

Kırmızı Kantaron (*Hypericum capitatum*) Bitkisi: Fenolik İçeriklerinin, Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi ve Klinik İzolatlar Üzerinde Antimikrobiyal Etkinliğinin Araştırılması

Red Centaury (*Hypericum capitatum*): Determination of Phenolic Content, Antioxidant Activity and Investigation of Antimicrobial Efficacy on Clinical Isolates

Şükran ÖZTÜRK¹ , Yasin HAZER² , Banu KAŞKATEPE³ , Hatice ÇÖLGEÇEN⁴ ,
Muhittin KULAK⁵ 

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

³Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Zonguldak, Türkiye

⁵Iğdır Üniversitesi, Iğdır Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Iğdır, Türkiye

ORCID ID: Şükran Öztürk 0000-0003-2729-171X, Yasin Hazer 0000-0001-8870-0017, Banu Kaşkatepe 0000-0002-9722-4267, Hatice Çölgeçen 0000-0001-8246-4279, Muhittin Kulak 0000-0003-3673-9221

Bu makaleye yapılacak atıf: Öztürk Ş ve ark. Kırmızı kantaron (*hypericum capitatum*) bitkisi: fenolik içeriklerinin, antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ve klinik izolatlar üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması. Med J West Black Sea. 2023;7(1):57-65.

Sorumlu Yazar

Şükran Öztürk

E-posta

sukranozturk79@gmail.com.

Geliş Tarihi

17.02.2023

Revizyon Tarihi

12.04.2023

Kabul Tarihi

14.04.2023



Bu eser "Creative Commons Atımlı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, Kırmızı Kantaron, *Hypericum capitatum* var. *capitatum* (*H. capitatum*) bitkisinin fenolik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, standart suşlar ve klinik izolatlar üzerinde antimikrobiyal etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: *H. capitatum*'un, standart bakteri suşları ile kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) ve çok ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* klinik izolatları üzerindeki antimikrobiyal etki düzeylerine sıvı mikrodilüsyon testi (MİK) ile gerçekleştirilmiştir (ISO, 2006). Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile bazı içerikleri aydınlatılan *H. capitatum* ekstraktının, tohum, gövde ve yaprak örneklerinde total fenol içeriği araştırılmıştır. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile antioksidan etkinlik tayini yapılmıştır.

Bulgular: Metanolla ekstrakte edilen bitkinin, Gram (+) bakterilere karşı *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC-29213 ve Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ATCC 43300 antimikrobiyal etkinliğinin 16 (mg/mL) olduğu saptanmıştır. Dirençli *A. baumannii* klinik izolatlarına karşı, 64-128 mg/mL MİK değerleri ile etkin olduğu tespit edilmiştir. YPSK ile bitkinin tohum kısmındaki içerikler ise, sırasıyla; şikimik asit (1720.42 ppm(mg/ml)), kafeik asit (52.50 ppm(mg/ml)), sinaminik asit, (14.217,61 ppm(mg/ml)), rosmarinik asit (30,90 ppm(mg/ml)) olarak belirlenmiştir. *H. capitatum* kısımlarına göre toplam fenolik madde miktarlarının, yaprak (155,93 mg/L), gövde (177,85 mg/L) ve tohum (344,22 mg/L) şeklinde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. DPPH İnhibisyon aktivitesi; tohum (%55.476 mg/mL), gövde (%57.318 mg/ml), yaprak (%53.241 mg/ml) BHA (Butil hidroksi anozil) ve BHT (Butil hidroksi tolüen) sırasıyla (%93.77 ve %88.62) askorbik asit ise (%95.21) olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Fenolik içerikçe zengin olduğu görülen *H. capitatum*' un, antioksidan etkinlik sonuçları, farklı kısımlarının metanol ekstraktları orta derecede etkili serbest radikal gideren doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. Antimikrobiyal etkinlik sonuçları ise, standart suşlar ve özellikle klinikte tedavisinin zor olduğu bilinen dirençli *A. baumannii* izolatlarına karşı etkinliğinin umut vaat edici olduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Antibakteriyel etki, Antioksidan etki, Fenolik içerikler, *Hypericum capitatum*

ABSTRACT

Aim: It was aimed in this study, to investigate its antimicrobial effect on standard strains and clinical isolates of *Hypericum capitatum* var *capitatum* (*H. capitatum*) and to determine the phenolic content and antioxidant activity plant.

Material and Methods: The antimicrobial effect of *H. capitatum* on standard bacterial strains and colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) and Multi Drug Resistant (MDR) *A. baumannii* clinical isolates were determined by broth microdilution test (MIC) (ISO,2006). The total phenol content of the *H. capitatum* extract, of which some contents were clarified by, was investigated in seed, stem, and leaf samples. Antioxidant activity was determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method.

Results: The plant extracted with methanol was found to have antimicrobial activity against Gram (+) bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC-29213 and Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) ATCC 43300 with 16 mg/mL). The efficacy against resistant *A. baumannii* clinical isolates was found to be effective between 64-128 mg/mL. The contents of the seed part of the *H. capitatum* plant by High liquid pressure chromatography (HPLC) method, were determined as shikimic acid (1720.42 ppm (mg/ml), Caffeic acid (52.50 ppm (mg/ml), Cinamic acid, (14,217.61 ppm (mg/ml), Rosmarinic acid (30.90 ppm (mg/ml)) respectively. According to the *H. capitatum* plant parts, it was determined that the total amount of phenolic substances differed in the form of leaves (155.93 mg/L), stem (177.85 mg/L), and seeds (344.22 mg/L). Inhibition activity of DPPH was determined; seed (55,476%mg/mL), stem (57,318% mg/ml), leaf (53,241% mg/ml), BHA (Butyl hydroxy anosyl) and BHT (Butyl hydroxy toluene), respectively (93.77% and 88.62%) and ascorbic acid (95.21%).

Conclusion: The antioxidant activity results of *H. capitatum*, which was found to be rich in phenolic content, demonstrated that methanol extracts of different plant parts are a natural antioxidant source that moderately scavenges free radicals. When the antimicrobial efficacy results were evaluated, it was observed that its efficacy against standart strains and resistant *A. baumannii* isolates, which are known to be difficult to treat clinically, is promising.

