



HYPERICUM SCABRUM L. EKSTRESİNİN ANTIOKSİDAN, ENZİM İNHİBİTÖR AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YPSK ANALİZİ

EVALUATION OF ANTIOXIDANT, ENZYME INHIBITOR ACTIVITY OF HYPERICUM SCABRUM EXTRACT AND HPLC ANALYSIS

Hasya Nazlı GÖK^{1*} , Semih BULUT¹ , Didem DELİORMAN ORHAN¹ 

¹Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06330, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Diyabet ve obezite günümüzün en yaygın sağlık problemleri arasında yer almaktadır. Bu problemlerin tedavisi için yeni ilaç kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Toplumda geleneksel olarak kullanımı ile bilinen *Hypericum scabrum* L. bitkisi bu araştırmanın konusu olmuştur. Araştırma kapsamında *H. scabrum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol (%80) ekstresinin, antioksidan, antidiyabetik, anti-obezite, antikolesterol aktiviteleri ile fitokimyasal içeriğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: *H. scabrum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol (%80) ekstresinin toplam fenol, toplam flavonoit miktar tayini yapılmış ve fitokimyasal içerik değerlendirilmiştir. Aynı zamanda ekstre içeriğinde bulunan fenolik ve flavonoit bileşenler ters faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi YPSK ile araştırılarak miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Ekstrenin antioksidan etkisi DPPH radikal süpürücü etki, metal bağlama kapasite, demir indirgeme gücü, ABTS radikal süpürücü etki, toplam antioksidan kapasite testleriyle değerlendirilmiştir. Ekstrenin antidiyabetik etkisinin araştırılmasında α -glukozidaz ve α -amilaz enzim inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Anti-obezite, lipid metabolizma üzerinde etkilerinin araştırılmasında sırasıyla pankreatik lipaz ve kolesterol esteraz enzim inhibitör aktiviteleri incelenmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Ekstre 2 mg/ml konsantrasyonda 90.16 ± 0.13 DPPH radikal süpürücü etki ve 97.53 ± 0.22 ABTS radikal süpürücü etki göstermiştir. Ekstre 2 mg/ml konsantrasyonda α -glukozidaz enzimi üzerinde 98.80 ± 0.51 inhibitör etki göstermiş olup, bu değer standart madde olarak kullanılan akarboza (99.13 ± 0.11) yakın bulunmuştur. Ekstre 2 mg/ml konsantrasyonda kolesterol esteraz enzimi üzerinde 68.63 ± 1.05 inhibitör etki göstermiştir. Ters faz YPSK analiz sonucuna göre ekstrenin 1.047 ± 0.000 g/100 g ekstre klorojenik asit içerdiği bulunmuştur. Bu

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Hasya Nazlı Gök
e-posta / e-mail: hasyaekin@gmail.com, Tel. / Phone: +903122023172

Gönderilme / Submitted : 15.06.2022

Kabul / Accepted : 12.01.2023

Yayınlanma / Published : 20.05.2023

bulgulara göre ekstrenin antidiyabetik etkili doğal bir kaynak olabileceği ve bu etkinin incelenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabetik, antihiperlipidemik, antioksidan, anti-obezite, *Hypericum scabrum*

ABSTRACT

Objective: Diabetes and obesity are among the most common health problems today. New drug sources are needed to treat these problems. *Hypericum scabrum* L., which is known for its traditional use among the public, has been the subject of this research. Within the scope of the research, it was aimed to investigate the antioxidant, antidiabetic, anti-obesity, anticholesterol activities, and phytochemical content of ethanol (80%) extract prepared from the aerial parts of the *H. scabrum*.

Material and Method: The total phenol, total flavonoid contents, and phytochemical content of the ethanol (80%) extract prepared from the aerial parts of the *H. scabrum* were evaluated. Additionally, the phenolic and flavonoid compounds in the extract were investigated with reverse phase HPLC and their quantitative analysis was carried out. The antioxidant effect of the extract was evaluated with DPPH radical-scavenging effect, metal chelating capacity, ferric reducing power, ABTS radical scavenging effect, and total antioxidant capacity tests. In the investigation of the antidiabetic effect of the extract, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory activities were investigated. To investigate the effects of anti-obesity and lipid metabolism, pancreatic lipase enzyme inhibitory activity and cholesterol esterase enzyme inhibitory activity were investigated, respectively.

Result and Discussion: The extract showed $90.16 \pm 0.13\%$ DPPH radical scavenging and $97.53 \pm 0.22\%$ ABTS radical scavenging activity at 2 mg/ml concentration. The extract had an inhibitory activity of $98.80 \pm 0.51\%$ on the α -glucosidase enzyme at a concentration of 2 mg/ml, and this value was close to the acarbose result used as the standard substance ($99.13 \pm 0.11\%$). The extract showed inhibitory activity of $68.63 \pm 1.05\%$ on the cholesterol esterase enzyme at a concentration of 2 mg/ml. According to the results of reversed-phase HPLC analysis, it was found that the extract contained 1.047 ± 0.000 g/100 g extract chlorogenic acid. According to the results, it was concluded that the extract may be a natural source with antidiabetic effects and further studies are needed to investigate this effect.

Keywords: Antidiabetic, antihyperlipidemic, antioxidant, anti-obesity, *Hypericum scabrum*

GİRİŞ

Diyabet, dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen kronik bir problem olmakla birlikte toplumların önemli sağlık sorunlarından biridir. Diyabetle mücadele için önleyici stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Uluslararası Diyabet Vakfı'na göre dünyada 415 milyon kişiye diyabet teşhisi konulmuştur ve bu sayının 2040 yılına kadar 600 milyonun üzerine çıkacağı tahmin edilmektedir. Obezite, diyabet öncesinde ve diyabet oluşumunda büyük rol oynamaktadır [1]. Obez kişilerde, insülin duyarlılığı ve β -hücre fonksiyonunun modülasyonu azalmaktadır [2]. Diyabet döneminde kolesterol metabolizmasının farklı olduğu ve diyabette kolesterol sentezinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu durum diyabetin kolesterol metabolizması üzerinde etkisinin olduğunu göstermektedir [3].

Diyabette reaktif oksijen türlerinin üretiminin arttığı ve antioksidan savunma kapasitesinin bozulduğu bildirilmiştir. Artan serbest radikal üretiminin ve oksidatif stresin, hastalığın gelişiminde merkezi bir olay olduğu öne sürülmüştür. Bu nedenle, antioksidanların diyabetin iyileştirilmesinde önemli bir rol oynayabileceği üzerinde durulmaktadır. Antioksidan etkili bileşiklerin diyabet yönetimi üzerinde etkileri hakkında birçok rapor bulunmaktadır. Antioksidan kullanımının oksidatif stresi azaltarak diyabetik komplikasyonları hafiflettiği bildirilmektedir [4].

