

PAPER DETAILS

TITLE: Hypericum perforatum L. esansiyel yaginin in vitro antimikrobiyal, antioksidan aktivite ve kimyasal karakterizasyonu

AUTHORS: Ömer ERTÜRK,Gülçin AYDIN,Melek ÇOL AYVAZ

PAGES: 330-339

ORIGINAL PDF URL: <http://ofd.artvin.edu.tr/tr/download/article-file/1003899>

Hypericum perforatum L. esansiyel yağının in vitro antimikrobiyal, antioksidan aktivite ve kimyasal karakterizasyonu

In vitro antimicrobial, antioxidant activity and chemical characterization of Hypericum perforatum L. essential oil

Ömer ERTÜRK¹  Gülçin AYDIN¹  Melek ÇOL AYVAZ² 

¹Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Ordu, Türkiye

²Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Ordu, Türkiye

Eser Bilgisi / Article Info

Araştırma makalesi / Research article

DOI: 10.17474/artvinofd.702853

Sorumlu yazar / Corresponding author

Ömer ERTÜRK

e-mail: oseerturk@hotmail.com

Geliş tarihi / Received

27.04.2020

Düzeltilme tarihi / Received in revised form

17.07.2020

Kabul Tarihi / Accepted

02.09.2020

Elektronik erişim / Online available

18.09.2020

Anahtar kelimeler:

Hypericum perforatum

Antimikrobiyal

Antioksidant

Keywords:

Hypericum perforatum

Antimicrobial

Antioxidant

Özet

Ticari olarak temin edilen *Hypericum perforatum* L.'den izole edilmiş olan esansiyel yağ örneğinin hekzan ve etanol olmak üzere iki farklı çözügen kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının *in vitro* antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ve kimyasal kompozisyonu belirlendi. Sarı kantaron esansiyel yağı antimikrobiyal etkinliğinin test edilebilmesi amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılarak bazı bakteri ve mantar türlerine karşı incelendi. *H. perforatum* esansiyel yağının kimyasal içeriği ise GC/MS yöntemi ile belirlendi. Tüm bakteri ve mantar suşlarına karşı hekzan özütünün etanol ekstraktına nazaran daha etkili olduğunu sonucuna varıldı. Sarı kantaron yağı funguslara karşı bakterilerden daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdi. Ancak standart antibiyotiklerle karşılaştırıldığında hem etanol hem de hekzan ekstraktları durumunda aktivite daha düşüktür. esansiyel yağ %2 oranındaki numunesinin antioksidan aktivitesi de 3 farklı yöntem kullanılarak değerlendirilmiş ve örneğinin DPPH radikalini süpürme etkinliğinin test edilen diğer metotlara göre daha etkili olduğu sonucuna ulaşıldı. Yapılan kimyasal karakterizasyon çalışmalarıyla GC/MS analizleri sonucunda alan değeri (%) en yüksek olan bileşikler başlıca %4.78 karvakrol, %8.15 dekan, %7.63 nonan, %9.04 p-simen, %15.04 limonen, %11.80 alpha-para-dimetilstiren, %4.21 kamfor ve %7.77 isoborneol olmak üzere 60 farklı bileşik tanımlandı.

Abstract

In vitro antimicrobial and antioxidant activities and chemical composition of extracts prepared using two different solvents, hexane, ethanol, of commercially available essential oil sample isolated from *Hypericum perforatum* L. were determined. St. John's Wort essential oil was examined for various bacteria and fungi by using disc diffusion method to test its antimicrobial effectiveness. The chemical content of *H. perforatum* essential oil was determined by GC/MS method. It was concluded that hexane extract is more effective than ethanol extract against all bacterial and fungal strains. St. John's Wort oil had higher antimicrobial effects against fungi than bacteria. However, compared to standard antibiotics, activity is lower in the case of both ethanol and hexane extracts. The antioxidant activity of the 2% essential oil sample was also evaluated using 3 different methods and it was concluded that the oil sample's effectiveness of sweeping the DPPH radical was more effective than the other methods tested. With the chemical characterization as a result of GC/MS analysis 60 different compounds were identified including mainly carvacrol (4.78%), decane (8.15%), nonane (7.63%), p-cymene (9.04%), limonene (15.04%), α ,p- dimethylstyrene (11.80%), camphor (4.21%), Isoborneol (%7.77) according to their highest area (%).

GİRİŞ

Eski çağlardan beri insanoğlu bitkileri farklı alanlarda kullanmışlardır. Bu kullanım alanlarından biri de bitkilerin şifa kaynağı olarak kullanılmasıdır. Şifa kaynağı olarak yaygın bir şekilde kullanıldığı bilinen sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) (St. John's wort) çok eskiden beri antiseptik, antispazmotik, yatıştırıcı, kurt düşürücü etkileri olduğu bilinen bir bitkidir, özellikle yanık

yaralarının tedavisinde çok etkilidir (Baytop 1999, Baytop 1984) ve 2000 yıldan fazla süredir bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Curtis ve Levsten 1990). Son yıllarda yapılmış bazı çalışmalarla bitkinin depresyona karşı ve karaciğer koruyucu etkisi kanıtlanmış, bunun yanında ağrı giderici etkisi de ortaya konmuştur. Günümüzde sarı kantarondan üretilen preparatlar oldukça artmıştır. Bitki geniş cilt yaraları, egzama dahil olmak üzere, yanıklar,

