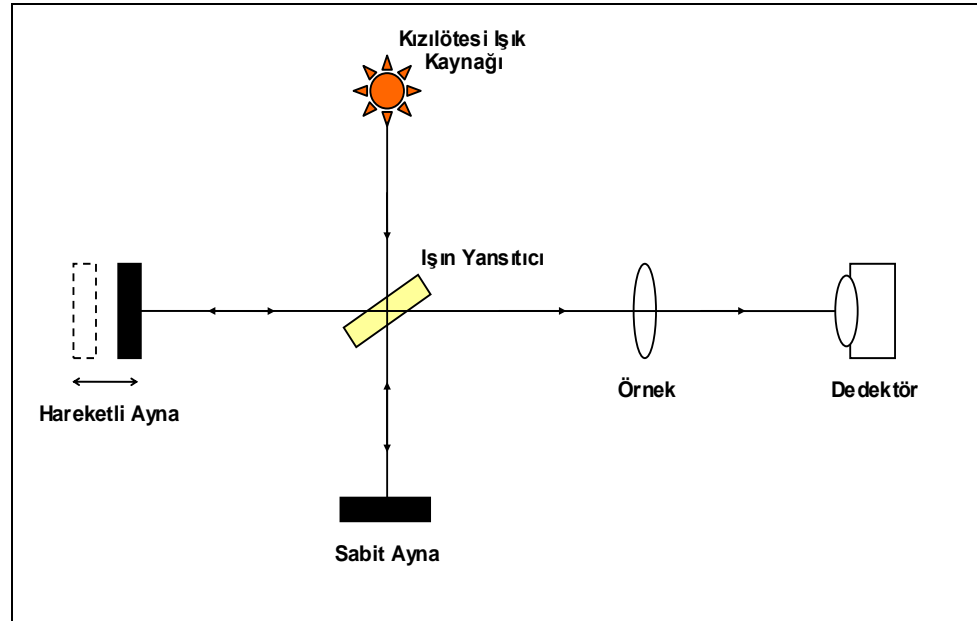
Elektromanyetik spektrumun orta IR aralığı ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ), birçok işlevsel gruba ait titreşimlerden kaynaklanan absorpsiyon bantlarını içermektedir. IR spektrumundaki her bir absorpsiyon bandı, absorpsiyon maksimumunun dalga numarası, bant genişliği ve gücü ile tanımlanmaktadır. Bir absorpsiyon bantına ait dalga numarası, buna neden olan moleküler hareket, kimyasal bağda yer alan atomlar ve

çevrelerinin konformasyonu için karakteristiktir. Diğer taraftan bant genişliği ve gücü moleküllerin hareket oranı ile doğru orantılıdır.

Fourier Dönüştürümlü IR Spektroskopisi (Fourier Transformed IR Spectroscopy, FTIR) yöntemi, spektral bilgilerin alışımlı IR spektroskopisine oranla çok daha iyi çözünürlük ile elde edilmesini, hızlı, hassas ve doğru analiz yapılmasını sağlamaktadır (Naik ve Guy 1997, Stuart ve ark. 1996). Bu yöntemle çok bileşenli örneklerin çalışılması mümkündür. Bir absorbansa ait dalga numarasının saptanma doğruluğu, FTIR yöntemi ile  $0.01 \text{ cm}^{-1}$  den fazla olmaktadır (Goni ve Alonso 2000).

FTIR Spektrometresinin en önemli bileşeni, Michelson interferometresidir (Şekil 2-22). Bir FTIR analizi yapılırken, interferometre ardışık olarak şu işlemleri gerçekleştirir:

1. IR kaynağından gelen ışığı, ışık yansıtıcı aracılığı ile ikiye böler.
2. Işık, biri sabit diğeri değişken uzunlukta iki ayrı optik yol üzerinden nakledilir. Hareketli ayna, bir analiz süresince ileri geri hareket ederek optik yoldaki değişkenliği sağlar.
3. İki ışık yeniden birleşir ve optik yol uzunluğunun farkının bir sonucu olarak girişim oluştururlar.
4. Bu ışığın yarısı örnek içinden geçerken, örnek tarafından absorplanmayan ışık detektöre ilerler. Detektörde iki ışının karışımından kaynaklanan ve interferogram adı verilen girişimin oluşması, analizi yapılan örnekle ilgili spektral bilgilerin oluşmasını sağlar (Markovich ve Pidgeon 1991; Naik ve Guy 1997).

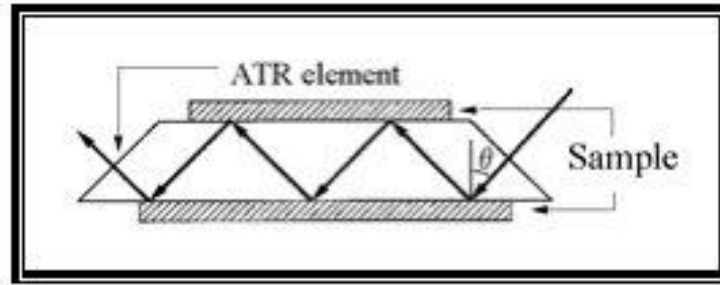


**Şekil 2-22: Michelson İnterferometresinin Bileşenleri**

### **ATR (Attenuated Total Reflectance) - FTIR Spektroskopisi**

Derinin engel işlevinin araştırılmasında önemli bir yöntem, özel bir IR tekniği olan ATR-FTIR spektroskopisidir. FTIR spektroskopisinin, *in vitro* ölçümlerin yanı sıra *in vivo* SC değerlendirmelerinde de geniş oranda fayda sağlayan bir teknik halini alması, ATR-FTIR yöntemi sayesinde gerçekleşmiştir (Naik ve Guy 1997; Güngör ve ark. 2011).

ATR-FTIR yönteminde örnek, IR'ye geçirgen olan özel bir kristalin yüzeyi ile temas ettirilir (Şekil 2-23). ATR-FTIR hücrelerinde kullanılan kristaller genellikle çinko selenürden yapılmaktadır; su, organik çözücüler, zayıf asit ve bazlara karşı dirençlidirler. Ölçülecek ışık demeti kristal üzerinden, örnek-kristal ara yüzeyinde yansiyacak şekilde yönlendirilmektedir. Kristalin trapezoidal şeklinin bir sonucu olarak IR ışın kristale kritik açıdan (kritik açı: gelen bütün ışının yansıdığı açı) daha düşük bir açıda girer. Birçok iç yansımaya uğrar ve yeniden dedektöre döner. Bu nedenle kristal, iç yansıtma elemanı (Internal Reflectance Element, IRE) olarak da tanımlanır.



**Şekil 2-23: ATR kristali şeması**

ATR-FTIR yönteminde, IR radyasyonun penetrasyon derinliği dalga boyu ile doğru orantılıdır ve hassasiyet örnek IRE'nın yüzeyinden uzaklaştıkça azalır. Çalışılacak bölgenin kristal ile doğrudan teması sağlanabilir veya alınan örnek parçaları kristal üzerine konularak ölçüm yapılabilir (Bodde ve ark. 1992; Bommannan ve ark. 1990; Brancaleon ve ark. 2001; Jadoul ve ark. 1996; Naik ve Guy 1997; Prashch ve Förster 2002; Stuart ve ark. 1996).

Deri söz konusu olduğunda, IR radyasyonun penetrasyon derinliği, cihaza, ATR kristaline, ilgilenilen dalga boyuna ve örneğin hidrasyon seviyesine bağlı olarak 0.3-3 µm arasındadır. Dolayısı ile deri, bu teknik ile doğrudan analiz edildiğinde, tek bir ATR-FTIR spektrumundan elde edilen bilgi kristal ile temas eden ilk tabakalara aittir.

### **ATR-FTIR Yöntemi Kullanılarak İnsan Derisi ve Model Lipit Sistemleri Üzerinde Yapılan Araştırmalar**

SC üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda en fazla bilgi sağlayan lipit absorbanları, hidrofobik alkil zincirlerinden kaynaklananlardır.

SC'daki hücrelerarası lipitlerin alkil zincir düzeninde sıcaklığa bağlı olarak gerçekleşen bozulmalar, karbon-hidrojen (CH<sub>2</sub>) asimetric (2920 cm<sup>-1</sup>) ve simetric (2850 cm<sup>-1</sup>) gerilme bantlarının dalga numaralarının daha yüksek değerlere kaymasına (blue shift) neden olur (Mendelsohn ve Moore 2000; Naik ve Guy 1997).

CH<sub>2</sub> gerilme bantları, lipitlerin alkil zincirlerinde trans/gauche konformer oranına hassastır ve bu nedenle hidrokarbon zincirlerinin konformasyonel durumu hakkında ayrıntılı bilgi sağlamaktadır. Alkil zincirlerindeki düzensizliğin bir nedeninin, zincir boyunca gauche konformerlerinin ortaya çıkması olduğu düşünülmektedir (Bommannan ve ark. 1990; Bouwstra ve ark. 2003; Harrison ve ark. 1996; Jadoul ve ark. 1996; Mendelsohn ve Moore 2000; Naik ve Guy 1997; Pouliot ve ark. 1999; Prashch ve Förster 2002).

Bir kızılötesi absorpsiyon eğrisinin altındaki alan, absorbe olan birimin miktarı ile doğru orantılı olduğundan, CH<sub>2</sub> asimetric gerilme bandının altında kalan alanın SC lipit miktarı ile ilgili bilgi sağladığı da belirtilmektedir. Benzer şekilde, bu absorpsiyon bant genişliği, çalışılan SC lipitlerinin konformasyonel düzeni hakkında bilgi vermektedir (Laugel ve ark. 2000; Lawson ve ark. 1998; Naik ve Guy 1997).

Genel olarak, CH<sub>2</sub> simetric gerilme bandına ait dalga numarasının 2848-2850 cm<sup>-1</sup> arasında yer alması, hegzagonal tip çifte tabakalı yapılar için karakteristiktir ve düzenli alkil zincirlerine işaret eder. Dalga numarası 2852-2854 cm<sup>-1</sup> arasında bulunursa sıvı kristalize faz durumunun göstergesi olmaktadır (Chen ve ark. 2000; Gay ve ark. 1994).

ATR-FTIR tekniği özellikle deri hidrasyon oranının ölçülmesi ve deri üzerinde penetrasyon artırıcı maddelerin etkisinin araştırılması için kullanılmaktadır. Gönüllü deneklerin kollarının iç yüzünde yapılan ATR-FTIR ölçümlerinde hücrelerarası lipitler ve SC hidrasyon oranına ilişkin bilgiler elde edilebilmiştir. 2850-2950 cm<sup>-1</sup> bölgesindeki CH<sub>2</sub> gerilme frekansları deri lipitleri ile ilgili analizlerde odaklaşılacak ana noktadır. CH<sub>2</sub> asimetric gerilme absorpsiyonunun dalga numarası deri yüzeyinden derine inildikçe daha düşük değerlere kaydığı saptanmıştır (Brancaleon ve ark. 2001; Touitou ve ark. 1998).

Deterjan etkisi ile kurumuş deride lipit alkil zincirlerinin düzeni ATR-FTIR spektroskopisi ile araştırılmış ve 2850-2950 cm<sup>-1</sup> bölgesindeki CH<sub>2</sub> gerilme absorpsiyonlarının daha yüksek dalga numarasına kaymadığı belirlenmiştir. Dolayısıyla ile

derinin bariyer özelliğinin zayıflamasının lipit alkil zincirlerindeki düzensizliğe bağlı olmadığı sonucuna varılmıştır (Denda ve ark. 1994).

Amid 1 ( $1645\text{ cm}^{-1}$ ) ve Amid 2 ( $1545\text{ cm}^{-1}$ ) absorbansları, amid bağlarındaki C=O gerilme ve N-H eğilme absorbansları ile ilgili bilgi verirler ve hidrojen bağlanmasının derecesinden etkilenirler. Amid 1 ve Amid 2 absorbansları incelenerek, SC'un heterojen yapıda bir zar olduğu ve su içeriğinin yüzeysel *Stratum granulosum*'a doğru arttığı saptanmıştır (Jadoul ve ark. 1996; Naik ve Guy 1997; Prasch ve Förster 2002).

$1740\text{ cm}^{-1}$  ve  $1710\text{ cm}^{-1}$ 'deki absorbans, lipitlerin C=O gerilme bandından kaynaklanır ve spektrumdaki piklerin şiddeti incelenen vücut bölgesine göre farklılık göstermektedir. Daha çok sebum lipitlerinin göstergesi olan bu absorbansların şiddeti deri yüzeyinin silinmesi ile azalmaktadır (Brancaleon ve ark. 2001; Tanojo ve ark. 1997).

Bir başka çalışmada topikal uygulanan formülasyonlarda yer alan yardımcı maddelerin SC un bariyer özelliği üzerindeki etkileri ATR-FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. Bu amaçla bir merhem ve bir Y/S emülsiyonu oklüzif ve oklüzif olmayan koşullar altında gönüllülere uygulanmıştır. Deri hidrasyonunun artmasında yardımcı maddenin tipi ve miktarının etkili olduğu anlaşılmış, ayrıca oklüzyon işleminin TEWL'ni arttırdığı saptanmıştır (Curdy ve ark. 2004).

S/Y tipi bir emülsiyon ile içeriğinde deri lipitlerinin yer aldığı bir başka emülsiyonun deri lipit filmi ve deri nemi üzerindeki etkileri ATR-FTIR ölçümleri ile araştırılmıştır. S/Y tipi emülsiyon SC hücrelerarası lipit düzenini azaltırken, deri lipitlerini içeren emülsiyonun arttırdığı belirlenmiştir. Korneometre ile yapılan 6 ve 12 saatlik ölçümler sonrasında derinin nem oranında anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır. ATR-FTIR tekniği deri nemi ve deri lipit filminin morfolojisindeki değişimlerin ölçümünde hassas bir teknik olarak kabul edilmiştir (Prasch ve Förster 2002).

### 2.4.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, deri örtüsü bütünlüğünün sağlanarak yaranın kapanması anlamına gelir ve anatomik bütünlük ve fonksiyonun onarımı ile sonuçlanan karmaşık bir süreci kapsar. Yara derinin bütünlüğünün bozulması durumudur. Epitelizasyon ile tanımlanan yara iyileşmesi ise vücudun bu yaralanmaya karşı bir savunma mekanizmasıdır (Karasu ve Bakır 2008).

Yara iyileşmesi yeni dokuların tekrar modellenmesini ve oluşmasının yanı sıra enflamasyonu da içerir. Hasar görmüş epidermisin keratinositlerinin migrasyonu ve yara kenarında bu hücrelerin proliferasyonunu takiben, yeni doku oluşumunun başlangıcında kıl foliküllerinin oluşumu gibi süreçler de gözlenmektedir. Bu faza aynı zamanda re-epitelizasyon da denilmektedir. Bariyer fonksiyonunun iyileşmesi (onarılması, eski haline getirilmesi) için son olarak keratinositlerin tekrar farklılaşması meydana gelmektedir. Buna ek olarak fibroblastlar, hasar görmüş dermisin onarılmasında önemlidir. Bu hücreler, yaralı bölge içine göç etmek ve büyümek için hızla çoğalmakta ve böylelikle ekstraselüler matriks yeniden sentezlenmektedir (Fronza ve ark. 2009; Karasu ve Bakır 2008).

Sonuç olarak yara iyileşmesi enflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç evreye ayrılabilir. Enflamasyon evresinde hemostazis ve enflamatuvar infiltrasyon şekillenirken, proliferatif evre fibroplazia, granülasyon, anjiogenezis, kontraksiyon ve epitelizasyon ile tanımlanmaktadır. Skar dokusunun olgunlaşması son evrede tamamlanmaktadır (Karasu ve Bakır 2008).

Bireyler, eski çağlardan bu yana, yara iyileşmesi sürecini hızlandırmak için bitkileri ve preparatları kullanmaktadır. Bilimsel etkilerinin modeli ya da varsayılan etkin bileşiklerin etkinliği konusunda herhangi bir bilimsel kanıt olmadan, kullanımları sıklıkla sadece geleneksel kullanımı temel almaktadır.



*C. officinalis* bitki preparatları geleneksel olarak haricen yara iyileştirici amaçla kullanılmaktadır. *M. chamomilla* bitkisi ekstreleri anti-enflamatuvar etkilerinden dolayı kullanım bulurken, *H. perforatum* bitki ekstresi, antiproliferatif etkisinden dolayı terapötik olarak uygun dozlarda hücre sayısını arttırarak yara izi oluşumunu önleyici etkisi ile geleneksel olarak kullanılmaktadır.

*Calendula* preparatları (ekstreleri) yaralı bölgede granülasyonu stimüle etmekte ve kollajen metabolizmasını arttırmaktadır. Granülasyondan ve kollajen metabolizmasından sorumlu olan fibroblastlar, *Calendula* ekstreleri tarafından stimüle edilmektedir. *Calendula* ekstreleri bunu, yara bölgesinde migrasyon ve proliferasyon sonucunda yapmaktadır (Fronza ve ark. 2009).

Yapılan bir çalışmada, *C. officinalis* bitki ekstresini içeren topikal formülasyonlarının Ultraviyole B radyasyon (UVB) kaynaklı deri hasarına karşı potansiyel kullanımı incelenmiştir. Geliştirilen topikal formülasyonların deriye penetrasyon kapasitesi, fiziksel ve fonksiyonel stabiliteleri değerlendirilmiştir. Tüm formülasyonlar fiziksel ve fonksiyonel olarak stabil bulunmuştur. Formülasyonlar arasında jel formülasyonu, *Calendula* ekstresinin topikal serbest bırakılması açısından en etkili formülasyon bulunmuştur (Fonseca ve ark. 2011).

Başka bir çalışmada, *C. officinalis*'in farklı ekstrelerini içeren krem preparatlarının koruyucu etkisi deneysel olarak indüklenmiş iritan kontakt dermatit (ICD)'li 20 sağlıklı gönüllüde *in vivo* olarak incelenmiştir. *Calendula* ekstreleri, sodyum lauril sülfat kullanarak 4 gün tekrarlayan irritasyon testinde test edilmiştir. Etki, kromametre ve tewametre kullanarak ölçülmüş ve görsel olarak değerlendirilmiştir. Test ürünleri, iritan kontakt dermatit indüklenme periyodu boyunca uygulandığında, tüm kremler istatistiksel olarak önemli koruyucu etki göstermiştir. Sonuç olarak *C. officinalis* ekstrelerinin ICD'nin gelişimine karşı koruyucu etkisi elisitasyon fazda görülmüştür (Fuchs ve ark. 2005).

Pazarda yer alan cilt kremleri ile ilgili bir araştırmada, cilt rahatsızlıklarında pek çok bitkisel kremin yaygın olarak kullanıldığını ve bu kremlerin başlıca bileşenlerinin *C. officinalis* ve *M. chamomilla* bitkisi ekstreleri olduğu gösterilmiştir (Mazzio ve Soliman 2004).

*C. officinalis* ve *M. chamomilla* bileşenlerini içeren ve yaygın kullanılan bitkisel merhem olan ZenMED doğal egzema tedavi sistemidir ve pek çok etkin bileşen içeren kombine bir formülasyondur. Egzama için diğeri başarılı kombine halde bulunan bitkisel krem (Attogram Corp.) *M. chamomilla* yağı içerir. *M. chamomilla* bitkisini de içeren kombine halde olan bitkisel cilt merhemlerinde pek çok varyasyon tanımlanmıştır (Mazzio ve Soliman 2004).

Pek çok patent çalışması, *M. chamomilla* bitkisinin kozmetik, losyon, nemlendirici, eksfoliyant kremleri, anti-aging ve leke açıcı kremler, cilt temizleyicileri, akne tedavisi, canlandırıcı, düzleştirici, nemlendirici krem, artrit ağrı giderici, kutikül ve tırnak merhemleri, tıraş losyonu gibi topikal formülasyonlarda bulunduğunu göstermiştir (Mazzio ve Soliman 2004).

*M. chamomilla* bitkisi, kuru cilt hastalıkları, cilt enflamasyonu ve ülser, atopik dermatit, ürtiker, egzema, psoriasis, kesik ve yatak yaraları tedavisinde kombine preparatlar şeklinde kullanılmaktadır. *M. chamomilla* bitkisi yanık ve yaraları tedavi etmek için *Calendula officinalis* bitkisi ile kombine preparatlar şeklinde kullanılmaktadır (Mazzio ve Soliman 2004).

Pek çok patent çalışması, *H. perforatum* bitkisinin kilo kaybı kremleri, anti-aging kozmetikleri, losyonları, yüz temizleyicileri, akne ve çatlak, pürüzlü cilt için topikal tedavileri, yanık merhemleri, tırnakların mantar enfeksiyonu tedavisini, kas ağrılarını hafifleten losyon, artrit ağrısı hafifleticiler, nemlendiriciler ve düzleştirici (smoothing) sıkılaştırıcı (firming) ve UV koruma özellikleri içeren topikal formülasyonlarda bulunduğunu göstermiştir (Mazzio ve Soliman 2004).

*H. perforatum* bitkisi, geçmiş zamanlarda yara ve yanıkları tedavi etmek için ilaç olarak kullanılmıştır. Bitkinin başlıca bileşeni hiperforin antienflamatuvar özellikleri ile atopik dermatit tedavisinde etkilidir. Ayrıca bitki güneşin foto hasar etkisi ile oluşan kuru cilt tedavisinde de topikal ajan olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde kullanımları *Matricaria chamomilla* ve *Calendula officinalis* bitki ekstraları ile kombine şeklindedir (Mazzio ve Soliman 2004).

*H. perforatum* ekstresi akne, viral enfeksiyon ve psoriyazis tedavisi için kullanılmaktadır. Pek çok bitki ekstraları ile birlikte kuru cilt, enflamasyon, ürtiker ve kaşıntıyı tedavi etmek için kullanılmaktadır (Mazzio ve Soliman 2004).

Yapılan bir çalışmada, kombine formülasyonda *H. perforatum* ekstresi (çiçek ve tomurcuklu bitkiden elde edilen) %3 (%0.5-25 total ağırlık) ve *M. chamomilla* ekstresi (çiçeklerden elde edilen) %2 (%0,5-25 total ağırlık) oranlarında bulunmaktadır (Mazzio ve Soliman 2004).

Yanık ve yara iyileştirici olarak bilinen *Calendula* merhemi Unguentum “Calendula”, 20 g *Calendula* tentürü (%70 alkol 1:10) ve 90 g vazelin içerir. Etkin madde olarak *Calendula* tentürü ve taşıyıcı olarak vazelin içeren merhem, yara ve yanık iyileşme sürecini yavaşlattığından kombine formülasyon çalışmaları yapılmıştır (Shikhashvili ve Darsavelidze 1999).

Ayrıca bilinen bir diğer merhem de “Ointment Kolkhuri”dir. Merhem içeriğinde *H. perforatum*, *A. hippocastanum* (0,06-0,065) ve altı farklı bitki ekstresi bulunmaktadır. Bu merhem analjezik ve antienflamatuvar etkisi ile kullanılmaktadır. Yara ve yanıkların tedavisinde az etkilidir. Merhem içeriğinde bulunan at kestanesi kan koagülasyonu engelleyicidir ve cilt rejenerasyonunu etkilemeyen maddeler içermektedir (Shikhashvili ve Darsavelidze 1999).

“Green ointment” olarak bilinen bir başka merhem *M. chamomilla* ve *C. officinalis* bitkilerini içermektedir. *M. chamomilla* antiseptik, lokal analjezik, antienflamatuvar etkidedir ve rejenerasyonu hızlandırıcıdır. *C. officinalis* ise yanıkta önemli olan dolaşım ile ilgili damar duvarlarını güçlendirmekte ve kapiler geçiş sırasında

permeabilitelerini azaltmaktadır. *C. officinalis*'in etkisi *M. chamomilla* ile kombinasyon halinde iken artmakta, cilt epitalizasyonu ve granülasyonu, lokal koruyucu mekanizma yükselmektedir (Shikhashvili ve Darsavelidze 1999).

Çalışma konumuzu oluşturan *H. perforatum*, *C. officinalis*, *M. chamomilla* ve *A. hippocastanum* bitkilerinin yara iyileştirici etkileri ile ilgili pek çok patentli formülasyon çalışması vardır. Bu çalışmalardan bir kaçı aşağıda özetlenmiştir.

Yapılan bu buluş, yara ve yanık tedavisinde kullanılan tıbbi preparatların çeşitliliğini genişletmek için yapılmıştır. Yanık ve yara tedavi etmek için kullanılan preparatları içermektedir. Merhem 1. ve 2. derece yanıklarda, yırtılmış, ezilmiş ve yarılmış yaralarda kullanılmıştır. Çalışma sonucunda “Green Ointment” olarak patent alınmıştır. Merhemin insan vücudundaki etkisinin mekanizması toksikolojik, mikrobiyolojik, morfolojik, immünolojik, histoyapısal ve biyokimyasal metotlar ile çalışılmıştır. Merhem insan hayatı için güvenilir ve çok etkili bulunmuştur. Bakteriyolojik çalışmalar sonucunda green ointment, *S. epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkili bulunmuş. Elektro para-manyetik rezonans metodu aracılığıyla yapılan incelemelerin sonuçlarına göre “Green ointment”, hücrelerdeki lipit peroksidasyon oksidasyonunu azaltmış, membran yapısının bütünlüğünün korumasını ilerletmiş, karaciğerde hipoksi derecesini azaltmış, proliferasyon prosesini etkilemiştir. Merhem formülasyonunu oluşturan bileşenler; *Chelidonium majus* 15-25 g, *Plantago major* 15-25 g, *Matricaria chamomilla* 15-25 g, *Achillea millefolium* 15-25 g, *Calendula officinalis* 15-25 g, *Hypericum perforatum* 15-25 g, *Eucalyptus globulus* 15-25g, *Oleum olivarum* 1000g ve *Cera flava* 80-130 g'dır.

Tek olarak bitki ekstralarını içeren merhemlerin etkilerinin yetersiz oluşundan dolayı kombine formülasyon çalışması yapılmış olup merhem formülasyonunda kullanılan bitkilerin bazılarının etkileri şu şekildedir. *C. officinalis*; antienflamatuvar, lokal analjezik ve rejenerasyon hızlandırıcı etkilidir. Ayrıca dolaşım ile ilgili damar duvarlarını güçlendirir, kapiler geçişi ve yanıklarda çok önemli olan permeabiliteyi azaltır. *M. chamomilla*; antiseptik, lokal analjezik, antienflamatuvar ve rejenerasyon hızlandırıcı etkilidir. *H. perforatum* bitkisi, yara izi oluşumunu azaltarak yara iyileştirici

etkilidir. *C. officinalis*'in etkisi *M. chamomilla* ile kombinasyonla artmakta ve bu şekilde cilt epitelizeasyonu ve granülasyonu, lokal koruyucu mekanizma yükselmektedir (Shikhashvii ve Darsavelidze 1997).

Başka bir buluşta, *C. officinalis*, *H. perforatum*, *Myroxylon balsamum var pereirae*, *Helichrysum angustifolium*, *Pelargonium graveolens*, *Taraxacum officinale*, *Gardenia jasminoides*, *Mentha piperita*, *Arnica montana*, *Silybum marianum* ve *Salix alba* bitkilerini içeren krem formülasyonuna patent alınmıştır. Bu buluş, cilde ya da etkilenen bölgeye topikal kullanımı uygun antienflamatuvar ve analjezik etkiye sahip emolyen etkide bir krem formülasyonudur.

Bitki ekstralarının formülasyonun total ağırlığını temel alarak, yüzde oranları aşağıdaki gibidir;

|  |  |
|--|--|
| <i>Calendula officinalis</i>           | % 0,01–0,5 tercihen % 0,01-0,2 (örn:%0,166)  |
| <i>Hypericum perforatum</i>            | % 0,5-4 tercihen % 1,0-3 (örn:%2)            |
| <i>Myroxylon balsamum var pereirae</i> | % 0,01-0,5 tercihen % 0,01-0,2 (örn: %0,166) |
| <i>Helichrysum angustifolium</i>       | % 0,01-0,5 tercihen % 0,01-0,2 (örn: %0,166) |
| <i>Pelargonium graveolens</i>          | % 0,1 -2 tercihen % 0,1-1,0 (örn: %0,6)      |
| <i>Taraxacum officinale</i>            | % 0,5-4 tercihen % 1,0 – 3 (örn: %2)         |
| <i>Gardenia jasminoides</i>            | % 0,5-1 tercihen % 0,1-0,5 (örn:%0,2)        |
| <i>Mentha piperita</i>                 | % 0,5-1 tercihen % 0,1-0,5 (örn: %0,4)       |
| <i>Arnica montana</i>                  | % 0,5-4 tercihen % 1,0-3 (örn:%2)            |
| <i>Silybum marianum</i>                | % 0,5-4 tercihen % 1,0-3 (örn:%2)            |
| <i>Salix alba</i>                      | % 0,5-4 tercihen % 1,0-3 (örn:%2)            |

Formülasyonda bulunan *C. officinalis* bitki ekstresi antihemorajik, antienflamatuvar, antiseptik, kanamayı durdurucu ve yaraları iyileştiren etkisinden dolayı kullanılmıştır. *H. perforatum* bitki tentürü antispazmodik ve sinirleri yatıştırıcı etkisi ile kullanılmıştır.

Bu buluşun avantajı çoklu bitkisel ürünler ile yapılan formülasyonun sinerjik etki göstermesi ve etki etmesidir. Yapılan formülasyon çalışmalarından sonra, kremin önemli derecede ağrıyı ve enflamasyonu azalttığı görülmüş ve sadece artirit endikasyonlarını değil aynı zamanda egzema, akneye eğilimli cilt, psoriyazis, lupus, enflamatuvar artrit ve psoriyatik artrit semptomlarında da azalma görülmüştür. Formüle edilen kremin çok hızlı absorpsiyon gösterdiği ve etkin maddelerin çok büyük penetrasyonuna izin vererek cildin en iç tabakalarına kadar indiği görülmüştür (Mitchell 2008).

Başka bir buluş *A. hippocastanum* bitkisinden elde edilen antienflamatuvar etkisi olan saponini (%0.1-1) içeren yeni bir akne formülasyonunu içermektedir. Bitkiden elde edilen essin bileşiği, antienflamatuvar ve antiakne özelliklerine sahiptir. Akne tedavisi ve akneden korunmak için test edilen çeşitli formülasyonlar arasında *A. hippocastanum* bitkisinden elde edilen antienflamatuvar etkili essin tercih edilmiştir (Bombardelli ve ark. 2001).

Yapılan başka bir buluş, topikal steroidlere cevap vermeyen bir çeşit egzema olan disidroz tedavisinde ve disidrozdaki korunmak için topikal bitkisel bir formülasyon ile ilgilidir. Bu formülasyon aynı zamanda kontakt dermatit, egzema, palmoplantar püstüloz ve mantar ve bakteriler gibi invaziv patojenler tarafından yapılan cilt enfeksiyonlarını tedavi etmek içinde kullanılmaktadır. Formülasyondaki aktif bileşenler *M. chamomilla*, *H. perforatum*, *Juglans regia*, *Artemisia absinthium*, *Curcuma longa*, *Allium sativum*, *Glycyrrhiza glabra* bitkilerinin kuru, sulu, asit ve alkolik ekstraktları, niasin, Aloe vera ve antibakteriyel ajanlar'dır (Mazzio ve Soliman 2004).

Bu buluş yanık tedavisinde kullanılan preparatlar ile ilgilidir. Çalışmanın teknik sonuçları tedavi etkilerinde artma ile yanık ve yaraların tedavisinde medikal preparatların çeşidini genişletmiştir. Merhem, *M. chamomilla* (15-25 g), *C. officinalis* (15-25 g) ve *H. perforatum* (15-25 g) bitkilerini içermektedir (Shikhashvili ve Darsavelidze 1997).

## 2.5. Türkiye’de Bulunan Yara İyileştirici Topikal Preparatlar

Tez çalışmamızı oluşturan bitkilerin, Tablo 2-1’de bulunan Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlı topikal preparatları eczanelerde satılmaktadır.

