

## Piyasada Satılan Mürver Çiçeklerinin Avrupa Farmakopesi Kriterlerine göre Kalite Kontrolleri ve Fenolik Bileşiklerinin YPSK Analizi \*

Quality Control and HPLC Analysis of Phenolic Compounds of Elderberry Flowers Sold in the Market according to European Pharmacopoeia Criteria

Merve Türker<sup>i</sup>, Hatice Nur Negiz<sup>ii</sup>, Burçin Özüpek<sup>iii</sup>, Didem Deliorman Orhan<sup>iv</sup>

<sup>i</sup>Ecz., Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Eczane Birimi, <https://orcid.org/0009-0000-8245-9349>

<sup>ii</sup>Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, <https://orcid.org/0009-0009-7384-4881>

<sup>iii</sup>Dr. Ecz., Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi AD., <https://orcid.org/0000-0003-2159-9860>

<sup>iv</sup>Prof. Dr., Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi AD., <https://orcid.org/0000-0003-3916-4048>

### ÖZ

**Amaç:** Tarım ve Orman Bakanlığı pozitif bitki listesinde yer alan *Sambucus nigra* çiçekleri çay olarak piyasada bulunmaktadır. Gıda olarak satışına izin verilen bu bitki genellikle sağlık faydası sebebi ile tüketilmektedir. Çalışmada, aktar ve internetten satın alınmış olan dokuz adet örnek ile organik tarımla üretilmiş bir adet örnek Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre incelenerek bu bitki yönünden piyasa durum tespiti yapılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Numunelerde morfolojik, mikroskopik analiz, yabancı madde miktarı, kurutmada kayıp ve total kül miktarı tayinleri ve ince tabaka kromatografisi (İTK) analizleri yapılmıştır. Ek olarak fenolik asitlerin (klorojenik ve kafeik asit) ve flavonoidlerin (rutin ve hiperozit) miktarı tayinleri YPSK tekniği ile yapılmıştır.

**Bulgular:** Mikroskopik analizde, tüm doku elementleri her numunede görülmemiş diğer yandan farklı bitki ve/veya organlara ait elementlerin varlığı tespit edilmiştir. Numuneler total kül miktarı tayini ve kurutmada kayıp yönünden farmakopeye uygun bulunmuştur. İTK ve YPSK ile tüm numunelerde klorojenik asit tespit edilirken rutin, hiperozit ve kafeik asit varlığına tüm numunelerde rastlanmamıştır.

**Sonuç:** Bulgular on numunenin de Avrupa Farmakopesi 10.0 kalitesinde olmadığını göstermiştir. Tıbbi amaçlarla kullanılabilir olan bu çayların belirli standartlarda piyasada bulunmadığı bu durumun halk sağlığı açısından değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kara mürver, *Sambucus nigra*, Avrupa Farmakopesi, YPSK

### ABSTRACT

**Aim:** *Sambucus nigra* flowers, which are on the positive plant list of the Ministry of Agriculture and Forestry, are available on the market as tea. This plant, which is allowed to be sold as food, is generally consumed for its health benefits. In the study, nine samples purchased from herbalists and the internet and one sample produced by organic farming were examined according to the European Pharmacopoeia 10.0, and it was aimed at determining the market situation in terms of this plant.

**Method:** The samples were subjected to morphological and microscopic analysis, foreign matter content, loss on drying and total ash content determinations, and thin layer chromatography (TLC) analysis. In addition, quantification of phenolic acids (chlorogenic and caffeic acid) and flavonoids (rutin and hyperoside) was performed by The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique.

**Results:** In microscopic analysis, not all tissue elements were observed in all samples, while the presence of elements belonging to different plants and/or organs was detected. Samples were found to comply with pharmacopoeia in terms of total ash content and loss on drying. While chlorogenic acid was detected in all samples by TLC and HPLC, the presence of rutin, hyperoside, and caffeic acid was not detected in all samples.

**Conclusion:** The findings showed that all ten samples were not of European Pharmacopoeia 10.0 quality. It was concluded that these teas, which can be used for medicinal purposes, are not available on the market with certain standards, and this situation should be evaluated in terms of public health.

**Key words:** Black elderberry, *Sambucus nigra*, European Pharmacopoeia, HPLC

\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi 2024;14(3):561-578

DOI: 10.31020/mutfd.1468361

e-ISSN: 1309-8004

Geliş Tarihi – Received: 16 Nisan 2024; Kabul Tarihi - Accepted: 19 Ağustos 2024

İletişim - Correspondence Author: Didem Deliorman Orhan <didem@gazi.edu.tr>

## Giriş

*Sambucus nigra* L., Caprifoliaceae familyasının Avrupa, Batı Asya, Kuzey Afrika ve ABD'nin çoğu yerinde yetişen yaygın bir türüdür.<sup>1</sup> Halk arasında “mürver, kara mürver, patlangıç, şahmelek”, İngilizce olarak da “European Elder, black elder” isimleri ile tanınmaktadır.<sup>2</sup> Ilıman ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yayılış gösteren 20'den fazla tür içerir. *Sambucus* türleri, 1-3 m yüksekliğe ulaşan yaprak dökün çalılar veya çöğünlukla kuzey yarımküreye özgü küçük ağaçlardır.<sup>3</sup>

Mürver bitkisi, meyvelerinde % 2,7-2,9, çiçeklerinde %2,4, yapraklarında ise %3,3 oranında protein içerdiği için iyi bir protein kaynağı olarak bilinmektedir.<sup>4,5</sup> Ayrıca meyveye karakteristik siyah-mor rengini veren flavonoller (kersetin 3-O-rutinozit, kersetin 3-O-galaktozit, kemferol 3-O-rutinozit, izoramnetin 3-O-rutinozit vb.), fenolik asitler (4-O-Kafeoilkinik asit, 3-O-p-Kumaroilkinik asit vb.), proantosiyanidinler ve antosiyaninler (siyanidin 3-glukozit, pelargonidin 3-sambubiozit, delphinidin 3-rutinozit vb.) gibi polifenoller bulunmaktadır<sup>6</sup>

Halk tıbbında mürver birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır. Çoğu halk ilacı çalışmasında, mürverin solunum yolu hastalıklarında, özellikle soğuk algınlığı ve grip, aynı zamanda yanıklar, şişlikler, kesikler, burkulmalar, çıkıklar, deri döküntüleri, hemoroitler, böcek ısırıkları ve sokmaları, romatizmal semptomlar, diş ağrıları, böbrek ve göz problemleri, hepatit ve dispepsi gibi durumlarda kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca *in vivo* ve *in vitro* çalışma sonuçları mürver bitkisinin antidiyabetik, antiobezite, antitümör, antiviral, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan gibi pek çok etkiye sahip olduğunu da göstermiştir.<sup>7</sup>

Avrupa Farmakopesi yanı sıra birçok farmakopede, European Medicines Agency's/ Committee on Herbal Medicinal (EMA/HMPC), The Physician's Desk Reference for Herbal Medicines (PDR), Komisyon E monografaları ve WHO monografalarında da kayıtlıdır. Avrupa Farmakopesinde yer alan “Elder Flower, Sambuci flos” monografında “*Sambucus nigra* L.'nin kurutulmuş çiçekleri” olarak tanımlanmıştır. Mürver çiçekleri Alman Komisyon E tarafından da viral enfeksiyonların tedavisi için onaylanmıştır.<sup>2</sup>

Bu çalışmada idrar söktürücü, terletici ve müshil amacıyla kullanılan mürver çiçeklerinin piyasada aktar ve internet satışı olan ve organik tarımla üretilmiş çay numunelerinin Avrupa Farmakopesi 10.0'daki “Sambuci flos” monografında belirtilen mikroskopik teşhis, kaba pedikül parçaları ve kahverengi çiçekleri içeren yabancı madde tayini, total kül miktar tayini, kurutmada kayıp, İTK ile referans bileşiklerin (klorojenik asit, kafeik asit, rutin ve hiperozit) kalitatif analizleri yapıp, piyasada bulunan örneklerin bu monografa uygunluğu incelenmiştir. Ayrıca YPSK tekniği kullanılarak kafeik asit, klorojenik asit, rutin ve hiperozit miktar tayinleri yapılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Bitki Örnekleri

Aktarlarda ve internette kara mürver çiçeği olarak belirtilen örnekler farmakope analizleri yapılması için 2023 Mart ayında satın alınmıştır. Örnekler numaralandırılmış ve temin edildiği yerler detaylı bir şekilde **Tablo 1**'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Kara mürver çiçeği numunelerinin satın alındıkları yerler

