

## Doğadan Toplanan ve Aktarlardan Temin Edilen *Calendula* Örneklerinin Avrupa Farmakopesi 8.0'a göre Değerlendirilmesi\*

Evaluation of *Calendula* Samples Collected from Nature and Obtained from Herbalists According to European Pharmacopoeia 8.0

Çiğdem Çolak<sup>i</sup>, Buket Bozkurt<sup>ii</sup>

<sup>i</sup>Uzm.Ecz. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi AD., <https://orcid.org/0009-0002-6289-7426>

<sup>ii</sup>Prof.Dr. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmakognozi AD., <https://orcid.org/0000-0003-2858-5162>

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada "aynısefa" ismiyle piyasada satışı sunulmuş olan dört değişik aktar örneği ile Bornova, İzmir'den toplanan (Ege Üniversitesi Yerleşkesi) *Calendulae arvensis flos* ve *Calendulae arvensis herba* droglarını Avrupa Farmakopesi 8.0'da yer alan testler açısından karşılaştırmalı olarak araştırmak hedeflenmiştir.

**Yöntem:** Temin edilen örnekler üzerinde Avrupa Farmakopesi 8.0'da yer alan *Calendulae flos* monografında yer alan testler referans alınarak; kurutmada kayıp ve total kül miktarları, örneklerden hazırlanan ekstrelerde ince tabaka kromatografisi (İTK) ve hiperozit üzerinden spektrofotometrik olarak flavanoit miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Ek olarak örneklerin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarları da belirlenmiştir.

**Bulgular:** Avrupa Farmakopesi 8.0'da yer alan kurutmada kayıp testi için elde edilen bulgular bütün örnekler için uygunken, piyasadadan temin edilen sadece bir örnek total kül miktarı için belirtilen maksimum sınırın altında kalmıştır. İTK denemesiyle rutin, klorojenik asit ve kafeik asit bileşikleri örneklerde teşhis edilmiştir. Spektrofotometrik olarak hiperozit üzerinden miktar tayini denemeleri gerçekleştirilmiş, en yüksek flavanoit içeriği Ege Üniversitesi Kampüsü'nden toplanan *Calendulae arvensis flos* droğunda tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Piyasadadan temin edilen örneklerin gerek kalite kontrol, gerek içerik açısından farklılıklar gösterdiği, fitoterapötik olarak kullanılacak drogların bilhassa pozoloji açısından içeriğinin standardize edilmiş olması gerektiği için ilgili testlerin yapılmasının önemi ortaya konulmuştur. Ayrıca ülkemizin biyolojik bir zenginliği olan ve doğal olarak geniş yayılış gösteren *Calendula arvensis* (Vaill.) L. çiçeklerinin en yüksek flavanoit içeriğine sahip olması da önemli bir göstergedir.

**Anahtar Kelimeler:** Aynısefa, *Calendula*, Fitokimya

### ABSTRACT

**Objective:** The purpose of this study was to compare different herbalist samples that were marketed under the name "aynısefa" with *Calendulae arvensis flos* and *Calendulae arvensis herba* herbs collected from Bornova, İzmir (Ege University Campus) in terms of tests specified in the European Pharmacopoeia 8.0.

**Methods:** The acquired samples were subjected to tests referenced in the European Pharmacopoeia 8.0 *Calendulae flos* monograph. These tests included determination of loss on drying and total ash quantities during drying, thin-layer chromatography (TLC) and spectrophotometric quantification of flavonoid content expressed as hyperoside in the prepared extracts from the samples. In addition, the amounts of acid-insoluble ash in the samples were also determined.

**Results:** While the findings obtained for the loss on drying test in the European Pharmacopoeia 8.0 were appropriate for all samples, only one sample obtained from the market was below the maximum limit specified for total ash. Rutin, chlorogenic acid, and caffeic acid compounds were identified in the samples by TLC experiment. Spectrophotometric quantification experiments were carried out on hyperoside, and the highest flavonoid content was detected in the *Calendulae arvensis flos* collected from the Ege University Campus.

**Conclusion:** It had been demonstrated that the samples obtained from the market differ in terms of both quality control and content, and that the content of the drugs to be used as phytotherapeutics must be standardized, especially with regard to posology. The importance of performing the relevant tests has been revealed. Additionally, it is noteworthy that *Calendula arvensis* (Vaill.) L. flowers, which are a biological richness of our country and naturally spread widely, have the highest flavonoid content.