**Tablo 2-1: Türkiye’de bulunan topikal preparatlar**

| Bitki                 | Topikal Preparat  | Dozaj formu | Formülasyonu                         | Endikasyonları  |
|-----------------------|---|-------------|--------------------------------------|---|
| <i>H. perforatum</i>  | Nurse Harvey’s Nappy Rash Pişik ve Pişik Önleyici Krem 50 ml tüp/kutu | Krem        | Sarı Kantaron                        | Bebeklerde pişik oluşmasını önler ve oluşan pişiğin tedavisine yardımcı olur  |
| <i>C. officinalis</i> | Alkajin Jel 30ml tüp/kutu   | Jel         | <i>C. officinalis</i> (%1,66)        | Tahriş, kızarıklık ve kaşıntılarda kullanılır. Yumuşatıcı, iyileştirici, ferahlatıcı bir özelliği vardır. Dış genital organlarda görülen kuruluk, tahriş ve kızarıklıkta etkilidir.                 |
| <i>C. officinalis</i> | Cicatridina vajinal ovül  | Ovül        | <i>C. officinalis</i> yağı           | Atrofik ve distrofik vajinal mukozada doku iyileşmesine yardımcı olur. Doğum sonrasında, jinekolojik ameliyatlarda dokunun iyileşmesine yardımcı olur.  |
| <i>C. officinalis</i> | Pregnacare Krem 100 ml/kutu   | Krem        | <i>Calendula</i> ekstresi            | Nemlendirici, cildi pürüzleştirir ve korumaya yardım eder, cilde elastikiyet ve dayanıklılık kazandıran kollajen üretimini sağlar, cildin dermal tabakasını besler ve korur, antioksidan etkilidir. |
| <i>C. officinalis</i> | Nappy Spray   | Spray       | <i>C. officinalis</i> çiçek ekstresi | Antibakteriyel etki ile bakterilerin cilde yerleşmesini önler. Pişik bölgesinde koruyucu bir film tabaka oluşturur. Cildi nemlendirir, cilt hücrelerini yeniler.                                    |
| <i>C. officinalis</i> | Nappy plus Spray  | Spray       | <i>C. officinalis</i> çiçek ekstresi | Antibakteriyel etki ile bakterilerin cilde yerleşmesini önler. Cildi dış etkenlere karşı korur, cilt hücrelerini yenileme ve bariyer oluşturma özelliklerine sahiptir.                              |

**Tablo 2-1: Türkiye’de bulunan topikal preparatlar (Devamı)**

| Bitki                  | Topikal Preparat                                | Dozaj formu | Formülasyonu       | Endikasyonları  |
|------------------------|---|-------------|--------------------|---|
| <i>M. chamomilla</i>   | Pedifix Krem                                    | Krem        | Chamomile ekstresi | Ayaklarda kaşıntı, koku, yanma ve nem kaybını gidermeye yardımcı olur   |
| <i>M. chamomilla</i>   | Hedensa pomad                                   | Pomad       | Papatya yağı       | Hemoroitte, anal fissür ve proktitte, anüs ve perine pruritlerinde, ağrılı ve kaşıntılı durumlarda kullanılır.  |
| <i>M. chamomilla</i>   | Dentinox Jel<br>10 g tüp/kutu ,<br>20g tüp/kutu | Jel         | Kamomil tentürü    | Çocuklarda diş çıkarma sırasında görülen, ağrılı ve enflamasyonlu durumların giderilmesinde kullanılır.   |
| <i>M. chamomilla</i>   | Popibaby pişik kremi                            | Krem        | Alfa-bisabolol     | Bebeklerde görülen pişik, isilik, kaşıntı ve yanmalara etki eden ve yumuşaklık sağlayan bir kremdir.  |
| <i>M. chamomilla</i>   | Zinco Pişik Kremi                               | Krem        | Papatya ekstresi   | Formülündeki etkin maddeler sayesinde antibakteriyel, antifungal, antiseptik ve yara iyileştirici etki gösterir. Pişiklerin önlenmesinde ve giderilmesinde etkilidir.   |
| <i>A.hippocastanum</i> | Prepagel Jel 40 g tüp/kutu                      | Jel         | 0,4 g essin        | Antieksudatif, antiflojistik ve analjezik olarak travma sonucu oluşan ezik, çürük, distorsiyon, hematoma ve tendosinovit durumları omurga kemiği ağrılarında endikedir. |
| <i>A.hippocastanum</i> | Reparil-Gel N 40g tüp/kutu ve 50 g tüp/kutu     | Jel         | %1 essin           | Travma sonucu oluşan ezik, çürük, distorsiyon, hematoma ve tendovaginit, omurga kemiğinin ağrılı durumlarında, yüzeysel tromboflebit ve variköz damarlarda endikedir.   |



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal Maddeler

Metanol (Merck)

Etanol (Teknik)

n-Hekzan (Merck)

Distile su (Millipore, Elix-10)

Mueller-Hinton Broth (Difco, Detroid, USA)

RPMI-1640 (Sigma)

DPPH (Fluka)

$\alpha$ - tokoferol (Sigma)

Gallik asit (Sigma)

Ksantan zamkı (Fluka)

Propilen glikol (Fluka)

##### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Değirmen (Moulinex Moulinette S)

Hassas terazi (Ohaus PA214C)

Üstten kefeli terazi (Precisa XB2200C)

Deiyonize su cihazı (Millipore Elix10)

Rotavapor (Buchi)

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1700 PharmaSpec)

Vortex (Dragonlab MX-S)

Liyofilizatör (Virtis Advantage Plus)

Isıticılı manyetik karıştırıcı (Thermo Electron Corporation, Forma Orbital Shaker)

Viskozimetre (Brookfield)

pH metre (Inolab pH Meter)

Tewameter (Courage – Khazaka)

Corneometer (Courage – Khazaka)

ATR-FTIR spektrometre (Perkin Elmer Spectrum 100)

### 3.1.3. *Hypericum perforatum*

*Hypericum perforatum* bitkisi Balıkesir çevresinden (600 m), bitki çiçekli iken toplandı (Haziran, 2010).

Herbaryum örnekleri preslenip, kurutulup ve teşhisi yapılarak İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ISTE 95593) kaydedildi.

Bitkinin toplanan toprak üstü kısımları eleklerle serilerek oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

### 3.1.4. *Calendula officinalis*

*Calendula officinalis* bitkisi Balıkesir çevresinden (232 m), bitki çiçekli iken toplandı (Nisan, 2010).

Herbaryum örnekleri preslenip, kurutulup ve teşhisi yapılarak İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ISTE 95592) kaydedildi.

Bitkinin toplanan çiçekli kısımları eleklerle serilerek oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

### **3.1.5. *Matricaria chamomilla* var. *recutita***

*Matricaria chamomilla* var. *recutita* bitkisi Balıkesir çevresinden (232 m), bitki çiçekli iken toplandı (Mayıs, 2010).

Herbaryum örnekleri preslenip, kurutulmuş ve teşhisi yapılarak İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ISTE 95594) kaydedildi.

Bitkinin toplanan çiçekli kısımları eleklerle serilerek oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

### **3.1.6. *Aesculus hippocastanum***

*Aesculus hippocastanum* bitkisi İstanbul Üniversitesi Merkez Kampüs bahçesinden (65 m), bitki tohumlu iken toplandı (Eylül, 2010).

Herbaryum örnekleri, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ISTE 21448 ) kayıtlı bulunmaktadır

Bitkinin toplanan tohumları oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

## 3.2. Genel metotlar

### 3.2.1. Ekstrelerin Eldesi

#### 3.2.1.1. Ekstrelerin Liyofilizasyon İşlemi

Liyofilizasyon cihazında manuel modda çalışıldı, ekstreler liyofilizatör kabine yerleştirildi ve sıcaklığın  $-40^{\circ}\text{C}$  ye gelmesi sağlandı. Liyofilizatör kondenzatörü  $-60^{\circ}\text{C}$ 'ye gelmesi beklendikten sonra vakum çalıştırıldı. Liyofilizasyon işlemine toplam 72 h devam edildi. Bu sürenin sonunda alınan liyofilize ekstreler desikatörde saklandı.

#### 3.2.1.2. *H. perforatum* Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması:

10 g toz edilmiş bitki materyali, 100 ml metanol ile maserasyona bırakıldı. Elde edilen ekstre,  $45^{\circ}\text{C}$ 'de rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, liyofilize edildi ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (Radulovic ve ark. 2007). Liyofilize edilen ekstre jel formülasyonlarına ilave edildi.

#### 3.2.1.3. *C. officinalis* Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması:

##### 1. Yöntem:

10 g toz edilmiş bitki materyali, ilk olarak 150 ml hekzan ve daha sonra 150 ml etanol kullanılarak Soxhlet aparatında ekstre edildi. Elde edilen ekstreler,  $40^{\circ}\text{C}$ 'de rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, liyofilize edildi ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (Fronza ve ark. 2009). Liyofilize edilen ekstre jel formülasyonlarına ilave edildi.

## 2. Yöntem:

5 g toz edilmiş bitki materyali, 250 ml %70 metanol ve 250 ml distile su ile ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılarak 25°C’de 24 saat ekstre edildi. Rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, liyofilize edildi ve -20°C’de saklandı (Cetkovic ve ark. 2004). Liyofilize edilen ekstre jel formülasyonlarına ilave edildi.

### **3.2.1.4. *M. chamomilla* var. *recutita* Liyofilize Bitki Ekstresinin Hazırlanması:**

100 g toz edilmiş bitki materyali, %37 etanol ve %63 distile su içeren 1 L’lik hidroalkolik çözücü ile Soxhlet aparatında ekstre edildi. Elde edilen ekstre, rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, liyofilize edildi ve -20°C’de saklandı (Cemek ve ark. 2010). Liyofilize edilen ekstre jel formülasyonlarına ilave edildi.

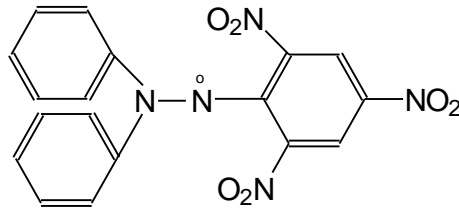
### **3.2.1.5. *A. hippocastanum* Liyofilize Tohum Ekstresinin Hazırlanması:**

100 g toz edilmiş bitki materyali, bir gece önceden etanol (80°) ile ön maserasyona bırakılmalarını takiben 1 L 80°’lik etanol ile Soxhlet aparatında ekstre edildi. Elde edilen ekstre, rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu, liyofilize edildi ve -20°C’de saklandı (Saygılı 2000). Liyofilize edilen ekstre jel formülasyonlarına ilave edildi.

## **3.2.2. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini**

DPPH radikali giderici aktivitesi Brand-Williams, Cuvelier ve Berset (1995) metoduna göre tayin edildi. DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dayanıklı olan ve en çok kullanılan organik nitrojen radikalidir. Antioksidanlar hidroksil grubundan hidrojen

atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürerek lipid peroksidasyonunu devam ettiren zincir reaksiyonunu durdururlar. Antioksidan varlığında mor renkli 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil sarı renkli difenilpikril hidrazine redüklenir. Huang ve ark. (2005) en çok kullanılan dayanıklı organik nitrojen radikali olan DPPH<sup>•</sup>'i şekil halinde göstermiştir (Şekil 3-1).



**Şekil 3-1: 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) - Huang ve ark. (2005)**

0,1 ml ekstre (0,16 – 2,5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan  $\alpha$ -tokoferol ve gallik asit (0,01 – 0,31 mg/ml)'e 3,9 ml DPPH<sup>•</sup>'ın metanoldeki çözeltisi ( $6 \times 10^{-5}$  M) ilave edildi. Karışım 30 dakika karanlıkta bekletildi. Absorbanslar 517 nm'de spektrofotometrede metanole karşı okundu. Pozitif ve negatif kontroller paralel olarak çalışıldı. Pozitif kontrolde ekstrenin yerine standart, negatif kontrolde ise çözücü (metanol) kullanıldı. Standart olarak  $\alpha$ -tokoferol ve gallik asit kullanıldı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Antioksidanın IC<sub>50</sub> konsantrasyonu (antioksidan numunenin %50 DPPH radikali giderici aktivitesi göstermesi için gerekli olan antioksidan miktarı), absise antioksidan miktarı, ordinata % DPPH radikali giderici aktivitesi verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı. DPPH radikali giderici aktivitesi aşağıdaki denkleme göre hesaplandı (3-1).

$$\text{DPPH radikali giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 517nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 517 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100 \quad (3-1)$$

### 3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal aktivite testinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (CLSI 2000a). Ekstrelerin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153'e karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. Ekstrelerin *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal aktivitesi ise yine CLSI kriterleri doğrultusunda dilüsyon yöntemiyle saptanmıştır (CLSI 2000b). Çalışmada kullanılan bakterilerin inokulumu Mueller-Hinton Broth (Difco, Detroid, USA) besiyerindeki 4-6 h'lik kültüründen  $5 \times 10^5$  kob/ml (koloni oluşturan birim), *Candida albicans* ATCC 10231 için ise RPMI-1640 (Sigma) besiyerindeki 24h'lik kültüründen  $0,5-2,5 \times 10^3$  kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Ekim yapılmış mikropalaklar bakteriler için 35°C'de 18-24h, *Candida albicans* ATCC 10231 için ise 35°C'de 48h inkübe edilmiştir. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

### 3.2.4. Topikal Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

Standardizasyonu yapılan ekstreler, liyofilize edilmelerinin ardından, polimer olarak (% 1,5) ksantan zamkı kullanılan jel formülasyonlarına ilave edildi.

Ekstrelerin literatürde kullanılan % minimum ve % maksimum oranları belirlendi (Tablo 3-1) ve jel formülasyonları hazırlanırken % maksimum değerleri kullanıldı.



**Tablo 3-1: Jel Formülasyonlarında Kullanılan Ekstrelerin Literatürde Bildirilen %minimum ve % maksimum oranları**

|   | % minimum oran<br>(g) | % maksimum oran<br>(g) |
|---|-----------------------|------------------------|
| <i>H. perforatum</i>                        | 0.5                   | 4                      |
| <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i>   | 0.5                   | 2                      |
| <i>A. hippocastanum</i>                     | 0.5                   | 3                      |
| <i>C. officinalis</i><br>(Hekzanlı Ekstre)  | 0.01                  | 0.5                    |
| <i>C. officinalis</i><br>(Etanollü Ekstre)  | 0.01                  | 0.5                    |
| <i>C. officinalis</i><br>(Metanollü Ekstre) | 0.01                  | 0.5                    |
| <i>C. officinalis</i><br>(Sulu Ekstre)      | 0.01                  | 0.5                    |

Bitki ekstrelerinden hazırlanan jel formülasyonları ve kodları Tablo 3-2 ve Tablo 3-3’de gösterilmiştir. Formülasyonların tamamında, jellerin hazırlanması sırasında, ksantan zıncı hesaplı miktar distile su ile bir gece önceden şişmeye bırakıldı. Şişme işlemi tamamlandıktan sonra diğer yardımcı maddeler ve ekstre ilave edilerek ağırlık su ile tamamlandı ve karıştırıldı. Hazırlanan jeller bir gece bekletilerek dengeye ulaşmaları sağlandı. Formülasyonlarda kullanılan kısaltmalar; *H. perforatum* ekstresi jel formülasyonu (F-HP), *M. chamomilla* var. *recutita* ekstresi jel formülasyonu (F-MC), *A. hippocastanum* ekstresi jel formülasyonu (F-AH), *C. officinalis* hekzan ekstresi jel formülasyonu (F-COH), *C. officinalis* etanol ekstresi jel formülasyonu (F-COE), *C. officinalis* metanol ekstresi (F-COM), *C. officinalis* sulu ekstre jel formülasyonu (F-COS) ve kombine jel formülasyonu (F-KM) şeklindedir.

Tablo 3-2: Ekstre İçeren Jel formülasyonları ve Formülasyon Kodları

| KOD                    | F-HP                  | F-MC                   | F-AH                     | F-COH  | F-COE  | F-COM  | F-COS                                    |
|------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|--|--|--|--|
| →                      | (%a/a)                | (%a/a)                 | (%a/a)                   | (%a/a)                                       | (%a/a)                                       | (%a/a)                                       | (%a/a)                                   |
|                        | 4                     | 2                      | 3                        | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.5                                      |
| <b>Ekstre</b>          | <i>(H.perforatum)</i> | <i>(M. chamomilla)</i> | <i>(A.hippocastanum)</i> | <i>(C. officinalis)</i><br>(Hekzanlı Ekstre) | <i>(C. officinalis)</i><br>(Etanollü Ekstre) | <i>(C.officinalis)</i><br>(Metanollü Ekstre) | <i>(C. officinalis)</i><br>(Sulu Ekstre) |
| <b>Ksantan zamkı</b>   | 1.5                   | 1.5                    | 1.5                      | 1.5  | 1.5  | 1.5  | 1.5                                      |
| <b>Etanol</b>          | 40                    | 8                      | ---                      | 32   | 20   | 40   | 30                                       |
| <b>Propilen glikol</b> | 8                     | ----                   | ---                      | ---  | ---  | ---  | ---                                      |
| <b>Su</b>              | km. 100               | km. 100                | km. 100                  | km. 100                                      | km. 100                                      | km. 100                                      | km. 100                                  |

Tablo 3-3: Kombine jel formülasyonu (F-KM)

| F-KM  | %(a/a) |
|---|--------|
| <i>H.perforatum</i> Ekstresi                      | 4      |
| <i>M.chamomilla</i> var. <i>recutita</i> Ekstresi | 2      |
| <i>A.hippocastanum</i> Ekstresi                   | 3      |
| <i>C.officinalis</i> Etanollü Ekstresi            | 0.5    |
| <b>Ksantan zamkı</b>                              | 1.5    |
| <b>Etanol</b>                                     | 40     |
| <b>Su</b>   | km.100 |

### **3.2.4.1. *H. perforatum* Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-HP)**

100 g jel için 4 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre 5:1 oranında hazırlanan etanol:propilen glikol karışımında çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamk-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.2. *M. chamomilla* var. *recutita* Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-MC)**

100 g jel için 2 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre önce 32 g distile suda, daha sonra 8 g etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamk-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.3. *A. hippocastanum* Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-AH)**

100 g jel için 3 g liyofilize tohum ekstresi tartıldı. Ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamk-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.4. *C. officinalis* (Hekzanlı Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COH)**

100 g jel için 0,5 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre 32 g etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamk-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.5. *C. officinalis* (Etanollü Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COE)**

100 g jel için 0,5 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre 20 g etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamkı-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.6. *C. officinalis* (Metanollü Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COM)**

100 g jel için 0,5 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre 40 g etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamkı-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.7. *C. officinalis* (Sulu Ekstre) Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-COS)**

100 g jel için 0,5 g liyofilize bitki ekstresi tartıldı. Ekstre 30 g etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamkı-su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.4.8. Kombinasyon Jel Formülasyonunun Hazırlanması (F-KM)**

Kombinasyon jel için her ekstrenin, tek tek jellerde kullanılan miktarları tartıldı. *C. officinalis* bitki ekstresi için antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi en iyi bulunmuş etanollü ekstre kullanıldı.

100 g jel için 4 g liyofilize *H. perforatum* bitki ekstresi, 2 g liyofilize *M. chamomilla* var. *recutita* bitki ekstresi, 3 g liyofilize *A. hippocastanum* tohum ekstresi, 0,5 g liyofilize *C. officinalis* etanollü bitki ekstresi tartıldı. Ekstre karışımı 40 g

etanol'de çözüldü. Çözünen ekstre karışımı, önceden şişmeye bırakılan ksantan zamkısı su karışımına ilave edildi ve ağırlığı su ile tamamlandı.

### **3.2.5. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Görsel İncelenmesi**

Ekstre içeren jel formülasyonları görsel olarak (görünüş, renk, homojenite, v.b.) değerlendirildi.

### **3.2.6. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Viskozite Tayini**

Hazırlanan jellerin viskozite tayinlerinde Brookfield viskozimetresi kullanıldı ve her ölçüm 60 rpm de, LV2 spindle uç kullanılarak üç kez yapıldı. Elde edilen sonuçların ortalaması alındı.

### **3.2.7. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının pH Tayini**

Hazırlanan jellerin pH ölçümleri pH metre kullanılarak yapıldı. Her ölçüm üç kez yapılarak ortalaması alındı.

### **3.2.8. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının *In vivo* Uygulanması**

*In vivo* çalışmalarda, dermatolojik hastalığı olmayan 5 gönüllü denek, yazılı izinleri ve etik kurul onayı (İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 09.02.2011 tarih ve 293 sayılı yazısı) alındıktan sonra araştırmaya dahil edildi. Ekstre içeren jel formülasyonları 10 g olarak uygulama yapılacak günün 24 saat öncesinde hazırlandı. Formülasyonlar günde bir kez, sabah deneklerin ön kol yüzeyinde belirlenen 2x2 cm lik bir alana okluzif koşullar altında uygulandı.

Deneklerin, uygulamalar süresince ön kol yüzeylerinde kozmetik ya da farmasötik topikal ürünler kullanmamaları sağlandı.

Bitkisel ekstre içeren jel formülasyonlarının uygulanmasının 1 saat sonrasında formülasyon fazlası ön kol yüzeyinden temiz bir kağıt peçete yardımı ile uzaklaştırılarak sırası ile TEWL, Korneometre ölçümleri alındı ve ardından bu bölgenin ATR-FTIR Spektroskopisi yöntemi ile spektrumu çekildi. Ekstre içermeyen kontrol jelinin uygulandığı bir bölge ile herhangi bir uygulama yapılmamış bir bölgeden de ölçüm alınarak, her üç analiz için kontrol bölgesi olarak kullanıldı.

Denekler ölçümlerin en az 30 dk öncesinde, şartlandırılmış koşullar sağlanan (sıcaklık 23 °C, bağıl nem %40) laboratuvar ortamında hazır bulunmuşlardır.

### **3.2.9. Hazırlanan Jellerin TEWL ve Korneometre Ölçümleri**

#### **3.2.9.1. Deri üzerinden gerçekleşen su kaybının (Trans Epidermal Water Loss, TEWL) ölçülmesi**

TEWL ölçümlerinde, MPA 5 ünitesine bağlı olarak çalışan Tewameter kullanılarak, her denekte aynı noktadan 1 dakika süre ile en az 3 ölçüm alındı ve elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması kullanıldı (Şekil 3-2).



**Şekil 3-2: Deri üzerinden gerçekleşen su kaybının Tewameter cihazı ile ölçülmesi**

### **3.2.9.2. Deri neminin Korneometre ile ölçülmesi**

Deri neminin ölçülmesinde, MPA 5 ünitesine bağlı olarak çalışan Corneometer cihazı kullanılarak, her denekte uygulama bölgesinde yer alan en az üç farklı noktadan ölçüm alındı ve elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması kullanıldı (Şekil 3-3).



**Şekil 3-3: Deri neminin Corneometer cihazı ile ölçülmesi**

### **3.2.10. ATR-FTIR Spektroskopisi Analizleri**

Deneklerde kolun ön yüzeyinde spektral analiz konusu olacak kısım, ATR Kristali üzerine yaslanarak tam temas sağlandı ve spektrum kayıtları bu şekilde alındı (Şekil 3-4).





**Şekil 3-4: ATR-FTIR Spektroskopisi analizlerinin gerçekleştirilmesi**

İnfrared spektrumu, 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  frekans aralığında, çinko selenürden yapılmış ATR-Kristali taşıyan ATR-FTIR Spektrometresi ile kaydedilmiştir. Her bir spektrum, 2  $\text{cm}^{-1}$  lik çözünürlükle elde edilen 20 adet taramanın birleştirilmesi ile oluşmaktadır. Spektrumlardaki frekans pik konumları, Perkin Elmer Software Utilities bilgisayar programı kullanılarak,  $\pm 0,1 \text{ cm}^{-1}$  hata payı ile belirlenmiştir.

ATR Kristali her analiz sonrasında metanol ile temizlenerek, kurulandı ve metanol tamamen uçtuktan sonra boş bir spektrum çekildi.

ATR-FTIR Spektroskopisi ile gerçekleştirilen panel testlerinde SC un hücrelerarası lipit düzeni hakkında bilgi sağlayan  $\text{CH}_2$  asimetric ( $2920 \text{ cm}^{-1}$ ) ve simetric ( $2850 \text{ cm}^{-1}$ ) gerilme bantlarının yanı sıra, Amid 1 ( $1645 \text{ cm}^{-1}$ ) ve Amid 2 ( $1545 \text{ cm}^{-1}$ ) absorbanları da incelemelere dahil edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ekstrelerin Verimleri

Üzerinde çalışılan bitki ekstralarının liyofilizasyon sonrası ekstre verimleri Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

**Tablo 4-1: Liyofilizasyon Sonrası Ekstrelerin Verimleri**

| Ekstreler                                 | Verim (%a/a) |
|---|--------------|
| <i>H. perforatum</i>                      | % 24,5       |
| <i>C. officinalis</i> (Hekzan)            | % 6,4        |
| <i>C. officinalis</i> (Etanol)            | % 11,2       |
| <i>C. officinalis</i> (Metanol)           | % 20,3       |
| <i>C. officinalis</i> (Distile su)        | %24,6        |
| <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i> | % 22,9       |
| <i>A. hippocastanum</i>                   | % 21,7       |

### 4.2. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini Sonuçları

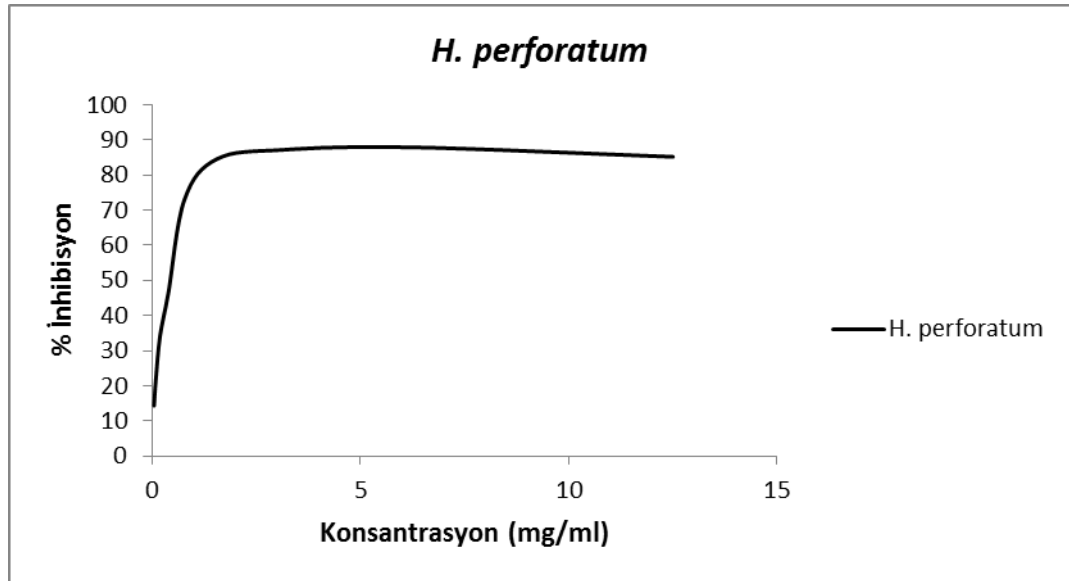
*H. perforatum* topraküstü kısımlarından, *C. officinalis* çiçeklerinden, *M. chamomilla* var. *recutita* çiçeklerinden ve *A. hippocastanum* tohumlarından Bölüm 3.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstraların antioksidan etkileri DPPH metodu

kullanılarak belirlendi. Kontrol amacıyla  $\alpha$ -tokoferol ve gallik asit standartları kullanıldı.

### **H. perforatum Ekstresi**

*H. perforatum* ekstresi ortalama  $IC_{50}$  değeri ve standart sapması  $0,49 \pm 0,19$ 'dur. Üzerinde çalışılan bitki ekstralarının ortalama  $IC_{50}$  değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

*H. perforatum* bitki ekstresinin Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi Şekil 4-1'de verilmiştir.



**Şekil 4-1: *H. perforatum* Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi**

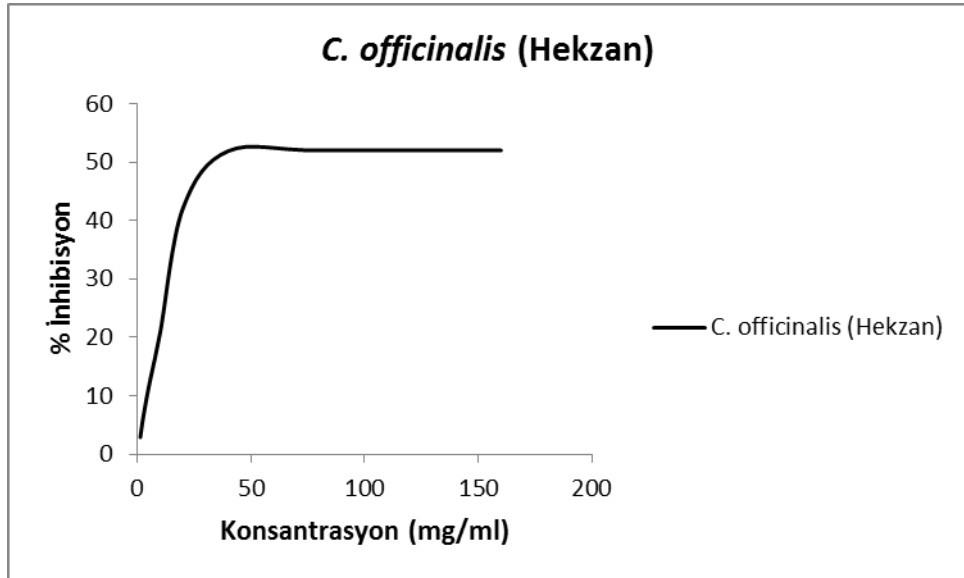
### **C. officinalis Ekstresi**

*C. officinalis* L. bitkisinin iki farklı yöntem ile dört farklı ekstresi hazırlanmıştır. Bunlar bitkinin hekzan, etanol, metanol ve distile sulu ekstreleridir.

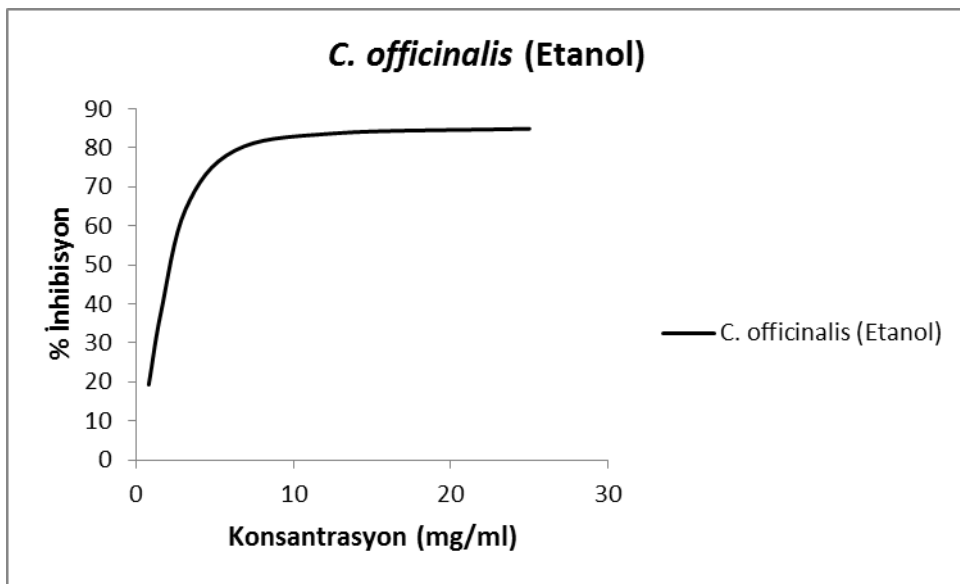
- *C. officinalis* hekzan ekstresi ortalama IC<sub>50</sub> değeri ve standart sapması 31,3 ± 2,87'dir.
- *C. officinalis* etanol ekstresi ortalama IC<sub>50</sub> değeri ve standart sapması 3,1 ± 1,19'dur.
- *C. officinalis* metanol ekstresi ortalama IC<sub>50</sub> değeri ve standart sapması 10,4 ± 0,75'dir.
- *C. officinalis* sulu ekstresi ortalama IC<sub>50</sub> değeri ve standart sapması 15,7 ± 1,72'dir.

Üzerinde çalışılan bitki ekstrelerinin ortalama IC<sub>50</sub> değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

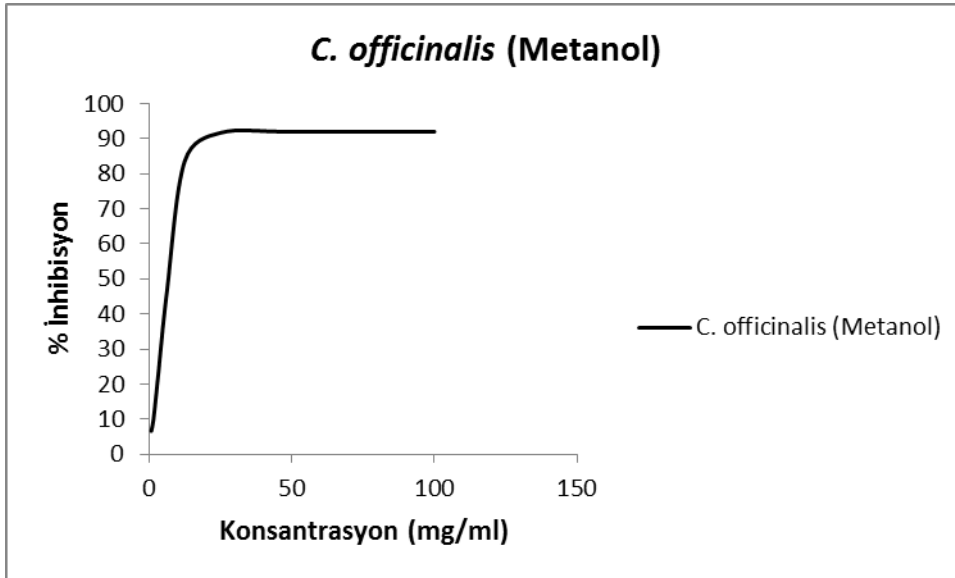
*C. officinalis* bitki ekstrelerinin (hekzan, etanol, metanol, su) Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi Şekil 4-2, 4-3, 4-4 ve 4-5'de verilmiştir.



