

**BAZI BİTKİSEL TENDÜRLERDE FARMAKOPE
ANALİZLERİ VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTE TAYİNİ
Yüksek Lisans Tezi**

Barış HENDEN

Eskişehir 2020

**BAZI BİTKİSEL TİNTÜRLERDE FARMAKOPE ANALİZLERİ VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ**

Barış HENDEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ocak 2020**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Barış HENDEN'in "Bazı Bitkisel Tentürlerde Farmakope Analizleri ve Antimikrobiyal Aktivite Tayini" başlıklı tezi 06.01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı- Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ	
Üye	: Prof. Dr. Ayşe Mine GENÇLER ÖZKAN	
Üye	: Prof. Dr. Betül DEMİRCİ	

Prof. Dr. Nalan GUNDOĞDU KARABURUN
Enstitü Müdürü



FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled “Pharmacopoeia Analysis of Certain Herbal Tinctures and Assessment of Antimicrobial Activity” has been prepared and submitted by Barış HENDEN partial fulfillment of the requirements in “Anadolu University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in Pharmacognosy Department has been examined and approved on 06./01./2020.

Committee Members

Signature

Member (Supervisor)

: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ

Member

: Prof. Dr. Ayşe Mine GENÇLER ÖZKAN

Member

: Prof. Dr. Betül DEMİRCİ

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Director

Graduate School of Health Sciences

ÖZET

BAZI BİTKİSEL TENTÜRLERDE FARMAKOPE ANALİZLERİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE TAYİNİ

Barış HENDEN

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ

Bitkisel drog preparatı olarak tentürler, eczacılık ve fitoterapide binlerce yıllık bir kullanıma sahiptir. Gerek geleneksel, gerekse kanıta dayalı iyi tanımlanmış etkiye sahip tentürlerin günümüzde de terapötik olarak yaygın kullanımı mevcuttur.

Bu çalışma kapsamında farklı farmakopelerde yer alan kırmızı kantaron - *Centaurium erythraea* L. (Gentianaceae), mür - *Commiphora myrrha* (Nees) Engler (Burseraceae), sarı kantaron - *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae), gözotu - *Euphrasia officinalis* L. (Orobanchaceae), turna gagası - *Geranium robertianum* (Geraniaceae), adaçayı - *Salvia officinalis* (Lamiaceae), ve ısırgan - *Urtica dioica* L. (Urticaceae)'nin tentürleri Avrupa Farmakopesi (Ph. Eur, 2019) kapsamında uygunlukları fizikokimyasal ve İTK ile analiz edilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* H157, *Bacteriodes fragilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Fusobacterium nucleatum* gibi insan patojeni mikroorganizmalar kullanılarak in vitro mikrodilüsyon yöntemi ile antimikrobiyal etkinlikleri açısından değerlendirilmiştir. *E. officinalis* tentürünün test edilen bütün mikroorganizmalarda etkinliği denenen maksimum konsantrasyondan daha yukarıda olduğu çıkmıştır. *H. perforatum* tentürünün ise *C. jejuni*'ye karşı etkisi denenen minimum konsantrasyondan daha düşük konsantrasyonda etkili olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Farmakope, Tentür, Antimikrobiyal

ABSTRACT

PHARMACOPOEIA ANALYSIS OF CERTAIN HERBAL TINCTURES AND ASSESSMENT OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Bariş HENDEN

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2020

Supervisor: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ

Tinctures as herbal drug preparates have been used for thousands of years in pharmacy and phytotherapy. Tinctures with both traditional and evidence based well defined effects remain in widespread usage to date.

In this study, European centaury-*Centaurium erythraea* L. (Gentianaceae), Myrrh-*Commiphora myrrha* (Nees) Engler (Burseraceae), St. John's-wort-*Hypericum perforatum* (Hypericaceae), Eyebright-*Euphrasia officinalis* (Orobanchaceae), herb-Robert - *Geranium robertianum* (Geraniaceae), Sage - *Salvia officinalis* (Lamiaceae) and common nettle - *Urtica dioica* (Urticaceae) tinctures proportionate to monographs of various pharmacopoeia were analyzed for physicochemical and TLC compatibility with European Pharmacopoeia (Ph. Eur, 2019). Additionally, using human pathogen microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* H157, *Bacteriodes fragilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis* and *Fusobacterium nucleatum* tinctures were assessed for antimicrobial effectiveness with in vitro microdilution technique. Additionally, for all tested organisms, *E. officinalis* tincture of highest tested concentration was not found antimicrobially effective. Furthermore, *H. perforatum* tincture's minimum inhibitory concentration was found to be lower than tested concentrations against *C. jejuni*.

Keywords: Pharmacopoeia, Tincture, Antimicrobial

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında bana her konuda destek olan ve değerli bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ'ye,

Kıymetli bilgi ve tecrübesiyle bu çalışmada bana destek olan hocam Sayın Prof. Dr. Betül DEMİRCİ'ye,

Çalışmamda biyolojik aktivite analizlerinde bana destek olan Bio. Melek TEKGÖZ'e,

Kromatografi çalışmalarımda bana yol gösteren ve her konuda destek ve yardımcı olan Ecz. Damla KIRCI'ya,

Bana her alanda her zaman destek olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Barış HENDEN

06.10.2020

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Barış Henden

Ok.12/2020

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

Baris Henden

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vii
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
GÖRSELLER DİZİNİ	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KAYNAK BİLGİLER	3
2.1. Farmasötik Dozaj Formları	3
2.1.1 Solüsyonlar	3
2.2. Hidroalkolik Solüsyonlar	4
2.2.1. Eliksirler	4
2.2.2. Esanslar	5
2.2.3. Tentürler	5
2.3. Tentürler	5
2.3.1. Tentürlerin üretimi	5
2.3.2. Tentürlerin kalite testleri	7
2.4. Farmakopelerde Tentürler.....	7
2.4.1. <i>Euphrasia officinalis tincturae</i>	7
2.4.2. <i>Geranium robertianum tincturae</i>	9
2.4.3. <i>Commiphora myrrha tincturae</i>	10
2.4.4. <i>Urtica dioica tincturae</i>	11
2.4.5. <i>Hypericum perforatum tincturae</i>	12

2.4.6. <i>Salvia officinalis tincturae</i>	13
2.4.7. <i>Centaurium erythraea tincturae</i>	14
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	16
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Madde ve Gereçler.....	16
3.1.1. Materyalin temini	16
3.1.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler.....	17
3.1.3. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve apareyler.....	17
3.2. Deneysel Çalışmalar ve Yöntemler.....	17
3.2.1. Bağlı yoğunluk test yöntemi.....	17
3.2.2. Ekstrelerin kuru bakiye test yöntemi.....	18
3.2.3. İnce tabaka kromatografisi (İTK).....	18
3.2.4. Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK).....	21
4. BULGULAR VE YORUMLAR	23
4.1. Kuru Bakiye Testi Sonuçları.....	23
4.2. Bağlı Yoğunluk Sonuçları.....	23
4.3. İTK Sonuçları.....	24
4.3.1. <i>Centaurium erythraea tincturae</i>	24
4.3.2. <i>Commiphora myrrha tincturae</i>	25
4.3.3. <i>Euphrasia officinalis tincturae</i>	26
4.3.4. <i>Geranium robertianum tincturae</i>	27
4.3.5. <i>Hypericum perforatum tincturae</i>	28
4.3.4. <i>Salvia officinalis tincturae</i>	29
4.3.5. <i>Urtica dioica tincturae</i>	30
4.4. MİK Sonuçları.....	31
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	33
KAYNAKÇA	36
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Kullanılan Bitki Tentürleri ve Üretici Firmalar.....	16
Tablo 3.2. Bitki tentürlerinin SKT ve Lot No.....	16
Tablo 3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	17
Tablo 3.4. Kullanılan Cihaz ve Apeyler.....	17
Tablo 3.5. Tentürlerin İTK Yöntem Kaynakları.....	18
Tablo 3.6. Farmakopelere Göre İTK Sürüklenme Uzunlukları.....	18
Tablo 3.7. Tentürlerin Mobil Fazları.....	19
Tablo 3.8. Tentürlerin Uygulama Miktarları.....	19
Tablo 3.9. Plakaların Kurutma Yöntemleri.....	19
Tablo 3.10. Kullanılan Mikroorganizma Kültürleri.....	22
Tablo 4.1. Tentürlerin Kuru Bakiye Yüzdeleri.....	23
Tablo 4.2. Tentürlerin Bağlı Yoğunlukları.....	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Endüstriyel Maserasyon Tankı	6
Şekil 2.2. Endüstriyel Perkolatör.....	7

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 4.1. <i>Centaurium erythraea</i> Tentürünün İTK kromatogramı	24
Görsel 4.2. <i>Commiphora myrrha</i> Tentürünün İTK kromatogramı	25
Görsel 4.3. <i>Euphrasia officinalis</i> Tentürünün İTK kromatogramı	26
Görsel 4.4. <i>Geranium robertianum</i> Tentürünün İTK kromatogramı (365 nm UV)	27
Görsel 4.5. <i>Hypericum perforatum</i> Tentürünün İTK kromatogramı (365 nm UV)	28
Görsel 4.6. <i>Salvia officinalis</i> Tentürünün İTK kromatogramı	29
Görsel 4.7. <i>Urtica dioica</i> Tentürünün İTK kromatogramı	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ce	: <i>Centaurium erythraea</i>
CFU	: Koloni Oluşturabilen Birim
DAB	: Alman Farmakopesi
Eo	: <i>Euphrasia officinalis</i>
EP	: Avrupa Farmakopesi
Gr	: <i>Geranium robertianum</i>
h	: hacim
HAB	: Alman Homeopati Farmakopesi
Hp	: <i>Hypericum perforatum</i>
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
So	: <i>Salvia officinalis</i>
subsp	: subspecies
Ud	: <i>Urtica dioica</i>
USP-NF	: Amerikan Farmakopesi-Ulusal Kodeks

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Eski çağlardan günümüze kadar geçen bu sürede, en büyük medeniyetleri dahi zaman zaman yok edebilecek seviyeye gelebilmiş, insanlığın devamı için en büyük tehdit gruplarından biri olan hastalıklar günümüzde de her yönüyle aydınlatılabilmemiş değildir. Milattan önce yaklaşık 1550 yıllarına ait olan Ebers Tıp Papirüsünde yer alan hastalıklar her ne kadar timsah ısırması, tırnak ağrısı gibi günümüze göre basit bir şekilde tarif ediliyor olsa da kıyasla modern bir şekilde gastrointestinal hastalıklar, oftalmolojik hastalıkları şeklinde kategorize de edilmişti [1]. Bu dönemlerdeki çeşitli hastalıklar, zehirli hayvanlar ve zaman içerisinde yaşanan ciddi epidemiler beraberinde insanları, genellikle zengin ve soylu kesimi, kendilerini koruyabilmeleri için bir çözüm aramaya itmiştir. Bu arayışın sonuçlarından biri ise o zamanlar herşeyin panzehiri gibi lanse edilen ve genellikle opium, myrrh, cannabis gibi bitki, çeşitli hayvan kısımları ve salgıları şeklinde 50-60'a yakın farklı içeriğin alkol yani şarap veya bal gibi sıvılar ile karıştırılarak yapılan farklı zamanlarda farklı medeniyetlerin ismine “theriac”, “mithridatium” dediği karışımları ortaya çıkmıştır [2]. Bu çalışmalar geliştirilerek ve kıyasla daha bilimsel yöntemler kullanılarak terk edilen bu basit bakış açısı zamanla yerini ekstre ve çeşitli diğer formlardaki karışımlara bırakmıştır. Yüzyıllarca medikal otorite olarak da görülen İbn-i Sina'nın “El-Kanun fi't Tıb” isimli kitabının 1800'lere kadar kullanımı buna en iyi örnektir [3].

Yapılan çalışmalar ile günümüze yaklaştıkça bu karışımların kalitelerini kontrol edebilmek amacıyla farmakopeler yayınlanmış ve bu bağlamda ilk olarak da kabul edilen farmakope Floransa'da 1498'de oluşturulmuştur. [4] Tıp ve teknoloji alanında yaşanan gelişmelerle birlikte İkinci Dünya Savaşı sonrasında modern tıbbın oluşması, tablet gibi daha pratik ve kullanımı kolay farmakolojik formlara geçilmesi bu tarz sıvı ekstre ve tentürlerin kullanımını azaltmıştır [5].

Günümüzde modern tıbbın sunduğu ilaçların gösterdiği yan etkiler ve özellikle de antibiyotiklere karşı gelişen direnç kaynaklı olarak, istenilen tedavi sonucuna ulaşamama veya bu ilaçlara sürekli bağımlı kalma gibi sebeplerden dolayı insanları sentetik olarak elde edilmişlerden uzaklaştırıp eskiye, doğal çözümlere itmeye başlamıştır. Gelişen bu talep doğrultusunda da bitkisel çaylar, tentürler ve ekstreler gibi çeşit çeşit kalite ve özellikte ürünler piyasaya arz edilmeye başlanmıştır.

Herhangi bir bitkiden elde edilen ürünün tedavide istenilen sonucu verebilmesi ve ürün validasyonunun sağlanabilmesi için bitkinin etkin madde içeriğinin doğru oranda ve miktarda standart olması çok büyük önem teşkil etmektedir. Standardizasyon amaçlı olarak farmakopelerde bulunan, bitkinin makroskopik ve mikroskopik teşhisi, ürünün bitkinin hangi kısmından ve ne şekilde hazırlanması gerektiği gibi birçok kriterleri yerine getirmesi, aynı zamanda da kullanıma kadar geçen sürede bu kriterleri muhafaza etmesi için her türlü şart sağlanmalıdır.

Günümüzde uygun olmayan toprakta bitki yetiştirme, uygun olmayan zamanda ve uygun olmayan bitki kısımlarını toplama sorunlarına ek olarak farklı farmakolojik ürün tipleri için farklı denetim mekanizmaları olmasından ve bu mekanizmaların hepsinin aynı standarda bağlı olmamasından kaynaklı çok farklı kalitedeki bitki ve bitki ürünleri pazarda bulunmaktadır. Bu da kullanılan ürüne göre tedavinin sonucunu dolayısıyla hastaların sağlığını ciddi anlamda riske atabilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Avrupa’da yaygın olarak kullanılan ve farmakopeye göre üretildiği beyan edilen tentürlerin farmakope monograflarındaki kriterlere uygunluğu ve bu tentürlerin antimikrobiyal etkinliğinin tespiti amaçlanmıştır.

Buna yönelik olarak kırmızı kantaron -*Centaurium erythraea* L. (Gentianaceae), mür - *Commiphora myrrha* (Nees) Engler (Burseraceae), sarı kantaron - *Hypericum perforatum* (Hypericaceae), gözotu - *Euphrasia officinalis* (Orobanchaceae), turna gagası - *Geranium robertianum* (Geraniaceae), adaçayı - *Salvia officinalis* (Lamiaceae) ve ısırgan - *Urtica dioica* (Urticaceae)’nın farmakope monograflarına göre belirtilen oranlarındaki tentürleri seçilen Avrupa Farmakopesi (PhEur, 2019) kapsamında monograflarda yer alan kuru bakiye, bağıl yoğunluk, İTK referans kromatogramlarına uygunlukları açısından değerlendirilmiştir.

Farmakopeye göre incelenen tentürlerin antimikrobiyal etkilerinin in-vitro olarak mikrodilüsyon yöntemiyle *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* H157, *Bacteriodes fragilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Fusobacterium nucleatum*’a karşı etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK BİLGİLER

2.1. Farmasötik Dozaj Formları

Dozaj formları kullanımına veya fiziksel formuna göre sınıflandırılabilirler. Kullanım yöntemlerine göre sınıflandırma; topikal veya haricen kullanım (kremler, merhemler, macunlar); oral kullanım (şuruplar, tabletler, kapsüller); rektal supozituarlar; parenteral enjeksiyonlar; transdermal patch'ler (yakılar); lokalize damlalar (oküler, nazal, otik) iken, fiziksel formlarına göre ise aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar [6].