Numune Numarası	Alındığı yer	Numune Numarası	Alındığı yer
1	Organik tarım yapan markanın paketli örneği	6	İnternette alınan paketli örnek
2	Sakarya ili aktarında açıkta satılan örnek	7	İnternette alınan paketli örnek
3	Sakarya ili aktarında açıkta satılan örnek	8	İnternette alınan paketli örnek
4	Sakarya ili aktarında paketli satılan örnek	9	İnternette alınan paketli örnek
5	İnternette alınan paketli örnek	10	İnternette alınan paketli örnek

### Farmakope Analizleri

Avrupa Farmakopesi 10.0'da bulunan Sambuci flos monografi temel alınarak numuneler üzerinde mikroskopik teşhis, yabancı madde tayini, kül miktar tayini, kurutmada kayıp, İTK ve YPSK analizleri gerçekleştirilmiştir.<sup>8</sup>

### Mikroskopik Teşhis

Numuneler havanda toz edilip, reaktif olarak Kloralhidrat çözeltisi ve Sartur reaktifi kullanılmıştır. Avrupa Farmakopesi 10.0'da *S. nigra* çiçeklerinde bulunması gereken billur dizisi, örtü tüyü, polen, stoma, endotesyum ve yağ damlaları bakımından incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.<sup>8</sup>

### Yabancı Madde Tayini

Her numune 10 g olacak şekilde tartılmış ve makroskopik olarak incelenmiştir. Numunelerde gözlenen kaba pedikül parçaları, kahverengi çiçekler ve diğer yabancı maddeler ayrılarak tartılmıştır. Yabancı maddelerin ağırlığı ile toplam ağırlığın oranı yüzde (ağırlık/ağırlık, a/a) cinsinden hesaplanmış ve her numune için 3 kere tekrar edilmiştir. Sonuçlar 3 tekrarın ortalaması ve standart sapması hesaplanarak verilmiştir.<sup>8</sup>

### Total Kül Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilmiş krozeler içine numuneler 1 g olacak şekilde tartılmıştır. Krozeler 600oC'deki kül fırınında 2 saat bekletilmiş, süre sonunda desikatöre alınmış, soğutulmuş ve sabit ağırlığa geldiklerinde tartılmıştır. Sonucunda meydana gelen ağırlık kaybından hareketle total kül miktarı yüzde a/a cinsinden hesaplanmıştır. Bu deney her numune için 3 kere tekrar edilmiş, sonuçlar 3 tekrarın ortalaması ve standart sapması hesaplanarak verilmiştir.<sup>8</sup>

### Kurutmada Kayıp

Sabit ağırlığa getirilmiş cam kapaklı kurutma kaplarına toz edilmiş tüm numuneler 1 g olacak şekilde tartılmıştır. Droglar 2 saat boyunca 105°C etüvde bekletilmiştir. Süre sonunda desikatöre alıp soğutma işlemi gerçekleştirilmiş ve tartılmıştır. Meydana gelen ağırlık farkından hareketle kurutmada kayıp miktarı yüzde a/a cinsinden hesaplanmıştır. Bu deney her numune için 3 kere tekrar edilmiş, sonuçlar 3 tekrarın ortalaması ve standart sapması hesaplanarak verilmiştir.<sup>8</sup>

### İTK

Referans çözelti olarak kullanılacak saf maddelerden fenolik asit olan klorojenik asit ve kafeik asit 1 mg; flavonoit türevi olan rutin ve hiperozit ise 2,5 mg alınarak 10 ml metanolde çözülmüştür. Test çözeltisi için her numuneden 0,5 g toz drog alınarak üzerlerine 5 ml metanol ilave edilerek, 10 dk sonikatör içinde bekletilmiş ve 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen üst kısım İTK için kullanılmıştır. Hazırlanan referans ve test çözeltilerinden 4 µl alınarak sabit faz olan silika jel plak (TLC Silica gel 60 F254, Aluminium sheets, Merck, Almanya) üzerine 8 mm'lik bantlar şeklinde tatbik edilmiştir. Mobil faz 100:11:11:26 (Etil asetat: Glasiyel asetik asit: Formik asit: Su) şeklinde belirlenmiştir. Ayırım sonunda oluşan

lekeler Naturstroff reaktifi ile revele edilmiştir. İlk olarak %1'lik difenilboriloksietilamin metanol çözeltisiyle muamele edildikten sonra 100°C' de 5 dakika ısıtılmış sonrasında %5'lik Polietilenglikol 4000 etanol çözeltisi püskürtülüp UV<sub>366</sub> ve UV<sub>254</sub> nm'de incelenmiştir.<sup>8</sup>

## YPSK Analizi

### Ekstraksiyon

YPSK analizi için numuneler öncelikle ekstre edilmiştir. Bunun için her bir numune yaklaşık 5 g tartılmış, üzerine 100 ml %80 metanol ilave edilmiş ve 16 saat boyunca oda ısısında ekstraksiyona bırakılmıştır. Bekleme işleminin ardından ekstre süzülüp üzerine tekrardan %80 metanol ilave edilerek aynı işlem 3 kez tekrarlanmıştır. 3 tekrar sonunda elde edilen süzüntüler birleştirilerek rotavaporda alçak basınç altında 40oC'de kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Verim hesabı % a/a cinsinden hesaplanmıştır ve bu sonuçlar **Tablo 2'**de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Hazırlanan ekstrelerin verim miktarları

Numune Kodu	Verim (% a/a)
1	20,3013
2	14,8310
3	15,1081
4	26,0383
5	8,5461
6	5,6860
7	9,2275
8	20,4111
9	16,6574
10	24,1442

### YPSK Analizi ile Kalitatif ve Kantitatif Analiz

Ekstreler üzerinde kafeik asit, klorojenik asit, hiperozit, rutin maddelerinin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır. Bu analiz için, HP Agilent 1260 serisi LC Sistemi ve ACE 5 C18 (5 µm, 150 mm x 4.6 mm) kolonu kullanılmıştır. Cihazda ayrıca HP Agilent 1260 series Autosampler ünitesi bulunmaktadır. Analiz boyunca kolon sıcaklığı 25°C' de sabitlenmiştir. Gradyent akış sistemi olarak, %5 solvan A (asetonitril: su: formik asit, 50:50:0.5) ve %95 solvan B (su: formik asit, 100:0.5) içeren mobil faz kullanılmıştır. 58 dakika boyunca solvan sistemlerinin bileşimi değişmiş, solvan A %100, Solvan B %0 olacak şekilde ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µl'dir. Analizler Diode Array (DAD) detektörü kullanılarak 260, 280, 320 ve 350 nm olmak üzere 4 farklı dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Numune ekstreleri ise 10 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde %25 asetonitril çözeltisi ile hazırlanıp 0,22 µm'lik membran filtrelerden süzülmüştür. Kafeik asit, klorojenik asit, hiperozit ve rutin'in konsantrasyonları 1, 5, 10, 20, 50 ve 100 ppm olacak şekilde metanol kullanılarak hazırlanmıştır. Standart maddeler yukarıda belirtilen yöntem ile uygulanmıştır. Y değeri pik alanı, x değeri konsantrasyon olacak şekilde bir kalibrasyon (Y=mx+n) eğrisi oluşturulmuştur. Numunelerde tespit edilen saf maddelerin pik alanı y değeri yerine koyularak x değeri yani konsantrasyon hesaplanmıştır. Bu çözeltilerin miktar tayinleri eksternal standart yöntemi ile yapılmıştır. Numuneler ve saf maddeler üç tekrar olacak şekilde çalışılmıştır.<sup>9</sup>

Miktar tayinin yanı sıra Teşhis sınırı-Tayin edilebilen en düşük limit (Limit of detection-LOD) ve Tayin sınırı-Hesaplanabilen en düşük limit (Limit of quantiation-LOQ) değerleri de hesaplanmıştır. Bu değerler hesaplanırken saf maddelerin 1 ppm'lik konsantrasyonları 6 tekrar şeklinde sisteme verilmiştir. LOD için bu konsantrasyonların pik alanlarının standart sapmaları hesaplanmıştır ve aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{LOD} = \text{Standart sapma} \times 3,3 / \text{Konsantrasyon}$$

LOQ için de yine aynı şekilde 1 ppm konsantrasyonların standart sapmaları hesaplanmıştır ve aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{LOQ} = \text{Standart sapma} \times 10 / \text{Konsantrasyon}$$