**Keywords:** Marigold, *Calendula*, Phytochemistry

\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi 2024;14(1):90-96

DOI: 10.31020/mutfd.1381496

e-ISSN: 1309-8004

Geliş Tarihi – Received: 27 Ekim 2023; Kabul Tarihi - Accepted: 25 Ocak 2024

İletişim - Correspondence Author: Buket Bozkurt <buket.bozkurt@ege.edu.tr>

## Giriş

Türkiye’de “Aynisefa”, “Öküzgözü” gibi isimlerle bilinen *Calendula* cinsi (Asteraceae) dünyada yaklaşık 25 tür ile temsil edilmekte olup, bunlar arasında *Calendula officinalis* L. ve *Calendula arvensis* (Vaill.) L. türleri geleneksel kullanım ve fitoterapötik değeri açısından öne çıkmaktadır.<sup>1,2</sup> *Calendula officinalis* Avrupa, Asya ve Kuzey Amerikanın bazı bölgelerinde doğal olarak yayılım göstermektedir. Türkiye florasında *Calendula arvensis*, *Calendula officinalis*, *Calendula suffruticosa* türleri kayıtlı olup *C. officinalis* doğal olarak ülkemizde yetişmemekte, kültür ve süs bitkisi olarak bulunmaktadır.<sup>3</sup>

Bitkinin kimyasal içeriğine bakıldığında başlıca triterpenik glikozitler, fenolik bileşikler, flavonoidler, karotenoidler ve uçucu bileşenlerin bulunduğu görülmektedir.<sup>4-8</sup> Bitkinin farmakolojik olarak yara iyi edici, antioksidan, antienflamatuar, antitümoral, antibakteriyel ve antikandidal etkileri mevcuttur.<sup>9-14</sup>

Bu çalışmada, Samsun ve İzmir’de bulunan aktarlarda satışa sunulmuş droglardan seçilen dört farklı *Calendulae flos* örneği ve İzmir ili, Bornova ilçesinden toplanan *Calendula arvensis* bitkisinden hazırlanan örnekler, Avrupa Farmakopesi 8.0’a göre kalite kontrol ve miktar tayini çalışmaları yapılarak karşılaştırılmıştır.<sup>15</sup> Bu kapsamda, kurutma işleminden sonra oluşan kayıp, toplam kül ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı hesaplanmış, kafeik asit, rutin ve klorojenik asit standart maddeleri ile ince tabaka kromatografisi (İTK) uygulaması gerçekleştirilmiş ve hiperozit baz alınarak spektrofotometrik olarak toplam flavonoid değerleri hesaplanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Bitkisel Materyal ve Kimyasallar

Piyasada aynisefa adı altında satışa sunulmuş dört farklı aktar örneği ile Ege Üniversitesi Kampüsü’nden 07.04.2017 tarihinde çiçekli halde iken (Bornova, İzmir, 38°27’30.88’’K, 27°13’ 32.05’’D) toplanan *Calendulae arvensis flos* ve *Calendulae arvensis herba* drogları ile çalışılmıştır. *Calendula arvensis* bitkisi, Ege Üniversitesi, Botanik Bahçesi ve Herbarium Uyg. ve Araştırma Merkezi’nden Prof. Dr. Serdar Gökhan ŞENOL tarafından teşhis edilmiş olup, bitkiye ait herbarium materyali Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Ana Bilim Dalı Herbariumu’nda saklanmaktadır (Herbarium No:1600). Örneklerin menşei ve verilen kodlar **Tablo 1**’de yer almaktadır.