Hypericaceae familyasında yer alan *Hypericum* cinsi 450'den fazla türden oluşmaktadır. *Hypericum* cinsi sıcak, ılıman, subtropikal ve tropikal bölgelerde dağılım göstermektedir [5]. *Hypericum* türleri, yaklaşık iki yüz yıldır farklı tıbbi özelliklere sahip tıbbi bitkiler olarak bilinmektedir [6]. Fitokimyasal içeriği nedeniyle *Hypericum* türlerine son zamanlarda artan bir ilgi vardır [7]. Halk tıbbında ve modern tıpta sıklıkla kullanılmaktadır [6]. Geleneksel Türk tıbbında sedatif, antihelmintik ve antiseptik etkileri nedeniyle uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ayrıca bitkinin yağı depresyon, yanık,

yara, çürük ve çeşitli ağrı biçimlerini tedavi etmek için kullanılmıştır [8]. Literatürde *Hypericum* türlerinin antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antioksidan, antidepresan ve antikonvülzan aktiviteleri ile ilgili raporlar yayınlandığı bildirilmiştir [7].

Bu türlerden biri olan *Hypericum scabrum* L., Türkiye'de kuru kayalık yamaçlarda ve açık ormanlık alanlarda bulunmaktadır [9]. *H. scabrum* halk arasında kepir otu, kızılıcık otu, mayasıl otu olarak bilinmektedir [8,10]. *H. scabrum* uçucu yağının ana bileşenleri α -pinen, timol ve karvakroldür [11]. *H. scabrum* çiçeklerinin temel yağ asit içeriği incelendiğinde ise alfa-linolenik (%48.60), linoleik (%32.53) ve oleik (%11.45) asitlerin olduğu görülmüştür [12]. Fitokimyasal araştırmalar, *H. scabrum* içeriğinde benzoilfloroglusinol türevlerinin bulunduğunu göstermiştir [11,13]. *H. scabrum* içeriğinde apigenin-7-O-glukozit, amentoflavon, hiperisin, psödohiperisin, hiperosid, klorojenik asit, rutin, kersetin ve kersitrin bulunmuştur [14].

H. scabrum L. bitkisinin toprak üstü kısımları geleneksel ilaçların hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [11]. Türk halkı tarafından spazm giderici, yatıştırıcı, iltihap önleyici, ishal, egzama ve hemoroide karşı, çeşitli mantar hastalıklarında mantar önleyici olarak kullanılmaktadır [8,10,15]. Ayrıca bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan merhemler sedef hastalığına karşı kullanılmaktadır [14]. Türkiye'de *H. scabrum* çiçeklerinden hazırlanan infüzyonlar halk arasında diyabet tedavisinde kullanılmaktadır [16]. Çin, Tacikistan ve Moğolistan'da diyabetin önlenmesi ve tedavisi için hazırlanan geleneksel ilaçlarda *H. scabrum* kullanılmaktadır [17].

Yapılan araştırmalara göre *H. scabrum* ekstrelerinin yüksek antioksidan etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan bileşikler serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı korumada yardımcı olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla antioksidan potansiyele sahip bileşikler kardiyovasküler hastalıklarda ve diyabet problemlerinde faydalıdır [18].

Bu araştırmada, *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol (%80) ekstresinin, antioksidan, antidiyabetik, antiobezite ve antikolesterol aktiviteleri incelenmiştir. Antioksidan aktivite incelenirken DPPH radikal süpürücü etki, ABTS radikal süpürücü etki, metal bağlama kapasite, demir indirgeme gücü ve total antioksidan kapasite değerlendirilmiştir. Antidiyabetik aktivitenin incelenmesinde α -glukozidaz ve α -amilaz inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Anti-obezite ve antikolesterol üzerindeki etkiler için sırasıyla pankreatik lipaz ve pankreatik kolesterol esteraz enzimleri üzerindeki inhibisyon değerlendirilmiştir. *H. scabrum* toprak üstü kısımlarının kimyasal içeriğinin araştırılmasında total fenol ve total flavonoid içeriği incelenmiştir. Ayrıca ekstrenin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile standardizasyonu araştırılmıştır. *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin antioksidan, antidiyabetik, anti-obezite ve antikolesterol aktivitelerinin beraber incelendiği araştırmaya literatürde rastlanmamış olup ilk defa bu araştırmada 4 aktivite birlikte incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bitki Materyali ve Ekstraksiyon

Materyal olarak kullanılan *H. scabrum* bitkisinin toprak üstü kısımları Akşehir-Gelendost Yolu bölgesinden Haziran 2014'te toplanmıştır. Bitki Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Botanik Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Mehmet Ufuk Özbek tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na GUEF 3448 numarası ile kaydedilmiştir. Toplanan bitki kısımları gölgede kurutulmuş ve daha sonra öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir. 10 gram tartılan *H. scabrum* toprak üstü kısımların üzerine 200 ml %80 etanol ilave edilmiş ve çalkalayıcı üzerinde 24 saat maserasyon işlemine tabi tutulmuştur. Süre bitiminde ekstreler filtre kağıdından süzülmüş ve örnek üzerine tekrar %80 etanol ilave edilerek aynı işlemler 3 kez yapılmıştır. 3 işlem sonunda elde edilen süzüntüler birleştirilerek alçak basınç altında 45°C'de rotavaporda (Heidolph, Almanya) kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Kuru ekstreler tartılarak verimleri (ağırlık/ağırlık) hesaplanmıştır. Ekstreler kimyasal içerik, antioksidan aktivite testleri, enzim inhibitör aktivite testleri ve YPSK deneylerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

Ekstrenin Kimyasal İçeriği

Toplam Fenol Miktarı

H. scabrum bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresinin üzerine %10 Folin-Ciocalteu rejanı eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi tamamlanınca sodyum karbonat (Na₂CO₃) çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminden sonra 735 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değerleri ölçülmüştür. Ekstrelerin toplam fenol içeriği gallik asit eşdeğeri (GAE) mg/g ekstre şeklinde ifade edilmiştir [19]. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır.

Toplam Flavonoit Miktarı

Hazırlanmış olan ekstrelerin üzerine sırasıyla %95 etanol, 1 M sodyum asetat çözeltisi, %10 AlCl₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımın son hacmi 1000 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Bu karışım daha sonra 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi bittikten sonra 415 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değeri ölçülmüştür. Elde edilen bulgular kersetin eşdeğeri (KE) mg/g ekstre olarak gösterilmiştir [20]. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır.