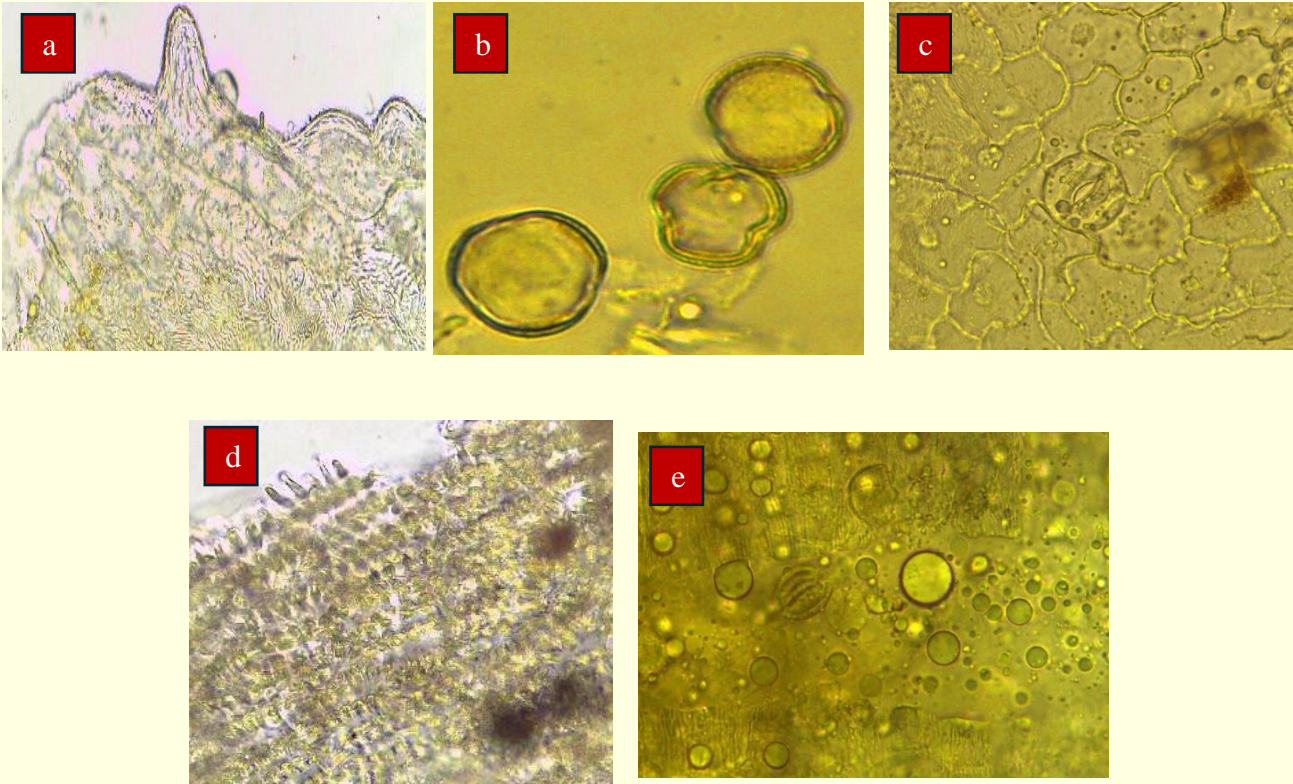
### İstatistiksel analiz

Analiz sonucu elde edilen sayısal verilerden hem standart sapmayı (SS) hem de ortalama değerleri hesaplayabilmek için Microsoft Excel programı kullanılmıştır.

### Bulgular

#### Mikroskop Analizi

Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre mikroskopik inceleme de görülmesi gereken doku elementleri **Şekil 1**'de verilmiştir. Fakat numunelerde Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre *S. nigra* droğunda bulunması gereken elementler dışında farklı yapılar da gözlenmiştir. 1 numaralı numunede iletim demeti, 3 ve 7 numaralı numunelerde *S. nigra*'ya ait olmayan polen yapıları, 3 numaralı numunede ek olarak kopmuş ve *S. nigra*'ya ait olmayan örtü tüyü, 4 numaralı numunede bilinmeyen bir yapı ve 9 numaralı numunede şamdan tüy gözlenmiştir.



**Şekil 1.** Avrupa Farmakopesi'ne göre *S. nigra* çiçeklerinde görülen doku elemtleri (10x44)

(a) Örtü tüyü, (b) Polen, (c) Stoma ve billur, (d) Endotesyum, (e) Yağ damlaları

#### Yabancı Madde Tayini

Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre *S. nigra* çiçek droğunda kaba pedikül parçaları ve diğer yabancı maddeler en fazla %8; rengi bozulmuş, kahverengi çiçekler ise en fazla %15 a/a cinsinden bulunmalıdır.<sup>8</sup> Numunelerin içerdiği yabancı madde miktarları **Tablo 3**'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Numunelerin yabancı madde miktarları

Numune Kodu	Yabancı Madde Tayini (%a/a ± SS)	
	Kahverengi çiçek	Kaba pedikül parçaları
1	0,69 ± 0,15	14,24 ± 0,25
2	5,42 ± 0,21	29,58 ± 0,16
3	2,56 ± 0,18	14,83 ± 0,15
4	6,69 ± 0,09	9,14 ± 0,10
5	0,33 ± 0,03	18,06 ± 1,77
6	0,17 ± 0,07	5,90 ± 1,58
7	0,22 ± 0,05	17,76 ± 0,22
8	0,45 ± 0,00	3,03 ± 0,31
9	58,40 ± 2,30	2,09 ± 0,98
10	34,24 ± 0,83	1,00 ± 0,02

\*S.S: Standart sapma

### Total Kül Miktar Tayini ve Kurutmada Kayıp

Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre *S. nigra* çiçek droğunda total kül miktarı maksimum %10 a/a ve kurutmada kayıp maksimum %10 a/a olmalıdır.<sup>8</sup> Numunelerin total kül miktarları ve kurutmada kayıp sonuçları **Tablo 4**'te verilmiştir.

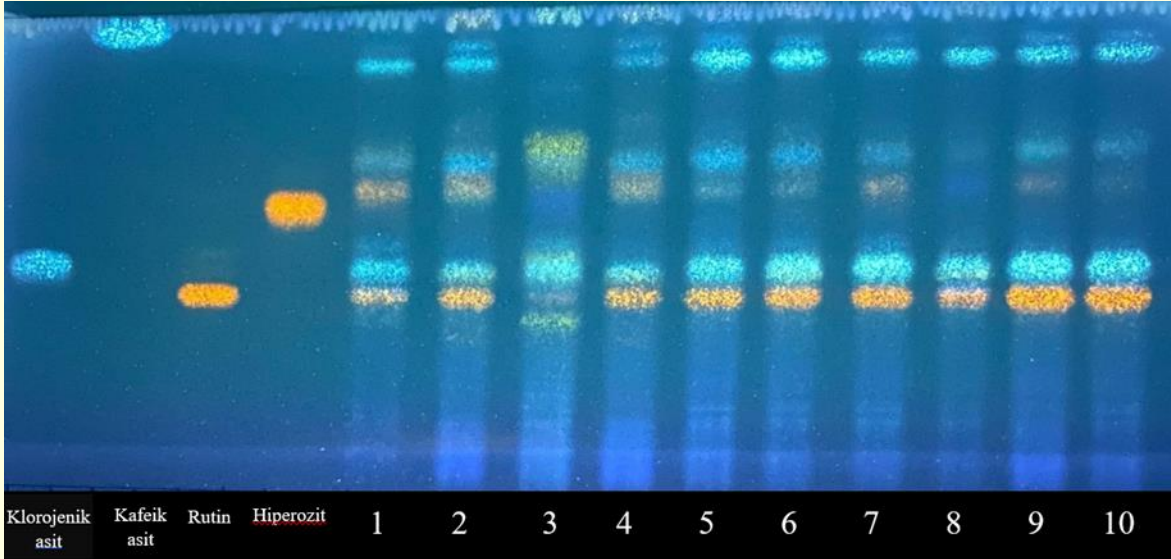
**Tablo 4.** Numunelerin total kül miktar tayini ve kurutmada kayıp miktarları

Numune Kodu	Total Kül Miktar Tayini (%a/a ± SS)	Kurutmada Kayıp (%a/a ± SS)
1	9,25 ± 0,02	8,38 ± 0,05
2	7,44 ± 0,04	6,90 ± 0,07
3	6,96 ± 0,01	8,98 ± 0,03
4	7,75 ± 0,02	9,10 ± 0,03
5	8,71 ± 0,59	7,92± 1,48
6	8,61 ± 0,42	6,68± 1,39
7	8,69 ± 0,31	7,07± 2,10
8	8,11 ± 0,20	6,64± 2,10
9	8,51 ± 0,38	7,09± 1,32
10	9,00 ± 0,48	6,14± 0,36

\*S.S: Standart sapma

### İTK

Saf maddelerin Rf değerleri sırasıyla kafeik asit> hiperozit> klorojenik asit> rutin şeklinde hesaplanmıştır. Numunelerin hepsinde klorojenik asite ait lekeler gözlenmiştir. Rutin 3 numaralı numune dışında tüm numunelerde; hiperozit 3 ve 8 numaralı numuneler dışındaki tüm numunelerde gözlenmiştir. Kafeik asit ise hiçbir numune de gözlenmemiştir. İTK plağının görünümü **Şekil 2**'de verilmiştir.