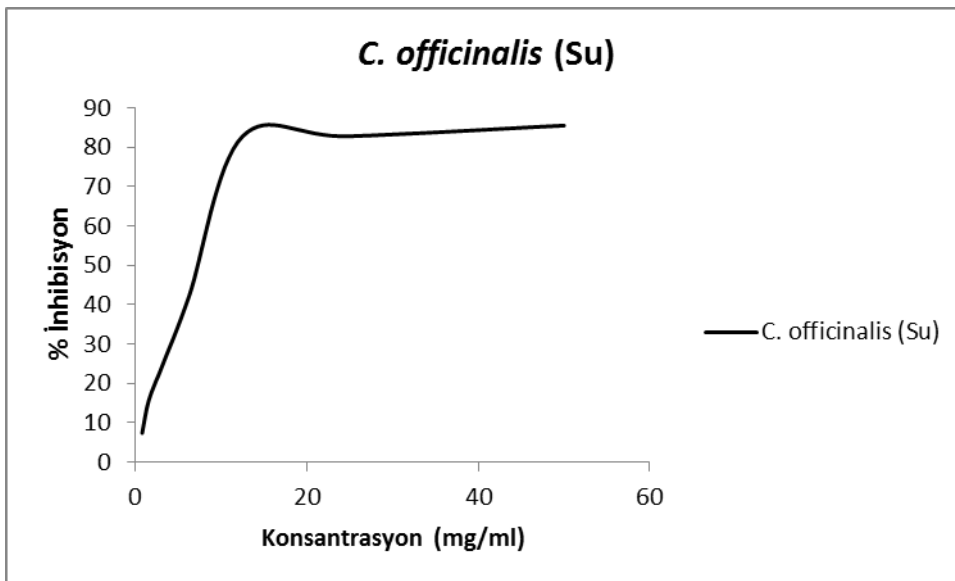
Şekil 4-2: *C. officinalis* (Hekzan) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi



Şekil 4-3: *C. officinalis* (Etanol) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi



**Şekil 4-4: *C. officinalis* (Metanol) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi**

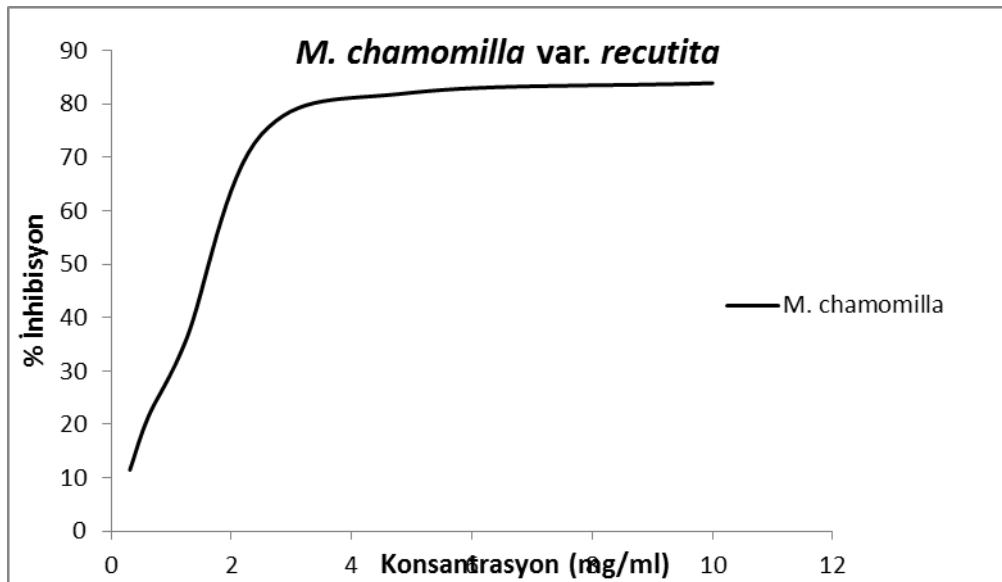


**Şekil 4-5: *C. officinalis* (Su) Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi**

### *M. chamomilla* var. *recutita* Ekstresi

*M. chamomilla* var. *recutita* ekstresi ortalama  $IC_{50}$  değeri ve standart sapması  $3,1 \pm 0,2$ 'dir. Üzerinde çalışılan bitki ekstrelerinin ortalama  $IC_{50}$  değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

*M. chamomilla* var. *recutita* bitki ekstresinin Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi Şekil 4-6'da verilmiştir.

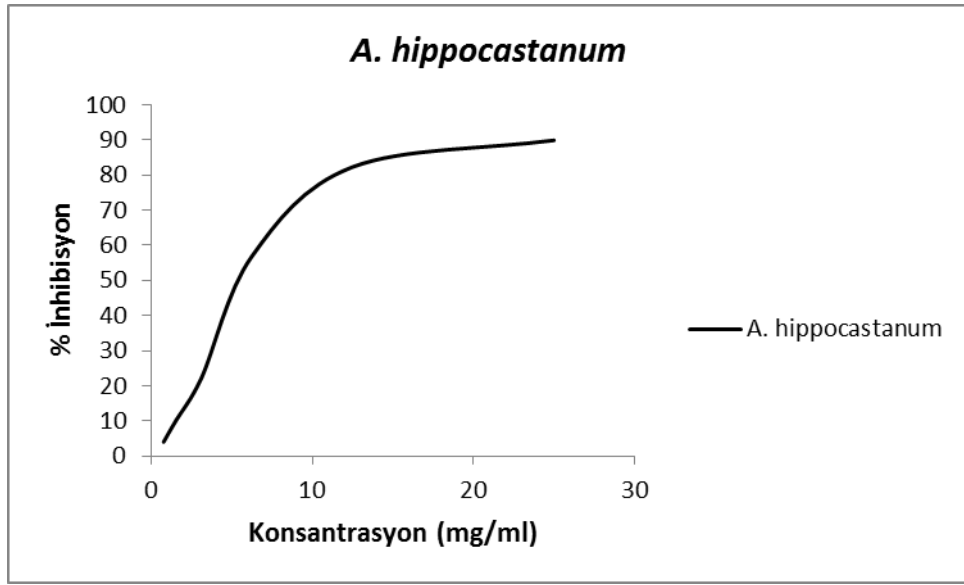


Şekil 4-6: *M. chamomilla* var. *recutita* Bitki Ekstresi Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi

### *A. hippocastanum* Ekstresi

*A. hippocastanum* ekstresi ortalama  $IC_{50}$  değeri ve standart sapması  $9,10 \pm 0,14$ 'dür. Üzerinde çalışılan bitki ekstrelerinin ortalama  $IC_{50}$  değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

*A. hippocastanum* bitki ekstresinin Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi Şekil 4-7'de verilmiştir.



Şekil 4-7: *A. hippocastanum* Bitki Ekstresi Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi

### Standartlar

Ekstrelerin antioksidan etkileri belirlenirken kontrol amacıyla kullanılan  $\alpha$ -tokoferol ve gallik asit standardının ortalama  $IC_{50}$  değeri ve standart sapmaları şu şekildedir;

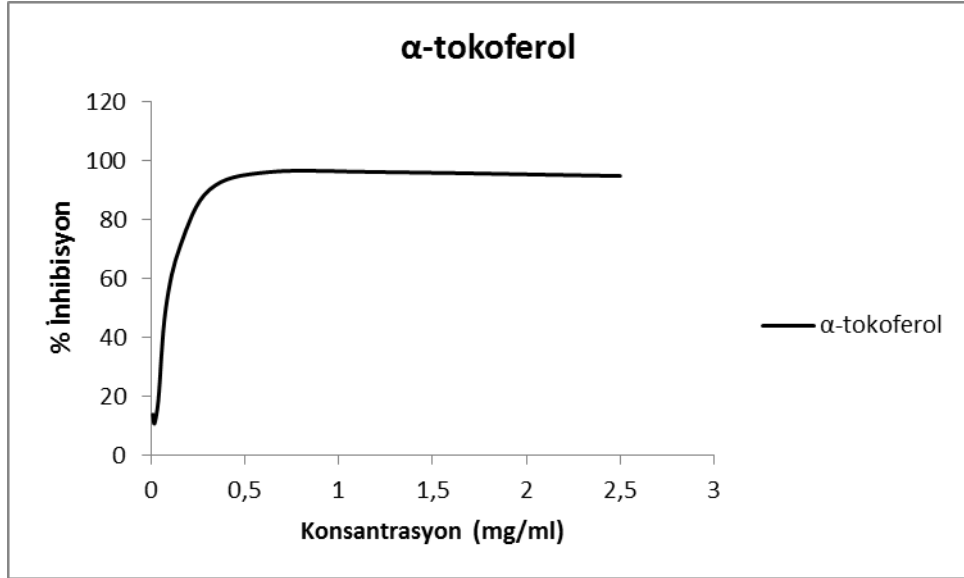
$$\alpha\text{-tokoferol: } 0,39 \pm 0,03$$

$$\text{gallik asit: } 0,06 \pm 0,02$$

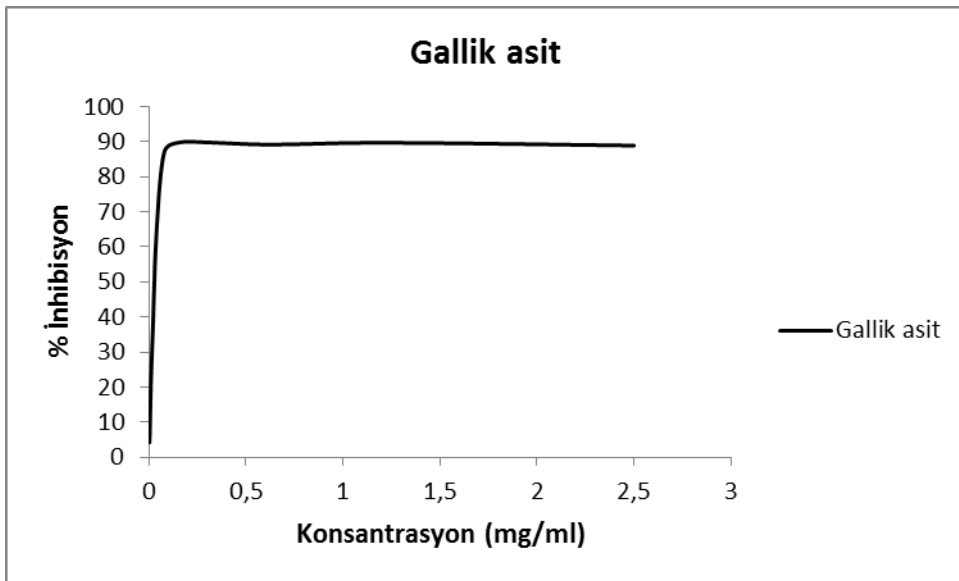
Standartların ortalama  $IC_{50}$  değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

$\alpha$ -tokoferol ve gallik asit standartlarının Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrisi Şekil 4-8 ve Şekil 4-9'da verilmiştir.





**Şekil 4-8: α-tokoferol Standardının Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi**

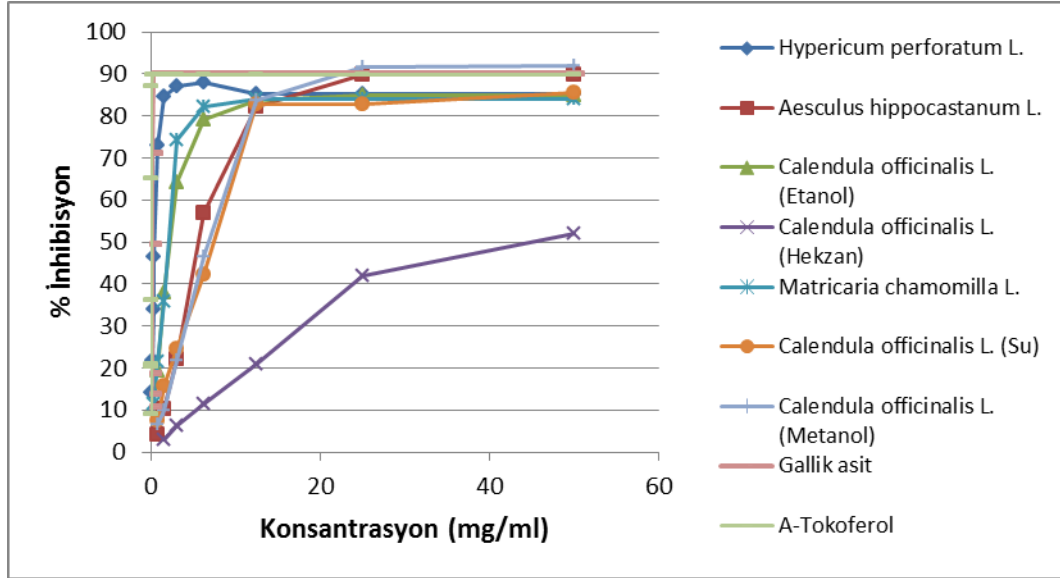


**Şekil 4-9: Gallik asit Standardının Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi**

Üzerinde çalışılan bitki ekstralarının ve standartların ortalama  $IC_{50}$  değerleri ve standart sapmaları karşılaştırmalı olarak Tablo 4-2 ve karşılaştırmalı Konsantrasyon - % İnhibisyon Eğrileri Şekil 4-10'da verilmiştir.

**Tablo 4-2: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin ve Standartların Ortalama IC<sub>50</sub> Değerleri ve Standart Sapmaları**

| <b>Ekstreler</b>                          | <b>Ortalama IC<sub>50</sub> değeri ± standart sapma (mg/ml)</b> |
|---|---|
| <i>H. perforatum</i>                      | 0,49 ± 0,19   |
| <i>C. officinalis</i> (Hekzan)            | 31,3 ± 2,87   |
| <i>C. officinalis</i> (Etanol)            | 3,1 ± 1,19  |
| <i>C. officinalis</i> (Metanol)           | 10,4 ± 0,75   |
| <i>C. officinalis</i> (Distile su)        | 15,7 ± 1,72   |
| <i>M. chamomilla</i> var. <i>recutita</i> | 3,1 ± 0,2   |
| <i>A. hippocastanum</i>                   | 9,10 ± 0,14   |
| <b>Standartlar</b>                        | <b>Ortalama IC<sub>50</sub> değeri ± standart sapma (mg/ml)</b> |
| <i>α-tokoferol</i>                        | 0,39 ± 0,03   |
| <i>Gallik asit</i>                        | 0,06 ± 0,02   |



Şekil 4-10: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin ve Standartların Konsantrasyon -% İnhibisyon Eğrisi

### 4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

*H. perforatum* topraküstü kısımlarından, *C. officinalis* çiçeklerinden, *M. chamomilla* var. *recutita* çiçeklerinden ve *A. hippocastanum* tohumlarından Bölüm 3.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstrelerde; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Meticillin Resistant Staphylococcus aureus* ATCC33591, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153’e karşı antibakteriyel aktivite tayini yapıldı. Aynı ekstrelerde; *Candida albicans* ATCC 10231’e karşı antifungal aktivite tayini yapıldı. Gözle görülür üremenin olmadığı en küçük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Bunlara ait sonuçlar takip eden sayfada Tablo 4-3’de verilmiştir. Tablolarda kullanılan H: *H. perforatum* metanol, M: *M. chamomilla* var. *recutita* hidroalkolik, CH: *C. officinalis* hekzan, CE: *C. officinalis* etanol, CM: *C. officinalis* metanol, CS: *C. officinalis* sulu, A: *A. hippocastanum* etanol ekstrelerini ifade etmektedir.

**Tablo 4-3: Üzerinde Çalışılan Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları**

| Mikroorganizma   | Ekstreler mg/L* |     |     |      |      |     |      |      | Referans maddeler (mg/L) |
|--|-----------------|-----|-----|------|------|-----|------|------|--------------------------|
|  | H               | M   | CH  | CE   | CM   | CS  | A    | DMSO |                          |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538                       | 4,8             | 39  | 39  | 78   | 78   | 156 | 78   | 625  | Sefuroksim-Na (1,2)      |
| Meticillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591 | 4,8             | 312 | 312 | 625  | 1250 | --- | 312  | 1250 | Vankomisin (2)           |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATC C12228                 | 4,8             | --- | 4,8 | 1250 | 312  | --- | 1250 | ---  | Sefuroksim (9,8)         |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 6739                            | ---             | --- | --- | ---  | ---  | --- | ---  | 625  | Sefuroksim-Na (4,9)      |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352                       | ---             | --- | --- | ---  | ---  | --- | ---  | 625  | Sefuroksim-Na (4,9)      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539                      | ---             | --- | --- | ---  | ---  | --- | ---  | 625  | Seftazidim (2,4)         |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153                          | ---             | --- | --- | ---  | ---  | --- | ---  | 625  | Sefuroksim-Na (2,4)      |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231                           | ---             | 78  | --- | 156  | ---  | --- | 78   | 625  | Klotrimazol (4,9)        |

\* Tablodaki ekstreler; H: *H. perforatum* metanol ekstresi, M: *M. chamomilla* var. *recutita* hidroalkolik ekstresi, CH: *C. officinalis* hekzan ekstresi, CE: *C. officinalis* etanol ekstresi, CM: *C. officinalis* metanol ekstresi, CS: *C. officinalis* su ekstresi, A: *A. hippocastanum* etanol ekstresi şeklinde ifade edilmiştir.

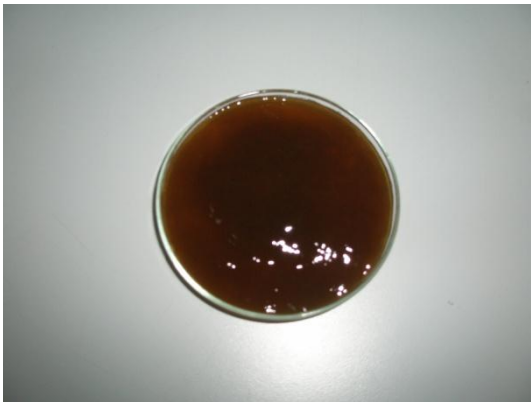
#### 4.4. Formülasyonlardan Elde Edilen Sonuçlar

##### 4.4.1. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Görsel İnceleme Sonuçları

Hazırlanan jellerin homojen, topikal kullanım için uygun viskozitede oldukları belirlenmiş, jellerin renklerinin içerdikleri bitki ekstresine göre farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle, *C. officinalis* bitkisinin hekzanlı ekstresinin kullanıldığı F-COH jel formülasyonunda bariz sarı renk ortaya çıkmıştır (Şekil 4-11 – Şekil 4-18).



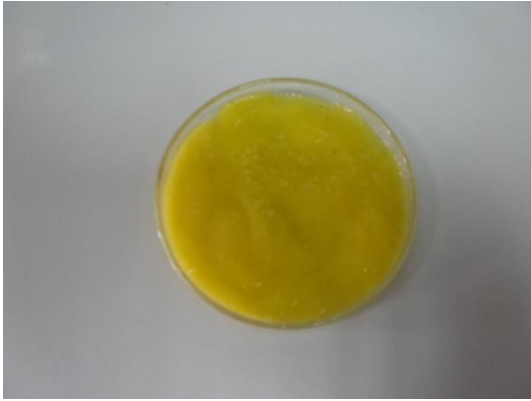
Şekil 4-11: F-HP jel formülasyonu



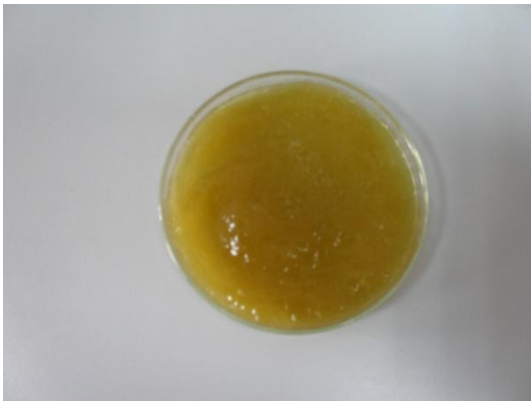
Şekil 4-12: F-MC jel formülasyonu



**Şekil 4-13: F-AH jel formülasyonu**



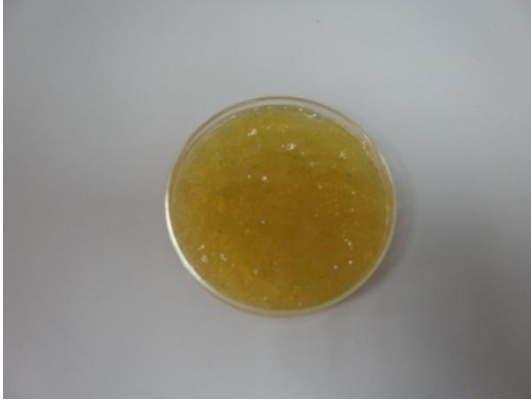
**Şekil 4-14: F-COH jel formülasyonu**



**Şekil 4-15: F-COE jel formülasyonu**



**Şekil 4-16: F-COM jel formülasyonu**



**Şekil 4-17: F-COS jel formülasyonu**



**Şekil 4-18: F-KM jel formülasyonu**



#### 4.4.2. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının Viskozite ve pH Tayinine ait Sonuçlar

Ekstre içeren jel formülasyonlarının ölçülen viskozite ve pH tayinlerine ait sonuçlar Tablo 4-4'de verilmiştir.

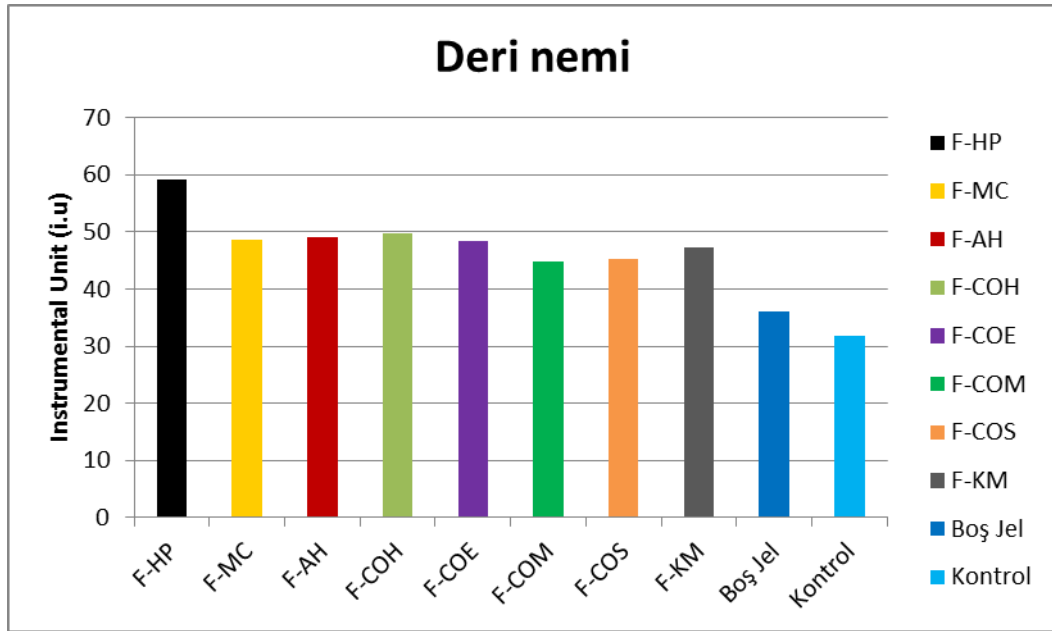
**Tablo 4-4: Bitkisel ekstre içeren jel formülasyonlarının viskozite ve pH değerleri**

|              | Viskozite<br>(cP) | pH        |
|--------------|-------------------|-----------|
| <b>F-HP</b>  | 3600±0,23         | 5,15±0,12 |
| <b>F-AH</b>  | 1700±0,15         | 4,97±0,45 |
| <b>F-MC</b>  | 2270±0,11         | 5,80±0,56 |
| <b>F-COS</b> | 2250±0,20         | 6,04±0,34 |
| <b>F-COE</b> | 2850±0,25         | 4,88±0,14 |
| <b>F-COH</b> | 2050±0,10         | 6,02±0,43 |
| <b>F-COM</b> | 2800±0,18         | 6,22±0,37 |
| <b>F-KM</b>  | 2100±0,16         | 5,85±0,22 |

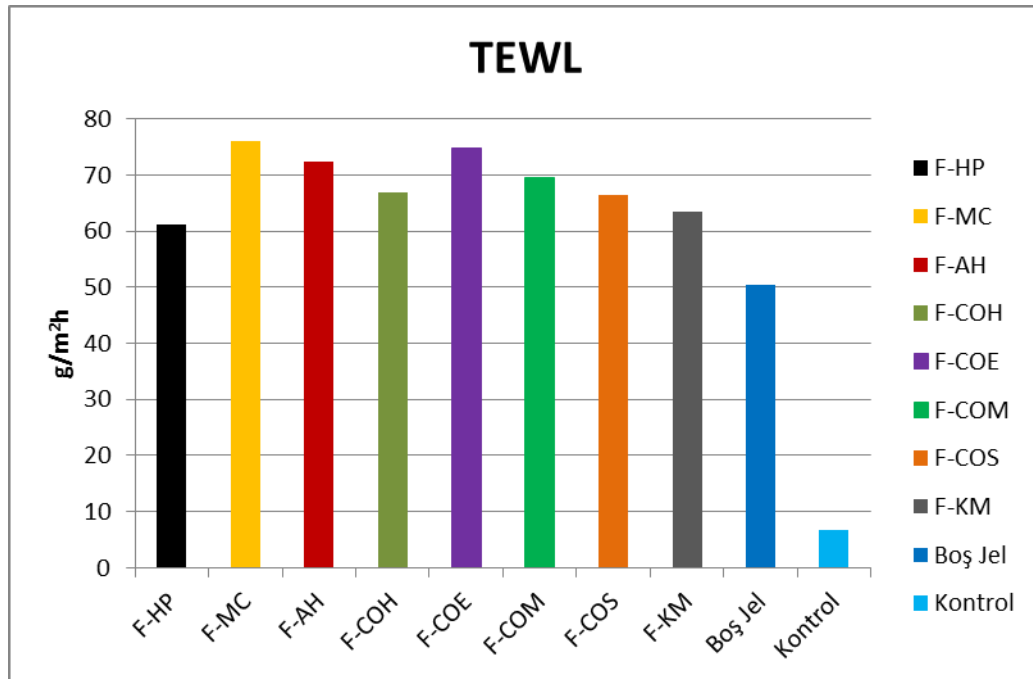
#### 4.4.3. Ekstre İçeren Jel Formülasyonlarının *İn vivo* Uygulanmasına ait Sonuçlar

##### 4.4.3.1. Deri üzerinden gerçekleşen su kaybı (TEWL) ve deri neminin Korneometre ile ölçülmesine ait sonuçlar

F-HP, F-AH, F-MC, F-COS, F-COE, F-COH, F-COM ve F-KM kodlu jel formülasyonlarının 5 gönüllü deneğin ön kol bölgelerine uygulanmalarının ardından 1 saat sonunda alınan TEWL ( $\text{g/m}^2\text{h}$ ) ve Korneometre (i.u: instrumental unit) ölçümlerine ait ortalama sonuçlar ve uygulama yapılmamış bölgeye ait ortalama kontrol değeri aşağıda grafik olarak verilmiştir (Şekil 4-19 ve Şekil 4-20).



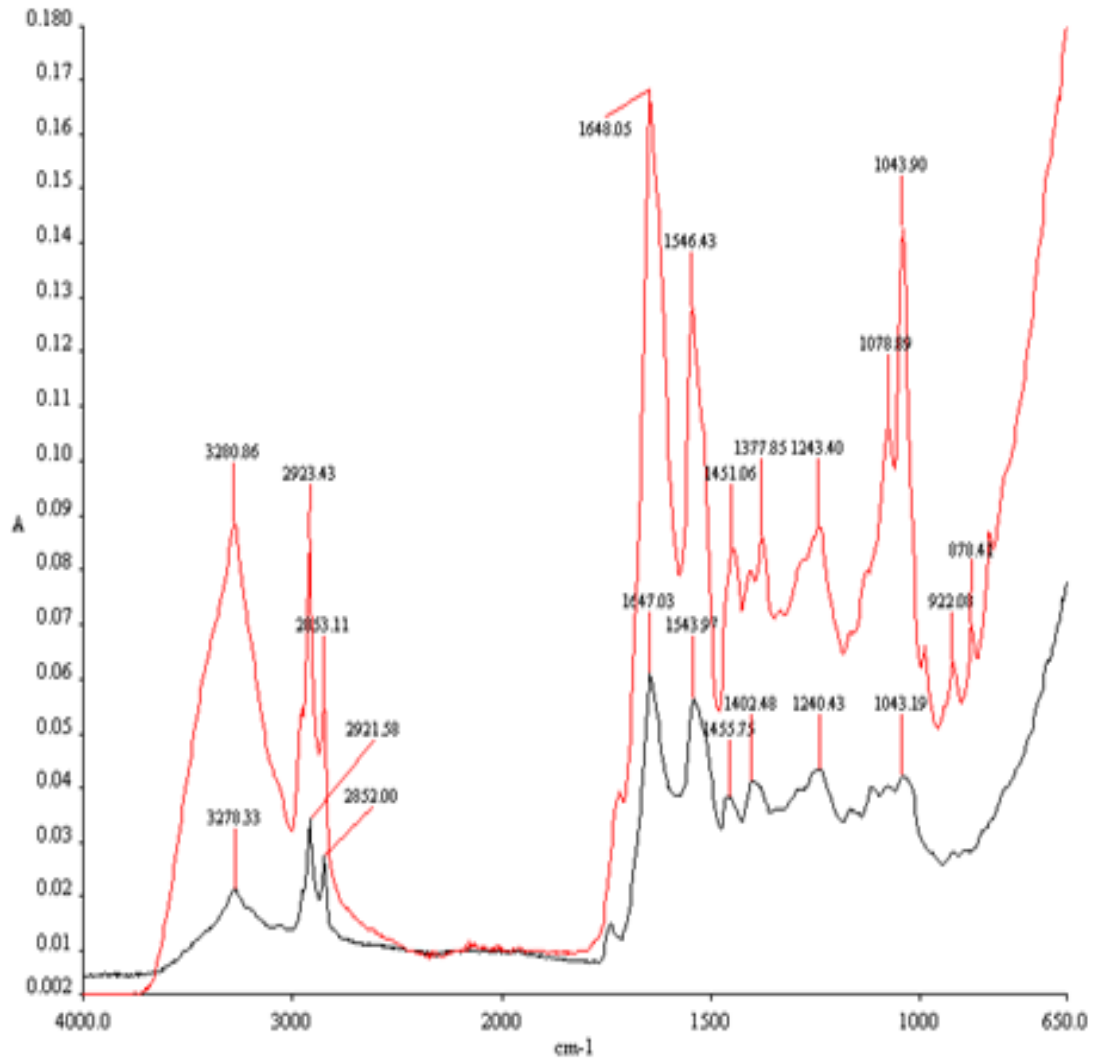
Şekil 4-19: Korneometre ölçümlerine ait ortalama sonuçlar (i.u)



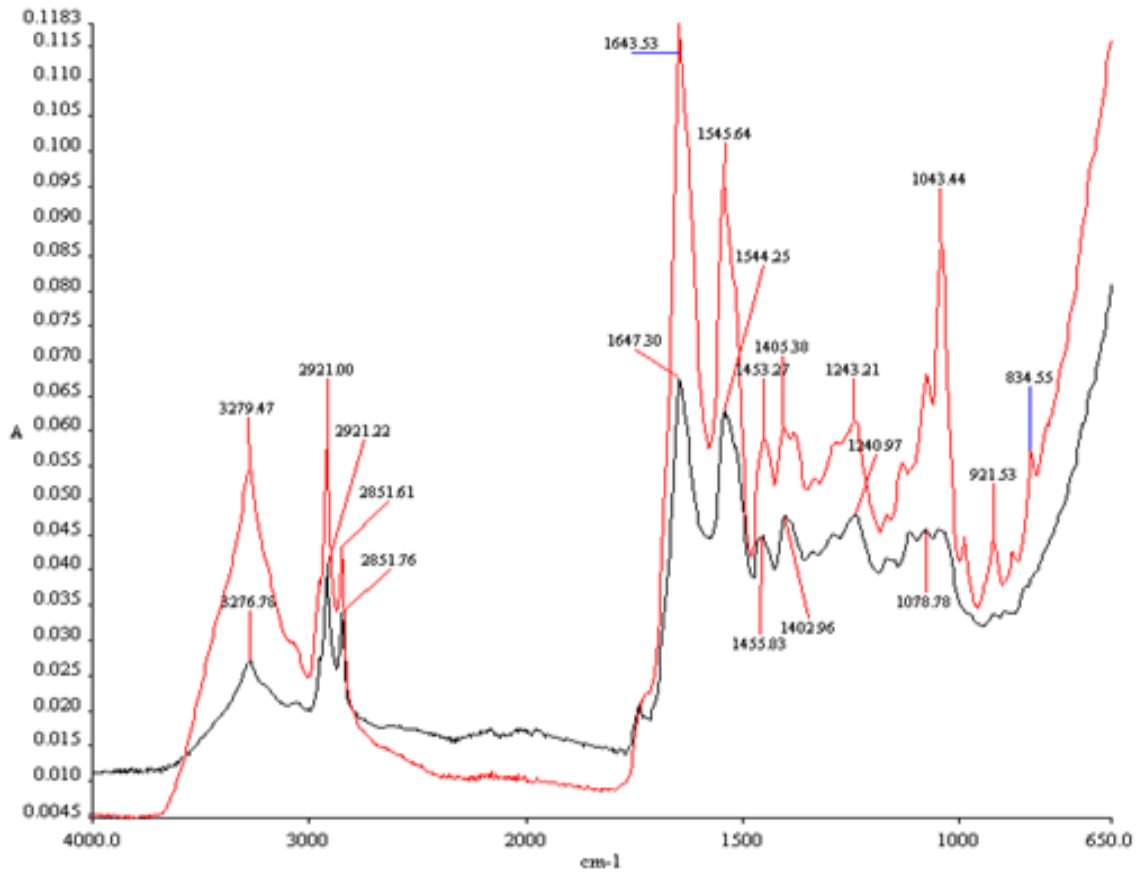
Şekil 4-20: TEWL ölçümlerine ait ortalama sonuçlar (g/m²h)