- Solüsyonlar
- Sıvı dispersiyonlar
- Yarıkatı dispersiyonlar
- Plastik dispersiyonlar
- Kaplanmış katıları da içeren katı dozaj formları
- Uzun Sürede etkili ürünler
- Basınçlı aerosoller
- Basınçsız gaz dozaj formları (inhalasyon preparatları)

2.1.1. Solüsyonlar

Solüsyonlar, uygun bir çözücüde veya birbiriyle karışabilen bir sıvı karışımında bir veya daha fazla çözülmüş kimyasal madde içeren preparatlardır. Genellikle moleküler olarak homojen dağıldıklarından dolayı kullanımında eşit bir dozajlama; karıştırıldıklarında veya seyreltildiklerinde ise elde edilmek istenen derişime ulaşabilmek daha kolaydır [9].

Farmasötik standartlar ve diğer dozajlama gereksinimleri ulusal ve uluslararası farmakopelerde belirtilmiştir.

Solüsyonlar çeşitli farmasötik amaçlar için kullanılmaktadır [9].

- Oral olarak: Sulu veya Hidroalkolik çözücü sistemiyle şekerli tatlandırılmış, aromalandırılmış.
- Harici uygulamalar için (emdirilerek, banyo olarak), deri yaralarına
- Vücut boşluklarına veya açıklıklarına: lavman, duş, mesane yıkanması

- İnhalant olarak atomizerler, nebulizerler ve basınçlı aerosollerden
- Ağız ve boğaz için gargara veya ağız yıkama olarak mukoz membranların tedavisinde (iritan özellikleri olanlar hariç)
- Göz, kulak veya nazal damla olarak lokal uygulamalarda özel preparasyonlarla,
- Steril ve apirojen formları ile Parenteral enjeksiyon

Birçok çeşit ilaç solüsyon dozaj formları yıllar önce çeşitli çözücülerle bitki materyalleri ekstre edilerek geliştirilmiştir. Bu sebeple çeşitli şuruplar, alkollü içkiler, tentürler ve sıvı ekstraler hala USP-NF’de listelidir. Bunlardan bazıları terapötik etkili maddeler içerir (örneğin ipecac şurubu, senna sıvı ekstresi, cascara sagrada sıvı ekstresi ve belladonna tentürü). Terapötik etkili madde içermeyen ekstraler, karışımlar için aroma seyreltme aracı olarak yer almıştır(örneğin nane alkolü, vanilya tolu balzam tentürü ve tolu balzam şurubu). Aromatik sular da bu tip solüsyonlara girmektedir. Bu tipteki ekstre solüsyon tiplerine örnekler [6].

- Şuruplar
- Aromatik Sular
- Elikşirler
- Esanslar
- Sıvı ekstraler
- Tentürler

2.2. Hidroalkolik Solüsyonlar

2.2.1. Elikşirler

Oral kullanım için tatlılaştırılmış hidroalkolik solüsyonlara eliksir denir [6]. Bazıları ilaç ihtiva ederler diğerleri ise tatlandırıcı araçlardır. İzoalkolik eliksir buna bir örnektir.

Ticari kullanımda “eliksir” terimi (ABD içerisinde USP veya NF tarafından belirtilmediği sürece) resmi formunu yansıtmaz. Bu aynı şekilde “şurup” ve “tentür” terimleri için de geçerlidir [6].

2.2.2. Esanslar

Uçucu maddelerin veya yağların alkollü veya hidroalkolik çözeltileridir. Bazıları ilaç içerdikleri gibi diğerleri ise yüksek alkol içermesi için kullanılan tatlandırıcı araçlardır [6].

2.2.3. Tentürler

Bitkisel drogların, sentetik maddelerin veya tatlandırıcı içeriklerin hidroalkolik çözeltileridirler.

Avrupa Farmakopesi (Ph. Eur, 2019)'ne göre ölçümlü tentürler ve “diğer” tentürler, bitkisel drogdan ağırlıkça 1 kısım ve ekstraksiyon solventinden ağırlıkça veya hacimce 10 kısım kullanılarak veya bitkisel drogdan ağırlıkça 1 kısım ve ekstraksiyon solventinden ağırlıkça veya hacimce 5 kısım kullanılarak hazırlanır. Alternatif olarak bitkisel drogdan ağırlıkça 1 kısım ve ekstraksiyon solventinden toplamda 10 kısım edecek kadar alınarak veya bitkisel drogdan ağırlıkça 1 kısım ve ekstraksiyon solventinden toplamda 5 kısım edecek kadar alınarak da hazırlanabilir. Bitkisel drog'un ekstraksiyon çözücüsü farklı oranları da kullanılır [8].

Standardize tentürler bilinen terapötik aktiviteleriyle birlikte sadece bileşen miktarına göre tanımlanırlar.

2.3. Tentürler

2.3.1. Tentürlerin Üretimi

Avrupa Farmakopesine göre tentürler 1 kısım bitki ve 10 kısım ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak veya 1 kısım bitki ve 5 kısım ekstraksiyon çözücüsü kullanılarak elde edilen sıvı ekstrelerdir. Alternatif olarak 1 kısım bitki ve toplamda 10 kısım tentür elde edilecek miktarda ekstraksiyon çözücüsü veya 1 kısım bitki ve toplamda 5 kısım tentür elde edilecek miktarda ekstraksiyon çözücüsü tentür eldesinde tercih edilebilir [8].

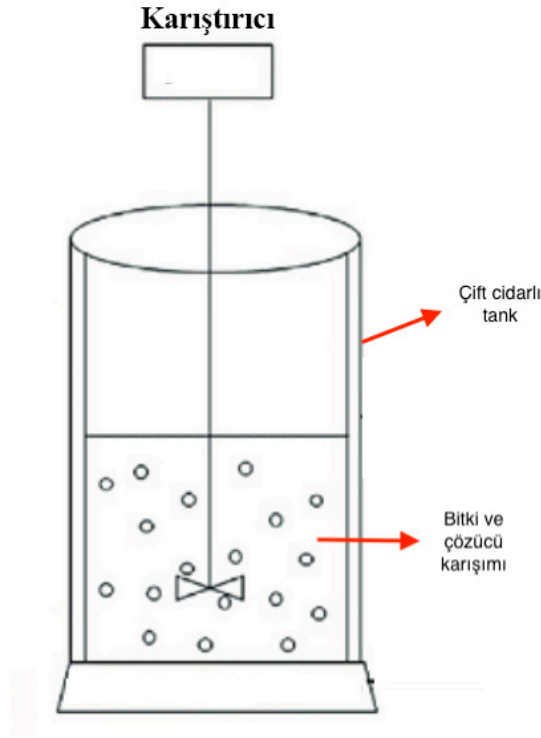
Tentürler, genellikle bitkisel drogu ekstre edebilecek uygun konsantrasyonda etanol ile maserasyonla veya perkolasyonla hazırlanır veya bitkisel drogun yumuşak veya kuru ekstresini (direkt tentür hazırlanırken kullanılan solvent kullanılmış olmalı) uygun konsantrasyondaki etanolde çözerek hazırlanır [8].

Tentür, etanol tedarik zincirinin ve tentür üretim prosesinin detaylı bilgisi ile uygunluk güvencesi verilmediği sürece izopropil alkol içermesine karşı test edilir. Maksimum %0.05 (h/h) içermesi gereklidir [10].

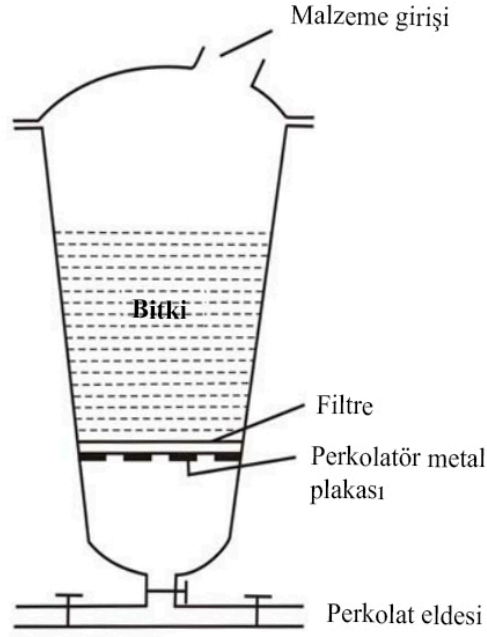
Standardize tentürler haricinde, yumuşak veya kuru ekstrelerden elde edilen tentürler direkt ekstraksiyon yapılarak üretilen tentürler içerisindeki bulunan maddeler haricinde başka bir madde içeremezler. Ancak tentürü elde etmek için kullanılan yumuşak ekstreler stabilitesini koruması için stabilizatör, antioksidan veya antimikrobiyal koruyucular içeriyorsa tentürde de olması istisnai durum olarak kabul edilebilir.

Tentürler solventlerin içeriğinin gerekliliklerini karşılamaları için ayarlanabilirler. Tentürler eğer gerekli ise filtre edilebilirler. Tentürler genellikle berraktırlar. Bekletildiklerinde biraz tortu oluşabilir.

Endüstriyel ölçekte kullanılan maserasyon tankı ve perkolatör görünüşleri Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'deki gibidir.



Şekil 2.1. Endüstriyel Maserasyon Tankı



Şekil 2.2. Endüstriyel Perkolatör

2.3.2. Tentürlerin Kalite Testleri

Avrupa Farmakopesi'ne (Ph. Eur, 2019) göre şu kalite testleri yapılmaktadır.

Bağıl Yoğunluk: Geçerli olan yerlerde tentür uygun görülmüş limitler dahilinde olmalıdır.

Etanol: Etanol içeriği uygun görülen limitler dahilinde olmalıdır.

Metanol: maksimum %0.05 (h/h) içermelidir. (Aksi reçete edilmedikçe)

Kuru bakiye: Geçerli olan yerlerde tentür uygun görülmüş limitler dahilinde olmalıdır.

Depolama şartları: Işıktan korunmalıdır.

Etiketleme şartları: Etiket yukarıdaki bahsedilen gereklilikler dışında %h/h olarak etanol içermelidir.

2.4. Farmakopelerde Tentürler

2.4.1. *Euphrasia officinalis tincturae*

Çiçeklenme zamanındaki *Euphrasia stricta* D. Wolff ex J. F. Lehm. ve *Euphrasia officinalis* L. subsp. *rostkoviana* (Hayven) F. Towns.'ın taze herba ve kök'ün (planta

totalis) kendileri veya karışımları tentür yapımında kullanılır[11]. Türkiye’de Giresun, Ordu, Rize ve Trabzon’da doğal olarak yetişmektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-13) şu şekildedir:

Üretim:

Ana tentür ve sıvı dilüsyonlar HAB regülasyon 3a’ya göre hazırlanır.

Karakteristiği:

Ana tentür koyu kahverengi bir sıvıdır ve otsu kokuludur.

Teşhis:

İnce tabaka kromatografisi

Test çözeltisi: 10 mL ana tentür 10 mL su ile seyreltilir

Referans çözelti: 10 mg hiperozid, 10 mg kafeik asit ve 10 mg rutin 10 mL metanol içerisinde hazırlanır.

Plak: Silikajel alüminyum İTK plağı

Mobil faz: Su: susuz formik asit: etil asetat (8:8:84 h/h/h)

Sürüklenme: 15 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Plak önce metanol R içerisinde Difetilborilfenoksietilamin R çözeltisi (10g/L) ile püskürtülür daha sonra metanol R içerisinde Macrogol 400 R çözeltisi (50 g/L) püskürtülür. Ardından 105 ile 110 °C arasında 5 dk ısıtılır ve 365nm UV ışıkta gözlemlenir.

Testler:

Bağıl yoğunluk (2.2.5): 0,900 ile 0,920 arası

Kuru bakiye (H 2.2.6): Minimum %2,0

EMA’ya göre *Euphrasia officinalis* tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Konjonktivit’in semptomatik tedavisinde ve önlenmesinde (alerjik, irritatif, enfeksiyöz kaynaklı)
- Minör göz problemlerinin semptomatik tedavisinde. (Blefarit, göz yorgunluğu, pürülan oküler enflamasyon, arpacık gibi)

2.4.2. *Geranium robertianum tincturae*

Geranium robertianum'un taze toprak üstü kısımlarının çiçeklenme zamanında toplanarak tentür hazırlanır [12]. Türkiye'de Bolu, İstanbul, Kastamonu, Antalya, Artvin, Denizli, Hatay, Isparta, Kırklareli, Kütahya, Samsun, Sinop, Trabzon'da doğal olarak yetişmektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-12) şu şekildedir:

Üretim:

Ana tentür regülasyon 2a'ya göre hazırlanır.

Karakteristiği:

Ana tentür, bal sarısı ve koyu sarı kahverengi arasında bir sıvıdır.

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi (2.2.27)

Test çözeltisi: Ana tentür

Referans çözelti: 10 mL metanol içerisinde 10 mg hiperozid ve 10 mg kafeik asit çözülür.

Plak: Silikajel alüminyum İTK plağı (5 ile 40 µm)

Mobil faz: Susuz formik asit: su: etilasetat (10:10:80 h/h/h)

Uygulama: 10 µL ; bant şeklinde 20 mm

Sürüklenme: 10 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Plaka önce metanol içerisinde Difenilboriloksietilamin çözeltisi (10g/L) ile püskürtülür daha sonra metanol içerisinde Macrogol 400 çözeltisi (50 g/L) püskürtülür.

Ardından 105 ile 110 °C arasında 5 dk ısıtılır ve 365nm UV ışıkta gözlemlenir.

Testler:

Bağıl Yoğunluk (2.2.5): 0,930 ile 0,950 arasında

Kuru bakiye (H 2.2.6): minimum %1,3

Geranium robertianum'un EMA'da monografi ve geleneksel kullanım bilgileri henüz oluşturulmamıştır.

2.4.3. *Commiphora myrrha tincturae*

Commiphora myrrha ve/veya diğer *Commiphora* türlerinin kök ve dallarından kesikler ile veya spontan akıntıyla elde edilmiş açık havada kurutulmuş reçineden tentür hazırlanır [13]. Türkiye’de doğal olarak yetişmemektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-9) şu şekildedir:

Üretim:

Tentür, uygun prosedür ile 1 kısım drog ve 5 kısım etanol (%90 h/h) kullanılarak elde edilir.

Karakteristiği:

Berrak sarımsı kahverengi veya turuncu-kahverengi sıvıdır.

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi (2.2.27).

Test çözeltisi: 5 mL tentür 10 mL alkol R ile seyreltilir.

Referans çözelti: 10 mg timol ve 40 µL anetol 10 mL eter R içerisinde çözülür.

Plak: İTK silikajel alüminyum plak

Mobil faz: Etil asetat: toluen (2:98 h/h).

Uygulama: 10 µl, bant halinde

Sürüklenme: 15 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Anisaldehit R solüsyonu ile spreylenebilir ve 100-105 °C’de 10 dakika boyunca ısıtılırken gün ışığında gözlemlenir.

Testler:

Bağıl yoğunluk: Farmakope monografında mevcut değil.

Kuru bakiye (2.8.16): minimum % 4,0 k/k.

EMA’ya göre *Commiphora myrrha* reçinesinin tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Ağızdaki minör ülser ve enflamasyonlarda,
- Minör yaralar ve küçük çıbanlarda.

2.4.4. *Urtica dioica tincturae*

Tentür bütün, taze ve çiçekli *Urtica dioica* bitkisi ile hazırlanır [14]. *Urtica dioica* Türkiye’de Osmaniye, Bolu, Gaziantep, İstanbul, Iğdır, Hakkari, Bitlis, Ankara, Antalya, Balıkesir, Elazığ, Erzurum, Giresun, İzmir, Konya, Niğde’de doğal olarak yetişmektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-11) şu şekildedir:

Üretim:

Urtica dioica ana tentürü etanol kullanılarak maserasyon ile uygun konsantrasyonda hazırlanır.