**Şekil 2.** Numunelere ve referans maddelere ait Naturstoff reaktifi ile revele edilmiş kromatogramın 366 nm'deki görünümü

### YPSK

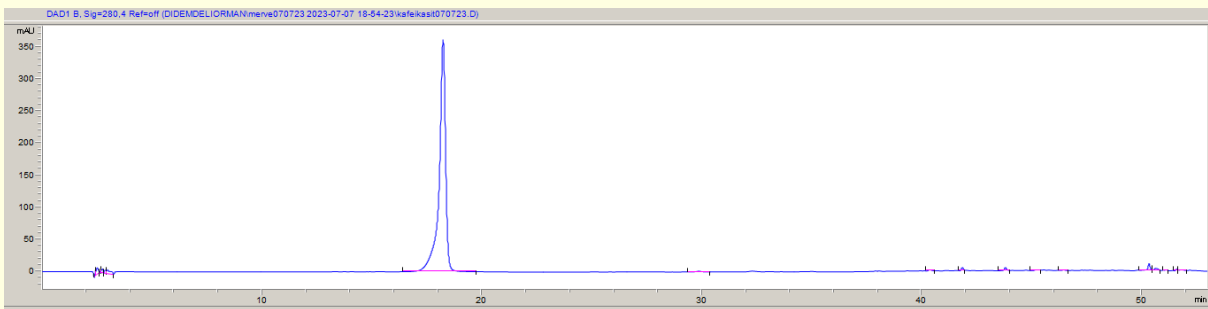
Numunelerin içerdiği fenolik asitler ve flavonoidler YPSK kullanılarak analiz edilmiştir. Ekstrenin fenolik asit ve flavonoid içeriği kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Klorojenik asit, kafeik asit, rutin ve hiperozite ait YPSK kromatogramları **Şekil 3-6'**da verilmiştir.

### Klorojenik asit



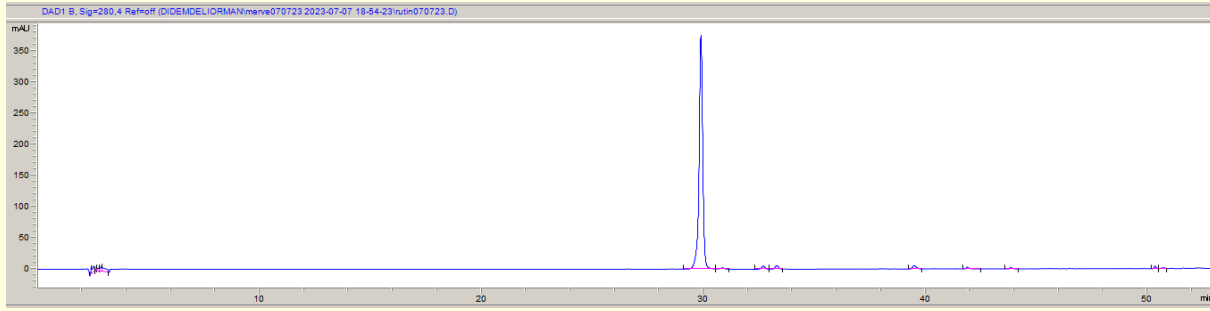
**Şekil 3.** Klorojenik asit YPSK kromatogramı (280 nm)

### Kafeik asit



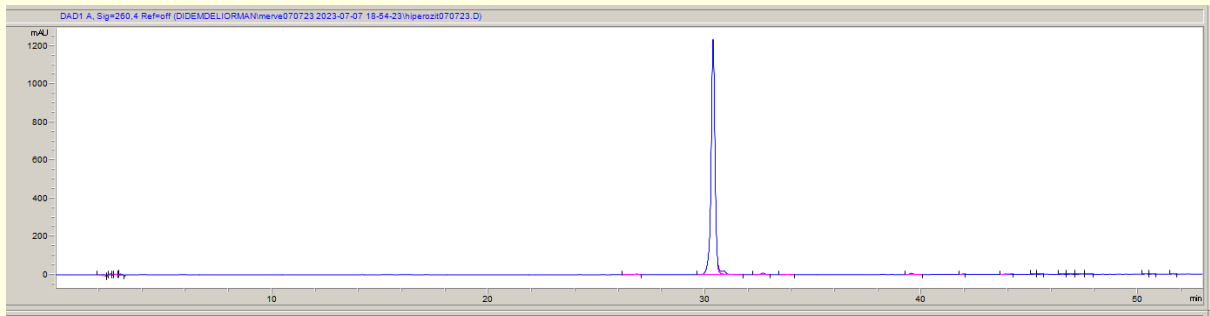
**Şekil 4.** Kafeik asit YPSK kromatogramı (280 nm)

## Rutin



Şekil 5. Rutin YPSK kromatogramı (320 nm)

## Hiperozit



Şekil 6. Hiperozit YPSK kromatogramı (320 nm)

Numune ekstralarında YPSK analizi sonucunda tespit edilen madde miktar sonuçları **Tablo 5**'te verilmiştir. Saf maddelere ait retansiyon zamanı (Rt), kalibrasyon eğrisi, R<sup>2</sup> değeri, LOD ve LOQ değerleri **Tablo 6**'da verilmiştir.

**Tablo 5.** Numunelerde varlığı tespit edilen saf maddeler ve miktarları

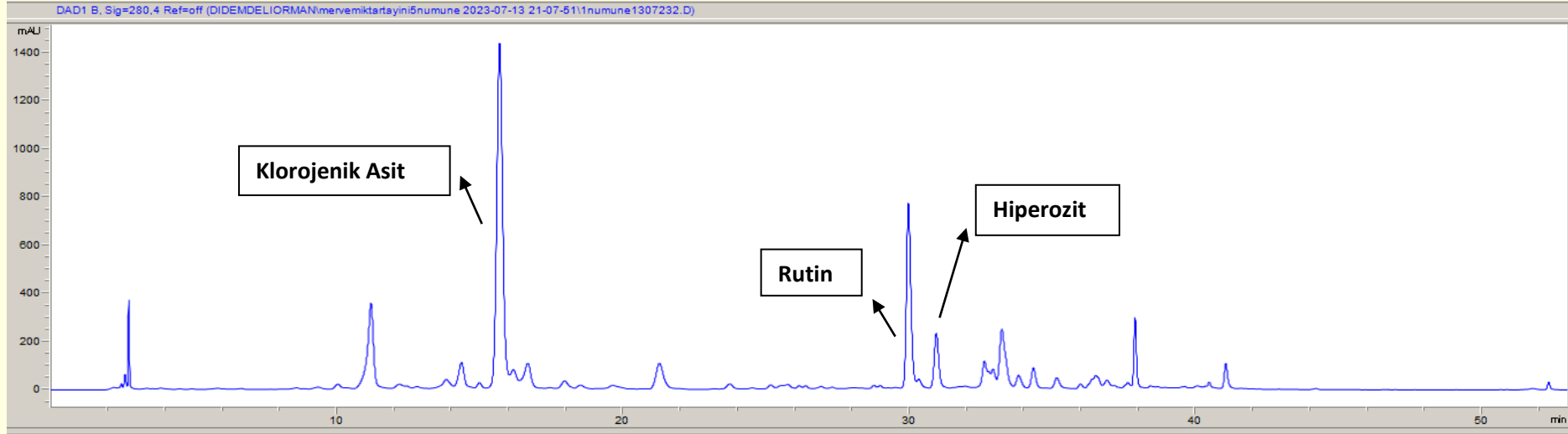
Numune Kodu	Klorojenik asit mg/100 mg ekstre	Kafeik asit mg/100 mg ekstre	Rutin mg/100 mg ekstre	Hiperozit mg/100 mg ekstre
1	10,230 ± 0,130	-	2,240 ± 0,060	1,240 ± 0,030
2	4,960 ± 0,070	-	1,510 ± 0,020	0,110 ± 0,005
3	3,530 ± 0,020	0,075 ± 0,001	-	-
4	4,200 ± 0,020	-	0,720 ± 0,09	0,097 ± 0,004
5	7,900 ± 0,040	0,094 ± 0,002	2,650 ± 0,020	0,118 ± 0,003
6	9,520 ± 0,120	-	2,190 ± 0,040	0,120 ± 0,004
7	6,590 ± 0,030	0,074 ± 0,001	1,610 ± 0,010	0,133 ± 0,006
8	8,680 ± 0,050	-	1,840 ± 0,030	-
9	5,200 ± 0,020	0,074 ± 0,002	2,410 ± 0,030	0,122 ± 0,004
10	4,270 ± 0,080	-	7,730 ± 0,050	0,265 ± 0,003