sindirim sistemi hastalıkları ve psikolojik bozukluklar gibi çeşitli tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır (Butterweck 2003). Kullanım alanlarının genişlemesi, tüketilen miktarın fazlaşması bu bitkinin özellikle Batı Avrupa ülkelerinde daha geniş alanlarda üretilmesini teşvik etmiştir (Baytop 1999, Baytop 1984). *Hypericum* cinsi; Clusiacea familyası ve Hypericaceae alt familyasına dahil olup dünyada 400 kadar türü bulunmaktadır. Ülkemizde *Hypericum perforatum*, Marmara, Karadeniz, Ege, Orta ve Doğu Anadolu, Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde dağılım göstermektedir (Güner ve ark. 2000). Ülkemiz *Hypericum* türleri bakımından önemli bir merkezdir ve mevcut 96 türün 46'sı endemiktir (Güner ve ark. 2012). Türkiye'de 750-3200 m rakım arasında doğal olarak yetişen *Hypericum* (Guttiferae) türleri, halk hekimliğinde uzun süredir kullanılmaktadır. Bazı araştırmalar, bu bitki türünden hazırlanan ekstraktların belirli virüs ve bakterilere karşı aktivitesine ve zararlı türlere karşı hastalık ilaçları olarak olası uygulamalarına odaklanmıştır (Chopra ve ark. 1958, Serkedjieva ve ark. 1980). *Hypericum* türleri nafrodiantronlar, flurogonol türevleri, flavonoidler, organik asitler, uçucu yağlar, amino asitler, ksantonlar, taninler, proksiyanidinler ve diğer suda çözünen bileşenler olmak üzere en az 11 farklı sınıfa dahil çok sayıda sekonder metabolit içermektedir (Greenson ve ark. 2001). Yapılan çalışmalar, *H. perforatum*'un özellikle toprak üstü aksamlarından hazırlanan ham bitki ekstraktlarının güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Tolkunova ve ark. 2002 Kırbağ 1999). Ayrıca, anti-inflamatuar antimikrobiyal, yara iyileştirici antioksidan, antianksiyatik, antineoplastik, anti depresan etkileri de bulunmaktadır (Bilia ve ark. 2002). Ayrıca *Hypericum perforatum* L. antiseptik veya antihelmintik olarak kullanılmaktadır (Chistik 1957). Aromatik polisiklik diones hiperisin ve *Hypericum* türlerinden izole edilen psödohiperisin, antiretrovirüs aktiviteleri ile viral kaynaklı belirtilerin önlenmesinde oldukça etkilidir (Meruelo ve ark. 1988). Elazığ ve çevresinden farklı lokalitelerden toplanan çiçekli 9 farklı *Hypericum perforatum* türünün flavonoid ve uçucu yağ kompozisyonları kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir ve toprak üstü organlarından elde edilen uçucu yağ analizinde türden türe değişmek kaydı ile 21-74 tane bileşen tanımlanmıştır. Tespit edilen uçucu yağlar arasında en yüksek bileşen %60 ile alfa pinen'dir. Alfa

pinen'i sırasıyla ödesma-4 [14], 11-dien (%20.0), alfa selinen (%13.0), alfa amorfen (%10.0), tuyopsen (%10.0), karyofillen (%9.0), germakren D (%8.5), karyofillen oksit (%7.5), 1- deken (%4.6), beta selinen (%4.0), spatulenol (%4.0) ve oktan 2-metil (%4.0) takip etmiştir (Deveci 2014). Sarı kantaron yağının sazan yavrularının büyüme performansını arttırdığı ve balıkların genel sağlık durumlarını iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Acar 2018). Bu çalışma ile ticari olarak en çok satılan uçucu yağlardan biri olan *Hypericum perforatum*'a ait uçucu yağ örneğinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ve kimyasal bileşen analizinin araştırılması ve doğal olarak yetişen bitkiden izole edilen esansiyel yağ örnekleri üzerine yapılmış olan literatürdeki çok sayıdaki çalışma ile karşılaştırılması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Uçucu Yağın Temin Edilişi

Araştırmada kullanılan *H. perforatum*'a ait uçucu yağ örneği, bir gıda katkı maddesi tedarikçisinden (Gıda Maddeleri İstanbul, Türkiye) en çok kullanılan ürünler listesinden seçilmiştir. Bu esansiyel yağ kullanıncaya kadar oda sıcaklığında sarı cam bir şişede güneş ışığından uzakta saklanmıştır.

Çözgenler

Uçucu yağ örneğinin antimikrobiyal aktivitesi etanol ve hekzan çözeltisi ile seyreltilerek oluşturulan ekstraktlar üzerinde belirlenirken, antioksidan aktivitesi ise sadece etanol ekstraktı durumunda saptanmıştır.

Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan mikroorganizmalar; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 Gram (-), *Proteus vulgaris* ATCC®7829 Gram (-), *Escherichia coli* ATCC®25922 Gram (-), *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883 Gram (-), *Listeria monocytogenes* ATCC®7677 Gram (+), *Clostridium perfringens* ATCC 313124 Gram (-), *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 Gram (-), *Bacillus subtilis* B209 Gram (+), *Streptococcus mutans* RSHE 676 Gram (+), *Micrococcus luteus* B1018 Gram (+), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Gram (+), *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729 Gram (-), *Bacillus cereus* ATCC®10876 Gram (+), *Candida albicans* ATCC®10231, *Aspergillus niger* ATCC 9642.

Disk Difüzyon Deneyi

Esansiyel yağ numunesinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Ronald'ın izlediği yöntem takip edildi (Ronald 1990). Bu amaçla her bir petri kabına bakteriler için MHA ortamı (Merck, 40 mL) ve mantarlar ve mayalar için SDA ortamı (Oxoid, 40 mL) döküldü. Tüm bakteri suşları MHB'de (Merck) 24 saat 37 °C'de ve maya ve mantar suşları SDB'de (Difco) 27 °C'de 48 saat boyunca büyütüldü. Gece kültürleri, sıvı besiyeri ile seyreltildi ve son bakteri ve maya/mantar hücre konsantrasyonları, 600 nm'de spektrofotometrik olarak absorbanslarının ölçülmesi ile sırasıyla 1×10^8 ve 1×10^7 hücre/mL olacak şekilde ayarlandı. Her seyreltilmiş süspansiyondan 100 µL petri kaplarına agar üzerine aktarıldı ve yayıldı. Daha sonra, 30-20 µL/mg oranında yağ ekstraktını emdirmek için agar üzerine steril kağıt diskler (6 mm çap) eterik yağ numunesi emdirilen diskler yerleştirildi. Mantarlar ve mayalar için Nystatin ve bakteriler için Ampicillin ve Cephalosporin pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol olarak alkol ve hekzan kullanıldı. Antibakteriyel ve antifungal aktiviteler için sırasıyla 37 °C'de ve 28 °C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra ortamda oluşan inhibisyon zonları, sırasıyla milimetre (mm) olarak ölçüldü. Tüm testler üç tekrarlı şekilde yapıldı.