Karakteristiği:

Yeşilimsi kahverengi veya turuncu-kahverengi sıvı

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi (2.2.27).

Test çözültisi: Ana tentür.

Referans çözültisi: 10 mg fenilalanin ve 10 mg serin eşit hacimde metanol ve su ile toplam 10 mL içerisinde çözülür.

Plak: İTK silikajel alüminyum plak.

Mobil faz: glasiyel asetik asit: su: aseton: bütanol (10:20:35:35 h/h/h/h).

Uygulama: 20 µL, bant halinde.

Sürüklenme: 10 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Etanol (%96) içerisinde 1g/L’lik ninhidrin çözültisi ile spreylenebilir ve 105-110 °C’de 5-10 dk boyunca ısıtılır ve 10 dk içerisinde gün ışığında gözlemlenir.

Testler:

Bağıl Yoğunluk (2.2.5) : 0.930 ile 0.950 arası

Kuru bakiye (2.8.16): Minimum %1.1

EMA’ya göre *Urtica dioica* tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Hafif eklem ağrılarında,
- Minör idrar şikayetlerinde idrar miktarının artırılarak idrar yollarının temizlenmesinde.

2.4.5. *Hypericum perforatum tincturae*

Tentür yapımı için hazırlanacak materyal bütün ve taze *Hypericum perforatum* bitkisinin çiçeklenme döneminin başlangıcında toplanılmasıyla elde edilir [15]. Türkiye’de İstanbul, Ardahan, Hakkari, Bartın, Amasya, Ankara, Antalya, Aydın, Balıkesir, Çanakkale, Erzincan, Erzurum, Giresun, Hatay, Isparta, İçel, Kocaeli, Manisa, Kahramanmaraş, Muğla, Nevşehir, Samsun, Bayburt, Karaman’da doğal olarak yetişmektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-14) şu şekildedir:

Üretim:

Hypericum perforatum L. ana tentürü, etanol kullanılarak maserasyon ile uygun konsantrasyonda hazırlanır.

Karakteristiği:

Koyu kırmızı ile kahverengimsi kırmızı arası bir renkte sıvı

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi (2.2.27).

Test çözeltisi: Ana tentür

Referans çözelti: 5 mg rutozid trihidrat, 1 mg hiperisin ve 5mg hiperozid metanol ile çözülerek 5 mL’ye metanol ile seyreltilir.

Plak: İTK silikajel alüminyum plak

Mobil faz: susuz formik asit: su: etil asetat (6:9:90 h/h/h).

Uygulama : 10 µL, 10 mm bant halinde.

Sürüklenme: 10 cm

Kurutma: 100-105 °C’de 10 dakika boyunca

Reaktif: Metanolde çözülmüş 10 g/L’lik difenilborik asit aminoetil ester çözeltisi spreylenebilir ve sonrasında metanol içerisinde 50 g/L’lik Macrogol 400 çözeltisi püskürtülür. 30 dakika sonrasında 365 nm’de UV ışıkta incelenir.

Testler:

Bağıl yoğunluk (2.2.5): 0.900 ile 0.920 arası

Kuru bakiye (2.8.16): Minimum %1,3

EMA’ya göre *Hypericum perforatum* tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Geçici zihinsel yorgunluklarda,
- Minör cilt enflamasyonlarında ve minör yaralarda,
- Hafif gastrointestinal rahatsızlıklarda.

2.4.6. *Salvia officinalis tincturae*

Salvia officinalis yaprakları kullanılarak tentür elde edilir [16]. Türkiye’de doğal olarak yetişmemektedir [17].

Farmakope monograf bilgileri (Ek-10) şu şekildedir:

Üretim:

Tentür, uygun prosedüre göre 1 kısım ufalanmış drog ve 10 kısım %70’lik etanol kullanılarak elde edilir.

Karakteristiği:

Kendine has bir kokuya sahip kahverengimsi sıvı.

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi (2.2.27).

Test çözeltisi: Tentür

Referans çözelti: 20 µL tuyo R ve 25 µL sineol R, 20 mL metanol içerisinde çözülür.

Plak: İTK silikajel alüminyum plak

Mobil faz: etil asetat:toluen (5:95 h/h).

Uygulama: 20 µL, bant halinde

Sürüklenme: 15 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Etanolde 200 g/L’lik fosfomolibdik asit R çözeltisi püskürtülür ve 100-105 °C’de 10 dakika ısıtılarak gün ışığında incelenir.

Testler:

Bağıl yoğunluk: Farmakope monografında referans bulunmamaktadır.

Kuru bakiye (2.8.16): minimum %2,0 k/k

EMA’ya göre *Salvia officinalis* tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Mide ekşimesi ve şişkinlik gibi hafif hazımsızlık problemlerinde,
- Aşırı terlemede,

- Ağız ve boğazdaki enflamasyonlarda,
- Minör cilt enflamasyonlarında.

2.4.7. *Centaurium erythraea tincturae*

C. majus (H. et L.) Zeltner and *C. suffruticosum* (Griseb.) Ronn. (syn.: *Erythraea centaurium* Persoon ; *C. umbellatum* Gilibert ; *C. minus* Gars.) de dahil olmak üzere *Centaurium erythraea* Rafn s. l. toprak üstü kısımlarının bütün veya parçalanmış kuru çiçekli halleri kullanılarak tentür elde edilir. Türkiye’de İstanbul, Bartın, Antalya, Artvin, Balıkesir, Çanakkale, İçel, İzmir, Ordu, Sinop, Trabzon’da doğal olarak yetişmektedir [17].

Centaurium erythraea’nin farmakopelerde tentür monografı bulunmamaktadır. *Centaurium erythraea* bitkisinin Avrupa farmakopesindeki monograf bilgileri (Ek-8) şu şekildedir:

Karakteristiği:

Buruk acı tadı vardır.

Teşhis: İnce tabaka kromatografisi

Test çözeltisi: 1 gram toz edilmiş bitkiye 25 mL metanol eklenerek 15 dakika boyunca çalkalanır ve daha sonra filtrelendir. Filtrat uçurulur ve 50 °C’yi geçmeyecek şekilde vakum altında kurutulur. Kalan kısımdan küçük metanol miktarları ile alınarak toplam 5 mL’lik çözelti elde edilir. Tortu kalabilir.

Referans çözelti: 1 mg rutozid trihidrat ve 1 mg svertiamarin metanol içerisinde çözülür ve 1 mL seyreltilir.

Plak: İTK silikajel alüminyum plak (5-40 µm)

Mobil faz: su: susuz formik asit: etil format (4:8:88 h/h/h)

Uygulama: 10 µL bant halinde

Sürüklenme: 12 cm

Kurutma: Açık havada

Reaktif: Anisaldehit R çözeltisi ile spreylenebilir ve 100-105 °C arasında 5-10 dakika boyunca ısıtılır. Sonrasında gün ışığında gözlemlenir.

Testler:

Yabancı madde: Maksimum %3

Acılık derecesi: Minimum 2000

Kurutma kaybı: Maksimum %10, 1 kg toz haline getirilmiş bitki üzerinden tespiti yapılır.

Toplam kül: Maksimum %6

EMA'ya göre *Centaurium erythraea* tentürü şu problemlerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır:

- Hafif hazımsızlık/gastrointestinal rahatsızlıklarda ve geçici iştah kaybında.

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Madde ve Gereçler

3.1.1. Materyalin temini

Deneylerde kullanılan bütün tentürler Avrupa’da nihai ürün olarak eczane raflarında bulunmaktadır. Deneyde kullandığımız Ceres markalı bütün tentürler Zürih’teki bir eczaneden temin edilmiştir; Caelo markalı *Myrrha* tentürü ise Münih’teki bir eczaneden temin edilmiştir. Seçilen Ceres markalı tentürlerin hepsinin kutusunun üzerinde ilgili farmakopenin ilgili maddesine atıf verilerek farmakopeye uygun üretildiği beyan edilmiştir. Temin edilen ürünlerin Son Kullanım Tarihleri ve Lot numaraları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.1. *Kullanılan bitki tentürleri ve üretici firmalar*

Bitki Tentürü	Üretici Firma
<i>Centaurium erythraea</i>	CERES Heilmittel
<i>Euphrasia officinalis</i>	CERES Heilmittel
<i>Hypericum perforatum</i>	CERES Heilmittel
<i>Geranium robertianum</i>	CERES Heilmittel
<i>Commiphora myrrha</i>	Caesar & Loretz GmbH
<i>Urtica dioica</i>	CERES Heilmittel

Tablo 3.2. *Bitki tentürlerinin SKT ve Lot No*

Bitki Tentürü	Son Kullanma Tarihi	Lot Numarası
<i>Centaurium erythraea</i>	04.2023	1628111K
<i>Euphrasia officinalis</i>	21.2023	1732137Y
<i>Hypericum perforatum</i>	04.2022	527525D
<i>Geranium robertianum</i>	04.2023	1621080Z
<i>Myrrh</i>	11.2021	18319401
<i>Urtica dioica</i>	06.2022	1654235X
<i>Salvia officinalis</i>	08.2023	1654549H

3.1.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler ile üretici firmaları Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3. *Kullanılan kimyasal maddeler*

Kimyasal Madde	Üretici Firma
Etilasetat	Honeywell
Toluen	Carlo Erba
Glasiyel asetik asit	Fluka
Metanol	Merck
Etanol	Sigma-Aldrich
Aseton	Sigma-Aldrich
Bütanol	Fluka
Formik asit	Merck
Ninhidrin	Fluka

3.1.3. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve apareyler

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve apareyler ile üretici firmaları Tablo 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.4. *Kullanılan cihaz ve apareyler*

Cihaz ve aparey	Üretici Firma
UV Görüntüleme Cihazı	CAMAG
Etüv	MMM Ecocell

3.2. Deneysel Çalışmalar ve Yöntemler

3.2.1. Bağlı yoğunluk test yöntemi

Bu test yöntemi Avrupa Farmakopesi 9.0'a göre (2.2.5) yapılmıştır.

Bağlı yoğunluk: Bir maddenin t_1 sıcaklığında belirli bir hacimdeki kütesinin t_2 sıcaklığında eşit hacimdeki suyun kütesine oranına denir.

Aksi belirtilmedikçe t_1 ve t_2 değerleri 20°C alınarak test uygulanır. Bağlı yoğunluk veya yoğunluk monografında belirtilen virgülden sonraki hassaslık derecesine göre hesaplanır. Hesaplama piknometre (katı ve sıvı), hidrostatik denge (katı), hidrometre (sıvı) veya salınım dönüştürücülü bir dijital yoğunluk ölçer (sıvı ve gazlar) kullanılabilir. Tez kapsamında yapılan deneylerde 10 mL hacminde piknometre kullanılmıştır.

3.2.2. Ekstrelerin kuru bakiye test yöntemi

Bu test yöntemi Avrupa Farmakopesi 9.0'a göre (2.8.16) yapılmıştır. 50 mm çapında ve yaklaşık 30 mm yüksekliğindeki düz tabanlı bir kaba hızlıca 2 gram veya 2 mL incelenecek ekstre koyulur. Su banyosunda kuruluğa kadar uçurulur ve 100-105 °C arasında 3 saat fırında kurutulur. Desikatör içerisinde difosfor pentoksit R veya kuru silika jel R ile soğumaya bırakılır ve ağırlığı ölçülür. Sonuçlar kütle yüzdesi olarak veya litre başına gram olarak hesaplanır.

3.2.3. İnce tabaka kromatografisi

Deneylerde kullanılan tentürlerin İTK yöntemleri Tablo 3.5'de verilen farmakopelerden alınmıştır. Farmakopelerde İTK yöntemi yer almayan *Euphrasia officinalis* için benzer majör bileşenlere sahip olan tentürlere uygulanan yöntemlerden yararlanılmıştır.

Tablo 3.5. Tentürlerin İTK yöntem kaynakları

Tentür	İTK yöntemi
<i>Hypericum perforatum</i>	EP 9.0
<i>Commiphora myrrha</i>	EP 9.0
<i>Salvia officinalis</i>	EP 9.0
<i>Urtica dioica</i>	EP 9.0
<i>Geranium robertianum</i>	HAB 2014
<i>Centaurium erythraea</i>	EP 9.0

Bütün İTK'larda farmakopelerde belirtildiği gibi Merck marka Silika jel plaklar kullanılmıştır ve plakaların sürüklenme uzunlukları Tablo 3.6'da belirtilen farmakope verilen göre kesilerek hazırlanmıştır. Plakalar uygulamadan önce 100°C etüvde 1 saat süre bırakılarak aktive edilmiştir.

Tablo 3.6. Farmakopelere göre İTK sürüklenme uzunlukları

Tentür	İTK Sürüklenme Uzunluğu
<i>Hypericum perforatum</i>	10 cm
<i>Commiphora myrrha</i>	15 cm
<i>Salvia officinalis</i>	15 cm
<i>Urtica dioica</i>	10 cm
<i>Geranium robertianum</i>	10 cm
<i>Euphrasia officinalis</i>	10 cm
<i>Centaurium erythraea</i>	10 cm

İlgili farmakopelerin monograflarında belirtilen bilgilere göre mobil fazlar Tablo 3.7'ye göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.7. *Tentürlerin mobil fazları*

Tentür	Mobil Faz
<i>Hypericum perforatum</i>	Susuz formik asit: Su:Etilasetat (6:9:90 h/h/h)
<i>Commiphora myrrha</i>	Etilasetat:Toluen (2:98 h/h)
<i>Salvia officinalis</i>	Etilasetat:Toluen (5:95 h/h)
<i>Urtica dioica</i>	Glasiyel asetik asit:Su:Aseton:Bütanol (10:20:35:35 h/h/h/h)
<i>Geranium robertianum</i>	Susuz formik asit: Su:Etilasetat (10:10:80 h/h/h)
<i>Euphrasia officinalis</i>	Susuz formik asit: Su:Etilasetat (10:10:80 h/h/h)
<i>Centaurium erythraea</i>	Su: susuz formik asit: etil format (4:8:88 h/h/h)

Cam İTK tanklarına mobil fazlar ve süzgeç kağıtları önceden yerleştirilerek tank içinin mobil fazla ile doygunluğa ulaşması için beklenmiştir. Numunelerden farmakopelere göre Tablo 3.8'de belirtilen miktarlarda alınarak bant şeklinde İTK plakaları üzerine uygulanmıştır.

Tablo 3.8. *Tentürlerin uygulama miktarları*

Tentür	Uygulama Miktarları
<i>Hypericum perforatum</i>	10 µL, 10 mm bant halinde
<i>Commiphora myrrha</i>	10 µL bant halinde
<i>Salvia officinalis</i>	20 µL bant halinde
<i>Urtica dioica</i>	20 µL bant halinde
<i>Geranium robertianum</i>	10 µL, 20 mm bant halinde
<i>Euphrasia officinalis</i>	10 µL bant halinde
<i>Centaurium erythraea</i>	10 µL bant halinde

Sürüklenme işleminin ardından Tablo 3.9'daki yöntemlerle plakalar kurutulmuştur.

Tablo 3.9. *Plakaların kurutma yöntemleri*

Plakalar	Kurutma Yöntemleri
<i>Hypericum perforatum</i>	100-105 °C'de 10 dk boyunca
<i>Commiphora myrrha</i>	Oda sıcaklığında
<i>Salvia officinalis</i>	Oda sıcaklığında
<i>Urtica dioica</i>	Oda sıcaklığında

<i>Geranium robertianum</i>	Oda sıcaklığında
<i>Euphrasia officinalis</i>	Oda sıcaklığında
<i>Centaurium erythraea</i>	Oda sıcaklığında

Kurutulan plakalar farmakopelerde yer alan ilgili reaktifler püskürtülerek ve gerekli plakalar ısıtılarak gün ışığı veya UV’de incelenmiştir.