Keywords: Antibacterial effect, Antioxidant effect, Phenolic contents, *Hypericum capitatum*

GİRİŞ

Ülkemizde ve dünyada antibiyotik direncinin giderek artış göstermesine bağlı olarak alternatif tedavi yöntemlerine eğilim ortaya çıkmıştır. Bu kapsamda bitkisel ekstrelerin birçok hastalık etkenini tedavi etmek için potansiyelleri araştırılmaktadır. Bitki bileşenlerinin tespiti ve antimikrobiyal etkinlik düzeylerinin belirlenmesi gittikçe önem kazanmaktadır. Bu sebeple uygun bitkilerin belirlenmesi ve içeriklerinin tespit edilerek antimikrobiyal aktivite tayinlerinin yapılmasıyla, bitkilerin tedavi sürecine katkıda bulunmaları için çalışmalar yapılmaktadır. Ülkemiz, farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip olması, floranın çok sayıda bitki türü ve çeşitliliği içermesinden kaynaklı tıbbi amaçlı tüketilen birçok bitki türüne sahiptir (1). Bu bitkilerin birçoğunun antimikrobiyal etkileri olduğu gerek yurt dışında, gerek ülkemizde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (2-4).

Farklı amaçlar için kullandığımız kimyasal maddelerin, birçok istenmeyen yan etkisinin ortaya çıktığı ve gereksiz yere, uygunsuz dozlarda kullanılan kimyasalların da vücudumuzdaki direnç mekanizmalarını olumsuz yönde etkilediği bilinen bir gerçektir. Bu nedenle doğal ürünlere ve bunlardan elde edilmiş maddelere eğilim günden güne artmaktadır. Son yıllarda bitkisel ürünler ve etkinlikleri ile ilgili yapılan çalışmalardan ortaya çıkan olumlu sonuçlar da bu eğilimi destekler durumdadır. “Kan otu, mayasıl otu, binbirdelik otu, kılıç otu, koyun kıran” gibi farklı isimlerle anılan kantaron türleri (*Hypericum spp.*) ülkemizde doğal bir yayılıma sahiptir ve Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES) (2013) verilerine göre 94 adet olarak bildirilmiştir (5,6). Yurtdışında St. John’s Wort olarak bilinen kantaron ile yapılan farmakolojik çalışmalar bitkinin ve farklı ekstrelerinin antidepresan,

antiinflamatuar, antimikrobiyal, antiviral aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (7).

Türkiye’de *Hypericum* cinsine ait 20 seksiyon ve 106 takson bildirilmiştir (8). 45 taksonun ise endemik olduğu bilinmektedir (9,10). Bu bitki cinsinin içerdiği sekonder metabolitler ekonomik bir değere sahip olduğu için dünya çapında önemli bir yer tutmaktadır (11,12).

Bilimsel çalışmalarla, kantaron türlerinin etkili aktif bileşenlerinin fenolik maddeler ve çeşitli terpenoidler olduğu ortaya konulmuş olup, kimyasal bileşenlerden en ilgi çekicilerin hiperforin ve hiperisin olduğu üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan klinik çalışmalar kantaronun sakinleştirici ve antidepresan etkisinin bu maddelerden kaynaklandığını desteklemektedir (13). Uçucu yağlar, kantaron türlerinde az da olsa bulunan fitokimyasallardandır. Literatürde çok sayıda uçucu yağ bileşeni ortaya konulmuş olup, ülkemizde bulunan kantaron türlerindeki uçucu yağların en belirgin bileşiminin α -pinene olduğu bildirilmiştir. Uçucu yağ oranı ve bileşenleri bitkilerin genetik yapılarına göre farklılık göstermekle birlikte, farklı yetiştirme koşulları, bitki kısımları, gelişme dönemi, hasat şekli ve sonrasında işlemlere göre de değişiklik gösterebilmektedirler (14).

Hypericum türleri (Guttiferae) geniş biyolojik özellikleri ve zengin fitokimyasal bileşiklere sahip olmalarıyla bitkisel kökenli farmasötik ilaçların geliştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Türler arasında *Hypericum capitatum* CHOISY var. *capitatum* CHOISY, Türkiye’nin Güneydoğu bölgesinde doğal olarak yayılış gösteren endemik bir tıbbi bitkidir. Günümüzde bitkisel ekstrelerin birçok hastalık etkenini tedavi etmek için kullanıldığı bilinmektedir.

Morfolojik olarak, *H. capitatum*'u ayırt etmede iki tanısal karakter vardır. *H. capitatum* var. *capitatum* yaprakları turuncu renklidir, sepali koyu kırmızıdır; diğeri ise, *H. capitatum* var. *luteum*, yaprakları, sarı ve sepali yeşil olarak rapor edilmiştir. Bu iki tür de Türkiye florasına aittir (15). *H. perforatum* (16) ve *H. perforatum* (17,18) 'un uçucu yağlarının farklı bileşimleri daha önce bildirilmiş olsa da, *H. humifusum* ve *H. pulchrum*'un (19) uçucu yağları hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (20). Ülkemizde sadece doğal yayılış gösteren ve Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yetişen, TÜBİVES (2013) kayıtlarına göre endemik olduğu bilinen *H. capitatum* var. *capitatum* bitkisinin kimyasal yapısının ve antimikrobiyal aktivitesinin yeterli ölçüde çalışılmamış olması tıbbi amaçlı kullanımları için daha detaylı incelenmesinin gerekliliğini düşündürmektedir. Bu durum, endemik *H. capitatum* ile yapılacak çalışmaların önemini artırmaktadır. *Hypericum* türlerinin toprak üstü kısımlarında %0.05-0.3 naftodiantron türevleri (hiperisin, psödohiperisin, izohiperisin), flavonoidler (hiperozit, rutin, kersitrin, izokersitrin, kersetin, kemferol), biflavonoidler (biapigenin), floroglusinoller (hiperforin, adhiperforin), uçucu yağ (n-alkanlar, monoterpenler), kateşik ve kondanse tanenler (kateşin, epikateşin, lökosiyanidin), fenolik asitler (kafeik asit, klorojenik asit ve fendik asit), steroller (psitostrol), ksantonlar (1,3,6,7 tetrahidro-roksanton), fenilpropanoitler, A ve C vitamini gibi birçok biyoaktif bileşik içerdiği bildirilmiştir (21,22).