GC/MS ile Uçucu Aroma Bileşen Analizi Ekstraksiyon Yöntemi

Aroma maddeleri bileşiminin belirlenmesi amacıyla Riu Aumatell ve ark. (2004) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. Buna göre, 20 ml Headspace viallerin üzerine 3 gr esansiyel yağ örneği ilave edilerek ve vortex karıştırıcı ile 30 sn karıştırıldı. 50 °C'de fiber (SPME Fiberi)'de 40 dakika bekletildikten sonra GC-MS aletine (Shimadzu GCMS-QP2010) enjeksiyon yapıldı. Fiber her enjeksiyondan önce 200°C'de 10 dakika koşullandırıldı. Kolon olarak Restek RTX-5 (30m x 0.25mm x 0.25µm), taşıyıcı faz olarak da Helyum kullanıldı. Kolon sıcaklığı, 40°C'de 5 dakika bekledikten sonra, dakikada 4°C artırılarak 240°C'ye çıkacak şekilde programlandı.

DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Uçucu yağ numunelerinin DPPH serbest radikal temizleme aktivitesini belirlemek için, metanol kullanılarak hazırlanan DPPH çözeltisinin uygun miktarı üzerine yağ numunesi ekstraktının %2 oranında ilave edilmesi sonucu meydana gelen renk değişimi spektrofotometrik olarak izlendi. Bu amaçla, kararlı radikal olarak kullanılan DPPH çözeltisinin absorbansı ilk önce 517 nm'de ($A_{kör}$) ölçüldü. Diğer taraftan, DPPH çözeltisine %2 oranında esansiyel yağ numunesi eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra absorbans ölçüldü ve $A_{örnek}$ olarak kaydedildi. Uçucu yağ numunesinin elektron transfer kabiliyetini değerlendirmek için DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı (Kıvrak ve ark. 2018).

$$\% \text{ Süpürme Aktivitesi} = (A_{kör} - A_{sample})100/A_{kör}$$

ABTS Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

H. perforatum'dan izole edilmiş olan esansiyel yağ örneği ekstraktının antioksidan aktivitesi ABTS radikal katyonunun ($ABTS^{+}$) renginin açılmasıyla takip edilen yöntemle de (Re ve ark. 1999) belirlendi. Bu amaçla ilk olarak 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) çözeltisi su ile hazırlandı. ABTS radikal katyonu ise ABTS stok çözeltisinin final konsantrasyonu 2.45 mM olan potasyum persülfat ile reaksiyonu ve karışımın kullanılmadan önce oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle oluşturuldu. $ABTS^{+}$ 'in oksidasyonu hemen başlamaktadır ancak absorbansı yaklaşık 6 saat geçmeden maksimuma ulaşmamakta ve kararlı olmamaktadır. Aktivite testinden önce çözelti 734 nm'de absorbansı 0.7 olacak şekilde etanolla (yaklaşık 1:88, v/v) seyreltilip, tüm denemelerin gerçekleştirileceği 30°C'de dengeye getirildi. Troloks standart olarak kullanıldı. Bu nedenle farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde 50 µL standart ya da çalışılacak numune çözeltisi üzerine 1.2 mL $ABTS^{+}$ çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra 30 dakika 30 °C'de inkübe edildi. Paralel olarak çözücü körü de hazırlanıp aynı işlemlere tabii tutuldu. Troloks konsantrasyonuna karşı 734 nm'deki absorbans

grafiğinden yararlanarak örneğin aktivitesi Troloks eşdeğer antioksidan kapasite ($\mu\text{mol TX/g}$ numune) cinsinden ifade edildi.

Demir İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) Değerinin Belirlenmesi

Demir indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi ucuz, tekrarlanabilir ve basit bir antioksidan aktivite tayin yöntemi olup çalışmada Habib ve ark. (2013)'nın, geliştirdiği yöntem takip edildi. FRAP metodu Fe(III)-TPTZ kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşturması ve bu kompleksin 595 nm'de maksimum absorbanı vermesi esasına dayanır (Oyaizu 1986). Bu amaçla 1.2 mL FRAP reaktifi %2 oranında olacak şekilde esansiyel yağ örneği ile karıştırıldı ve 37 °C'da 30 dakika inkübasyonun sonrasında 595 nm'de absorbanı okundu. Sonuç standart antioksidan troloksun kullanılmasıyla aynı deneme şartlarında elde edilen standart kalibrasyon grafiğinden yararlanarak troloks eşdeğeri ($\mu\text{mol TX/g}$ numune) olarak hesaplandı.