Hypericum perforatum için metanolde 10 g/L’lik difenilborik asit aminoetil ester solüsyonu hazırlanmış ve püskürtülmüştür. Ardından metanolde 50g/L’lik Macrogol 400 çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüştür. 30 dakikanın ardından plaka 365 nm’de UV ışık altında değerlendirilmiştir.

Commiphora myrrha için Anisaldehit R solüsyonu püskürtülerek 100-105°C arasında 10 dakika boyunca ısıtırken günışığında değerlendirilmiştir.

Salvia officinalis için etanol içerisinde 200 g/L’lik fosfomolibdik asit çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüştür ve 100-105°C arasında 10 dakika boyunca ısıtırken günışığında değerlendirilmiştir.

Urtica dioica için etanolde (%96’lık) 1g/L’lik ninhidrin çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüş ve 105-110°C arasında 10 dakika boyunca ısıttıktan sonra 10 dakika içerisinde günışığında değerlendirilmiştir.

Geranium robertianum için metanolde 10 g/L’lik difenilboriloksietilamin çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüş ardından metanol içerisinde 50g/L’lik Macrogol 400 çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüştür. Sonrasında 105-110°C arasında 5 dakika boyunca ısıtma işleminin ardından 365 nm UV ışıkta değerlendirilmiştir.

Euphrasia officinalis için metanolde 10 g/L’lik difenilboriloksietilamin çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüş ardından metanol içerisinde 50g/L’lik Macrogol 400 çözeltisi hazırlanarak püskürtülmüştür. Sonrasında 105-110°C arasında 5 dakika boyunca ısıttıktan sonra 365 nm UV ışıkta değerlendirilmiştir.

Centaurium erythraea için Anisaldehit R solüsyonu püskürtülerek 100-105°C arasında 10 dakika boyunca ısıtırken günışığında değerlendirilmiştir.

3.2.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenmesi CLSI standartlarına göre gerçekleştirilmiştir (CLSI, 2012; 2018). Tablo 3.10.'da bulunan mikroorganizmalar -85 °C gliserol stoklarından 100 µL alınarak Mueller Hinton Agar (MHA) içeren petri kaplarına Yayma Plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürler 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen mikroorganizmalardan çizgi ekimler yapılarak saflık kontrolleri sağlanmıştır. Saflıkları kontrol edilen kültürler MHB içeren deney tüplerine alınarak hücre densitometresi ile 0.5 McFarland (BaCl₂ %1,75, 0.36 N H₂SO₄ içinde) ayarlanmıştır. Bu şekilde yaklaşık 10⁸ CFU/mL'lik (mililitredeki koloni oluşturan ünite) bakteri konsantrasyonu elde edilmiştir.

Kullanılan MHA (BIOMARK), MHB 2 (Fluka), PDA (Merck), SDB (Acumedia) besiyerleri hazır olarak temin edilmiş ve kutu üzerindeki tarife uygun olarak tartılıp hacmi saf su ile 1 L'ye tamamlanarak 121°C'de 15 dakika 1.5 atm basınç altında steril edilmiştir.

Test edilecek olan tentürler antimikrobiyal etki göstermesi beklenen son kullanıcıya erişecek ürünler olduğundan dolayı başlangıç konsantrasyonu olarak farmakope derişimine göre ayarlanmış tentürlerin kendisi olarak seçilmiştir. 96 kuyucuklu "U" tipi Mikrotitrasyon plakalarının kuyucuklarına öncelikle 100 µL MHB 2 besiyeri ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan stok solüsyonu ilk kuyucuğa 100 µL ilave edilerek çift katlı seri dilüsyonları yapılmıştır. Seri dilüsyonları yapılmış mikrotitrasyon plakalarının kuyucuklarına multikanal pipetör kullanılarak 100'er µl bakteri kültürleri ilave edilmiştir ve 24 saat 37°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda kuyucuklara 20'şer µL % 0,01 (a/h)'lik rezasurin çözeltisi eklenmiştir ve 37 °C'de 2 saat bekletilerek MİK değerleri belirlenmiştir. Deney sırasında besiyeri ve mikroorganizma bulunan 12. sütunda bulunan kuyucuklar üreme kontrolü, sadece besiyerinin bulunduğu 11. kuyucuklar ise sterilite kontrolü olarak plaklara eklenmiştir. Karşılaştırma ve kontrol için antibakteriyel madde olarak Amoksisilin kullanılmıştır.

Minimum inhibitör konsantrasyon testinde antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı koleksiyonunda bulunan test mikroorganizma kültürleri kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizma kültürleri Tablo 3.10'da verilmiştir.

Tablo 3.10. *Kullanılan standart mikroorganizma kültürleri*

Mikroorganizmalar Türü	Kaynak
<i>Staphylococcus aureus</i>	(ATCC 6538)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(ATCC 14990)
<i>Escherichia coli</i> H157	İzolat
<i>Bacteriodes fragilis</i>	(ATCC 23745)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	(RSKK 04050)
<i>Clostridium difficile</i>	(ATCC 9689)
<i>Campylobacter jejuni</i>	(ATCC 33560)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(NCTC 9633)
<i>Streptococcus mutans</i>	(ATCC 25175)
<i>Escherichia coli</i>	(NRRL B-3008)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	(ATCC 15914)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	(ATCC 25586)
<i>Candida albicans</i>	(ATCC 24433)
<i>Candida parapsilosis</i>	(ATCC 22019)

4. BULGULAR VE YORUMLAR

4.1. Kuru Bakiye Testi Sonuçları

Her tentürden farmakope yöntemine göre alınıp hazırlanan üçer farklı örneğin kuru bakiye testinin sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. *Tentürlerin kuru bakiye yüzdeleri*

Tentür	Örnek 1 (%)	Örnek 2 (%)	Örnek 3 (%)	Ortalama (%)
<i>Hypericum perforatum</i>	5,07	5,06	5,03	5,08
<i>Commiphora myrrha</i>	5,95	6,04	6,01	6,00
<i>Salvia officinalis</i>	2,83	2,85	2,88	2,85
<i>Urtica dioica</i>	3,04	2,99	3,02	3,02
<i>Geranium robertianum</i>	3,13	3,22	3,17	3,17
<i>Euphrasia officinalis</i>	2,77	2,71	2,76	2,75
<i>Centaurium erythraea</i>	5,30	5,12	5,24	5,22

Tentürlerin alkol içeriğinin oranına bağlı olarak bütün tentürlerde kuru bakiye miktarları farklılık göstermektedir. Bütün tentürlerde her iki örneklem arası fark küçük dolayısıyla tutarlı sonuçlar vermiştir.

4.2. Bağlı Yoğunluk Sonuçları

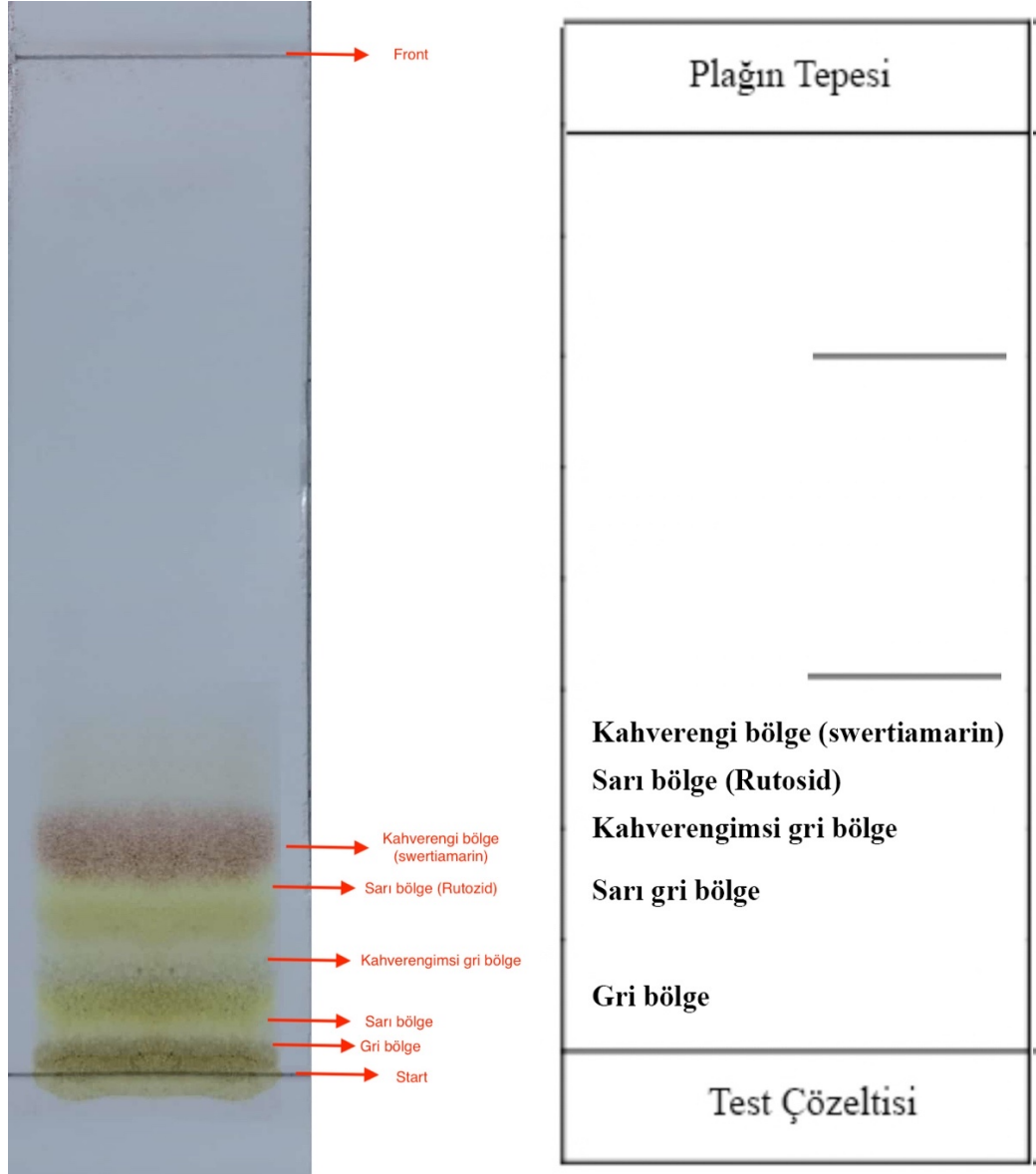
Tablo 4.2. *Tentürlerin bağlı yoğunlukları*

Tentür	Örnek 1 (%)	Örnek 2 (%)	Örnek 3 (%)	Ortalama
<i>Hypericum perforatum</i>	0,913	0,911	0,918	0,914
<i>Urtica dioica</i>	0,935	0,937	0,936	0,936
<i>Geranium robertianum</i>	0,941	0,948	0,943	0,944
<i>Euphrasia officinalis</i>	0,909	0,912	0,907	0,909
<i>Centaurium erythraea</i>	0,911	0,915	0,907	0,911
<i>Commiphora myrrha</i>	0,831	0,833	0,838	0,834
<i>Salvia officinalis</i>	0,900	0,901	0,901	0,901

10 mL’lik piknometre kullanılarak önce saf su olmak üzere bütün tentürlerin ağırlıkları ölçülmüştür ve Avrupa farmakopesindeki şekliyle bağlı yoğunluk hesabı yapılarak değerlere ulaşılmıştır.

4.3. İTK Sonuçları

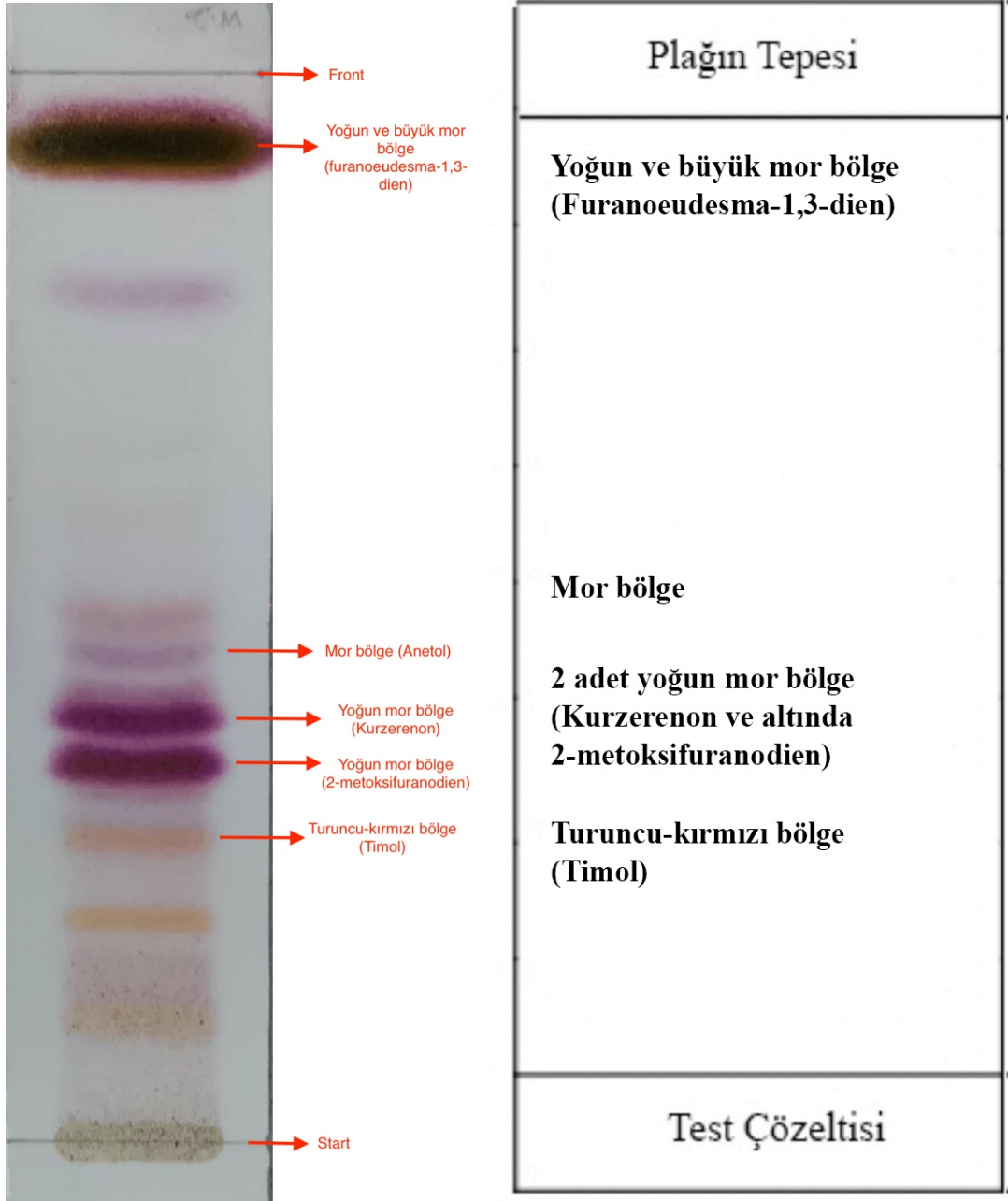
4.3.1. *Centaurium erythraea tincturae*



Görsel 4.1. *Centaurium erythraea* tentürünün İTK kromatogramı

Farmakope monografında belirtilen referans ile karşılaştırıldığında farmakopeye uygun olması için gözlenmesi istenen svertiamarin (kahverengi bölge), rutosid (sarı bölge) ve bunların altında kalan kahverengimsi gri, sarı-gri ve gri bölgeler yapılan İTK’da görüntülenmiştir.