H. capitatum'un, yara iyileşme mekanizması için çok önemli olan antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (23).

Çalışmaya konu olan klinik izolatlardan biri Gram (-) bir bakteri türü ve birçok hastalık etkeni olarak bilinen *A. baumannii* tedavisi güç bir hastane enfeksiyon etkeni olarak klinikte büyük önem taşımaktadır. *A. baumannii* izolatlarına karşı oluşan antimikrobiyal direnç dünya çapında artmakta ve sıklıkla kombine terapi gerektirmektedir. Son yıllarda ÇİD suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için sınırlı sayıda antimikrobiyal ajan bulunması, yeni antimikrobiyal ajanların veya tedavi stratejilerinin keşfedilmesine olan eğilimi artırmıştır.

Tüm bu bilgiler göz önüne alınarak, bu çalışmada, kantaron türleri arasında Türkiye endemik *H. capitatum* kırmızı kantaron bitkisine ait ekstraktların bazı sekonder metabolitlerinin kantitatif miktarları ile belirlenmiş olup aynı zamanda fenolik bileşikleri ve antioksidan etkinliği tespit edilmiştir. Bileşenleri belirlenmiş bitkinin gövde, yaprak ve çiçeklerinden elde edilen su, etanol, metanol, kloroform, asteon ile yapılan ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin Gram (-), ve (+) bakteriler ve klinik izolatlar üzerindeki etkinliği mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Bu amaçla yürütülen çalışmamızın, alternatif tedavi yöntemleri belirlemeye ve antibiyotik dirençli, klinikte tedavi güçlüğü bulunan bakterilerin inhibisyonu veya ortadan kaldırılması için yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bitkilerin Toplanması

H. capitatum (kırmızı kantaron) bitkisi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde sınırlı bir alanda yayılış gösteren bir tür olup, çiçeklenme dönemi olan Mayıs ayında Kilis ve çevresinden toplanmıştır.



Hypericum capitatum (kırmızı kantaron)

Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılacak standart bakteri suşları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden temin edilmiştir. Araştırmada *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC-25922, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC-29213, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC-29212, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC-27853 ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 bakteri suşları kullanılmıştır. Kolistin dirençli ve ÇİD *A. baumannii* klinik izolatları ise Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarındaki rutin örneklerden pasajlanarak temin edilmiştir.

Mikroorganizmaların Üretilmesi

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda mevcut bulunan ve -80°C'de muhafaza edilen ATCC suşları ve klinik izolatlar stok kültürlerinden, steril koşullar altında öze yardımıyla taze hazırlanmış Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerlerine pasajlanarak üretilmiştir. Bakteri inokülasyonu yapılan petripler 37°C'lik inkübatörde (Nüve, Türkiye) 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Suşlar iki kez aktiveleştirildikten sonra çalışmada kullanılmıştır. Bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland (1.5 x10⁸ CFU/ml) standart bulanıklıkta olacak şekilde EUCAST önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır (24).

Sıvı Mikrodilüsyon Testi

Çalışmada, *Hypericum capitatum*'un, *E. coli* ATCC-25922, *S. aureus* ATCC-29213, *E. fecalis* ATCC-29212, *P. aeruginosa* ATCC-27853, *MRSA* ATCC 43300 bakteri suşlarına ve dirençli *A. baumannii* klinik izolatlarına karşı antimikrobiyal etkinliğinin araştırılmasında EUCAST önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon testi (MİK) kullanılmıştır. Plaklar 37°C'de 18-20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirmeler EUCAST önerilerine göre yapılmıştır (24).

YPSK Analiz Yöntemi

YPSK-UV Analizi için Standartların Kromatogramı YPSK analizlerinde gerek hareketli fazın hazırlanmasında ve gerekse de fenolik bileşik standartlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar YPSK saflığındadır. Elimizdeki farklı standartların kalibrasyon eğrisini oluşturmak için saflığında %100'lük MeOH kullanılarak 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm ve 2,5 ppm olarak hazırlanmış ve kromatogramları çizilmiştir.

YPSK Analizlerinde Kullanılan Cihaz Shimadzu; Japonya markadır. Analizlerde kullanılan kolon C18 3µl 120 Å 4,6x150 mm'dir.

H. capitatum ait örnekler liyofilizatörde kurutulularak, ekstrakte edilmiştir. Kurutulmuş gametofit kısımları belli miktarlarda tartılmış (Örn.100-400 mg gibi) ve tartılan numuneler toz haline getirilmiştir.

YPSK çalışma yöntemi, çıkış bileşiklerinin alıkonulma zamanlarına göre ayarlanarak uygulanmıştır (aynı parametrelerde çalışılmıştır). Numune 10 kat seyreltilerek cihaza verilmiştir. Sonuçlar 10 kat seyreltme göz önüne alınarak hesaplanmıştır (25, 26).

Total Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

H. capitatum'un tohum, gövde ve yaprak örneklerinin liyofilizatör yardımıyla kuruması sağlanmış ve örnekler toz haline getirilerek 1'er gram olarak tartılmıştır. Etiketli erlenmayerlere 1g'lik toz örnekler ve 10 ml %80'lik Metanol (MeOH) eklenerek ve 26 °C 180 rpm' de çalkalayıcıda bir saat çalkalamaya bırakılmıştır. Çalkalama işleminin tamamlanmasıyla ekstraksiyon çözeltisi balon jodelere dökülerek süzme işlemi yapılmıştır. Süzme işleminin ardından filtre kağıtları üzerinde süzüntüden kalan kısımlar tekrar %80'lik 15 ml MeOH eklenerek 26 °C 180 rpm' de 24 saat çalkalanmak üzere çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Balon jodeler içerisindeki %80'lik MeOH + ekstraksiyon karışımları şilifli balonlara aktarılmış ve rotaevaporatör (BÜCHI, İsviçre) kullanılarak 45°C banyoda %80'lik MeOH'ün uçurma işlemi yapılmıştır. Uçurma işleminin ardından balonlarda kalan ekstraktların kuru ağırlığını belirlemek için hassas terazide brüt ağırlıkları tartılarak balon dibine çökelen ekstraktı çözmek için 2 ml %99,9'luk MeOH dökülerek ultrasonik banyoda çözünme-

leri sağlanmıştır. Çözünen 2 ml'lik ekstraktlar amber renkli viallere koyularak 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Toplam Fenol Miktar Tayininde Tetra Marka T80+ UV/VIS Spektrofotometre Modeli kullanılmıştır.