İstatistiksel analiz

Tüm veriler SPSS istatistik 17.0 yazılımı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Hipotez test yöntemleri, Duncan'ın yeni çoklu aralık testleri, post hoc veya çoklu karşılaştırma testleri tarafından takip edilen tek yönlü varyans analizini (ANOVA) içerir. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı farklar olarak kabul edildi (Motulsky 2007).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Son yıllarda, oksidatif stres ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri üzerine yapılan çalışmalar büyük ilgi çekmiştir. Organizmaların ekzojen ve endojen faktörlere maruz kalmasının çok çeşitli reaktif oksijen türleri oluşturduğu iyi belgelenmiş bir gerçektir. Bitkiler, insan sağlığını korumada ve insan yaşam kalitesini arttırmada önemli bir rol oynamaktadır. Fenoller, hidroksil grupları nedeniyle radikal temizleme kabiliyetleri nedeniyle çok önemli bitki bileşenleridir (Hatano ve ark. 1989). Bu çalışmada sarı kantarondan (*H.perforatum*) elde edilen esansiyel yağın yukarıda belirtildiği gibi bir firmadan alındı. Farklı çözücü ile ekstraları hazırlandı. Etanol ve hekzan ile hazırlanan ekstraktlarının çeşitli

mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri araştırıldı ve funguslar üzerinde değişen oranlarda etkili olduğu sonucuna varıldı (Çizelge 1). Yağ örneğinin 20-30 mg/mL'lik konsantrasyonları makul oranda antimikrobiyal etki gösterdi. Bu orandaki çözelti test edilen mikroorganizmalardan özellikle funguslara bakterilere oranla daha etkili oldu. 20-30 mg/mL konsantrasyon *A. niger* ve *C. albicans* funguslarına karşı 10.140 ± 0.00 - 10.340 ± 0.00 mm'lik zon çapıyla etki gösterdi. Başka bir deyişle *E.coli*, *B. cereus*, *P aeruginosa* ve *S. enteritidis* gibi bakteriyel suşlara karşı funguslardan daha az bir etki gösterdi. Hekzan ekstraktının daha aktif olduğu ve bu ekstraktın GC-MS analizi sonrasında belirlenen başlıca bileşenlerinin etanol ekstraktından farklı olduğu ortaya çıkarıldı. Literatürde rapor edilen bir çalışmanın sonuçlarına göre sarı kantaron yağının *S. aureus*, *S. mutans* dahil, *P.vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına belirli oranda etki gösterdiği bildirilmiştir (Couceiro ve ark. 2006, Kavanagh 1972). Bu bulguların bu çalışma sonuçlarını desteklediği söylenebilir. Ayrıca etanolik yağ özütünün test edilen miktarının *K. pneumoniae* ve *L. Monocytogenes*'e karşı etki göstermediği bulgusu da literatüre uyumludur. Milosevic ve ark. (2007), *H. perforatum* ekstraktından hazırlanan ve %1.5 hiperforin içeren merhemin hafif/orta derecede egzama tedavisinde pleseboya göre çok daha etkili olduğunu bildirmiştir. Peeva-Naumovska (2010) *H. perforatum* özütünün en az *K. pneumoniae* bakterisine karşı etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Peeva-Naumovska ve ark. (2010), *H. perforatum* yağının çeşitli bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkinliğini araştırmışlar ve bakteri üremesi inhibisyonunun *Streptococcus pyogenes*, *S. viridans*, *Micrococcus luteus* ve *Moraxella catarrhalis* durumunda gözlemlendiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 1. H. perforatum esansiyel yağ örneğinin farklı ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri (zon çapı, mm)

Mikroorganizmalar											
Gram (-) Bakteriler							Gram (+) Bakteriler				
Hypericum perforatum Esansiyel yağ örneği		S. enteritidis	E. coli	C. perfringens	P. aeruginosa	P. vulgaris	K. pneumoniae	S. aureus	B. subtilis	L. monocytogenes	M. luteus
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS
Etanol	20mg/ml	7.850±0.00	9.470±0.00	6.920±0.00	8.550±0.00	6.100±0.00	6.070±0.00	6.300±0.00	6.400±0.00	6.430±0.00	7.370±0.00
	30mg/ml	8.300±0.00	9.750±0.00	7.300±0.00	8.700±0.00	6.200±0.00	6.200±0.00	6.600±0.00	6.500±0.00	6.700±0.00	7.480±0.00
Hekzan	20mg/ml	11.030±0.00	14.140±0.005	10.770±0.00	9.250±0.00	7.770±0.00	7.380±0.00	7.780±0.00	6.100±0.00	6.100±0.00	9.540±0.00
	30mg/ml	11.150±0.00	14.323±0.005	10.900±0.00	9.350±0.00	7.900±0.00	7.500±0.00	7.900±0.00	6.150±0.00	6.400±0.00	9.830±0.00
Amfisilin		35.40±0.034	19.00±0.00	43.16±0.028	32.26±0.046	29.00±0.00	15.2±0.010	10.0±0.00	35.6±0.00	28.00±0.00	6.00±0.00
Cefazolin		35.16±0.040	19.00±0.00	43.16±0.028	28.33±0.028	6.00±0.00	17.2±0.010	6.00±0.00	38.26±0.109	33.13±0.023	35.73±0.023
Nistatin	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Çözücüler		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TE: Tespit edilmedi. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 Gram (-), *Proteus vulgaris* ATCC®7829 Gram (-), *Escherichia coli* ATCC®25922 Gram (-), *Klebsiella pneumoniae* ATCC®7677 Gram (+), *Clostridium perfringens* ATCC 313124 Gram (-), *Salmonella enteritidis* ATCC 14028, Gram (-), *Bacillus subtilis* B209, Gram (+), *Streptococcus m* Gram (+), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Gram (+), *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729 Gram (-), *Bacillus cereus* ATCC®10876 Gram (+), *Candida albicans* ATCC®

Sarı kantaron hekzan özütü yağı sırasıyla, 14.323±0.005-14.140±0.005 mm'lik zon çapıyla *E.coli*, 11.030±0,00-11.150±0,00 mm'lik zon çapıyla *S. enteritidis* ve 10.770±0.00-10.900±0.00 mm'lik zon çapıyla *C. perfiringes* türlerine karşı etkili derecede antibakteriyal etki gösterdi. Etanolik özütte olduğu gibi funguslara olan etkinin bakterilere karşı olana nazaran daha güçlü olduğu tespit edildi. 14.900±0.00-15.250±0.00 mm ve 13.600±0.00- 14.150±0.00 mm'lik zon çapları ölçüleriyle *A. niger* ve *C. albicans* funguslarına karşı etki gösterdi.