**Tablo 1.** *Calendula* örneklerine verilen kodlar ve temin edilen yerler

| Örnek Kodu | Toplandığı bölge | Temin edilen yer  |
|------------|------------------|---|
| 1          | Bilinmiyor       | Samsun ili, İlkadım ilçesindeki bir aktardan alınan paketli örnek |
| 2          | Bilinmiyor       | İzmir ili, Bornova ilçesindeki bir aktardan alınan paketli örnek  |
| 3          | Bilinmiyor       | Tescilli bir markanın paketli örneği                              |
| 4          | E.Ü. Kampüsü     | <i>Calendula arvensis</i> çiçekleri, doğadan toplandı             |
| 5          | E.Ü. Kampüsü     | <i>Calendula arvensis</i> toprak üstü kısımları, doğadan toplandı |
| 6          | Bilinmiyor       | İzmir ili Bornova ilçesindeki bir aktarda açıkta satılan          |

Deneylerde kullanılan kafeik asit (KFA), klorojenik asit (KJA), rutin (RT), heksametilentetramin (HMT), difenil borik asit aminoetil esteri (DPAE) ve Makrogol 400 (M400) Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany)’den, formik asit (FA), etil asetat (EA), glasiyel asetik asit (GAA), sodyum hidroksit (NaOH), susuz sodyum sülfat ve metanol (MeOH) Merck GmbH (Darmstadt, Germany)’den temin edilmiştir.

## Farmakope Analizleri

Uygulanan analizler Avrupa Farmakopesi 8.0 temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

### Kurutmada Kayıp (KK) Miktar Tayini

Sabit vezne getirilen kurutma kaplarına konulan 1'er g toz drog, 105°C'lik etüvde 60 dk bekletilmesinin ardından yarım saat desikatörde soğutulmuştur. Soğumasını takiben tartılıp ve en son alınan iki tartım miktarı arasındaki fark 0,5 mg'ın altında olacak şekilde çalışılmıştır. Aşağıdaki yer alan formüle göre KK miktarları hesaplanmış ve çalışılan numune başına 3 paralel değerlerin ortalaması alınmıştır. Avrupa Farmakopesi 8.0'a göre KK maksimum %12 olmalıdır.

A: Kap ağırlığı (KA)

B: KA + drog ağırlığı (DA)

C: KA + son DA

% KK = (B-C) x 100: (B-A)

### Total Kül (TK) Miktar Tayini

Porselen krozeler, 600°C'lik yakma fırını (YF)'nda 60 dk bekletilmesinin ardından desikatöre alınıp yarım saat soğumaya bırakılmıştır. Sabit vezne getirme işleminden sonra 1 g toz numune krozeyle konulup ve 105 °C'deki etüvde 60 dk muamele edilip suyu uzaklaştırılmıştır. YF'da 60 dk bekletilmesinin ardından yarım saat desikatörde soğutulmuştur. Örneklerin hepsi sabit vezne gelince çalışma sonlandırılmış, her bir örnek için 3 paralelin ortalaması alınarak, aşağıdaki formülle TK miktarları hesaplanmıştır. Avrupa Farmakopesi 8.0'a göre TK miktarı %10'dan fazla olmamalıdır.

A: Porselen krozenin ağırlığı (PKA)

B: PKA + örnek ağırlığı

C: PKA + kül ağırlığı

% TK miktarı = (C - A) x 100: (B - A)

### Hidroklorik asitte Çözünmeyen Çözünmeyen Kül (HÇK) Miktar Tayini

Kroze (önceden anlatılan şekilde kül elde edilmiş) içeriğine distile su (15 ml) ve hidroklorik asit (HCl, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) (10 ml) konulmuştur. Kroze saat camıyla kapatılarak ve 10 dk ısıtıcıda (plak) tutulmuştur. Soğumasını takiben kül bırakmayan filtre kağıdından (Sartorius™ Quantitative Grade 391) süzülerek süzütünün pH'ı nötr oluncaya dek sıcak distile su ile yıkanmıştır. Süzgeç kâğıdı (üzerindeki bakiyesiyle birlikte) krozenin içine yerleştirilmiş, sabit vezne gelinceye kadar işleme devam edilmiştir. Droğun HÇK miktarı, bu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

A: Porselen krozenin ağırlığı (PKA)

B: PKA + örnek ağırlığı

D: PKA+ HÇK ağırlığı

% HÇK Miktarı = (D - A) x 100 : (B - A)

### İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

KFA (1 mg), KJA (1 mg) ve RT (2,5 mg) tartılarak, 10 ml MeOH'de çözündürülüp şahit çözeltisi hazırlanmıştır. Test çözeltisini hazırlamak için her bir bitki örneğinden 1'er g toz, 10 ml MeOH ile geri çeviren soğutucuda

su banyosunda 10 dk ısıtılıp, soğuduktan sonra süzölmüştür. Hareketli faz olarak distile su, FA ve EA (10:10:80 h/h/h) kullanılmıştır.