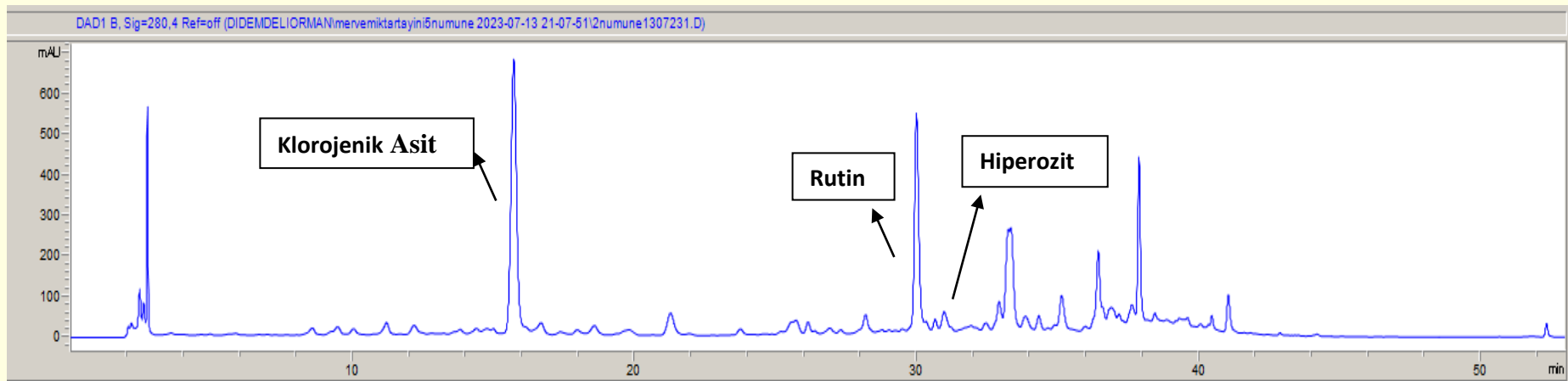
**Tablo 6.** Saf maddelere ait Rt, kalibrasyon eğrisi, R<sup>2</sup>, LOD ve LOQ değerleri

Saf Madde	Rt (dk)	Kalibrasyon Eğrisi	R <sup>2</sup>	LOD	LOQ
Klorojenik asit	15,51	y = 19,576x - 45,642	0,9984	1,10	3,35
Kafeik asit	18,38	y = 126,21x - 351,84	0,9979	5,39	16,36
Rutin	29,41	y = 36,127x + 150,42	0,9993	3,74	11,34
Hiperozit	30,34	y = 67,082x - 99,369	0,9970	2,32	7,19

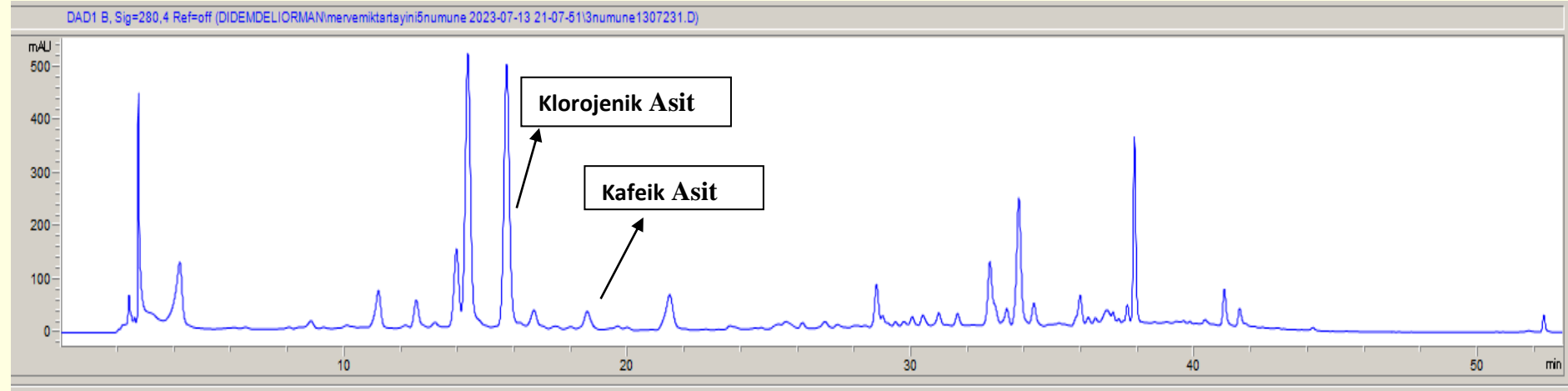
*S. nigra* çiçek numunelerine ait ekstrelerin kromatogramları **Şekil 7-16'**da verilmiştir.



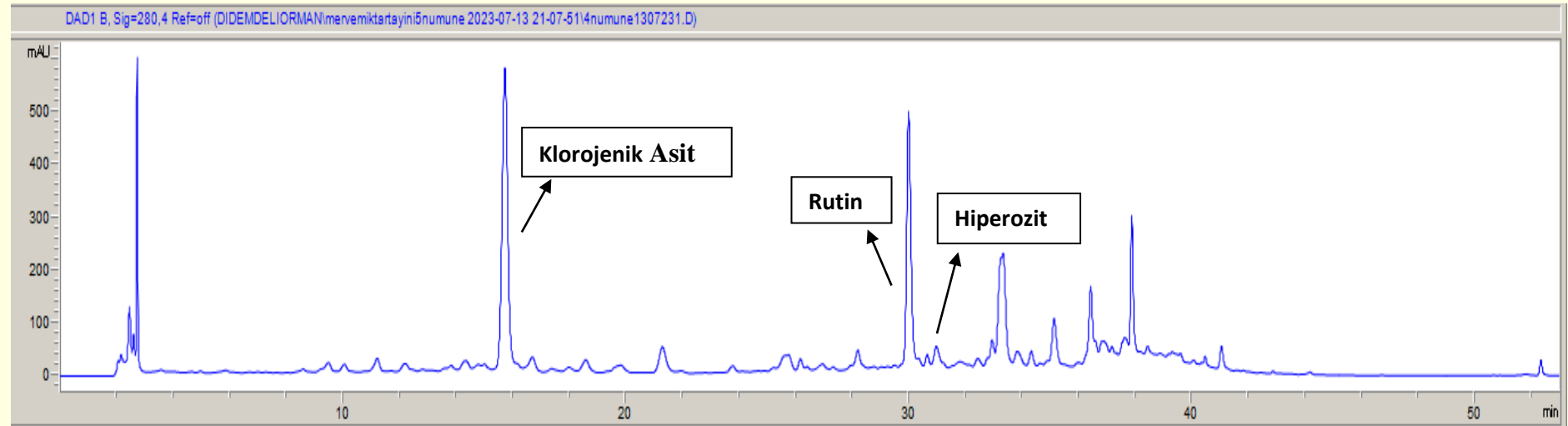
Şekil 7. Numune 1'e ait kromatogram (280 nm)



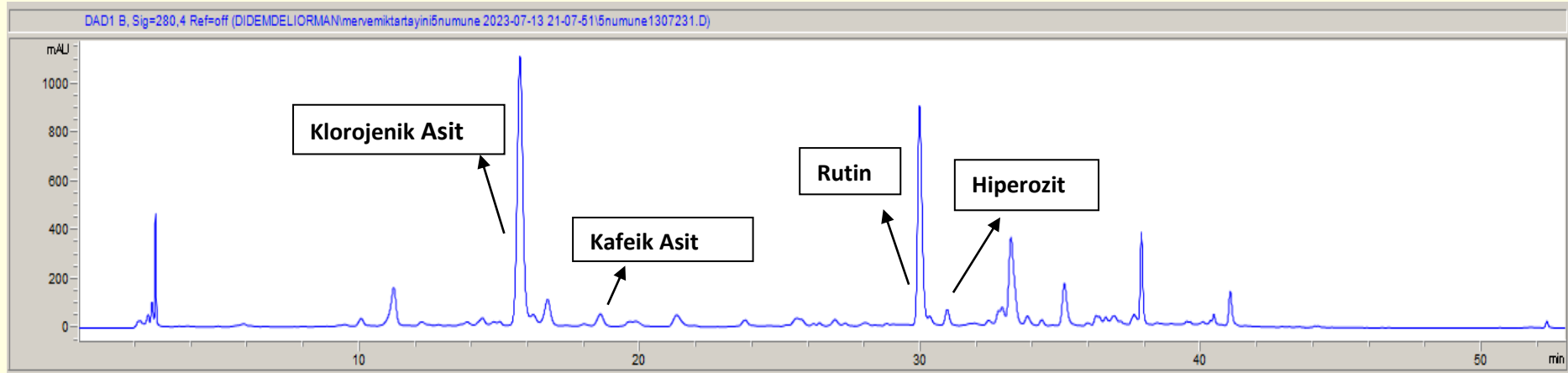
Şekil 8 Numune 2'ye ait kromatogram (280 nm)