Aromatik bitkilerde meydana gelen kimyasal kompozisyonun oluşmasında birçok faktörün olduğu bilinmektedir. Yapılan kimyasal analizlerde GC/MS analizlerine göre % alan değeri en yüksek olan bileşikler %4.78 karvakrol, %8.15 dekan, %7.63 nonan, %9.04 p-simen, %15.04 limonen, %11.80 α -p-dimetilsitiren, %4.21 kamfor %7.77 izoborneol olmak üzere 60 farklı bileşik tespit edildi. Literatürde rapor edilen bir çalışma da ise *H. perforatum* L. yağı içerisinde toplam kompozisyonun %98.7'sini oluşturacak şekilde yirmi yedi bileşen tanımlandığı bildirilmiştir. Bahsi geçen çalışmada tanımlanan ana bileşenler ise α -pinen (%61.7), 3-karen (%7.5), β -karyofilin (%5.5), mirzen (%3.6), ve kadalen (%3.2) şeklinde sıralanmıştır (Çakir 1997). Hidroksil grup ve delokalize elektron sisteminin varlığının karvakrol ve timol gibi fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteye katkı sağlayabileceği varsayılmaktadır (Ultee ve ark. 2002). Ayrıca yapılan bir çalışmada bu bitkinin esansiyel yağının kompozisyon içeriği çalışılmış ve bu çalışmada farklı bileşiklerinin varlığı tespit edilmiştir (Deveci, 2014). Bu farklılığın bitkinin yetiştiği ekolojik çevreyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Literatürdeki bu çalışmaya dayanılarak karvakrolün sitoplazmik zarı dengesizleştirdiği ve buna ek olarak bir proton değiştirici gibi davrandığı, böylece sitoplazmik zar boyunca pH derecesini düşürdüğü varsayılabilir. Sonuçta proton hareket kuvvetinin çökmesi ve ATP havuzunun tükenmesi sonunda hücre ölümüne yol açabileceği düşünülebilir (Ultee ve ark. 2002). Bir başka çalışmada İran'da yetişen *H. Perforatum* L.(St.Johns 'wort), *Hypericum* cinsinin en ticari olarak önemli türüdür ve naftodiantronlar, floroglucinoller, tanenler, ksantanlar, fenolik asitler ve uçucu yağ gibi çok çeşitli bileşenler içerir. Bu çalışmada, ilk kez İran'da yetişen 10 yabancı *H. Perforatum* popülasyonu arasında uçucu yağ

bileşimlerinin değişimi değerlendirildi. GC-FID ve GC/MS analizlerine göre, kompozisyonlarında nispeten yüksek varyasyona sahip 10 *H. Perforatum* popülasyonunda toplam kırk altı bileşen tanımlanmıştır. Kimyasallar arasında 2,6-dimetil-heptan (%6.25-36.07), α -pinen (%5.56-26.03), δ -kadenen (%0.0-22.58) ve γ -cadinen (%0.0-16.9) uçucu yağlarında en bol bulunan bileşikler olarak bulundu. Bu bileşenlerin daha yüksek miktarları Azadshahr, Kharw, Nor ve Mashhad popülasyonlarının yağında tespit edildi (Morshedloo ve ark. 2015).

Hypericum coris esansiyel yağ örneğinin içerisinde bulunduğu tespit edilen nonan maddesinden dolayı *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı iyi bir antifungal aktivite ve *Staphylococcus aureus*'a karşı ılımlı bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Schwob ve ark. 2002). Literatürdeki bu kayıttan mevcut çalışmanın sonuçlarını desteklediğini söyleyebiliriz. Test edilen *H. perforatum* esansiyel yağ örneğinin de GC/MS analizi sonrasında dikkate değer ölçüde nonan içerdiği ve antifungal aktivite gösterdiği ortaya koyuldu (Çizelge 2). Kordali ve ark. (2008) ise yapmış oldukları antifungal analizleri içeren bir çalışmada, *Origanum acutidens* yağının içermiş olduğu karvakrol ve timol bileşenlerinin 17 fitopatogenik fungusun misel büyümesini tamamen inhibe ettiğini ve bunların antifungal etkilerinin, ticari fungusit, benomilden daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte, p-simen bileşeninin daha düşük antifungal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Kordali ve ark. 2008). *H. perforatum* etanolik ekstraktının içerdiği tespit edilen çok sayıda fenolik bileşikten bazıları olan hiperisin, hiperforin ve türevleri, rutin, hiperosid, kersetin, klorojenik asit, flavonoller ve flavonların önemli derecede antioksidan özelliklere sahip olabileceği düşünülmektedir. Hiperisinin antibakteriyel, antiviral ve antiinflamatuvar aktivite gösterdiği ve hiperforinin, antidepresan aktiviteyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Hiperforin en düşük inhibitör konsantrasyon (MIC) değeri 1.0 μ g/mL olan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı etkiler gösterdiği belgelenmiştir (Singh Pal 2006, Couceiro ve ark. 2006). TLC plakalarında biyootografik yöntemler kullanarak test edilen antimikrobiyal aktivite çalışmasına göre *H. perforatum* yağlarının *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* gibi Gram (+) ve *Escherichia coli*,

Pseudomonas tolaasii, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* gibi Gram (-) ve *Candida albicans* gibi maya türlerine karşı güçlü bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği ortaya konulmuştur (Rančić ve ark. 2005). Bertoli ve ark. (2011) ve Crockett (2010) yaptıkları çalışmalarda Hypericaceae familyasının diğer türlerinin yağ kompozisyonlarının yükselti, nem ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden etkilendiğini göstermişlerdir. Yağış, nem ve sıcaklık dalgalanmalarının yüksek kimyasal değişkenliği indüklemeye yetecek kadar güçlü bir etken olduğu kaydedilmiştir. *Hypericum olympicum* L'in uçucu yağının bileşenleri Branislav Gud ve ark. (2001) tarafından ilk kez ve *Hypericum perforatum* L'nin uçucu yağı ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla aynı konumdan her iki tür için de on sekiz bileşen belirlenmiştir. Aynı lokasyondan *H. olympicum* ve *H. perforatum*'un incelenen esansiyel yağlarının bileşiminde gözlenen farklılıklar genetik olarak belirlenmiştir. Öte yandan, aynı türden farklı popülasyonlardan kaynaklanan yağların bileşiminde de önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır.