Toplam Fenol Miktar Tayini Çözeltilerinin Hazırlanması

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır (27). Hazırlanmış bitki ekstraktları, konsantrasyonları 2 mg/ml olacak şekilde %75'lik etanol (EtOH) ile çözülerek örnekten 20 µl alınmış, üzerine sırasıyla 1580 µl distile su, 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 300 µl % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 15.62 mg/l, 31.25 mg/l, 62.5 mg/l, 125 mg/ml, 250 mg/l, 500 mg/l, 1000 mg/l konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlanmış ve örnek yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynı miktarda ilave edilmiştir. Tüm örnekler 40°C'de 30 dakika inkübasyona bırakılarak süre sonunda absorbanları 765 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede okunmuştur. Gallik asit çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, örneğin absorbanı kullanılarak toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (R²=0,9902).

GAE (mg/l) =

[(Numune Absorbans(765nm) Değeri + 0,0479) / (0.0008)]

Antioksidan Etkinlik Tayini

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisinin hazırlanması:

100 ml'lik erlenmayerin etrafı alümiyum folyo ile ışık almayacak şekilde sarılmıştır. Hassas terazide darası alınarak DPPH (Sigma-Aldrich) 2,4 gr tartılmış ve daha önce hazırlanmış 100 ml %70'lik MeOH ile çözülmüştür.

DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin belirlenmesi işlemi için T80+ UV/VIS Spectrometer (Tetra Marka, USA) PG Instruments Modeli kullanılmıştır.

Flakonlarda bulunan 2000 µg/2ml, 1000 µg/2ml, 500 µg/2ml, 250 µg/2ml hazırlanan bitki ekstraksiyon çözeltileri, BHT, BHA, askorbik asit çözeltilerinin üzerine otomatik pipetle 2 ml DPPH eklenerek 30 dk karanlık dolapta oda sıcaklığında bekletilmiştir.

UV-Spektrofotometre' de ilk olarak blank zero gözüne 4 ml %99,9'luk MeOH disposable küvet koyularak autozero işlemi yapılmıştır. DPPH radikali ile reaksiyona giren dört farklı dilüsyondaki çözeltiler 1000 µg/ml 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml olacak şekilde ayarlanmış ve kontrol olarak çözeltiler eklenmemiş olup DPPH olacak şekilde yerleştirilmiştir. UV-Spektrofotometre yazılımı programlanarak her gözde bulunan çözeltinin 517 nm absorbansta tekrarlı okuma işlemi yapılmıştır. Serbest radikal süpürme aktivitesi tayini

için absorbans değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(K.A_{(517nm)} - \bar{O}.A_{(517nm)}) / (K.A_{(517nm)})] \times 100$$

İstatistiksel Analiz

Çalışmada kullanılan çözücüler (Metanol: Sigma-Aldrich) analitik saflıktadır. Karşılaştırma amaçlı çözücü olarak saf su kullanılmış ve aynı analizler saf su ekstraları için de gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar tablo halinde sunulmuştur. Absorbans okumaları UV-VIS spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Analizler tekrarlı yapılmış ve standart sapmalar sonuçlar ile birlikte verilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılan çözücüler (Metanol: Sigma-Aldrich, Etanol, Merck, Aseton; Sigma-Aldrich, Kloroform; Merck) bitkiyi ekstrakte etmek için kullanılmıştır. Kullanılan tüm çözücüler ve saf su ile ekstrakte edilen bitkilerin antimikrobiyal etkinliği tabloda sunulmuştur.

Gallik asit, standart bir bileşik olarak kullanılır ve toplam fenoller, standart eğri denklemi kullanılarak mg/g gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilir.

Kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 15.62 mg/l, 31.25 mg/l, 62.5 mg/l, 125 mg/l, 250 mg/l, 500 mg/l ve 1000 mg/l konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlandı ve örnek yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynı miktarda ilave edildi. Tüm örnekler 40°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda absorbanslar 765 nm dalga boyunda kör olarak kullanılan etanole karşı spektrofotometrede okundu. Gallik asit çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, örneğin absorbansı kullanılarak toplam fenol mg/g gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı.

Tablo 1: YPSK Analiz Sonuçları

<i>Hypericum capitatum</i> Tohumu	Analiz Sonuçları
Şikimik asit, ppm (mg/L)	1720,42
Kafeik asit, ppm (mg/L)	52,50
Sinamik asit, ppm (mg/L)	14.217,61
Rosmarinik asit, ppm (mg/L)	30,90

Tablo 2: *H. capitatum*' un Standart Suşlar Üzerinde Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları (MİK)

No	Ekstrakte Yöntemi	MİK Değerleri (µg/mL)				
		Metanol	Etanol	Aseton	Kloroform	Saf Su
1	<i>E. coli</i> ATCC-25922	512	512	512	512	512
2	<i>S.aureus</i> ATCC-29213	16	16	32	32	512
3	<i>MRSA</i> ATCC 43300	16	64	64	128	512
4	<i>P.aeruginosa</i> ATCC-27853	512	512	512	512	512
5	<i>E. fecalis</i> ATCC-29212	128	64	64	128	512

BULGULAR

Çalışmada, *H. capitatum*' un ile bazı sekonder metabolitlerin tespit edilerek, mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal etkinliğine bakılmıştır. Ayrıca bitki ekstraktlarının total fenol içeriği ve antioksidan etkinliği de uygun yöntemlerle belirlenmiştir.