#### 4.4.4. ATR-FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Sonuçlar

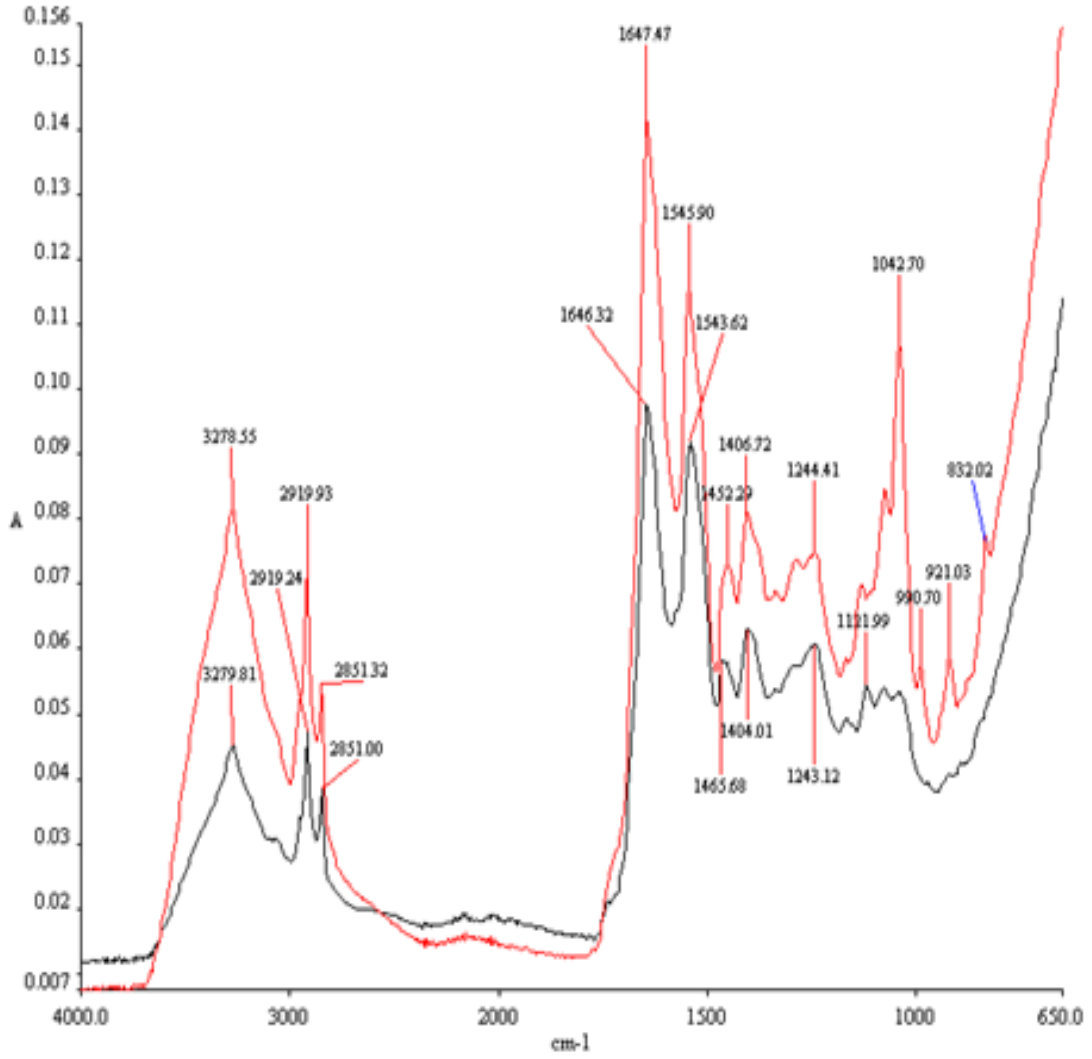
F-HP, F-AH, F-MC, F-COS, F-COE, F-COH, F-COM ve F-KM kodlu jel formülasyonlarının 3 gönüllü deneğin ön kol bölgelerine uygulanmalarının ardından 1 saat sonunda alınan ATR-FTIR spektrumları ve uygulama yapılmamış bölgeye ait kontrol spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4-21 – Şekil 4-44’de gösterilmekte, CH<sub>2</sub> simetrik ve asimetrik gerilme bantları ortalama absorbans değerleri ile Amid 1 ve Amid 2 bantlarına ait yükseklik oranları ise Şekil 4-45 ve 4-46 - Şekil 4-47’de yer almaktadır.



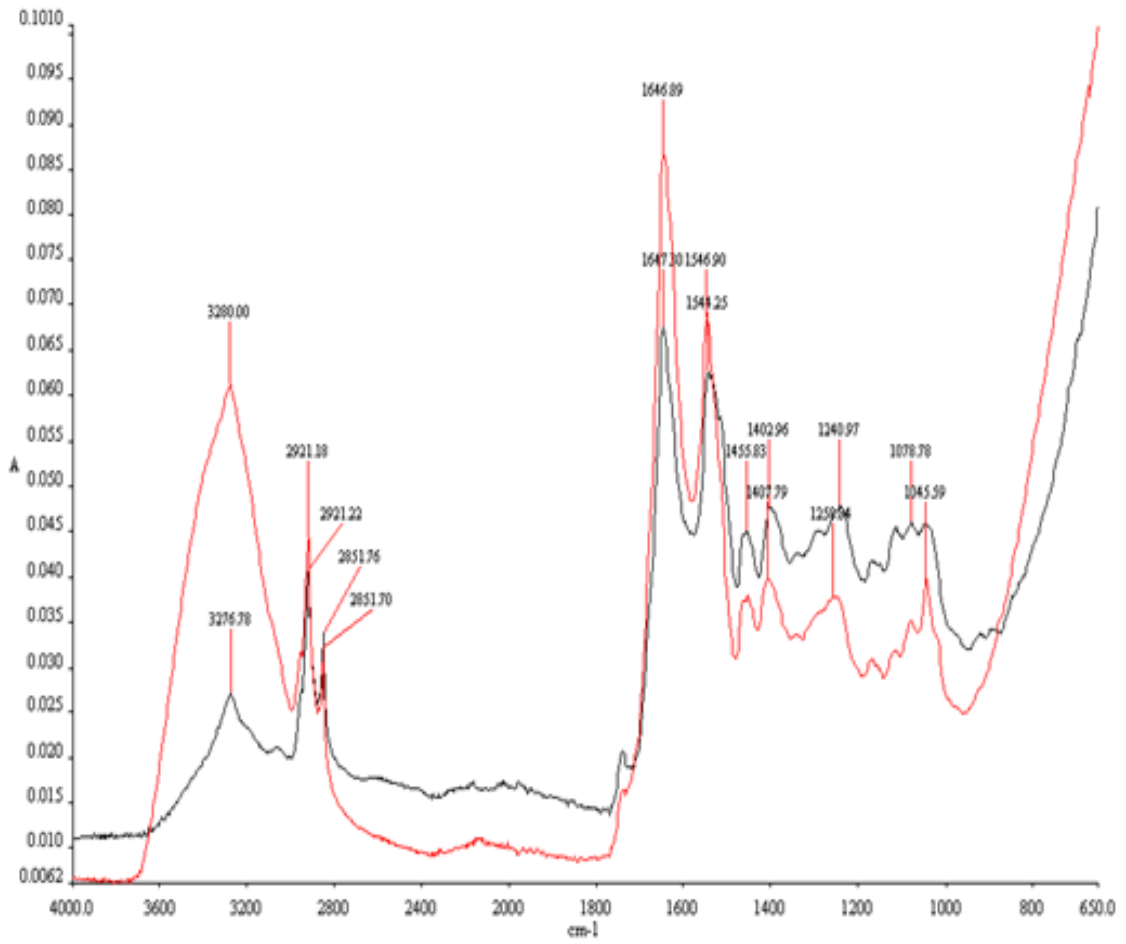
Şekil 4-21: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1



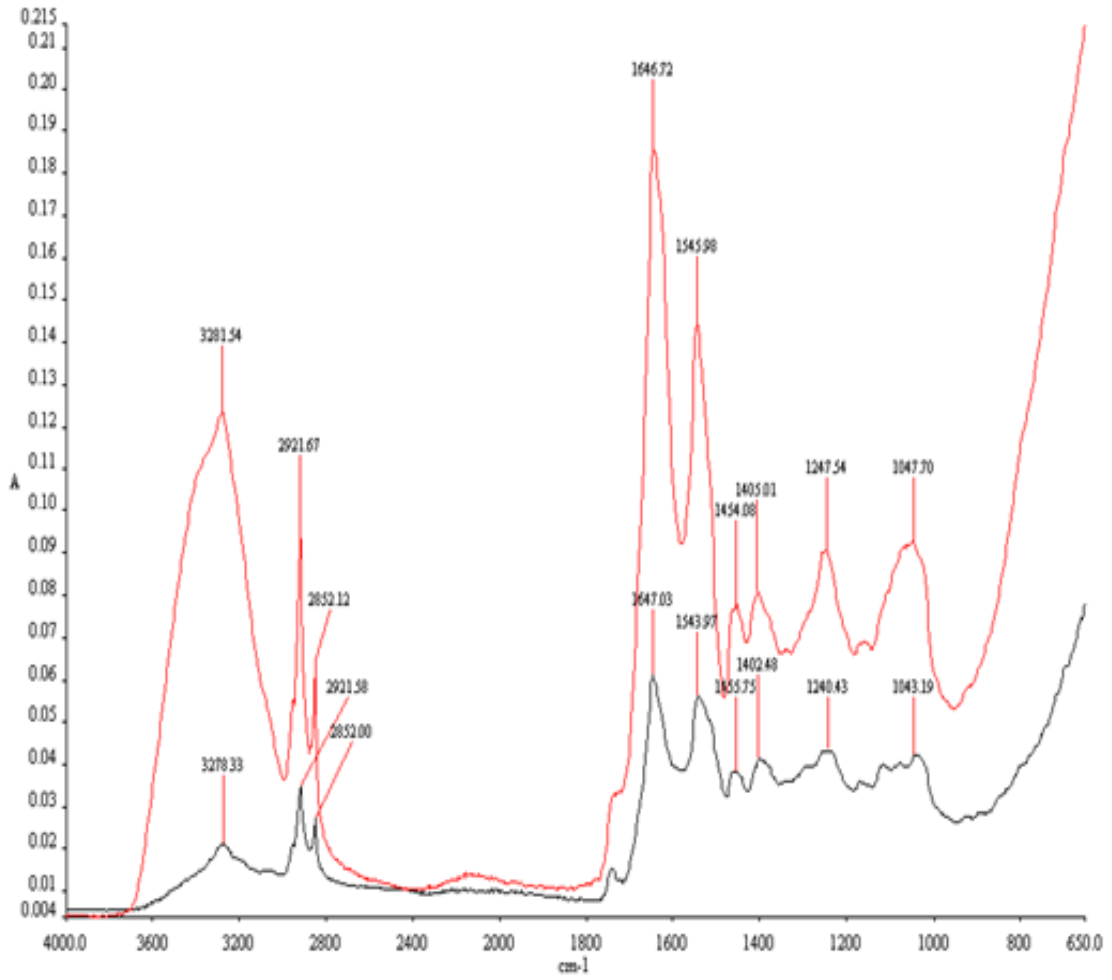
Şekil 4-22: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2



**Şekil 4-23: F-HP formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**

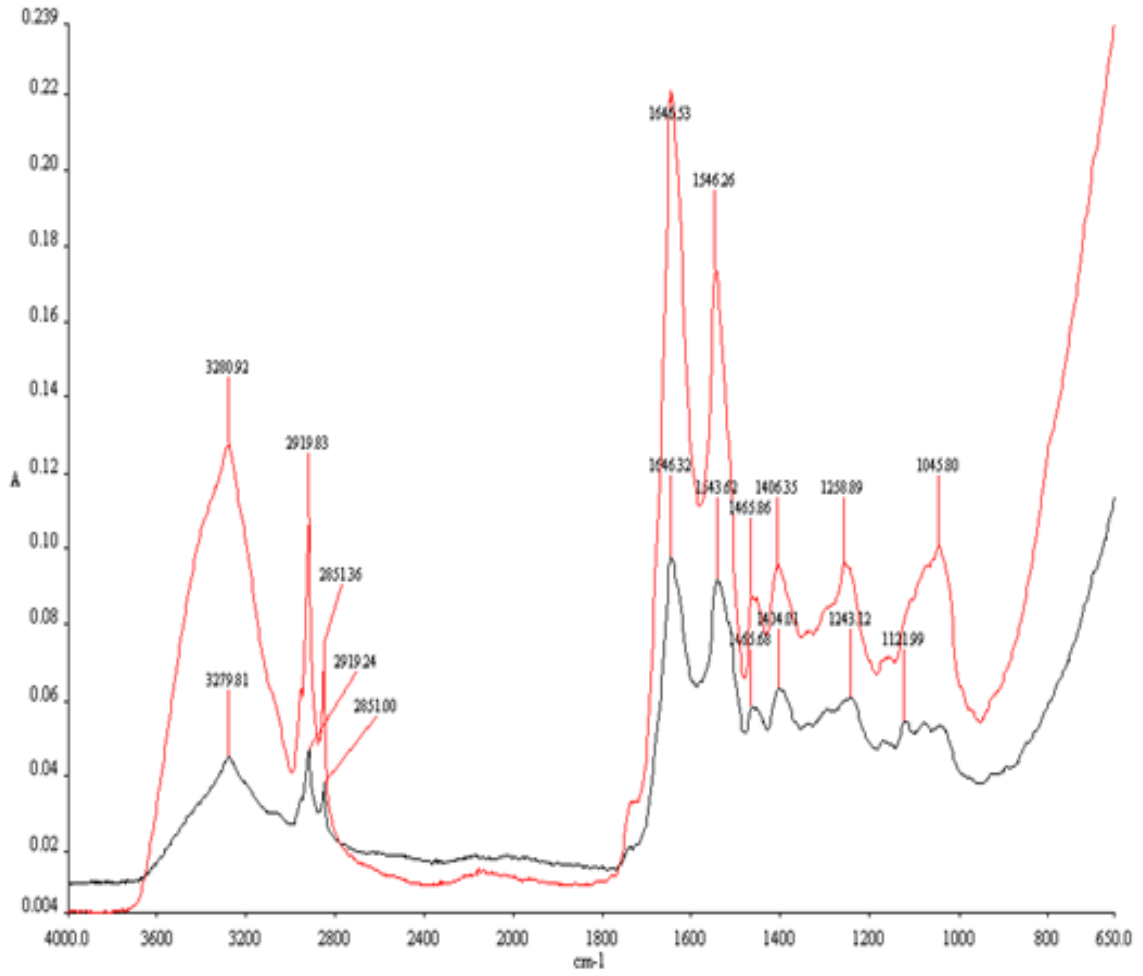


**Şekil 4-24: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1**

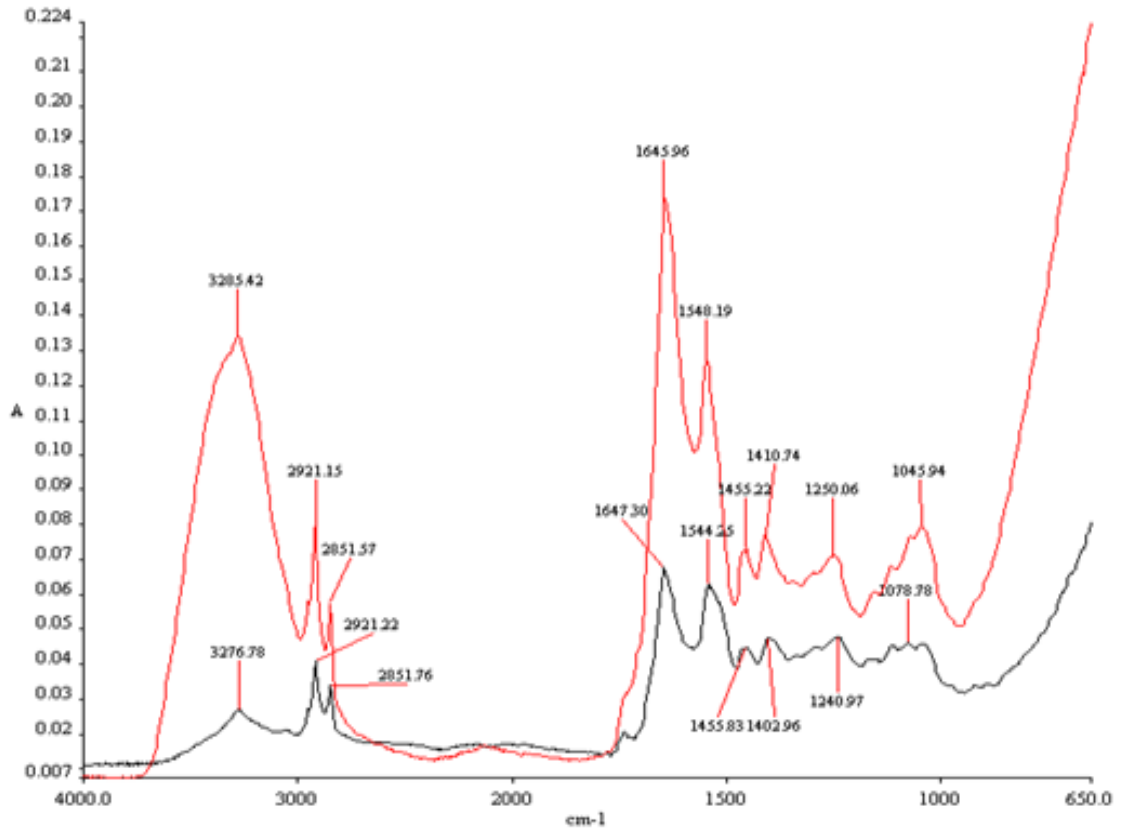


Şekil 4-25: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2

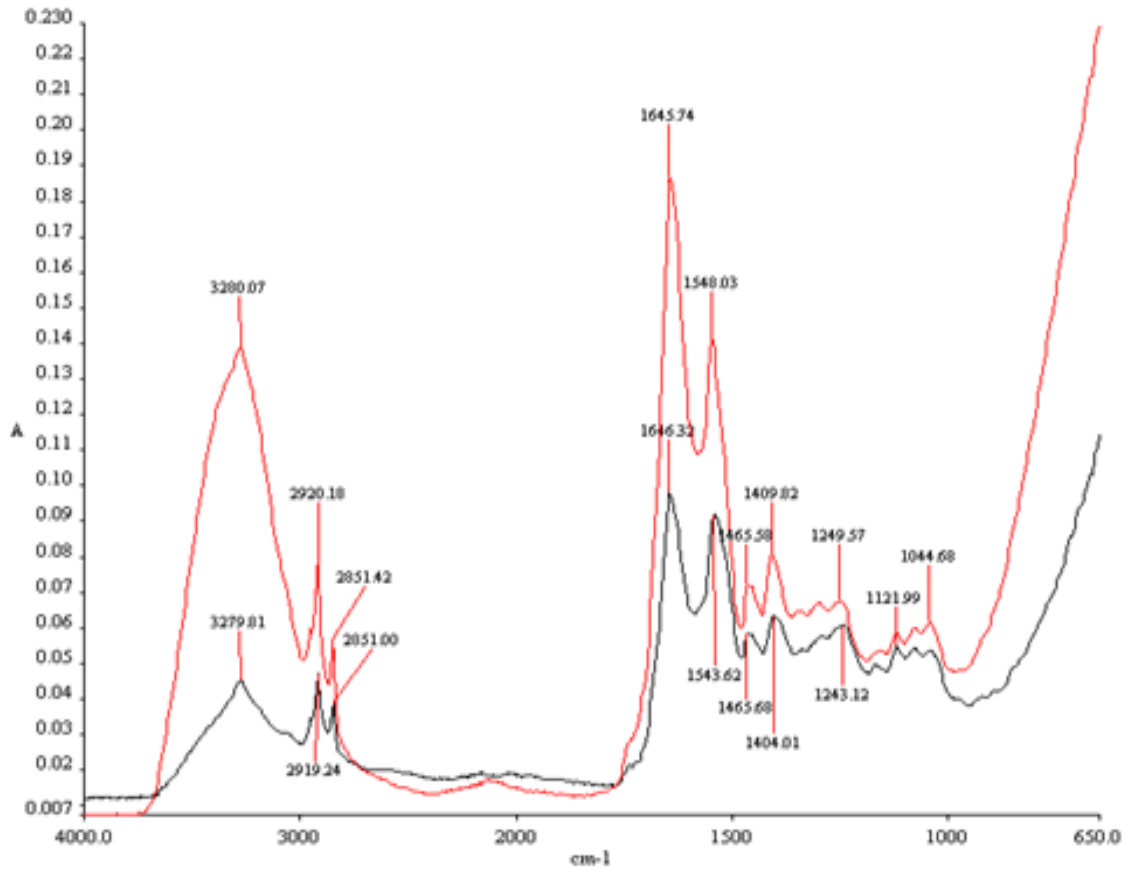




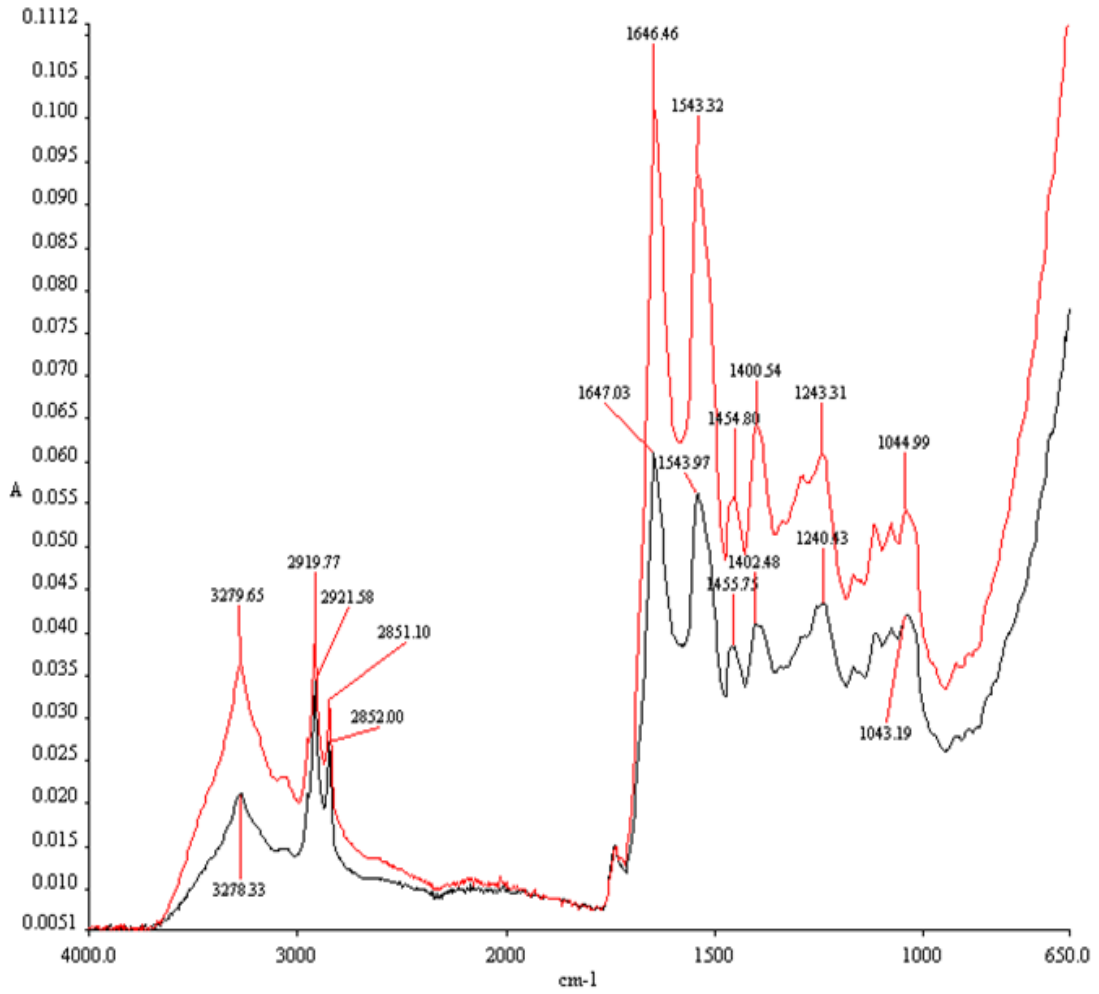
**Şekil 4-26: F-MC formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 3**



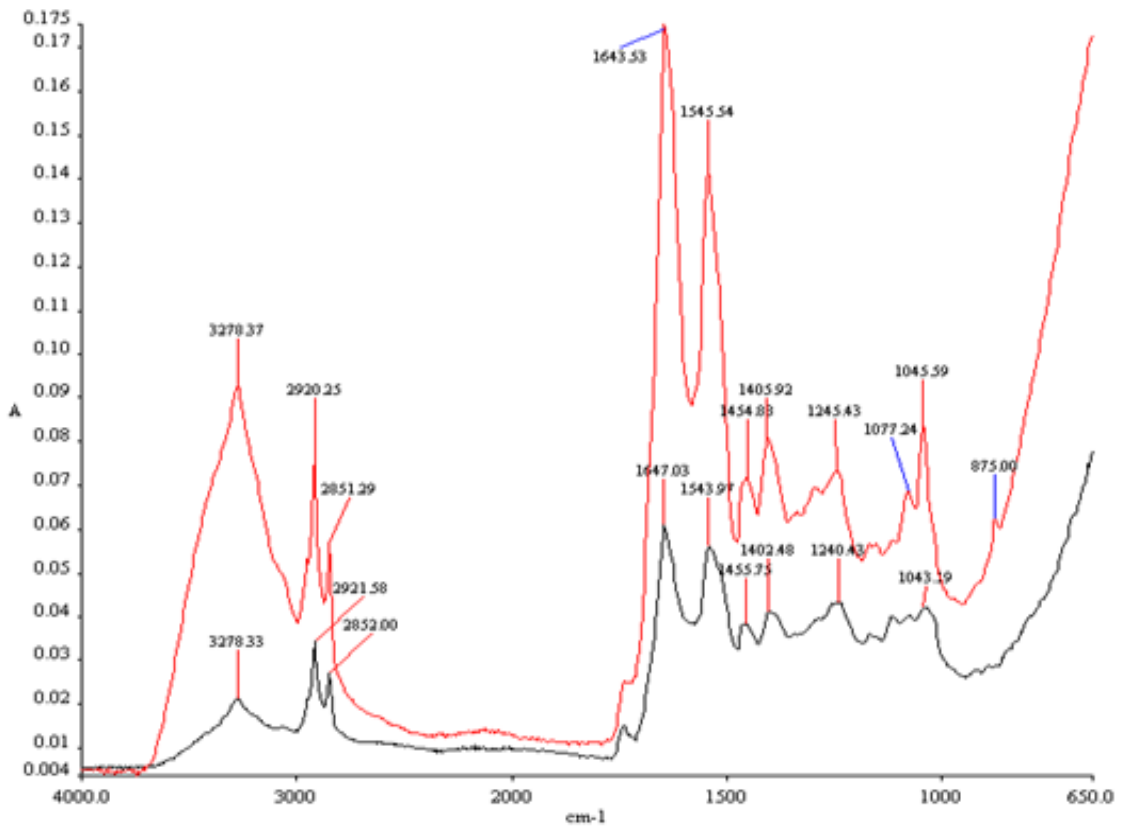
Şekil 4-27:F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1



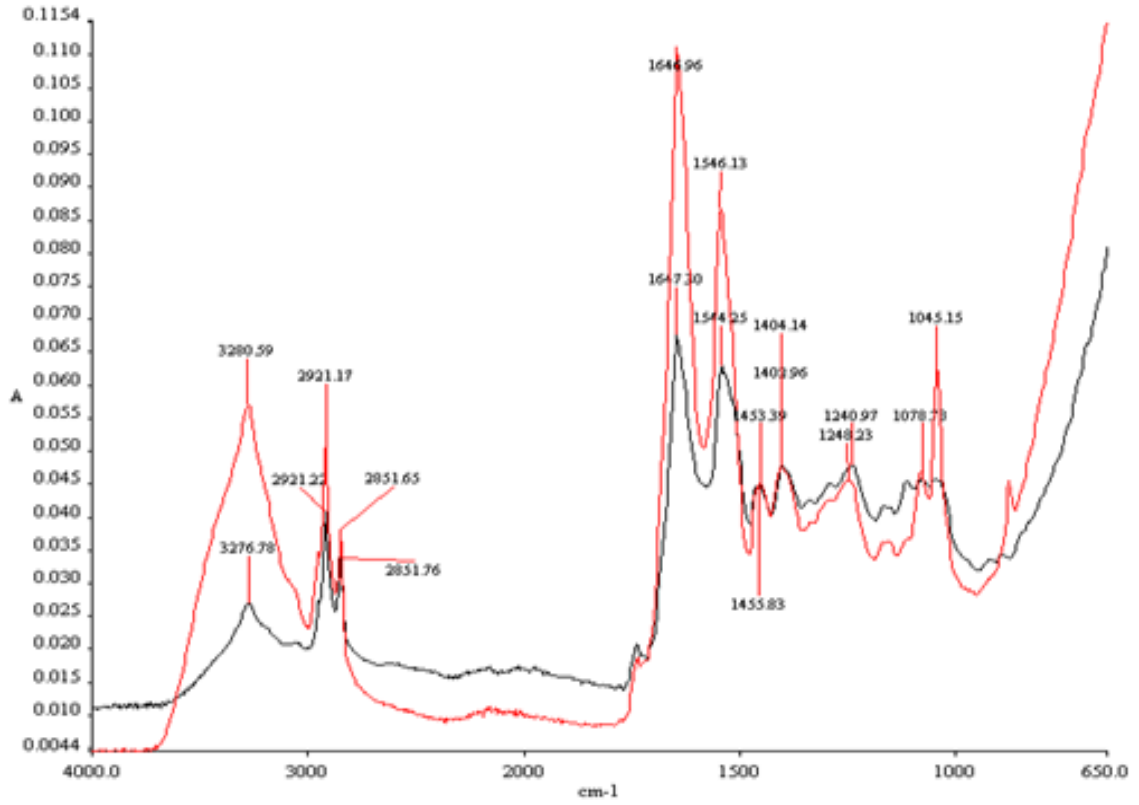
**Şekil 4-28: F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2**



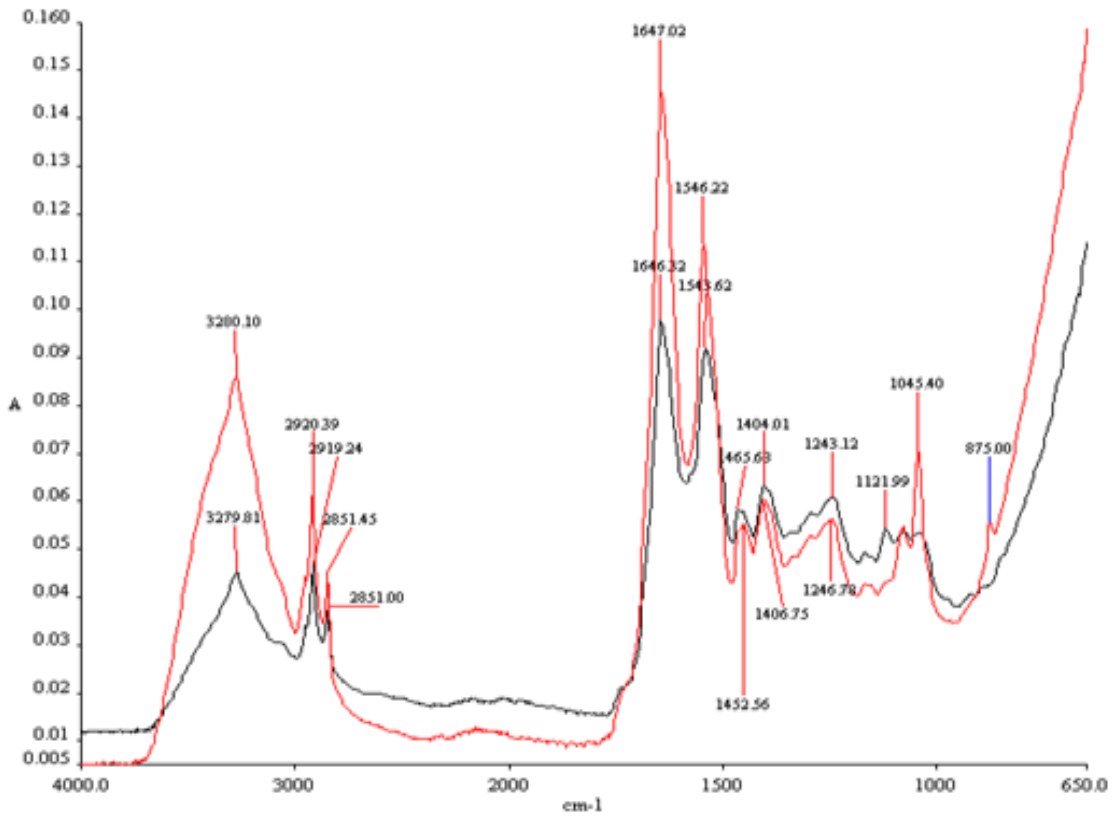
**Şekil 4-29: F-AH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**



