

T.C.YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

**BAZI TİCARİ SÖĞÜT ÖRNEKLERİNİN  
AVRUPA FARMAKOPESİNE UYGUNLUĞUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. NESLİHAN USLU

DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. ENGİN CELEP

İSTANBUL  
Ocak 2018

## TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program : Fitoterapi Yüksek Lisans Programı

Tez Başlığı : Bazı ticari söğüt örneklerinin avrupa farmakopesine uygunluğunun araştırılması

Tez Sahibi : Neslihan Uslu

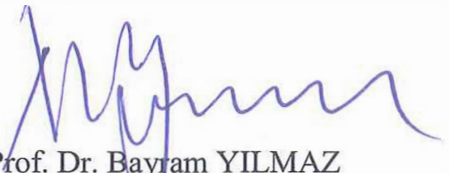
Sınav Tarihi : 12.01.2018

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Erdem Yeşilada	
Tez danışmanı:	Yrd. Doç. Dr. Engin Celep	
Üye:	Yrd. Doç. Dr. Hilal Bardakçı Altan	

### ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 25./01./2018.. tarih ve 2018/02-16..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

NESLİHAN USLU

## ÖZET

*Salix* türleri (Salicaceae), içerdikleri salisin nedeniyle, insanlık tarihi boyunca geleneksel tıp alanında çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. Piyasada söğüt kabuğu ve yaprakları gibi ürünler satılmaktadır. Bu çalışma, aktar ve baharatçılarda “söğüt kabuğu” adı altında satılan, altı farklı söğüt kabuğu örneğinin Avrupa Farmakopesi 7.0 esas alınarak araştırılmasını içerir.

Her söğüt kabuğu materyali üzerinde makroskobik ve mikroskobik incelemeler, yabancı madde tayini, kurutmada kayıp, toplam kül tayini, teşhis ve tayin deneyleri ayrıca İTK ve YPİTK analizleri yapılmıştır. Her deney sonucunda *Salicis cortex* materyallerinden elde edilen bulguların Avrupa Farmakopesi 7.0’da yer alan “Willow bark (*Salicis cortex*)” monografındaki kriterlere uygunluğu İTK yöntemiyle standart madde ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu testler sonucunda, incelenen altı adet materyalden hiçbirinin farmakopeye uygun bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışma bitkisel ürünlerin tedarik adresi olarak bilinen baharatçıların güvenilirliğinin sorgulanması ve satılan ürünlerin denetlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Salicis cortex*, Willow bark, salisin, Avrupa Farmakopesi, monograf

## SUMMARY

Due to their salicin content, the *Salix* species (Salicaceae) have been utilized as a treatment of various disorders in the traditional medicine field through human history. Products are sold under the name of willow bark and leaves on the market, This study includes the investigation of six different willow bark samples sold under the name of “Willow bark” according to the criteria defined in the European Pharmacopoeia 7.0.

Macroscopic and microscopic examinations, foreign matter determination, loss on drying testing, total ash determination, identification reactions as well as TLC and HPTLC analysis. Experiments were performed on each willow bark sample. The results of each experiment were evaluated by comparing the results obtained from the *Salicis cortex* materials. The Willow bark was compared with the reference standard by thin layer chromatography. The results indicated that none of the six materials examined were found to be suitable for pharmacopoeia. This study reveals the question of the reliability of spice sellers, which are perceived as the supply center for herbal products, and the necessity of supervising the products sold.

Key Words: *Salicis cortex*, Willow bark, salicin, European Pharmacopoeia, monograph

## TEŞEKKÜR

İlk olarak yüksek lisansa başlamam ve tezimi tamamlama sürecinde rehberlik, destek, sabır ve anlayışı için Prof. Dr. Erdem Yeşilada'ya teőekkürlerimi sunmak isterim.

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen, beni destekleyen, her türlü bilimsel deneyimlerini benimle paylaşan, değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Engin Celep'e teőekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımı ve araştırmalarımı yapmak için her türlü imkânı sağlayan Yeditepe Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı'na, çalışmalarımnda bitmek bilmeyen sorularımıla başvurduğum hocalarıma, akademik ve idari personele çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
BEYAN	III
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
KISALTMALAR	X
RESİMLER LİSTESİ	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ	XII
TABLolar LİSTESİ	XII
EKLER LİSTESİ	XIII
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	2
2.1. Botanik bilgiler	2
2.1.1. Salicaceae familyasının bitki sistematığındeki yeri	3
2.1.2. Salicaceae familyasının genel özellikleri	3
2.1.3. <i>Salix</i> L. cinsinin genel özellikleri	4
2.1.4. <i>Salix</i> L. türlerine ait tayin anahtarı	8
2.1.4.1. Steril türlerdeki tayin anahtarı	9
2.1.4.2. Erkek türlerdeki tayin anahtarı	9
2.1.5. Avrupa Farmakopesi 7.0'da geçen <i>Salix</i> türlerin özellikleri	9
2.1.5.1. <i>S. fragilis</i> L.,	9
2.1.5.2. <i>S. amplexicaulis</i> ( syn: <i>S.purpurea</i> )	10
2.1.6. <i>Salix</i> L. türünün yayılışı ve habitatu	10
2.1.7. Tarihçesi	11
2.2. Fitokimyasal özellikler	12
2.3. Biyoaktivite çalışmaları	15
2.3.1. Analjezik ve antiinflamatuvar aktivite çalışmaları	15
2.3.2. Osteoartrit aktivite çalışmaları	19
2.3.3. Kilo kontrolü ve spor performans aktiviteleri çalışmaları	20
2.3.4. Antioksidan aktivite çalışmaları	22
2.3.5. Antineoplastik aktivite çalışmaları	23
2.3.6. Antipiretik aktivite çalışmaları	24
2.3.7. Antikoagulan aktivite çalışmaları	25
2.3.8. Migren üzerine aktivite çalışmaları	25