Antioksidan Aktivite Testleri

DPPH Radikal Süpürücü Etki

%80 etanol çözücüsü ile hazırlanan ekstrelerinin üzerine 1 mM DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra 520 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değeri ölçülmüştür. Bu deneyde askorbik asit standart madde olarak kullanılmıştır. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır. Ekstrelerin ve standart maddenin DPPH radikal süpürücü etkisi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır [21].

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

Metal Bağlama Kapasitesi

Ekstrelerin üzerine 2 mM FeCl₂ çözeltisi eklendikten sonra karışım 5 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu işlemin ardından toplam hacim 130 µl olacak biçimde 5 mM ferrozin çözeltisi eklenmiştir. Metal bağlama kapasitesi deneyinde standart madde olarak etilen diamintetraasetik asit (EDTA) kullanılmıştır. Daha sonra 562 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değeri ölçülmüştür. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar % metal bağlama kapasitesi şeklinde aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır [22].

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

Demir İndirgeme Gücü

Demir indirgeme gücü deneyinde 50 µl örnekler pH 7.2'de hazırlanmış olan sodyum fosfat tamponu (0.1 mol/l) ile muamele edilmiştir. Karışıma potasyum ferrisiyanür (%1) eklendikten sonra karışım 37 °C'de bir saat üzerine cam kapak kapatılarak bekletilmiştir. Bir saatlik sürenin bitiminden sonra %10'luk (ağırlık/hacim) hazırlanan trikoloroasetik asit çözeltisi eklenmiştir. Bu işlemin ardından mikropalak okuyucusu ile 700 nm dalga boyunda karışımın ve standart maddenin ilk absorbans değerleri ölçülmüştür. İndirgeme gücü deney sonuçları standart madde olan kersetin ile mukayese edilmiştir. Daha sonra karışım üzerine %0.1 FeCl₃ çözeltisi eklenerek 700 nm dalga boyunda ikinci absorbans değerleri ölçülmüştür. Absorbans değerleri arasındaki fark alınarak indirgeme gücü hesaplanmıştır. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır [23].

ABTS Radikal Süpürücü Etki

ABTS çözeltisi (7 mM) üzerine potasyum persülfat çözeltisi (2.45 mM) ilave edilmiştir. Karışım çözeltisi, karanlık ortamda 20°C'de 16 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra pH 7.4 fosfat tamponu hazırlanmıştır. Ekstre, standart madde üzerine ABTS ve fosfat tamponu eklenmiştir. Ekstreler standart

madde olan gallik asit ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra 734 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değeri ölçülmüştür. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar % etki şeklinde aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır [23].

$$\% \text{ Etki} = \frac{(\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans örnek})}{\text{Absorbans kontrol}} \times 100$$

Fosfomolibden Testiyle Toplam Antioksidan Kapasite

Ekstreler molibdat reaktifi eklenmiş ve 90°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra karışım soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra ekstrelerin absorbans değeri 695 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile ölçülmüştür. Toplam antioksidan kapasite sonuçları ise askorbik asit eşdeğeri (AAE) mg/g ekstre olarak bulunmuştur [24].

Enzim İnhibitör Aktivite Testleri

***α*-Glukozidaz İnhibitör Aktivite**

Deneyde kullanılmak üzere öncelikle 0.5 M, pH 6.5 fosfat tamponu hazırlanmıştır. *α*-Glukozidaz tip IV enzimi hazırlanan fosfat tamponunda çözülmüştür. Substrat olarak kullanılacak olan *p*-nitrofenil-*α*-D-glukopiranozit (PNG) benzer şekilde fosfat tamponunda çözülerek 20 mM konsantrasyonda hazırlanmıştır. Ekstreler üzerine pH 6.5 fosfat tamponu eklendikten sonra hazırlanan *α*-glukozidaz tip IV enzimi de eklenerek bir karışım elde edilmiştir. Bu karışım 37°C'de 15 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi tamamlanınca karışım üzerine 20 mM PNG substratı eklenmiş ve 37°C'de 35 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir. Bekleme işlemi bittikten sonra ekstrelerin 405 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değerleri ölçülmüştür. Standart madde olarak akarboz kullanılmış ve belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır [25].

***α*-Amilaz İnhibitör Aktivite**

Deneyde tampon olarak sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) kullanılmıştır. Renk rejanı olarak 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) çözeltisi kullanılmıştır. DNS çözeltisi hazırlanırken 5.31 M sodyum tartarat çözeltisi (2M NaOH ile hazırlanmıştır), 96 mM DNS kullanılmıştır. Enzim olarak *α*-amilaz tip I kullanılmıştır. Bu deneyde standart madde olarak akarboz, substrat olarak %2.5 nişasta çözeltisi kullanılmıştır. Aynı zamanda deneyde maltoz kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Ekstre ve standart madde üzerine sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) ve *α*-amilaz enzimi eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra substrat olarak nişasta çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika boyunca karışım bekletilmiştir. Daha sonra karışım üzerine DNS renk rejanı eklenerek karışım 80°C'de 40 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir. Süre sonunda karışım üzerine distile su eklenerek 540 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile ekstrelerin absorbans değeri ölçülmüştür. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır [26].

Pankreatik Lipaz İnhibitör Aktivite

Deneyde domuz pankreasından elde edilen *α*-amilaz tip II enzimi kullanılmıştır. Enzim hazırlanırken 10 mM 4-morfolinpropansülfonik asit ve 1 mM EDTA çözeltisinden hazırlanan pH 6.8 olan tampon çözeltisi kullanılmıştır. Deneyde kullanılmak üzere 100 mM Tris-HCl ile 5 mM CaCl₂ karışımından oluşan ve pH 7.0 olan Tris tamponu hazırlanmıştır. Standart madde olarak orlistat, substrat olarak 5 mM 4-nitrofenil butirat kullanılmıştır. Tris tamponu üzerine ekstreler eklendikten sonra karışıma enzim çözeltisi ilave edilmiştir. Oluşan karışım 37°C'de 15 dakika boyunca etüvde bekletilerek inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyondan sonra 5 mM 4-nitrofenil butirat eklenerek 37°C'de 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Daha sonra 405 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile ekstrelerin absorbans değeri ölçülmüştür. Belirtilen tüm işlemler 3 kez tekrarlanmıştır [27].

