

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**PELİNOTU (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) ÖRNEKLERİNİN
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE AVRUPA FARMAOPESİ 6.0'A
UYGUNLUKLARININ ARAŞTIRILMASI**

THD-2016-6590

Hızlı Destek Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Yrd. Doç. Dr. Ayşe BALDEMİR
Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü

Araştırmacının Adı Soyadı:

Yrd. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN
Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Parazitoloji Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Nilay ILDIZ
Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü

Mart 2017

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Araştırma Fonu (Proje No: THD-2016-6590) tarafından mali olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ/ AMAÇ VE KAPSAM	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Botanik Özellikler	4
2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası	4
2.1.2. <i>Artemisia absinthium</i> L.	4
2.1.2.1. Genel Özellikleri	4
2.1.2.2. <i>Artemisia absinthium</i> 'un Bitki Sistematikindeki Yeri	5
2.1.2.3. Kayıtlı Olduğu Farmakope ve Monograflar	5
2.1.2.4. Tarihçesi	5
2.1.2.5. Kimyasal Bileşimi	6
2.2. Farmakolojik Özellikler	6
2.2.1. Farmakodinamik özellikleri	6
2.2.1.1. Antimikrobiyal Etki	6
2.2.1.2. Antiparazitik Etki	7
2.2.1.3. Antioksidan Etki	8
2.2.1.4. Antifungal Etki	9
2.2.1.5. Antihelmintik Etki	9
2.2.1.6. Antimalaryal Etki	9
2.2.1.7. Antipiretik Etki	10
2.2.1.8. Antidepresan Etki	10
2.2.1.9. Sedatif Etki	10
2.2.1.10. Akarasit Etki	10
2.2.1.11. Hepatoprotektif Etki	11
2.2.1.12. Nöroprotektif Etki	11
2.2.1.13. Sindirim Sistemi Üzerine Etki	11
2.2.1.14. İştah Açıcı Etki	11
2.2.1.15. Diyabet ve Lipitler Üzerine Etki	12
2.2.1.16. İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH) ve Crohn Hastalığı Üzerine Etkileri	12

2.2.1.17. İnsektisit Etki	12
2.2.2. Preklinik güvenlik sınırları	12
2.2.2.1. Veriliş Yolları ve Dozu	12
2.2.2.2. Aşırı Doz	13
2.2.2.3. Akut Toksisite	13
2.2.2.4. Tekrarlanan doz toksisitesi	13
2.2.2.5. Mutajenite	13
2.2.2.6. <i>A. absinthium</i> uçucu yağı ve tıyon toksisitesi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Bitki materyali	14
3.2. Farmakope analizleri	14
3.2.1. Morfolojik ve Mikroskobik inceleme	15
3.2.2. Yabancı madde	15
3.2.3. Kurutma kaybı	15
3.2.4. Bütün kül miktar tayini	15
3.2.5. Asitte erimeyen kül miktar tayini	15
3.3. Ekstraksiyon ve Uçucu yağ eldesi	15
3.4. Antiamibik aktivite çalışmaları	16
3.5. Antiamikrobiyal aktivite çalışmaları	17
4. BULGULAR	18
4.1. Morfolojik ve Mikroskobik İnceleme	18
4.1.1. Morfolojik İnceleme Verileri	18
4.1.2. Mikroskobik inceleme verileri	25
4.2. Yabancı Madde Tayini	28
4.3. Kurutma Kaybı	28
4.4. Bütün Kül Miktar Tayini	29
4.5. Asitte Erimeyen Kül Miktar Tayini	29
4.6. Antiamibik aktivite sonuçları	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
KAYNAKLAR	33

PELİNOTU (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) ÖRNEKLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE AVRUPA FARMAOPESİ 6.0'A UYGUNLUKLARININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Çalışma konumuz olan *Artemisia absinthium* L. halk arasında “Pelin”, “Pelin Otu”, “Acı Pelin”, “Ak Pelin”, “Büyük Pelin”, “Şeyh Horasani”, “Halep horasani” ve “Doğu Horasani” olarak adlandırılmakta ve değişik kullanım biçimleri bulunmaktadır. Bitkinin halk arasında dahilen dizanteri ve vereme karşı haricen çıbanları iyileştirici olarak kullanıldığı kayıtlıdır. Klasik tıbbi eserlerde, bitkinin herbasının mideyi, kuvvet verici, iştah açıcı, ateş düşürücü ve idrar arttırıcı olarak eski çağlarda kullanıldığına dair veriler bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu bu etkilerin ancak yüksek dozlarda meydana geldiği saptanmıştır. Fakat bu dozlarda taşıdığı uçucu yağdan dolayı tehlikeli zehirlenmeler yapabilmektedir. Hindistan'da pelinotu kronik ateş tedavisinde ve karaciğer iltihabında antispazmodik ve antiseptik olarak, kurt düşürücü ve haşere öldürücü olarak geleneksel tıpta kullanılır. Uçucu bitki yağı antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahiptir. Türkiye'de ise halk arasında ateş düşürücü, antiseptik, antihelmintik, tonik ve idrar söktürücü olarak ve mide ağrıları için kullanılmaktadır.

Bu çalışma kapsamında; Kayseri'den satın alınan pelin otu örnekleri ve Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi'nden edinilen standart pelinotu örneği kıyaslanarak Avrupa Farmakopesi'ne uygunlukları ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Avrupa Farmakopesi analizlerinde; örneklerin mikroskobik, makroskobik özellikleri, nem miktar tayini, kül miktar tayini, asitte erimeyen kül tayini, acılık değeri ve ince tabaka kromatografisi analizleri yapılmıştır. Biyolojik aktivite çalışmalarında ise bu örneklerden hazırlanan metanol ekstraktlarının anti-amibik ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Sonuç olarak; Kayseri'den satın alınan örneklerin standart örneklerle kıyaslandığında Avrupa Farmakopesi'nde belirtilen bilimsel drog tanımına uygun olmadığını ve halk sağlığı açısından da uygun nitelikler taşımadığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Artemisia absinthium*, pelinotu, Farmakope analizleri, anti-amibik, antimikrobiyal, Asteraceae.

INVESTIGATION OF CONFORMITY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND EUROPEAN PHARMACOPOEIA 6.0 OF WORMWOOD (*ARTEMISIA ABSINTHIUM* L.) SAMPLES

ABSTRACT

Artemisia absinthium L. is called as "Pelin", "Pelin Otu", "Acı Pelin", "Ak Pelin", "Büyük Pelin", "Şeyh Horasani", "Halep Horasani" and "Doğu Horasani". There are different forms of use. It is registered that the plant has been used as a remedy for dysentery and exogenous exacerbations among the population. In classical medical works, there is an indication that the herb of the plant has been used in the ancient times as a midwife, a forceful, an appetizer, a fever reducer and a urine enhancer. It is determined that these effects are only a result of high doses. But at these doses it can cause dangerous poisonings due to the volatile oil it carries. In India, wormwood is used for chronic fever treatment, antispasmodic and antiseptic treatment of liver inflammation, as wolf-lowering and pesticides. The volatile oil of *A. absinthium* has antimicrobial and antifungal activity. In Turkey, it is used as an antipyretic, antiseptic, antihelmintic, tonic and diuretic and for stomach pain among the people.

This scope of work; the conformity and biological activities of the European Pharmacopoeia were investigated by comparing of *A. absinthium* samples purchased from Kayseri and the standard *A. absinthium* obtained from the Zeytinburnu Medical Plant Garden. In the European Pharmacopoeia analyzes; morphologic and microscopic analyses, foreign matters, loses on drying, total ash quantities and ash insoluble in hydrochloric acid were done. Antimicrobial and antimicrobial activities of methanol extracts prepared from these samples were investigated in biological activity studies.

As a result; Compared to the standard sample, the samples purchased from Kayseri did not conform to the definition of scientific drugs in the European Pharmacopoeia and showed that they did not have suitable qualities in terms of public health.

Keywords: *Artemisia absinthium*, Wormwood, European Pharmacopoeia analysis, antiamibic, antimicrobial, Asteraceae.

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Son yıllarda teknoloji ve tıp ne kadar ilerlerse ilerlesin doğal zenginliklerin tükenmesi ve ekonomik olarak ülkelerin girdikleri çıkmazlar, doğal ürünlerin çok amaçlı kullanılmalarını zorunlu kılmıştır. Dünya sağlık teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak yaptığı bir araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri, 1926 yılından bu yana Türkiye'de olduğu gibi diğer ülkelerdeki çeşitli laboratuvarlarda da araştırılmaya başlanmıştır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de pek çok araştırmacı halk ilaçlarını değişik açıdan inceleyen çalışmalar yapmıştır ve oldukça önemi sonuçlar elde etmişlerdir. Halkımızın tanıdığı ve bildiği bitkileri doğadan toplayarak, çeşitli şekillerde bunları değişik hastalıkların tedavisinde kullanıldığını göstermişlerdir. Pelin otu da bu bitkilerden biridir. *Artemisia absinthium* halkımız tarafından "Pelin", "Pelin Otu", "Acı Pelin", "Ak Pelin", "Büyük Pelin", "Seyh Harosani", "Halep horasani" ve "Dogu Horasani" olarak adlandırılmakta ve değişik kullanım biçimleri bulunmaktadır. Bitkinin halk arasında dahilen dizanteri ve vereme karsı haricen çibanları iyileştirici olarak kullanıldığı kayıtlıdır. Klasik tıbbi eserlerde, bitkinin herbasının mideyi, kuvvet verici, istah açıcı, ates düşürücü ve idrar arttırıcı olarak eski çağlarda kullanıldığı belirtilmiştir. Antiseptik, antimikrobik, antiparazitik, antihelmintik, antioksidan etkisi vardır. Kas spazmlarını önler, terletici ve karaciğeri koruyucu etkileri vardır (Dülger ve ark. 1999).

19. ve 20. yüzyıllarda absinthe'nin kronik istismarı "absinthism" olarak adlandırılan bir sendroma neden olmuştur. Absentin uzun süreli içilmesi kasılmalar, körlük, halüsinasyonlar ve zihinsel bozulmaya neden olmuştur. 20. yüzyılın başlarında absent bu etkilerinden dolayı yasaklandı. 1990'ların başında AB'ye üye devletler absent içeriğindeki bu etkiye neden olduğu düşünülen tuya kullanılabılır doz sınırı getirerek pelin otu bütün Avrupa Birliği içinde tekrar pazarlanabilir olmuştur (Lachenmeier ve ark. 2006).

Bu çalışmanın amacı, Kayseri ilinden satın alınan pelin otu örneklerinin Avrupa Farmakopesi 6.0'a uygun olup olmadıklarını araştırmaktır. Bu kapsamda Avrupa Farmakopesi 6.0'da belirtilmiş olan mikroskopik, makroskopik, yabancı madde, kurutma kaybı ve bütün kül gibi deneyler yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Ayrıca standart pelinotu örneğinin antiemibik ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Özellikler

2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası

Familyanın ismi yıldız şeklinde çiçekleri bulunan bir cins olan Aster türünden gelmektedir. Asteraceae, çiçekli bitkilerin en büyük familyası olarak bilinir. Dünyada 1100 cins ve 25000 civarında türle temsil edilen kozmopolit bir familyadır. Türkiye'de 133 cins ve bunlara ait 1156'dan fazla türü bulunmaktadır. Bu bitkilerin çiçek durumunun kompozit yapısı, taksonomistlerin bu familyayı Compositae olarak anmasına yol açmıştır.