2.4. Kullanılış	26
2.4.1. Tıbbi kullanımı	26
2.4.2. Türkiye’deki <i>Salix</i> türlerinin geleneksel kullanımı	26
2.4.3. Kontrendikasyonlar	28
2.4.4. Uyarılar	28
2.4.5. Güvenirlik	29
2.4.6. Yan etkiler ve toksisite	30
2.4.7. İlaç etkileşimleri ve diğer etkileşmeler	30
2.4.8. Dozaj ve doz aşımı	31
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b>	32
3.1. Bitkisel materyaller	33
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Avrupa Farmakopesi 7.0’a göre bitkisel materyallerin analizi	34
3.2.1.1. Makroskobik inceleme	34
3.2.1.2. Mikroskobik inceleme	34
3.2.1.3. Yabancı madde tayini	34
3.2.1.4. Kurutmada kayıp	35
3.2.1.5. Toplam kül tayini	36
3.2.2. Teşhis reaksiyonları	37
3.2.2.1. İnce tabaka kromatografisi (İTK)	37
3.2.2.2. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (YPİTK)	42
<b>4. SONUÇLAR</b>	45
4.1. Numunelere ait sonuçlar	45
4.1.1. Makroskobik inceleme sonuçları	45
4.1.2. Mikroskobik inceleme sonuçları	47
4.1.3. Yabancı madde tayini sonuçları	51
4.1.4. Kurutmada kayıp sonuçları	53
4.1.5. Toplam kül tayini sonuçları	54
4.1.6. İTK sonuçları	54
4.1.7. YPİTK sonuçları	56
<b>5. SONUÇ VE TARTIşMA</b>	58
<b>6. KAYNAKLAR</b>	63
<b>7. EKLER</b>	69
<b>8. ÖZGEÇMİş</b>	72





*Salix babylonica*

## KISALTMALAR

<b>YPİTK (HPTLC)</b>	:Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (High Performance Thin Layer Chromatography)
<b>İTK (TLC)</b>	: İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
<b>UV</b>	:Ultra Viyole (Ultra violet)
<b>ADP</b>	:Adenosin difosfat
<b>ASA</b>	:Asetilsalsilik asit
<b>NSAID</b>	:Nonsteroidal antiinflammatory drugs (Nonsteroidal antiinflatuvar ilaçlar)
<b>COX-1</b>	:Siklooksijenaz-1
<b>COX-2</b>	:Siklooksijenaz-2
<b>OA</b>	:Osteoartrit
<b>WOMAC</b>	:Western Ontario & McMaster Universities Osteoarthritis Index (Batı Ontario Mc Master Üniversitesi Osteoartrit indeksi)
<b>RA</b>	:Romatoid Artrit
<b>MSD</b>	:Musculoskeletal Disorders (Kas ve iskelet sistemi bozuklukları)
<b>MSM</b>	:Metil sülfonilmetan
<b>ICAM-1</b>	:Intercellular Adhesion Molecule 1 Hücre içi adezyon molekül-1
<b>NF-κB</b>	: Nükleer faktör-kappa B
<b>YBSK (HPLC)</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)

## RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. <i>Salix</i> L.(Salicaceae)	2
Resim 2. <i>Salicis cortex</i>	8
Resim 3. Kurutmada kayıp deneyi	36
Resim 4. Toplam kül deneyi	37
Resim 5. Hareketli faz hazırlanması	38
Resim 6. Test A solüsyonunun hazırlanması	38
Resim 7. Test B solüsyonunun hazırlanması	39
Resim 8. İTK tankının hazırlanması	40
Resim 9. İTK plaklarının hazırlanması	41
Resim 10. İTK yönteminin son aşaması	42
Resim 11. YPİTK cihazının kullanılması	43
Resim 12. YPİTK yönteminin son aşaması	44
Resim 13. <i>Salicis cortex</i> materyallerinin dış kabuk ve iç kabuk görüntüleri	45
Resim 14. <i>Salicis cortex</i> numunelerinin toz edilmiş halindeki renkleri	47
Resim 15. <i>Salicis cortex</i> numunelerinin mikroskop altında görüntüleri	49
Resim 16. <i>Salicis cortex</i> numunesinde bulunan yabancı maddelerin ayrılması	51
Resim 17. Test A çözeltisi tatbik edilmiş İTK plak görüntüsü	55
Resim 18. Test B çözeltisi tatbik edilmiş İTK plak görüntüsü	55
Resim 19. Revelatör püskürtülmemiş 1. İTK plağının 254 nm'deki görüntüsü	56
Resim 20. Revelatör püskürtülmemiş 1. İTK plağının 366 nm'deki görüntüsü	56
Resim 21. Revelatör uygulamasından sonraki 1. İTK plak görüntüsü	57
Resim 22. Revelatör uygulanmasından sonraki 2. İTK plak görüntüsü	57

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Salix</i> kapalı tohumlular ailesi	7
--	---

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. <i>Salix</i> cinsine ait taksonların sınıflandırılması	5
Tablo 2. <i>Salix</i> cinsine ait taksonların sınıflandırılması	6
Tablo 3. Türkiye Florası'na sonradan aşağıdaki türler eklenmiştir	6
Tablo 4. <i>Salicis cortex</i> 'te bulunan başlıca bileşikler ve formülleri	14
Tablo 5. Bitkisel materyallerin kaynakları	33
Tablo 6. Makroskobik inceleme sonuçları	46
Tablo 7. Mikroskobik inceleme sonuçları	48
Tablo 8. Yabancı madde tayini sonuçları	52
Tablo 9. Kurutmada kayıp miktarı sonuçları	53
Tablo 10. Toplam kül miktarı sonuçları	54

## EKLER LİSTESİ

EK 1. Salicis cortex monografi	68
EK 2. <i>Salix</i> türlerinin Türkiye’de dağılımı	70



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Salicis cortex*, Avrupa Farmakopesi 7.0 tarafından, *S. purpurea* L., *S. daphnoides* Vill., *S. fragilis* L., gibi çeşitli *Salix* türlerinin mevcut yıldaki genç dalların bütünüyle veya parçalanıp kurutulmuş kabuğu olarak tanımlanmaktadır (1).

Söğüt kabuğu'nun ateş, ağrı ve iltihaba karşı bitkisel bir ilaç olarak kullanılan uzun bir geçmişi vardır. Antik ve Ortaçağ yazıtlarında, söğüt kabuğunun ateş ve ağrıya karşı kullanıldığından bahsedilmektedir (2). Salisin keşfiyle (1897), ateş ve ağrı tedavisinde izole edilmiş madde olarak kullanılmıştır. Salisin ve onun kimyasal olarak modifiye edilmiş türevi asetilsalik asit'in COX-1 ve COX-2'yi inhibe ettiği bilinmektedir. COX inhibisyonu söğüt kabuğunun antiinflamatuvar aktivitesinin temel etki şekli olarak kabul edilir (2).

Söğüt türleri, kışın yapraklarını döken ağaç veya ağaççıklardır. Genellikle akarsu kenarlarında yetişmektedir. Anadolu'da yaygın olarak bulunan, *S. alba* L., *S. babylonica* L., *S. caprea* L., *S. cinerea* L., *S. excelsa* J. F. Gmelin, *S. fragilis* L., *S. purpurea* L. ve *S. viminalis* L. türlerinin dal kabukları, kökleri ve yaprakları tedavi alanında kullanılmaktadır (3).