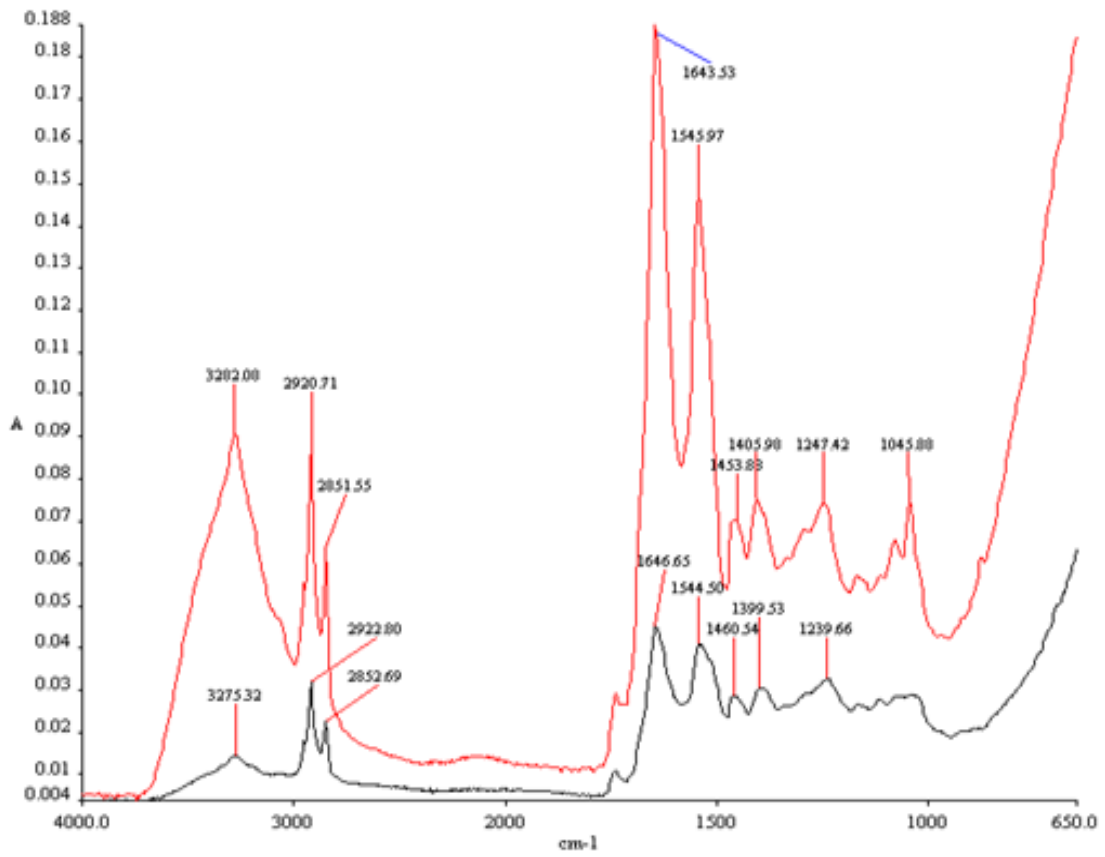
Şekil 4-30: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1



Şekil 4-31: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2

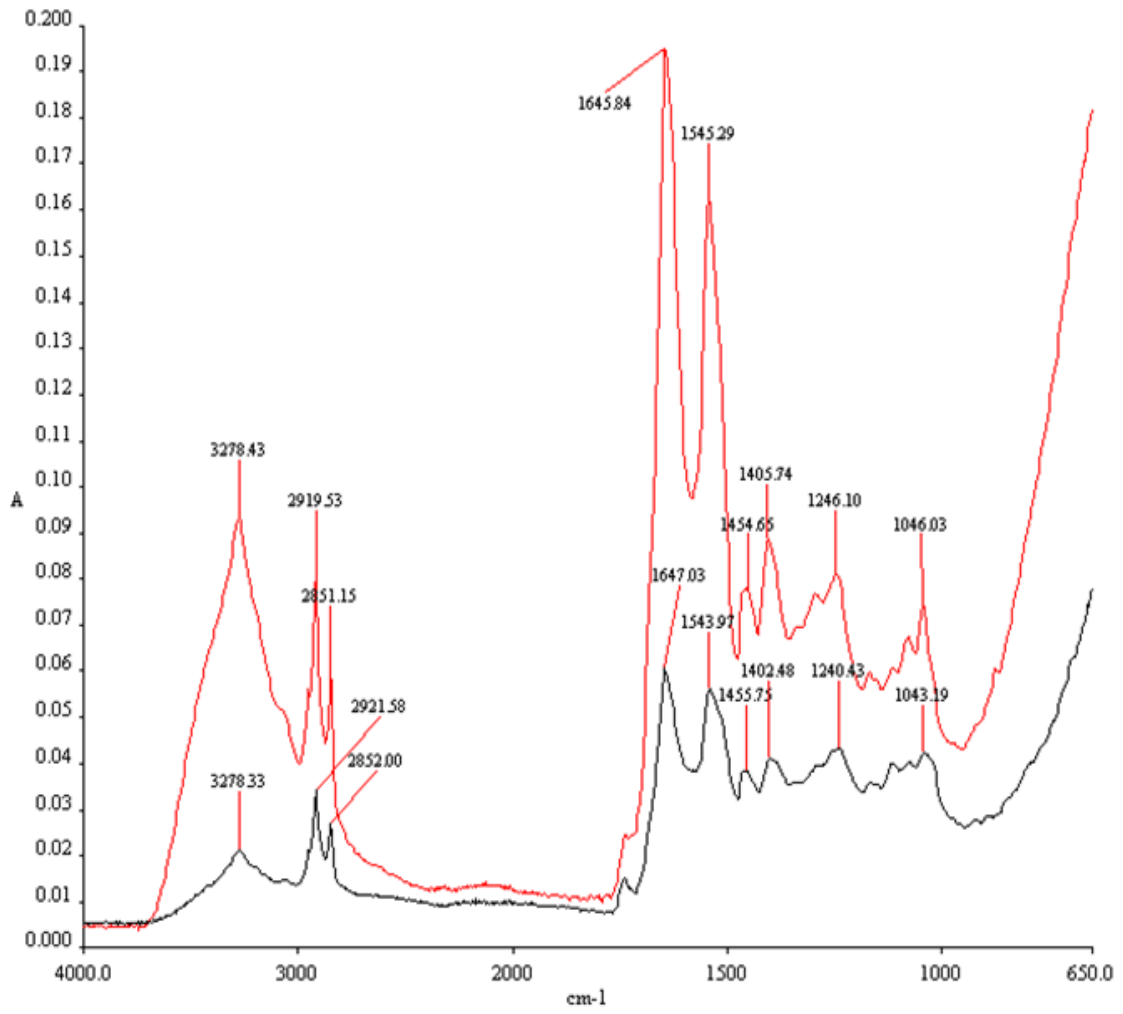


**Şekil 4-32: F-COH formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**

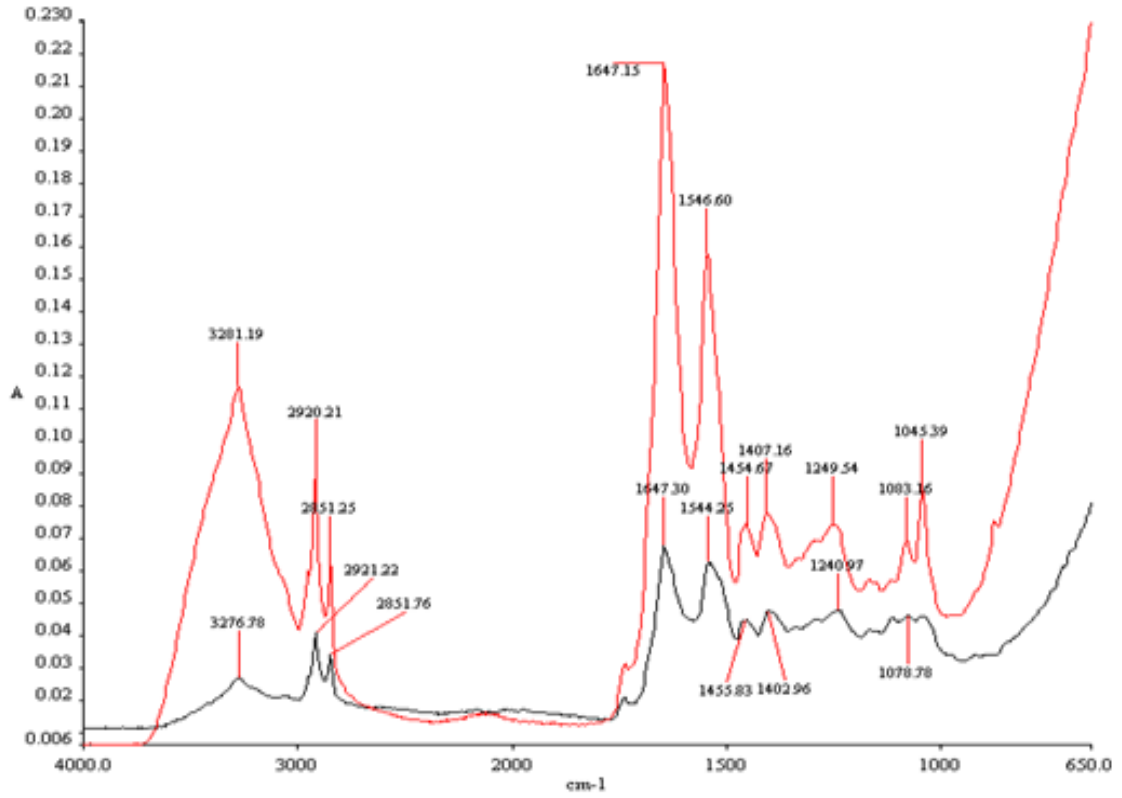


**Şekil 4-33: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 1**

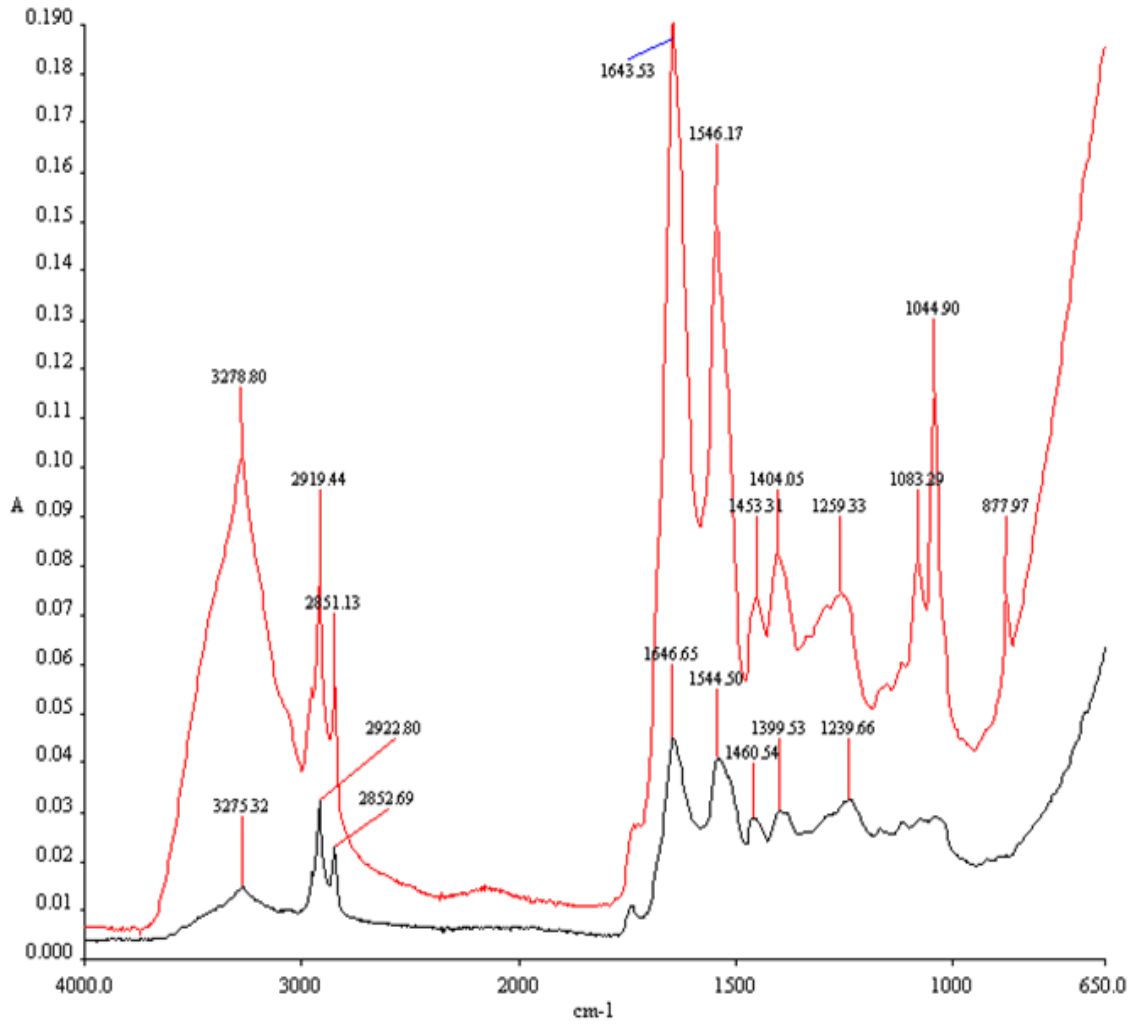




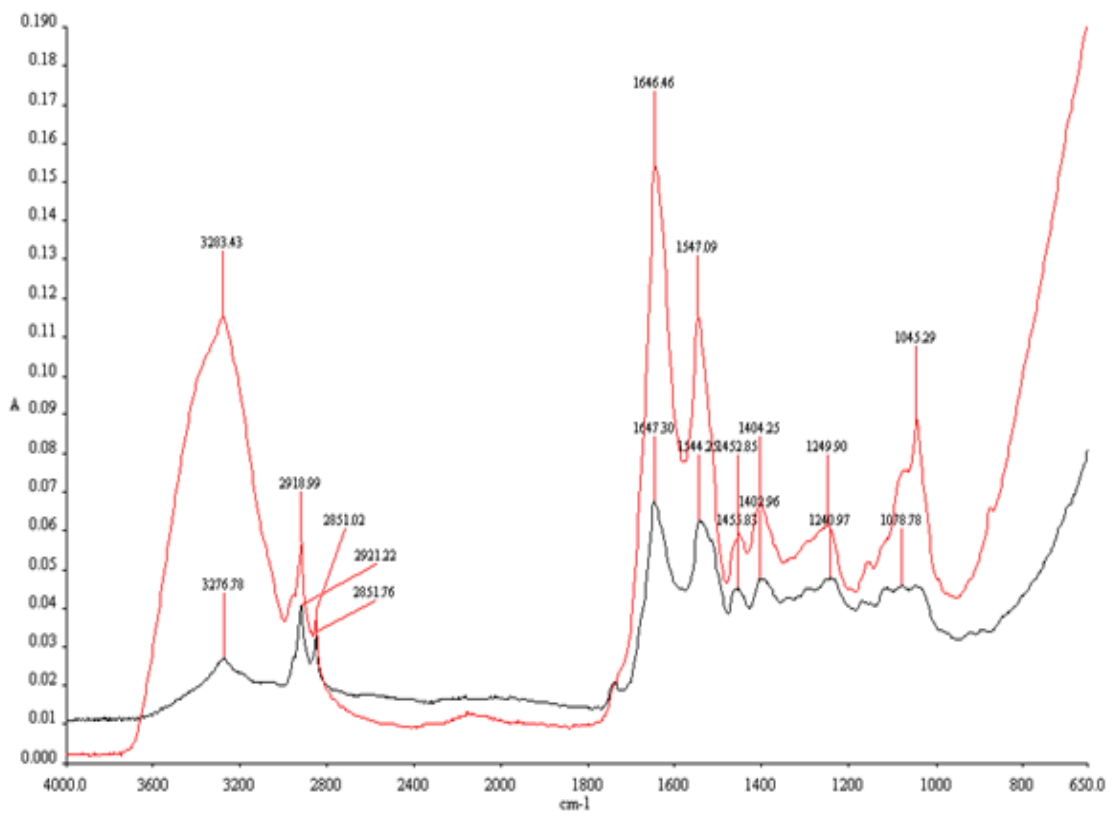
**Şekil 4-34: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-Denek 2**



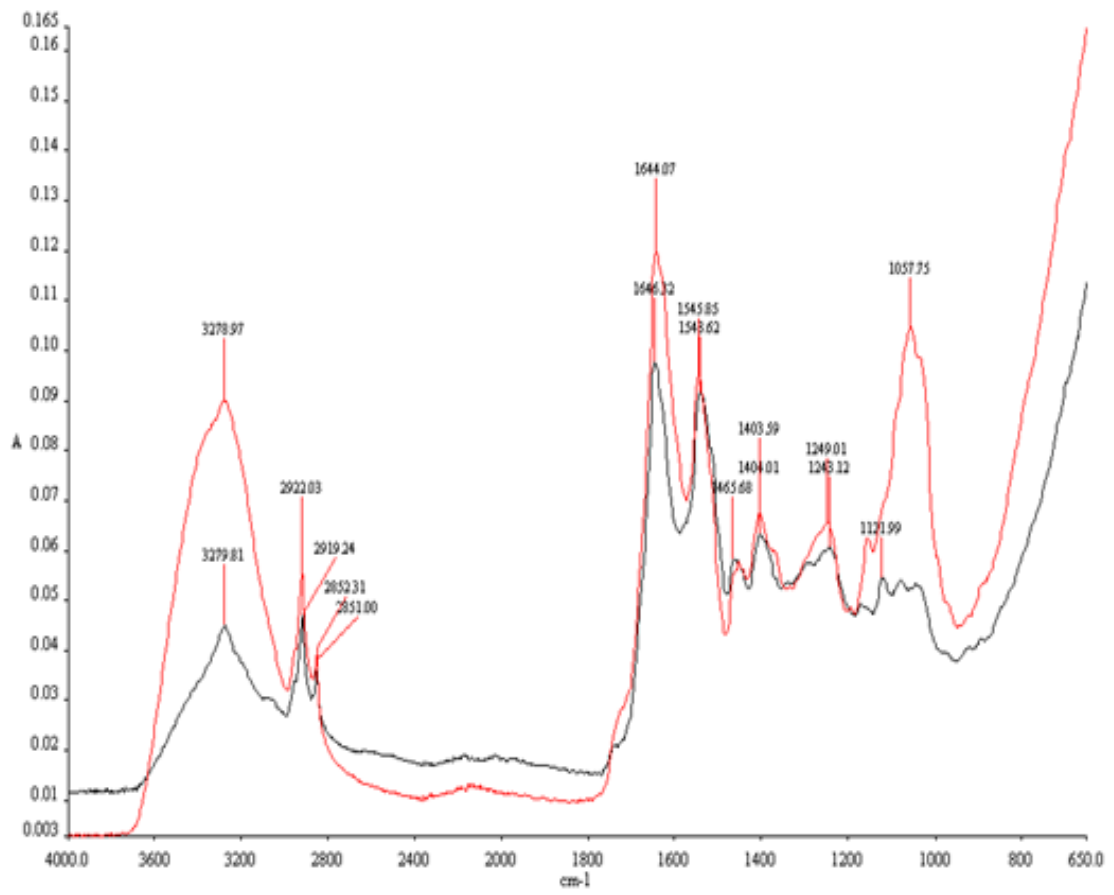
Şekil 4-35: F-COE formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3



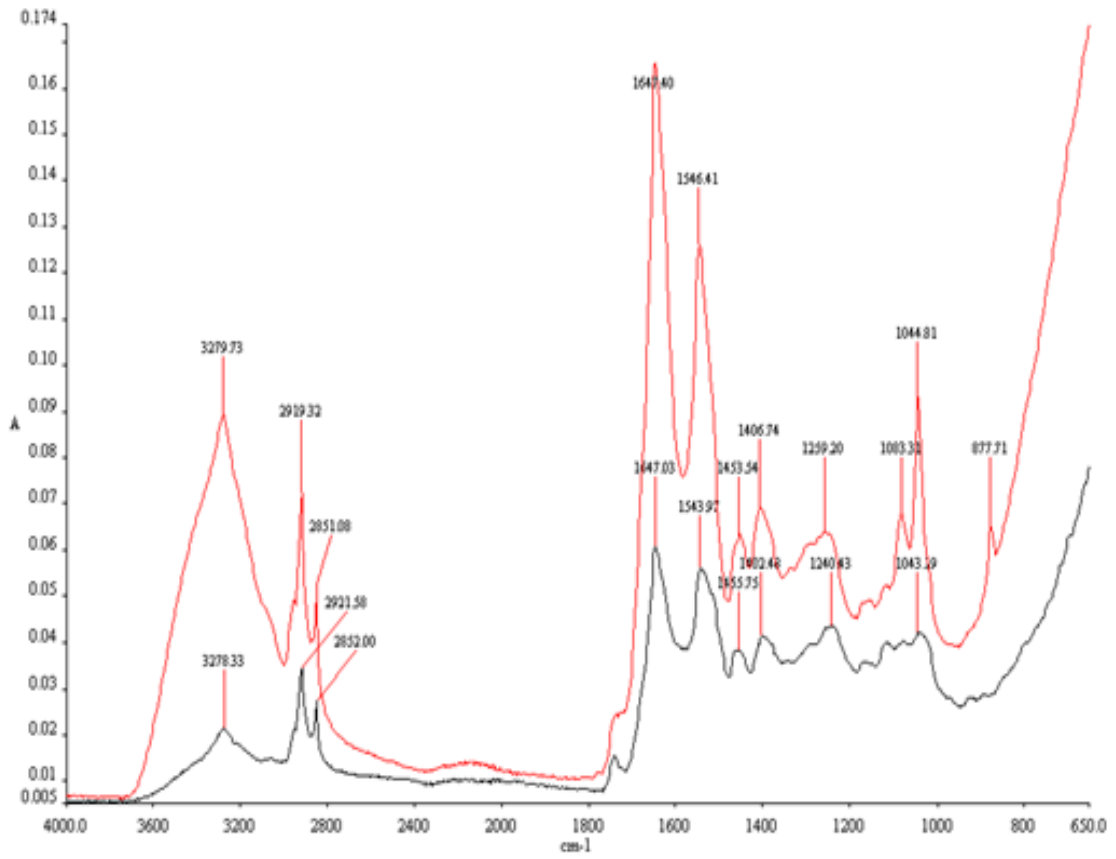
**Şekil 4-36: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1**



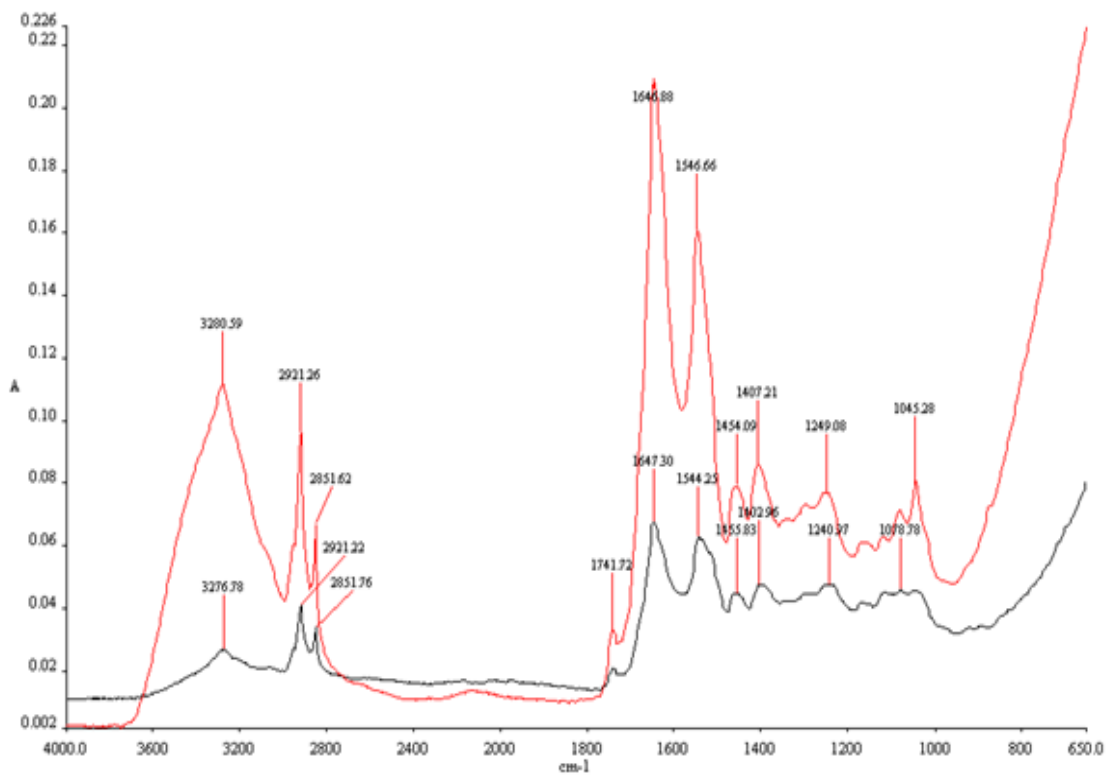
**Şekil 4-37: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2**



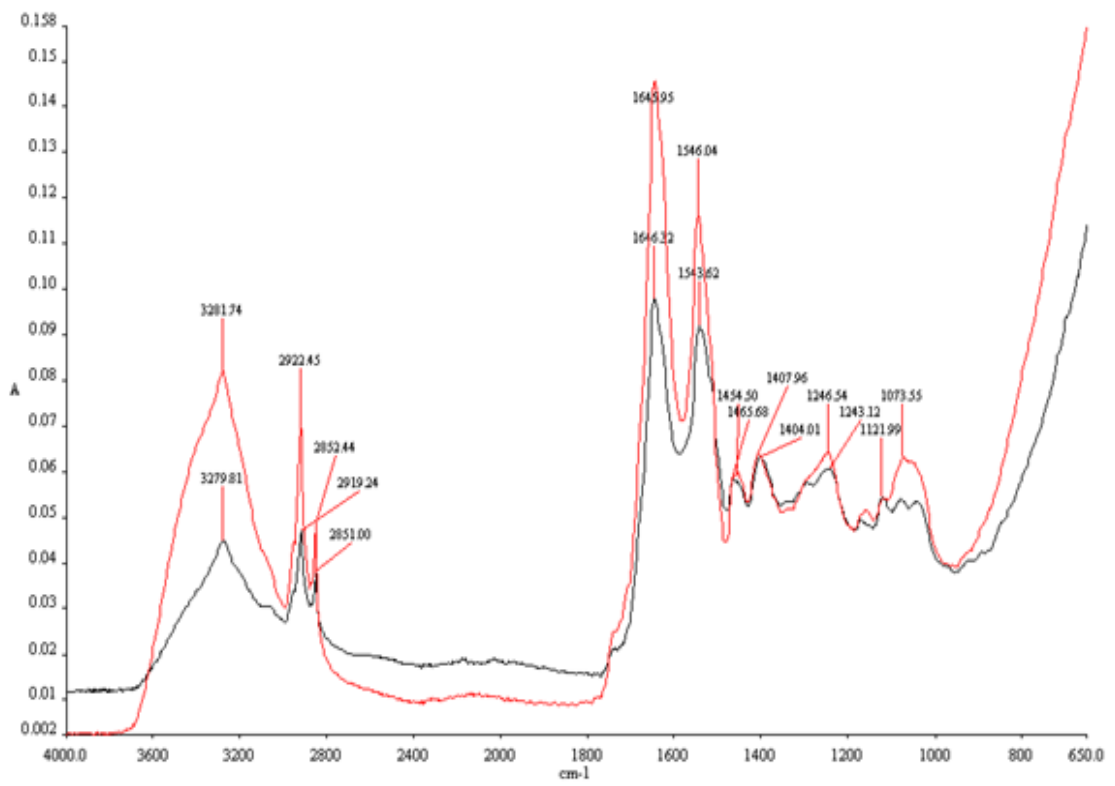
**Şekil 4-38: F-COM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**