Bitkilerin çoğu otsudur, çalı veya ağaç formunda olanların sayısı azdır. Yapraklar alternan ya da oppozit dizilmiştir. Çiçek durumu kapitulumludur; tabanında braketlerden oluşmuş bir involukrum bulunur. Çiçekler erdişi ya da tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçeklerde kaliks papus, halka veya pul biçimindedir. Korolla 5 petalli, simpetal, tüp biçimindedir. Stamen 5 tane, ovaryum 2 karpelden oluşmuştur. Meyva tipi akendir. Familya bitkilerinin çoğu Compositae tipi salgı tüyü ve örtü tüyleri taşır. Bu familyada uçucu yağ, inülin ve lateks en sık rastlanan bileşiklerdir, ayrıca seskiterpen laktonlar, alkoloitler, esterler, saponozitler, kumarinler ve flavonoller de saptanmıştır. Bitkilerin çoğu eczacılıkta, gıda ve diğer endüstrilerde kullanılır. *Matricaria chamomilla* (mayıs papatyası), *Silybum marianum* (meryemana dikenli) *Helianthus annuus* (ayçiçeği), *Tussilago farfara* (öksürük otu), *Artemisia absinthium* (pelin otu) bu ailedeki bitkilerden bazılarıdır (Tanker ve ark. 2007).

2.1.2. *Artemisia absinthium* L.

2.1.2.1. Genel Özellikleri

Çok yıllık çalıdır. Avrupa ve Asya da yayılım gösterir. Ülkemizde de yetişir. Yaprakları çok parçalı ve gümüşü renklidir. Kapitulumlar küçüktür, rasemus oluşturmuşlardır. Çiçekleri sarı renklidir. Çiçekli gövdesi dik olarak yükselmiş, ipeksi tüylü en azından 1 m kadar yükselir. Çapı 2.5 mm, yeşilimsi -gri yünlü ve genellikle boylamasına 5 oluk var. Yapraklar grimsi-yeşilimsi renkte, 2,3 pinnasitekt, lobları oblang, subakut, grimsi-beyazımsı ipeksi tüyleri var. Yuvarlak ya da lanseolat kesimleri ile üçgen, oval, bipennat ya da tripennat laminası var. Kapitulum çökük, küremsi, çok çiçekli 3-5 mm genişliğindedir. Involukrum 1-3 mm uzunluğunda. Dıştaki brakteler otsu, ipeksi tüylüyken içteki brakteler uzun çoğunlukla zarsıdır. Brakteler yeşil renklidir. Korolla sarımsı ve küremsidir. Çiçek tablası yumuşak kılsı, uzundur. Çok sayıda boru şekilli, sarı, yaklaşık 2 mm uzunluğunda çiçekciklerden oluşan hermofrodit çiçeği var . Çiçekli ve yapraklı dalları Herba Absinthii T.K. (Pelin otu) isimli

droğu oluşturur. Acı madde ve uçucu yağ içerir. İştah açıcı ve stomaşık olarak kullanılır. Zehirli bir drog olduğu için kodekslerden çıkarılmıştır (Tanker ve ark. 2007; EP 2008; Davis 1975).



şekil 1. Pelin otu

2.1.2.2. *Artemisia absinthium*'un Bitki Sistematiięindeki Yeri

Âlem: Plantae (Bitkiler)

Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

Takım: Asterales

Familiya: Asteraceae (Papatyagiller)

Alt familiya: Asteroideae

Cins: *Artemisia*

Tür: *A. absinthium*

2.1.2.3. Kayıtlı Olduğu Farmakope ve Monograflar

Alman Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, Avusturya Farmakopesi, İngiliz Farmakopesi, İsviçre Farmakopesi, ESCOP Monografları, Komisyon E Monografları, FFD Monografları (Demirezer 2011).

2.1.2.4. Tarihçesi

Artemisia absinthium antik dönemden beri tıbbi özellikleriyle bilinmektedir. Mısırlılar 1600 yılından beri ardından Hipokrat, Galien, Salerne Okulu tarafından 1649 yılından beri bilinmektedir ve 18. yüzyıl da hekimler çeşitli hastalıklara karşı önerirlerdi. 1780-1790 yılında İsviçre de Docteur ordinaire adında bir gezgin hekim bir aperatif likör içine bu pürgatif iksiri dönüştürmüş ve iki yüzyıl ardından beklenmedik başarı olmuştur (Chapuis 2013).

Artemisia absinthium L. halkımız tarafından “Pelin”, “Pelin Otu”, “Acı Pelin”, “Ak Pelin”, “Büyük Pelin”, “Şeyh Harosani”, “Halep horasani” ve “Doğu Horasani” olarak adlandırılmakta ve değişik kullanım biçimleri bulunmaktadır. Klasik tıbbi eserlerde, bitkinin herbasının mideyi, kuvvet verici, iştah açıcı, ateş düşürücü ve idrar arttırıcı olarak eski çağlarda kullanıldığına dair veriler bulunmaktadır (Dülger ve ark. 1999).

A. absinthium’a yaygın olarak pelin denir ve Hindistan Keşmir vadisinde yerelde 'Tethwen' olarak bilinir. Bu kronik ateş tedavisinde ve karaciğer iltihabında antispazmodik ve antiseptik olarak, vermifuge (kurt düşürücü), haşere öldürücü olarak geleneksel tıpta kullanılır (Tariq ve ark. 2009). Türk Halk hekimliğinde, *A. absinthium* ateş düşürücü, antiseptik, antihelmintik, tonik ve idrar söktürücü ve mide ağrıları için kullanılmaktadır (Baytop 1999).

2.1.2.5. Kimyasal Bileşimi

%0.2-1.5 oranında uçucu yağ taşır ve bu uçucu yağda en az 50 farklı mono ve seskiterpen bulunmaktadır. Miktarları yağın elde edildiği kemotipe bağlı olarak değişir. %40 ve üzeri gibi yüksek oranlarda cis-epoksimen, α/β tuyon, trans-sabinilasetat ve krizantenilasetat daha az miktarlarda tuyol, linalol, sineol, α -bisabolol, β -kurkumin ve spatulenol mevcuttur (Bisset 1994; Haensel ve ark. 1992). Uçucu yağa mavi rengini veren bileşiğin seskiterpen yapısında bir azulen olduğu tespit edilmiş olup bundan başka pinen, felladren ve yine seskiterpenlerden kadinen de içerdiği bulunmuştur. Tuyon ve tuyol zehirli maddeler olup, düşük dozlarda titreme ve halusinasyon, yüksek dozlarda sara’ya benzer titremeler, bitkinlik ve uyuşukluk ile kendini gösteren zehirlenme tablosu oluşturmaktadır (Dülger ve ark. 1999).

% 0.15-0.4 oranında acı maddeler nedeniyle droğun acılık değeri 10.000-15.000’dir. Acı madde olarak seskiterpen laktonlar; % 0.20-0.28 absintin, % 0.04-0.16 anabsintin, artabsin ve % 0,0007 matrisin taşır. Absintin acı maddesi salgı arttırdığı için iştah açan bir maddedir. Diğer laktonlardan absintoloit, artanolit ve deasetilglobuisin bulunur. İTK çalışmalarında pelenolitlerden hidroksipelenolit tespit edilmiştir (Demirezer 2011). Droğun diğer bileşenleri flavonol glikozitleri, kafeik ve fenolik asitler, tanen, homoditerpen peroksitler ve 24-zeta-etilkolesta-7,22-dien-3 β -ol’dür. Kafeoilkinik ve dikafeoilkinik asit bakımından zengindir. Bu asitler HIV-1 integrasyonu inhibe ederler (Weiss 1999; Fiamegos ve ark. 2011).

2.2. Farmakolojik Özellikler

2.2.1. Farmakodinamik özellikleri

2.2.1.1. Antimikrobiyal Etki

A. absinthium'un, antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon deneyi kullanılarak belirlendi. Metanol özlü ekstralarının mikroorganizmaların büyümesini inhibe etmede sulu ekstralardan daha fazla etkin olduğu görüldü. Bu sergilenen özellikler, bitki özlerinin gıda ve ilaç endüstrilerinde doğal koruyucu olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Şengül ve ark. 2011).

A. absinthium L.'dan hazırlanan etil asetat, aseton, koroform ve etanol ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş ve *Artemisia absinthium* L. ekstralarının bazı Gram (+) ve (-) bakterilere karşı antimikrobiyal bir aktivite gösterdiği görülmüştür (7). Yağın antimikrobiyal aktivitesi bakteriyel izolatlar (hastaların yaraları ve dışkılarından elde edilen) ve yedi Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu suşlarına karşı mikro sulandırma denemesi kullanarak araştırılmıştır. Yağ minimal inhibitör / bakteri öldürücü konsantrasyonu <0,08 ile 2,43 mg / mL ve 0.08 ile 38,80 mg/mL arasında değişmektedir (Krstev ve ark. 2014; Kocaoğlu ve Özel, 2014; Dülger ve ark. 1999).

A. absinthium yapraklarından elde edilen hidro-damıtılmış uçucu yağın kimyasal bileşimi GC-FID ve GC / MS ile analiz edilmiştir. Yağ, 5 Gram pozitif, 8 Gram negatif bakteri ve 3 mantara karşı 5.000-9 mg / mL'lik bir konsantrasyon aralığında boru inceltme yöntemiyle test edildi. Sonuçta uçucu yağ bakterilere karşı antimikrobik, mantarlara karşı antiseptik etki göstermiştir (Joshi 2013).

A. absinthium özellikle gram pozitif patojenlere karşı antimikrobik etkinlik gösterir. 20 fare üzerinde yapılan deney sonucunda pelin otu ekstresi önemli antimikrobik etki göstermiştir. Pelin otunun bu özelliği yapısındaki majör (kamfor, p-simen, kariyofilen) ve minör (α -pinen, β -pinen) etkenlerden kaynaklanır (Moslemi ve ark. 2012).

Artemisia yağları bakterilerin büyümesi üzerindeki önleyici etkisini *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* üzerinde göstermiştir. *A. absinthium* yağının en aktif olduğu stafilokok suşlarıdır (Lutz ve ark. 2008).

2.2.1.2. Antiparazitik Etki

Doğal Enfekte Kedilerde *Toxocara cati*'ye *Artemisia absinthium*'un etkisini incelemek için bir çalışma yapılmıştır. *A. absinthium* ekstresi kedilere 300 mg/kg (Grup 1) ve 600 mg/kg (Grup 2) dozda ağızdan verilmiştir. Ekstre günde bir kez olacak biçimde 7 gün süreyle uygulanmıştır. Ekstre verilmesi bittikten sonraki 8 gün süreyle dışkı incelenmiştir. Dışkı yumurta sayısındaki değişim McMaster tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Deneme gruplarındaki kedilerde dışkıdaki *T. cati* yumurta sayısının dereceli olarak azaldığı gözlenmiştir. Sonuç olarak bu bitki ekstresinin gelecekte parazit hastalıklarının tedavisi için bir alternatif olabileceği görülmüştür (Yıldız ve ark. 2011).

*A. absinthium*un uçucu yağı, *Trypanosoma cruzi* ve *Trichomonas vaginalis* parazitlerine karşı etkindir. *A. absinthium* içinde mevcut iki bileşik trans- karyofilen ve 3,6- dihidrokamazulen antiparazitik ve sitotoksik aktivite göstermiştir (Martínez-Díaz ve ark. 2015). *A. absinthium*'un antiparazit etkinliğinin, keçilerdeki bağırsak kokdiyozuna karşı Toltrazuril, amprolium ilaçları ile karşılaştırılması için çalışma yapılmıştır. *A. absinthium*'un antikoksidial etkinliği, iki geleneksel antikoksidial ilaca (Toltrazuril ve amprolium) karşı alternatiftir. Toltrazil ve amprolium kokdiyoz (kanlı ishal) tedavisinde kullanılan ilaçlardır. *A. absinthium* geniş getirenlerde diğer parazitlere karşı da yüksek etki gösterir (Iqbal ve ark. 2013).