H. perforatum uçucu yağının *Tenebrio molitor* L. 1758 (un kurdu) türü üzerindeki insektisidal fumigant aktivitesinin araştırıldığı çalışmanın sonuçları arasında da Türkiye'nin Uşak ili civarından toplanan bitkinin esansiyel yağının kimyasal bileşimi arasında α -pinen türünün belirgin bir şekilde yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Baş ve Ersoy, 2020).

Literatürde beklenmedik sonuçları olan çalışmalar da söz konusudur. Aralarında sarı kantaronun da olduğu çok sayıdaki bitkinin esansiyel yağlarının alabakılgiller için patojenik olduğunu bilinen *Vagococcus salmoninarum* Gram (+) üzerindeki antibakteriyel etkinliklerinin incelendiği çalışmanın sonuçlarına göre sarı kantarondan elde edilen esansiye yağın herhangi bir antimikrobiyal etkinlik göstermediği tespit edilmiştir (Metin ve Biçer 2020).

Hypericum perfortaum esansiyel yağ numunesinden hazırlanan etanol ekstraktın antioksidan aktivitesi 3 farklı yöntemle değerlendirildi ancak FRAP testine göre herhangi bir sonuç elde edilemedi. %2 oranındaki yağ örneği ekstraktı ortamdaki DPPH radikallerinin %27.86'sını süpürebilme kabiliyetine sahiptir (Çizelge 3).

Bu azımsanmayacak bir değerdir. Literatürde 3 farklı *Hypericum* türünün (*H. perforatum*, *H. helianthemoides*, *H. scabrum*) esansiyel yağ örneklerinin DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin incelendiğine ilişkin bir çalışma mevcut olup elde edilen sonuçlar bu üç numune arasında radikal süpürücü olarak en zayıf özelliğe 311.7 $\mu\text{g/mL}$ olan IC_{50} değeri ile birlikte *H. perforatum* dan hazırlanan ekstrakt olduğunu ortaya koymaktadır (Ghasemi Pirbalouti ve ark. 2014).

Literatürde *Hypericum perforatum* dışında *H. Lydium*' un uçucu yağ örneği de antioksidan aktivite açısından incelenmiş ve antioksidan aktivitenin düşük oluşu çok yüksek oranda α -pinen varlığına atfedilmiştir. Bu açıdan değerlendirecek olursak mevcut çalışmada GC/MS sonuçları incelendiğinde α -pinen söz konusu çalışmaya göre düşüktür. Dolayısıyla bu ilişkinin olabilirliği mümkündür (Şerbetçi ve ark. 2012).

Günpınar ve ark. (2020) yapmış oldukları çalışmada *Hypericum perforatum* yağı uygulamasının antioksidan özelliği sayesinde yara iyileştirici özelliği ortaya konulmuştur.

H. perforatum çok eski zamanlardan beri şifalı bir bitki olarak kullanılmıştır. Bitkinin ham özütlerinin gösterilen antibakteriyel aktivitesi ile çok iyi bir şekilde desteklenen uzun bir yara iyileşme öyküsü vardır. Ham bitki ekstratlarının ve bu ekstratları içeren kremlerin ve merhemlerin antibakteriyel aktivitesi ile ilgili bir dizi rapor mevcuttur. Ekstraktların Gram (+) bakterilere karşı daha aktif olduğu bilinmektedir. Ek olarak, alkollü ekstratların sulu çözeltilerden daha aktif olduğu bulunmuştur. Ayrıca *H. perforatum* esansiyel yağının hekzanlı seyreltikleri daha iyi antifungal ve antibakteriyel etki gösterdi. Bitki, biyolojik olarak aktif bileşiklerin geniş bir spektrumunu içermektedir. Ancak, şimdiye kadar, yalnızca hiperforin ve hiperisin bileşikleri, bitkinin ana antimikrobiyal bileşenleri olarak tanımlanmıştır. Mevcut çalışmada ticari olarak satın alınan *H. perforatum* esansiyel yağ numunesinin kimyasal kompozisyonu araştırıldı. Bu kompozisyonun daha önce yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında bazı farklılıkların olduğunu bunun sebebinin ise başlıca ekolojik olmak üzere diğer bazı faktörlerin olduğunu söyleyebiliriz.