**Şekil 4-39: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1**

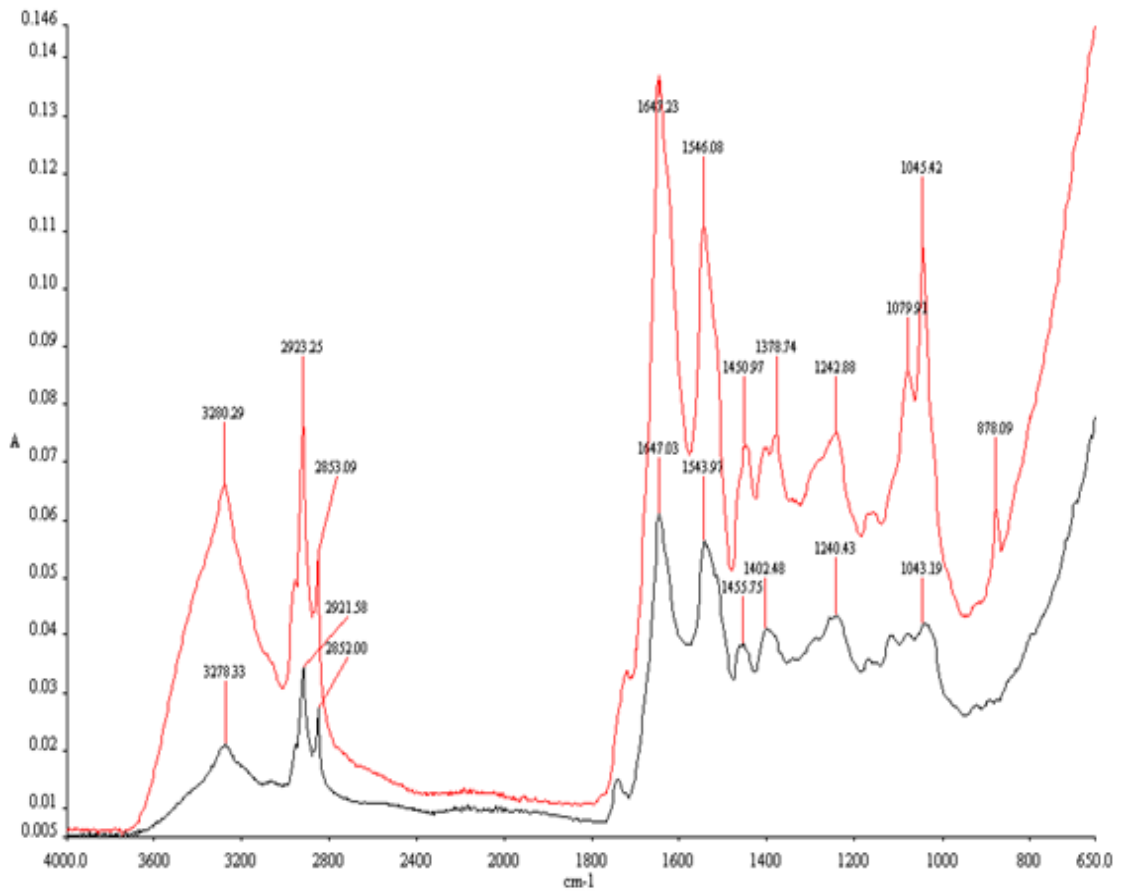


**Şekil 4-40: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2**

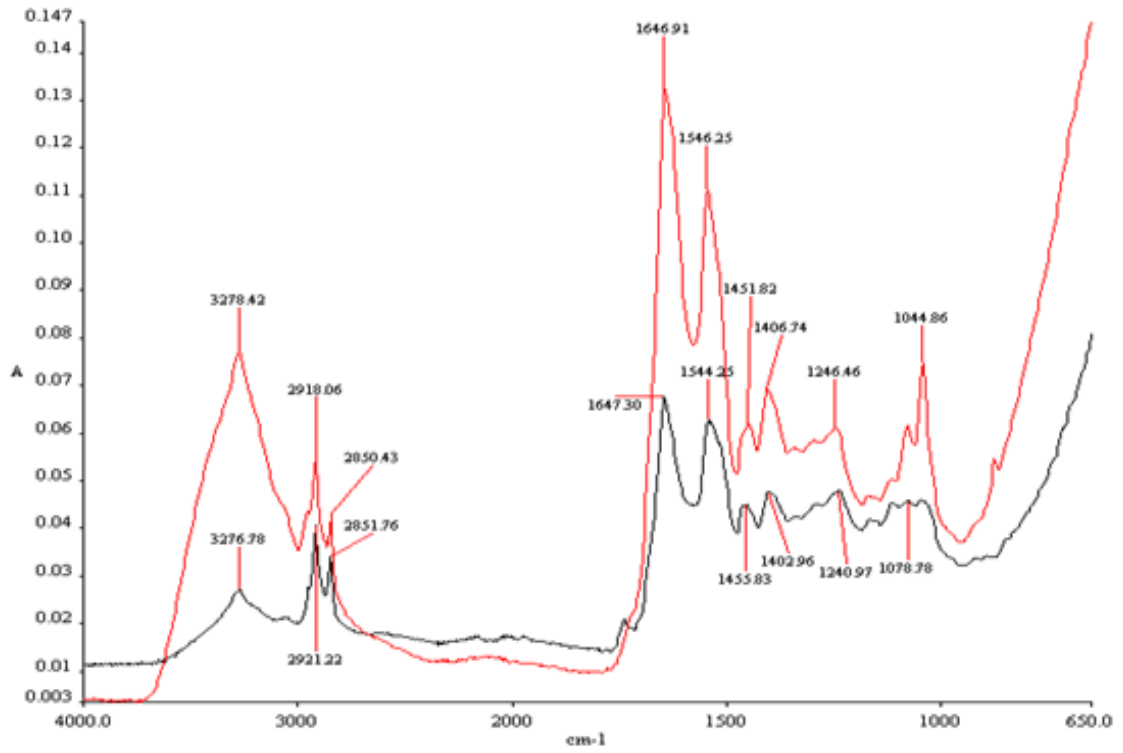


**Şekil 4-41: F-COS formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**

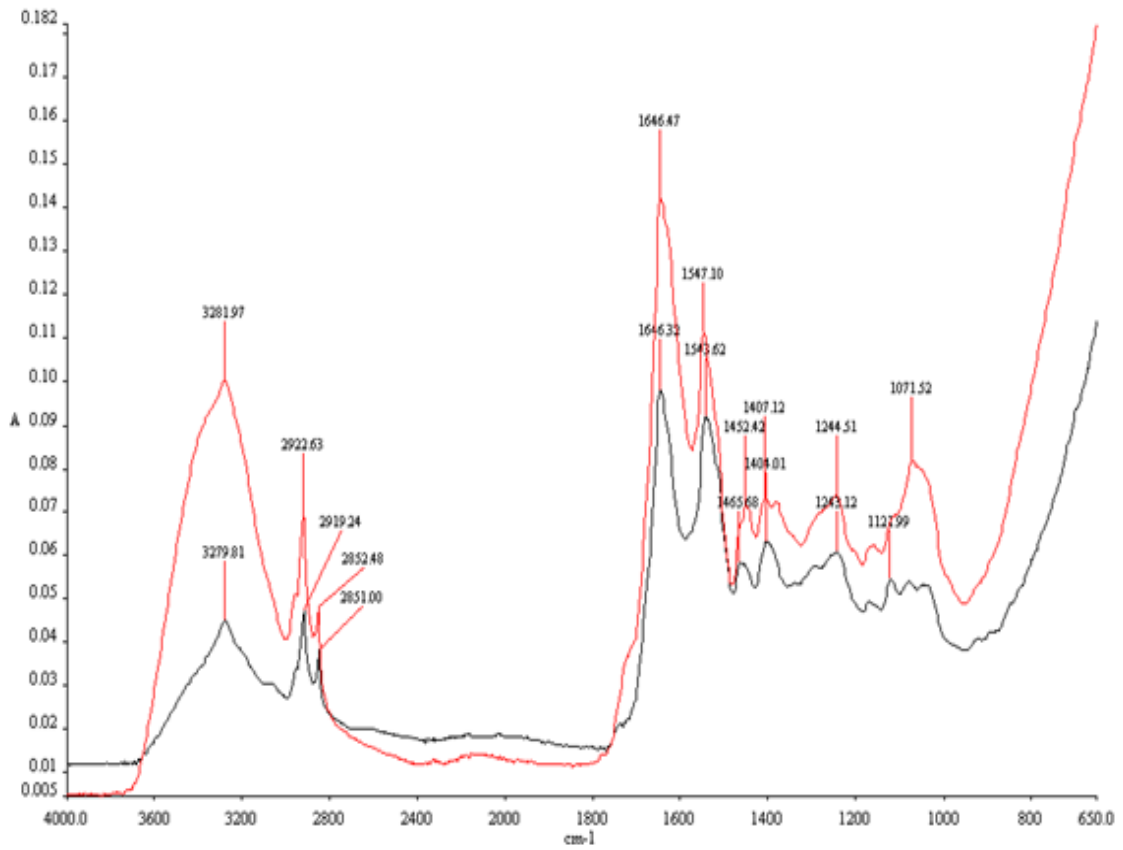




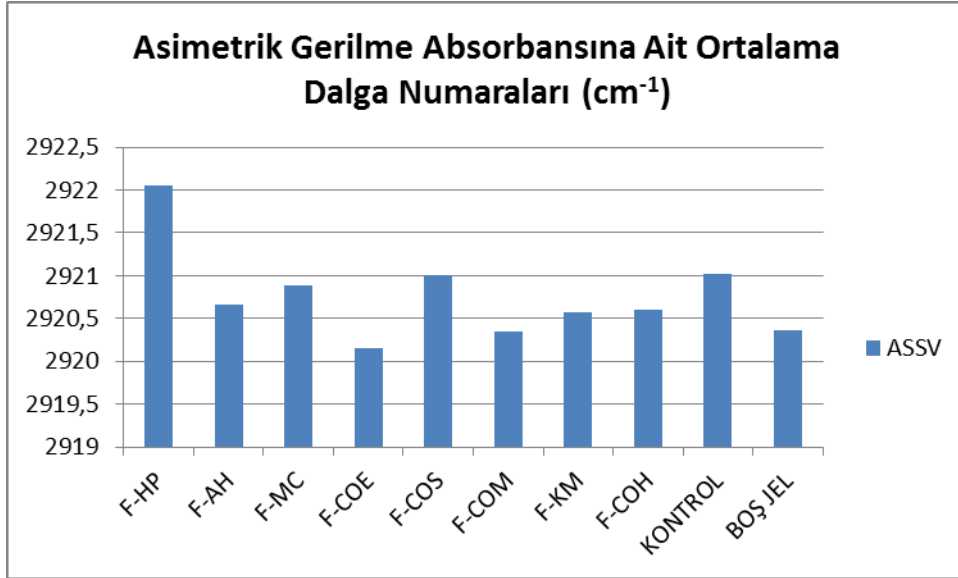
**Şekil 4-42: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 1**



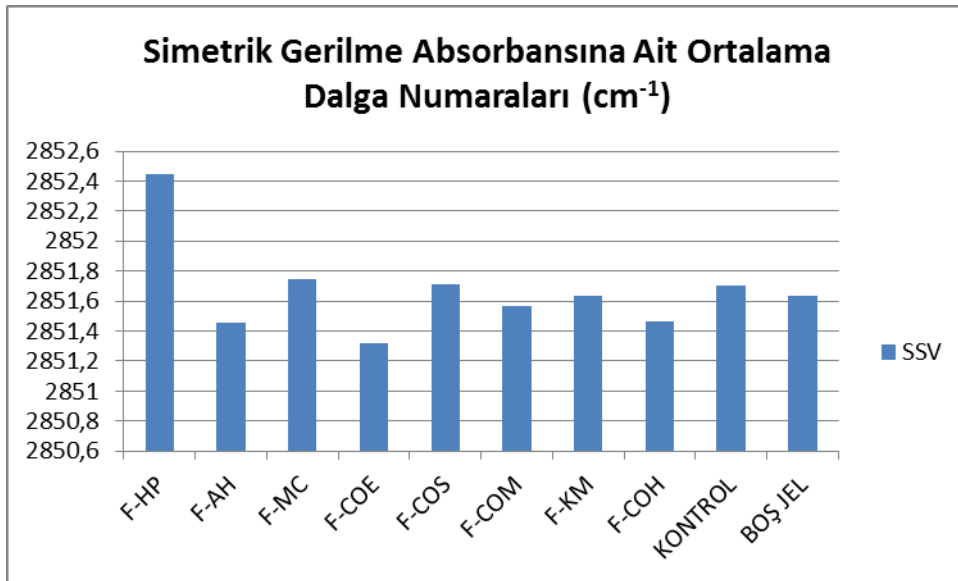
Şekil 4-43: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 2



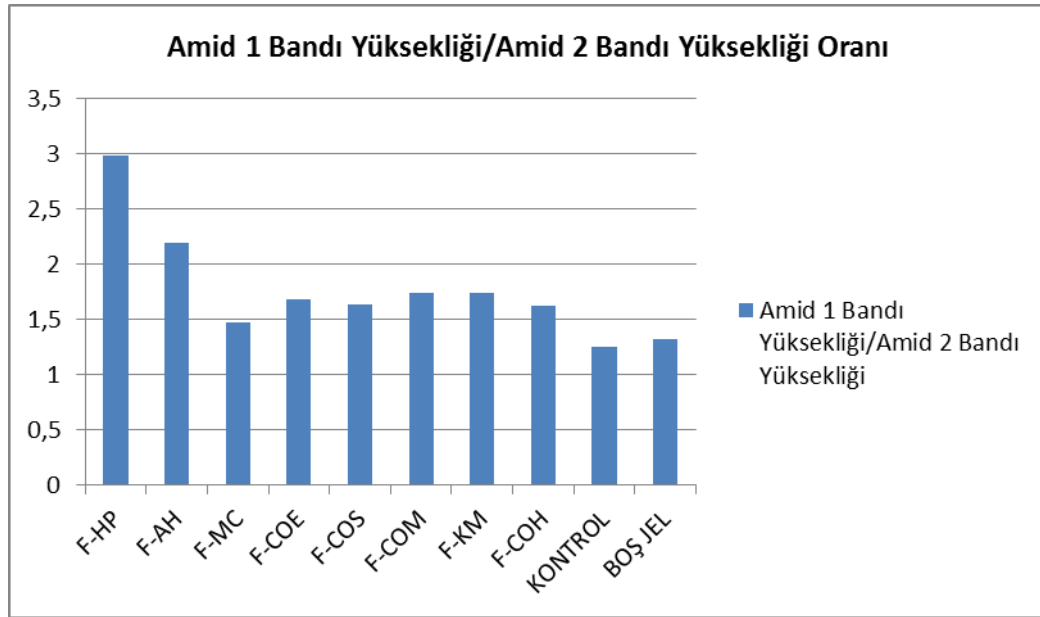
**Şekil 4-44: F-KM formülasyonu uygulamasının 1 saat sonrasında elde edilen spektrum-  
Denek 3**



**Şekil 4-45:** Asimetrik gerilme absorbansına ait ortalama dalga numaralarının ( $\text{cm}^{-1}$ ) grafik olarak gösterilmesi



**Şekil 4-46:** Simetrik gerilme absorbansına ait ortalama dalga numaralarının ( $\text{cm}^{-1}$ ) grafik olarak gösterilmesi



**Şekil 4-47: Amid 1 bandı/Amid 2 bandı yükseklik oranı**

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, halk arasında yara iyileştirici olarak kullanılan 4 bitki (Balıkesir çevresinden toplanan *Hypericum perforatum*, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* var. *recutita* ve İstanbul Üniversitesi Merkez kampüs bahçesinden toplanan *Aesculus hippocastanum*) antimikrobiyal, serbest radikal süpürücü etkileri ve liyofilize edilmiş ekstrelerini tek tek ve kombine şekilde içeren topikal jel formülasyonlarının etkinliği açısından incelenmiştir.

Hazırlanan formülasyonların sağlıklı deri üzerindeki kısa süreli etkileri, deri yüzey nemi ve deri üzerinden gerçekleşen su kaybı ölçülerek değerlendirilmiş, derinin en üst tabakası olan *Stratum corneum* üzerindeki etkiler ATR-FTIR spektroskopisi ile araştırılmıştır.

*H. perforatum* örnekleri Haziran 2010'da çiçekli, *C. officinalis* örnekleri Nisan 2010'da çiçekli, *M. chamomilla* var. *recutita* örnekleri Mayıs 2010'da çiçekli ve *A. hippocastanum* örnekleri Eylül 2010'da tohumlu iken toplanmıştır.

Yapılan antimikrobiyal aktivite tayini sonucuna göre; *H. perforatum* metanol ekstresi *Staphylococcus aureus*, Metisilin'e dirençli *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *C. officinalis* hekzan, *C. officinalis* etanol, *C. officinalis* metanol, *C. officinalis* su, *A. hippocastanum* etanol ve *M. chamomilla* var. *recutita* sulu-etanol ekstreleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemesine rağmen çalışılan suşlardan *Staphylococcus*'lara karşı antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. *Candida albicans*'a karşı aktivite ise sadece *M. chamomilla*, *A. hippocastanum* ve *C. officinalis* etanol ekstrelerinde gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar literatür bilgileri ile uyum göstermiştir (Barbagallo ve Chisari 1987; Conforti ve ark. 2005; Saddiçe ve ark. 2010; Meral ve Karabay 2002; Gruenwald ve ark. 2007; Goyal ve Mathur 2011; Cinco ve ark. 1983).

DPPH metodu ile saptanan serbest radikal süpürücü etki sonuçları; kullanılan standart maddelerin IC<sub>50</sub> sonuçları ile karşılaştırıldığında, *H. perforatum* metanol ekstresinin serbest radikal süpürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. *M. chamomilla* var. *recutita* sulu-etanol ve *C. officinalis* etanol ekstrelerinin düşük de olsa serbest radikal süpürücü etki gösterdiği ancak *C. officinalis* hekzan, *C. officinalis* metanol, *C. officinalis* su ve *A. hippocastanum* etanol ekstrelerinin anlamlı bir IC<sub>50</sub> değerine sahip olmadığı saptanmıştır.

Tez çalışmamızda kullandığımız bitkilerin ülkemizde bulunan ruhsatlı topikal preparatları Genel Bilgiler bölümünde Tablo 2-1’de verilmiştir.

Çalışmamızda Türkiye’de bulunan preparatlardan farklı formülasyonlar geliştirilerek etkileri incelenmiştir.

Liyofilize edilen bitki ekstreleri ile topikal jel formülasyonları hazırlanarak, ekstrelerin tek tek ve kombinasyon halinde kullanıldıklarında deri üzerindeki kısa süreli etkileri, deri nemi ve deri üzerinden gerçekleşen su kaybı ölçülerek ve özel bir IR tekniği olan ATR-FTIR spektroskopisi yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

Topikal jel formülasyonlarına ilave edilecek ekstre miktarlarına literatür araştırması sonucunda karar verilerek, etkinin rahat gözlemlenebilmesi açısından, literatürde kullanılan maksimum miktarlarının formülde yer alması uygun bulunmuştur.

Hazırlanan farklı bitki ekstrelerini içeren jellerin homojen ve topikal kullanım için uygun viskozitede oldukları belirlenmiş, jellerin renklerinin içerdikleri bitki ekstresine göre farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, *C. officinalis* bitkisinin hekzanlı ekstresinin kullanıldığı F-COH jel formülasyonunda bariz sarı renk ortaya çıkmıştır (Şekil 4-11 – Şekil 4-18).

Ekstre içeren F-HP, F-AH, F-MC, F-COS, F-COE, F-COH, F-COM ve F-KM kodlu jel formülasyonlarının viskozite değerleri 1700 cP-3600 cP arasında bulunmuştur.

pH değerleri ise 4,97-6,22 arasında saptanmıştır. Formülasyonların tamamının deriye uygulanma açısından uygun oldukları sonucuna varılmıştır.

*In vivo* çalışmada, jel formülasyonlarının 5 gönüllü deneğin ön kol bölgelerine uygulanmalarının ardından 1 saat sonunda alınan TEWL ve Korneometre ölçümlerine ait ortalama sonuçlar ve uygulama yapılmamış bölgeye ait ortalama kontrol değeri değerlendirilmiştir.

Deri ve *Stratum corneum* hidrasyonunun seviyesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin en bilineni, derinin elektriksel kapasitesinin ölçüldüğü ve korneometre cihazının kullanıldığı analizlerdir. Deriden kaybedilen toplam su miktarını ifade eden TEWL ise, *Stratum corneum* bütünlüğü ve sağlığının önemli bir göstergesidir (Güngör ve ark 2011). Bariyer özelliklerindeki zayıflama, TEWL nin artışı olarak ortaya çıkmakta ve TEWL izlenerek derinin tamir sürecinin ne kadar sürdüğü saptanabilmektedir (Menon 2002).

TEWL ve korneometre analizleri *Stratum corneum* un özelliklerinin ve bu özelliklerde fizyolojik ve patolojik koşullara göre oluşan farklılıkların değerlendirilmesinde geniş oranda kullanılmaktadır.

Çalışmamızda, korneometre ölçümlerinde, uygulama yapılmamış derinin ortalama nem değeri 31,74 i.u, ekstre içermeyen boş jel uygulanmış derinin nem değeri ise 1 saat sonunda 36,01 i.u. olarak bulunmuştur. 1 saatlik uygulamanın sonunda en yüksek nem değeri (59,09 i.u.) *H. perforatum* ekstresi içeren jel ile elde edilmiştir. Deri nemini arttırma bakımından jel formülasyonları F-HP>F-COH>F-AH>F-MC>F-COE>F-KM>F-COS>F-COM olarak sıralanmaktadır.

Jel formülasyonlarının uygulanmalarının 1 saat sonrasında ölçülen TEWL değerleri açısından sıralama F-MC>F-COE>F-AH>F-COM>F-COH>F-COS>F-KM>F-HP olarak bulunmuştur. Uygulama yapılmamış bölgeye ait kontrol değeri 6,68 g/m<sup>2</sup>h, ekstre içermeyen boş jel uygulandıktan 1 saat sonrasında ölçülen TEWL değeri ise 50,37 g/m<sup>2</sup>h olarak saptanmıştır.



Ekstre içeren jel formülasyonlarının uygulanması oklüzif koşullarda yapıldığından dolayı TEWL ölçümlerinde, uygulama yapılmamış bölgeden alınan TEWL değeri ile arada büyük bir fark olması olağan karşılanabilecek bir durumdur. Bu nedenle, TEWL ölçümleri değerlendirilirken, ekstre içermeyen boş jel uygulaması yapılan bölgeden alınan değer ile kıyaslama yapılmıştır.

*H. perforatum* ekstresi içeren jel formülasyonu (F-HP) en yüksek nem sağlama özelliğine sahipken, bu jel formülasyonunun uygulanmasının ardından TEWL değerinin en düşük çıkması (61,2 g/m<sup>2</sup>h) *H. perforatum* ekstresinin derinin hidrasyonunu artırırken aynı zamanda bu suyun deride tutulmasını diğer formülasyonlardan daha iyi sağladığını düşündürmektedir.

F-HP, F-AH, F-MC, F-COS, F-COE, F-COH, F-COM ve F-KM kodlu jel formülasyonlarının 3 gönüllü deneğin ön kol bölgelerine uygulanmalarının ardından 1 saat sonunda alınan ATR-FTIR spektrumları ve uygulama yapılmamış bölgeye ait kontrol spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4-21 – Şekil 4-44’de gösterilmiş, CH<sub>2</sub> simetrik ve asimetric gerilme bantlarına ait ortalama absorbans değerleri ile Amid 1 Bant Yüksekliği/Amid 2 Bant yüksekliği oranına ait grafikler Şekil 4-45 ve 4-46 –Şekil 4-47’de verilmiştir.

ATR-FTIR spektroskopisi tekniği özellikle deri hidrasyon oranının ölçülmesi ve deri üzerinde penetrasyon arttırıcı maddelerin etkisinin araştırılması için kullanılmaktadır. *In vivo* çalışmalarda, deneklerin kollarının iç yüzünde yapılan ATR-FTIR ölçümlerinde hücrelerarası lipitler ve SC hidrasyon oranına ilişkin bilgiler elde edilebilmiştir. 2850-2950 cm<sup>-1</sup> bölgesindeki CH<sub>2</sub> simetrik ve asimetric gerilme frekansları deri lipitleri ile ilgili analizlerde odaklaşılan ana noktadır. CH<sub>2</sub> asimetric gerilme absorbansının dalga numarasının deri yüzeyinden derine inildikçe daha düşük değerlere kaydığı saptanmıştır (Brancaleon ve ark. 2001; Touitou ve ark. 1998).

Çalışmamızda, simetrik ve asimetric gerilme absorbanslarının uygulama öncesi ve sonrasındaki konumlarına bakıldığında, özellikle F-HP jel formülasyonu uygulamasının bu piklerin dalga numaralarının kontrole oranla daha yüksek değerlerde saptanmasına yol açtığı görülmüştür (Şekil 4-45 ve 4-46). Deri lipitlerinin düzen ve

miktarının bir göstergesi olan bu absorbansların daha yüksek dalga numarasında saptanmasının nedeni, derinin su içeriğindeki artışa bağlı olarak hücrelerarası lipid bölgede alkil zincirleri arasındaki etkileşimin farklılaşması olabilir.

Amid 1 ( $1645 \text{ cm}^{-1}$ ) ve Amid 2 ( $1545 \text{ cm}^{-1}$ ) absorbansları, amit bağlarındaki C=O gerilme ve N-H eğilme absorbansları ile ilgili bilgi verirler ve hidrojen bağlanmasının derecesinden etkilenirler (Güngör ve ark 2011).

Amid 1 bandının yüksekliğinin artması, derinin su içeriğindeki artışın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Prasch ve Förster 2002). Uygulamalar sonrasında alınan spektrumların tamamında bu bant, kontrol spektrumuna göre çok daha yüksek saptanmıştır. Amid 1 bandı yüksekliğinin Amid 2 bandı yüksekliğine oranı olarak ifade edilen değer de aynı şekilde deri hidrasyonunun artması ile artmaktadır (Prasch ve ark 2000). Çalışmamızda Amid1/Amid 2 bant yüksekliği oranı en fazla *H. perforatum* ve *A. hippocastanum* ekstresi içeren F-HP ve F-AH kodlu jel formülasyonlarının uygulanması ile 2,98 ve 2,18 olarak elde edilmiştir. Uygulama yapılmayan bölgeye ait değer 1,25 olarak saptanmış, ekstre içeren diğer jel formülasyonlar ve boş jel uygulaması sonucunda ise bu değer 1,32-1,75 arasında kalmıştır.

Ayrıca,  $3300 \text{ cm}^{-1}$  de yer alan OH gerilme absorbansının yüksekliği ve genişliği derideki su konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır (Naik ve Guy 1997). Çalışmamızda F-HP, F-AH, F-MC, F-COS, F-COE, F-COH, F-COM ve F-KM kodlu jel formülasyonlarının uygulanmasının bu bandın absorbansını kuvvetlendirdiği saptanmıştır.

Genel olarak bakıldığında, özellikle kontrol değerleri ve ekstre içermeyen boş jel uygulamasının ardından elde edilen değerler ile kıyaslandığında, derinin hidrasyon seviyesi ve bariyer özellikleri üzerinde en olumlu etkiyi yaratan formülasyonun, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi de en iyi olan *H. perforatum* ekstresini içeren F-HP kodlu formülasyon olduğu görülmektedir.

Gelecekte, denek sayısı arttırılarak tekrarlanacak analizler ile elde edilen etkinin desteklenmesinin yanısıra, tüm ekstreleri birarada içeren daha etkin kombine jel formülasyonlarının da geliştirilmesi düşünülmektedir.

Çalışmamızın yara iyileştirici yeni formülasyonlar geliştirilmesinde öncü olacağı ve yol göstereceği ümit edilmektedir.

## KAYNAKLAR

Abajova, R.L., Aslanov, S.M., Mamedova, M.E. (1994). Amino acids of *Calendula officinalis*. *Chemistry of Natural Compounds*, **30**, 641-641.

Abascal, K. ve Yarnell, E. (2005). Botanical treatments for hemorrhoids. *Alternative and Complementary Therapies*, **11**, 285-289.

Aertgeerts, P., Albring, M., Klaschka, F., Nasemann, T., Patzelt-Wenczler, R., Rauhut, K. Weigl, B. (1985). Comparative testing of Kamillosan cream and steroidal (0.25% hydrocortisone, 0.75% fluocortin butyl ester) and non-steroidal (5% bufexamac) dermatologic agents in maintenance therapy of eczematous diseases. *Zeitschrift für Hautkrankheiten*, **60**, 270-277.

Aggag, M.E ve Yousef, R.T. (1972). Study of antimicrobial activity of Chamomile oil. *Planta Medica*, **22**, 140-144.

Ağabeyoğlu, İ. (2002). *Transdermal Sistemler. Kontrollü Salım Sistemleri*. (Ed. Gürsoy A.Z.). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1.

Akhbari, M. ve Batooli, H. (2009). Composition of *Hypericum perforatum* L. volatile oil from kashan oil composition of *Hypericum perforatum* L. American-Eurasian. *Journal of Sustainable Agriculture*, **3**, 107-110.

Albert, D., Zundorf, I., Dingermann, T., Müller, W.E., Steinhilber, D., Werz, O. (2002). Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*, **64**, 1767-1775.

Alexenizer, M. ve Dorn, A. (2007). Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulating activity. *Journal of Pest Science*, **80**, 205-215.

Al-Hindawi, M.K., Al-Deen, I.H., Nabi, M.H., İsmail, M.A. (1989). Anti-inflammatory activity of some Iraqi plants using intact rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **26**, 163-168.

Al-İsmail, K. ve Aburjai, T. (2003). A study of the effect of water and alcohol extracts of some plants as antioxidants and antimicrobial on long-term storage of anhydrous butter fat. *Dirasat, Agricultural Sciences*, **30**, 330-337.

Al-Jubouri, H.H.F., Al-Jalil, B.H., Farid, I., Jasim, F., Wehbi, S. (1990). The effect of chamomile on hyperlipidemias in rats. *Journal of the Faculty of Medicine Baghdad*, **32**, 5-11.

Andersen, D.O., Weber, N.D., Wood, S.G., Hughes, B.G., Murray, B.K. North, J.A. (1991) *In vitro* virucidal activity of selected anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Antiviral Research*, **16**, 185-196.

Anderson, C., Lis-Balchin, M., Kirk-Smith, M. (2000). Evaluation of massage with essential oils on childhood atopic eczema. *Phytotherapy Research*, **14**, 452-456.

Ansari, M.A., Jadon, N.S., Singh, S.P., Kumar, A., Singh, H. (1997). Effect of *Calendula officinalis* ointment, charmil and gelatin granules on wound healing in buffaloes – A histological study. *Indian Veterinary Journal*, **74**, 594-597.

Avato, P., Raffo, F., Guglielmi, G., Vitali, C., Rosato, A. (2004). Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*, **18**, 230-232.

Avcı, G., Küçük Kurt, İ., Akkol, E.K., Yeşilada, E. (2010) Effects of aescin mixture from the seeds of *Aesculus hippocastanum* on obesity in mice fed a high fat diet. *Pharmaceutical Biology*, **48**, 247-252.

Ayoughi, F., Barzegar, M., Sahari, M.A., Naghdibadi, H. (2011). Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effects. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **13**, 79-88.

Badami, R.C. ve Morris, L.J. (1965). The oxygenated fatty acid of calendula seed oil. *The Journal of the American Oil Chemist's Society*, **42**, 1119-1121.

Bagchi, D., Bagchi, M, Stohs, S.J., Das, D.K., Ray, S.D., Kuszynski, C.A. ve ark (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, **148**, 187-197.

Bako, E., Deli, J., Toth, G. (2002). HPLC study on the carotenoid composition of *Calendula* products. *Journal of Biochemical Biophysical Methods*, **53**, 241-250.

Baraldi, C., Bodecchi, L.M., Cocchi, M., Durante, C., Ferrari, G., Foca, G. ve ark. (2007). Chemical composition and characterisation of seeds from two varieties (pure and hybrid) of *Aesculus hippocastanum*. *Food Chemistry*, **104**, 229-236.

Barbagallo, C. ve Chisari, G. (1987). Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia*, **58**, 175-177.

Barnes, J., Anderson, L.A., Philipson, J.D. (2007). *Herbal Medicines*. (3rd ed.). Chicago: Pharmaceutical Press.

Bashir, S., Janbaz, K.H., Jabeen, Q, Gilani,A.H. (2006). Studies on spasmogenic and spasmolytic activities of *Calendula officinalis* flowers. *Phytotherapy Research*, **20**, 906-910.

Baureithel, K.H., Buter, K.B., Engesser, A., Burkard, W., Schaffner, W. (1997). Inhibition of benzodiazepine binding *in vitro* by amentoflavone, a constituent of various species of *Hypericum*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **72**, 153-157.

Bayraktar, A.G. (1978). *Kozmetik Preparatlar*. İstanbul: Nurettin Uycan Matbaası A.Ş.

Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. (2. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.

Benedi, J., Arroyo, R., Romero, C., Martin-Aragon, S., Villar, A.M. (2004). Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life Sciences*, **75**, 1263-1276.

Berghöefer, R. ve Höelzl, J. (1987). Biflavonoids in *Hypericum perforatum*: Part 1. Isolation of I3', II8''-biapigenin. *Planta Medica*, **53**, 216-217.

Berghöefer, R. ve Höelzl, J. (1989). Isolation of I3', II8''-biapigenin (amentoflavone) from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, **55**, 91.

Berndt, U., Wigger-Alberti, W., Gabard, B., Elsner, P. (2000). Efficacy of a barrier cream and its vehicle as protective measures against occupational irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis*, **42**, 77-80.

Bezbradica, D., Milic-Askabic, J., Petrovic, S.D., Siler-Marinkovic, S. (2005). An investigation of influence of solvent on the degradation kinetics of carotenoids in oil extracts of *Calendula officinalis*. *Journal of the Serbian Chemical Society*. **70**, 115-124.

Bilia, A.R., Bergonzi, M.C., Mazzi, G., Vincieri, F.F. (2001). Analysis of plant complex matrices by use of nuclear magnetic resonance spectroscopy: St. John’s Wort extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2115-2124.

Birt, D.F., Walker, B., Tibbels, M.G., Bresnick, E. (1986). Anti-mutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol. *Carcinogenesis*, **7**, 959-963.

Bisler, H., Pfeifer, R., Klüken, N., Pauschinger, P. (1986). Effects of horse-chestnut seed extract on transcapillary filtration in chronic venous insufficiency. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, **111**, 1321-1329.

Bisset, N.G. (E.d) (1994). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. New York: Medpharm Scientific Publishers, CRC Press.

Bodde, H.E., Pechtold. L.A.R.M., Subnel. M.T.A., de Haan. F.H.N. (1992). Monitoring *in vivo* skin hydration by liposomes using infrared spectroscopy in conjunction with tape stripping. *Liposome Dermatics*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.

Bombardelli, E. Morazzoni, P., Cristoni, A., Seghizzi, R. (2001). Pharmaceutical and cosmetic formulations with antimicrobial activity. Patent No.: US 2001/0046525 A1.

Bommannan, D., Potts, R.O., Guy, R.H. (1990). Examination of stratum corneum barrier function *in vivo* by infrared spectroscopy. *Journal of Investigative Dermatology*, **95**, 403-408.

Borchardt, J.R., Wyse, D.L. Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Fulcher, R.G., Ehlke, N.J. ve ark. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*, **2**, 98-110.

Bouwstra, J.A., Honeywell-Nguyen, P.L., Gooris, G.S., Ponec, M. (2003). Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Progress in Lipid Research*, **42**, 1-36.

Braga, P.C., Sasso, M.D., Culici, M., Spallino, A., Falchi, M., Bertelli, A. ve ark. (2009), Antioxidant Activity of *Calendula officinalis* Extract: Inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Pharmacology*, **83**, 348-355.

Brancaleon, L., Bamberg, M.P., Skamaki, T., Kollias, N. (2001). Attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy as a possible method to investigate biophysical parameters of stratum corneum *in vivo*. *Journal of Investigative Dermatology*, **3**, 380-386.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology*, **28**, 25-30.

Brantner, A., Kartnig, T., Quehenberger, F. (1994). Vergleichende phytochemische untersuchungen an *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum maculatum* Crantz. *Scientia Pharmaceutica*, **62**, 261-276.

Brondz, I., Greibrokk, T., Aasen, A.J. (1983). n-Alkanes of *Hypericum perforatum*: a revision. *Phytochemistry*, **22**, 295-296.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. (2nd ed.). Englang: Intercepts Ltd.

Budzinski, J.W., Foster, B.C., Vandenhoeck, S., Arnason, J.T. (2000). An *in vitro* evaluation of human cytochrome P450 3A4 inhibition by selected commercial herbal extracts and tinctures. *Phytomedicine*, **7**, 273-282.

Butterweck, V., Jurgenliemk, G., Nahrstedt, A., Winterhoff, H. (2000). Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Medica*, **66**, 3-6.

Buttke, T.M. ve Sandstrom, P.A. (1994). Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunology Today*, **15**, 7-10.

Bystrov, N.S., Chernov, B.K., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N. (1975). The structure of hyperforin. *Tetrahedron Letters*, **32**, 2791-2794.

Cecchini, C., Cresci, A., Coman, M.M., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Vittori, S. ve ark. (2007). Antimicrobial activity of seven *Hypericum* entities from Central Italy. *Planta Medica*, **73**, 564-566.

Cellarova, E., Daxnerova, Z., Kimakova, K., Haluskova, J. (1994). The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica*, **14**, 267-274.

Cemek, M., Kağa, S., Şimşek, N., Büyükokuroğlu, M.E., Konuk, M. (2008). Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Natural Medicines*, **62**, 284-293.