Kolesterol Esteraz İnhibitör Aktivite

Pankreatik kolesterol enzimi 0.1 M pH 7.0 sodyum fosfat tamponu ile hazırlanmıştır. Deneyde kullanılmak üzere 12 mM taurokolik asit hazırlanmıştır. Substrat olarak 5 mM 4-nitrofenil butirat, standart madde olarak simvastatin kullanılmıştır. 96 kuyucuklu mikropalak içerisine pH 7.0'de hazırlanan

sodyum fosfat tamponu ve 12 mM taurokolik asit eklenmiştir. Bu karışımın üzerine 5 mM 4-nitrofenil butirat ve ekstre eklendikten sonra 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyondan sonra karışıma 0.1 µg/ml enzim eklenerek 405 nm dalga boyunda 15 dakika boyunca mikropalak okuyucu ile kinetik okuma gerçekleştirilmiştir [28].

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

Ekstrenin fitokimyasal içeriği ters faz-YPSK (HP Agilent 1260 seri LC sistem) kullanılarak araştırılmıştır. Kolon olarak ACE 5 C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm) kullanılmıştır. Analiz boyunca kolon 25°C sıcaklığına ayarlanmıştır. Analizde akış olarak gradient akış tercih edilmiştir. Analiz başlatılırken mobil faz sistemi; Asetonitril:H₂O:Formik asit (80:20:0.5) karışımından oluşan %5 Solvan A ve H₂O:Formik asit (100:0.5) karışımından oluşan %95 solvan B'ye ayarlanmıştır. Bu akış toplamda 53 dakikada gerçekleşmiş olup %100 A olduğu zaman analiz sonlanmıştır. Analiz akış hızı 0.8 ml/dakika ve enjeksiyon hacmi 20 µl olarak ayarlanmıştır. Bu analizde Diode Array (DAD) dedektörü kullanılmış olup araştırılacak moleküllerin maksimum dalga boyları göz önüne alınarak analiz için 260, 280, 320 ve 350 nm dalga boyları seçilmiştir. Analizde ekstrenin fenolik içeriğinin aydınlatılmasında ferulik asit, gallik asit, *trans*-sinnamik asit, klorojenik asit, protokateşik asit, rosmarinik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, siringik asit, sinapik asit, elajik asit, kafeik asit, epikateşin, kateşin standartların oluştuğu fenolik bir karışım kullanılırken, ekstrenin flavonoid içeriğinin aydınlatılmasında ise apigenin-7-*O*-glukozit, rutin, umbelliferon, mirsetin, naringenin, apigenin hesperidin, luteolin, kersetin standartlarından oluşan bir flavonoid karışımı kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Ekstraksiyon işlemleri sonucunda alçak basınç altında 45°C'de rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırılan ham ekstre veriminin %20.26 (ağırlık/ağırlık) olduğu görülmüştür. Toplam fenol içerik miktarının 140.39 ± 10.20 gallik asit eşdeğeri mg/g ekstre olduğu bulunurken kalibrasyon denklemi $y = 6.3667x - 0.0118$, $r^2 = 0.9999$ olmuştur. Yapılan toplam flavonoid içerik miktar tayini deney sonucunda ekstrenin flavonoid içeriğinin 49.65 ± 4.15 kersetin eşdeğeri mg/g ekstre olduğu görülürken, kalibrasyon denklemi $y = 2.1694x - 0.0067$, $r^2 = 0.9999$ olarak bulunmuştur.

Ekstre üzerinde farklı antioksidan aktivite testleri yapılmıştır. Bu yapılan testlere göre *H. scabrum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresinin 1 mg/ml konsantrasyonda toplam antioksidan kapasitesi 196.04 ± 19.70 askorbik asit eşdeğeri mg/g ekstre olduğu bulunmuş olup kalibrasyon denklemi $y = 1.8309x - 0.1606$, $r^2 = 0.9981$ olmuştur. Hazırlanan ekstrelerin DPPH radikal süpürücü etki sonuçları incelendiğinde tüm konsantrasyonlarda yüksek radikal süpürücü etki gözlenmiş olup, ekstrenin 2 mg/ml konsantrasyon haricinde diğer tüm konsantrasyonlarda (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml) standart madde olarak kullanılan askorbik asitten daha yüksek etki gösterdiği dikkat çekmiştir. Metal bağlama kapasitesi deney sonuçları incelendiğinde ekstre en yüksek bağlama kapasitesini 2 mg/ml konsantrasyonda 45.98 ± 8.88 olarak göstermiştir. Metal bağlama kapasitesi deneyinde kullanılan standart madde EDTA ise tüm konsantrasyonlarda %100 bağlama kapasitesi göstermiştir. İndirgeme gücü absorbans değerleri incelendiğinde ekstrenin konsantrasyonu azaldıkça absorbans değerlerinin de azaldığı görülmüştür. ABTS radikal süpürücü etki sonuçları incelendiğinde ekstrenin 2 mg/ml konsantrasyonda süpürücü etkisi 97.53 ± 0.22 bulunurken aynı konsantrasyonda standart madde olarak kullanılan gallik asitin süpürücü etkisi 98.10 ± 0.80 bulunmuştur. Bu sonuca göre ekstrenin 2 mg/ml konsantrasyonda standart maddeye yakın bir radikal süpürücü etki gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. *H. scabrum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresinin antioksidan aktivite test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bitki ekstresinin α -glukozidaz, α -amilaz, pankreatik lipaz ve kolesterol esteraz enzimleri üzerinde inhibitör etkileri araştırılmıştır. Ekstrenin diyabet üzerindeki etkisi hem α -glukozidaz hem de α -amilaz inhibitör aktivite değerlendirilmiştir. Antidiyabetik etki için α -glukozidaz enziminde konsantrasyona bağlı olarak artan bir inhibitör aktivite bulunmuştur. *H. scabrum* toprak üstü kısımlarının %80 etanol ekstresi 2 mg/ml konsantrasyonda α -glukozidaz enzimi üzerinde 98.80 ± 0.51 inhibitör aktivite göstermiştir. Standart madde olarak kullanılan akarboz aynı enzim üzerinde 99.13 ± 0.11 inhibitör aktivite göstermiştir. Belirtilen konsantrasyonda ekstre ve standart maddenin enzim üzerinde benzer