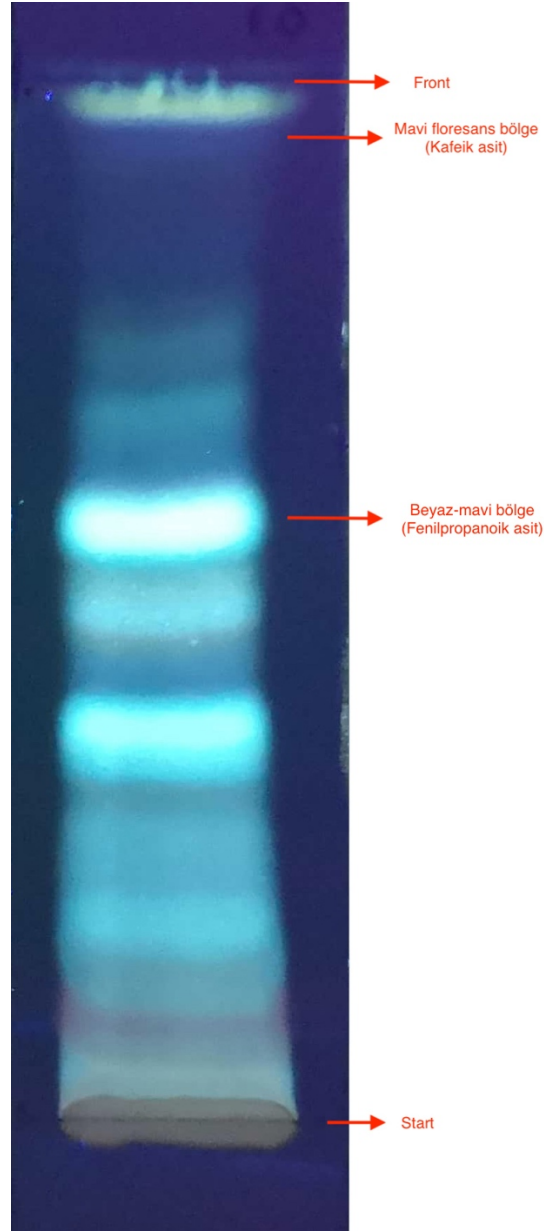
4.3.2. *Commiphora myrrha* tincturae



Görsel 4.2. *Commiphora myrrha* tentürünün İTK kromatogramı

Farmakope şartlarına göre yapılan İTK’da farmakopeye uygunluk için görülmesi beklenen furanoeudezma-1,3-dien (yoğun ve büyük mor bölge), kurzerenon(orta kısımdaki yoğun mor bölge), 2-metoksifuranodien (ortadaki diğer yoğun mor bölge) ve timol (turuncu-kırmızı bölge) bölgeleri gözlenmiştir.

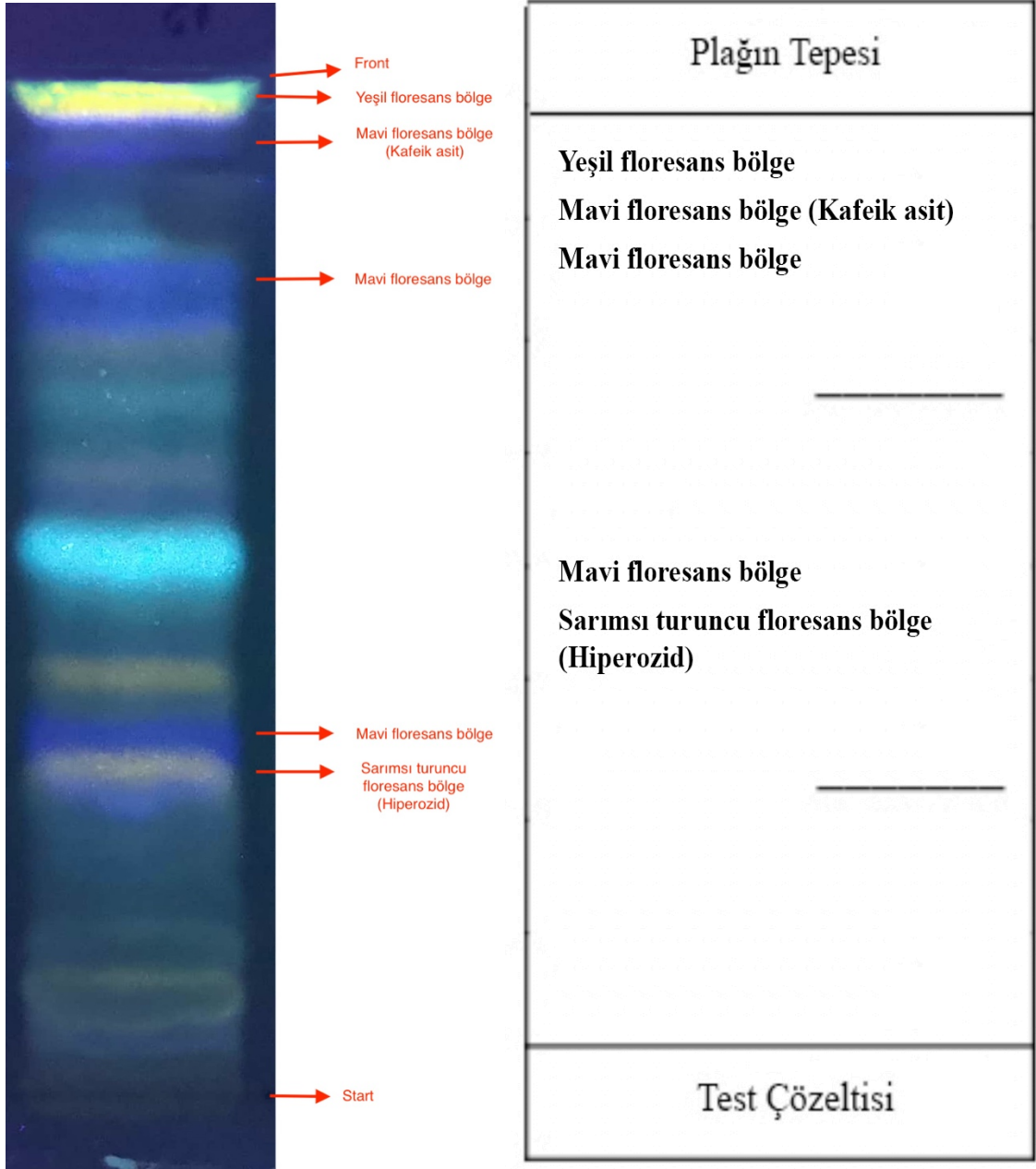
4.3.3. *Euphrasia officinalis tincturae*



Görsel 4.3. *Euphrasia officinalis* tentürünün İTK kromatogramı

Euphrasia officinalis bitki ve tentürünün farmakope monograflarının bulunmaması sebebiyle referans verilememiştir. Literatürde daha önceden yapılmış çalışmalara dayanılarak yapılan İTK’da front’a yakın bölgede çok az miktarda kafeik asit (mavi floresans bölge) ve kromatogramın orta kısmında yer alan fenilpropanoik asit (beyaz-mavi bölge) gözlenmiştir. [18,19]

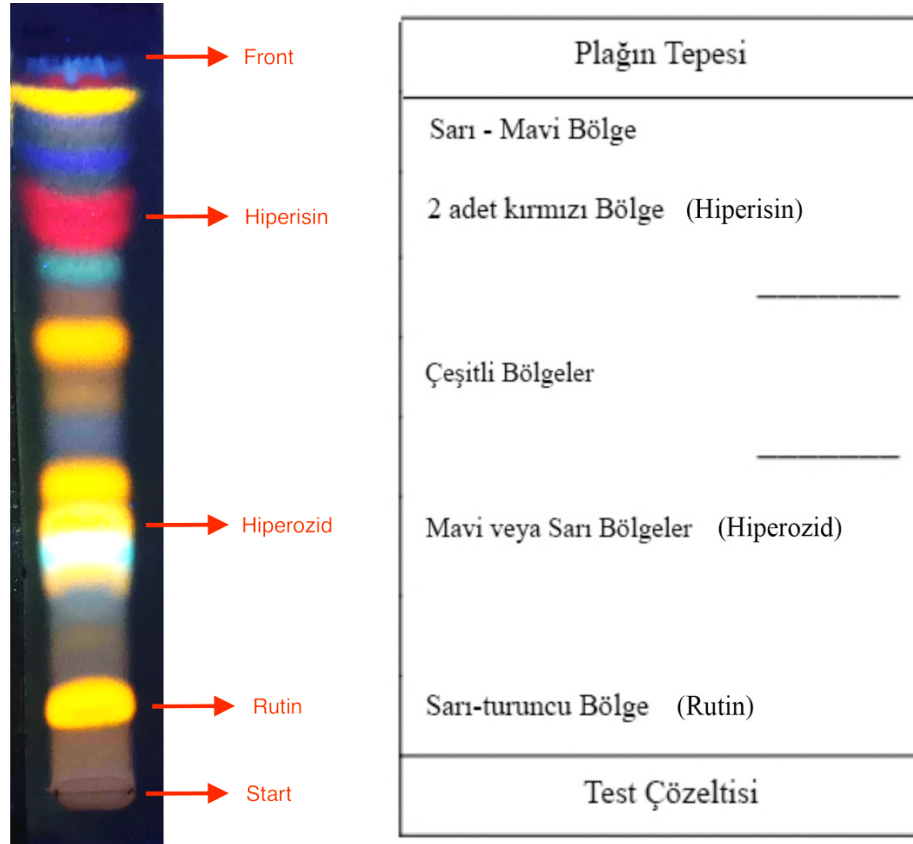
4.3.4. *Geranium robertianum tincturae*



Görsel 4.4. *Geranium robertianum* tentürünün İTK kromatogramı (365 nm UV)

365 nm UV ışıkta gözlenen kromatogram farmakope referansı ile karşılaştırıldığında front'a yakın yeşil ve mavi renkli bölge ve kafeik asit (mavi bölge) bölgesi referansa benzer şekilde gözlenmiştir. Kromatogramın orta kısmında ise hiperozid (sarımsı turuncu floresans bölge) ve mavi floresans bölge farmakopeye uygun bir şekilde gözlenmiştir.

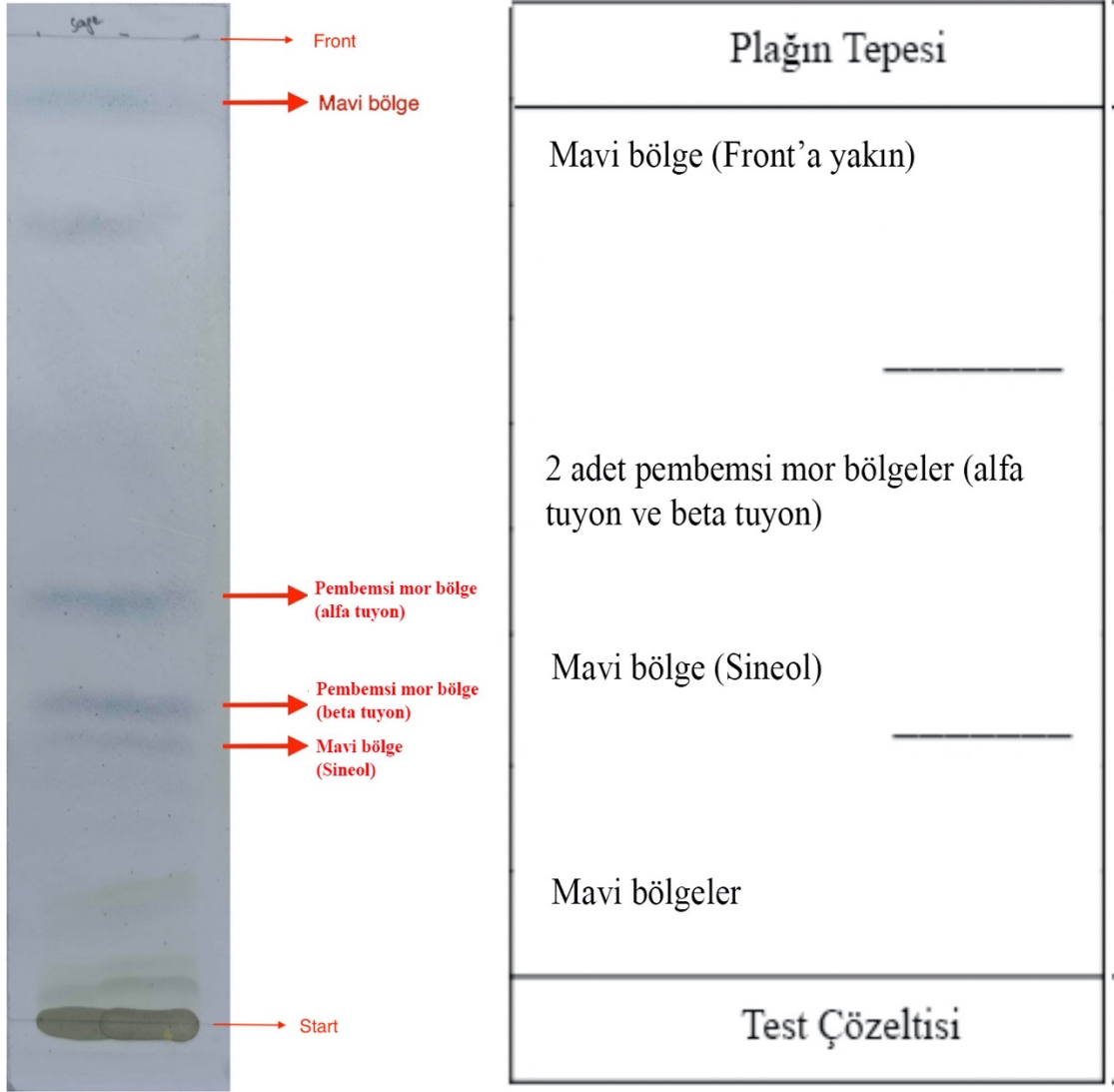
4.3.5. *Hypericum perforatum tincturae*



Görsel 4.5. *Hypericum perforatum* tentürünün İTK kromatogramı (365 nm UV)

Kromatogram incelendiğinde farmakopeye uygunluğu için gözlenmesi istenen front'a yakın hiperisin (kırmızı bölge) ve buradaki sarı-mavi bölgeler, kromatogramın orta-alt kısmında bulunan hiperozid (sarı bölge) ve kromatogramın altında bulunan rutin (sarı-turuncu bölge) gözlenmiştir.