Cemek, M., Yilmaz E., Büyükokuroğlu, M.E. (2010). Protective effect of *Matricaria chamomilla* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *Pharmaceutical Biology*, **48**, 757-763.

Cetkovic, G.S., Djilas, S.M., Canadanovic-Brunet, J.M., Tumbas, V.T. (2003). Thin-layer chromatography analysis and scavenging activity of marigold (*Calendula officinalis* L.) extracts. *Biblid*, **34**, 93-102.

Cetkovic, G.S., Djilas, S.M., Canadanovic-Brunet, J.M., Tumbas, V.T. (2004). Antioxidant properties of marigold extracts. *Food Research International*, **37**, 643-650.

Chandran, P.K. ve Kuttan, R. (2008). Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma



formation during thermal burns. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, **43**, 58-64.

Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A., Muller, W.E. (1998). Hyperforin as a possible antidepressant component of *Hypericum* extracts. *Life Sciences*, **63**, 499-510.

Chatterjee, S.S., Biber, A., Weibezahn, C. (2001). Stimulation of glutamate, aspartate and gammaaminobutyric acid release from synaptosomes by hyperforin. *Pharmacopsychiatry*, **34** (Suppl. 1), 11-19.

Chen, C.L., Huang, C.H., Sung, J.M. (2009). Antioxidants in aerial parts of *Hypericum sampsonii*, *Hypericum japonicum* and *Hypericum perforatum*. *International Journal of Food Science & Technology*, **44**, 2249-2255.

Chen, H.C., Mendelsohn, R., Rerek, M.E., Moore, D.J. (2000). Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry studies of fatty acid homogeneous ceramide 2. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1468**, 293-303.

Choi, S.J., Song, M.G., Sung, W.T., Lee, D.J., Lee, J.H., Lee, E.S., Yang, J.M. (2003). Comparison of transepidermal water loss, capacitance and pH values in the skin between intrinsic and extrinsic atopic dermatitis patients. *Journal of Korean Medical Science*, **18**, 93-96.

Cinco, M., Banfi, E., Tubaro, A., Della Loggia, R. (1983). A microbiological survey on the activity of a hydroalcoholic extract of Camomile. *Pharmaceutical Biology*, **21**, 145-151.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2000a). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard M7-A5. Wayne, PA.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2000. (2000b). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard M27-A NCCLS, Wayne, Pennsylvania.

Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Bianchi, A., Agrimonti, C., Sacchetti, G. et al. (2005). Comparative chemical composition and variability of biological activity of methanolic extracts from *Hypericum perforatum* L. *Natural Product Research*, **19**, 295-303.

Cordova, C.A., Siqueira, I.R., Netto, C.A., Yunes, R.A., Volpato, A.M., Cechinel, F.V. et al. (2002). Protective properties of butanolic extract of the

*Calendula officinalis* L. (marigold) against lipid peroxidation of rat liver microsomes and action as free radical scavenger. *Redox Report*, **7**, 95-102.

Curdy, C., Naik, A., Kalia, Y.N., Alberti, I., Guy, R.H. (2004). Non-invasive assessment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function *in vivo*. *International Journal of Pharmaceutics*, **271**, 251-256.

Cwikla, C., Schmidt, K., Matthias, A., Bone, K.M., Lehmann, R., Tiralongo, E. (2010). Investigations into the Antibacterial Activities of Phytotherapeutics against *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni*. *Phytotherapy Research*, **24**, 649-656.

Çaycı, MK (2006), *Hypericum perforatum* ve *Tarantula cubensis* Özülerinin Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Mide Mukozası Hasarına Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi. Kütahya: Dumlupınar Üniversitesi.

Çırak, C., Kevseroğlu K., Ayan A.K. (2007). Breaking of seed dormancy in a Turkish endemic *Hypericum* species: *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum* by light and some pre-soaking treatments. *Journal of Arid Environments*, **68**, 159-164.

Çırak, C., Radusiene, J., Çamas, N. (2008). Pseudohypericin and hyperforin in two Turkish *Hypericum* species: Variation among plant parts and phenological stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, **36**, 377-382.

Çubukçu, B., Sarıyar, G., Meriçli, A.H., Sütlümar, N., Mat, A., Meriçli, F. (2002). *Fitoterapi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi Yayınları.

Dadgar, T., Asmar, M., Saifi, A., Mazandarani, M., Bayat, H., Moradi, A. ve ark. (2006). Antibacterial activity of certain medicinal plants against methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*. *Asian Journal of Plant Sciences*, **5**, 861-866.

Danielski, L., Campos, L.M.A.S., Bresciani, L.F.V., Hense, H., Yunes, R.A., Ferreira, S.R.S. Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO<sub>2</sub> and composition profile. *Chemical Engineering and Processing*, **46**, 99-106.

Davis, P.H. (1967). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol 2, Edinburgh: Edinburgh University Press.

Davis, P.H. (1975). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol 5, Edinburgh: Edinburgh University Press.

Davis, P.H, Mill, R.R., Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol 10. Edinburgh: Edinburgh University Press.

De Bruyne, T., Pieters, L., Witvrouw, M., De Clercq, E., Vanden Berghe, D., Vlietinck, A.J. (1999). Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *Journal of Natural Products*, **62**, 954-958.

Deli, J., Molnar, P., Matus, Z., Toth, G., Steck, A. Niggli, U.A., Pfander H. (1998). Aesculaxanthin, a new carotenoid isolated from pollens of *Aesculus hippocastanum*. *Helvetica Chimica Acta*, **81**, 1815-1820.

Della Loggia, R., Carle, R., Sosa, S., Tubaro, A. (1990). Evaluation of the anti-inflammatory activity of chamomile (*Chamomilla recutita*) preparations. *Planta Medica*, **56**, 657-658.

Demirezer, Ö. (Ed.), Ersöz, T., Saraçoğlu, İ., Şener, B. (2007). *Tedavide Kullanılan Bitkiler*. (1. Baskı). Ankara: MN Medikal ve Nobel Ltd.

Denda, M. (2000). Skin Barrier Function as a self organizing system. *Forma*, **15**, 227-232.

Denda, M., Koyama, J., Namba, R., Horii, I. (1994). Stratum corneum lipid morphology and transepidermal water loss in normal skin and surfactant induced scaly skin. *Archives of Dermatological Research*, **286**, 41-46.

Derkach, A.I., Komissarenko, N.F., Chernobai, V.T. (1986). Coumarines of the inflorescences of *Calendula officinalis* and *Helichrysum arenarium*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, **6**, 777.

Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., Izzo, A.A. (2001). St. John's Wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences*, **22**, 292-297.

Dickson, S., Gallagher, J., McIntyre, L., Suter, A., Tan. J. (2004). An open study to assess the safety and efficacy of *Aesculus hippocastanum* tablets (Aesculaforce 50mg) in the treatment of chronic venous insufficiency. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, **4**, 19-32.

Diehm, C., Trampisch, H.J., Lange, S., Schmidt, C. (1996). Comparison of leg compression stocking and oral horse-chestnut seed extract therapy in patients with chronic venous insufficiency. *Lancet*, **347**, 292-294.

Diehm, C., Vollbrecht, D., Amendt K., Comberg, H.U. (1992). Medical edema protection-clinical benefit in patients with chronic deep vein incompetence. A placebo controlled double blind study. *Vasa*, **21**, 188-192.

Dragland, S. Senoo, H., Wake, K., Holte, K., Blomhoff, R. (2003). Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *The Journal of Nutrition*, **133**, 1286-1290.

Duke, J.A. (1985). *Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton, FL: CRC Press, 242-243.

Duran, V., Matic, M., Jovanovic, M., Mimica, N., Gajinovic, Z., Poljacki, M., Boza, P. (2005). Results of the clinical examination of an ointment with marigold (*Calendula officinalis*) extract in the treatment of venous leg ulcers. *International Journal of Tissue Reactions*, **27**, 101-106.

Dweck, A.C. (1995). Natural solutions to cellulite. Soap perfumery and cosmetics. Erişim site adı: [http://www.dweckdata.com/Published\\_papers/Cellulitis.pdf](http://www.dweckdata.com/Published_papers/Cellulitis.pdf)

El-Agbar, Z.A., Shakya, A.K., Khalaf, N., Al-Haroon, M. (2008). Comparative antioxidant activity of some edible plants. *Turkish Journal of Biology*, **32**, 193-196.

El-Sherbiny, D.A., Khalifa, A.E., Attia, A.S., Eldenshary, E.E.S. (2003). *Hypericum perforatum* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **76**, 525-533.

*ESCOP Monographs, The Scientific Foundation for Herbal Medicines Products*. (2003). (2nd ed.). New York: Thieme.

Esmaili, R., Khalilian, A.R., Nasiri, E., Dehghani, H.J., Alipour, S. (2008). Study regarding the effect of *Calendula officinalis* cream in healing of pressure sores. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, **18**, 19-25.

European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use, Assessment Report on *Aesculus Hippocastanum* L., Semen. Doc. Ref: EMEA/HMPC/225304/2008. London, 2009.

European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use, *Calendula officinalis* L., flos Based on Article 16D(1) and Article 16F and 16H of Directive 2001/83/EC as Amended (Traditional Use). Doc. Ref: EMEA/HMPC/179282/2007. London, 2008.

Evans, W. C. (2002). *Pharmacognosy*. (15th ed.). London: Harcourt Publishers Ltd.

Fiebich, B., Heinrich, M., Langosch, J.M., Kammerer, N., Lieb, K. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St. John's Wort. *Lancet*, **354**, 777.

Fleisonner, A.M. (1985). Plant extracts: To accelerate healing and reduce inflammation. *Cosmetics & Toiletries*, **45**, 100-113.

Foldvari, M. (2000). Non invasive administration of drugs through the skin: challenges in delivery system design. *Plasma Sources Science and Technology*, **12**, 417-425.

Fonseca, Y.M., Catini, C.D., Vicentini, F.T., Cardoso, J.C., Cavalcanti A.R.L., Vieira F.M.J. (2011). Efficacy of Marigold extract-loaded formulations against UV-induced oxidative stress. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **100**, 2182-2193.

Fonseca, Y.M., Catini, C.D., Vicentini, F.T.M., Nomizo, A., Gerlach, R.F., Fonseca, M.J.V. (2010). Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *Journal of Ethnopharmacology*, **127**, 596-601.

Frankic, T., Salobir, K., Salobir, J. (2009). The comparison of *in vivo* antigenotoxic and antioxidative capacity of two propylene glycol extracts of *Calendula officinalis* (marigold) and vitamin E in young growing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **93**, 688-694.

Frick RW. (2000). Three treatments for chronic venous insufficiency: escin, hydroxyethylrutoside and daflon. *Angiology*, **51**, 197-205.

Fronza, M., Heinzmann, B., Hamburger, M., Laufer, S., Merfort, I. (2009). Determination of the wound healing effect of *Calendula* extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, **126**, 463-467.

Fuchs, S.M., Schliemann-Willers, S., Fischer, T.W., Elsner, P. (2005). Protective effects of different marigold (*Calendula officinalis* L.) and rosemary cream preparations against sodium-lauryl-sulfate-induced irritant contact dermatitis. *Skin Pharmacology and Physiology*, **18**, 195-200.

Fujimura, T., Tsukahara, K., Moriwaki, S., Hotta, M., Kitahara, T., Takema, Y. (2006). A horse chestnut extract, which induces contraction forces in fibroblasts, is a potent anti-aging ingredient. *Journal of Cosmetic Science*, **57**, 369-376.

Fujimura, T., Moriwaki, S., Hotta, M., Kitahara, T., Takema, Y. (2006). Horse chestnut extract induces contraction force generation in fibroblasts through activation of Rho/Rho kinase. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29**, 1075-1081.

Gaind, K.N. ve Ganjoo, T.N. (1959). Antibacterial principle of *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Pharmacy*, **21**, 172-175.

Gardiner, P. (1999). Chamomile, The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research, 1-21. Erişim site adı: <http://www.longwoodherbal.org/chamomile/chamomile.pdf>

Gay, C.L., Guy, R.H., Golden, G.M., Mak, V.H.W., Francoeur, M.L. (1994). Characterization of low temperature lipid transitions in human stratum corneum. *Journal of Investigative Dermatology*, **103**, 233-239.

Gazim, Z.C., Rezende, C.M., Fraga, S.R., Svidzinski, T.E., Cortez, D.G. (2008). Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) growing in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, **39**, 61-63.

Germ, M., Stibilj, V., Kreft, S., Gaberscik, A., Kreft, I. (2010). Flavonoid, tannin and hypericin concentrations in the leaves of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) are affected by UV-B radiation levels. *Food Chemistry*, **122**, 471-474.

Gerritsen, M.E., Carley, W.W., Ranges, G.E, Shen, C.P., Phan, S.A., Ligon, G.F. (1995). Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *The American Journal of Pathology*, **147**, 278-292.

Getie, M., Gebre, M.T., Reitz, R., Neubert, R.H. (2002). Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (Sapindaceae). *Pharmazie*, **57**, 320-322.

Gioti, E.M., Fiagemos, Y.C., Skalkos, D.C., Stalikas, C.D. (2009). Antioxidant activity and bioactive components of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. from Epirus, Greece. *Food Chemistry*, **117**, 398-404.

Gobbi, M., Moia, M., Pirona, L. Morizzoni, P., Mennini, T. (2001). *In vitro* binding studies with two *Hypericum perforatum* extracts-hyperforin, hypericin and biapigenin-on 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>, GABA(A)/benzodiazepine, sigma, NPY-Y1/Y2 receptors and dopamine transporters, *Pharmacopsychiatry*, **34**, 45-48.

Goni, F.M. ve Alonso, A. (2000). Spectroscopic techniques in the study of membrane solubilization, reconstitution and permeabilization by detergents. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1508**, 51-68.

Goodwin, T.W. (1954). Studies in carotenogenesis: the carotenoids of the flower petals of *Calendula officinalis*. *Biochemical Journal*, **58**, 90-94.

Gopinathan, A., Pawde, A.M., Singh, G.R., Singh, K., Kinjavdekar, A.P. (2006). Effect of *Calendula officinalis* in burn wounds of bovine calves and heifers. *Indian Journal of Animal Sciences*, **76**, 437-441.

Goyal, M., Mathur, R. (2011). Antimicrobial effects of *Calendula officinalis* against human pathogenic microorganisms. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, **5**, 97-101.

Graf, J. (2000) Herbal Anti-inflammatory Agents for Skin Disease. *Skin Therapy Letter*, **5**, 3-5.

Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C. (2007). *PDR for Herbal Medicines*. (4th ed.). Montvale, USA: Thomson Healthcare Inc.

Gudzic, B., Nedeljkovic, J.M., Dordevic, S., Comor, J.J. (1997). Composition and anti-microbial activity of essential oil of Hyperici Herb (*Hypericum perforatum* L.) from Vlasina region. *Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry ve Technology*, **1**, 47-51.

Guillaume, M., Padioleau, F. (1994). Veinotonic effect, vascular protection, antiinflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract. *Arzneimittelforschung*, **44**, 25-35.

Gupta, S., Afaq, F., Mukhtar, H. (2002). Involvement of nuclear factor-kappa B, Bax and Bcl-2 in induction of cell cycle arrest and apoptosis by apigenin in human prostate carcinoma cells. *Oncogene*, **21**, 3727-3738.

Gurevich, A.I., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N., Popravko, S.A., Ryabova, I.D, Chernov, B.K. ve ark. (1971). Hyperforin, an antibiotic from *Hypericum perforatum* L. *Antibiotiki*, **16**, 510-513.

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Island*. Vol 11. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Güngör, S., Erdal, M.S., Özdin, D. (2011). Derinin yapısının aydınlatılması ve geçirgenliğinin değerlendirilmesinde kullanılan biyofiziksel yöntemler. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, **21**, 25-39.

Hansen, S.H., Jensen, A.G., Cornett, C., Bjornsdottir, I., Wright, B., Wilson, I.D. (1999). High-performance liquid chromatography on-line coupled to high-field NMR and mass-spectrometry for structure elucidation of constituents of *Hypericum perforatum* L. *Analytical Chemistry*, **71**, 5235-5241.

Harrison, J.E., Groundwater, P.W., Brain, K.R., Hadgraft, J. (1996). Azone induced fluidity in human stratum corneum. A fourier transform infrared spectroscopy investigation using the perdeuterated analogue. *Journal of Controlled Release*, **41**, 283-290.

Herold, A., Cremer, L., Calugaru, A., Tamas, V., Lonescu, F., Manea, S., Szegli, G. (2003). Antioxidant properties of some hydroalcoholic plant extracts with antiinflammatory activity, *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*, **62**, 217-227.

Herrera, R.M., Perez, M., Marfin-Herrera, D.A., Lopez-Garcia, R., Rabanal, R.M. Arias, A. (1996). Antimicrobial activity of extracts from plants endemic to the Canary Islands. *Phytotherapy Research*, **10**, 364-366.

Hobbs, C. (1989). St. John's wort. *HerbalGram*, **18/19**, 24-33.

Hu, X.M., Zhang, Y., Zeng, F.D. (2004). Effects of sodium beta-aescin on expression of adhesion molecules and migration of neutrophils after middle cerebral artery occlusion in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, **25**, 869-875.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**, 1841-1856.

Huang, Y.T., Kuo, M.L., Liu, J.Y., Huang, S.Y., Lin, J.K. (1996). Inhibitions of protein kinase C and proto-oncogene expressions in NIH 3T3 cells by apigenin. *European Journal of Cancer*, **32A**, 146-151.

Hubner, A.T. (2003). Treatment with *Hypericum perforatum* L. does not trigger decreased resistance in *Staphylococcus aureus* against antibiotics and Hyperforin. *Phytomedicine*, **10**, 206-208.

Jadoul, A., Bouwstra, J.A., Preat, V. (1999). Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum, review of the biophysical studies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **35**, 89-105.

Jadoul, A., Doucet, J., Durand, D., Preat V. (1996). Modifications induced on stratum corneum structure after *in vitro* iontophoresis: ATR-FTIR and x-ray scattering studies. *Journal of Controlled Release*, **42**, 165-173.

Janiszowska, W., Michalski, W., Kasprzyk, Z. (1976). Polyprenyl quinones and  $\alpha$ -tocopherol in *Calendula officinalis*. *Phytochemistry*, **15**, 125-127.

Jarrahi, M. (2008). An experimental study of the effects of *Matricaria chamomilla* extract on cutaneous burn wound healing in albino rats. *Natural Product Research*, **22**, 422-427.

Jarrahi, M., Vafaei, A.A., Taherian, A.A., Miladi, H., Pour, A.R. (2010). Evaluation of topical *Matricaria chamomilla* extract activity on linear incisional wound healing in albino rats. *Natural Product Research*, **24**, 697-702.



Jemec, G.B.E. ve Na, R. (2002). Hydration and plasticity following long term use of a moisturizer: a single blind study. *Acta Dermato-Venereologica*, **82**, 322-324.

Jimenez-Medina, E., Garcia-Lora, A., Paco, L., Algarra, I., Collado, A., Garrido, F. (2006). A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual *in vitro* effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. *BMC Cancer*, **6**, 119-132.

Kalia, Y.N., Alberti, I., Sekkat, N., Curdy, C., Naik, A., Guy, R.H. (2000) Normalization of stratum corneum barrier function and transepidermal water loss *in vivo*. *Pharmaceutical Research*, **17**, 1148-1150.

Kalogeropoulos, N., Yannakopoulou, K., Gioxari, A., Chiou, A., Makris, D.P. (2010). Polyphenol characterization and encapsulation in  $\beta$ -cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St. John's wort) extract. *Food Science and Technology*, **43**, 882-889.

Kalvatchev, Z., Walder, R., Garzaro, D. (1997). Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **51**, 176-180.

Kamatou, G.P.P ve Viljoen, A.M. (2010). A review of the application and pharmacological properties of  $\alpha$ -bisabolol and  $\alpha$ -bisabolol-rich oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **87**, 1-7.

Kanda, Y., Richards, R.G., Handwerger, S. (1998). Apolipoprotein A-I stimulates human placental lactogen release by activation of MAP kinase. *Molecular and cellular endocrinology*, **143**,125-131.

Karbalay-Doust, S. ve Noorafshan, A. (2009). Antiulcerogenic effects of *Matricaria chamomilla* extract in experimental gastric ulcer in mice. *Iranian Journal of Medical Sciences*, **34**, 198-203.

Kaurinovic, B., Popovic, M. Cebovic, T. Mimica-Dukic, N. (2003). Effects of *Calendula officinalis* L. and *Taraxacum officinale* Weber (Asteraceae) extracts on the production of OH radicals. *Fresenius Environmental Bulletin*, **12**, 250-253.

Khalid, K.A. ve Teixeira da Silva, J.A. (2010). Yield, essential oil and pigment content of *Calendula officinalis* L. flower heads cultivated under salt stress conditions. *Scientia Horticulturae*, **126**, 297-305.

Khosa, R.L. ve Bhatia, N. (1982). Antifungal effect of *Hypericum perforatum* Linn. *Journal of Scientific Research in Plant Medicine*, **3**, 49-50.

Kim, H.K., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S., Kim, H.P (1998). Amentoflavone, a plant biflavone: a new potential anti-inflammatory agent. *Archives of Pharmacal Research*, **21**, 406-410.

Kishimoto, S., Makoa, T., Sumitomo, K., Ohmiya, A. (2005). Analysis of Carotenoid Composition in Petals of Calendula (*Calendula officinalis* L.). *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **69**, 2122-2128.

Kobayashi, Y., Nakano, Y. Inayama, K., Sakai, A., Kamiya, T. (2003). Dietary intake of the flower extracts of German chamomile (*Matricaria recutita* L.) inhibited compound 48/80-induced itch-scratch responses in mice. *Phytomedicine*, **10**, 657-664.

Kobayashi, Y. Takahashi, R., Ogino, F. (2005). Antipruritic effect of the single oral administration of German chamomile flower extract and its combined effect with antiallergic agents in ddY mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**, 308-312.

Komoe, H. ve Hayashi, N. (1971). Paraffins of the petals of *Calendula officinalis*. *Phytochemistry*, **10**, 1944-1944.

Kuo, M.L., Lee, K.C., Lin, J.K. (1992). Genotoxicities of nitropyrenes and their modulation by apigenin, tannic acid, ellagic acid and indole-3-carbinol in the *Salmonella* and CHO systems. *Mutation Research*, **270**, 87-95.

Kuo, M.L., Lin, J.K., Huang, T.S., Yang, N.C. (1994) Reversion of the transformed phenotypes of v-H-ras NIH3T3 cells by flavonoids through attenuating the content of phosphotyrosine. *Cancer Letters*, **87**, 91-97.

Kuo, M.L. ve Yang, N.C. (1995). Reversion of V-H-Ras-transformed NIH 3T3 cells by apigenin through inhibiting mitogen-activated protein-kinase and its downstream oncogenes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **212**, 767-775.

Kurkin, V.A. ve Pravdivtseva, O.E. (2007). Flavonoids from the aerial parts of *Hypericum perforatum*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43**, 620-621.

Kurkin, V.A. ve Sharova, O.V. (2007). Flavonoids from *Calendula officinalis* Flowers. *Chemistry of Natural Compounds*, **43**, 216-217.

Kurth, H. ve Spreemann, R. (1998). Phytochemical characterization of various St. John's Wort extracts. *Advances in Therapy*, **15**, 117-128.

Küçüker, O. (2004). *Renkli Türkiye Bitkileri Atlası, Prof. Dr. Nebahat Yakar*. (2. Baskı). İstanbul: Büke Kitapları.

Küçükkurt, İ., İnce, S., Keleş, H., Akkol, E.K., Avcı, G., Yeşilada E., Bacak, E. (2010). Beneficial effects of *Aesculus hippocastanum* L. seed extract on the body's own antioxidant defense system on subacute administration. *Journal of Ethnopharmacology*, **129**, 18-22.

Lambers, H. ve Pronk, H. (2002). *Biophysical methods for stratum corneum characterization. Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*. NY: Marcel Dekker Inc.

Laugel, C., Rafidison, P., Potard, G., Aguadisch, L., Baillet, A. (2000). Modulated release of triterpenic compounds from a O/W/O multiple emulsion formulated with dimethicones: infrared spectrophotometric and differential calorimetric approaches. *Journal of Controlled Release*, **63**, 7-17.

Lauk, L., Lo Bue, A.M., Milazzo, I., Rapisarda, A., Blandino, G. (2003). Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria, *Phytotherapy Research*, **17**, 599-604.

Lauten, J.D., Boyd, L., Hanson, M.B., Lillie, D., Gullion, C., Madden, T.E. (2005). A clinical study: Melaleuca, Manuka, Calendula and Green Tea mouth rinse. *Phytotherapy Research*, **19**, 951-957.

Lavagna, S.M., Secci, D., Chimenti, P., Bonsignore, L., Ottaviani, A., Bizzarri, B. (2001). Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *II Farmaco*, **56**, 451-453.

Lavrijsen, A.P.M., Bouwstra. J.A., Gooris, G.S., Weerheim, A., Bodde, H.E., Ponc, M. (1995). Reduced skin barrier function parallels abnormal stratum corneum lipid organization in patients with lamellar ichthyosis. *Journal of Investigative Dermatology*, **4**, 619-624.

Lawson, E.E., Anigbou, A.N.C., Williams, A.C., Barry, B.W., Edwards, H.G.M. (1998). Thermally induced molecular disorder in human stratum corneum lipids compared with a model phospholipid system; FT-Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta*, **54**, 543-558.

Leach, M.J., Pincombe, J., Foster, G. (2006). Clinical efficacy of horsechestnut seed extract in the treatment of venous ulceration. *Journal of Wound Care*, **15**, 159-167.

Lee, S.C., Kuan, C.Y., Yang, C.C., Yang, S.D. (1998). Bioflavonoids commonly and potently induce tyrosine desphosphorylation/inactivation of oncogenic proline-

directed protein kinase FA in human prostate carcinoma cells. *Anticancer Research*, **18**, 1117-1121.

Leveque, J.L., Hallegot, P., Doucet, J., Pierard, G. (2002). Structure and function of human stratum corneum under deformation. *Dermatology*, **205**, 353-357.

Li, L.G. (2003). Transdermal Iontophoretic Delivery of R-apomorphine for the Treatment of Patients with Parkinson's disease. Proefschrift in Leiden/Amsterdam Center for Drug Research, Leiden University, Leiden, The Netherlands.

Lin, L.T., Liu, L.T., Chiang, L.C., Lin, C.C. (2002). *In vitro* anti-hepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. *Phytotherapy Research*, **16**, 440-444.

Lis-Balchin, M., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, **13**, 98-104.

Loden, M. (2001). Skin barrier function: Effects of moisturizers. *Cosmetics and Toiletries*, **116**, 31-40.

Loden, M. (2003). The skin barrier and use of moisturizers in atopic dermatitis. *Clinics in Dermatology*, **21**, 145-157.

Loden, M., Andersson, A.C., Lindberg, M. (1999). Improvement in skin barrier function in patients with atopic dermatitis after treatment with a moisturizing cream (Canoderm). *British Journal of Dermatology*, **140**, 264-267.

Loden, M., Barany, E. (2000). Skin-identical lipids versus petrolatum in the treatment of tape stripped and detergent-perturbed human skin. *Acta Dermato-Venereologica*, **80**, 412-415.

Logia, R.D., Tubaro, A., Sosa, S., Becker, H., Saar, S., Isaac, O. (1994). The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula* flowers. *Planta Medica*, **60**, 516-520.

Lu, T., Cantrell, C.L., Robbs, S.L., Franzblau, S.G., Fischer, N.H. (1998). Antimycobacterial *Matricaria* esters and lactones from Asteraceae species. *Planta Medica*, **64**, 665-667.

Marhuenda, E., Alarcón, L.C., Martín, M.J. (1994). Antisecretory and gastroprotective effects of aescin in rats. *General Pharmacology*, **25**, 1213-1219.

Marino, C. (2001). Skin Physiology, Irritants, Dry Skin and Moisturizers. Washington State Department of Labor and Industries Safety and Health Assessment and Research for Prevention Program, Report Number: 56-2-2001, 1-13.

Markovich, R.J. ve Pidgeon, C. (1991). Introduction to Fourier transform infrared spectroscopy and applications in the pharmaceutical sciences. *Pharmaceutical Research*, **8**, 663-675.

Masaki, H., Sakaki, S., Atsumi, T., Sakurai, H. (1995). Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **18**, 162-166.

Maskovic, P. ve Solujic, S. (2009). A preliminary study on the antifungal activity of the ethanol extract of *Hypericum perforatum* L. The book of abstracts. In: Eleventh annual conference "YUCOMAT 2009", Herceg-Novi, August 31-September 4, p,192.

Matysik, G., Glowniak, K., Soczewinski, E., Garbacka, M. (1994). Chromatography of esculin from stems and bark of *Aesculus hippocastanum* L. for consecutive vegetative periods. *Chromatographia*, **38**, 766-770.

Mazandarani, M., Yassaghi, S., Rezaei, M.B., Mansourian, A.R., Ghaemi, E.O. (2007). Ethnobotany and antibacterial activities of two endemic species of *Hypericum* in North-East of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, **6**, 354-358.

Mazzio, E.A. ve Soliman, K.F. (2004). Topical treatment for dyshidrosis (pompholyx) and dry skin disorders. Pub. No.: US 2004/0185123 A1.

McCue, P.P. ve Phang, J.M. (2008). Identification of Human Intracellular Targets of the Medicinal Herb St. John's Wort by Chemical-Genetic Profiling in Yeast. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **56**, 11011-11017.

McGrath, J.A., Eady, R.A.J., Poepe, F.M. (2004). Anatomy and Organization of Human Skin. Rook's Textbook of Dermatology.(7<sup>th</sup> Ed.).USA: Blackwell Publishing.

McKay, D.L. ve Blumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, **20**, 519-530.

McKenna, D.J., Jones, K., Hughes, K. (2002). *Botanical Medicines The Desk Reference for Major Herbal Supplements*. (2nd ed.). New York: The Haworth Herbal Press.

Medina, M.A., Martinez-Poveda, B., Amores-Sanchez, M.I., Quesada, A.R. (2006). Hyperforin: More than an antidepressant bioactive compound? *Life Sciences*, **79**, 105-111.

Meenatchisundaran, S., Parameswari, G., Subbraj, T., Suganya, T., Michael, A. (2009). Note on pharmacological activities of *Calendula officinalis* L. *Ethnobotanical Leaflets*, **13**, 51-54.

Melzer, M., Fuhrken, D., Kolkman, R. (1998). Hyperforin im Johanniskraut. *Deutsche Apotheker-Zeitung*, **138**, 56-62.

Melzer, R., Fricke, U., Hölzel, J., Podehl, R., Zylka, J. (1989). Procyanidins from *Hypericum perforatum* L. in isolated porcine coronary arteries. *Planta Medica*, **55**, 655-656.

Mendelsohn, R. ve Moore, D.J. (1998). Vibrational spectroscopic studies of lipid domains in biomembranes and model systems. *Chemistry and Physics of Lipids*, **96**, 141-157.

Mendelsohn, R. ve Moore, D.J. (2000). Infrared determination of conformational order and phase behavior in ceramides and stratum corneum models. *Methods in Enzymology*, **312**, 228-247.

Menegazzi, M., Paola, R.D., Mazzon, E., Muia, C., Genovese, T., Crisafulli, C., ve ark. (2006). *Hypericum perforatum* attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, **40**, 740-753.

Menon, G.K. (2002). New insights into skin structure: structuring the surface. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**, 3-17.

Meral, G.E. ve Karabay, N.U. (2002). *In vitro* antibacterial activities of three *Hypericum* species from West Anatolia. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, special issue, 6-10.

Middleton, E. Drzewiecki, G. (1982). Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen-induced histamine release from human basophils. *Biochemical Pharmacology*, **31**, 1449-1453.

Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, **85**, 231-237.

Miller, T., Wittstock, U., Lindequist, U., Teuscher, E. (1996). Effects of some components of the essential oil of Chamomile, *Chamomilla recutita*, on histamine release from mast cells. *Planta Medica*, **62**, 60-61.

Milosevic, T., Solujic, S., Sukdolak, S. (2007). *In vitro* study of ethanolic extract of *Hypericum perforatum* L. on growth and sporulation of some bacteria and fungi. *Turkish Journal of Biology*, **31**, 237-241.

Mitchell, J.A. (2008). Cream formulations. Patent No: GB 2 440 601 A.

Mockute, D., Bernotiene, G., Judzentiene, A. (2003). Volatile compounds of the aerial parts of wild St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) plants. *Chemija (Vilnius)*, **14**, 108-111.

Molochko, V.A., Lastochkina, T.M., Krylov, I.A., Brangulis, K.A. (1990). The antistaphylococcal properties of plant extracts in relation to their prospective use as therapeutic and prophylactic formulations for the skin. *Vestnik Dermatologii I Venerologii*, **8**, 54-56.

Monograph (2008), *Matricaria chamomilla*. *Alternative Medicine Review*, **13**, 58-62. Erişim site adı: <http://www.thorne.com/altmedrev/fulltext/13/1/58.pdf>

Morales, M.A. ve Lozoya, X. (1994). Calcium-antagonist effects of quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Medica*, **60**, 313-317.

Morganti, P., Ruocco, E., Wolf, R., Ruocco, R. (2001). Percutaneous absorption and delivery systems. *Clinics in Dermatology*, **19**, 489-501.