inhibisyon değeri gösterdiği bulunmuştur. Antidiyabetik etkinin incelendiği α -amilaz enzim inhibisyonu deney modelinde ise ekstre 2 mg/ml konsantrasyonda 7.08 ± 1.79 enzim inhibisyonu oluştururken bu deney modelinde standart madde olarak kullanılan akkarboz aynı konsantrasyonda 92.75 ± 0.68 inhibisyon oluşturmuştur. Ekstrenin diğer konsantrasyonları için α -amilaz üzerinde herhangi bir inhibitör aktivite saptanmamıştır. *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresi 2 mg/ml konsantrasyonda pankreatik lipaz enzimi üzerinde 28.03 ± 0.39 inhibitör etki göstermiş olup daha düşük konsantrasyonlarda inhibitör etki göstermemiştir. Pankreatik lipaz inhibitör aktivite araştırması sırasında standart madde olarak kullanılan orlistat 2 mg/ml konsantrasyonda 64.53 ± 0.32 inhibitör etki göstermiştir. Ekstrenin kolesterol esteraz enzimi üzerinde doz bağlı olarak artan inhibitör etkisi olduğu izlenmiştir. Ekstre standart madde olarak kullanılan simvastatin ile karşılaştırıldığı zaman ekstrenin 0.25 mg/ml konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonlarda simvastatinden daha güçlü inhibitör aktivite göstermesi dikkat çekmiştir. Elde edilen bulgulara göre *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresi incelenen 4 farklı enzim modeli üzerinde en yüksek inhibitör etkiyi α -glukozidaz enzimi üzerinde gösterdiği görülmüştür. Aynı zamanda kolesterol esteraz enzim inhibisyonu modelinde incelenen konsantrasyonlar birbiriyle kıyaslandığı zaman 0.25 mg/ml konsantrasyonu haricinde diğer tüm konsantrasyonlarda %50'nin üzerinde inhibitör etki olduğu anlaşılmıştır.

H. scabrum toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresinin dört farklı enzim modeli üzerindeki göstermiş oldukları inhibitör aktivite sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. *H. scabrum* ekstresinin antioksidan aktivite test sonuçları

Ekstre/Standart Madde Adı	Ekstre/Standart Madde Konsantrasyonu	DPPH Radikal Süpürücü Etki % Etki \pm S.S*	Metal Bağlama Kapasitesi % Kapasite \pm S.S	Demir İndirgeme Gücü Absorbans \pm S.S	ABTS Radikal Süpürücü Etki % Etki \pm S.S
<i>H. scabrum</i> toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresi	0.25 mg/ml	89.62 \pm 0.29	17.02 \pm 7.76	0.784 \pm 0.08	23.62 \pm 3.01
	0.5 mg/ml	90.79 \pm 0.70	23.26 \pm 4.81	1.380 \pm 0.02	37.52 \pm 1.29
	1 mg/ml	90.92 \pm 0.25	22.55 \pm 3.18	2.533 \pm 0.20	83.78 \pm 3.18
	2 mg/ml	90.16 \pm 0.13	45.98 \pm 8.88	3.810 \pm 0.04	97.53 \pm 0.22
Standart	0.25 mg/ml	88.36 \pm 0.67 ^a	100.00 ^b	3.744 \pm 0.16 ^c	100.00 ^d
	0.5 mg/ml	89.38 \pm 0.61 ^a	100.00 ^b	3.931 \pm 0.00 ^c	99.54 \pm 1.04 ^d
	1 mg/ml	89.66 \pm 0.35 ^a	100.00 ^b	3.930 \pm 0.00 ^c	98.94 \pm 0.26 ^d
	2 mg/ml	90.50 \pm 0.59 ^a	100.00 ^b	3.840 \pm 0.14 ^c	98.10 \pm 0.80 ^d

*Standart sapma ^aAskorbik asit, ^bEDTA, ^cKerasetin, ^dGallik asit

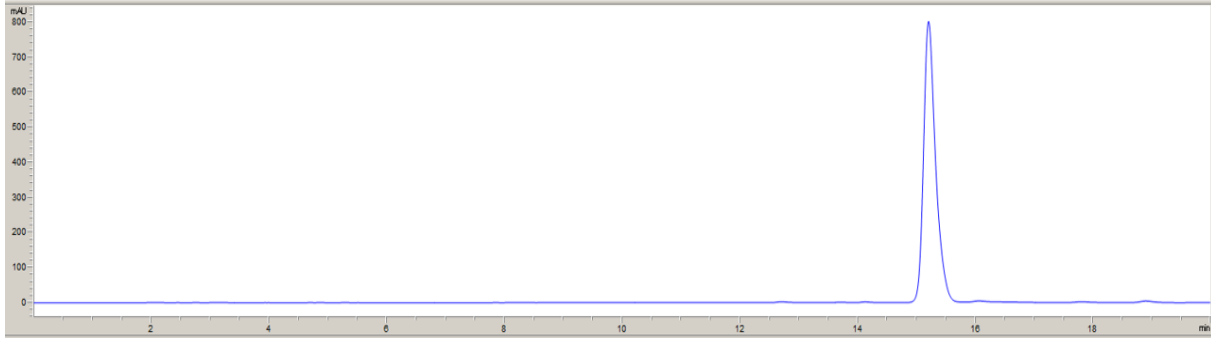
Tablo 2. *H. scabrum* ekstresinin enzim inhibitör aktivite test sonuçları

Ekstre ve Standart Maddeler		Enzim üzerinde % inhibitör Etki \pm S.S*			
Ekstre/Standart Madde Adı	Ekstre/Standart Madde Konsantrasyonu	α -Amilaz	α -Glukozidaz	Pankreatik lipaz	Kolesterol esteraz
<i>H. scabrum</i> toprak üstü kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresi	0.25 mg/ml	-	54.84 \pm 4.28	-	39.86 \pm 2.54
	0.5 mg/ml	-	84.03 \pm 1.18	-	52.37 \pm 0.23
	1 mg/ml	-	95.43 \pm 0.93	-	59.72 \pm 2.80
	2 mg/ml	7.08 \pm 1.79	98.80 \pm 0.51	28.03 \pm 0.39	68.63 \pm 1.05
Standart	0.25 mg/ml	68.68 \pm 1.05 ^a	98.55 \pm 0.14 ^a	62.97 \pm 0.88 ^b	40.67 \pm 4.12 ^c
	0.5 mg/ml	85.30 \pm 0.46 ^a	99.31 \pm 0.29 ^a	62.86 \pm 1.40 ^b	47.88 \pm 5.11 ^c
	1 mg/ml	91.00 \pm 0.43 ^a	99.57 \pm 0.02 ^a	63.84 \pm 1.17 ^b	52.21 \pm 0.12 ^c
	2 mg/ml	92.75 \pm 0.68 ^a	99.13 \pm 0.11 ^a	64.53 \pm 0.32 ^b	53.18 \pm 3.36 ^c