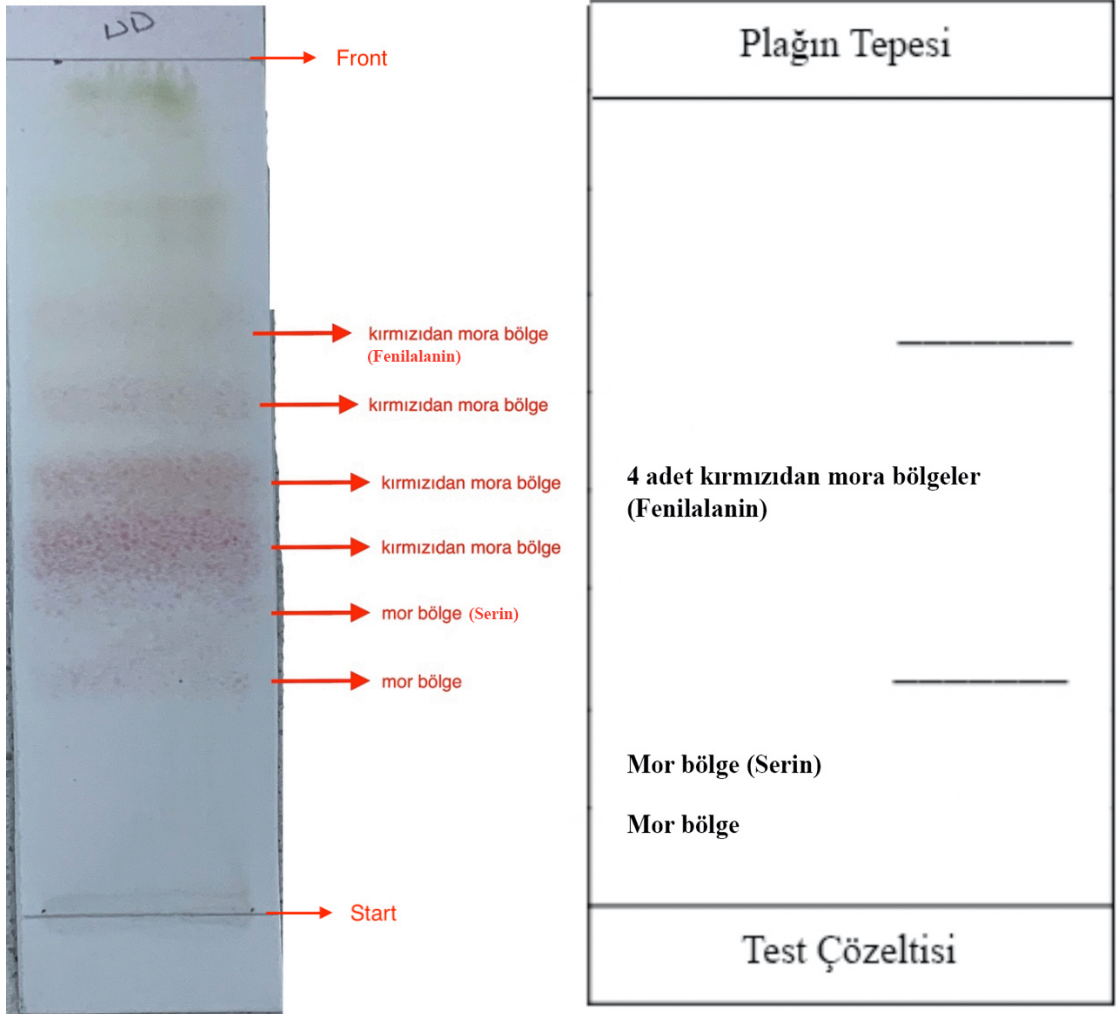
4.3.6. *Salvia officinalis tincturae*



Görsel 4.6. *Salvia officinalis* tentürünün İTK kromatogramı

Kromatogram farmakope referansı ile karşılaştırıldığında front'a yakın olan mavi bölge ile orta kısımda bulunan alfa ve beta tuyon'a karşılık gelen 2 adet pembemsi mor bölge ile hemen altındaki sineol'e denk gelen mavi bölge gözlenmiştir.

4.3.7. *Urtica dioica tincturae*



Görsel 4.7. *Urtica dioica* tentürünün İTK kromatogramı

Farmakope referansı ile karşılaştırıldığında kromatogramın ortasında bulunan 4 adet kırmızıdan mora doğru olan ve fenilalanin içeren bölgeler gözlenmiştir. Farmakope referansındaki alt bölgede gözlenmesi istenen ve serin'i de içeren 2 adet mor bölge ise beklenenin biraz daha üstünde ortadaki bölgeye daha yakın olacak şekilde gözlenmiştir.

4.4.MİK Sonuçları

Tablo 4.3. MİK Sonuçları

	CM	EO	HP	SO	GR	UD	CE	Amoksisilin (µg/mL)
<i>C. jejuni</i>	0,78125	>50	<0,78125	0,78125	1,5625	3,125	3,125	0,004
<i>C. difficile</i>	0,78125	>50	1,5625	1,5625	6,25	6,25	25	0,016
<i>S. mutans</i>	25	>50	25	25	>50	>50	>50	0,004
<i>K. pneumonia</i>	>50	>50	25	25	6,25	12,5	25	0,008
<i>E.coli H157</i>	25	>50	25	25	>50	>50	>50	0,004
<i>B. fragilis</i>	12,5	>50	12,5	12,5	25	>50	25	0,001
<i>F. nucleatum</i>	12,5	>50	6,25	6,25	12,5	25	12,5	0,005
<i>S. sanguinis</i>	6,25	>50	25	25	25	>50	25	0,005
<i>Yersinia e.</i>	6,25	>50	12,5	12,5	12,5	>50	25	0,016
<i>E. coli B1</i>	>50	>50	25	25	>50	>50	>50	0,002
<i>C. albicans</i>	-	>50	-	-	-	>50	-	0,008
<i>C. parapsilosis</i>	-	>50	-	-	-	>50	-	0,06
<i>S. epidermidis</i>	-	>50	-	-	-	12,5	-	0,005
<i>S. aureus</i>	-	>50	-	-	-	6,25	-	0,005

CM: *Commiphora myrrha*, EO: *Euphrasia officinalis*, HP: *Hypericum perforatum*, SO: *Salvia officinalis*, GR: *Geranium robertianum*, UD: *Urtica dioica*, CE: *Centaurium erythraea*, *C.jejuni*: *Campylobacter jejuni*, *C. difficile*: *Clostridium difficile*, *S. mutans*: *Streptococcus mutans*, *K. pneumonia*: *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*: *Escherichia coli*, *B. fragilis*: *Bacteriodes fragilis*, *F. nucleatum*: *Fusobacterium nucleatum*, *S. sanguinis*: *Streptococcus sanguinis*, *Yersinia e.*: *Yersinia enterocolitica*, *C. albicans*: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*, *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*

Çalışmada antimikrobiyal aktivitesi incelenen 7 adet tentürden hepsi dahili kullanılacak şekilde aktivitesi incelenmiş olup *Euphrasia officinalis* ve *Urtica dioica* tentürleri ise ek olarak harici kullanım için de test edilmiştir.

Commiphora myrrha tentürü *C. jejuni* ve *C. difficile* testlerinde diğer mikroorganizmalara göre çok daha etkili olduğu görülmektedir. Ancak *K. pneumonia* ve *E.coli B1* mikroorganizmalarında ise hiçbir antimikrobiyal aktivite gözlenememiştir.

Euphrasia officinalis tentüründe hem dahili hem de harici kullanım için değerlendirildiğinde hiçbir mikroorganizmaya karşı hazır preparat olarak kullanıldığı konsantrasyonlarda bir etkisi gözlenememiştir.

Hypericum perforatum tentüründe *C. jejuni*'ye karşı yapılan testte denenen en düşük konsantrasyonda dahi etkili olduğu görülmektedir dolayısıyla minimum inhibisyon konsantrasyonunun bu miktardan daha az olması beklenmektedir. Yine benzer güçlü bir antimikrobiyal etki *C. difficile*'de görülmektedir. En düşük antimikrobiyal etki ise *S. mutans*, *K. pneumonia* ve *E. coli* H157'de görülmektedir.

Salvia officinalis tentürü *C. jejuni* ve *C. difficile*'ye karşı daha etkili olurken *E. coli* B1 *S. sanguinis*, *E. coli* H157, *K. pneumonia*, *S. mutans*'a karşı kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğu gözlenmiştir.

Geranium robertianum tentürü için *S. mutans*, *E. coli* H157 ve *E. coli* B1 mikroorganizmalarında hazır preparat olarak kullanılan konsantrasyonun %50'sine kadar denenen miktarda herhangi bir antimikrobiyal etki gözlenmemiştir. Ancak *C. jejuni*'ye karşı tentür preparatının %1,5625'i kadarında bir konsantrasyonda dahi etkili olduğu görülmüştür.

Urtica dioica tentürü hem bakteriler hem de mantarlara karşı antimikrobiyal etkileri açısından test edilmiştir. *C. jejuni*'ye karşı %3,125 gibi çok düşük bir konsantrasyonda etkili olmuşken *S. mutans*, *E. coli* H157, *B. fragilis*, *S. sanguinis*, *Yersinia e.*, *E. coli* B1, *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı herhangi bir antimikrobiyal etki gözlenmemiştir.

Centaurium erythraea tentürü ise *C. jejuni*'ye karşı düşük konsantrasyonda etkili olabilmişken *S. mutans*, *E. coli* H157 ve *E. coli* B1'e karşı bir etki göstermemiştir. *F. nucleatum*'a karşı ise orta seviyede etkili olmuştur.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında incelenen yedi farklı tentür öncelikle ilgili farmakopelerdeki kalite karakteristiklerine göre incelenmiştir.

Hypericum perforatum tentürünün farmakopeye göre minimum kuru bakiye yüzdesi %1,3 olmalıdır. Yaptığımız testte ise bu miktar farmakopeye uygun olarak %5,08 çıkmıştır. *Hypericum perforatum* tentürünün farmakopeye göre bağıl yoğunluk aralığının 0,900 ile 0,920 arasında olması beklenmektedir. Elimizdeki tentüre uyguladığımız testte ise bu değer farmakopeye uygun olarak 0,914 çıkmıştır. Farmakope İTK referansı ile karşılaştığımızda ise tentürümüze yaptığımız İTK sonucunun örtüştüğünü görmekteyiz. Bu üç sonuca bakarak tentürümüzün farmakope kalitesinde olduğunu söyleyebiliriz ve test ettiğimiz antimikrobiyal etkinin farmakopeye göre standardize bir *Hypericum perforatum* tentürünü kullandığımızda da istenen etkiyi bu şekilde vereceği öngörüsünü yapabiliriz.

Salvia officinalis tentürünün farmakopeye göre minimum kuru bakiye oranının %2 olması beklenmektedir. Yaptığımız kuru bakiye testinde ise bu oran farmakopeye uygun olarak 2,85 olarak çıkmıştır. Yapılan bağıl yoğunluk testinde ise sonuç 0,901 olarak çıkmıştır fakat farmakopelerde bir referans yer almamaktadır. *Salvia officinalis* tentürünün farmakopeye göre belirtilen şartlar altında yapılan İTK'sında ise farmakope referansı ile karşılaştırıldığında öncelikli olarak belirtilen alfa ve beta tuyo maddeleri ve sineol bölgelerinin farmakopeye uygun olması için gözlenmesi gereken bölgelerde tespit edilmiştir. Bu iki sonuca bakarak *Salvia officinalis* tentürümüzün farmakope şartlarına uyduğunu söyleyebiliriz ve antimikrobiyal çalışmada gözlenene yakın antimikrobiyal etkilerin farmakopeye göre standardize olan tentürlerin kullanımında gözlenebileceği öngörüsünü yapabiliriz.

Commiphora myrrha tentürünün farmakopeye göre olması beklenen kuru bakiye miktarı minimum %4'tür. Çalışmamızda ise farmakopeye uygun olarak %5,99 bulunmuştur. Bağıl yoğunluk testinde 0,834 olarak sonuç alınmıştır fakat farmakopelerde referans veri bulunmamaktadır. Farmakope standartlarına göre yapılan İTK çalışmasında ise farmakopeye uygun olması için gözlenmesi beklenen furanoeudezma-1,3-dien (yoğun ve büyük mor bölge), kurzerenon (orta kısımdaki yoğun mor bölge), 2-metoksifuranodien (ortadaki diğer yoğun mor bölge) ve timol (turuncu-kırmızı bölge) bölgeleri gözlenmiştir. Bu sonuçlara bakarak tentürümüzün farmakope şartlarına uygun olduğunu dolayısıyla

antimikrobiyal çalışmada elde edilen sonuçların standardize bir *Commiphora myrrha* tentürünün beklenen antimikrobiyal etkileri temsil edeceğini söyleyebiliriz.

Geranium robertianum tentürünün farmakopeye göre beklenen minimum kuru bakiye yüzdesinin %1,3 olması beklenmektedir. Yaptığımız çalışmada ise tentürün kuru bakiye içeriğinin farmakopeye uygun olarak %3,18 olduğu gözlenmiştir. Tentüre ait bağıl yoğunluğun ise farmakopeye göre olması gereken aralık 0,930 ile 0,950 arasındadır. Farmakope standartlarına göre ölçümünü yaptığımız tentürün bağıl yoğunluğu ise 0,941 olarak çıkmıştır. *Geranium robertianum*'un yapılan İTK çalışmasında ise kafeik asit ve hiperozid bölgeleri dahil farmakope referansında gözlenilmesi beklenen bütün bölgeler gözlenmiştir. Bu üç sonuca bakarak çalışmada kullandığımız tentürün farmakope standartlarına uygun olduğunu ve standardize bir *Geranium robertianum* tentürünün çalışmamızda elde ettiğimiz antimikrobiyal etkileri aynı şekilde görmemiz gerektiği öngörüsünde bulunabiliriz.

Euphrasia officinalis tentürünün kuru bakiye yüzdesinin farmakopeye göre olması gereken minimum oranı %2'dir. Yaptığımız kuru bakiye testinde ise kullandığımız *Euphrasia officinalis* tentürünün kuru bakiye oranı farmakopeye uygun olarak %2,74 olarak bulunmuştur. *Euphrasia officinalis* tentürünün farmakopeye göre uygun olan bağıl yoğunluğu ise 0,900 ile 0,920 arasında olması beklenmektedir. Çalışmada kullandığımız tentürün ise bağıl yoğunluk testi sonucunda çıkan değerimiz bu farmakope aralığına uygun olarak 0,909 olmuştur. Bu iki sonuca baktığımızda çalışmada kullanılan *Euphrasia officinalis* tentürünün farmakopede bulunan monografına göre uyması gereken şartları sağladığı için farmakopeye uygundur diyebiliriz ve antimikrobiyal çalışmada görülen etkinin *Euphrasia officinalis* için beklenen etki olduğu yorumunda bulunabiliriz.

Urtica dioica tentürünün farmakopeye uygun olabilmesi için kuru bakiye oranının %1,1 olması beklenmektedir. Yaptığımız çalışmada kullandığımız tentürün kuru bakiye oranı farmakopeye uygun olarak %3,01 olarak bulunmuştur. Tentürün bağıl yoğunluk değerinin ise farmakopeye uygun olabilmesi için 0,930 ile 0,950 arasında olması beklenmektedir. Kullandığımız tentürün bağıl yoğunluğu ise yaptığımız testte farmakopeye uygun olarak 0,935 olarak bulunmuştur. Farmakope monografında verilen koşullarda uygulanan İTK çalışmasında farmakope referansı ile karşılaştırıldığında fenilalanin ve serin de dahil olmak üzere farmakopeye uygunluğu için gözlenmesi gereken bütün bölgeler gözlenmiştir. Yalnızca start alanına yakın olması gereken iki adet

mor bölge olması gerektiğinden daha yukarıda gözlenmiştir. Bu bulguyu da çalışma ortamımızdaki şartların birebir istenilen şartlarda olmadığından dolayı ortaya çıktığını düşünebiliriz. Bu üç sonucu göz önünde bulundurduğumuzda çalışmada kullandığımız *Urtica dioica* tentürünün farmakopeye uygun olduğunu ve antimikrobiyal etkisinin de farmakope standardındaki bir *Urtica dioica* tentürünü temsil edebileceğini söyleyebiliriz.