Bu çalışmada, piyasada satılan söğüt bitkisine ait dal ve gövde kabuklarının Avrupa Farmakopesi 7.0'daki ilgili monografa yer alan kritere uygunluğunun araştırılarak halkın aktarlardan temin ettiği bitkisel drogdaki etken madde varlığı, etkinliği ve kalite parametrelerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde Salicaceae familyası ve *Salix* türlerine ait genel botanik özellikler, yayılışı, kimyasal bileşimi, biyolojik aktivitesi, geleneksel kullanımı, yan etkileri, toksisitesi ve etkileşimleri hakkında bilgiler verilecektir.

### 2.1. Botanik bilgiler



Resim 1. *Salix* L. (Salicaceae). A. Nazhoğlu koleksiyonundan alınmıştır 2017

### 2.1.1. Salicaceae familyasının bitki sistematigindeki yeri

- Bölüm: Spermatophyta
- Alt bölüm: Angiospermae
- Sınıf: Dicotyledonae
- Altsınıf: Apetalae
- Takım: Salicales (4).

### 2.1.2. Salicaceae familyasının genel özellikleri

Yaprak döken ağaç veya çalılardır. Yaprakları alternan veya nadiren karşılıklı, basit ve stipulalıdır. Çiçekler tek eşeyli, dioik ve brakteli olup sepal veya petal taşımazlar. Çiçek durumu amentum, amentumlar dik veya sarkıktır. Brakteler tam veya saçaklıdır. Çiçek örtüsü dairesel bir disk ve 1 veya 2 nektar taşıyan salgı bezi ile temsil edilir. Stamenler 2 veya daha fazladır. Ovaryum üst durumlu, tek gözlü, 2 veya 4 periyetal plasentalı; çok sayıda ovül mevcuttur. Meyve 2 parçalı bir kapsül şeklindedir. Tohumlar funikuladan çıkan uzun ipeksi tüylüdür (5).

Salicaceae familyası *Salix* (söğüt) ve *Populus* (kavak) türleri altında sınıflandırılmaktadır.

Türkiye Florası kitabında *Salix* ve *Populus* türlerini aşağıdaki anahtara göre ayrılmaktadır (5).

1. Tomurcuklar dışardan tek bir pul ile örtülüdür. Brakteler bütün, entomofil (böceklerle tozlaşan). *Salix* (söğüt)

2. Tomurcuklar dışardan birçok pul ile örtülüdür. Brakteler dentat veya saçaklı, anemofil (tozlaşma rüzgârla olur). *Populus* (kavak)

*Salix* ve *Populus*'ta tozlaşma birbirinden belirgin olarak farklıdır. *Populus*'ta amentumlar sarkık ve kokusuzdur. Amentumlar rüzgârda sallanırlar ve tozlaşma rüzgâr aracılığıyla sağlanır. Nektaryum yoktur. *Salix*'te ise amentumlar sert ve eğilmeyen bir yapı gösterir. Her çiçeğin tabanında 1-2 küçük nektaryum bulunur. Nektaryumlardan salgılanan tatlımsı, kokulu sıvı; böcekleri özellikle arıları bu bitkilere çekmektedir. Tozlaşma *Salix* türlerinde böcekler aracılığıyla gerçekleşmektedir (4,6).



*Salix*'lerin büyük çoğunluğu çalı ve küçük ağaç formundadır. Özellikle sulak alanlarda veya dağlarda yaygındır. Buna karşın *Populus* türleri uzun boylu ağaçlardır ve özellikle kuzey iklimlerde görülmektedir (6).

### 2.1.3. *Salix* L. cinsinin genel özellikleri

Yaprak döken ağaçlar ve çalılardır, nadiren yere uzanmıştır. Tomurcuklar dışardan tek bir tabaka ile örtülüdür. Yaprak dizilişi alternat, nadiren karşılıklı, yapraklar gövde üzerinde linearla obovat arası, kenarları dentat, nadiren subserrattır. Petiol kısa ya da yoktur. Çiçekler entomofil, amentumlar yapraklardan önce veya aynı zamanda ortaya çıkar, dik veya sarkık, saplı veya sapsız; her bir çiçek 1 veya 2 nektaryumlu, tam bir brakteye sahiptir. Stamenler 2, 3, 5 veya daha fazla, bazen 10'a kadardır. Filamentler serbest ya da kısmen veya tamamen birleşiktir. Ovaryum genellikle belirgin biçimde saplı, stilus kısa, dallanmış bir stigmaya sahiptir. Kapsül 2 kapakçıklı, çıplak veya tüylüdür. Tohumlar küçük, çok sayıda ve tepesinde tüy topluluğu mevcuttur (5).

Skvortsov (1968) tarafından Türkiye'deki *Salix* türleri 2 altcins ve 11 seksiyon olarak gruplandırılmış ve toplam takson sayısı 24 olarak verilmiştir. Hindistan ve Güney Doğu Asya'ya ait olan *Salix tetrasperma* Roxb., Kahramanmaraş'ta Kerhan Suyu'nun 800 m ve Kayacık'ın 605 m dolaylarında yetişmektedir ve bir kültür bitkisidir. Çıplak dimorfik yaprakları, lanseolat yapraklarının ekstipulat oluşu ve obovat yapraklarının geniş ve kalıcı stipulaları ile kolayca tanınabilir (5).

Skvortsov (1968) tarafından *Salix* türleri Türkiye Florası'nda 2 altcins ve 11 seksiyona ayrılmıştır (5).

Tablo 1. *Salix* cinsine ait taksonların sınıflandırılması

Subgen. <i>Salix</i>	Sect. <i>Vetrix</i> Dumort.
Sect. <i>Humboldtianae</i> Pax	11. <i>caucasica</i>
1. <i>acmophylla</i>	12. <i>pedicellata</i>
Sect. <i>Amygdalinae</i> W. Koch	13. <i>caprea</i>
2. <i>triandra</i>	14. <i>aegyptiaca</i>
Sect. <i>Pentandrae</i> (Borrer) Schneider	15. <i>cinerea</i>
3. <i>pentandra</i>	16. <i>pseudomedemii</i>
4. <i>pentandroides</i>	17. <i>pseudodepressa</i>
Sect. <i>Salix</i>	Sect. <i>Vimen</i> Dumort.
5. <i>alba</i>	18. <i>viminalis</i>
6. <i>excelsa</i>	19. <i>armenorossica</i>
7. <i>fragilis</i>	Sect. <i>Canae</i> Kerner
Sect. <i>Subalbae</i> Koidzumi	20. <i>elaeagnos</i>
8. <i>babylonica</i>	Sect. <i>Helix</i> Dumort.
Subgen. <i>Vetrix</i> Dumort.	21. <i>elbursensis</i>
Sect. <i>Hastatae</i> Kerner	22. <i>amplexicaulis</i>
9. <i>hastata</i>	Sect. <i>Cheilophilae</i> Hao
10. <i>trabzonica</i>	23. <i>wilhelmsiana</i>