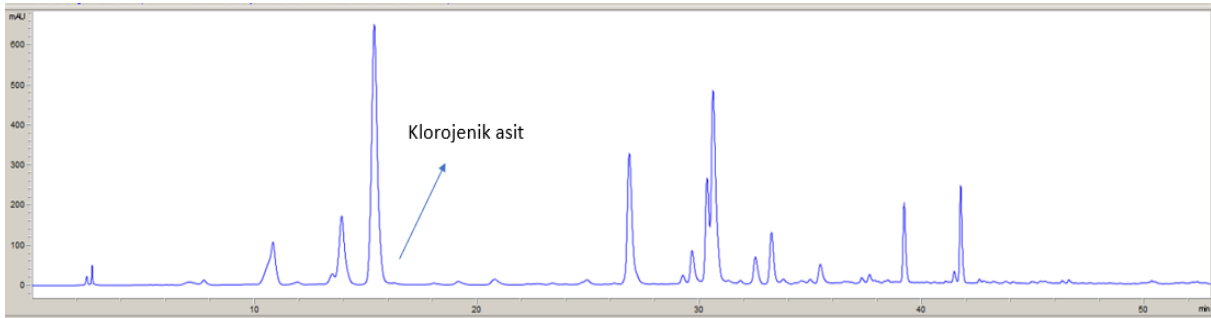
*S.S: Standart Sapma, ^aAkarboz, ^bOrlistat, ^cSimvastatin, -: Aktivite saptanmadı

Ekstrenin fitokimyasal profilini belirlemek için YPSK-ters faz sistemi kullanılmıştır. Ekstrenin flavonoid ve fenolik bileşik içeriği nicel ve nitel olarak incelenmiştir. Analizde *H. scabrum* toprak üstü

kısımlarından hazırlanan %80 etanol ekstresinin fenolik içeriğinin aydınlatılmasında ferulik asit, gallik asit, *trans*-sinnamik asit, klorojenik asit, protokateşik asit, rosmarinik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, siringik asit, sinapik asit, elajik asit, kafeik asit, epikateşin, kateşin standartların oluşan fenolik bir karışım kullanılırken, flavonoit içeriğinin aydınlatılmasında ise apigenin-7-*O*-glukozit, rutin, umbelliferon, mirsetin, naringenin, apigenin hesperidin, luteolin, kersetin standartlarından oluşan bir flavonoit karışımı kullanılmış, sonuç olarak ekstrenin içerisinde araştırılan referans maddelerden sadece klorojenik asidin varlığı tespit edilmiştir. Klorojenik asit miktar tayini ile ilgili referans madde ve ekstre kromatogramları Şekil 1 ve Şekil 2’te gösterilmiştir.



Şekil 1. Standart madde olarak kullanılan klorojenik asit bileşiğinin 320 nm’de kromatogramı



Şekil 2. *H. scabrum* ekstresinin 320 nm dalga boyunda kromatogramı

Ekstre içeriğinde varlığı tespit edilen klorojenik asitin miktar tayini yapılmış olup, miktarı 1.047 ± 0.000 g/100 g ekstre olarak bulunmuştur. Miktar tayini sonuçları Tablo 3’te verilmiştir.

Elde edilen fitokimyasal bulgulara göre ekstrenin standardizasyonun klorojenik asit üzerinden yapılabileceği düşünülmüştür.

Tablo 3. Ekstrede varlığı tespit edilen klorojenik asit miktarı, kalibrasyon denklemleri ve retansiyon zamanları (Rt)

Madde	Tespit Edilen Miktar (g/100 g ekstre)	Tespit Edildiği Rt (Dakika)	Kalibrasyon Denklemi	Katsayı (r^2)
Klorojenik asit	1.047 ± 0.000	15.192	$y=114.78x+24.966$	0.9998

Seyrekoglu ve arkadaşları (2022), *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol:su (3:7) ekstresinin antioksidan etkisini araştırmıştır. Ekstrenin toplam fenolik içeriğinin 148.31 ± 4.57 gallik asit eşdeğeri mg/g ekstre olduğu bulunmuştur. Ekstrenin DPPH radikal süpürücü aktivitesi 3.65 ± 0.40 (IC_{50} , μ g/ml) olmuştur. Ekstreler güçlü DPPH ve toplam antioksidan aktivite sergilemiştir [29].

Türkiye'nin Güneydoğu bölgesinde Mardin ve Diyarbakır'dan toplanan *H. scabrum* bitkisinin antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından %70 etanol ile hazırlanan ekstreler kullanılmıştır. DPPH radikal süpürücü aktivite deneyinde bütil hidroksi toluen (BHT) pozitif kontrol olarak kullanılmış ve BHT 250 µg/ml konsantrasyonda %93 oranında yüksek radikal süpürme kabiliyeti göstermiştir. *H. scabrum* ekstresinin DPPH radikal süpürücü etkisinin BHT'den daha düşük olduğu bulunmuştur. Ekstrelerin ve standart maddelerin artan konsantrasyona bağlı olarak indirgeme gücü artmıştır. Standart olarak kullanılan BHT ve α-tokoferol tüm ekstrelerden daha yüksek indirgeme gücü göstermiştir. Metal bağlama kapasitesi incelendiğinde standart madde olarak kullanılan EDTA'nın tüm konsantrasyonlarda etkisi yaklaşık %100 olmuştur. *H. scabrum* ekstresi 150 mg/ml konsantrasyonda %39 bağlayıcı etki göstermiştir. *H. scabrum* ekstresinin toplam fenol içerik miktarı 262 µg/mg galik asit eşdeğeri ekstre olmuştur [18].

H. scabrum bitkisinin fitokimyasal içeriğinin YPSK analizi ile araştırıldığı bir çalışmada bitkinin toprak üstü kısımları toplanarak, çiçek, yaprak ve gövde kısımlarına ayrılmıştır. Yapılan YPSK analiz sonucunda klorojenik asit, rutin, hiperosit, apigenin-7-O-glukozit ve kersetin birikimleri açısından yapraklar, çiçeklere ve gövdelere göre daha üstün bulunmuştur. Bitkinin çiçek kısımlarının ise daha yüksek düzeyde kemferol, kersitrin ve amentoflavon içerdiği belirtilmiştir [14]. Farklı bir çalışmada *H. scabrum* bitkisinin hiperisin ve psödohiperisin içerip içermediği bitkinin kök, gövde, yaprak ve üreme kısımlarında YPSK kullanılarak araştırılmıştır. Kökte hiperisin bulunmamıştır, yapraklar ve üreme kısımları büyüme evrelerine bağlı olarak her iki bileşiğin farklı düzeylerde olduğu belirtilmiştir [30].