Mosaleeyanon, K., Zobayed, S.M.A., Afreen, F., Kozai, T. (2005). Relationships between net photosynthetic rate and secondary metabolite contents in St. John's wort. *Plant Science*, **169**, 523-531.

Mukherjee, P.K., Verpoorte, R., Suresh, B. (2000). Evaluation of in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **70**, 315-321.

Muley, B.P., Khadabadi, S.S., Banarase, N.B. (2009). Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **8**, 455-465.

Mulinacci, N., Romani, A., Pinelli, P., Vincieri, F.F., Prucher, D. (2000). Characterization of *Matricaria recutita* L. flower extracts by HPLC-MS and HPLC-DAD analysis. *Chromatographia*, **51**, 301-307.

Müller, W.E., Singer, A., Wonnemann, M. (2001). Hyperforin-antidepressant activity by a novel mechanism of action. *Pharmacopsychiatry*, **34**, 98-102.

Naeem, I., Saddiqe, Z., Patel, A.V., Hellio, C. (2010). Flavonoid analysis and antibacterial activity of extracts of *Hypericum perforatum*. *Asian Journal of Chemistry*, **22**, 3596-3600.

Nahrstedt, A. ve Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, **30**, 129-134.

Naik, A. ve Guy, R.H. (1997). "Infrared Spectroscopic and Differential Scanning Calorimetric Investigations of the Stratum Corneum Barrier Function" *Mechanisms of Transdermal Drug Delivery*, New York: Marcel Dekker Inc.

Naved, T., Ansari, S.H., Mukhtar, H.M., Ali, M. (2005). New triterpenic esters of oleanene-series from the flowers of *Calendula officinalis* L. *Indian Journal of Chemistry*, **44**, 1088-1091.

Neary, J.T. ve Bu, Y. (1999). *Hypericum* LI 160 inhibits uptake of serotonin and norepinephrine in astrocytes. *Brain Research*, **816**, 358-363.

Nemtanu, M. R., Kikuchi, I. S., Pinto, T.J.A., Mazilu, E., Setnic, S., Bucur ve ark. (2008). Electron beam irradiation of *Matricaria chamomilla* L. for microbial decontamination. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, **266**, 2520-2523.

Neukiron, H., D'Ambrosio, M., Dovia, J., Guerriero, A. (2004). Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of *Calendula officinalis* L. and characterisation of a new triterpenoid monoester. *Phytochemical Analysis*, **15**, 30-35.

Nielsen, H. ve Arends, P. (1978). Structure of the xanthone lignoid kielcorin. *Phytochemistry*, **17**, 2040-2041.

Nöldner, M. ve Schötz, K. (2002). Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Medica*, **68**, 577-580.

Okoh, O.O., Sadimenko, A.A., Afolayan, A.J. (2007). The effects of age on the yield and composition of the essential oils of *Calendula officinalis*. *Journal of Applied Sciences*, **7**, 3806-3810.



Ottillinger, B. ve Greeske, K. (2001). Rational therapy of chronic venous insufficiency-chances and limits of the therapeutic use of horse-chestnut seeds extract. *BMC Cardiovascular Disorders*, **1**, 1-5.

Özdoğan, N. (2007). *Aesculus hippocastanum* kabuk özütlerindeki antioksidan bileşiklerin HPLC-DAD İzolasyonu ve HL-60 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri. Yüksek lisans tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.

Özhatay, N. ve Kültür, Ş. (2006). Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*, **30**, 281-316.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Aslan, S. (2009). Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey IV. *Turkish Journal of Botany*, **33**, 191-226.

Özhatay, F.N., Kültür, Ş., Gürdal, M.B. (2011). Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey V. *Turkish Journal of Botany*, **35**, 1-36.

Öztürk, N., Korkmaz, S., Öztürk, Y. (2007). Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, **111**, 33-39.

Pabst, H., Segesser, B., Bulitta, M., Wetzel, D., Bertram, S. (2001). Efficacy and tolerability of escin/diethylamine salicylate combination gels in patients with blunt injuries of the extremities. *International Journal of Sports Medicine*, **22**, 430-436.

Paepe, K., Derde, M.P., Roseeuw, D., Rogiers, V. (2000). Claim substantiation and efficiency of hydrating body lotions and protective creams. *Contact Dermatitis*, **42**, 227-234.

Paepe, K., Roseeuw, D., Rogiers, V. (2002). Repair of acetone and sodium lauryl sulphate damaged human skin barrier function using topically applied emulsions containing barrier lipids. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, **16**, 587-594.

Panes, J., Gerritsen, M.E., Anderson, D.C., Miyasaka, M., Granger, D.N. (1996). Apigenin inhibits tumor necrosis factor-induced intercellular adhesion molecule-1 upregulation *in vivo*. *Microcirculation*, **3**, 279-286.

Parente, L.M.L., Andrade, M.A., Brito, L.A.B., Dignan, V.M.S., Miguel, M.P., Lino-Junior, R.S. ve ark. (2011). Angiogenic activity of *Calendula officinalis* flowers L. in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, **26**, 19-24.

Patlolla, J.M., Raju, J., Swamy, M.V., Rao, C.V. (2006). Beta-escin inhibits colonic aberrant crypt foci formation in rats and regulates the cell cycle growth by

inducing p21 (waf1/cip1) in colon cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, **5**, 1459–1466.

Patzelt-Wenczler, R. ve Ponce-Poschl, E. (2000). Proof of efficacy of Kamilloosan(R) cream in atopic eczema. *European Journal of Medical Research*, **5**, 171-175.

Perez-Carreón, J.I., Cruz-Jiménez, G., Licea-Vega, J.A., Popoca, E.A., Fazenda, S.F., Villa-Trevino, S. (2002). Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. *Toxicology in vitro*, **16**, 253-258.

Perez-Gutierrez, S., Vargas-Solis, R., Miguel, Z.S., Perez-G, C., Perez-G, R.M. (1998). Inhibitory effect of five plant extracts on heart rates of rats. *Phytotherapy Research*, **12**, 49-50.

Pierre, S. Crosbie, L., Duttaroy, A.K. (2005). Inhibitory effect of aqueous extracts of some herbs on human platelet aggregation *in vitro*. *Platelets*, **16**, 469-473.

Pietta, P., Gardana, C., Pietta, A. (2001). Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. *Farmaco*, **56**, 491-496.

Pilgram, G.S.K. (2000). A close look at the stratum corneum lipid organization by cryo-electron diffraction. Significance for the barrier function of human skin. Proefschrift in Leiden/Amsterdam Center for Drug Research, Leiden University, Leiden, The Netherlands.

Pintea, A., Bele, C., Andrei, S., Socaciu, C. (2003). HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis*, **47**, 37-40.

Pommier, P., Gomez, F., Sunyach, M.P., D'hombres, A., Carrie, C., Montbarbon, X. (2004). Phase III randomized trial of *Calendula officinalis* compared with trolamine for the prevention of acute dermatitis during irradiation for breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **22**, 1447-1453.

Pouliot, R., Germain, L., Auger, A., Tremblay, N., Juhasz, J. (1999). Physical characterization of the stratum corneum of an *in vitro* human skin equivalent produced by tissue engineering and its comparison with normal human skin by ATR-FTIR spectroscopy and thermal analysis (DSC). *Biochimica et Biophysica Acta*, **1439**, 341-352.

Prasch, T. ve Förster, T. (2002). Detection of Cosmetic Changes in Skin Surface Lipids by Infrared and Raman Spectroscopy. *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*, NY: Marcel Dekker Inc.

Prasch, T., Knübel, G., Schmidt-Fonk, K., Ortanderl, S., Nieveler, S., Förster, T. (2000). Infrared spectroscopy of the skin: influencing the stratum corneum with cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, **22**, 371–383.

Preethi, K.C., Kuttan, G., Kuttan R. (2006). Antioxidant potential of an Extract of *Calendula officinalis* flowers *in vitro* and *in vivo*. *Pharmaceutical Biology*, **44**, 691-697.

Profumo, P., Caviglia, A.M., Gastaldo, P., Dameri, R.M. (1991). Aescin content in embryogenic callus and in embryoids from leaf explants of *Aesculus hippocastanum*. *Planta Medica*, **57**, 50-52.

Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G., Smelcerovic, A., Spitteller, M., Asakawa, Y. (2007). Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chemistry*, **103**, 15-21.

Rao, S.G., Udupa, A.L., Udupa, S.L., Rao, P.G.M., Rao, G., Kulkarni, D.R. (1991). *Calendula* and *Hypericum*: two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. *Fitoterapia*, **6**, 508-510.

Reichling, A., Weseler, R., Saller, R. (2001). A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, **34**, 116-118.

Rekka, E.A., Kourounakis, A.P., Kourounakis, P.N. (1996). Investigation of the effect of chamazulene on lipid peroxidation and free radical processes. *Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology*, **92**, 361-364.

Repcak, M. ve Krausova, T. (2009). Phenolic glucosides in the course of ligulate flower development in diploid and tetraploid *M. chamomilla*. *Food Chemistry*, **116**, 19-22.

Reuter, J., Wölflle, U., Korting, H.C., Schempp, C. (2010). Which plant for which skin disease? Part 2: Dermatophytes, chronic venous insufficiency, photoprotection, actinic keratoses, vitiligo, hair loss, cosmetic indications. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, **8**, 866-873.

Romeilah, R.M. (2009). Anticancer and antioxidant activities of *Matricaria chamomilla* L. and *Marjorana hortensis* Essential Oils. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, **4**, 332-339.

Roopashree, T.S., Dang, R., Shobha R.R.H., Narendra, C. (2009). Acute oral toxicity studies of antipsoriatic herbal mixture comprising of aqueous extracts of *Calendula officinalis*, *Momordica charantia*, *Cassia tora* and *Azadirachta indica* seed oil. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, **33**, 74-83.

Rosenberg Zand, R.S., Jenkins, D.J., Diamandis, E.P. (2001). Effects of natural products and nutraceuticals on steroid hormone-regulated gene expression. *Clinica Chimica Acta*, **312**, 213-219.

Rusu, M.A., Tamas, M., Puica, C. Roman, I., Sabadas, M. (2005). The hepatoprotective action of ten herbal extracts in CCl<sub>4</sub> intoxicated liver. *Phytotherapy research*, **19**, 744-749.

Rücker, G., Manns, D., Hartmann, R., Bonsels, U. (1995). A C<sub>50</sub>-hydroperoxide from *Hypericum perforatum*. *Archiv der Pharmazie*, **328**, 725-730.

Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**, 511-521.

Sakharkar, P.R., Kasiram, K., Patil, A.T. (2000). Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*. *Hamdard Medicus*, **43**, 5-7.

Saljic, J. (1975). Ointment for the treatment of burns. *Ger Offen*, **2**, 406-452.

Samadi, S., Khadivzadeh, T., Emami, A., Moosavi, N.S., Tafaghodi, M., Behnam, H.R. (2010). The effect of *Hypericum perforatum* on the wound healing and scar of cesarean. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, **16**, 113-117.

Saroglou V., Marin P.D., Rancic A., Veljic M., Skaltsa H. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. *Biochemical Systematics and Ecology*, **35**, 146-152.

Sator, P.G., Schmidt, J.B., Hönigsmann, H. (2003). Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **48**, 352-358.

Saygılı, M.S. (2000). Kozmetik Amaçlı Lipozom Preparatları Üzerinde Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**, 3875-3883.

Schaefer, H. ve Redelmeier, T.E. (1996). *Skin Barrier, Principles of Percutaneous Absorption*. Switzerland: Karger.

Schempp, C.M., Kirkin, V., Simon-Haarhaus, B., Kersten, A., Kiss, J., Termeer ve ark. (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's Wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, **21**, 1242-1250.

Schempp, C.M., Müller, K.A., Winghofer, B., Schöpf, E., Simon, J.C. (2002). St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). A plant with relevance for dermatology. *Hautarzt*, **53**, 316-321.

Schempp, C.M., Pelz, K., Whittmer, A., Schopf, E., Simon, J.C. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St. John's Wort against multiresistant *Staphylococcus aureus* and Gram-positive bacteria. *Lancet*, **353**, 2129.

Schey, K.L., Patat, S., Chignell, C.F., Datillo, M., Wang, R.H., Roberts, J.E. (2000). Photooxidation of lens alpha-crystallin by hypericin (active ingredient in St. John's Wort). *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **72**, 200-203.

Shetty, S., Udupa, S., Udupa, L. (2008). Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum* L. in rats. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, **5**, 95-101.

Shikhashvili, N. ve Darsavelidze, Z. (1997). Green Ointment. Patent No.: WO 97/42963.

Shikhashvili, N. ve Darsavelidze, Z. (1999). Burn and wound ointment. Patent No.: US 5,997,876.

Silva, B.A., Ferreres, F., Malva, J.O., Dias, A.C.P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, **90**, 157-167.

Silva, B.A., Malva, J.O., Dias, A.C.P. (2008). St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts and isolated phenolic compounds are effective antioxidants in several *in vitro* models of oxidative stress. *Food Chemistry*, **110**, 611-619.

Silva, E.J.R. Gonçalves, E.S. Aquiar, F., Evencioi, L.B., Lyra, M.M., Coelho, M.C. ve ark. (2007). Toxicological Studies on Hydroalcohol Extract of *Calendula officinalis* L. *Phytotherapy Research*, **21**, 332-336.

Simpson, M.G. (2006). *Plant Systematics*. California: Elsevier Academic Pres.

Sliwowski, J., Dziewanowska, K., Kasprzyk, E. (1973). Ursadiol: a new triterpene diol from *Calendula officinalis* flowers. *Khim Prir Soedin*, **12**, 157-160.

Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Spitelner, M., Raabe, N. (2008). Phenolic constituents of 17 *Hypericum* species from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, **36**, 316-319.

Smolinski, A.T. ve Pestka, J.J. (2003). Modulation of lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production *in vitro* and *in vivo* by the herbal constituents apigenin (chamomile), ginsenoside Rb(1) (ginseng) and parthenolide (feverfew). *Food and Chemical Toxicology*, **41**, 1381-1390.

Soliman, K.M. ve Badeaa, R.I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology*, **40**, 1669-1675.

Sparenberg, B.L., Demisch, J., Holzl, J. (1993). Untersuchungen uber die antidepressive Wirkstoffe von Johanniskraut. *Pharm Ztg Wiss*, **138**, 239-254.

Srijayanta, S. Raman, A, Goodwin, B.L. (1999). A comparative study of the constituents of *Aesculus hippocastanum* and *Aesculus indica*. *Journal of Medicinal Food*, **2**, 45-50.

Srivastava, J.K. ve Gupta, S. (2007). Antiproliferative and apoptotic effects of Chamomile extract in various human cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9470-9478.

Stankovic, S.K. Bastic, M.B., Jovanovic, J.A. (1984). Composition of the sterol fraction in Horse Chestnut. *Phytochemistry*, **23**, 2677-2679.

Stankovic, S.K., Bastic, M.B., Jovanovic, J.A. (1985). Composition of the triterpene alcohol fraction of horse chestnut seed. *Phytochemistry*, **24**, 119-121.

Stankovic, S.K. Bastic, M.B., Jovanovic, J.A. (1985). 4- $\alpha$  methylergosta-8,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol, a minor sterol in the seed of Horse Chestnut. *Phytochemistry*, **24**, 2466-2469.

Steiner, M. ve Hillemanns, H.G. (1990). Venostatin retard in the management of venous problems during pregnancy. *Phlebology*, **5**, 41-44.

Stuart, B., George, B., McIntyre, P. (1996). *Modern Infrared Spectroscopy. Analytical Chemistry by Open Learning*. Chichester, England: John Wiley&Sons.

Süntar, İ.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., Yeşilada, E. (2010). Investigations on the *in vivo* wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **127**, 468-477.

Swatschek, D., Schatton, W., Kellerman, J., Müller, W.E.G., Kreuter, J. (2002). Marine sponge collagen: isolation, characterization and effects on the skin parameters surface pH, moisture and sebum. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **53**, 107-113.

Takahashi, I., Nakanishi, S., Kobayashi, E., Nakano, H. Suzuki, K., Tamaoki, T. (1989). Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: possible relation to their antiretroviral activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **165**, 207-212.

Tanker, M. ve Tanker, N. (1991). *Farmakognozi (Cilt 1)*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.

Tanker, M. ve Tanker, N. (1998). *Farmakognozi (Cilt 2)*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.

Tanojo, H., Junginger, H.E., Bodde, H.E. (1997). *In vivo* human skin permeability enhancement by oleic acid: transepidermal water loss and Fourier transform infrared spectroscopy studies. *Journal of Controlled Release*, **47**, 31-39.

Thiede, H.M. ve Walper, A. (1994). Inhibition of MAO and COMT by *Hypericum* extracts and hypericin. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, **7**, 54-56.

Tortoriello, J., Zamilpa, A., Herrera, A., Romero-Cerecero, O. (2003). Determination of hypericin and hyperforin content in different phytopharmaceuticals and dietary supplements containing *Hypericum perforatum* extract. *Salud Mental*, **26**, 59-63.

Touitou, E., Meidan, V.M., Horwitz, E. (1998). Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *Journal of Controlled Release*, **56**, 7-21.

Tripathi, Y.B., Pandey, E., Dubey, G.P. (1999). Antioxidant property of *Hypericum perforatum* L. of Indian origin and its comparison with established Medhya rasayanas of ayurvedic medicine. *Current Science*, **76**, 27-29.

Tubaro, A., Zilli, C., Redaelli, C., Della Loggia, R. (1984). Evaluation of antiinflammatory activity of a chamomile extract after topical application. *Planta Medica*, **50**, 359.

Tuzlacı, E. (2006). “*Şifa Niyetine*” *Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları*. (1. Basım). İstanbul: Alfa Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti.

Uda, Y., Price, K.R., Williamson, G., Rhodes, M.J. (1997). Induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in murine hepatoma cells *in vitro* by flavonoids. *Cancer Letters*, **120**, 213-216.

Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Suzuki, T., Kimura, Y. (2006). Antiinflammatory, anti-tumor-promoting and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. *Journal of Natural Products*, **69**, 1692-1696.

Ul'chenko, N.T., Glushenkova, A.L., Mukhamedova, K.S. (1998). Lipids of *Calendula officinalis*. *Chemistry of Natural Compounds*, **34**, 272-274.

Upton, R. (1997). St. John's Wort-*Hypericum perforatum*. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. *Herbal Gram* 40, 32.

Vajs, V., Vugdela, S., Trifunovic, S., Karadzic, I., Juranic, N., Macura, S., Milosavljevic, S. (2003). Further degradation product of hyperforin from *Hypericum perforatum* (St. John's Wort). *Fitoterapia*, **74**, 439-444.

Vandenbogaerde, A.L., Kamuhabwa, A., Delaey, E., Himpens, B.E., Merlevede, W.J., Witte, P.A. (1998). Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **45**, 87-94.

Vargas, E.A., Do Vale Baracho, N.C., De Brito, J., De Queiroz, A.A.A. (2010). Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Acta Biomaterialia*, **6**, 1069-1078.

Varlijen, J. (1989). Structural analysis of rhamnoarabinogalactans and arabinogalactans with immunostimulating activity from *Calendula officinalis*. *Phytochemistry*, **28**, 2379-2383.

Vecherko, L.P., Kabanov, U.S., Zinkevich, E.P., Kogan, L.M. (1971). The structure of calendulose B from the roots of *Calendula officinalis*. *Khim Prir Soedin*, **4**, 533-533.

Vecherko, L.P., Sviridov, A.F., Zinkevich, E.P., Kogan, L.M. (1974). Structures of calendulose g and h from the roots of *Calendula officinalis*. *Khim Prir Soedin*, **4**, 532-534.

Vecherko, L.P., Sviridov, A.F., Zinkevich, E.P., Kogan, L.M. (1975). The structure of calendulose C and D from the roots of *Calendula officinalis*. *Khim Prir Soedin*, **3**, 366-373.



Vecherko, L.P., Zinkevich, E.P., Libizov, N.I., Ban'kooski, A.I. (1969). Calendulose A from *Calendula officinalis*. *Khim Prir Soedin*, **5**, 58-59.

Verotta, L., Appendino, G., Belloro, E., Jakupovic, J., Bomardelli, E. (1999). Furohyperforin, a prenylated phloroglucinol from St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Journal of Natural Products*, **62**, 770-772.

Verotta, L., Appendino, G., Bombardelli, E., Brun, R. (2007). *In vitro* antimalarial activity of hyperforin, a prenylated acylphloroglucinol. A structure-activity study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **17**, 1544-1548.

Vidal-Ollivier, E. (1989). Flavonol glycosides from *Calendula officinalis* flowers. *Planta Medica*, **55**, 73-73.

Vidal-Ollivier, E. ve Balansard, G. (1989). Revised structures of triterpenoid saponins from the flowers of *Calendula officinalis*. *Journal of Natural Products*, **52**, 1156-1159.

Wagner, H., Proksch, A., Riess-Maurer, I. Vollmar, A., Odenthal, S., Stuppner, H. ve ark. (1985). Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (Heteroglykane) aus höheren Pflanzen. *Arzneimittel-Forschung*, **7**, 1069-1075.

Wang C. ve Kurzer M.S. (1998). Effects of phytoestrogens on DNA synthesis in MCF-7 cells in the presence of estradiol or growth factors. *Nutrition and Cancer*, **31**, 90-100.

Wang, T., Fu, F., Zhang, L., Han, B., Zhu, M., Zhang, X. (2009) Effects of escin on acute inflammation and the immune system in mice. *Pharmacological reports*, **61**, 697-704.

Wang, X.H., Xu, B., Liu, J.T., Cui, J.R. (2008) Effect of  $\beta$ -escin sodium on endothelial cells proliferation, migration and apoptosis. *Vascular Pharmacology*, **49**, 158-165.

WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. (2002) Vol. 2, Geneva.

Wilhelm, K. ve Feldmeier, C. (1977). Thermometric investigations about the efficacy of beta-escin to reduce postoperative edema. *Medizinische Klinik*, **72**, 128-134.

Wilkinson, J.A. ve Brown, A.M.G. (1999). Horse chestnut-*Aesculus hippocastanum*: potential applications in cosmetic skin-care products. *International Journal of Cosmetic Science*, **21**, 437-447.

Wilkomirski, B. ve Kasprzyk, Z. (1979). Free and ester-bound triterpene alcohols and sterols in calendula flowers. *Phytochemistry*, **18**, 253-255.

Williams, A.C. (2003). *Transdermal and Topical Drug Delivery, From Theory to Clinical Practice*. (1st Ed.). London, UK: Pharmaceutical Press.

Willuhn, G., Westhaus, R.G. (1987). Loliolide (Calendin) from *Calendula officinalis*. *Planta Medica*, **53**, 304-304.

Wirz, A., Simmen, U., Heilmann, J., Çalis, I., Meier, B., Sticher, O. (2000). Bisanthraquinone glycosides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-1 receptors. *Phytochemistry*, **55**, 941-947.

Wu, Z.Y., Raven, P.H., Hong, D.Y. (2007). *Flora of China Vol. 12, (Hippocastanaceae through Theaceae)*. St. Louis: Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press.

Yalınkılıç, Ö. ve Enginar, H. (2008). Effect of X-Radiation on lipid peroxidation and antioxidant systems in rats treated with saponin-containing compounds. *Photochemistry and Photobiology*, **84**, 236-242.

Yan-Hua, L., Zhen, Z., Gua-Xin, S., Jun-Cai, M., Ren-Xia, T. (2002). A new antifungal flavonol glycoside from *Hypericum perforatum*. *Acta Botanica Sinica*, **44**, 743-745.

Yeşilada, E., Gürbüz, İ., Shibata, H. (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **66**, 289-293.

Yıldırım Ç. (2007). ANTU (Alpha-naphthylthiourea)'nun İndüklediği Akciğer Hasarı Üzerinde Beta-aescin'in Etkinliği. Mersin Üniversitesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Mersin.

Yoshikawa, M., Murakami, T., Kishi, A., Kageura, T., Matsuda, H. (2001). Medicinal flowers. III: Marigold. (1): hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D from Egyptian *Calendula officinalis*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **49**, 863-870.

Zakharova, N.S., Remova, T.N., Shepeleva, I.B., Bazhanova, I.G., Britsina, M.V. (1986). Action of plant extracts on the natural immunity indices of animals. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii*, **4**, 71-75.

Zhai, H. ve Maibach, H.I. (2002). Occlusion vs skin barrier function. *Skin Research and Technology*, **8**, 1-6.

Zitterl-Eglseer, K., Sosa, S. Jurenitsch, J., Schubert-Zsilavec, M., Della Loggia, R., Tubaro, A., Bertoldi, M., Franz, C. (1997). Anti-oedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, **57**, 139-144.

Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **52**, 5032-5039.

Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2005). Hypocholesterolemic effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in rats fed a cholesterol-rich diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 2462-2466.

Zou, Y. Lu, Y., Wei, D. (2010). Protective effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. against hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells. *Phytotherapy Research*, **24**, 6-10.

**ETİK KURUL KARARI**

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı**



Sayı : B.30.2.İST.0.02.82.01 / Yİ.193  
Konu: Çalışma hk.

15.03.2011\*007665

**Prof. Dr. Afife MAT**  
Eczacılık Fakültesi  
Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2010/1054-354 dosya numaralı "Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması ve Formülasyonlarının Hazırlanması" başlıklı çalışma ile ilgili, Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 09.02.2011 tarih ve 293 sayılı yazısı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. İlgin ÖZDEN  
Dekan Yardımcısı

EK: Tutanak



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 293

Tarih : 09.02.2011

Konu : Prof. Dr. Afife MAT hk,

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İlgi : Dekanlığın 10.12.2010 tarihli 59008 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Afife MAT'ın üstlendiği 2010/1054-354 dosya numaralı "Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması ve Formülasyonlarının Hazırlanması" başlıklı çalışma kurumumuzun 21.01.2011 tarihli 02 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Tutanakların Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Afife MAT'a iletilebilmesi hususunda gereğinin yapılmasını saygılarımla arz ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN  
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

## KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

|                  |   |
|------------------|---|
| ETİK KURULUN ADI | İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu                                |
| AÇIK ADRES       | İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hulusi Behçet Kütüphanesi Kat 3 Çapa Fatih/İstanbul 34380 |
| TELEFON          | 0 212 414 20 00-313 46  |
| FAKS             | 0 212 414 21 53   |
| E-POSTA          |   |

|                   |   |  |                     |            |              |
|-------------------|---|--|---------------------|------------|--------------|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                                   | "Bazı Bitkilerden Elde Edilen Ekstrelerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması ve Formülasyonlarının Hazırlanması " |                     |            |              |
|                   | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU                             | -  |                     |            |              |
|                   | EUDRACT NUMARASI  | -  |                     |            |              |
|                   | SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI                   | Prof. Dr. Afife MAT  |                     |            |              |
|                   | SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI                   | FARMAKOĞNOZİ   |                     |            |              |
|                   | KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI                         | Prof. Dr. Afife MAT  |                     |            |              |
|                   | KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI                            | FARMAKOĞNOZİ   |                     |            |              |
|                   | ARAŞTIRMA MERKEZİ                                       | İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.B.D.  |                     |            |              |
|                   | ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ                        | İ.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.B.D. Çapa /İSTANBUL   |                     |            |              |
|                   | BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI                             | İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu   |                     |            |              |
|                   | DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ                             | -  |                     |            |              |
|                   | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ              | -  |                     |            |              |
|                   | UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ | UZMANLIK TEZİ  | AKADEMİK AMAÇLI (X) |            |              |
|                   | ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER                           | TEK MERKEZ (X)   | ÇOKMERKEZLİ         | ULUSAL (X) | ULUSLARARASI |

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | Belge Adı                           | Tarihi     | Versiyon Numarası | Dili     |           |       |
|--------------------------|-------------------------------------|------------|-------------------|----------|-----------|-------|
|                          | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                 | 10.12.2010 | 1                 | Türkçe X | İngilizce | Diğer |
|                          | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ                   | -          | -                 | Türkçe   | İngilizce | Diğer |
|                          | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | 10.12.2010 | 1                 | Türkçe X | İngilizce | Diğer |
|                          | OLGU RAPOR FORMU                    | -          | -                 | Türkçe   | İngilizce | Diğer |

| DEĞERLENDİRİLEN<br>DİĞER BELGELER | Belge Adı               |  | Açıklama |
|-----------------------------------|-------------------------|--|----------|
|                                   | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ       | X  |          |
|                                   | SIGORTA                 |  |          |
|                                   | HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ  |  |          |
|                                   | İLAN                    |  |          |
|                                   | YILLIK BİLDİRİM         |  |          |
|                                   | SONUÇ RAPORU            |  |          |
|                                   | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ |  |          |
| DİĞER                             |                         | İndeks, Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD |          |

| KARAR BİLGİLERİ | Karar No: 02  | Tarih: 21.01.2011 |
|-----------------|---|-------------------|
|                 | Prof. Dr. Afife MAT'ın koordinatörlüğü ve sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve araştırma ile ilgili belgeler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir. |                   |

## ETİK KURUL BİLGİLERİ

| ÇALIŞMA ESASI | İstanbul Üniversitesi İnsan Denekler Üzerinde Yürütülecek Bilimsel Araştırmalar ve Etik Değerlendirme Kurulları Yönergesi |
|---------------|---|
|---------------|---|

| ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN |
|--|
|--|

## ETİK KURUL ÜYELERİ

| Unvanı/Adı/Soyadı              | Uzmanlık Alanı                    | Kurumu  | Cinsiyet |   | İlişki * |   | Katılım ** |   | İmza |   |              |
|--------------------------------|-----------------------------------|---|----------|---|----------|---|------------|---|------|---|--------------|
| Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN      | Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)                 | E        | X | K        | E | H          | X | H    |   |              |
| Prof. Dr. Berrin UMMAN         | Kardiyoloji                       | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)       | E        |   | K        | X | E          | H | X    | H |              |
| Prof. Dr. Ahmet GÜL            | Romatoloji                        | İstanbul Tıp Fakültesi                                      | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları     | İstanbul Tıp Fakültesi                                      | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN        | Nöroloji                          | İstanbul Tıp Fakültesi                                      | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H | T. Katılmadı |
| Prof. Dr. Pınar SAIP           | Onkoloji                          | İ.U. Onkoloji Enstitüsü                                     | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Uzm. Dr. Ahmet Rıza URAS       | Biyokimya                         | Haydarpaşa Numune Eğit. ve Araş. Hast. Biyokimya            | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H | T. Katılmadı |
| Doç. Dr. H. Hanzade DOĞAN      | Deontoloji                        | İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi                               | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H | T. Katılmadı |
| Prof. Dr. Ayşen BULUT          | Halk Sağlığı                      | Emekli  | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Doç. Dr. Tufan TÜKEK           | İç Hastalıkları                   | Okmeydanı Eğit. ve Araş. Hast. İç Hast. 1. Dahiliye Kliniği | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H | T. Katılmadı |
| Prof. Dr. Unal KUZGUN          | Ortopedi                          | Şişli Etfal E. Ve Arş. Hst.                                 | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN      | Eczacılık                         | İ.U. Eczacılık Fakültesi                                    | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK          | Hukukçu                           | İstanbul Üniversitesi                                       | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| Prof. Dr. Demir TIRYAKI        | Biyofizik                         | Emekli  | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H |              |
| M. Kerim AKMAN                 | İİBF İktisat Bölümü               | Özel (Ekonomist)  | E        |   | X        | K | E          | H | X    | H | T. Katılmadı |

\* : Araştırma ile İlişki  
\*\* : Toplantıda Bulunm

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                     |                  |             |
|-----------------|---------------------|------------------|-------------|
| <b>Adı</b>      | S. Yağmur           | <b>Soyadı</b>    | Yaşar       |
| <b>Doğ.Yeri</b> | Beyşehir            | <b>Doğ.Tar.</b>  | 28.03.1979  |
| <b>Uyruğu</b>   | T.C.                | <b>TC Kim No</b> | 19543028068 |
| <b>Email</b>    | tyagmur@hotmail.com | <b>Tel</b>       | 533 3118823 |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı                  | Mez. Yılı |
|-----------------|---|-----------|
| <b>Doktora</b>  | İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi | 2011      |
| <b>Yük.Lis.</b> | İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi    | 2005      |
| <b>Lisans</b>   | Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi   | 2002      |
| <b>Lise</b>     | Balıkesir Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi    | 1997      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|           | Görevi                | Kurum                                  | Süre (Yıl - Yıl) |
|-----------|-----------------------|--|------------------|
| <b>1.</b> | Eczacı                | Şişli Etfal Eğitim ve Arş. Hastanesi   | 2011-....        |
| <b>2.</b> | Ruhsatlandırma Uzmanı | Santa Farma İlaç San.                  | 2008-2011        |
| <b>3.</b> | Analist               | Refik Saydam Hıf. Merk. Başk.lığı      | 2006-2008        |
| <b>4.</b> | Araştırma Görevlisi   | İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi | 2003-2005        |

| Yabancı Dilleri  | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|------------------|-------------------|----------|--------|----------------|---------------|
| <b>İngilizce</b> | İyi               | İyi      | İyi    | 65.000         | -             |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel  |
|----------------------|---------|--------------|--------|
| <b>LES Puanı</b>     | 54.442  | 53.000       | 51.558 |
| <b>(Diğer) Puanı</b> | -       | -            | -      |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program     | Kullanma becerisi |
|-------------|-------------------|
| Office 2010 | İyi               |

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from Mentha spicata subsp. spicata, JEOR, 2011

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):** Gitar çalmak, seyahat etmek, kitap okumak