Trişinolozis genellikle insanda ishal ve nadiren ateş, göz çevresinde ödem ve miyozite neden olan *Trichinella spiralis* adlı bir parazit solucanın neden olduğu bir hastalıktır. Genel olarak benzimidazol türevleri ile tedavi edilmektedir. *Artemisia* cinsinin bu parazitlere karşı etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada, *A. vulgaris* ve *A. absinthium*'un trişinolozise karşı etkinliği sıçanlarda ilk kez incelendi. *A. vulgaris* ve *A. absinthium* metanol ekstrelerinin %75.6 ve %63.5 oranında larva oranını azalttığı görülmüştür. Tedavide kullanılabileceği önerilmiştir (Caner ve ark. 2008).

2.2.1.3. Antioksidan Etki

Kurşuna maruz bırakılan sıçanlarda oksidatif stres üzerine *A. absinthium* sulu ekstresinin etkisini araştırmak için yapılan çalışmanın sonucunda *A. absinthium* özünün kurşuna maruz kalan enzimlerin faaliyetlerini iyileştirdiği görülmüştür. Lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu bir rol oynamıştır (Kharoubi ve ark. 2008).

Artemisia absinthum, *Artemisia santonicum* ve *Saponaria officinalis* türleri antioksidan aktivite, toplam fenolik içeriği ve antimikrobiyal aktiviteyi analiz etmek için incelenmiştir. Bunların toplam antioksidan aktivitesi beta-karoten ağartıcı deneyi kullanılarak belirlendi. Analiz edilen üç türün metanol ekstreleri yüksek antioksidan aktivite göstermiş ve aralarında *A. absinthum* en yüksek (%71,78) etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Şengül ve ark. 2011).

A. absinthium diyet içeriğinin tavuk eti üzerine antioksidan etkisini gözlemlemek için bir çalışma yapılmıştır. Glutasyon peroksidaz aktivitesi *A. absinthium* ile beslenen tavukların kanında yüksek bulunmuştur. (Glutasyon peroksidaz ise hayvan ve bitki dokularında yaygın olarak dağılan, peroksitlerin ve serbest radikallerin yıkımı, zararlı bileşiklerin

detoksifikasyonunda aktivite gösteren bir enzimdir.) Pelin otu burada antioksidan aktivite göstermiştir (Kostadinovic ve ark. 2015).

Uçucu yağın antioksidan aktivitesi beta-karoten / linoleat modeli ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü etki deneyleri yapılarak gösterilmiştir (Lutz ve ark. 2008).

A. montana ve *A. absinthium* etanolik ekstralarının kimyasal bileşiminin faredeki fibroblast benzeri NCTC hücre hattında hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif strese karşı, antioksidan aktivitesi ve koruyucu etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Flavonoidler ve fenolik asitler bakımından zengin *A. montana* ve *A. absinthium* ekstraları, iyi bir antioksidan aktivite ve fibroblast benzeri hücrelerin oksidatif hasarına karşı hücre koruyucu etki göstermiştir (Craciunescu ve ark. 2012).

2.2.1.4. Antifungal Etki

Fransa ve Hırvatistan kaynaklı uçucu yağların bileşimlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Fransa kaynaklı uçucu yağın tuyen içermediği, ancak *Candida albicans*'a ve *Saccharomyces cerevisiae* karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Juteau ve ark. 2011).

Pelin otu ekstresiyle domates mildiyözü (geç yanıklık) kontrolü üzerine yapılan çalışmayla Romanya'da farklı coğrafi bölgelerden toplanan *A. absinthium* örneklerinden hazırlanan ekstraların *in vitro* antifungal aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır. Geç yanıklığı bahçe bitkilerinde görülen önemli ekonomik kayıplara neden olan, dünya çapında en şiddetli hastalıklarından biridir. *Phytophthora infestans*, patates ve domates geç yanıklığına neden olan ajan, organik üretim sistemlerinde yönetmesi çok zor olan fitopatojendir. Sonuçlar, geç yanıklık kontrolü için *A. absinthium* özlerinin antifungal etki potansiyeli olduğunu göstermiştir (Rodino ve ark. 2014).

2.2.1.5. Antihelmintik Etki

Koyun kurtlarına karşı *Artemisia absinthium* özlerinin antihelmintik etkinliğinin araştırıldığı çalışmanın amacı, gastrointestinal tedavide koyun kurtlarına karşı Albendazole karşılaştırıldığında *A. absinthium*'un ham sulu ekstralarının (CAE) ve ham etanolik özlerinin (CEE) antihelmintik etkinliğini değerlendirmektir. CEE'nin daha etkili olduğu gözlemlendi. CEE referans ilaç albendazol kadar etkili oldu. Bu çalışmanın sonuçları *A. absinthium* ekstralarının koyun GI nematod tedavisi için piyasada mevcut antihelmintikler için umut verici bir alternatif olduğunu göstermektedir (Tariqa ve ark. 2009).

2.2.1.6. Antimalaryal Etki

A. absinthium'dan elde edilen iki homoditerpen peroksitin in vitro olarak *Plasmodium falciparum*'a karşı EC50 1 µg/ml konsantrasyonda etkili olduğu saptanmıştır (ESCOP 2003).

2.2.1.7. Antipiretik Etki

A. absinthium'un etanollü ekstresinden izole edilen bir sterol, tavşanlarda maya ile indüklenen ateşi düşürmüştür. Hegzan, kloroform ve sulu fraksiyonları da benzer antipiretik etki göstermiştir (ESCOP 2003). Bazı Pakistan tıbbi bitkileri üzerinde ateş düşürücü çalışmalar da *A. absinthium*'un, *Viola odorata*, *Melia azadirachta* ve *Fumaria parviflora*'nın hekzan, kloroform ve suda çözünür özlerinin tavşanlardaki önemli oral antipiretik etkinlik gücü aspirinin güçlü etkisi ile karşılaştırılmıştır. Antipiretik aktivite bu bitkilerin hekzan - çözünür fraksiyonunda daha belirgin olmuştur (Khattak ve ark. 1985).

2.2.1.8. Antidepresan Etki

Çiçeklenme aşamasında *Artemisia absinthium*'in antidepresan aktivitesinin araştırıldığı çalışmada *A. absinthium*'un metanolik ekstresinin çiçeklenme aşamasında, antidepresan aktivitesi zorunlu yüzme (FST) ve kuyruk süspansiyon deneyleri (TST) ile belirlenmiştir. Pelin otu antidepresan olarak imipraminle benzer aktivite göstermiştir (Mahmoudi ve ark. 2009).

2.2.1.9. Sedatif Etki

A. absinthium'un %80'lik metanollü kuru ekstresinin farelerde 500 mg/kg dozda oral yoldan kullanımı, fenobarbital ile indüklenen uyuma süresini 81 dakikadan 117 dakikaya uzatmıştır (Gilani ve Janbaz 1995).

2.2.1.10. Akarasit Etki

Hyalomma anatolicum kenelerine karşı *A. absinthium* etanollü ekstresinin akarasit aktivitesi çalışması *A. absinthium*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ekstresinin farklı konsantrasyonlarda *Hyalomma anatolicum* kenesinin yetişkin, yumurta ve larvalarına olan etkisini gözlemlemek amacıyla yapılmıştır. Sonuçlar, *A. absinthium*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen etanolik ekstresinin akarasitidal özellikleri olduğunu ve *H. anatolicum* kontrol edilmesinde faydalı olabileceğini göstermektedir (Godara ve ark. 2015).

Üç esansiyel yağın, defne (*Laurus nobilis* L.), mersin (*Myrtus communis* L.) ve pelin otu (*Artemisia absinthum* L.) kırmızı örümcek akarı ve *Tetranychus cinnabarinus* (kırmızı örümcek) karşı fümigan toksik ve yumurtlama engellenmesi faaliyetleri üzerinde çalışılmıştır. Her üç esansiyel yağda değişken derecelerde, akar (küçük haşereler) yumurtalarına ve yetişkinlere karşı toksik oldukları belirlendi. Pelin otu yağı yetişkinlere (LD50 = 5.77 ul / L

hava) karşı en az toksik olmasına rağmen, yumurtaya (LD50 = 3.81 ul / L hava) karşı yüksek bir toksisite sergiledi. Pelin yağı 4 günlük süre içinde diğer yağlara göre yetişkin dişi akarına karşı %100 yumurtlama engelleyici etkinlik göstermiştir. Sonuçlar pelin otu uçucu yağının örümcek akarlarından sera bitkilerini korumada yardımcı olabileceğini göstermiştir (Topuz ve Erler 2007).

2.2.1.11. Hepatoprotektif Etki

A. absinthium'un %80'lik metanollü ekstresinin oral olarak alınmasından sonra kemirgenlerde hepatoprotektif etki gözlenmiştir. 1 g/kg dozdaki asetaminofen, farelerde %100 ölüm oranına sebep olurken, hayvanlara önceden 500 mg/kg ekstre uygulanması ölüm oranını %20'ye düşürmüştür. *A. absinthium*'un ekstresi ile asetaminofenin yol açtığı hepatik hasar sınırlandırılmıştır (Gilani ve Janbaz 1995).

Sıçanlarda CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarına karşı *A. absinthium* sulu özütünün koruyucu aktivitesi değerlendirildi. Sıçanlarda CCl₄ ile uyarılan oksidatif hasara karşı üç doz verilerek bu ekstrenin koruyucu aktivitesi analiz edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları; *A. absinthium*'un hepatoprotektif aktiviteyi indüklediğini göstermiştir. Karaciğer hasarının azaltılmasında kullanımı kabul edilebilir ve alternatif bir ilaç olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Saxena ve Shukla 2012).

2.5.1.12. Nöroprotektif Etki

Pelin otunun serebral oksidatif stres ve hasarı yanı sıra serebral iskemi ve reperfüzyon (kan akışının geri sağlanması) hasarının yol açtığı davranış bozukluklarının ratlar üzerindeki potansiyel koruyucu etkileri araştırıldı. *A. absinthium* (100 mg / kg ve 200 mg / kg) metanol ekstresinin önceden muamelesi ile beyin oksidatif stres ve hasarı, davranış problemleri anlamlı ölçüde azaldı. Bu bulgular *A. absinthium*'un nöro-koruyucu ve inme tedavisinde yardımcı olabileceğini gösterdi (Krstev ve ark. 2014; Bora ve Sharma 2010). Ayrıca; pelin otunun yapısındaki doğal seskiterpen dimer caruifolin D nöroinflamasyonu önlediği belirlendi (Zeng ve ark. 2015).

2.5.1.13. Sindirim Sistemi Üzerine Etki

5 g *A. absinthium*'a eşdeğer bir dekoksiyon, iv uygulamadan sonra köpeklerde safra salgısının 3 kat artmasına sebep olarak, koloretik etki göstermiştir. Absint köpeklere oral yoldan verildiğinde, gastrik sıvıların sekresyonunu stimüle edip mide asiditesini artırmıştır. Aynı etki absintinin doğrudan mideye sonda ile verilmesinde görülmemiş, ancak acı bir madde olması nedeniyle, ağız tarafından bir refleks olarak gastrik sekresyonu stimüle ettiği ortaya konmuştur (ESCOP 2003).

2.5.1.14. İştah Açıcı Etki

Pelin otunun iştah üzerindeki etkisini araştırmak için 6 rattan oluşan 4 kişilik gruplar oluşturuldu ve her gruba 50, 100 ve 150 mg / kg olmak üzere 3 farklı dozda pelin otu ekstresi bir hafta boyunca her gün ağız yolundan verilmiştir. Her gün onların yedikleri yiyecek tartılarak iştah seviyeleri ölçülmüştür. 3 dozun da iştah üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular *A. absinthium*'un sıçanlarda iştah gelişimi üzerinde olumlu etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Hasani ve ark. 2011).

2.2.1.15. Diyabet ve Lipitler Üzerine Etki

Tip II diyabeti olan hastalarda *A. absinthium*'un etkisi değerlendirildi. 30-60 yaşlarında her iki cinsiyette tip II diyabetli 32 hasta, her grupta 8 kişi olmak üzere dört grup halinde dağıtıldı. *A. absinthium* yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini % 3 ve LDL düzeyini % 6 azaltmıştır. *A. absinthium* gibi bitkisel ürünlerin diyabetik insan lipid profili üzerinde anlamlı bir etkisi vardır. Sonuçta anti-diyabetik özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark. 2015).