Bu çalışmada kullandığımız *Centaurium erythraea* tentürünün Avrupa farmakopesinde bitki monografi olmasına rağmen tentür monografıları farmakopelerde bulunmamaktadır. Uygulanan İTK yöntemi *Centaurium erythraea* bitki monografından alınmıştır. Yapılan çalışmalarda *Centaurium erythraea* tentürünün kuru bakiye yüzdesi %5,21 ve bağıl yoğunluk sonucu ise 0,911 olarak tespit edilmiştir. Benzer şartlardaki kullanılan ürünlerin farmakope şartlarına uyduğu göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmadaki elde edilen *Centaurium erythraea* test sonuçlarının potansiyel bir farmakope çalışmasında uygunluğun değerlendirilmesinde yardımcı olacağı düşünülebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan tentürlerden farmakopelerde monografi varolanların testlerinde bütün tentürlerin farmakopeye uygun olduğu bulunmuştur. Günümüzde tentür ve diğer formlarda piyasaya sunulan bitkisel kaynaklı ürünlere olan talep artmaktadır. Bu talep doğrultusunda da arz edilen ürün çeşitliliği de artmaya devam etmektedir. Bu noktada bitkisel ürünlerin konvansiyonel ilaçlar gibi standardize olması hedeflenen tedaviye ulaşmakta çok büyük önem taşımaktadır. Bunu sağlayabilmenin en önemli şartı ise farmakopelere uygun nihai ürünler üretebilmektir. Bugünkü şartlarda, üretici firmaların farmakopeye uygun olarak beyan ettiği bazı nihai ürünlerinin verilen kriterlere uygunluğunun test edilmesi, ilgili monograflarının henüz tam olarak oluşturulmamış olması sebebiyle mümkün olamamaktadır. Bu çalışmalar tamamlandıkça oluşturulan monograflar ile elde edilecek standardizasyon, kaliteli ürünler elde edilmesini güvence altına alacak olup bitkisel ürünlerdeki belirsizlik önyargısını ortadan kaldırmak için önemli bir adım olacaktır.

KAYNAKÇA

1. Von Klein, C. H. (1905). The Medical Features of The Papyrus Ebers. *Journal of the American Medical Association*, 45(26), 1928-1935.
2. Fabbri, C. N. (2007). Treating medieval plague: the wonderful virtues of theriac. *Early science and medicine*, 12(3), 247-283.
3. Şar, S., and Süveren, K. (2006). Mücerreb-nâme'deki Tiryâk Formüllerinin Eczacılık Açısından Değerlendirilmesi. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Ethics-Law and History*, 14(3), 145-149.
4. Griffin, J. P. (2004). Venetian treacle and the foundation of medicines regulation. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 58(3), 317-325.
5. Le Fanu, J. (2011). The rise and fall of modern medicine. *Hachette UK*.
6. Ross, J. (1986). Ullman's encyclopedia of industrial chemistry. *Applied Catalysis*, 27(2), 403-404.
7. Homöopathisches Arzneibuch 2014
8. European Pharmacopeia 9.0
9. Allen, L., and Ansel, H. C. (2013). Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. Lippincott Williams & Wilkins.
10. Apers, S., Van Meenen, E., Pieters, L., Vlietinck, A. (2003). Quality control of liquid herbal drug preparations: ethanol content and test on methanol and 2-propanol. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33(4), 529-537.
11. Novy, P., Davidova, H., Serrano-Rojero, C. S., Rondevaldova, J., Pulkrabek, J., Kokoska, L. (2015). Composition and antimicrobial activity of Euphrasia rostkoviana Hayne essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
12. Graça, V. C., Ferreira, I. C. and Santos, P. F. (2016). Phytochemical composition and biological activities of *Geranium robertianum* L.: A review. *Industrial Crops and Products*, 87, 363-378.
13. Mohamed, A. A., Ali, S. I., EL-Baz, F. K., Hegazy, A. K., Kord, M. A. (2014). Chemical composition of essential oil and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Commiphora myrrha* resin. *Industrial Crops and Products*, 57, 10-16.

14. Lapinskaya, E. S., Kopyt'ko, Y. F., Timokhina, E. A., Krapivkin, B. A., Levandovskii, G. S., Dargaeva, T. D., Sokol'skaya, T. A. (2008). Amino acids and cyclic dipeptides in stinging nettle (*Urtica dioica* and *U. urens*) homeopathic matrix tinctures. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42(11), 650-653.
15. Milosevic, T., Solujic-Sukdolak, Slavica and 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(4), 237-241.
16. Veličković, D. T., Randelović, N. V., Ristić, M. S., Veličković, A. S., Šmelcerović, A. A. (2003). Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 68(1), 17-24.
17. [http-1: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=dizin&&familya=Acanthaceae](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=dizin&&familya=Acanthaceae)
(Erişim tarihi: 09.01.2020)
18. Teixeira, R., & Silva, L. R. (2013). Bioactive compounds and in vitro biological activity of *Euphrasia rostkoviana* Hayne extracts. *Industrial Crops and Products*, 50, 680-689.
19. Guinot, P., Rogé, A., Gargadennec, A., Garcia, M., Dupont, D., Lecoœur, E. & Andary, C. (2006). Dyeing plants screening: an approach to combine past heritage and present development. *Coloration Technology*, 122(2), 93-101.

EK-1. *Centaurium erythraea* Tentürü Etiket Görselleri



EK-2. *Commiphora myrrha* Tentürü Etiket Görselleri



EK-3. *Salvia officinalis* Tentürü Etiket Görselleri



EK-4. *Urtica dioica* Tentürü Etiket Görselleri



EK-5. *Geranium robertianum* Tentürü Etiket Görselleri



EK-6. *Euphrasia officinalis* Tentürü Etiket Görselleri



EK-7. *Hypericum perforatum* Tentürü Etiket Görselleri



CENTAURY
Centaurii herba

DEFINITION

Whole or fragmented dried flowering aerial parts of *Centaurium erythraea* Rafn s. l. including *C. majus* (H. et L.) Zeltner and *C. suffruticosum* (Griseb.) Ronn. (syn.: *Erythraea centaurium* Persoon; *C. umbellatum* Gilibert; *C. minus* Gars.).

CHARACTERS

Bitter taste.

IDENTIFICATION

A. The hollow cylindrical, light green to dark brown stem has longitudinal ridges, and is branched only in its upper part. The sessile leaves are entire, decussately arranged, and have an ovate to lanceolate lamina, up to about 3 cm long. Both surfaces are glabrous and green to brownish-green.

The inflorescence is diaxially branched. The tubular calyx is green and has 5 lanceolate, acuminate teeth. The corolla consists of a whitish tube divided into 5 elongated lanceolate pink to reddish lobes, about 5-8 mm long. 5 stamens are present attached to the top of the corolla tube. The ovary is superior and has a short style, a broad bifid stigma and numerous ovules. Cylindrical capsules, about 7-10 mm long, with small brown markedly rough seeds are frequently present.

B. Microscopic examination (2.8.23). The powder is greenish-yellow or brownish. Examine under a microscope, using *chloral hydrate solution R*. The powder shows the following diagnostic characters: fragments from the stem with lignified groups of fibres associated with narrow vessels, tracheidal vessels occasional vessels with spiral thickening; pitted parenchyma of the pith and medullary rays; fragments of leaf lamina with sinuous epidermal cells and striated cuticle, especially over the margins and surrounding the stomata; numerous stomata, mainly anisocytic (2.8.3); fragments of the palisade mesophyll, each cell containing a single prism crystal or, less frequently, a cluster crystal of calcium oxalate; fragments of calyx and corolla, those of the calyx with straight-walled epidermal cells, those of the inner epidermis of the corolla with obtuse papillae and radially striated cuticle; parts of the endothecium with reticulate or ridge-shaped wall thickenings; triangularly rounded or elliptical, yellow pollen grains, about 30 µm in diameter, with a distinctly pitted exine and 3 germinal pores; fragments of the wall of the fruit capsule composed of crossed layers of fusiform cells; oil droplets from the seeds, fragments of the epidermis of the testa showing large, brown reticulations and a pitted surface.

C. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. To 1.0 g of the powdered herbal drug (355) (2.9.12) add 25 mL of *methanol R*, shake for 15 min and filter. Evaporate the filtrate to dryness under reduced pressure and at a temperature not exceeding 50 °C. Take up the residue with small quantities of *methanol R* so as to obtain 5 mL of solution, which may contain a sediment.

Reference solution. Dissolve 1 mg of *rutoside trihydrate R* and 1 mg of *swertiamarin R* in *methanol R* and dilute to 1 mL with the same solvent.

Plate: TLC silica gel F_{254} plate R (5-40 µm) [or TLC silica gel F_{254} plate R (2-10 µm)].

Mobile phase: water R, anhydrous formic acid R, ethyl formate R (4:8:88 V/V/V).

Application: 10 µL [or 5 µL] as bands.

Development: in an unsaturated tank over a path of 12 cm [or 6 cm].

Drying: in air.

Detection A: examine in ultraviolet light at 254 nm.

Results A: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution. Furthermore, other less intense quenching zones may be present in the chromatogram obtained with the test solution.

Top of the plate	
Swertiamarin: a quenching zone	A prominent quenching zone (swertiamarin)
Rutoside: a quenching zone	
Reference solution	Test solution

Detection B: spray with *anisaldehyde solution R* and heat at 100-105 °C for 5-10 min. Examine in daylight.

Results B: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution. Furthermore, other less intense coloured zones may be present in the chromatogram obtained with the test solution.

Top of the plate	
Swertiamarin: a brown zone	A brown zone (swertiamarin)
Rutoside: a yellow zone	A brownish-grey zone
	A yellow zone
	A grey zone
Reference solution	Test solution

TESTS

Foreign matter (2.8.2): maximum 3 per cent.

Bitterness value (2.8.15): minimum 2000.

Loss on drying (2.2.32): maximum 10.0 per cent, determined on 1.000 g of the powdered herbal drug (355) (2.9.12) by drying in an oven at 105 °C for 2 h.

Total ash (2.4.16): maximum 6.0 per cent.

MYRRH TINCTURE

Myrrhae tinctura

DEFINITION

Tincture produced from *Myrrh* (1349).

PRODUCTION

The tincture is produced from 1 part of the drug and 5 parts of ethanol (90 per cent V/V) by a suitable procedure.

CHARACTERS

Clear yellowish-brown or orange-brown liquid.

IDENTIFICATION

Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dilute 5 mL of the tincture to be examined to 10 mL with *alcohol R*.

Reference solution. Dissolve 10 mg of *thymol R* and 40 µL of *anethole R* in 10 mL of *ether R*.

Plate: TLC silica gel plate *R*.

Mobile phase: *ethyl acetate R*, *toluene R* (2:98 V/V).

Application: 10 µL, as bands.

Development: over a path of 15 cm.

Drying: in air.

Detection: spray with *anisaldehyde solution R* and examine in daylight whilst heating at 100-105 °C for 10 min.

Results: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution. Furthermore, other zones mostly violet, are present in the chromatogram obtained with the test solution.

Top of the plate	
Anethole: a violet zone	An intense violet zone exceeding the others in size and intensity (furanoeudesma-1,3-diene) A violet zone
Thymol: an orange-red zone	Two intense violet zones (curzerenone and below 2-methoxyfuranodiene)
Reference solution	Test solution

TESTS

Ethanol content (2.9.10): 82 per cent V/V to 88 per cent V/V.

Methanol and 2-propanol (2.9.11): maximum 0.05 per cent V/V of methanol and maximum 0.05 per cent V/V of 2-propanol.

Dry residue (2.8.16): minimum 4.0 per cent m/m.

STORAGE

Plastic containers are not recommended.

SAGE TINCTURE

Salviae tinctura

DEFINITION

Tincture produced from *Sage leaf (Salvia officinalis)* (1370).

Content: minimum 0.1 per cent *m/m* of essential oil.

PRODUCTION

The tincture is produced from 1 part of comminuted drug and 10 parts of ethanol (70 per cent *V/V*) by a suitable procedure.

CHARACTERS

Appearance: brownish liquid with a characteristic odour.

IDENTIFICATION

Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. The tincture to be examined.

Reference solution. Dissolve 20 µL of *thujone R* and 25 µL of *cineole R* in 20 mL of *ethanol R*.

Plate: TLC silica gel plate *R*.

Mobile phase: *ethyl acetate R, toluene R* (5:95 *V/V*).

Application: 20 µL, as bands.

Development: over a path of 15 cm.

Drying: in air.

Detection: spray with a 200 g/L solution of *phosphomolybdic acid R* in *ethanol R* and heat at 100-105 °C for 10 min.

Examine in daylight.

Results: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution. Furthermore, other zones are present in the chromatogram obtained with the test solution.

Top of the plate	
_____	A blue zone (near the solvent front)
_____	_____
α-Thujone and β-thujone: 2 pinkish-violet zones	2 pinkish-violet zones (α-thujone and β-thujone)
Cineole: a blue zone	A blue zone (cineole)
_____	_____
_____	Blue zones
Reference solution	Test solution

TESTS

Ethanol content (2.9.10): 64 per cent *V/V* to 69 per cent *V/V*.

Methanol and 2-propanol (2.9.11): maximum 0.05 per cent *V/V* of methanol and maximum 0.05 per cent of 2-propanol.

Dry residue (2.8.16): minimum 2.0 per cent *m/m*, determined on 3.00 g.

ASSAY

In a 500 mL round-bottomed flask, place 30.0 g of the tincture and add 100 mL of *water R*. Distil, using a descending condenser, into a separating funnel which has been marked beforehand at 50 mL. Stop the distillation process as soon as

the distillate reaches the 50 mL mark. Rinse the condenser with 10 mL of *pentane R*. Dissolve in the distillate sufficient *sodium chloride R* to produce a saturated solution. Shake with 3 quantities, each of 20 mL, of *pentane R*. Dry the combined pentane layers, including the pentane from rinsing the condenser, over *anhydrous sodium sulfate R* and filter through a plug of absorbent cotton into a weighed 100 mL round-bottomed flask. Wash the sodium sulfate several times with small quantities of *pentane R*. Remove the pentane carefully at a temperature not exceeding 40 °C. Dry the residue in a desiccator over *diphosphorus pentoxide R* and hard paraffin at atmospheric pressure and at room temperature for 2 h. Weigh the residue (essential oil).

**URTICA DIOICA FOR
HOMOEOPATHIC PREPARATIONS⁽³⁰⁾**

***Urtica dioica* ad praeparationes
homoeopathicas**

DEFINITION

Whole, fresh, flowering plant of *Urtica dioica* L.

CHARACTERS

The plant causes an itching, burning sensation on the skin.

IDENTIFICATION

- A. The perennial plant has a taproot that sends out creeping subterranean rhizomes, more or less 4-angled in transverse section, from which extend adventitious secondary roots and very numerous brownish hairy rootlets. The stipes are erect, generally unbranched, 3-5 mm in diameter and 0.3-1.5 m high, rarely up to 2.5 m high, 4-angled, greyish-green and covered in short hairs and stinging hairs. The decussate leaves are 30-150 mm long and 20-80 mm wide. The petiole is hispid and usually slightly less than one-third the length of the lamina. The leaf blade is ovate, acuminate, cordate or rounded at the base, and coarsely dentate; the apical tooth is distinctly larger than the lateral teeth. The upper side of the leaves is dark green and usually matt, both sides bear short serried hairs intermingled with long stinging hairs. The 2 stipules are linear-subulate and free. The inflorescences growing from the leaf axils are complex, the flowers unisexual, and, particularly in male plants, generally distinctly longer than the petiole. After shedding their pollen, male inflorescences are erect at an oblique angle or horizontal; female inflorescences are pendent when the fruit is ripe. All flowers have long stalks. The perianth of the male flowers is divided half-way down into equal green lobes, widest at their base, with short bristles and stinging hairs at the margins. The stamens are equal and opposite to the perianth segments, each with a long, whitish filament that curves inwards before pollen is shed and spreads out afterwards. The ovary is rudimentary, button or cup-shaped. The perianth of the female flowers is downy or bristly on the outside and consists of outer, and 2 inner segments; the inner segments are about twice the length of the outer ones. The hypogynous, ovate, unilocular ovary bears a large capitate stigma with a brush-like shock of hair. As the one-seeded fruit grows ripe, the 2 inner segments of the perianth fold around it like wings.
- B. It complies with the test for *Urtica urens* (see Tests).

TESTS

***Urtica urens*.** The margin of the lamina is not serrate with teeth twice as long as wide. The clusters of flowers in the axils are longer than the petiole of the leaf. Unisexual, apetalous flowers are not together on the same plant and in the same cluster.