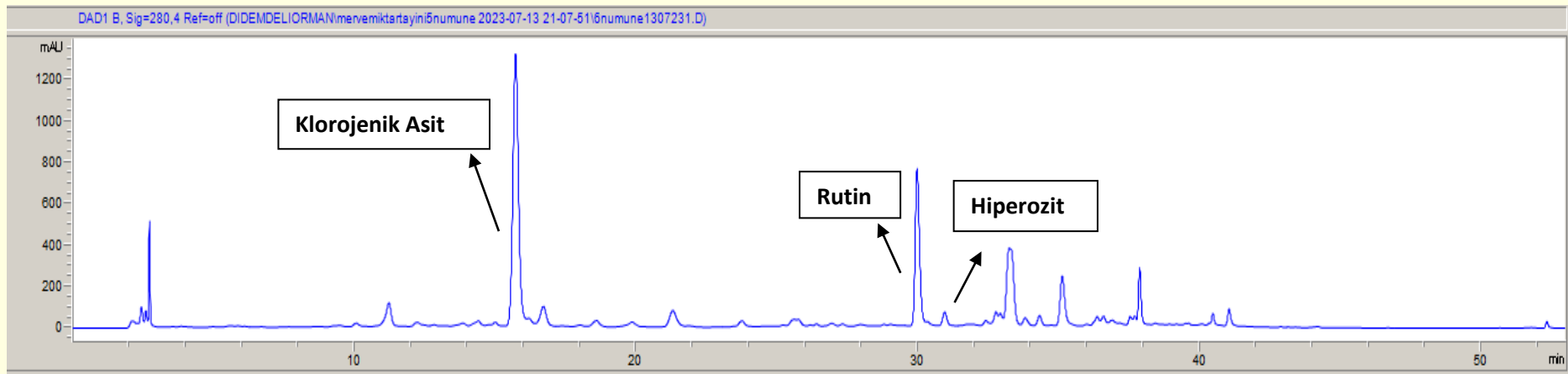
Şekil 9. Numune 3'e ait kromatogram (280 nm)



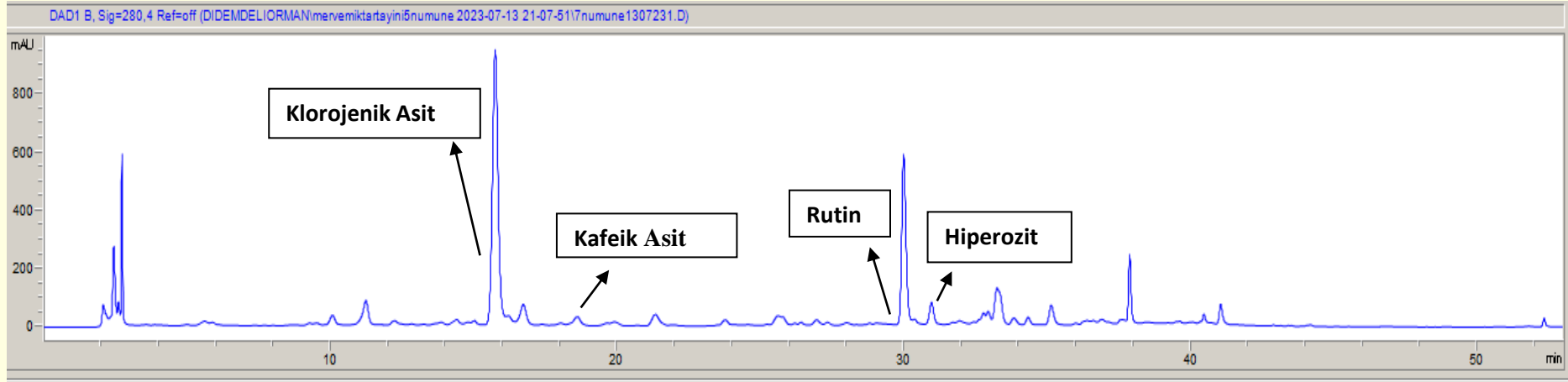
Şekil 10. Numune 4'e ait kromatogram (280 nm)



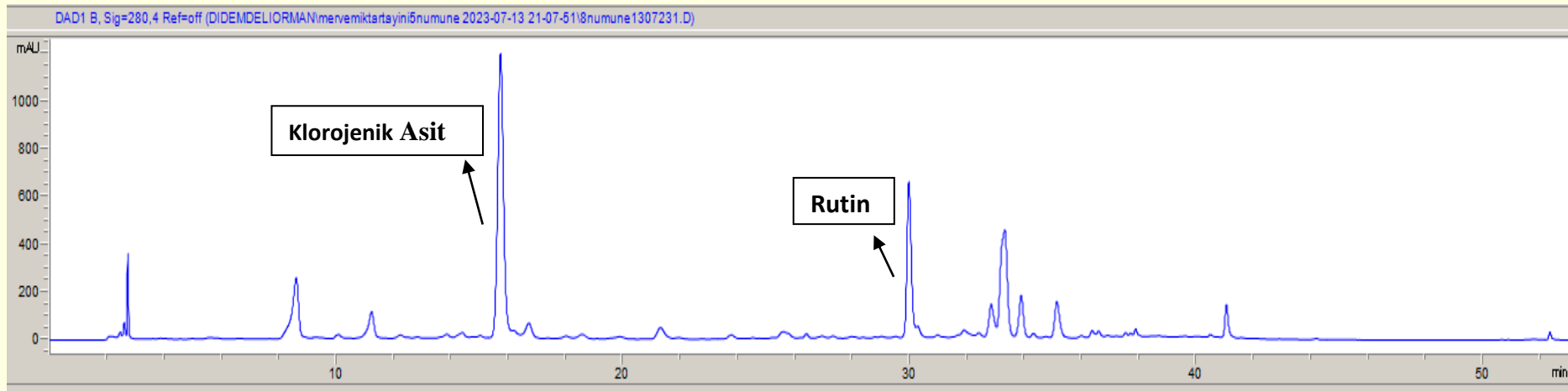
Şekil 11. Numune 5'e ait kromatogram (280 nm)



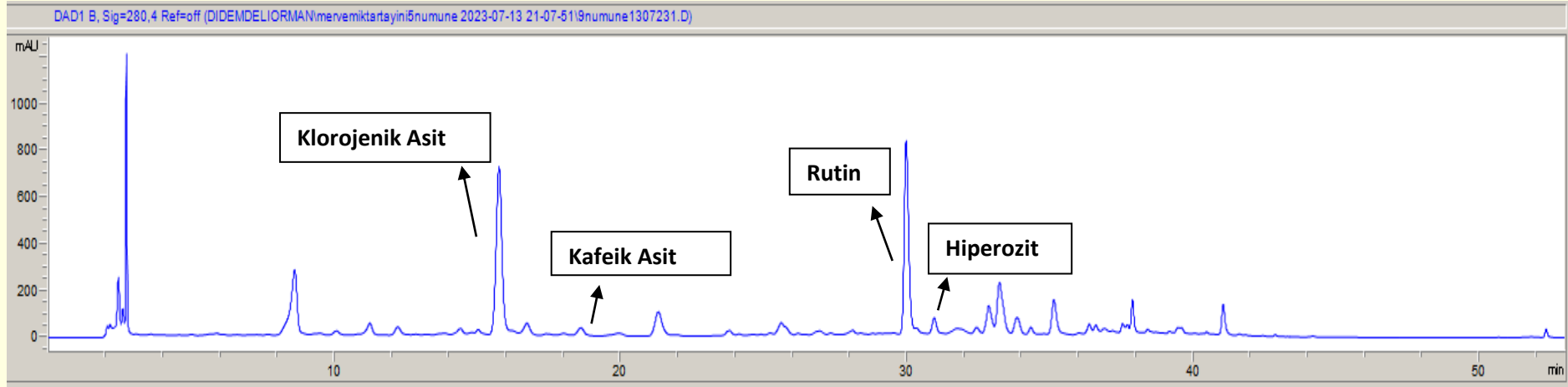
Şekil 12. Numune 6'ya ait kromatogram (280 nm)