2.2.1.16. İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) ve Crohn Hastalığı Üzerine Etkileri

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) bitkisel tedavisi kullanımı dünyada artmaktadır. Medline ve Embase yayınlanan IBD için bitkisel tedavisi ile ilgili çalışmalar gözden geçirildi ve tedavi ve iyileşme oranları kaydedildi. İlgili klinik çalışmaların sayısı nispeten çok az olmakla birlikte, IBD de bitkisel tedavilerin etkinliği umut verici olduğu kabul edilebilir. Bugüne kadar sakız özleri, tormentil sakız, pelin otu, *Aloe vera*, *Triticum aestivum* kullanılmıştır (Triantafyllidi ve ark. 2015).

Pelin otu ekstresinin tümör nekroz faktörü alfa (TNF-alfa) ve interlökinleri baskıladığı *in vitro* çalışmalarda bildirilmiştir. TNF-alfa artışı Crohn hastalığında önemli bir role sahiptir. TNF- α özellikle CH gelişiminde anahtar bir sitokin olup, İBH immünopatogenezinde merkezi bir role sahiptir. TNF- α ;T ve B lenfositler, naturel killer (NK) hücreleri, mast hücreleri ve intestinal epitel hücrelerince de üretilebilirler.10 Crohn hastasından oluşan kontrol grubuna pelin otu ekstresi düzenli olarak 6 hafta verilmiş ve bu süre sonunda serumdaki TNF- α seviyelerinin zamanla azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar pelin otunun TNF- α 'yı baskılayarak Crohn hastalarında iyileşmeyi hızlandırdığını göstermiştir (Krebs ve ark. 2010).

2.2.1.17. İnsektisit Etki

Drosophila melanogaster üzerinde yapılan bir subkronik toksisite testi ile *A. absinthium* uçucu yağının, böcek larva gelişimi için toksik olduğunu göstermiştir. Probit analizi; 15 gün uçucu yağa maruz kalan *D. melanogaster* larvaları için *A. absinthium* uçucu

yağının LC50 değeri % 6,31 (49 mg / ml) olduğunu ortaya koymuştur. Sonuçta uçucu yağ, *D. melanogaster* larvalarının gelişimini etkilemiştir (Krstev ve ark. 2014).

2.2.2. Preklinik güvenlik sınırları

2.2.2.1. Veriliş Yolları ve Dozu

Erişkinler: Dahilen infüzyonu halinde; 1-1.5 g drog, 150 ml sıcak su üzerine ilave edilerek, 10 dakika demlendikten sonra süzülür. İştahsızlık için yemeklerden yarım saat önce, kolagog olarak ise yemeklerden sonra günde 3 kez içilmesi tavsiye edilir. Dekoksiyonu halinde; 1-1.5 g drogdan hareketle 150 ml su kullanılarak dekoksiyon hazırlanır. Günde 3 kez içilebilir. Tentürü günde 3 defa, 10-30 damla, acı tadından dolayı bir miktar su ile seyreltilerek alınır. Sıvı ekstresi günde 3 defa 1-2 ml dozda kullanılır. Doz kişinin acıya duyarlılığına göre bireysel olarak ayarlanmalıdır.

Çocuklar: Vücut ağırlığı ile orantılı bir şekilde çocuk dozu ayarlanır.

Yaşlılar: Yetişkinler ile aynıdır (Demirezer 2011; ESCOP 2003).

2.2.2.2. Aşırı Doz

Aşırı dozda *Artemisia absinthium* preparatları kusma, şiddetli diyare, idrar retansiyonu ve sersemlik hali meydana getirir. Alkollü preparatlarının yüksek dozu veya uçucu yağının kullanılması SSS rahatsızlıklarına neden olabilir. Bu rahatsızlıklar da konvülziyonlara ve sonuçta bilinç kaybı ve ölüme yol açabilir (ESCOP 2003). 10 aylık erkek bebek soğuk algınlığı tedavisi için evde hazırlanan aşırı dozdaki *Artemisia absinthium* özünü yuttuktan sonra bebekte pelin otu zehirlenmesi sonucu şiddetli ishal ve kalıcı metabolik asidoz ile ilerleyen bir zehirlenme tablosu oluştu (Kocaoğlu ve Özel, 2014).

2.2.2.3. Akut Toksikite

%80'lik metanollü kuru ekstresinin 4 g/kg üzerindeki tek oral dozu, farelerde ölüme veya davranış değişikliğine neden olmamıştır (Gilani ve Janbaz 1995). Erkeklerde, konsantre *A. absinthium* infüzyonu alımından sonra baş dönmesi, güçsüzlük, bacaklarda titreme, sürekli idrara çıkma isteği ve peniste yanma hissi meydana geldiği belirtilmiştir. Yetişkinlerde 15 g uçucu yağının alımından sonra konvülziyonlar, çene kaslarında kramp ve ağızda köpürme belirtileri ortaya çıktığı ve bu belirtilerin 48 saat içinde kaybolduğu bildirilmiştir (Haensel ve ark. 1992).

2.2.2.4. Tekrarlanan doz toksisitesi

%50'lik etanollü kuru ekstresinin sıçanlara 7 gün süreyle 200 mg/kg dozda oral uygulanmasından sonra belirgin anti-implantasyon etki tespit edilmiş ve gebeliklerin sayısında %66'lık bir azalma meydana gelmiştir (ESCOP 2003). Ayrıca sıçanlara 13 hafta süreyle

%0,125, %0.5 veya %2'lik sulu ekstraları verildiğinde belirgin bir toksisiteye rastlanmamıştır. Bu çalışma sonucunda sıçanlarda *A. absinthium* ekstralarının ters etki göstermeyen düzeyi %2 olarak tespit edilmiştir (Muto ve ark. 2003).

2.2.2.5. Mutajenite

A. absinthium'un tentür ve sıvı ekstresi Ames mutajenite testinde 200 µl/plak'ta *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşları üzerinde herhangi bir mutajenik etki göstermemiştir.

2.2.2.6. *A. absinthium* uçucu yağı ve tuyo toksisitesi

Uçucu yağın sıçanlarda akut oral LD50'si 0.96 g/kg, tavşanlarda akut dermal LD50'si ise 5 g/kg'ın üstündedir. Topik olarak %2'lik vazelin içinde uygulanması insanda irritasyona ve hassasiyete neden olmaz. Ancak, dilüe edilmemiş yağ farelerde ve domuzlarda fototoksik etki meydana getirmiştir. Subkutan LD50 değeri farelerde α-tuyon için 87.5 mg/kg ve β-tuyon için 442.4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu da genellikle uçucu yağda oldukça yüksek miktarda bulunan α-tuyon'un, β-tuyon'dan daha toksik olduğunu göstermektedir (ESCOP 2003). α-tuyon bir konvülzan olup, farelerde intraperitoneal LD50'si yaklaşık 45 mg/kg'dır. 60 mg/kg dozda 1 dakika içinde ölüme sebep olurken, 30-45 mg/kg dozda ya ölürlere ya da iyileşirler. α-tuyonun nörotoksitesinin mekanizması son yıllarda açıklanabilmiştir. Bu madde γ-aminobütirikasit (GABA) tip A reseptörünün reverisibl modülatörüdür. Ancak, hızla metabolize ve detoksifiye olur (Höld ve ark. 2000). Tuyo içeren uçucu yağın iv uygulanması köpeklerde ve kedilerde konvülziyonlara yol açmıştır. Kedilerde minimal konvülzif doz 0.03-0.04 ml uçucu yağın 1:20'lik alkollü çözeltisidir. Tuyo'nun nörotoksik potansiyeli nedeniyle, uçucu yağın kullanılması, yiyecek ve içeceklerdeki tuyo miktarı sıkı kurallara bağlanmış veya tamamen yasaklanmıştır (ESCOP 2003). Bununla birlikte geleneksel fitoterapide kullanılan ürünlerdeki uçucu yağ miktarı zararlı etkiler göstermeyecek kadar azdır (Weiss ve Fintelmann,1999).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki materyali: Çalışma kapsamında Kayseri piyasasından pelinotu örnekleri satın alınacaktır. Standart numune, Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi'nden temin edilmiştir.

3.2. Farmakope analizleri: Örneklerin Avrupa Farmakopesi 6.0'da yer alan *A. absinthium* monografına göre standart numune ile kıyaslanarak analizleri yapılacaktır. Örneklerin mikroskopik, makroskopik özellikleri, nem miktar tayini, kül miktar tayini, asitte erimeyen kül tayini, acılık değeri ve ince tabaka kromatografisi analizleri yapılmıştır.

3.2.1. Morfolojik ve Mikroskopik inceleme

Morfolojik çalışma: Çalışmamızda standart pelin otu ve ticari satın aldığımız numunelerimiz ışık mikroskopisi altında incelendi. Çiçek durumları, çiçekleri, yaprakları, gövdesi ve dalları ayrıntılı bir şekilde incelenerek ZEISS Stereo Discovery.V8'e bağlı kamera ile fotoğraflandı. Standartla numuneler arasındaki farklar not edildi. Sonra her bir numuneden alınan 10' ar gramlık örnekler, beyaz ve temiz bir A4 kağıdı üzerine yayılarak genel görünüş, renk gibi çeşitli morfolojik özellikler açısından incelendi. Her bir numune çiçek, yaprak, gövde ve dal parçaları ve varsa yabancı maddeler şeklinde gruplandırıldı. Tartılarak yüzde hesapları yapıldı.

Mikroskopik çalışma: Her bir numunenin Avrupa Farmakopesi'nde belirtildiği gibi kloralhidrat solüsyonu R kullanılarak hazırlanan preparatları mikroskop altında incelendi. Ayrıca numunelerin Sartur reaktifi ve distile su ile de preparatları hazırlanarak mikroskop altında incelemesi yapıldı. Preparatlarda karakteristik yapılar tespit edilerek ZEISS Primostar 415500'e bağlı kamera ile fotoğraflandı.

3.2.2. Yabancı madde

Numunelerden alınan 1'er gramlık kısımlar beyaz ve temiz bir A4 kağıdına yayılarak incelendi ve numuneler içerisinde tespit edilebilen yabancı maddeler ayrılarak hassas terazide tartıldı.

3.2.3. Kurutma kaybı

Toz numunelerin 1 g kadarı darası alınmış saat camlarına alınarak 2 saat boyunca 100-105 °C' lik etüvde kurutuldu. Kurutulan numuneler tekrar tartıldı ve kurutmaya meydana gelen kütle kayıpları hesaplanıp Avrupa Farmakopesi' ne göre değerlendirildi.

3.2.4. Bütün kül miktar tayini

Sabit tartıma getirilmiş krozelere konulan yaklaşık 1' er gramlık numuneler 600 ± 20 °C de kül fırınında yakıldı.

3.2.5. Asitte erimeyen kül miktar tayini

Bütün kül tayini yapıldıktan sonra elde edilen külleri hidroklorik asit ile muamele ettikten sonra ilk işlemde olduğu gibi aynı şekilde sabit tartıma gelen krozelere konularak 600 ± 20 °C de kül fırınında yakıldı.

3.3. Ekstraksiyon ve Uçucu yağ eldesi

100 g toz edilmiş bitki örnekleri çalkalayıcı su banyosunda 37 °C' de üç gün boyunca metanol ile ekstre edilecek. Üç günün sonunda süzöntüler birleştirilip ve rotavaporda yoğunlaştırılacaktır. Tüm ekstreler liyofilize edilip, analiz anına kadar -18°C de saklanacaktır.

Uçucu yağ eldesi için Avrupa Farmakopesi'ne uygun cleveger apareyi kullanılmış ve su buharı distilasyonu yöntemi ile uçucu yağlar elde edilmiştir.