Silikajel plak (TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>, Aluminium sheets, Merck, Almanya) üzerine test ve örnek çözeltileri uygulanarak, önce DPAE, ardından M400'ün MeOH'de hazırlanan çözeltisi püskürtölmüştür. Yaklaşık 25-30 dakika sonra 365 nm'deki ultraviyole ışık altında (Camag UV Cabinet 4) incelenmiştir.

### Hiperozit Üzerinden Spektrofotometrik Miktar Tayini

Spektrofotometrik tayinde kullanılan bütün reaktiflerin hazırlanmasına farmakopede yer alan tariflere uygun hareket edilmiş, Calendulae flos monografında yer aldığı şekilde hiperozit üzerinden miktar tayini çalışması gerçekleştirilmiştir. HMT çözeltisi için 30 mg HMT (Sigma-Aldrich®) distile suyla çözülmüştür. Alüminyum klorür (AlCl<sub>3</sub>) çözeltisi için 65 g tartılıp bir miktar distile su ile çözüldüröldükten sonra distile su ile toplam 100 ml olacak şekilde tamamlanmıştır. 500 mg aktif kömür ilave edilerek 10 dk karıştırılıp, süzölmüştür. Süzöntünün pH'ı 1,5 olması için gerekli NaOH çözeltisi (10 g/L) ilave edilmiştir. Stok çözeltilerini hazırlamak için, her bir örnekten 0,8 g toz drog tartılıp üzerlerine HMT çözeltisinden 1 ml, 7 ml hidroklorik asit (250 g/L) ve 20 ml aseton konulmuştur. Yarım saat geri çeviren soğutucu altında kaynatılıp soğuduktan sonra absorban pamuk tıkaç yardımıyla süzölmüştür. Üstünde artık bulunan pamuk üzerine tekrar aseton konulup işlem tekrarlanmıştır. Süzöntüler ve gerektiği miktar aseton eklenerek 100 ml çözelti elde edilmiştir. Bu çözeltinin 20 ml'si üzerine eşit miktarda distile su ilave edilmiştir. Toplam 45 ml etil asetat kullanılarak ekstraksiyon yapılmış, susuz sodyum sülfat üzerinden süzöldükten sonra etil asetatla 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Test Çözeltisi (TÇ) hazırlamak için stok olarak hazırlanan çözeltiden 10 ml alınıp 1 ml AlCl<sub>3</sub> reaktifi konulmuştur, %5 (h/h) GAA'in MeOH'deki çözeltisi ile seyreltilmiştir (25 ml). Şahit çözelti (ŞÇ) hazırlamak için ise stok olarak hazırlanan çözeltiden 10 ml alınıp %5 h/h GAA'in metanoldeki çözeltisi ile seyreltilmiştir (25 ml). Yarım saat sonra TÇ ve ŞÇ absorbans değerleri 425 nm'de UV/VIS spektrometresiyle ölçölmüştür. Hiperozit baz alınarak hesaplaması gerçekleştirilen flavonoit miktarı için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$A \times 1,25 / m$$

A: Absorbans değeri (425 nm)

m: Bitki materyali (gram olarak)