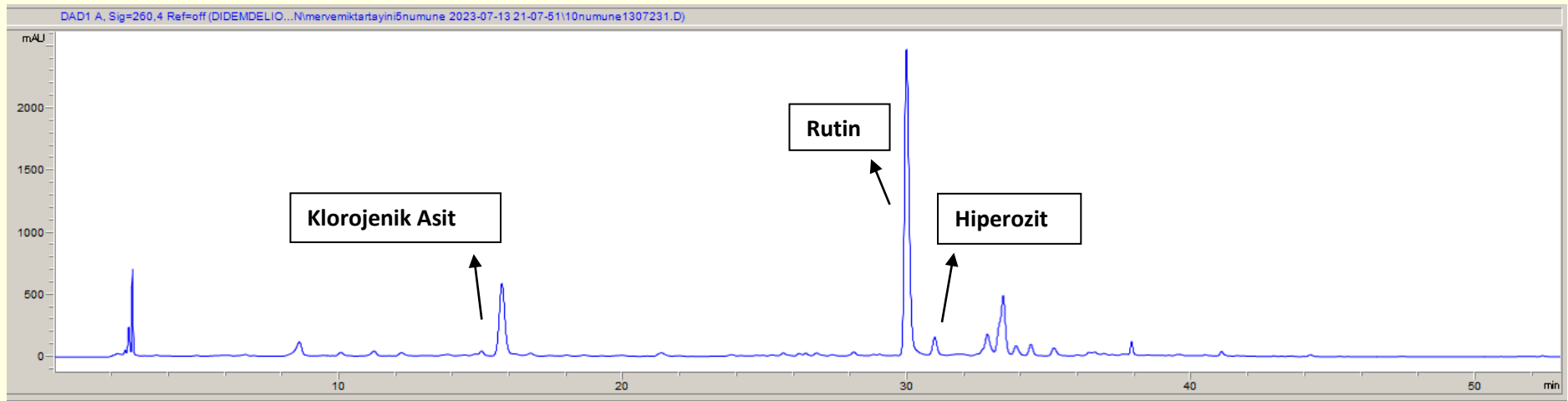
Şekil 13. Numune 7'ye ait kromatogram (280 nm)



Şekil 14. Numune 8'e ait kromatogram (280 nm)



Şekil 15. Numune 9'a ait kromatogram (280 nm)



Şekil 16. Numune 10'a ait kromatogram (280 nm)

## Tartışma

Bu çalışmada, piyasadan temin edilen ve bir tanesi organik tarımla üretilmiş olan toplamda 10 mürver çiçeği numunesi Avrupa Farmakopesi 10.0'da yer alan "Sambuci flos" monografına uygunluk açısından değerlendirilmiştir. Monografta belirtilen mikroskopik teşhis, yabancı madde tayini, total kül miktar tayini, kurutmada kayıp, İTK sonuçları detaylı bir şekilde incelenmiştir. Daha sağlıklı veriler elde etmek için Avrupa Farmakopesi'nde yer almayan ama daha ileri bir analitik teknik olan YPSK tekniği kullanılarak kafeik asit, klorojenik asit, rutin ve hiperozitin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır.

Mürver çiçeği numuneleri makroskopik olarak incelendiğinde organik tarımla üretilen kara mürver çiçek numunesinin renginin aktarlardan ve internetten alınanlarla kıyaslandığında doğal renge çok yakın olduğu diğer örneklerin ise kahverengi renkli oldukları görülmüştür. Bu durum organik tarımla üretilen numune dışındaki numunelerin kurutma yöntemlerinin çok da doğru olmadığını göstermiştir.

Bütün numunelerin mikroskopik incelemesi Avrupa Farmakopesi 10.0'da belirtilen doku elementleri (örtü tüyü, polen, endotesyum, stoma, yağ damlaları, billur) yönünden yapılmıştır. Numunelerde farmakopede belirtilen doku elementleri dışında farklı yapıların da bulunduğu gözlenmiştir. Bu bulgular piyasada kara mürver çiçeği olarak bulunan numunelerin içerisine farklı bitkilerin ya da çiçek haricinde farklı organlarının katıştırıldığını göstermiştir.

Avrupa Farmakopesi *S. nigra* çiçeklerinde yabancı madde tayinini, kaba pedikül parçaları ve kahverengi çiçek miktarının tespitine yönelik iki ayrı değerlendirme ile incelemektedir. Analiz sonucunda kaba pedikül parçaları yönünden Numune 6, 8, 9 ve 10; kahverengi çiçek yönünden ise Numune 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 Avrupa Farmakopesi'ne uygun bulunmuştur. İki analizde de yabancı madde miktarı yönünden farmakopeye uygun bulunan numune 6 ve numune 8 olmuştur. Kaba pedikül parçaları açısından uygunluk göstermeyen numunelerin toplama sırasında çiçek sapı ile birlikte koparılarak toplandığı anlaşılmıştır. Çiçek sapının istenilen miktar üzerine çıkması drogdan hazırlanacak çayda istenilen fenolik bileşikler dışında sap kısmından ekstre edilebilecek farklı sekonder bileşiklerin bulunmasına sebep olarak, çayın etkisinde değişikliklere neden olabileceği düşünülebilir. Kahverengi çiçek miktarı yüksek numunelerin de yine uygun kurutma yöntemleri tercih edilerek kurutulmadıkları sonucuna varılmıştır. Kurutma işleminin tıbbi bitkilerde iyi yapılmaması bitkilerdeki etkiden sorumlu sekonder bileşiklerin farklı bileşiklere dönüşmesine sebep olabilecek faktörlerden biridir. Bu durum da çaydan beklenen etkiyi değiştirebilecektir.

Bütün numuneler total kül miktar tayini ve kurutmada kayıp yönünden farmakopeye uygun bulunmuştur. Total kül miktar tayininin farmakopeye uygun bulunması numunelerin içerisinde taş, metal, toprak gibi inorganik kirliliklerin fazla olmadığını göstermiştir.

İTK plağı incelendiğinde kafeik asit hiçbir numunede gözlenmemiştir. Ancak YPSK analiz sonuçları değerlendirildiğinde sekonder metabolitlerin biyosentez yolağı da göz önünde bulundurularak klorojenik asitin, kafeik asit ve kinik asit tarafından üretilen bir depsid asit olması sebebiyle numunelerin tümünün klorojenik asit içerdiği ama 3, 5, 7 ve 9 numaralı numuneler dışında, ki onlardaki miktarlar da çok az, hiçbir numunenin kafeik asit içermemesi sebebiyle numunelerin toplama zamanı konusunda geç kalındığı fikrine varılmıştır.<sup>10</sup> Ayrıca YPSK analiz sonuçlarına göre organik tarım ile üretilen numune 1'in klorojenik asit ve hiperozid yönünden, numune 3, 5, 7 ve 9'un kafeik asit yönünden ve numune 10'un rutin yönünden zengin olduğu tespit edilmiştir.

*S. nigra*'nın çiçekleri ve meyveleri çeşitli hastalıklara karşı geleneksel bir halk ilacı olarak yaygın olarak

kullanılmaktadır. Soğuk algınlığı, ateşli durumlar, öksürük, burun tıkanıklığı, mukus akıntısı, grip ile ilgili rahatsızlıkların yanısıra bağışıklık sistemini güçlendirmek amacıyla da kullanılmaktadır.<sup>12</sup> *S. nigra* çiçekleri, meyve ve yaprakları ile kıyaslandığında daha yüksek miktarda fenolik bileşik içermektedir.<sup>11</sup>

Mürver çiçeklerinde bulunan en yaygın bulunan fenolik bileşiğin klorojenik asit olduğu bilinmektedir. Klorojenik asidin yanı sıra, neoklorojenik asit, kriptoklorojenik asit, 5-feruloilkinik asit ve 1,5-di-kafeoilkinik asit gibi fenolik asitler; kersetin, kemferol, izoramnetin gibi flavonoidler de bulunmaktadır. Bu gruptaki başlıca flavonoid kersetin-3-rutinozit yani rutin olarak bildirilmiştir.<sup>12</sup>

İçeriğindeki flavonoidlerin varlığı nedeniyle mürver çiçekleri öncelikle diaforetik, ateş düşürücü ve idrar söktürücü etkiler göstermektedir. İçeriğindeki rutin, P vitamini özelliği taşıdığından dolayı kılcal damarların esnekliğini artırır ve geçirgenliğini azaltarak kırmızı kan hücrelerinin ve plazmanın damar dışına sızmasını engellemektedir. Bu özelliklerin yanı sıra mürver çiçekleri antienflamatuvar ve antibakteriyel özellikler de göstermektedir. Boğaz ağrısını tedavi etmek için gargara şeklinde veya konjonktivit tedavisinde kompres olarak kullanılabilir. Haricen veya dahilen uygulama için çoğunlukla kurutulmuş çiçeklerin infüzyonları kullanılmaktadır.<sup>12</sup>

*S. nigra*'nın çiçekleri genellikle meyvelerden ve yapraklardan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.<sup>12</sup> Dawidowicz ve arkadaşlarının 2006 yılında yapmış olduğu bir çalışmada *S. nigra* bitkisinin yaprak, çiçek ve meyvelerinin antioksidan etkisi DPPH radikal süpürücü etki ve  $\beta$ -karoten metodu ile araştırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi %80 etanol ile gerçekleştirilmiştir. Yaprak, meyve ve çiçek ekstraktları sırasıyla %48.52, %67.69 ve %94.15 oranlarında DPPH radikal süpürücü etki göstermişlerdir. Ancak  $\beta$ -karoten metodunda yaprak, meyve ve çiçek sırasıyla %19.13, %6.63 ve %5.79 şeklinde antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür.<sup>11</sup>