Foreign matter (2.8.2): maximum 5 per cent.

Loss on drying (2.2.32): minimum 65.0 per cent, determined on 5.0 g of finely cut herbal drug by drying in an oven at 105 °C for 2 h, if performed to demonstrate the freshness of the herbal drug.

Mother tincture

The mother tincture complies with the requirements of the general monograph *Mother tinctures for homoeopathic preparations (2029)*.

PRODUCTION

The mother tincture of *Urtica dioica* is prepared by maceration using ethanol of a suitable concentration.

CHARACTERS

Appearance: greenish-brown or orange-brown liquid.

IDENTIFICATION

Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. The mother tincture to be examined.

Reference solution. Dissolve 10 mg of *phenylalanine R* and 10 mg of *serine R* in a mixture of equal volumes of *methanol R* and *water R* and dilute to 10 mL with the same mixture of solvents.

Plate: TLC silica gel plate R.

Mobile phase: glacial acetic acid R, water R, acetone R, butanol R (10:20:35:35 V/V/V/V).

Application: 20 µL, as bands.

Development: over a path of 10 cm.

Drying: in air.

Detection: spray with a 1 g/L solution of *ninhydrin R* in ethanol (96 per cent) R, heat at 105-110 °C for 5-10 min and examine in daylight within 10 min.

Results: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution.

Top of the plate	
Phenylalanine: a violet to reddish-brown zone	4 red to violet zones
Serine: a reddish-violet zone	A violet zone A violet zone
Reference solution	Test solution

TESTS

Relative density (2.2.5): 0.930 to 0.950.

Ethanol (2.9.10): 40 per cent V/V to 56 per cent V/V.

Methanol (2.9.11): maximum 0.10 per cent V/V.

Dry residue (2.8.16): minimum 1.1 per cent.

Geranium robertianum

Verwendet werden die frischen oberirdischen Teile von *Geranium robertianum* L. zur Blütezeit.

Beschreibung

Die Pflanzenteile haben einen kräftigen, unangenehmen Geruch.

Die 150 bis 900 mm hohen, krautigen, rot überlaufenen, stielrunden oder schwach gerillten Stängel sind niederliegend bis aufsteigend oder aufrecht und vom untersten Stängelknoten an mehr oder weniger sparrig verzweigt. An den deutlich verdickten Nodien stehen jeweils ein bis vier leicht abbrechende, unterschiedlich dicke Seitenäste mit sehr unterschiedlich langen Internodien von 10 bis 190 mm Länge. Alle Achsenteile sind mit 0,3 bis 3 mm langen, mehrzelligen Drüsenhaaren mit rotem Köpfchen besetzt oder durch drüsenlose Haare weich behaart.

Die bis 200 mm lang gestielten Rosettenblätter vertrocknen bald nach der Bildung der Stängel, die an den Knoten mit gegenständigen, in der Regel 20 bis 80 mm, selten bis 200 mm lang gestielten Stängelblättern besetzt sind. Die in der Regel fünf-, seltener dreieckigen Blattspreiten sind breiter als lang und bis zum Grund meist in drei, selten in fünf, in der Regel 30 bis 60 mm lange, kurzgestielte Abschnitte geteilt, die wie die Blattstiele abstechend behaart und teilweise rot gefärbt sind. Die Teilabschnitte erster Ordnung sind fast bis zum Mittelnerv doppelt fiederspaltig und die Teilabschnitte zweiter Ordnung unterschiedlich tief eingeschnitten. Die abgerun-

deten Abschnitte haben eine kurze, aufgesetzte Spitze. Am Blattgrund finden sich je zwei kleine, kurz zugespitzte, drüsig bewimperte Nebenblätter.

Aus fast jedem Stängelknoten entspringt ein Blütenstand mit gewöhnlich zwei Blüten. Die Blütenstandsachsen sind in der Regel deutlich länger als die entsprechenden Laubblätter. Die Blütenstiele sind 2 bis 7 mm lang. Die 8 bis 15 mm langen Blüten haben fünf freie, 6 bis 8 mm lange, unterschiedlich breite, eiförmig-lanzettliche Kelchblätter mit drei mehr oder weniger gut ausgebildeten, in der Regel rötlich gefärbten, drüsig behaarten Längsnerven. Die schmalen Bereiche zwischen den Längsnerven sind hellgrün. Der stets gut ausgebildete Mittelnerv läuft in eine 1 bis 2 mm lange Granne aus. Die an beiden Längsseiten häutig berandeten Kelchblätter stehen aufrecht und liegen dem Nagel der Kronblätter und nachher dem Fruchtknoten eng an. Die 5 bis 7 mm lang genagelten, freien, kahlen, verkehrt-eiförmigen Kronblätter sind insgesamt etwa 9 bis 15 mm lang und tragen eine etwa 7 bis 8 mm lange rosakarminrote, in der Regel ganzrandige oder gelegentlich schwach ausgerandete, mit drei weißen Längsstreifen versehene Platte. Die zehn Staubblätter sind zu je fünf in einem äußeren Kreis mit der Länge der Kelchblätter und einem inneren, etwa 1 mm längeren Kreis angeordnet. Der pfriemliche, grüne Staubfaden trägt rötlich braune Staubbeutel. Der oberständige, fünffächerige Fruchtknoten wird von fünf roten, 1 bis 1,5 mm langen Narben gekrönt und bildet eine schnabelförmige 16 bis 25 mm lange Frucht.

G

Arzneiformen

Herstellung

Urtinktur und flüssige Verdünnungen nach Vorschrift 2a

Eigenschaften

Die Urtinktur ist eine honiggelbe bis ockerbraune Flüssigkeit.

Prüfung auf Identität

Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

Untersuchungslösung: die Urtinktur

Referenzlösung: 10 mg Hyperosid *R* und 10 mg Kaffeesäure *R* werden in 10 ml Methanol *R* gelöst.

Platte: DC-Platte mit Kieselgel *R* (5 bis 40 µm) [oder DC-Platte mit Kieselgel *R* (2 bis 10 µm)]

Fließmittel: wasserfreie Ameisensäure *R*, Wasser *R*, Ethylacetat *R* (10:10:80 *V/V/V*)

Auftragen: 10 µl [oder 5 µl]; bandförmig 20 mm [oder 10 mm]

Laufstrecke: 10 cm [oder 6 cm]

Trocknen: im Kaltluftstrom

Detektion: Die Platte wird mit einer Lösung von Diphenylboryloxyethylamin *R* (10 g · l⁻¹) in Methanol *R* und anschließend mit einer Lösung von Macrogol 400 *R* (50 g · l⁻¹) in Methanol *R* besprüht. Nach

5 min langem Erhitzen bei 105 bis 110 °C erfolgt die Auswertung im ultravioletten Licht bei 365 nm.

Ergebnis: Die Zonenfolge in den Chromatogrammen von Referenzlösung und Untersuchungslösung ist aus den nachstehenden Angaben ersichtlich. Im Chromatogramm der Untersuchungslösung können weitere fluoreszierende Zonen vorhanden sein.

Oberer Plattenrand	
Kaffeesäure: 1 blau fluoreszierende Zone	1 grün fluoreszierende Zone 1 blau fluoreszierende Zone 1 blau fluoreszierende Zone
Hyperosid: 1 gelblich orange fluoreszierende Zone	1 blau fluoreszierende Zone
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Prüfung auf Reinheit

Relative Dichte (2.2.5): 0,930 bis 0,950

Trockenrückstand (H 2.2.6): mindestens 1,3 Prozent

Lagerung

Vor Licht geschützt

Euphrasia 3c

Euphrasia officinalis 3c

Verwendet werden die frischen ganzen Pflanzen von *Euphrasia stricta* D. Wolff ex J. F. Lehm. und *Euphrasia officinalis* L. subsp. *rostkoviana* (Hayne) F. Towns. und deren Bastarde oder Mischungen davon zur Blütezeit.

Beschreibung

Die Pflanze ist ohne Geruch.

Die Pflanzen haben ein schwächtiges Wurzelwerk mit einer dünnen, verkrümmten Hauptwurzel und wenigen Seitenwurzeln. Die bis 300 mm hohen Stängel steigen aus kurzem Grund straff auf, sie sind fast stielrund, von rückwärts gebogenen, krausen Härchen flaumig und in der Regel auch drüsenhaarig. Sie sind in der Regel braunviolett. Wenn Seitentriebe vorhanden sind, gehen diese ziemlich steil bis rechtwinklig von der Hauptachse ab und steigen bogig auf.

Die 3 bis 17 mm langen Laubblätter sind steif, im Umriss breit keilförmig, rasch in den Blattgrund verschmälert, die oberen mehr eiförmig und spitzer. Die sitzenden Blätter sind unterwärts in der Regel deutlich, oberwärts oft weniger deutlich gegenständig. Sie tragen auf der Unterseite kurze Borsten und in der Regel auch längere, geschlängelte Drüsenhaare (Lupe).

Der Blütenstand ist vielblütig. Die Deckblätter der Blüten sind etwas kürzer und breiter als die obersten Laubblätter und tragen am Rand drei bis sechs spitze oder kurz stachelspitzige Zähne. Die fast ungestielten Blüten haben einen vierzipfeligen, schwach dorsiventralen Kelch. Die insbe-

sondere am Rand drüsenlos oder langdrüsig behaarten Kelchzipfel sind schmal dreieckig und laufen manchmal in eine kurze Stachelspitze aus. Die Krone ist 6 bis 15 mm lang und deutlich zweilippig, außen in der Regel behaart und weiß bis blasslila. Die drei Zipfel der Unterlippe tragen je drei violette Radialstreifen, die Mitte der Unterlippe einen großen, gelben Fleck. Die trichterförmige Kronröhre hat einen gelben Schlund. Die vier Staubblätter besitzen lange, glatte, nach außen gebogene Filamente und dunkle, fest miteinander verklebte Antheren. Der dünne Griffel folgt der Krümmung der Oberlippe und ragt vorn heraus. Er ist im mittleren Teil behaart und trägt eine kleine, kopfige, ockerfarbene Narbe.

Bei *Euphrasia stricta* und *Euphrasia officinalis* L. subsp. *rostkoviana* handelt es sich um formenreiche Sammelarten, die in den meisten Merkmalen große Variabilität zeigen.

Arzneiformen

Herstellung

Urtinktur und flüssige Verdünnungen nach Vorschrift 3c

Eigenschaften

Die Urtinktur ist eine dunkelbraune Flüssigkeit mit krautigem Geruch.

E

Prüfung auf Identität

Dünnschichtchromatographie (H 2.2.4)

Untersuchungslösung: 10 ml Urtinktur werden mit 10 ml Wasser R versetzt. Die Mischung wird 2-mal mit je 10 ml Ethylacetat R ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 1 ml Methanol R aufgenommen.

Referenzlösung: 10 mg Hyperosid R, 10 mg Kaffeesäure R und 10 mg Rutosid R werden in 10 ml Methanol R gelöst.

Platte: DC-Platte mit Kieselgel R

Fließmittel: Wasser R, wasserfreie Ameisensäure R, Ethylacetat R (8:8:84 V/V/V)

Auftragen: 30 µl Untersuchungslösung und 10 µl Referenzlösung

Laufstrecke: 15 cm

Detektion: Nach Verdunsten des Fließmittels wird die Platte mit einer Lösung von Diphenylboryloxyethylamin R ($10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) in Methanol R, anschließend mit einer Lösung von Macrogol 400 R ($50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) in Methanol R besprüht. Die Auswertung erfolgt nach 30 min im ultravioletten Licht bei 365 nm.

Ergebnis: Das Chromatogramm der Referenzlösung zeigt im unteren Drittel die orangerot fluoreszierende Zone des Rutosids, darüber die orange fluoreszierende Zone des Hyperosids und im oberen Drittel die grünblau fluoreszierende Zone der Kaffeesäure.

Im Chromatogramm der Untersuchungslösung können zwischen den Referenzsubstanzen Rutosid und Hyperosid drei grünblau fluoreszierende Zonen erscheinen. Etwas unterhalb der Referenzsubstanz Kaffeesäure liegen zwei grünlich gelb bis blaugrün fluoreszierende Zonen, etwa in Höhe der Referenzsubstanz Kaffeesäure eine gelblich fluoreszierende Zone und darüber eine grünlich blau fluoreszierende Zone.

Prüfung auf Reinheit

Relative Dichte (2.2.5): 0,955 bis 0,975

Trockenrückstand (H 2.2.6): mindestens 2,0 Prozent

Lagerung

Vor Licht geschützt

HYPERICUM FOR HOMOEOPATHIC PREPARATIONS⁽²¹⁾

Hypericum perforatum ad praeparationes homoeopathicas

DEFINITION

Whole, fresh plant of *Hypericum perforatum* L., at the beginning of the flowering period.

IDENTIFICATION

The perennial plant consists of a spindle-shaped root and a branched rhizome, giving rise to long, decumbent runners. The cylindrical, erect stem is woody at the base, 0.2 m to 1 m long, branched in the upper part, with 2 raised longitudinal lines.

The leaves are opposite, sessile, exstipulate, oblong-oval and 15 mm to 30 mm long. The leaf margins show black glandular dots, and many small translucent oil glands are present on the entire surface and are visible by transmitted light.

The flowers are regular and form corymbose clusters at the apex of the stem. They have 5 green, lanceolate sepals with acuminate apices, and black oil glands near the entire margins; 5 orange-yellow petals, much longer than the sepals, with black oil glands near the terminal margins only; 3 staminal blades, each divided into many orange-yellow stamens and 3 carpels surmounted by red styles. Each petal is asymmetrically linear-ovate in shape, with one of the margin entire and the other dentate.

TESTS

Foreign matter (2.8.2): maximum 4 per cent of fruits and maximum 1 per cent of other foreign matter.

Loss on drying (2.2.32): if performed to demonstrate the freshness of the drug, minimum 55 per cent, determined on 5.0 g of finely cut drug by drying in an oven at 105 °C.

Mother tincture

The mother tincture complies with the requirements of the general monograph *Mother tinctures for homoeopathic preparations* (2029).

PRODUCTION

The mother tincture of *Hypericum perforatum* L. is prepared by maceration using alcohol of a suitable concentration.

CHARACTERS

Dark red to brownish red liquid.

IDENTIFICATION

Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. The mother tincture to be examined.

Reference solution. Dissolve 5 mg of *rutoside trihydrate R*, 1 mg of *hypericin R* and 5 mg of *hyperoside R* in *methanol R* and dilute to 5 mL with the same solvent.

Plate: *TLC silica gel plate R*.

Mobile phase: *anhydrous formic acid R*, *water R*, *ethyl acetate R* (6:9:90 V/V/V).

Application: 10 µL of the test solution and 5 µL of the reference solution, as 10 mm bands.

Development: over a path of 10 cm.

Drying: at 100-105 °C for 10 min.

Detection: spray with a 10 g/L solution of *diphenylboric acid aminoethyl ester R* in *methanol R* and then a 50 g/L solution of *macrogol 400 R* in *methanol R*. Examine the plates after 30 min in ultraviolet light at 365 nm.

Results: see below the sequence of the zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution. In the chromatogram obtained with the test solution, the zone due to rutoside may be weak or even absent. The chromatogram obtained with the test solution shows a group of zones that may be blue or yellow, with a R_f similar to that of the zone due to hyperoside in the chromatogram obtained with the reference solution. Other weak zones may also be visible.

Top of the plate	
Hypericin: a red zone	A yellow to blue zone 2 red zones
_____	_____
_____	Several zones
Hyperoside: a yellow to orange zone	Blue or yellow zones
Rutoside: a yellow to orange zone	A yellow to orange zone
Reference solution	Test solution

TESTS

Relative density (2.2.5): 0.900 to 0.920.

Ethanol (2.9.10): 60 per cent V/V to 75 per cent V/V.

Dry residue (2.8.16): minimum 1.3 per cent.