3.4. Antiamibik aktivite çalışmaları

Çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarından *Acanthamoeba castellani* ile Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden *Escherichia coli* suşları alınmış olan parazit ve bakterinin kültürü yapılarak devamlılığı sağlanacaktır.

Non-nutrient Agar

Kullanım prosedürüne göre hazırlanan EMB besiyerinde *Escherichia coli* üretilerek çoğaltılacaktır.

Acanthamoeba besiyeri

A. Page'in ameba saline solüsyonu:

1. NaCl 12,0 mg
2. MgSO₄.7H₂O 4,0 mg
3. CaCl₂ 4,0 mg
4. Na₂PO₄ 142,0 mg
5. KH₂PO₄ 136,0 mg
6. Distile su 1000,0 ml

Hazırlanan solüsyon 100 ml lik erlenlerle alınacak, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanacak ve kullanılabilecek kadar 40°C'de saklanacaktır.

B. Besiyerinin Hazırlanması

1.5 gr agar 100 ml Page's solüsyonunda ısıtılarak çözündürülecek ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak ve petri kaplarına dağıtılacaktır. Hazırlanan besiyerleri kullanılabilecek kadar 4°C'de saklanacaktır.

Kültür

Hazırlanan besiyerlerinin üzeri 0,5 ml Page solüsyonu ile sulandırılacak ve 24 saatlik *E. coli* suşu agarın üzerine yayılacaktır. *A. castellani* suşlarından alınan örnekler besiyerlerine ekilecek ve ekim yapılan parazitler 72 saat 26°C'de bekletilerek trofozoitler zedelenmeden petri kaplarından page solüsyonu ile toplanarak 1500 g de 5 dakika santrifüj edilerek yıkanacaktır.

Kist formu için ise trofozoitlerin bulunduğu besiyeri dışarıda bir hafta bekletildikten sonra kist formuna dönüşmesi sağlanmış olacaktır. Kist formları da aynı yöntemle santrifüj edilerek yıkanacaktır.

Trofozoitlerin ve kistlerin canlılığını test etmek için % 0.1 lik Eosin ve trypan blue kullanılacaktır.

Hemositometre lamında sayılarak son konsantrasyon 10 X 1105 trofozoit/ml olacak şekilde ayarlanacak ve bekletilmeden kullanılacaktır.

Bitki özütünün konsantrasyonlarının hazırlanması

Her solüsyonun konsantrasyonu 1, 2, 4, 8, 16, 32, 40, 50, 64 mg/ml olacak şekilde 10 ml hazırlanacaktır. Eppendorflara 1,5 ml çalışmada kullanılan hazırlanmış konsantrasyonlarda bitki özütü eklenecektir. Her konsantrasyon için bir 10 eppendorf tüpü hazırlanacaktır.

Solüsyonların üzerine 200 µl parazit eklenecek ve 26OC'de inkübasyona bırakılacaktır.

Parazitin canlılığı belirli saatlerde kontrol edilerek not edilecektir (Korkmaz ve Ok, 2011).

3.5. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları:

Antimikrobiyallere bakteriyel direnç tayini enfeksiyonların yönetiminin önemli bir parçasıdır. Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi standardize ve sıvı mikrodilüsyon testleri, yeni otomatik yöntemlerden önce ve hala laboratuvarlarda kullanılan klasik yöntemlerdendir. Bir antimikrobiyal bileşik, bilinen bir konsantrasyonda 6 mm'lik filtre kağıdına emdirilir, bu disk bir Mueller-Hinton (MH) agar üzerine yerleştirilir. Antimikrobiyalın agar içine nüfuzu başlar (Jorgensen & Turnidge, 2007). Bu amaçla öncesinde MH agar yüzeyine test edilecek olan mikroorganizmanın ekimi yapılmalıdır. Yaklaşık olarak 18 saat sonunda disk çevresinde oluşan inhibisyon zonu ile antimikrobiyalın direnç, orta duyarlılık ya da duyarlılık kriterine karar verilir. Geçerli yorumlama standartları Antimikrobik Disk Duyarlılık Testleri için Klinik Laboratuar Standartları Enstitüsü Performans Standartları (CLSI) ile değerlendirilebilmektedir (Clinical Laboratory Standards Institute, 2006).

Çalışmamızda pelinotu örneklerinin metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini tespit edebilmek amacıyla diskdifüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemlerini uygulanacaktır. Disk difüzyon yönteminin temeli standart mikroorganizmaların üreyebileceği agar plak besiyeri yüzeyine yayılarak yapılan ekim üzerine belirli standartlarda bitki ekstraktları emdirilmiş disklerin yerleştirilmesi, bir süre 37°C'de bekletildikten sonra disk etrafında oluşan inhibisyon bölgelerinin ölçülmesi ile mikroorganizmaların duyarlılıkları hakkında yargıya varılması esasına dayanır (Bilgehan, 2002). Ekstrelerin 2500,1250,625, 312.5 µg/ml olmak üzere Dimethyl sulfoxide (DMSO) ile sulandırılması sonucunda standartlar hazırlanır ve steril boş disklerle (6 mm) 20 µl olmak üzere her bir materyalden emdirilip diskler kuruduktan sonra disk difüzyon yöntemi uygulanır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ise bitki ekstraktlarından 5000 µg/ml' den başlanarak aynı dilüsyonlarda her bir standart bakteri suşu için CLSI standartlarına uygun olarak uygulanır.

Kullanılacak olan dirençli klinik suşlar (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumani*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas stutzeri*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*)’dur.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik ve Mikroskopik İnceleme

4.1.1. Morfolojik İnceleme Verileri

Standart pelin otu ve numuneler fakültemizde yer alan stereomikroskop kullanılarak detaylı bir şekilde incelendi. Çiçek durumları, çiçekleri, yaprakları, gövdesi ve dalları ayrıntılı bir şekilde incelenerek ZEISS Stereo Discovery V8’e bağlı kamera ile fotoğraflandı. Standart örnek ile ticari satın alınan örnekler arasındaki farklar tespit edildi.

Avrupa Farmakopesine göre; 2 yüzeyde de yoğun grimsi ve yeşilimsi yaprakları var. Yapraklar yuvarlak veya lanseolat kesimli. Bipennat ve tripennat laminası var. Çiçek taşıyan bölgenin gövdenin çapı 2.5 mm, yeşilimsi-gri yünlü ve boylamasına 5 oluktan oluşuyor. Çiçek durumu gevşek düzenlenmiş, 2-4 mm genişliğindedir. Brakteler grimsi ve yünlüdür. Dıştaki brakteler doğrusal, içtekiler ovaldir. Çiçek tablası parlak pulsudur. Çok sayıda sarı, boru şeklinli yaklaşık 2 mm uzunluğunda sarı çiçekciklerden oluşan hermafrodit çiçeği var.



Şekil 2. Çiçek durumu



Şekil 3. Brakteler



Şekil 4. Gövde ve olukları



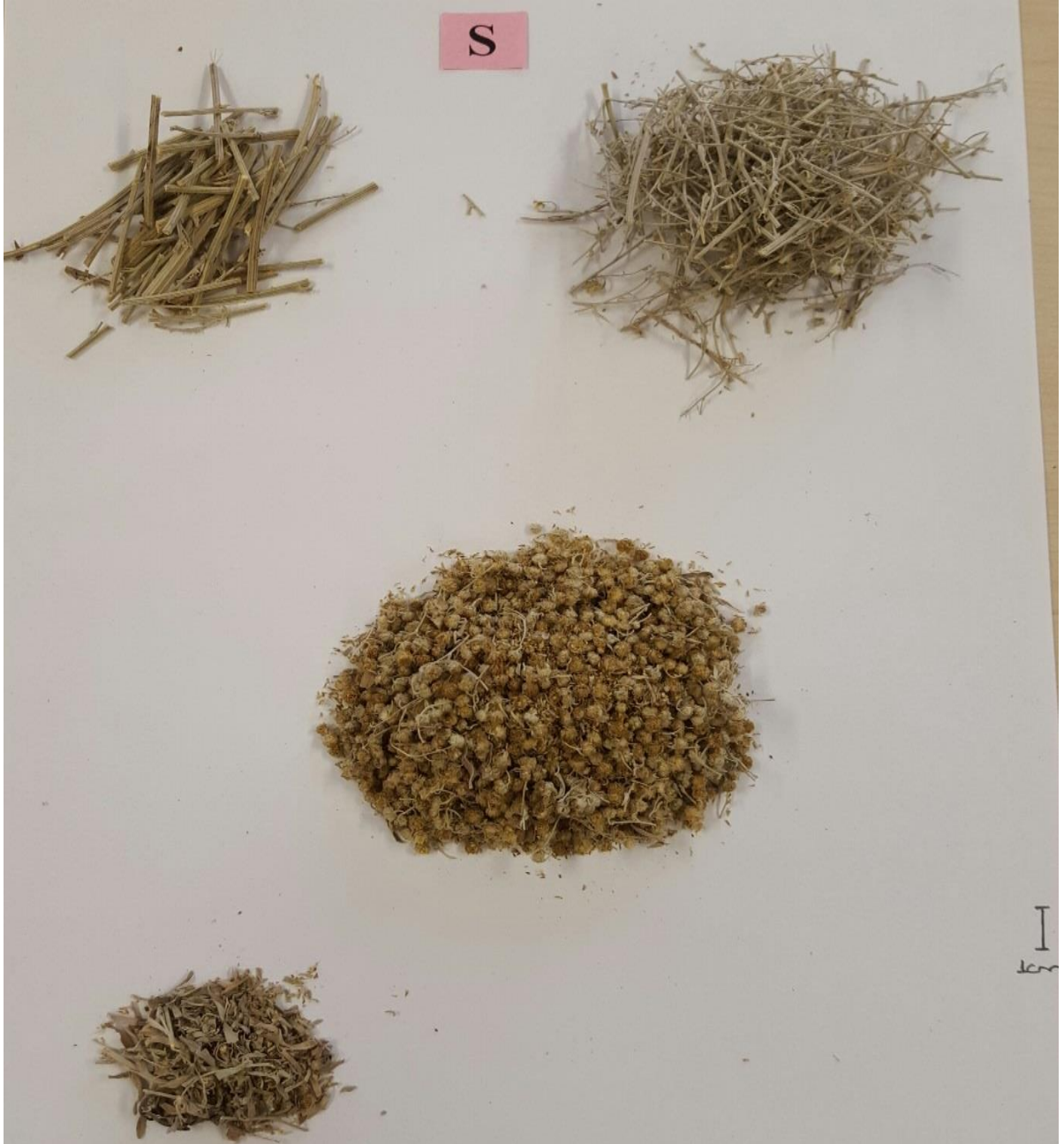
Şekil 5. Yaprak ucu



Şekil 6. Anter(a) ve ovaryumdan(o)
oluşan hermafrodit çiçek

Şekil 7. Pulsu çiçek tablası(çt)

Daha sonra örneklerimizden homojen bir şekilde 10'ar gram tartıldı ve A4 kağıdı üzerine yayıldı. Yaprak, çiçek, kalın sap, ince sap ve yabancı madde olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Yaptığımız incelemenin nitel ve nicel sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de görülmektedir.