YPSK Analiz Sonuçları

Hypericum türlerinde yapılan analizlerde literatür incelediğinde en başarılı ekstraksiyon metodu olarak metanol ekstraktları tercih edildiğinden çalışmamızda da bu ekstrakt kullanılmıştır. Çalışmamızda fenolik bileşiklerden Şikimik asit, Kafeik asit, Sinamik asit, Rosmarinik asit incelenmiştir (Tablo 1).

H. capitatum bitkisinin tohum kısmına ait ekstraktında 14.217,61 ppm (mg/L) ile en yüksek oranda bulunan içerik Sinamik asit olarak tanımlanmıştır. Sonrasında 1720,42 ppm (mg/L) ile Şikimik asit bitki ekstraktındaki yüksek içeriklerinden biri olarak tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları

H. capitatum' un standart suşlar üzerinde antibakteriyel etkinlik sonuçları (MİK) Tablo 2' de verilmiştir. Antibakteriyel etkinlikler incelendiğinde metanolla ekstrakte edilen bitkinin özellikle Gram (+) bakterilere karşı etkinliği olduğu belirlenmiştir (MİK 16-64 µg/ml) (Tablo 2).

H. capitatum' un ÇİD ve kolistin dirençli *A. baumannii* klinik izolatları üzerinde antibakteriyel etkinlik sonuçları Tablo 3' de verilmiştir. Bu sonuçlar incelendiğinde ise, özellikle bitkinin gövde ve yaprak kısımlarının ÇİD izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliği dikkat çekmektedir (64 mg/µL). Çiçek kısmının ise kolistin dirençli izolatlarına karşı antibakteriyel etkinliği belirlenmiştir (128 mg/µL) (Tablo 3).

H. capitatum bitkisinin standart suşlar üzerindeki etkinlikleri değerlendirildiğinde, saf su ile yapılan bitki ekstraktında herhangi bir etkinlik bulunmazken, özellikle Gram pozitif bakterilerden *S. aureus* (ATCC-29213) ve MRSA (ATCC 43300) üzerinde metanol ve etanol ekstraktının 16 (µg/mL)' lik Mik değerleriyle antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Gram negatif bakterilerden *E. fecalis* (ATCC-

29212)' in etanol ve aseton ile yapılan ekstraktı 64(μ g/mL) Mik değeri ile yine antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Dirençli *A. baumannii* klinik izolatları üzerinde yapılan antimikrobiyal etkinlik analizlerinde ise bitkinin yaprak kısmı ve gövde kısmından yapılan ekstraktın çok ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* klinik izolatları üzerinde 64 (μ g/mL) Mik değeri ile antimikrobiyal etkinliği tespit edilmiştir.

Toplam Fenolik Bileşen Miktarı Tayini Bulguları

Bitki kısımlarına göre toplam fenolik madde miktarlarının değişimi farklılık göstermektedir. Metanol ekstraktının fenolik ve flavonoid miktarlarının en zengin olduğu tespit edilmiştir. Metanol ekstraktından elde edilen toplam fenolik ve flavonoid miktarları yaprak, 155. 93 μ g/mg ekstrakt gövde 177.85 μ g/mg ekstrakt ve tohum 344.22 μ g/mg olarak bulunmuştur.

H. capitatum bitkisinin tamamından hazırlanan, metanol ve su ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiştir ($y=0,0008x+0,0479$ $R^2 = 0,9902$). Test edilen ekstraktın fenolik içerikçe zengin olduğu görülen (Şekil 1) *H. capitatum*' un farklı kısımları ile sağlık alanında yapılacak farklı uygulama deneylerinde etki mekanizmalarının çalışılması önem kazanmaktadır.

H. capitatum bitkisinin tohum kısmına ait metanol ekstraktında 344.22 μ g/mg lik fenolik bileşik içeriği ile bitkinin gövde ve yaprak kısmından daha yoğun olduğu görülmüştür.

Antioksidan Etki Sonuçları

H. capitatum bitkisinin toprak üstü (Herba) kısımlarından elde edilen özütlerinin DPPH radikal giderme aktivitelerinin yüzde (%) olarak hesaplamaları ise aşağıdaki denkleme göre yapılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(K.A_{(517nm)} - \text{Ö}.A_{(517nm)}) / (K.A_{(517nm)})] \times 100$$

Bu sonuçlara göre metanol ekstraktının DPPH serbest radikal yakalama deneyinde standart olarak kullanılan *H. capitatum* farklı bitki kısımlarının metanol ekstrelerinin, BHT (%88.62), BHA (%93.77) ve askorbik asit (%95.21) oranları ile yaprak (%53.241), tohum (% 55.476) ve gövde (%57.318) DPPH inhibisyon aktiviteleri değerlendirilmiş ve orta derecede etkili serbest radikal gideren doğal bir antioksidan kaynağı olduğu gösterilmiştir (Tablo 4).

H. capitatum bitkisinin yaprak tohum ve gövde kısımlarının metanol ekstrelerinin yaklaşık olarak %55 (mg/ml) DPPH İnhibisyon aktivitesi (%) ile orta dereceli antioksidan kaynağı olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

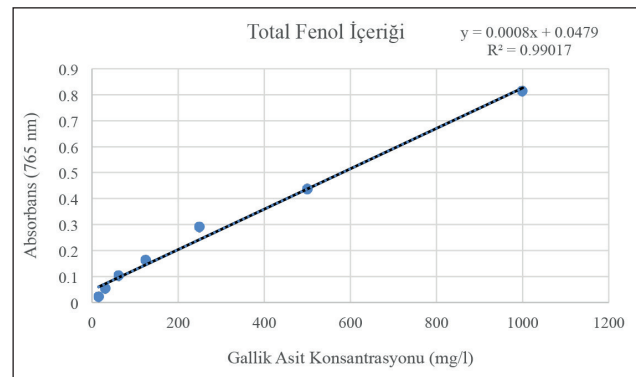
Günümüzde antibiyotik direncinin artışı ve bakteriyel enfeksiyonlar için tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı dikkat çekicidir. Özellikle bitkisel içeriklerden fayda sağlamak konusunda yeni alanların oluşabilmesi ve bitki içeriklerinin farklı bakteriyel enfeksiyonlar ve farklı alanlar üzerindeki etkinliklerini