32 bitki türünün *a*-glukozidaz enzimi üzerinde etkisinin incelendiği bir çalışmada *H. scabrum* bitkisi de araştırmaya konu olmuştur. Buna göre *H. scabrum* bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstresi *a*-glukozidaz enzimi üzerinde %60'dan daha yüksek oranda inhibitör aktivite göstermiştir [31].

Türkiye'de yetişen *Hypericum olympicum*, *H. pruinatum* ve *H. scabrum* türlerinin enzim inhibitör potansiyelleri araştırılmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstreleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *H. olympicum* (61.32 ± 3.27 mg orlistat eşdeğeri (OE)/g) ve *H. pruinatum* (39.88 ± 2.51 mgOE/g) ekstreleri, lipaz enzimine karşı kayda değer bir inhibitör etki gösterirken, incelenen tüm ekstreler *a*-amilaza karşı orta düzey bir aktivite göstermiştir. *H. olympicum* (20.06±0.22 mg akarboz eşdeğeri (AE)/g) *H. pruinatum* (20.45±0.11 mgAE/g) ve *H. scabrum* (20.62±0.46 mgAE/g) ekstrelerinin her üçü de α-glukozidaz enzimine karşı güçlü bir aktivite sergilemiştir [32].

Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda *H. scabrum* ekstrelerinin serum lipid profili ve obezite üzerindeki hipolipidemik etkileri incelenmiştir. *H. scabrum* ekstreleri, trigliserit, toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolü değerlerini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Yüksek yağ tüketen grupta yer alan sıçanlara *H. scabrum* ekstresinin verilmesi yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterolü arttırmıştır. Bu araştırma ile *H. scabrum* ekstresinin yüksek yağ tüketimi ile görülen komplikasyonları azalttığı görülmüştür. Dolayısıyla *H. scabrum* ekstresinin hiperlipidemi ve obezite tedavisi için faydalı bitkisel bir ilaç olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir [33].

Tarafımızca yapılan araştırma; *H. scabrum* bitkisinin antioksidan aktivitesinin, kimyasal içeriğinin, enzim inhibitör etkilerinin (*a*-glukozidaz, *a*-amilaz, pankreatik lipaz, kolesterol esteraz) birlikte değerlendirildiği ilk araştırmadır. Antidiyabetik etkinin incelendiği *a*-glukozidaz enzim sisteminde ekstrelerin standart olarak kullanılan akarboza benzer oranlarda inhibitör etki göstermesi dikkat çekmiştir. Fakat ekstreler diğer antidiyabetik etkinin incelendiği *a*-amilaz enzim sistemi üzerinde yüksek inhibitör etki göstermemiştir. Kolesterol esteraz enzimi üzerinde ekstreler standart madde olarak kullanılan simvastatin ile benzer etkiler göstermiş olup, bu durum daha önce *in-vivo* araştırmalarda da tespit edilen antihiperlipidemik etki ile uyum göstermektedir. Daha önce yapılmış enzim inhibisyonu çalışmalarına bakıldığında her iki çalışmada da yüksek α-glukozidaz aktivitesinin görülmesi çalışmamızı destekler niteliktedir [31,32]. α-Amilaz ve pankreatik lipaz inhibisyonları değerlendirildiğinde ise diğer çalışmada Konya'dan yaz aylarında toplanan bitkiden hazırlanan ekstrenin α-amilazı orta derecede inhibe ettiği belirtilmiş, pankreatik lipaz enzimi üzerine ise etki göstermemiştir [32], fakat çalışmamızda ekstrenin α-amilaz enzimini düşük bir oranda, lipaz enzimini ise orta derecede inhibe ettiği görülmüştür. Bunun sebebinin bitkinin fitokimyasal içeriğinde değişime sebep olabileceğinden dolayı, toplama zamanı arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Tarafımızca yapılan çalışmada olduğu gibi yapılan diğer araştırmalarda da ekstrenin

yüksek DPPH radikal süpürücü etkisi olduğu görülmüştür. Diğer antioksidan aktivite (metal bağlama, indirgeme gücü) sonuçları ve toplam fenolik içerik miktarları literatürde yer alan araştırmalar arasında tam uyum göstermemektedir. Bu farklılığın nedeninin bitkinin yetişme şartı, yetiştiği iklim, yükseklik ve toprak mineral dengesi farklılıklarından kaynaklı olabileceğini akla getirmiştir.

Bilindiği üzere diyabette reaktif oksijen türlerinin üretimini artmakta, antioksidan savunma kapasitesi olumsuz yönde etkilenmekte ve hastalığın seyri olumsuz yönde evrilmektedir. Dolayısıyla diyabet tedavisinde ve diyabet semptomlarının azaltılmasında antioksidan etkili doğal kaynaklar önemli bir rol üstlenebilir. Tüm bu bilgiler ışığında *H. scabrum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin antidiyabetik ve antihiperlipidemik etkili doğal bir kaynak olabileceği bu etkilerin daha ileri *in-vivo* ve klinik araştırmalarla desteklenmesine ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

YAZAR KATKILARI

Kavram: H.N.G., S.B., D.D.O.; Tasarım: H.N.G., S.B., D.D.O.; Denetim: H.N.G., S.B., D.D.O.; Kaynaklar: H.N.G., S.B., D.D.O.; Malzemeler: H.N.G., S.B., D.D.O.; Veri Toplama ve/veya İşleme: H.N.G., S.B., D.D.O.; Analiz ve/veya Yorumlama: H.N.G., S.B., D.D.O.; Literatür Taraması: H.N.G., S.B., D.D.O.; Makalenin Yazılması: H.N.G., S.B., D.D.O.; Kritik İnceleme: H.N.G., S.B., D.D.O.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

- Boles, A., Kandimalla, R., Reddy, P.H. (2017). Dynamics of diabetes and obesity: Epidemiological perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1026-1036. [\[CrossRef\]](#)
- Al-Goblan, A.S., Al-Alfi, M.A., Khan, M.Z. (2014). Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 7, 587-591. [\[CrossRef\]](#)
- Simonen, P.P., Gylling, H.K., Miettinen, T.A. (2002). Diabetes contributes to cholesterol metabolism regardless of obesity. *Diabetes Care*, 25(9), 1511-1515. [\[CrossRef\]](#)
- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 59(7), 365-373. [\[CrossRef\]](#)
- Sharopov, F.S., Gulmurodov, I.S., Setzer, W.N. (2010). Essential oil composition of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum scabrum* L. growing wild in Tajikistan. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(6), 284-290.
- Jiang, L., Numonov, S., Bobakulov, K., Qureshi, M.N., Zhao, H., Aisa, H.A. (2015). Phytochemical profiling and evaluation of pharmacological activities of *Hypericum scabrum* L. *Molecules*, 20(6), 11257-11271. [\[CrossRef\]](#)
- Eslami, B., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Mahmoudi, M. (2011). Pharmacological activities of *Hypericum scabrum* L. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(5), 32-37.
- Baytop, T. (1999): *Therapy with Medicinal Plants in Turkey; Today and in Future*. Istanbul, Istanbul University Press, pp. 166-167.
- Davis, P.H. (1970). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.
- Tatli, A. (1988): *Important Range Plants of Erzurum Province*. Ankara, Turkey, Food and Agricultural Organization of the United Nations Press, pp. 1-77
- Pirbalouti, A.G., Rahnema, G.H., Malekpoor, F., Broujeni, H.R. (2011). Variation in antibacterial activity and phenolic content of *Hypericum scabrum* L. populations. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4119-4125.