Şekil 8. Standart Pelin Otu

28



Şekil 9. Ticari satın alınan bir numaralı pelin otu örneği



Şekil 10. Ticari satın alınan iki numaralı pelin otu örneği

29



Şekil 11. Ticari satın alınan üç numaralı pelin otu örneği



Şekil 12. Ticari satın alınan dört numaralı pelin otu örneği



Şekil 13. Ticari satın alınan beş numaralı pelin otu örneği



Şekil 14. Ticari satın alınan altı numaralı pelin otu örneği

Tablo 1. Morfolojik inceleme sonuçları

KOD	ÖRNEKLERİN GENEL GÖRÜNÜŞÜ İLE İLGİLİ BULGULAR
S	Standart örnek taze olduğu için kokulu ve görünümü düzgündü. Paketli, demet halinde değildi. Çiçekleri numunelerin hepsinden küçük, dağılmamıştı. Gövdesi diğer satın alınan örneklerden daha ince ve rengi yeşilimsiydi. İnce sapları diğerlerine göre daha yumuşaktı. Yaprakları parçalanmamış, yeşil ve tüylüydü. Ağırlıklı olarak çiçekten oluşuyordu. Avrupa Farmakopesi'nde <i>A. absinthium</i> için belirtilen morfolojik özellik tanımına uygundu.
A1	Numunenin büyük bir kısmı yapraktan oluşuyordu ve çiçek çok azdı. Yabancı madde tespit edildi. Çiçek durumu parçalanmıştı. Ovaryumun kenarında standart numune de olmayan böcek larvalarına benzer yapılar tespit edildi. Hermafrodit çiçeğin çiçekcikleri standartta alt kısmı yeşil üst kısmı sarıyken bu örnek genel olarak sağlıklı görünümdeydi. Numune uzun süre beklemiş gibi görünüyordu.
A2	Numune demet halinde idi. Genel görünümü canlı ve taze değildi. Ağırlıklı olarak çiçekten oluşuyordu. Yaprakları çok azdı, yeşilliğini yitirmişti. Yabancı madde tespit edilmedi. Çiçekleri standarta göre çok büyük, daha sarıydı. Çiçekciklerin üzerinde benekler vardı. Numune tozluysa.
A3	Numunelerin içinde en karışık toz gibi olan buydu. Çiçek bütün halinde yok denecek kadar azdı. Çiçek parçalandığı için çiçekcikler tüm numuneye yayılmıştı. Yapraklar parçalanmış ve yeşil rengini yitirmişti. Örnek ağırlıklı olarak yapraktan oluşuyordu. Yabancı madde tespit edildi.
A4	Numune paketli. Sap ve yapraktan oluşuyordu. Çiçek yok denecek kadar azdı. Çiçeklerin sadece reseptakulumu bulunurken, çiçekcikleri dağılmıştı. Yapraklar parçalı. Yabancı madde tespit edildi.
A5	Örnek demet halinde idi. Görünümü çok eski tarihli toplanmış olabileceğini düşündürdü ve sağlıklı görünüyordu. Çiçekciklerin ve ovaryumun kenarında kahverengi benekler vardı.
A6	Numune paketli, demet şeklinde ve uzun süre beklemiş gibiydi. Ovaryumu ve çiçekcikleri benekli. Yabancı madde tespit edilmedi. Örnek ağırlıklı olarak çiçekten oluşuyordu. Çiçeklerin çoğunun çiçekciği dökülmüştü. Yaprakların yeşil rengi solmuştu.

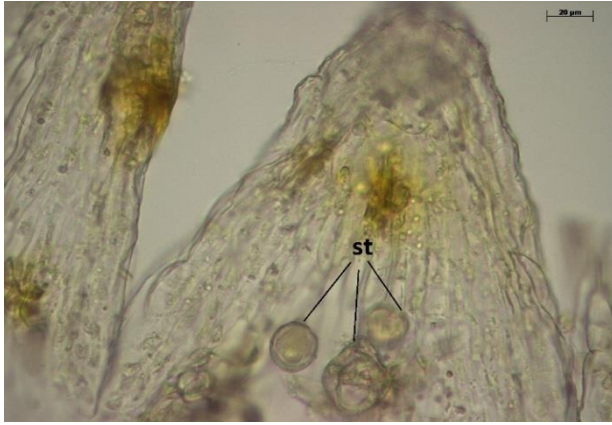
Tablo 2. Pelin otu örneklerinin morfolojik olarak incelenmesi

KOD	GENEL GÖRÜNÜM	YAPRAK	ÇİÇEK	RENK	NUMUNE İÇERİĞİ
S	Sağlıklı, taze, heterojen, çiçek yoğunlukta, yabancı maddesi yok	Grimsi-yeşil renkte, iki yüzü de ipeksi tüylü, lanseolat şekilli, subakut, pennat damarlanma	Kapitulum küremsi, korolla sarı, bütün halde	sarı-yeşil	%50 çiçek %12 yaprak %17 kalın sap %21 ince sap
A1	Kuru, mat, eskimiş heterojen, yaprak yoğunlukta	Yeşil-kahverengi, tüylü, lanseolat, bipennat damarlanma	Sarı, parçalanmış ve çiçekcikleri dağılmış, kuru görünümlü, az sayıda	sarı	%12 çiçek %55 yaprak %14 kalın sap %14 ince sap %4 kirlilik
A2	Demet şeklinde, canlılığını yitirmiş, yabancı madde yok çiçek yoğunlukta	Kahverengi, tüylü lanseolat, pennat damarlanma, tepesi akut, az sayıda	Sarı, büyük, kurduğundan çabuk dağılıyor halde, çok sayıda	sarı	%56 çiçek %14 yaprak %19 kalın sap %11 ince sap
A3	Numune toz halde, yaprak yoğunlukta, sağlıklı görünümde	Yapraklar parçalanmış halde, kahverengi, çok sayıda, şekilleri net değil	Çiçek bütün halinde yok hep parçalanmış, az sayıda	sarı	%15 çiçek %48 yaprak %14 kalın sap %14 ince sap %9 kirlilik
A4	Numune tamamen sap ve yapraktan oluşuyor, sağlıklı, uzun süre beklemiş	Yapraklar hep parçalı, şekilleri net değil, kahverengi	Çiçeğin sadece reseptakulumu kalmış, tamamen parçalanmış, sarı	sarı	%14 çiçek %31 yaprak %24 kalın sap %21 ince sap %10 kirlilik
A5	Demet şeklinde, cansız görünümde, çiçek yoğunlukta, yabancı madde yok	Yeşil-kahve, lanseolat ve subakut şekilli, pennat damarlanma, tüylü	Kurumuş, cansız, çok sayıda, rengi sarıdan turuncuya dönmüş	sarı	%50 çiçek %13 yaprak %20 kalın sap %17 ince sap
A6	Demet şeklinde, eskimiş, çiçek ağırlıkta, yabancı madde yok	Kahverengi, kurumuş parçalanmış, şekilleri net değil	Kurumuş, cansız, parçalanmış, çiçekcikleri dağılmış	sarı	%48 çiçek %13 yaprak %20 kalın sap %19 ince sap

4.1.2. Mikroskopik inceleme verileri

Avrupa Farmakopesi'ne göre Kloral hidrat R çözeltisi kullanarak mikroskop altında incelenen toz numune şu diagnostik karakterleri gösterir: 1-5 küçük hücreden oluşan üniseriate kısa saplar, dik şapkalı, uzun, sona doğru gittikçe incelen dalgalı terminal hücreden oluşan çok sayıda T şekilli trikomlar(örtü tüyü) var. Dalgalı veya kıvrımlı epidermisten parçası, anomositik stoma, kısa-2 hücreli biseriate sap ve 2-4 hücreden oluşan biseriate baştan oluşan salgı tüyleri var. Kalsiyum okzalat kristal kümelerinden oluşan tüp şeklinde ışınlı çiçekcikleri var. 1-1.5 mm uzunluğunda, silindirik ve ince duvarlı terminal hücrelerden oluşan, küçük hücreli saptan oluşan brakteler var. 30 µm çapında, 3 sporlu, ince kabarcıklı, ekzin, basık, küresel polen taneleri var. Lif grupları, spiral ve halka şeklinde kalınlaşmış küçük damarlar, kenarları çukurlu geniş damarlar, orta derecede kalınlaşmış çukur duvarlı parenkima var.

Pelin otuna ait mikroskopik görüntüler **Şekil 17-28**'de görülmektedir.



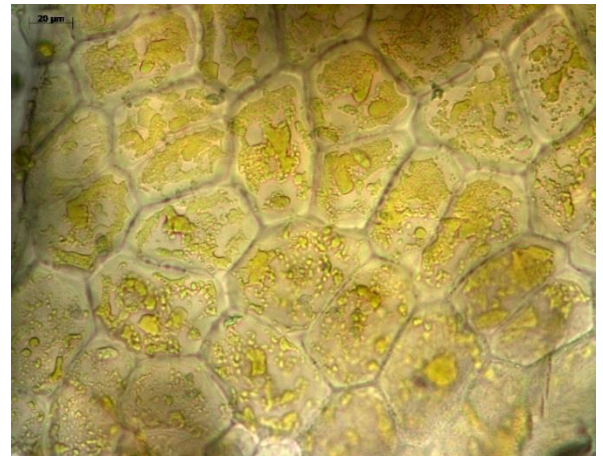
Şekil 15. Anter apendiksi ve salgı tüyleri(st)



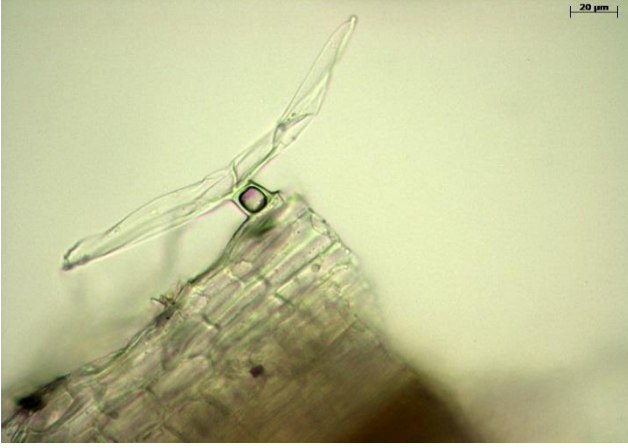
Şekil 16. Salgı tüyleri (st)