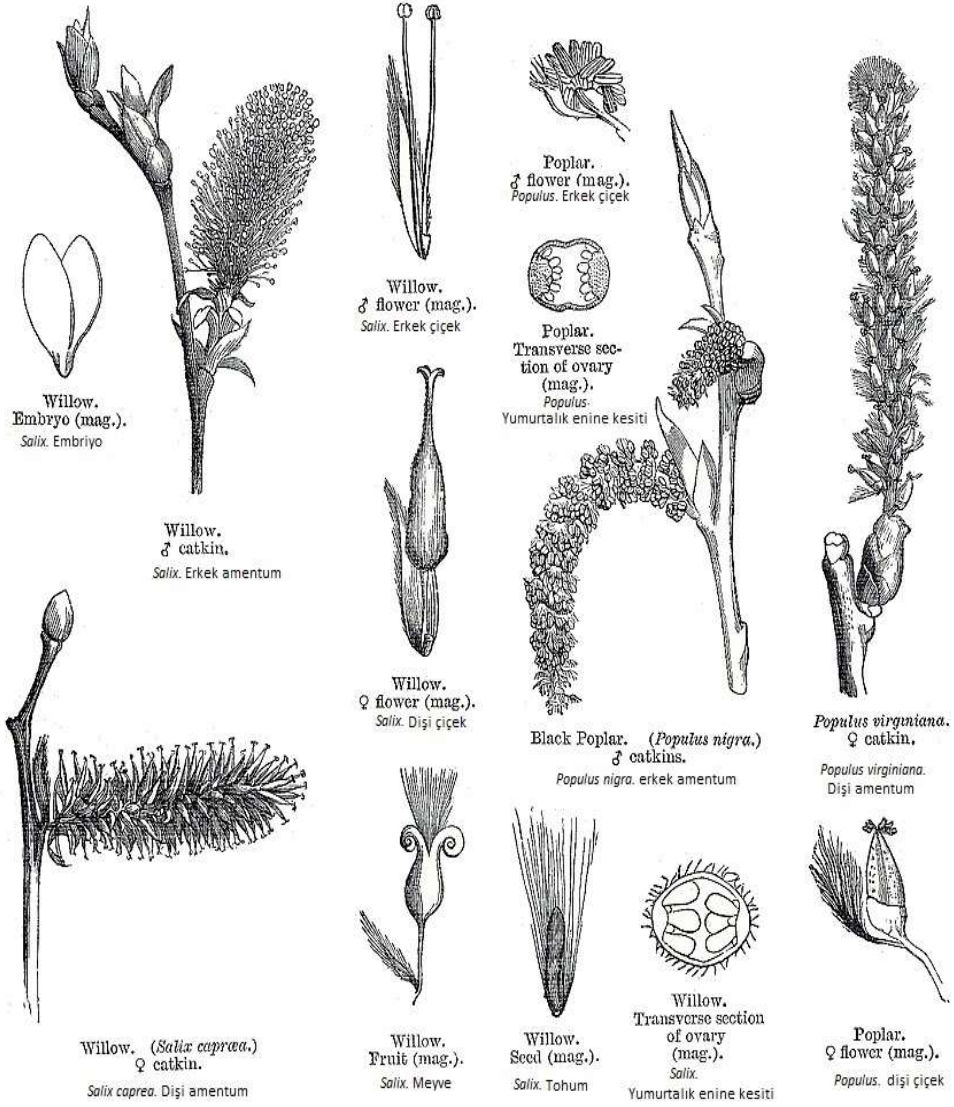
Türkiye damarlı bitkiler kitabında *Salix* cinsi 38 takson ile tanımlamıştır (7).

Tablo 2. *Salix* cinsine ait taksonların sınıflandırılması

1. <i>acmophylla</i>	20. <i>micans</i>
2. <i>aegyptiaca</i>	21. <i>myrsinifolia</i>
3. <i>alba</i>	22. <i>pedicellata</i>
4. <i>amplexicaulis</i>	23. <i>pentandra</i>
5. <i>anatolica</i>	24. <i>pentandroides</i>
6. <i>angustifolia</i>	25. <i>x persica</i>
7. <i>apoda</i>	26. <i>pseudodepressa</i>
8. <i>armeno-rossica</i>	27. <i>pseudomedemii</i>
9. <i>babylonica</i>	28. <i>purpurea</i>
10. <i>x blanda</i>	29. <i>pycnostachya</i>
11. <i>bornmuelleri</i>	30. <i>rizeensis</i>
12. <i>caprea</i>	31. <i>x rubens</i>
13. <i>caucasica</i>	32. <i>schwerinii</i>
14. <i>cinerea</i>	33. <i>tenuijulis</i>
15. <i>elaeagnos</i>	34. <i>trabzonica</i>
16. <i>elbursensis</i>	35. <i>triandra</i>
17. <i>excelsa</i>	36. <i>viminalis</i>
18. <i>euxina</i>	37. <i>wilhelmsiana</i>
19. <i>x fragilis</i>	38. <i>x zygostemon</i>

Tablo 3. Türkiye Florası'na sonradan aşağıdaki türler eklenmiştir (4).

24. <i>myrsinifolia</i> Salisb.	
25. <i>purpurea</i> L.	
26. <i>rizeensis</i> Güner & Ziel.	



Şekil 1. *Salix* kapalı tohumlular ailesi (8).



Resim 2. *Salicis cortex*. A.Nazlıoğlu koleksiyonundan alınmıştır (2017).

#### 2.1.4. *Salix* L. tűrlerine ait tayin anahtarı

Erkek, diři ve vejetatif örnekleri tespit etmek için ű ayrı anahtar ařađıda belirtilmiřtir. Bu anahtarlar kullanılırken yaprađın biçimi, boyutu ve tűy rtűsű, bulunduđu dalın yařı, ađaç veya çalı űzerindeki durumu deđerlendirilir. Vejetatif anahtar orta dűzeyde geliřim sűrecini tamamlamıř dallar için geçerlidir. Ta içindeki kısa dallar ve steril dallar için geçerli deđildir. Bunun aksine, stipulalar çođunlukla turion dalları űzerinde en iyi řekilde grűlűr. Kesin teřhis ve kimliđinden emin olmak için her iki cinsin olgun yapraklı dalları istenir. Odunun yűzeyinde bulunan çizgiler en iyi řekilde, iki yařındaki dalların kabuđu kırıldıđında gözlenebilir. alının veya ađacın uzunluđu taze iken dalların rengi de not edilmelidir (5).

Erkek amentumlar, polen keselerinin açılmasından sonra dökülür. Bu amentumlar dökülmeden önce olgun ancak açılmamış anterlerin rengi not edilmelidir (5).