### Bulgular

#### KK, TK ve HÇK Miktarı Sonuçları

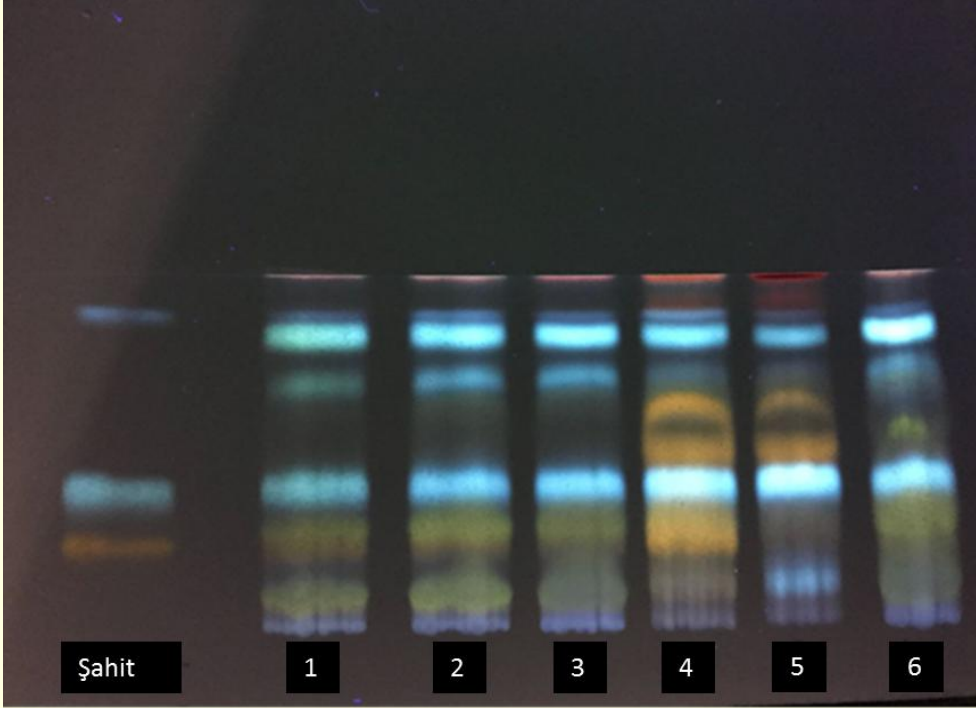
Tüm denemeler her bir örnek için 3 paralel olacak şekilde yapıılıp, sonuçların ortalaması alınmış, bulunan değerler tablo halinde verilmiştir (**Tablo 2**).

**Tablo 2.** KK, TK ve HÇK miktarı sonuçları

| Örnekler | KK Miktarı<br>(Ortalama ± Standart Sapma) | TK Miktarı<br>(Ortalama ± Standart Sapma) | HÇK Miktarı<br>(Ortalama ± Standart Sapma) |
|----------|---|---|--|
| 1        | %7,8924 ± 0,0710                          | %11,7816 ± 0,1423                         | %2,5593 ± 0,0123                           |
| 2        | %9,6781 ± 0,0923                          | %13,2161 ± 0,1267                         | %2,0428 ± 0,0227                           |
| 3        | %10,0397 ± 0,1274                         | %9,0578 ± 0,0948                          | %0,7782 ± 0,0131                           |
| 4        | %9,3144 ± 0,1044                          | %9,9553 ± 0,0823                          | %0,4955 ± 0,0079                           |
| 5        | %7,7373 ± 0,0627                          | %15,4725 ± 0,1162                         | %2,6312 ± 0,1074                           |
| 6        | %7,9889 ± 0,0784                          | %12,6001 ± 0,0877                         | %1,5114 ± 0,0573                           |

### İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

KFA, KJA ve RT standartları kullanılarak elde edilen ŞÇ'ne karşılık, 6 farklı örnekten hazırlanan TÇ'lerin, belirtilen yöntemle hazırlanan plağa ait UV ışığı altındaki görüntüleri **Şekil 1**'de verilmiştir.



**Şekil 1.** İTK yöntemiyle hazırlanan plağa ait UV ışığı altındaki görüntü

### Spektrofotometrik Tayin

Hazırlanan örnekler üzerinde yapılan spektrofotometrik miktar tayiniyle elde edilen hiperozit üzerinden hesaplanan % flavonoit miktarları **Tablo 3**'de verilmiştir.

**Tablo 3.** Örneklerin hiperozit üzerinden hesaplanan % flavonoit miktarları

| Örnekler | Drog Miktarı | Ortalama Absorbans Değeri<br>(Ortalama $\pm$ Standart Sapma) | % Flavonoit miktarı |
|----------|--------------|--|---------------------|
| 1        | 0,8003       | 0,438 $\pm$ 0,0011   | %0,6841             |
| 2        | 0,8003       | 0,468 $\pm$ 0,0032   | %0,7310             |
| 3        | 0,8004       | 0,383 $\pm$ 0,0053   | %0,5981             |
| 4        | 0,8002       | 0,7140 $\pm$ 0050  | %1,1153             |
| 5        | 0,8001       | 0,430 $\pm$ 0,0035   | %0,6718             |
| 6        | 0,8002       | 0,409 $\pm$ 0,0018   | %0,6389             |

### Tartışma ve Sonuçlar

Avrupa Farmakopesi 8.0'da yer alan Calendulae flos droğu için verilmiş olan monografda kurutmada kayıp miktarının maksimum %12 olması istenmektedir. Çalışan bütün örneklerde KK miktarı bu değerin altındadır. TK miktarı için belirlenen sınır değer maksimum %10 iken, Calendulae flos örneklerinden sadece ikisinin farmakopeye uygun olduğu görülmüştür. Bu çalışmada farmakope monografında yer almayan HÇK miktarı denemesi de yapılmış, en düşük kül içeriği Bornova- İzmir'den toplanan Calendulae arvensis flos örneğinde (%0.4955) saptanmıştır.