Çizelge 2. *H. perforatum* L. esansiyel yağ örneğinin GC-MS analizi sonucu kimyasal bileşimi

No	Tutulma Süresi	Alan (%)	Yükseklik (%)	İsim
1	0.287	0.50	0.89	İzobütirat <izoamil->
2	1.437	0.68	0.82	Nonan
3	1.465	0.19	0.23	Kapronaldehit
4	1.665	0.12	0.31	Nona-2(E),6(E)-dienal
5	1.717	0.18	0.35	Asetoin
6	1.763	0.15	0.26	Format <hekzil->
7	1.819	0.17	0.28	Acetilvaleril
8	1.949	0.04	0.13	Piruvat <etil->
9	2.277	0.19	0.42	Nona-2(E),6(E)-dienal
10	2.382	0.39	0.57	Siklerosol
11	2.843	0.22	0.32	Etil n-propil keton
12	3.348	0.17	0.32	Acetat <oktil->
13	4.114	1.81	2.54	İzobütirat <izoamil->
14	4.499	8.15	8.66	Dekan
15	4.931	0.26	0.45	Nonan
16	6.146	0.34	0.43	Acetat <oktil->
17	6.241	7.63	7.70	Nonan
18	6.905	0.30	0.42	Dekan
19	7.759	2.98	2.79	Pinen <alfa->
20	8.122	1.56	1.21	Nonan
21	9.328	0.45	0.38	Pinen <alfa->
22	9.867	0.10	0.19	Kamfen
23	10.216	0.16	0.26	Hept-2(E)-enal
24	10.785	1.99	1.39	Tridekan
25	10.947	0.31	0.31	Pinen <beta->
26	11.150	0.47	0.56	Vinilbutanol
27	11.437	0.92	0.86	Hept-5-en-2-on <6-metil->
28	11.582	0.14	0.17	Mirisen
29	12.255	0.69	0.54	Karen <delta-3->
30	12.523	0.18	0.22	Ökalyptol
31	12.610	2.62	2.54	Ökalyptol
32	12.820	9.04	9.57	Simen <para->
33	12.993	15.04	10.46	Limonen
34	13.095	0.11	0.16	Ökalyptol
35	13.420	0.25	0.32	Pinen <alpha->
36	13.808	0.79	0.81	Osimen <(E)-, beta->
37	14.192	0.12	0.20	Terpinen <gama->
38	14.413	0.22	0.28	Dodekan
39	14.992	0.34	0.33	Tolualdehit<para->
40	15.356	11.80	11.19	Dimetilsitiren <alfa-para->
41	15.807	1.29	1.43	Linalool
42	15.950	1.54	1.35	Pelargonaldehit
43	17.489	4.21	3.77	Kamfor
44	17.863	0.76	0.50	Menton
45	18.125	6.58	5.32	Izoborneol
46	18.319	1.19	0.99	Izoborneol
47	18.603	0.84	0.89	Mentol
48	18.770	1.15	1.45	Terpinen-4-ol
49	19.275	0.40	0.58	Terpineol <alfa->
50	19.360	0.19	0.28	Butirat <hekzil->
51	19.982	0.39	0.53	Verbenon
52	21.457	0.20	0.33	Jasmon <(Z)>
53	21.693	2.24	2.61	Linalil asetat
54	22.800	0.24	0.28	Bornil asetat
55	22.988	4.68	6.46	Karvakrol
56	23.330	0.11	0.18	Karvakrol
57	25.523	0.21	0.32	Neril asetat
58	26.176	1.66	2.36	Geranil asetat
59	27.481	0.21	0.28	Himaşalen <alfa->
60	31.697	0.50	0.89	Acetovanillon

Çizelge 3. Uçucu yağ ekstraktının farklı yöntemlere göre antioksidan aktiviteleri

NUMUNE	DPPH (% İNHİBSİYON)	FRAP (μmol TX/g yağ)	ABTS (μmol TX/g yağ)
<i>Hypericum perforatum</i> esansiyel yağı	27.86	-	9.66

SONUÇ

H. perforatum çok eski zamanlardan beri şifalı bir bitki olarak kullanılmıştır. Bitkinin çeşitli kısımlarının kullanılmasıyla hazırlanan kremlerin ve merhemlerin ve esansiyel yağının iyi derecede antifungal ve antibakteriyel aktivitesi sayesinde yara iyileşmesine olumlu katkısına dair bir dizi rapor mevcuttur. Bitkinin geleneksel preparatları (çaylar ve tentürler) hiperforin içermediğinden, bu preparatları incelemeye ve içinde bulunan aktif içerikleri belirlemeye hala ihtiyaç vardır. Bu türden elde edilen ekstratlar, bir dizi karakterize MRSA izolatına karşı değerlendirilebilir ve farmasötik endüstrisine ve halk sağlığına önemli faydalar sağlayabilir. Bitkinin çeşitli ekstratlarından türetilen tıbbi özellikler, her ekstrenin spesifik kimyasal bileşimine bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Fitokimyasal analiz ve biyolojik aktivite verileri, *H. perforatum* ekstraktlarının besleyici, kozmetik ve farmasötik alanlarda kullanılmasının olası olduğunu göstermektedir. Antioksidan özelliğinin de dikkate alınmasıyla söz konusu bu alanlarda kullanılabilirliği yüksektir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Dairesi tarafından TF-1635 numaralı projeye desteklenmiştir. Ordu Üniversitesi'ne ve Ordu Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'na maddi destekleri için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Acar Ü (2018) Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*) Yağının Sazan Yavrularının (*Cyprinus carpio*) Büyüme Performansı ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(1): 21-27
- Baş H, Ersoy DE (2020) Fumigant toxicity of essential oil of *Hypericum perforatum* L., 1753 (Malpighiales: Hypericaceae) to *Tenebrio molitor* L., 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). *Türkiye entomoloji dergisi*, 44 (2): 237-248.
- Baytop T (1984) Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İ.Ü., Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:40, İstanbul, 520s