Tablo 3: *H. capitatum*' un Dirençli *Acinetobacter baumannii* Klinik İzolatları Üzerinde Antibakteriyel Etkinlik Sonuçları (MİK)

A. baumannii Klinik İzolatlar, (MİK mg/μL)	Sonuç
Bitki Tohumu	
<i>A. baumannii</i> (Kolistin dirençli)	512
<i>A. baumannii</i> (Kolistin hariç ÇİD)	512
<i>A. baumannii</i> (Duyarlı)	512
<i>E.coli</i> ATCC 25922	512
Bitki Gövdesi	
<i>A. baumannii</i> (Kolistin dirençli)	256
<i>A. baumannii</i> (Kolistin hariç ÇİD)	64
<i>A. baumannii</i> (Duyarlı)	512
<i>E.coli</i> ATCC 25922	512
Bitki Çiçek kısmı	
<i>A. baumannii</i> (Kolistin dirençli)	128
<i>A. baumannii</i> (Kolistin hariç ÇİD)	512
<i>A. baumannii</i> (Duyarlı)	512
<i>E.coli</i> ATCC 25922	512
Bitki Yaprığı	
<i>A. baumannii</i> (Kolistin dirençli)	256
<i>A. baumannii</i> (Kolistin hariç ÇİD)	64
<i>A. baumannii</i> (Duyarlı)	512
<i>E.coli</i> ATCC 25922	512

Tablo 4: Antioksidan Etki Sonuçları

<i>H. capitatum</i> (mg/ml)	DPPH İnhibisyon aktivitesi (%)
Tohum	55.476
Gövde	57.318
Yaprak	53.241
BHA	93.77
BHT	88.62
Askorbik Asit	95.21



Şekil 1: Gallik asidin artan derişimlerine karşılık ölçülen absorbans değerleri.

ortaya koymak için yapılan çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Çalışmamızda, *H. capitatum* bitkisinin standart bakteri suşları ve klinik izolatlara karşı antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Aynı zamanda bitkinin YPSK yöntemi ile yapı aydınlatması yapılmış ve total fenol içerikleri ile antioksidan etkinliği araştırılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde, kırmızı kantaron (*H. capitatum*) bitkisinin özellikle bazı ekstraktlarının standart suşlar ve dirençli klinik izolatlar üzerindeki antibakteriyel etkinliği tespit edilmiştir. Diğer taraftan YPSK ile yapısal olarak aydınlatılması yapılan ve bitki içeriği ortaya konulan kırmızı kantaronun total fenol içeriği ve antioksidan etkinliği belirlenmiştir. Sonuçlar yorumlandığında, bitkinin total fenol bileşik açısından zengin ve özellikle metanol ekstraktının doğal bir antioksidan kaynağı olduğu tespit edilmiştir.

Şikimik asit biyolojik aktiviteler ve sentetik maddeler için önem arz eden bir fenolik asittir (28). Kafeik asit in vitro ortamda antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bilinmekte ayrıca ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (29). Sınnamik asit, diş macunu, gargara sıvıları ve sakız içerisinde, temizlik malzemelerinde, deterjanlarda, şampuanlarda, parfümlerde ve kozmetikte de kullanılan bir bileşiktir (30). Rosmarinik asit antiinflamatuvar, antioksidan, antialerjik, antianjiyojenik, antitümör, antimikrobiyal, antiviral gibi biyolojik aktivitelerinden dolayı yoğun ilgi gören bir bileşiktir (31).

Yapılan çalışmalarda, *Hypericum* cinsinin birçok türünün bazı bakteriyel hastalıkların, mide ve bağırsak iltihaplarının tedavisinde Türk halk ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Birkaçı hariç bütün bitki özlerinin *S. aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (32). Sökmen vd. (1999), doku kültürü yöntemiyle çoğaltıp yetiştirdikleri *H. capitatum*'un magnezyum hidroksit (MgOH) özütünün düşük oranda HIV-1'e karşı antiretroviral aktivite gösterdiğini saptamışlardır (33).

Çırak vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Hypericum* cinsinin bazı türlerinde sekonder metabolitlerinin (2,4- Dihidroksibenzoik asit, neoklorojenik asit, (+)-kateşin, klorojenik asit, kaffeik asit, mangiferin, epicatechin, rutin, hiperosid, isoquercitrin, avicularin, quercitrin, quercetin, 13, 118-biapigenin, amentoflavone, hiperforin, adhiperforin, pseudohiperisin, pseudohiperisin,) kantitatif tayinleri yapılmıştır (34).

Hypericum capitatum bitkilerinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşenleri araştırılmış olup, GC/GC-MS analiz sonuçlarında 48 farklı bileşen tespit edilmiştir. Ana bileşenler α -pinene (%20,3), karyofillenoksit (%11,8), heksadekanoikasit (%8,9), β -karyopilen (%6,5) ve undekan (%3,8) olarak belirlenmiştir (20). Yapılan diğer çalışmalarda ise, analiz edilen *H. capitatum* bitki örneklerinde, uçucu yağ bileşenleri ve ana bileşenlerin oranlarının bitkinin kısımlarına göre oldukça büyük farklılıklar göstermesi dikkat çekicidir.

Bitkinin herba ve çiçek kısmındaki ana bileşen α -pinene olarak tespit edilmiş olup, oranlar sırasıyla (%43,589) ve (%71,897) olarak bulunmuştur (35,36). Kantaron bitkisinde kullanılan kısımların herba ve çiçek olduğu dikkate alındığında, kırmızı kantaronun (*H. capitatum*) ana bileşeninin α -pinene olduğu söylenebilir.