Farmakopede yer alan ince tabaka kromatografisi ile içerik maddelerinin teşhis edilmesi denemesinde, KJA, RT ve KFA standart maddeleriyle örneklerden hazırlanan test çözeltileri distile su, FA ve EA solvan sisteminde yürütülmesi, DPAE'in metanoldeki çözeltisi ve M400'ün MeOH'deki çözeltisi püskürtülerek 365 nm dalga boyunda incelenmiştir. Kromatogramda şahit çözeltisinde yer alan bileşenlerden RT, sarımsı-kahverengi floresans bölge ile başlangıç çizgisine en yakın yerde yer alırken, orta bölümde KJA'in oluşturduğu uçuk mavi floresans bölgesi, üstte ise KFA'e ait floresans zonu (açık mavi) yer almaktadır. Test çözeltisi ile şahit çözeltisi karşılaştırıldığında kromatogramda yer alan RT'e karşı gelen zonla aynı yükseklikte kirli sarı floresans bölge, beraberinde sarı-yeşil floresans lekeleriyle birlikte görülmektedir. Şahit çözeltisindeki KJA'e tekabül eden yerde görülen uçuk mavi nispeten geniş floresans zonu ile aynı doğrultuda test çözeltisindeki KJA de kromatogramda saptanmıştır. KFA'e karşılık gelen açık mavi ince floresans zon test çözeltisinde de görülmekte olup hemen altında başka bir içerik maddesine ait olduğu düşünülen daha geniş mavi floresans bant yer almaktadır.

Spektrofotometrik miktar tayininde farmakopede yer alan monografa göre flavonoit miktar yüzdesinin minimum %0,4 olması beklenmektedir ve çalışılan tüm örneklerde flavonoit miktarı bu yüzdeden fazla olacak şekilde gözlenmiştir. 6 örnek içerisinde en yüksek flavonoit içeriğinin İzmir-Bornova'dan toplanan *C. arvensis* bitkisine ait çiçeklerde görülmesi ilgi çekicidir.

Geleneksel kullanımda *C. arvensis* çiçekleri diüretik, diaforetik etkisiyle antipiretik, antienflamatuar, adet düzenleyici, karaciğer koruyucu ve yara iyi edici olarak, *C. officinalis* bitkisinin çiçekli dalları da benzer şekilde antipiretik, antienflamatuar, analjezik, cilt hastalıklarında özellikle yara iyi edici özellikleriyle sıklıkla dahilen infüzyon haricen merhem gibi şekillerde kullanılmaktadır.<sup>1,16-18</sup> Fitoterapide *Calendula officinalis*'in yaygın bir kullanımı bulunup, bitkiden hazırlanan preparatlar bilhassa kozmetik ve dermatolojik olarak değerlendirilmektedir. Ülkemizde doğal olarak yayılım gösteren *C. arvensis* türüyle alakalı kullanım ve literatürde yer alan kayıtlar ise nispeten sınırlıdır.

Avrupa Farmakopesi 8.0'da yer alan kalite kontrol ve miktar tayini denemeleri sonucunda, gerek İTK denemesiyle yapılan KJA, RT ve KFA bileşiklerinin varlığının teşhis edilmesi, gerek hiperozit üzerinden yapılan spektrofotometrik miktar tayini deneyinde *C. arvensis* bitkisinin çiçekli kısımlarının, çalışılan örnekler arasında en zengin içeriğe sahip olduğu saptanmıştır. Türkiye'de doğal olarak yetişen bir tür olmayan *C. officinalis* bitkisinin yanısıra bu çalışmayla elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Türkiye'nin doğal bir zenginliği olan ve geniş bir yayılım gösteren *Calendula arvensis*'in halk arasında kullanımına ek olarak gerekli kalite kontrol, prelinik ve/veya klinik çalışmalarla desteklendiği takdirde sağlık alanında daha etkin şekilde kullanılmaya değer bir bitki olduğu da ortaya konmuştur.