#### 2.1.4.1. Steril türlerdeki tayin anahtarı

1. Tomurcuk pulları birleşik değildir; yapraklar daralarak lanseolattan lineara kadar değişen şekillerdedir, kenarları belirgin şekilde serrattır. **1. *acmophylla***

1. Tomurcuk pulları kenarlarıyla birleşerek koruyucu bir başlık şeklini almıştır; yapraklar genişlemiş, eğer yaprakların şekli lanseolattan lineara doğru değişiyor ise kenarları keskin serrattır.

6. Stipulalar geniş semi-kordat; petiolün tepesine yakın yerlerde salgı bezleri göze çarpar; yaprakları geniş lanseolat, tüysüz ve genellikle tabanı yuvarlak şekil almıştır.

8. Yükselen sürgünler (kesilmiş ağacın kütüğünden süren sürgünler hariç) tabanda kırılındır; 1 yaşındaki sürgünler soluk ya da açık grimsi-sarı; tomurcuklar kışa doğru kararır; petiolde 1 çift salgı bezi bulunur; olgun yaprakların altı mumsu yapıya sahiptir.

#### 7. *fragilis*

#### 2.1.4.2. Erkek türlerdeki tayin anahtarı

1. Her çiçekte 2 stamen bulunur; filamentler serbest, kısmen veya tamamen birleşmiştir.

6. Filamentlerin tabanı pubescent; anterler açılmadan önce çoğunlukla koyu mor renklidir; brakteler kahverengimsi, koyu mor veya tepe de siyahtır.

7. Yapraklar ve çiçekler opozit veya subopozittir.

#### 22. *amplexicaulis*

#### 2.1.5. Avrupa Farmakopesi 7.0'da geçen *Salix* türlerin özellikleri

##### 2.1.5.1. *S. fragilis* L.,

10-20 m ağaç formunda olup dallar geniş bir taç oluşturarak yayılmıştır. Derin çatlamış kabukları, soyulmaz ve grimsi renktedir. Dalları ince, zeytin yeşili, tüysüz, çok

kırılgan özellikle tabanda tomurcukları tüysüz, sarmal, ovoit, kahverengi, çıplak ± yapışkandır. Soyulmuş odunu pürüzsüzdür. Yaprakları lanseolat, bazen oblong-ovat, 6-15 × 1,5-4 cm, yaprak ucu uzun akuminat, kenarı serrat, gençken yaprakları seyrek ve ipeksi, çıplak; petiol 1-3 cm, genellikle 2 küçük salgı beziyle birlikte. Çiçekler tüylü sapları üzerinde, aşağıya sarkık, yapraklarla birlikte ortaya çıkar, erkek türlerde yoğun çiçekli, 2 stamen, tabana yakın tüylü filamentler; dişi çiçek 6-7 cm, genellikle 2 nektarlı, meyveye geçtiğinde oval-konik şeklinde kapsül ve tüsüzdür. Dere kenarlarında yayılış gösterir. 900-1600 m yükseklikte doğal olarak yetişir (5).

#### **2.1.5.2. *S. amplexicaulis* ( syn: *S.purpurea*)**

5 m ye uzayan düz ve ince çalılardır. Başlangıçta ince dalları genellikle koyu morumsu ve tüysüz, tomurcuklar belirgin yanal karinalıdır. Kabuğu soyulmuş odunu pürüzsüzdür. Yapraklar çoğunlukla opozit veya subopozit, oblanseolat, obtus, bütün, yaprak ucu obtus, kenarı üstte subserrate, tabanda amplexikaul, çıplak, tüysüz ve yaprak tabanı en farklı olan budur, sessil; petiol 1-2 (-3) mm. Stipula küçük, düşüçüdür. Çiçekler opozit, yapraklardan önce görülür, yoğun, silindirik, subsesil; tepede kahverengimsi ya da siyahımsı brakteler; erkek çiçekte filamentler tümüyle birleşmiş, 2 stamen (tek olarak gözükür), anterler 0,5-0,6 mm; dişi çiçek 3-5 mm kapsüllü, tüylü, sapsız ya da çok kısa saplıdır. 850-1450 m yükseklikte nemli nehir yatakları ve göl kenarlarında yetişir (5).

#### **2.1.6. *Salix* L. türünün yayılışı ve habitatı**

Salicaceae familyası içinde yer alan ve yaygın olarak bilinen *Salix* L. (söğüt) cinsi yaklaşık 450 ile 520 türden oluşur. Çoğunlukla Kuzey Yarı Küre'nin ılıman ve soğuk bölgelerinde, çok azı ise tropikal bölgelerde yayılış gösterir (9). Bu söğüt türlerinden bazılarının boyları 30 mm'ye kadar uzayabilir. Özellikle kuzeyde ağaç sınırına yakın sahalarda yetişen bazı söğüt türleri ise fazla gelişmemiş kısa boylu bodur çalılar şeklinde veya toprağa yapışık durumdadırlar (10).

Söğütlerin çoğunluğu kışın yapraklarını döken, nadiren de daima yeşil kalan odunsu bitkilerdir. Işık ihtiyaçları fazladır. Nem ihtiyaçlarının da oldukça fazla olması nedeniyle genellikle akarsu kenarlarında ve yeraltı suyu seviyesinin yüksek olduğu nemli taban arazilerde yetişirler. Ağ gibi örülmüş kökleri vasıtasıyla toprağın korunmasına da yardımcı olurlar (10).

Ekolojik dağılıma göre söğütler, iki ana gruba ayrılır. Dere kenarları veya alüvyon topraklar gibi ortamlarda yetişenler; sulak alan gibi suya doymuş topraklarda yetişenler. Her iki ortamda da başarılı olan söğütlerin uyum sağlama özelliği, fazla gelişmiş olduğundan, besin ve oksijen eksikliği koşullarında öncü bitki olarak kullanılabilir. Türlerin çoğu, oksijensiz ortama uyum sağlasa da mineralleri zengin olan toprakları, organik topraklardan daha çok tercih ederler. Birçok söğüt türü, yetişme ortamı ve ekolojik istekleri açısından, kanaatkâr oluşu, kolay yetiştirilmesi ve hızlı büyümesi gibi nedenlerle benimsenerek tercih edilmektedir (11).

Türkiye’de *Salix* taksonları açısından en zengin bölge 24 takson ile Karadeniz bölgesidir. Doğu Anadolu Bölgesi 20 taksonla ikinci sıradadır. *Salix* taksonları açısından en az çeşitliliğe sahip bölge ise 5 takson içeren Güneydoğu Anadolu Bölgesidir (4).