Çalışmamıza benzer şekilde, Boga vd., (2016) *Hypericum* türleriyle yaptıkları çalışmada Gram (-) ve Gram (+) bakteriler üzerinde disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemiyle antibakteriyel etkinliklerini incelemişler ve birçok *Hypericum* türünün Gram (+) bakterilerden *Streptococcus pyogenes* ATCC19615 and *S. aureus* ATCC 25923, Gram (-) bakterilerden ise *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, ve *Candida albicans* ATCC 10231 üzerinde antimikrobiyal etkinliğinin olduğunu tespit etmişlerdir (37).

Yapılan çalışmalarda, *H. capitatum*'un *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Branhamella catarrhalis*, *Clostridium perfringens* ve *Candida albicans*' a karşı antimikrobiyal etkinlikleri bildirilmiştir. Ayrıca, bitkinin özleri HIV-1'e karşı hafif bir antiretroviral aktivite sergilediği belirtilmiştir (35). *H. capitatum* özleri, çeşitli çözücüler içinde, bu bitkiyi doğal bir serbest radikal temizleyici kaynağı olarak da bildirmişlerdir (38).

H. capitatum, farklı yerlerden toplandığında uçucu yağ bileşiminde benzer şekilde farklılıklar göstermiş, daha spesifik olarak spathulenol (%12,9) ve iso-longifolene (%11,2) veya alfa-pinen (%20,3) farklı koleksiyonlardan ana bileşenler olarak bildirilmiştir (38).

Bu çalışmada ise Türkiye' den Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Kilis' den toplanan ve farklı bölümlerinin (yaprak, çiçek, tohum vb.) farklı çözücülerle ekstrakte edilen (metanol, etanol, aseton, kloroform vb) *H. capitatum* bitkisi incelenmiştir. YPSK ile analiz edilen *H. capitatum* bitkisinin tohum kısmında; şikimik asit (1720.42 ppm(mg/ml), kafeik asit (52.50 ppm(mg/ml), sinaminik asit, (14.217,61 ppm(mg/ml), ve rosmarinik asit (30,90 ppm(mg/ml) içerikleri tespit edilmiştir.

H. capitatum' un farklı kısımları ile sağlık alanında yapılacak farklı uygulama deneylerinde etki mekanizmalarının çalışılması önem kazanmaktadır.

Yapılan analizler sonucunda, kırmızı kantaron (*H. capitatum*) bitkisinin, standart bakteriler ve dirençli klinik izolatlar üzerindeki antimikrobiyal etkinliği tedavilere destek sağlayacak nitelikte bir kullanım alanı oluşturabileceği düşünülebilir. Ayrıca antioksidan etkinliği ve total fenol içeriğinin zengin olması da bu alanda kullanımını destekleyerek alternatif bir tedavi seçeneği olarak umut vaat edici olabilir. Sonuçlar, ÇİD ve kolistin dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının kontrolü için *H. capitatum*' un potansiyel kullanımını olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, insanda bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede kullanıma olasılığını doğrulamak için daha yeterli çalışmalar yapılmalıdır.

Bu sonuçlar doğrultusunda yapılan çalışmalar, ekonomik açıdan fayda sağlamakla birlikte bazı bakteriler üzerinde gereksiz ve yanlış antibiyotik kullanımının engellenmesine olanak sağlayarak, alternatif tedavi yöntemleri oluşturmak için bizlere ışık tutacaktır. *H. capitatum* kırmızı kantaron bitkisi ile hem Türkiye’de hem de dünyada kapsamlı çalışmalar olmadığı için çalışmamız, bu alanda yapılacak diğer çalışmalara temel teşkil edip katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’ndan kültür koleksiyonundaki klinik izolatlarını paylaşan Uzm. Biyolog Sayın Eldan Subaşı’na ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sayın Füsün Cömert’e teşekkürlerimizi sunarız.

Yazar Katkı Beyanı

Fikir: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer**, Tasarım: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Banu Kaşkatepe**, Veri Toplama: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Muhittin Kulak**, Analiz veya Yorumlama: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Banu Kaşkatepe, Hatice Çölgeçen**, Literatür Taraması: **Şükran Öztürk, Banu Kaşkatepe, Yasin Hazer, Hatice Çölgeçen, Muhittin Kulak**, Makalenin Yazımı: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer**, Onay: **Şükran Öztürk, Yasin Hazer, Banu Kaşkatepe, Muhittin Kulak, Hatice Çölgeçen**.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek

Bu çalışma, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından 2018-43085703-01 No’ lu proje desteğiyle yürütülmüş ve tamamlanmıştır.

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığınca 08.02.2023 tarih ve 2023/05 sayılı karar ile onay almıştır.

Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayınlamaya uygun bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Bayram E, Kırıcı E, Tansı S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci İ. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Bildiriler Kitabı- 1, Ankara, 2010; 437-457.
2. Benli M, Yiğit N. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. Orbal On-line Mikrobiyoloji Dergisi 2005;3:1-8.
3. Ertürk R, Çelik C, Kaygusuz R, Aydın H. Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. Cumhuriyet Tıp Dergisi 2010;32:281-286.
4. Panizzi L, Flamini G, Cioni PL, Morelli I. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. J Ethnopharmacol 1993;39(3):167-170.
5. Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES) http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php.2013.sayfa=1_tax_id=2042. Erişim Tarihi: 21.02.2023
6. Baytop T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi: Geçmişte ve Bugün. 3. baskı, Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, 2021.
7. Stevenson C, Edzard E. Safety of hypericum in patients with depression. A comparison with conventional antidepressants. CNS Drugs. 1999;11:125-132.
8. Ersoy E, Özkan EE. Geçmişten Günümüze Hypericum perforatum (Sarı Kantaron) ve depresyon tedavisi-neler biliyoruz? J Lit Sci 2020;9(2):137-148.
9. Eroğlu Özkan E, Demirci B, Ünsal Güner Ç, Kültür Ş, Mat A, Başer KHC. Composition of essential oils from five endemic hypericum species of Turkey. Organic Chemistry Curr Res 2013;2:1.
10. Şatana A, Arslan B. Türkiye’de Hypericum L. türlerinin yayılışı ve farmakolojik özellikleri, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Tokat, 2012.
11. Yayılcı ÖK, Özgişi K, Sezer O, Orhanoğlu G, Öztürk D, Koyuncu O. Anatomical studies and conservation status of rare endemic Hypericum sechmenii Ocak & Koyuncu (Sect: Adenosepalum) from Eskişehir-Turkey. Journal of Selçuk University Natural and Applied Science 2013; 2(1):1-11.
12. Öztürk Ş. Kantaron Bitkisi ve Terapötik Etkileri. Atik D (editör). Sağlık Bilimleri Alanında Yeni Trendler III. Duvar Yayınevi. 2022; 415-433.
13. Wyk B, Wink M. Medicinal Plants of the World: An Illustrated Scientific Guide to Important Medicinal Plants and their Uses. Portland Oregon. Timber Press, 2004.
14. Özkan EE, Demirci B, Güner ÇÜ, Kültür Ş, Mat A, Başer KHC. Essential oil composition of five endemic hypericum species from Turkey. Med Aromat Plants. 2013;2:2.
15. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol. 2, Edinburgh: University Press, 1967; 355-401.
16. Radusiene J, Bagdonaite E, Kazlauskas S. Morphological and chemical evaluation on Hypericum perforatum and H. maculatum in Lithuania. Acta Hort (ISHS) 2004;629:55-62.
17. Couladis M, Baziou P, Petrakis PV, Harvala C. Essential oil composition of Hypericum perforatum L. growing in different locations in Greece. Flavour Fragrance J 2001;16:204-206.
18. Hosni K, Msaada K, Taarit MB, Ouchikha O, Kallel M, Marzouk B. Essential oil composition of Hypericum perforatum L. and Hypericum tomentosum L. growing wild in Tunisia. Industrial Crops and Products 2008;27:308-314.
19. Mathis C, Ourisson G. Etude chimio-taxonomique du genre Hypericum. II. Identification de constituents de diverses huiles essentiellesd Hypericum. Phytochemistry 1964;3:115-131.
20. Bağcı E, Yüce E. Constituents of the Essential Oils of Two Hypericum capitatum Choisy Varieties (var. capitatum and var. luteum Robson) from Turkey. Journal of Essential Oil Bearing Plants 2011;14 (1):106-113.
21. Avrupa Bilimsel Fitoterapi Kooperatifi (European Scientific Cooperative on Phytotherapy) ESCOP Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products by ESCOP. 2003, Hardcover, Revised.
22. World Health Organization (WHO) Monographs on Selected Medicinal Plants. 2022; Vol 2. Geneva, Switzerland.

23. Akşit NN, Gürdap S, İšoğlu SD, İšoğlu İA. Preparation of antibacterial electrospun poly (D, L-lactide-co-glycolide)/gelatin blend membranes containing *Hypericum capitatum* var. *capitatum*. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* 2021;70(11):797-809.
24. Sakar MK, Tamer AÜ, Takur S. ISO [2006] ISO 20776-1 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. *Fitoterapia* 1988;59:49.
25. Tapan S. Quantitative Analysis of Phenolic Acids, Flavonoids and Ascorbic Acid in Four Different Solvent Extracts of Two Wild Edible Leaves, *Sonchus Arvensis* and *Oenanthe Linearis* of North-Eastern Region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2016;6:157-166.
26. Savcı A, Koçpınar EF, Alan Y, Kurşat M. Antioxidant, antimicrobial, and DNA protection activities of some *Tanacetum* species and phenolic richness in their ethanolic extracts. *International Food Research Journal* 2020;27:160-170.
27. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic* 1977;28:49-55.
28. Altınay Ç, Ergene Öz B, Altun ML. Quantification of shikimic acid in the methanolic extracts of three alnus taxons growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2016;13(1):71-76.
29. Magnani C, Isaac VLB, Correa MA, Salgado HRN. Caffeic acid: A review of its potential use in medications and cosmetics. *Anal Methods* 2014;6(10):3203-3210.
30. Onat KA, Sezer Kürkçü M, Çöl B. Fenolik bileşiklerden sinnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit'in bazı biyolojik aktiviteleri. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2021;11(4): 2587-2598.
31. Karataş İ. Reyhan bitkisinin (*ocimum basilicum* L.) Adventif kök kültürlerinde rosmarinik asit üretim olanaklarının ve antioksidan kapasitenin araştırılması. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* 2022;25(3):459-466.
32. Sakar MK, Tamer AÜ. Antimicrobial activity of different extracts from some *Hypericum* species. *Fitoterapia* 1990;61:464-466.
33. Sokmen A, Jones BM, Erturk M. Antimicrobial activity of extracts from the cell cultures of some Turkish medicinal plants. *Phytother Res* 1999;13:355-357.
34. Çırak C, Radusiene J, Jakstas V, Ivanauskas L, Yayla F, Seyis F, Camas N. Secondary metabolites of *Hypericum* species from the Drosanthe and Olympia sections. *South African Journal of Botany* 2016;104: 82-90.
35. Karaoğlan M. Kırmızı kantaron (*hypericum capitatum* var. *Capitatum*)'un farklı bitki kısımlarının mineral madde içeriği ve uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.
36. Sekeroglu N, Karaoglan M, Gezici S, Kulak M, Ozkutlu F, Kacar O, Gul F. Variation in the composition of the essential oils, hypericin and mineral elements in aerial parts, stem and flower of *Hypericum capitatum* (CHOISY) growing in Turkey with oxidative DNA damage protective activity. *Journal of Pharmaceutical Research* 2018;17(2):67-77.
37. Boga M, Ertas A, Eroglu-Ozkan E, Kizil M, Ceken B, Topcu Gülaç TI. Phytochemical analysis, antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase and DNA protective effects of *Hypericum capitatum* var. *capitatum* extracts. *South African Journal of Botany* 2016;104:249-257.
38. Grafakou ME, Barda C, Karikas GA, Skaltsa H. *Hypericum* essential oils—composition and bioactivities: An update (2012-2022). *Molecules* 2022;27(16):5246.