- Baytop T (1999) Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Yayınevi, 2. Baskı. İstanbul, s. 256.
- Bertoli A, Cirak C, Da Silva JAT (2011) *Hypericum* species as sources of valuable essential oil. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5 (1): 29-47.
- Bilia AR, Gallori S, Vincieri FF (2002) St. John's Wort and Depression: Efficacy, safety and tolerability- an update. *Life Sciences*, 70(26):3077-3096.
- Butterweck V(2003) Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known? *CNS Drugs*, 17:539-562.
- Chistik TA (1957) *Hypericum perforatum* as anthelmintic used in hymenolepidosis and enterobiosis. *Farmakologiya i. Toksikologiya*, 20(6),76-77.
- Chopra RN (Ram Nath) (1958) Chopra's indigenous drugs of India (2d ed. / rev. and largely re-written by R. N. Chopra [et al.]). Dhur, Calcutta
- Couceiro MA, Afreen F, Zobayed SMA, Kozai T (2006) Variation in concentrations of major bioactive compounds of St. John's wort: effects of harvesting time temperature and germplasm. *Plant Science* 170(1): 128-134.
- Crockett SL (2010) Essential Oil and Volatile Components of the Genus *Hypericum* (Hypericaceae). *Natural product communications*, 5(9):1493-1506
- Curtis JD, Lersten NR (1990) Internal Secretory Structure in *Hypericum* (Clusiaceae): *H. perforatum* L. and *H. balearicum* L. *New Phytologist*, 114 (4):571-580.
- Çakir A, Duru ME, Harmandar M, Ciriminna R, Passannanti S, Piozzi F (1997) Comparison of the Volatile Oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey, *Flavour And Fragrance Journal*, 12(4):285-287.
- Davis PH (1982) *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Vol. 7., Edinburgh.
- Deveci A (2014) *Hypericum Perforatum* L(Sarı Kantaron) (Hypericaceae) Bitkisinin Morfolojik, Kimyasal (Uçucu Yağ Ve Flavonoid) Varyasyonlarının Araştırılması, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Elazığ.
- Ghasemi Pirbalouti A, Fatahi-Vanani M, Craker L, Shirmardi H (2014) *Hypericum perforatum* and *Hypericum scabrum*. *Pharmaceutical Biology*, 52(2):175-181
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer HKC (2000) *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, Edinburgh University press, Supplement 2, Vol.11, 656 s, Edinburgh.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (2012) Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, İstanbul
- Gunpinar S, Kilic OA, Tosun M, Firat T (2020) Antioxidant Characteristic of Pretreatment *Hypericum Perforatum* Oil Administration in a Rabbit Model of Palatal Mucosal Injury. *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1): 55-64
- Greeson JM, Sanford B, Monti DA (2001) St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacology* 153(4): 402-414.
- Gudžić B, Nedeljković J, Dordević S, Comor J.Facta Univ., SerPhysics, Chem Technol. 1(4): 47.

- Gudžić B, Dordević S, Palić R, Stojanović G (2001) Essential Oils of *Hypericum Olympticum* L. and *Hypericum perforatum* L. Flavour And Fragrance Journal, 16(3): 201 – 203.
- Habib M, Ibrahim HW, Schneider-Stock R, Hassan MH (2013) Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. Food Chemistry, 141: 148–152.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T (1989) Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 37(8): 2016–2021.
- Kavanagh F (1972) Analytical Microbiology. Academic Press, New York.
- Kırbağ S (1999) *Hypericum perforatum* L.'un Değişik Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkileri. Journal of Qafqaz University, 2(1): 102-108.
- Kivrak Ş (2018) Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. Industrial Crops and Products, 117: 88-96.
- Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E (2008) Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresource Technology, 99(18): 8788–8795
- Metin S, Biçer Zİ (2020) *Vagococcus salmoninarum*'a karşı bazı uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(2): 167-173.
- Meruelo D, Lavie G, Lavie (1988) Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 85(14): 5230–5234.
- Milosevic T, Solujic S, Sukdolak S (2007) In Vitro Study Of Ethanolic Extract Of *Hypericum Perforatum* L. On Growth And Sporulation Of Some Bacteria And Fungi, Turkish Journal of Biology, 31: 237-241.
- Morshedloo MR, Ebadi A, Maggi F, Fattahi R, Yazdani D, Jafari M (2015) Chemical characterization of the essential oil compositions from Iranian populations of *Hypericum perforatum* L. Industrial Crops and Products 76:565–573.
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction – Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, Japanese Journal of Nutrition, 44: 307–315.
- Peeva-Naumovska V, Panovski N, Grdanovska T, Fredro- Kumbaradzi E (2010) . Formulations of St. John's Wort oil ointment and evaluation of its antibacterial effect. Available from: www.amapseec.org/cmapseec.1/Papers/pap_p067.htm
- Rančić A, Soković M, Vukojević J, Simić A, Marin P, Duletić-Laušević S, Djoković D (2005) Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils of *Myrrhis odorata* (L.) Scop, *Hypericum perforatum* L and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Journal of Essential Oil Research, 17 (3): 341-345.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology in Medicine, 26(9-10): 1231–1237.
- Riu-Aumatell M, Castellari M, López-Tamames E, Galassi S, Buxaderas S (2004) Characterization of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. Food Chemistry, 87(4): 627-637.
- Ronald MA (1990) Microbiología, Compania Editorial Continental S.A. de C.V., Mexico DF. p. 505.
- Singh Pal, A(2006). Hypericin-A naphthodianthrone from *Hypericum perforatum*, European Journal of Clinical Pharmacology. 62,225–233
- Schwob I, Bessiere JM, Dherbomez M, Viano J (2002) Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hypericum coris*. Fitoterapia 73(6): 511–513
- Serkedjieva J, Manolava N, Nowosielska I, Zawilinski B, Grzybek J (1980) Phytotherapy Research,4:97.
- Şerbetçi T, Özsoy N, Demirci B, Can A, Kültür Ş, Başer KHC (2012) Chemical composition of the essential oil and antioxidant activity of methanolic extracts from fruits and flowers of *Hypericum lydium* Boiss. Industrial Crops and Products 36(1), 599–606.
- St. John's Wort Uses, Benefits, Dosages(2018) Drugs.com Herbal Database. Erişim adresi: <https://www.drugs.com/npp/st-john-s-wort.html>
- Tolkunova NN, Cheuva EN, Bidyuk AY, (2002) Effect of medicinal plant extracts on microorganism development. Pishchevaya Promyshlennost 8: 70–71
- Ultee A, Bennis MHJ, Moezelaar R(2002). The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 68(4): 1561–1568.