### 2.1.7. Tarihçesi

Hippocrates (MÖ 460-377) da *Salix alba* kabuklarını ağrı tedavisinde kullanmıştır. Romalı filozof Baba Piliny (MS 23-79) kitaplarında söğüdün ağrı kesici olduğunu açıklar. MS 40-80 yıllarında yaşamış olan Dioscorides ise *Salix alba* kabuğu suyunu gut ve diğer romatolojik hastalıkların tedavisinde denemiştir (12).

Söğüt kabuğunu ilaç olarak öneren en eski belge, MÖ 2000’de yazılan Sümer tabletidir. Hititler “şişiyamma” dedikleri söğüt kabuğundan ilaç yapmayı biliyorlardı. MÖ bin beş yüzlü yıllara ait eski Mısır tabletlerinde (Eber Papirüsü’nde) ağrıyı öldüren bitki olarak geçmektedir (13).

Söğüt kabuğu Çin’de MÖ 500’den beri ağrı ve ateş tedavisinde kullanılmıştır. Avrupa’da ise öncelikle kusmayı önlemekte, siğil tedavisinde ve cinsel arzuyu bastırmak gibi tamamen birbirinden farklı amaçlarla kullanılmıştır (14).

Daha sonra 18. yüzyıla kadar unutulduğu söylenebilir. Bu dönemde sadece halk tıbbı bağlamında kullanılmaya devam edilmiş, bilimsel ve tıp alanında tercih edilmemiştir. 18. yüzyılın başında İngiltere’de Edward Stone tarafından antipiretik ve analjezik olarak kullanılarak tekrar gündeme gelmiştir. 1828 yılında Münih’de Prof. Johann Andreas Buchener söğüt kabuğu ekstratlarından salisin maddesini saflaştırarak



elde etmeyi başarmıştır. Bir yıl sonra Fransa'dan Leroux salisini kristal formunda geliştirmiş, ardından bir İtalyan kimyageri olan Raffaele Piria 1814-1865 salisinden aktif madde olan salisilik asidi elde etmiştir. 1853'de Fransız kimyager Charles Frederic Gerhardt ilk kez ASA molekülünü sentezlemeyi başarmış ancak keşfinden sonra üzerinde durmamıştır. Herman Kolbe (1818-1884) ise bu molekülü içeren stabil preparatı 6 yıl sonra yapmıştır. Salisilik asit 1874 yılında Frederic von Heyden tarafından piyasaya çıkarılmıştır. Ancak yeterince saflaştırma yapılamadığı için salisilik asit ekstresinin önemli düzeyde acı tadı ve mideyi tahriş edici etkileri bulunmaktaydı. 10 Ağustos 1897'de Bayer Laboratuvar'ından Felix Hoffman, ASA'yı sentetik olarak saf ve stabil formda elde etmeyi başararak Bayer firması tarafından 6 Mart 1899'da Almanya'da Aspirin marka adıyla patent alınmış ve seri üretimine geçilmiştir (12).

## 2.2. Fitokimyasal Özellikler

Karakteristik bileşenleri salisin türevleri başlıca salikortin, 2'-*O*-asetilsalikortin veya tremulasindir. *Salix purpurea* L. kabuğunda toplam % 4-8 oranında salisin bulunur. Mevcut fenolik glikozitler arasında salikortin (% 9'a kadar), tremulasin (nadiren % 1'den fazla), salirepozit (% 0.1-1.2), az miktarda şiringin ve purpurein (% 0.4'e kadar) bulunur. Diğer bileşenler sarı kalikon izosalipurpozit (% 0.15-2.2), flavonlar eriodiktiol-7-glukozit (% 0.18-0.4) ve (+)- ve (-)- naringenin-5-glukozit (herbiri % 0.4-% 1.5) yaklaşık % 0.5 (+)- kateşin ve % 5 polifenol içerir. Genç dallar (kabuk ve odunu) tek başına kabuktan daha düşük konsantrasyonlarda aynı bileşenleri içerir (15).

*Salix daphnoides* Villars kabuğu toplam salisinin % 4'ünden fazlasını içerir. Fenolik glikozitler; salikortin (% 3-11), tremulasin (% 1.5'ten daha fazla) ve salisin (% 1'den daha fazla), çok az miktarda şiringin (% 0.2'den fazla) vardır. Diğer bileşenler izosalipurpozit (% 0.2-1.5), flavonlar (+)- ve (-)-naringenin-5-glukozit (herbiri % 0.1-1.5) ve naringenin-7-glukozit (% 0.3-1.5) ve yaklaşık % 0.5 (+)- kateşin ve % 5 polifenol içerir. Genç dallar (kabuk ve odunu) tek başına kabuktan daha düşük konsantrasyonlarda aynı bileşenleri içerir (15).

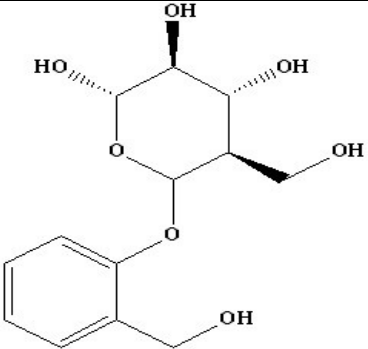
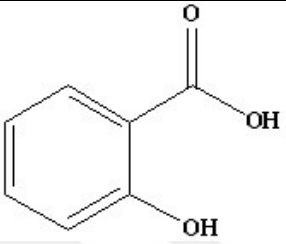
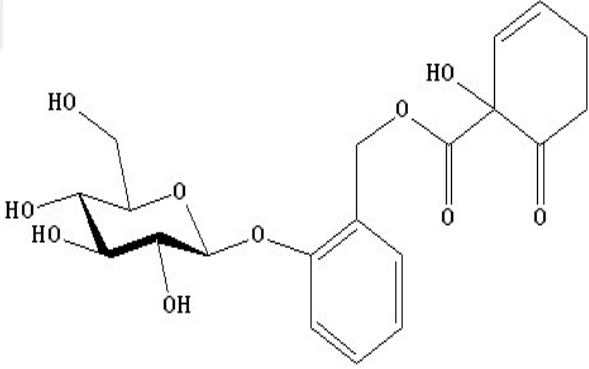
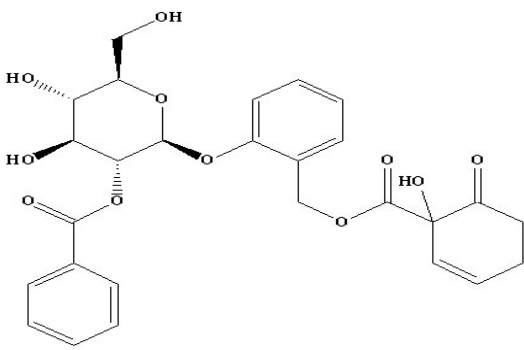
Önceden söğüt kabuğu ekstresinin listelenen özelliklerinin içerdiği salisin ile ilişkili olduğuna inanılırdı. Söğüt kabuğunun sulu ekstresinin YBSK spektrometrisi analizi; saligenin, salisilik asit, salisin, izosalisin, pisein, salidroset, triandrin, salicoylsalisin, salikortin, izosalipurpozit, salipurpozit, naringenin-7-*O*-glukozit ve

tremulasin gibi 13 bileşiminin varlığını göstermiştir. Bu bileşenler antienflamatuar, ağrı kesici ve ateş düşürücü etkilerden sorumludur ve genellikle salisinle ilişkilendirilmiştir (16).