Mota ve arkadaşlarının 2020 yaptıkları bir çalışmada, mürver meyvelerinden ve taze çiçeklerinden hazırlanan metanol ekstraktlarının antienflamatuvar aktivitesi *in vitro* ve *in vivo* metotlarla araştırılmıştır. Ekstraktların antienflamatuvar etkisi ilk olarak Lipopolisakkarit ile uyarılan makrofajlarda nitrik oksit üretiminin azaltılmasıyla değerlendirilmiştir. Sonuçta hazırladıkları taze çiçek ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre daha yüksek *in vitro* anti-enflamatuvar aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. *In vivo* olarak akut lokal enflamasyonu incelemek için yaygın olarak kullanılan modellerden biri olan sıçanlarda karragen nedenli pençe ödemi deneyi uygulanmıştır. Mürver çiçeği ekstraktlarının yine aynı şekilde, oral ve topikal uygulamada da pozitif kontrol olan diklofenaka benzer güçlü antienflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>13</sup>

Hearst ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları bir başka çalışmada ise mürver çiçeklerinin, meyvelerinin ve yapraklarının %50 etanol- çözeltisi ile hazırlanan ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) dahil olmak üzere 13 nozokomiyal patojene karşı incelenmiştir. Mürver çiçeği ekstraktları, diğer ekstraktlara göre özellikle MRSA (17 mm) veya *Pseudomonas aeruginosa*'a (9 mm) karşı güçlü bir antibakteriyel etkinlik göstermiştir.<sup>14</sup>

Gray ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir çalışmada mürver çiçeklerinde bulunan suda çözünür bileşiklerin, glikoz metabolizmasını doğrudan uyarabildiği ve klonal pankreatik  $\beta$  hücreleri yoluyla insülin salgılanmasını uyardığı bildirilmiştir. Mürver çiçeği sulu ekstraktının (1 g/L) uygulanması ile insülin enjeksiyonuna gerek kalmadan fare karın kasının 2-deoksi-glukoz taşınımını, glikoz oksidasyonunu ve glikojenezi önemli ölçüde artırmıştır. Sonuçlar *S. nigra* çiçeklerinin insülin salgılatıcı ve insülin benzeri aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.<sup>15</sup>

Yapılan literatür tarama çalışmaları sonucunda, piyasada satışı yapılan ve organik tarımla üretilmiş kara



mürver bitkisinin çiçekleri üzerinde Avrupa Farmakopesi kriterleri açısından değerlendirilmiş bir kalite kontrol ve piyasa örneklerinde de kalite için önem arz eden sekonder bileşik gruplarının (fenolik bileşikleri) kalitatif ve kantitatif analizlerinin YPSK yöntemi ile incelendiği bir çalışmanın olmadığı görülmüştür. Bu yüzden çalışma bu kapsamda, piyasada (özellikle aktarlarda ve internet sitelerinde) sağlık faydası ile kullanılan *S. nigra* (kara mürver) çiçek örneklerinin Avrupa Farmakopesi 10.0'a göre değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

### Sonuç

Bu çalışmada aktar ve internetten satın alınan dokuz numune ve organik tarım yöntemi ile üretilen bir numune ile birlikte toplam on numunenin Avrupa Farmakopesi 10.0'da yer alan "Elder flower, *Sambuci flos*" monografında yer alan kriterler yönünden kalite kontrol analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda numunelerin hiçbirinin Avrupa Farmakopesi kriterlerini tam olarak karşılamadığı sonucuna varılmıştır.

Ülkemizde aktar ve internet sitelerinde satışı yapılan birçok çay droğu mevcuttur. Bunların sağlık beyanı ile satışı yasak olsa da halk, basit rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla bu çayları kullanmaktadır. Fakat analiz sonuçlarının da desteklediği üzere bu çay droğlarının aktar ve internet sitelerinden temin edilmesi halk sağlığını tehdit eden bir durumdur. Ayrıca bu ürünlerin onayı ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan yapılmakta olup daha çok denetime tabii tutulması gerekmektedir. Sağlık üzerinde etkileri olduğu düşünülerek terapötik bir amaçla kullanılacak droğların Tıbbi çay kapsamında değerlendirilerek kalite kontrollerinin de Avrupa Farmakope'si kriterlerine göre yapılması gerekmektedir. Ancak "Tıbbi çay yönetmeliği" halen uygulamada olmadığı için piyasada bulunan çay droğlarının çok büyük bir çoğunluğu düşük kalitede olup insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Bu çalışmada da sağlık faydası iddiası ile basit rahatsızlıkların tedavisinde, satılan *S. nigra* çiçek örneklerinin kalite standartları açısından istenen seviyede olmadıkları ve fitoterapide kullanımı amaçlanıyorsa bu drog hammaddelerinin tarımında, toplanmasında, kurutulması ve depolanmasında farmakope kriterlerini karşılayacak bir yol izlenmesi ve eczaneler yoluyla tüketiciye ulaştırılması sağlanmalıdır.

### Bilgi

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Bu çalışma 11-13 Ekim 2023'de çevrimiçi olarak düzenlenen 6. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimya Bilimleri Konferansı'nda (EurasianBioChem 2023) sunulmuştur.

### Araştırmacı Katkı Oranı Beyanı

Merve Türker: Veri toplama veya işleme, analiz veya yorum, kaynak taraması.

Haticenur Negiz: Veri toplama veya işleme, analiz veya yorum, kaynak taraması.

Burçin Özüpek: Veri toplama veya işleme, kaynak taraması, makalenin yazımı, eleştirel inceleme.

Didem Deliorman Orhan: Fikir/kavram, tasarım, denetleme/danışmanlık, analiz veya yorum, eleştirel inceleme.

### Kaynaklar

- Viapiana A, Wesolowski M. The Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Infusions of *Sambucus nigra* L. *Plant Foods Hum Nutr* 2017;72(1):82-87.
- Demir S, Karaalp C. [FFD Monografıları Tedavide Kullanılan Bitkiler: *Sambucus nigra*] Ankara: MN Medikal& Nobel Tıp Kitap Sarayı; 2011. p. 619- 625.

3. Rodrigues S, De Brito ES, De Oliveira Silva E. Elderberry-Sambucus nigra L. In Exotic Fruits. Academic Press 2018;181-185.
4. Akbulut M, Ercisli S, Tosun M. Physico-chemical characteristics of some wild-grown European elderberry (Sambucus nigra L.) genotypes. Pharmacogn Mag 2009;5(20):320-323.
5. Kislichenko VS, Vel'ma, VV. Amino-acid composition of flowers, leaves, and extract of Sambucus nigra flowers. Chem Nat Compd 2006;42:125-126.
6. Anton, AM et al. Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant capacity of polyphenols from Sambucus sp. Dig. J. Nanomater. Biostructures 2013;8(3)
7. Sidor, A, Gramza-Michałowska A. Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (Sambucus nigra) in food—a review. J Funct Foods 2015;18:941-958.
8. Council of Europe (EDQM). Elder Flower, Sambuci fructus. European Pharmacopoeia 10.0. 2019:1453-1455.
9. Gök HN ve ark. Standardization of Juniperus macrocarpa Sibth. & Sm. and Juniperus excelsa M. Bieb. Extracts with Carbohydrate Digestive Enzyme Inhibitory and Antioxidant Activities. Iran J Pharm Res 2021;20(3):441–455.
10. Liu Z et al. Enhanced Biosynthesis of Chlorogenic Acid and Its Derivatives in Methyl-Jasmonate-Treated Gardenia jasminoides Cells: A Study on Metabolic and Transcriptional Responses of Cells. Front Bioeng Biotechnol 2021;8:604957.
11. Dawidowicz AL, Wianowska D, Baraniak B. The antioxidant properties of alcoholic extracts from Sambucus nigra L. (antioxidant properties of extracts). LWT - Food Sci Technol 2006;39(3):308-315.
12. Młynarczyk K, Walkowiak-Tomczak D, Łysiak GP. Bioactive properties of Sambucus nigra L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. J Funct Foods 2018;4:377-390.
13. Mota AH et al. Synchronous insight of in vitro and in vivo biological activities of Sambucus nigra L. extracts for industrial uses. Ind Crops Prod 2020;154:112709.
14. Hearst C et al. Antibacterial activity of elder (Sambucus nigra L.) flower or berry against hospital pathogens. J Med Plant Res 2010;4(17):1805-1809.
15. Gray AM, Abdel-Wahab YH, Flatt PR. The traditional plant treatment, Sambucus nigra (elder), exhibits insulin-like and insulin-releasing actions in vitro. J Nutr 2000;130(1):15-20.