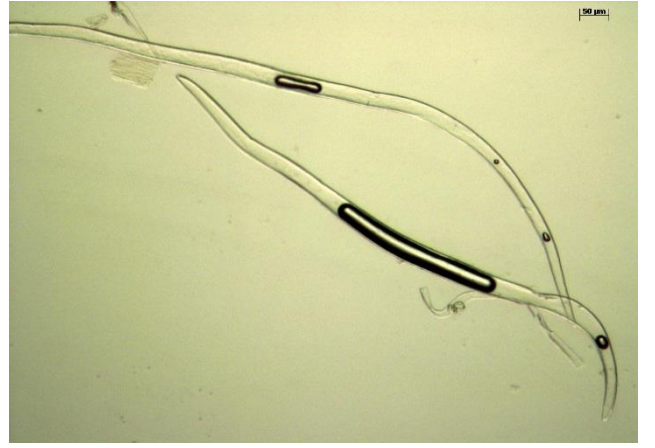
Şekil 17. Odun borusu



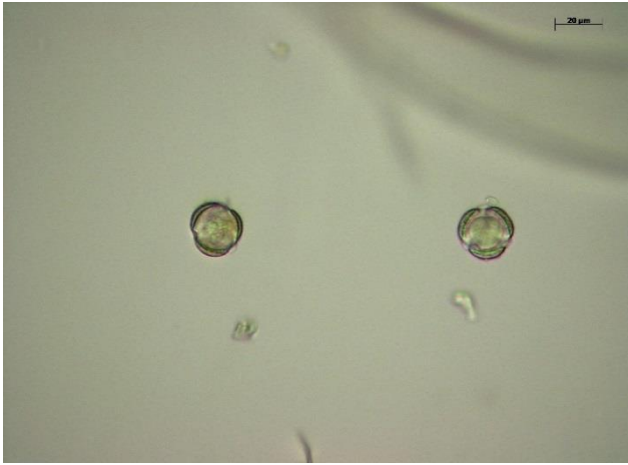
Şekil 18. Yağ damlaları



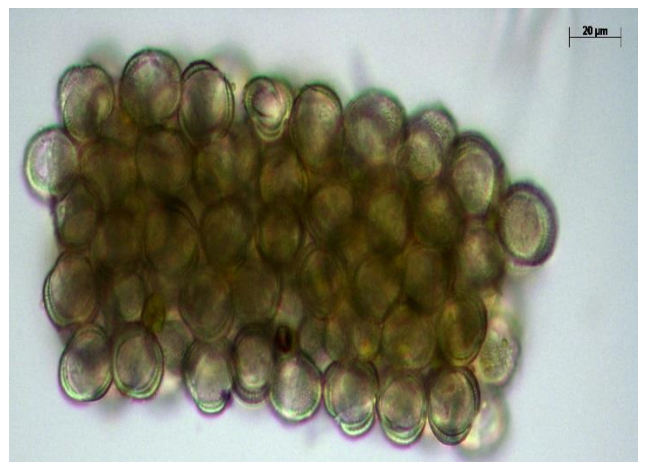
Şekil 19. T tüyü



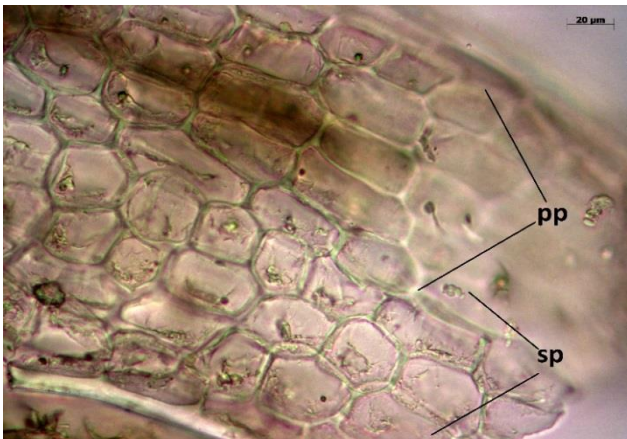
Şekil 20. Uzun örtü tüyü



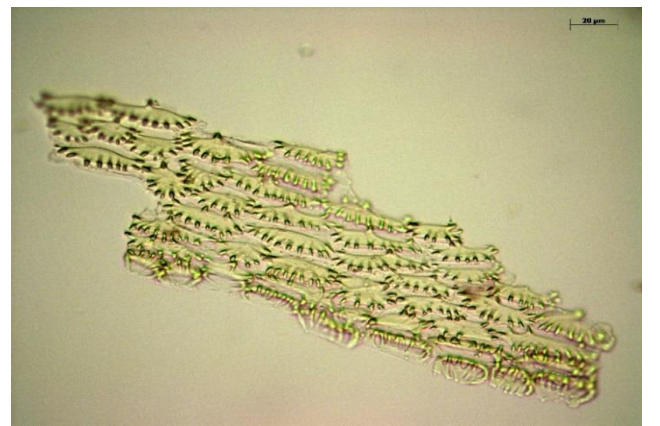
Şekil 21. Polen



Şekil 22. Polen Kümeleri



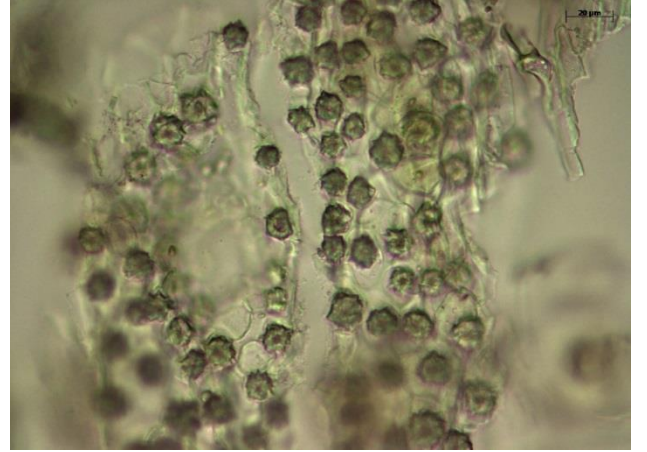
Şekil 23. Sünger (sp) ve palizat (pp)



Şekil 24. Alt epidermis parenkiması



Şekil 25. Stigma

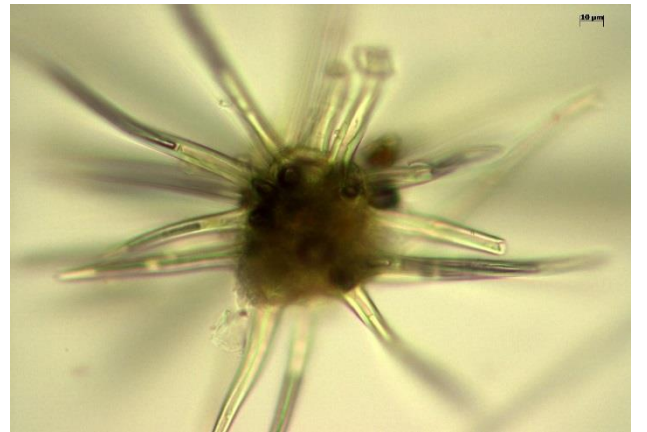


Şekil 26. Druzlar

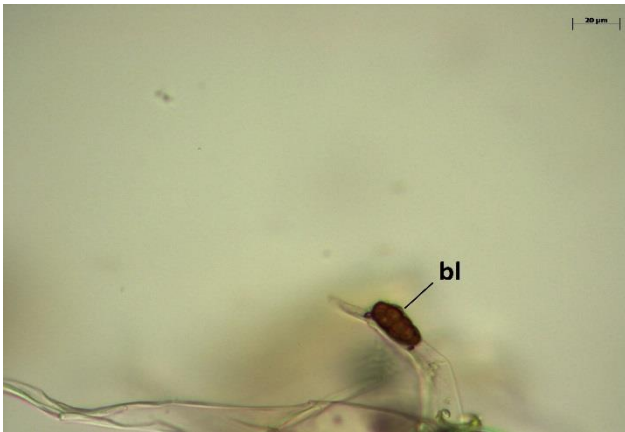
Numunelerde rastlanan pelin otuna ait olmayan mikroskobik görüntüler Şekil 27-30'de gösterilmiştir:



Şekil 27. A1 numunesine ait
kalkan örtü tüyü



Şekil 28. A4 numunesine ait
demet örtü tüyü



Şekil 29. A3 numunesine ait larva (bl)



Şekil 30. A4 numunesine ait larva (bl)

4.2. Yabancı Madde Tayini

Numunelerden alınan 10'ar gramlık kısımlar beyaz ve temiz bir A4 kağıdına yayılarak incelenen numuneler içerisindeki yabancı madde miktarı bulundu (Tablo 3).

Tablo 3. Numunelerin yabancı madde miktarları

NO	Yabancı Madde Miktarı (g)	Yabancı Madde Miktarı (%)
S	-	-
A1	0,36	3,49
A2	-	-
A3	0,99	9,36
A4	1,07	10,68
A5	-	-
A6	-	-

4.3. Kurutma Kaybı

Avrupa Farmakopesi'ne uygun olan droglar için kurutma kaybı oranı maksimum % 10 olmalıdır. Yapılan deney sonucu A3, A4, A5 numunelerinin farmakopeye uymadığı görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4. Numunelerin kurutma kaybı sonuçları

NO	Nem Miktarı (g)	Nem Miktarı (%)
S	0,009	9 ± 0.01
A1	0,03	3 ± 0.02
A2	0,02	2 ± 0.02
A3	0,12	12 ± 0.02
A4	0,11	11 ± 0.02
A5	0,12	12 ± 0.01
A6	0,05	5 ± 0.04

*Deneyler 3 kez tekrar edilmiş olup, standart sapmalar hesaplanmıştır.

4.4. Bütün Kül Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesi'ne uygun olan droglar için kurutma kaybı oranı maksimum % 12'dir.Yapılan deney sonucu bütün numunelerdeki bütün kül miktarı %12'nin altında bulunmuştur (Tablo 5).

Tablo 5. Numunelerin bütün kül miktarları

NO	Kül Miktarı (g)	Kül Miktarı (%)
S	0,0603	6,03 ± 0.001
A1	0,0874	8,74 ± 0.001
A2	0,0723	7,23 ± 2,89
A3	0,0764	7,64 ± 5,5
A4	0,0588	5,88 ± 0.001
A5	0,0598	5,98 ± 0.002
A6	0,0592	5,92 ± 0.001

*Deneyler 3 kez tekrar edilmiş olup, standart sapmalar hesaplanmıştır.

4.5. Asitte Erimeyen Kül Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesi'nde asitte erimeyen kül miktarı tayininde oluşan kül miktarı maksimum % 1 olmalıdır. Bütün kül miktar tayini sonrası ortaya çıkan külleri asit ile muamele edildi ve tekrar kül fırınında yakıldı. Krozeler sabit tartıma getirildi. Bu deney sonucunda ortaya çıkan yüzdelerden hiçbiri Avrupa Farmakopesi'nde belirtilen aralıkta değildir (Tablo 6).

Tablo 6. Numunelerin asitte erimeyen kül miktarları

NO	Kül Miktarı (g)	Asitte Erimeyen Kül Miktarı (g)	Kül Oranları (%)
S	0,0603	0.0056	9,29 ± 0.001
A1	0,0874	0,0086	9,84 ± 0.002
A2	0,0723	0,0078	10,79 ± 0.003
A3	0,0764	0,0073	9,55 ± 0.001
A4	0,0588	0,0072	12,24 ± 0.005
A5	0,0598	0,0061	10,2 ± 0.001
A6	0,0592	0,0044	7,43 ± 0.007

*Deneyler 3 kez tekrar edilmiş olup, standart sapmalar hesaplanmıştır.

4.6. Antiamibik aktivite sonuçları

Tablo 7. *A. absinthium* standart örneğin metanol ekstresi ve uçucu yağının antiamibik aktivite sonuçları.

Doz (mg/ml)	1. gün		2. gün		3. gün		4. gün		5. gün	
	ABM	ABU	ABM	ABU	ABM	ABU	ABM	ABU	ABM	ABU
32.0	5.5 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁶	7.5 x 10 ⁶	1.0 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	0.5 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	0.5 x 10 ⁶	12.5 x 10 ⁶
16.0	9.5 x 10 ⁶	6.5 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	8.5 x 10 ⁶	3.5 x 10 ⁶	5.5 x 10 ⁶	1.5 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁶	0
8.0	13.5 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	13 x 10 ⁶	5.5 x 10 ⁶	12 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶
4.0	16 x 10 ⁶	3.5 x 10 ⁶	15.5 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	7.5 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	5.5 x 10 ⁶	2.5x10 ⁶	3.0 x 10 ⁶	9.5 x 10 ⁶
2.0	18 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	17 x 10 ⁶	12 x 10 ⁶	8.5 x 10 ⁶	3.5 x 10 ⁶	7.5 x 10 ⁶	1.5x10 ⁶	4 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶
1.0	18.5 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	17.5 x 10 ⁶	24 x 10 ⁶	9.5 x 10 ⁶	8.5 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	0.5x10 ⁶	4.0 x 10 ⁶	13.5 x 10 ⁶

ABM: *A. absinthium* metanol ekstresi; **ABU:** *A. absinthium* uçucu yağı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Kayseri şehir merkezinden ticari olarak pelin otu adı altında satılan 6 adet örnek ve standart numunenin Avrupa Farmakopesi 6.0'a uygunluğu araştırılmıştır. Ayrıca standart numunenin anti-amibik ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Ticari satın alınan pelin otu numunelerinden A4 ve A6 pakette diğerleri açıkta satılmaktaydı. Satış sırasında edinilen bilgilerine göre şeker hastalığında, iştah açıcı, kurt düşürücü ve mikrop öldürücü olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir.

Morfolojik çalışmalarda öncelikle genel bir gözlem yapılmıştır. Standart olan pelin otunun numunelere göre çiçekleri daha küçük ve dağılmamış halde, gövde sapları daha ince ve rengi yeşilimsi, yaprakları parçalanmamış ve yeşil rengini koruyordu. Numunelerin ise çiçekleri büyük, canlılığını yitirmiş ve çoğu dağılmış haldeydi. Yaprakları parçalanmış ve kahverengileşmişti. Sonuçlar Tablo 1' de ayrıntılı bir şekilde belirtilmiştir.