Salisin ve salikortin söğüt kabuğundaki en önemli iki salisilatdır. Bağırsak florası tarafından saligenine metabolize edilir. Bu aglikon formu halinde kan dolaşımına emilir ve karaciğer tarafından salisilik aside metabolize olur. Boşaltım yolu öncelikle böbrektir (17).



**Tablo 4. Salicis cortex'te bulunan başlıca bileşikler ve formülleri**

Salicis cortex bileşiği	Formülü
Salisin	
Salisilik asit	
Salikortin	
Tremulasin	

Söğüt kabuğu ekstresindeki salisin ve salisinle ilgili klinik etkinlik tamamiyle açıklanamamıştır. Salisinle ilgili bileşenlere ek olarak çeşitli polifenoller ve flavonoidler mevcuttur (2,16).

Agnolet ve arkadaşları söğüt kabuğu ürünleriyle ilgili kapsamlı bir analiz yapmış ve ticari söğüt kabuğu ekstresinde 16 bileşik belirlemişlerdir. Salisin ve salisin türevlerine ek olarak kateşin, amelopsin, taksifolin, 7-*O*-metiltaksifolin-3'-*O*-glukozit ve 7-*O*-metiltaksifolin tespit edilmiştir. Kateşin ve amelopsin gibi bileşenlerin yüksek antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerinin olduğu bilinmektedir. Söğüt kabuğundaki diğer bileşenler antioksidan antiseptik ve bağışıklık sistemini artırıcı özellikler gösterebilmektedir (18).

ASA'nın önerilen dozu olan 500 mg ile karşılaştırıldığında, söğüt kabuğu ekstresinin tipik dozu 120-240 mg salisin aralığında olmasının nedeni içerdiği bileşenlerin kompleks karışımı ile açıklanabilir (17).

### **2.3. Biyoaktivite çalışmaları**

#### **2.3.1. Analjezik ve antienflamatuvar aktivite çalışmaları**

Vlachojannis ve arkadaşları söğüt kabuğu ekstresinin kas iskelet ağrısı üzerine etkinliğini araştırmak için sistematik bir derleme yapmışlardır. Etanollü söğüt kabuğu ekstresinin hafif sırt ağrısı tedavisindeki etkinliği araştırılmıştır. Optimum analjezik dozun sistematik olarak belirlenmediği halde ESCOP monografisi 120-240 mg'a kadar total salisin içeren ekstrelerin ağrı tedavisinde kullanılabileceğini önermektedir. Tüm çalışmalarda etanollü ekstreler, altı haftaya kadar günlük dozu 240 mg salisinle hazırlanmaktadır (19).

Farklı 3 klinik çalışma incelenmiş ağrı tedavisinde söğüt kabuğu ekstresinin faydaları, araştırmaya katılan 415 kişi üzerinde denenmiştir. Tedavi sürecinde çok küçük yan etkiler (tüm klinik çalışmalarda yan etki görülme sıklığı yaklaşık % 5 olarak hesaplanmıştır) meydana gelmiştir. İncelemeler sırt ağrısında etanollü söğüt ekstresinin etkinliği konusunda orta derecede kanıt sunmaktadır. Özetle etanollü söğüt kabuğu ekstresi düşük şiddetteki sırt ağrısı tedavisinde yan etkileri az bir analjeziktir. OA ve RA ağrısını hafifletmek için de daha yüksek dozlarda kullanılması muhtemeldir. Bu nedenle çalışma doğrulayıcı olmaktan çok keşif amaçlıdır. OA ve RA tedavisinde günde

240 mg salisinden daha yüksek dozda ekstre gerekip gerekmediğini öğrenmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır (19).

Chrubasik ve arkadaşları iki değişik dozda söğüt kabuğu ekstresinin düşük şiddetteki kronik sırt ağrısı üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çift kör, randomize plasebo kontrollü çalışmada sırt ağrısı olan 210 hastaya 120 mg ya da 240 mg salisin ve plasebo 4 hafta süreyle uygulanmıştır. Hastalara sadece kurtarma ilacı olarak tramadol etken maddeli ilaç (Contramal®) verilmiştir. Tedavinin son haftası düşük şiddetteki sırt ağrılarında iyileşme oranı yüksek doz alan hastalarda % 39, düşük doz alan hastalarda % 21 ve plasebo için % 6 olmuştur. Rastlanan tek önemli yan etki, söğüt kabuğu verilen katılımcılardan birinde görülen alerjik reaksiyondur. Kanıtlar standart dozlarda alınan söğüt kabuğunun, çok küçük bir doz olan 50 mg aspirinin eşdeğeri olduğunu göstermektedir. Söğüt kabuğunun aspirin kadar kan sulandırıcı etkisi yoktur ve mide üzerine olumsuz etkisi daha azdır. Ancak uzun vadede ve yüksek dozlarda kullanıldığında aynı yan etkilere neden olabileceğini varsaymak mantıklı görünmektedir (20).

Ağız yoluyla alınan analjezik ilaçlar, özellikle NSAID'ler gastrointestinal sistem üzerindeki özellikle kanama ve perforasyon şeklindeki olumsuz etkilerine rağmen, sıklıkla ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. COX-2 inhibitörlerinin kullanılması gastrointestinal yan etki oranının düşürülmesinde etkili olmakla birlikte, maliyetin önemli ölçüde artmasına neden olmaktadır. Bu ve diğer çalışmalarda gözlenen yan etki insidansı düşüktür ve özellikle NSAID'leri tolere edemeyen hastalarda etkili bir alternatif olabilir (20).