12. Özen, H.Ç., Başhan, M. (2003). The composition of fatty acids in *Hypericum scabrum*, *H. scabroides* and *H. amblysepalum*. Turkish Journal of Chemistry, 27(6), 723-726.
13. Matsuhisa, M., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Shibata, H., Higuti, T., Kodzhimatov, O.K., Ashurmetov, O. (2002). Benzoylphloroglucinol Derivatives from *Hypericum scabrum*. Journal of Natural Products, 65(3), 290-294. [\[CrossRef\]](#)
14. Ayan, A.K., Radušienė, J., Çirak, C., Ivanauskas, L., Janulis, V. (2009). Secondary metabolites of *Hypericum scabrum* and *Hypericum bupleuroides*. Pharmaceutical Biology, 47(9), 847-853. [\[CrossRef\]](#)
15. Tanker, N. (1971). Studies on *Hypericum scabrum* L. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University, 1(1), 10-15.
16. Dalar, A. (2018). Plant taxa used in the treatment of diabetes in Van Province, Turkey. International Journal of Secondary Metabolite, 5(3), 171-185. [\[CrossRef\]](#)
17. Edirs, S., Jiang, L., Xin, X., Aisa, H.A. (2018). Anti-diabetic effect and mechanism of Kursi Wufarikun Ziyabit in L6 rat skeletal muscle cells. Journal of Pharmacological Sciences, 137(2), 212-219. [\[CrossRef\]](#)
18. Barış, D., Kızıl, M., Aytekin, Ç., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B., Ertekin, A.S. (2011). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. International Journal of Food Properties, 14(2), 339-355. [\[CrossRef\]](#)
19. Zongo, C., Savadogo, A., Ouattara, L., Bassole, I. H.N., Ouattara, C.A.T., Ouattara, A.S., Barro, N., Koudou, J., Traore, A.S. (2010). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of *Ampelocissus grantii* (Baker) Planch. (Vitaceae): a medicinal plant from Burkina Faso. International Journal of Pharmacology, 6(6), 880-887. [\[CrossRef\]](#)
20. Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., Vladimir-Knezevic, S. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. Acta Pharmaceutica, 54(1), 65-72.
21. Jung, H.A., Jin, S.E., Choi, R.J., Manh, H.T., Kim, Y.S., Min, B.S., Son, Y.K., Ahn, B.R., Kim, B.W. Sohn, H.S., Choi, J.S. (2011). Anti-tumorigenic activity of sophoflavescenol against Lewis lung carcinoma *in vitro* and *in vivo*. Archives of Pharmacal Research, 34(12), 2087-2099. [\[CrossRef\]](#)
22. Dinis, T.C., Madeira, V.M., Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, 315(1), 161-169. [\[CrossRef\]](#)
23. Orhan, N., Orhan, D.D., Gökbulut, A., Aslan, M., Ergun, F. (2017). Comparative analysis of chemical profile, antioxidant, *in-vitro* and *in-vivo* antidiabetic activities of *Juniperus foetidissima* Willd. and *Juniperus sabina* L. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 16(Suppl), 64-74.
24. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269(2), 337-341. [\[CrossRef\]](#)
25. Lam, S.H., Chen, J.M., Kang, C.J., Chen, C.H., Lee, S.S. (2008). α -Glucosidase inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*. Phytochemistry, 69(5), 1173-1178. [\[CrossRef\]](#)
26. Ali, H., Houghton, P.J., Soumyanath, A. (2006). α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. Journal of Ethnopharmacology, 107(3), 449-455. [\[CrossRef\]](#)
27. Lee, Y.M., Kim, Y.S., Lee, Y., Kim, J., Sun, H., Kim, J.H., Kim, J.S. (2012). Inhibitory activities of pancreatic lipase and phosphodiesterase from Korean medicinal plant extracts. Phytotherapy Research, 26(5), 778-782. [\[CrossRef\]](#)
28. Ngamukote, S., Mäkynen, K., Thilawech, T., Adisakwattana, S. (2011). Cholesterol-lowering activity of the major polyphenols in grape seed. Molecules, 16(6), 5054-5061. [\[CrossRef\]](#)
29. Seyrekoglu, F., Temiz, H., Eser, F., Yildirim, C. (2022). Comparison of the antioxidant activities and major constituents of three *Hypericum* species (*H. perforatum*, *H. scabrum* and *H. organifolium*) from Turkey. South African Journal of Botany, 146, 723-727. [\[CrossRef\]](#)
30. Ayan, A.K., Çirak, C., Güney, K. (2008). Seasonal variation of hypericin and pseudohypericin contents in *Hypericum scabrum* L. growing wild in Turkey. Natural Product Communications, 3(2), 241-244. [\[CrossRef\]](#)
31. Zarei, M.A., Tahazadeh, H. (2019). Alpha-glucosidase inhibitory activity in methanol extract of some plants from Kurdistan province. Journal of Medicinal Plants, 18(72), 227-235. [\[CrossRef\]](#)
32. Llorent-Martínez, E.J., Zengin, G., Lobine, D., Molina-García, L., Mollica, A., Mahomoodally, M.F. (2018). Phytochemical characterization, *in vitro* and *in silico* approaches for three *Hypericum* species. New Journal of Chemistry, 42(7), 5204-5214. [\[CrossRef\]](#)
33. Faraji, N., Ganji, A., Heshami, N., Salehi, I., Haddadian, A., Shojaie, S., Komaki, A. (2021). Hypolipidemic effects of *Hypericum scabrum* extract on the serum lipid profile and obesity in high-fat diet fed rats. Human Antibodies, 29(1), 55-61. [\[CrossRef\]](#)