## Bilgi

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Bu çalışma Ege Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 17-ECZ-008 numaralı yüksek lisans tez projesi ile desteklenmiştir.

## Araştırmacı Katkı Oranı Beyanı

Çiğdem Çolak: Fikir, tasarım, danışmanlık, veri toplama ve işleme, analiz ve yorum, kaynak taraması, makale yazımı, malzemeler.

Buket Bozkurt: Fikir, tasarım, danışmanlık, veri toplama ve işleme, analiz ve yorum, kaynak taraması, makale yazımı, malzemeler, kaynaklar fon sağlama.

## Kaynaklar

1. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün); 1984. İstanbul Üniversitesi Yayınları.
2. Abdelwahab et al. Fifty-year of Global Research in *Calendula officinalis* L. (1971–2021): A Bibliometric Study. Clin Complement Med Pharmacol 2022;2(4):100059. <https://doi.org/10.1016/j.ccmp.2022.100059>
3. Townsend CC, Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Kew Bulletin 1973;28(2). <https://doi.org/10.2307/4119794>
4. Yoshikawa M, et al. 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*. Chem Pharm Bull 2001;49(7):863-70 <https://doi.org/10.1248/cpb.49.863>
5. Soto-Hernandez M, Palma-Tenango M, González-Hernández V. Chlorogenic acid content in *Calendula* varieties through cut dates in Mexico. Planta Med 2014;80(16):2-28 <https://doi.org/10.1055/s-0034-1394863>
6. Hernández-Saavedra D, et al. Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity-associated cardiovascular risk. Med Chem Research 2016;25(1):193-72. <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1454-1>
7. Bakó E, Deli J, Tóth G. HPLC study on the carotenoid composition of *Calendula* products. J Biochem Biophys Methods 2002;53(1–3):241-50. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(02\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(02)00112-4)
8. Crabas N, et al. Extraction, separation and isolation of volatiles and dyes from *Calendula officinalis* l. and *Aloysia triphylla* (l’her.) britton by supercritical CO<sub>2</sub>. J Essent Oil Res 2003;15(4):272-77. <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9712141>
9. Lavagna SM, et al. Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. Farmaco 2001;56(5–7):451-53. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01060-6](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01060-6)
10. Babae N, et al. Antioxidant capacity of calendula officinalis flowers extract and prevention of radiation induced oropharyngeal mucositis in patients with head and neck cancers: A randomized controlled clinical study. DARU J Pharm Sci 2013;21(1):1-7. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-21-18>
11. Silva D, et al. Anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* l. Flower extract. Cosmetics 2021;8(2):1-7. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020031>
12. Cruceriu D, Balacescu O, Rakosy E. *Calendula officinalis*: Potential roles in cancer treatment and palliative care. Integr Cancer Ther 2018;17(4):1068-78. <https://doi.org/10.1177/1534735418803766>
13. Hamad MN, Mohammed HJ, Merdaw MA. Antibacterial activity of *Calendula officinalis* flowers in vitro. Ibn al-Haitham J Pure Appl Sci 2017;24(3):1-7. <https://doi.org/10.30526/24.3.735>
14. Milián Vázquez PM, et al. *Calendula officinalis* L. for the topical treatment of recurrent vaginal candidiasis. Boletin Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas, 2010;9(5):343-52.
15. European Pharmacopoeia. 8th edition. Strasbourg: 2014.
16. Ashwlayan VD, et al. Therapeutic Potential of *Calendula officinalis*. Pharm Pharmacol Int J 2018;6(2):149-55. <https://doi.org/10.15406/ppij.2018.06.00171>
17. Paşa C. Compilation on the medicinal uses *Calendula officinalis* and *Calendula arvensis* species distributed in the flora of Turkey. GSC biol pharm sci 2022;21(3):48-52. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2022.21.3.0451>
18. Khouchlaa A, et al. Traditional Uses, Bioactive Compounds, and Pharmacological Investigations of *Calendula arvensis* L.: A Comprehensive Review. Adv Pharmacol Pharm Sci 2023;23:1-27. <https://doi.org/10.1155/2023/2482544>