Genel gözlemlerin ardından örnekler çiçek, yaprak, kalın-ince sap, kirlilik şeklinde gruplandırıldı ve çıkan sonuçlar Tablo 2'de detaylı bir şekilde belirtilmiştir. Bu analiz sonucu % oranlara bakıldığında standart numuneye en yakın A5 ve A6 numunelerinin olduğu görüldü. A2, A5 ve A6 gibi demet şeklinde olan numunelerde kirlilik görülmezken diğer numunelerde kirliliklere rastlandı. Bu durum toz halinde satılan numunelerin kirliliğe açık halde olduğunu göstermektedir.

Avrupa Farmakopesi'ne göre pelin otu droğunda görülmesi gereken karakteristik morfolojik yapılar şunlardır: T şekilli örtü tüyü, dalgalı veya kıvrımlı epidermis, biseriate ve 2-4 hücreli salgı tüyü, kalsiyum okzalit kristalleri, 3 porlu-ekzin polen taneleri, druzlar, salgı tüyü taşıyan anter apendiksi'dir.

Mikroskopik inceleme sonucu pelin otunda genel olarak bahsedilen yapılar Şekil 15-26'da gösterilmiştir. Ağırlıklı olarak görülen karakteristik şekil T şekilli örtü tüyüdür. A1, A3 ve A4 numunelerinin yabancı maddeleri incelendiğinde A4 numunesinde demet şeklinde örtü tüyüne ve böcek larvalarına, A1 numunesinde kalkan örtü tüyüne ve A3 numunesinde de böcek larvalarına rastlandı (Şekil 27-30). Bu da numunelere başka bir türün karıştığını gösterir. Böcek larvalarının görülmesi ise sağlıksız koşullarda bekletildiğinin göstergesidir.

Kurutma kaybı Avrupa Farmakopesine göre maksimum %10 olmalıdır. Tablo 4'de görüldüğü gibi A3, A4 ve A5 numunelerinin farmakopeye uymadığı görülmüştür.

Bütün kül miktar tayininde farmakopeye göre maksimum %12 olmalıdır. Tablo 5'da görüldüğü gibi tüm örnekler farmakopeye uymaktadır.

Asitte erimeyen kül miktar tayininde farmakopeye göre maksimum %1 olmalıdır. Tablo 6’de görüldüğü gibi hiçbir örnek farmakopeye uymamaktadır.

Antiamibik aktivite çalışmalarında *A. absinthium* uçucu yağlarının metanol ekstrelerine kıyasla *A. castellani* paraziti üzerinde daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo 7). Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında; *A.absinthium* uçucu yağı *P. aeruginosa* karbapenem dirençli suş dışında diğer klinik suşlara karşı yüksek aktivite göstermiştir. Metanol ekstresinin ise *P. aeruginosa* dışında sadece *K. pneumoniae* karbapenem dirençli suşa karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Avrupa Farmakopesine (6.0) göre pelin otu için uçucu yağ verimi 2 ml/kg’ın altına düşmemelidir. A₁, A₃ ve A₅ numuneleri hariç diğer numunelerin uçucu yağ verimlerinin Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun olduğu görülmüştür.

Yaptığımız çalışma sonucunda elde edilen bu tespitler, ticari satılan pelin otu örneklerinin genel bir değerlendirme yapıldığında Avrupa Farmakopesi’nde belirtilen bilimsel drog tanımına uygun olmadığını ve halk sağlığı açısından da uygun nitelikler taşımadığını göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Baron E J, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (ed.), Manual of clinical microbiology, 9th ed. ASM Press,
- Baytop T.Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi(Geçmişte ve Bugün).İlaveli 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,1999.
- Bilgehan H. Antimikrobikler ve Mikroorganizmalar. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi III. Baskı. 2002; 145-86.
- Bisset N.G. Max Wichtl’s Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, CRC Press, Boca Raton, FL,1994
- Bora K.S, Sharma A. Neuroprotective effect of *Artemisia absinthium* L. on focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. Journal of Ethnopharmacology 2010;129: 403–409.
- Caner A, Doskaya M, Degirmenci A ve ark. Comparison of the effects of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia absinthium* growing in western Anatolia against trichinellosis (*Trichinella spiralis*) in rats(sıçanlarda trişinolozis. Experimental Parasitology 2008;119:173-179

- Chapuis Y. Absinthe rehabilitated. Bulletin De L Academie Nationale De Medecine 2013;197:515-521
- Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard-9th ed. CLSI document M2-A9. 26:1. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2006.
- Craciunescu O, Constantin D, Gaspar A et al. Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia absinthium* L. ethanolic extracts. Chemistry Central Journal 2012;6.
- Davis P.H, Calen J, Coode M.J.E. Flora of Turkey and The East Aegean Island, Edinburgh University Press, 1975; 5: 318-319
- Demirezer LÖ. FFD Monografları Tedavide Kullanılan Bitkiler (2.Baskı) MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, 2011.
- Dülger B, Ceylan M, Alitsaous M. *Artemisia absinthium* L. (Pelin)'un Antimikrobiyal Aktivitesi. Tr. J. of Biology 1999;23: 377–378
- ESCOP Monographs, 2. ed., Thieme, New York, 2003.
- European Pharmacopoeia 6.0, Published in accordance with the convention on the elaboration of a European Pharmacopoeia (European Treaty series No. 50.) European Directorate for the quality of Medicines and Health Care, Council of Europe, Strasbourg, 2008; Vol.2:3228-3229
- Fiamegos Y.C, Kastritis P.L, Exarchou V, Han H et al. Antimicrobial and Efflux Pump Inhibitory Activity of Caffeoylquinic Acids from *Artemisia absinthium* against Gram-Positive Pathogenic Bacteria. PLoS ONE 2011;6
- Gilani A.H, Janbaz K.H. Preventive and Curative Effects of *Artemisia absinthium* on Acetaminophen and CC14-induced Hepatotoxicity. Gen pharm 1995;26:309-315.
- Godara R, Parveen S, Katoch R et al. Acaricidal activity of ethanolic extract of *Artemisia absinthium* against *Hyalomma anatolicum* ticks. Journal Citation Reports 2015;65: 141-148.
- Haensel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G et al. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Vol. 4,Drogen A-D, Springer Verlag, Berlin,1992
- Hasani O, Rakhshande H, Soukhtanloo M, Noruzy A, et al. *Artemisia absinthium*: An appetite inducer or suppressor? : A case–control study on rats. Clinical Biochemistry 2011;44: 85.

- Höld K.M, Sirisoma N.S, Ikeda T et al. α -thujone (the active component of absinth): γ -aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000;97:3826-3831.
- Iqbal A, Tariq K.A, Wazir V.S, Singh R. Antiparasitic efficacy of *Artemisia absinthium*, toltrazuril and amprolium against intestinal coccidiosis in goats. J Parasit Dis 2013; 37:88–93.
- Jorgensen J.H. and Turnidge J. D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, In P. R. Murray,
- Joshi RK. Volatile composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing in Western Ghats region of North West Karnataka, India. Pharmaceutical Biology 2013;51: 888-892.
- Juteau F, Jerkovic I, Masotti V et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France, Planta Medica 2003;69:158-161.
- Kharoubi O, Slimani M, Krouf D et al. Role of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract on oxidative stress in ameliorating lead induced haematotoxicity. African Journal Of Traditional Complementary And Alternative Medicines 2008;5: 263-270.
- Khattak S.G, Gilani S.N, Ikram M. Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 1985;14:45–51.
- Kocaoglu C, Ozel A. Persistent metabolic acidosis and severe diarrhoea due to *Artemisia absinthium* poisoning. Journal Of The Pakistan Medical Association 2014;64: 1081-1083.
- Kostadinovic L, Levic J, Popovic S et al. Dietary inclusion of *Artemisia absinthium* for management of growth performance, antioxidative status and quality of chicken meat. European Poultry Science 2015;79:100-110.
- Krebs S, Omer TN, Omer B. Wormwood (*Artemisia absinthium*) suppresses tumour necrosis factor alpha and accelerates healing in patients with Crohn's disease - A controlled clinical trial. Phytomedicine 2010; 17:305-309.
- Krstev M, Jovanovic B, Jovic J et al. Antimicrobial, Antioxidative, and Insect Repellent Effects of *Artemisia absinthium* Essential Oil. Planta Medica 2014;80:1698-1705.
- Krstev M, Jovanovic B, Jovic J et al. Antimicrobial, Antioxidative, and Insect Repellent Effects of *Artemisia absinthium* Essential Oil. Planta Medica 2014;80:1698-1705

- Lachenmeier D.W, Emmertb J, Kuballaa T, Sartorb G. Thujone—Cause of absinthism? Forensic Science International 2006;158: 1–8
- Li YS, Zheng M, Zhai X et al. Effect Of *Gymnema Sylvestre*, *Citrullus Colocynthis* And *Artemisia absinthium* On Blood Glucose And Lipid Profile In Diabetic Human. Acta Poloniae Pharmaceutica 2015;72: 981-985.
- Lutz D.L, Alviano D.S, Alviano C.S, Kolodziejczyk P.P. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. Phytochemistry 2008;69: 1732–1738.
- Mahmoudi M, Ebrahimzadeh M.A, Ansaroudi F et al. Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. African Journal Of Biotechnology 2009;8: 7170-7175.
- Martínez-Díaz RA, Ibáñez-Escribano A, Burillo J. Trypanocidal, trichomonocidal and cytotoxic components of cultivated *Artemisia absinthium* Linnaeus (Asteraceae) essential oil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2015; 110(5): 693-699
- Moslemi H.R, Hoseinzadeh H, Badouei M.R et al. Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* Against Surgical Wounds Infected by *Staphylococcus aureus* in a Rat Model. Indian J Microbiol 2012;52:601–604.
- Muto T, Watanabe T, Okamura M et al. Thirteen-week repeated dose toxicity study of wormwood extracts in rats. J.Tox. Sci. 2003;28:471-478.
- Rodino S, Cornea CP, Butu A. Control of Tomato Late Blight with *Artemisia absinthium* Extracts. Acta Horticulturae 2014;1041:227-230.
- Saxena M, Shukla S. Reversal of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury by Aqueous Extract of *Artemisia absinthium* in Sprague-Dawley Rats. Journal of Environmental Pathology Toxicology And Oncology 2012;31: 325-334.
- Sengul M, Ercisli S, Yildiz H ve ark. Antioxidant, Antimicrobial Activity and Total Phenolic Content within the Aerial Parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. Iranian Journal Of Pharmaceutical Research 2011;10:49-55.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. Farmasötik Botanik (3. baskı), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 2007:319-322
- Tariqa K.A, Chishtia M.Z, Ahmada F, Shawlb A.S. Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes. Veterinary Parasitology 2009;160:83-88.

- Topuz E, Erler F. Bioefficacy of some essential oils against the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Fresenius Environmental Bulletin 2007;16: 1498-1502.
- Triantafyllidi, Xanthos, Papalois A, Triantafillidis JK. Herbal and plant therapy in patients with inflammatory bowel disease. Annals Of Gastroenterology 2015;28: 210-220.
- Washington, D.C. , 2007; 1152-1172. Parazitolojide Laboratuar. (Eds: Korkmaz M, OK ÜZ). T Parazitol Dern Yay No: 23: 145 (2011).
- Weiss R.F, Fintelmann V. Lehrbuch der Phytotherapie, Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 1999
- Yıldız K, Başalan M, Duru Ö, Gökpınar S. Antiparasitic Efficiency of *Artemisia absinthium* on *Toxocara cati* in Naturally Infected Cats. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2011; 35: 10-4.
- Zeng K-W, Liao L-X, Song X-M et al. Caruifolin D from *artemisia absinthium* L. inhibits neuroinflammation via reactive oxygen species-dependent c-jun N-terminal kinase and protein kinase c/NF-kappa B signaling pathways. European Journal of Pharmacology 2015;767: 82-93.