MSD'ye maruz kalan hastalarda ağrıyı azaltmak için söğüt kabuğu ekstresinin etkinliği, güvenilirliği ve tolere edilebilirliği kısa süreli klinik denemelerle gösterilmiştir. 6 ay süren gözlemsel çalışmada, 436 OA, sırt ağrısı ya da her ikisinin kombinasyonu nedeniyle oluşan romatizma ağrısı çeken hastalara NSAID'ler ve opioidin mono veya kombinasyon tedavisi uygulanmıştır. Kullanılan ürün STW 33-I (Proaktiv®, Des Moines, IA USA) söğüt kabuğu ekstresidir. Ağrı skoru, çalışma süresince, söğüt kabuğu ekstresi ile birlikte kullanıldığında başlangıç değerlerinin % 33'ü ile % 44'ü arasında kalmıştır. Herhangi bir yan etki ve ilaç etkileşimleri bildirilmemiştir. Bu veriler STW 33-I'nin ağrılı MSD tedavisinde monoterapi olarak kullanılabileceğini, gerekirse NSAID'ler ve opioidlerle kombinasyon halinde uzun

sürekli bir tedavinin güvenilirliğini desteklemektedir. Söğüt kabuğu ekstresi ile temel bir tedavi olarak ağrı tedavisine başlanabileceği ve hastanın bireysel ihtiyaçlarına göre diğer geleneksel analjezikler eklenebileceği sonucuna ulaşılmıştır (21).

Nieman ve arkadaşları, eklem ağrısı ile eklem sertliği tedavisinde kullanılan ve içeriği glukosamin sülfat, MSM, beyaz söğüt kabuğu ekstresi (% 15 salisin), zencefil kökü konsantresi, *Boswellia serrata* ekstresi (% 65 boswellik asit), zerdeçal kök ekstresi, acı kırmızıbiber ve hiyalüronik asit olan Instaflex™ adlı besin desteğinin plasebo ile etkilerini karşılaştırmışlardır. Eklem ağrısı şikâyeti olan 50-75 yaş arası 100 hastaya Instaflex™ (Joint Support Charlotte NC USA ) olan üründen ya da plasebodan günde 3 kapsül verilerek sekiz hafta süren çift kör-plasebo kontrollü bir çalışma yapılmıştır. Araştırma sonucunda adı geçen besin desteğini kullanan hastaların eklem ağrısında % 37'lik bir azalma gözlenirken plasebo alan hastaların eklem ağrısında % 16'lık bir azalma olmuştur. Eklem sertliği şikâyetlerinde ise Instaflex™ kullanan hastalarda % 30, plasebo kullananlarda ise % 12'lik bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca günlük aktivite performansında da önemli bir gelişme rapor edilmiştir. Ancak bu ürünün kompleks yapısından dolayı beyaz söğüt kabuğu ekstresinin faydalı sonuçlara katkısını tam olarak açıklamak pek mümkün olmamıştır (22).

Enflamasyon süreçlerin giderek depresyon, nörolojik ve nöropsikiyatrik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Ulrich-Merzenich ve arkadaşları, söğüt kabuğu ekstresinin standart bir depresyon modeli olan zorla yüzme testindeki etkisini, antidepresan bir ilaç olan imipramin (Tofranil®) ile karşılaştırarak araştırmışlardır. Farelerle yaptıkları bu çalışmada 30 mg/kg dozda standart söğüt kabuğu ekstresi (STW33-I) A grubuna, çeşitli izole edilen fraksiyonları (flavon ve şalkon glikozitleri, salisil alkol türevleri, salisin ve salisil alkol türevleri, proantosiyanidinler ile karakterize edilmiştir) B, C, D ve E gruplarına 30 mg'lık konsantrasyonlarda 14 gün boyunca verilmiştir. Pozitif kontrol grubu olarak trisiklik antidepresan imipramin (20 mg/kg) F grubunda kullanılmıştır. Zorla yüzme testi 15. günde gerçekleştirilmiştir. Kümülatif hareketsizlik zamanı, tedavi edilmemiş kontrollerle karşılaştırıldığında, A grubunda (% 36), fraksiyon D grubunda (salisil alkol bakımından zengin fraksiyonu) (% 44) ve F grubunda (% 16) azaldığı görülmüştür. Böylece söğüt kabuğunun salisil alkol türevleri bakımından zengin olan etanolik fraksiyonu ve imipramin, zorunlu yüzme testinde etkili olarak, sıçanlarda nöro ve immünofonksiyonlar için bilinen yeni hedefleri modüle etmiştir. Bütün sıçan genomu mikrodizisinin analizinde, hem enflamasyon (interlökin)

hem de nörolojik (serotonin) hedeflerin söğüt kabuğu ekstresi ve salisil alkol fraksiyonu ile zorla yüzme testinde olumlu sonuçlar vermiştir. Bu bulgular, enfeksiyon ve nörolojik işlevler arasındaki bağlantıyı açıklamıştır. Ek olarak salisilat içeren fitofarmasötiklerle tek bileşenli sentetik ilaçlar, çok bileşenli karışımlar olarak birlikte yeni ilaçların geliştirilmesine yönelik çalışmaları destekleyebilir (23).

Ticari söğüt kabuğu ekstresi (STW 33-1) üzerinde yapılmış bir başka çalışmada ekstrenin ve çeşitli fraksiyonlarının antienflamatuvar aktivitesi, insan mikrovasküler endotel hücrelerinde, antienflamatuvar aktivitenin bir ölçütü olan ICAM-1'in TNF- $\alpha$  kaynaklı ekspresyonunu inhibe etme kabiliyeti test edilmiştir. *Salix purpurea* L.'den hazırlanan 50  $\mu$ g/ml özüt, sitotoksik etkiler göstermeksizin kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında ICAM-1 ekspresyonunu % 40'a düşürmüştür. Araştırmacılar söğüt kabuğu ekstresinde bulunan sadece salisin türevlerinin değil aynı zamanda kateşin ve flavanoitlerin antienflamatuvar etkiye katkıda bulunduğu sonucuna ulaşmışlardır (24).

Bonaterre ve arkadaşları, pro-enflamatuvar olarak aktive edilmiş insan monositleri ve farklılaşmış makrofajlar üzerinde, Aspirin<sup>®</sup> (ASA) ve Dicloflam<sup>®</sup> (diklofenak) gibi iyi bilinen NSAID'ler ile sulu söğüt kabuğu ekstresini STW 33-I (Proaktiv<sup>®</sup>) karşılaştırarak antienflamatuvar etkilerini incelemişlerdir. Etkisini ve etki şeklini ortaya çıkaran *in vitro* veri yanı sıra suda çözünür bir fraksiyonu rapor etmişlerdir. Söğüt kabuğu ekstresinin (STW 33-I) ve suda çözünen fraksiyonunun aktive edilmiş monositlerde, TNF- $\alpha$ , COX-2 gibi pro-enflamatuvar sitokinleri ve transkripsiyon faktörü nükleer faktör-kappa B'nin (NF- $\kappa$ B) nükleer translokasyonunu inhibe ederek önemli antienflamatuvar aktivite sergilediği gösterilmiştir. Sonuç olarak enflamasyonla ilgili bozukluklarda STW 33-I'nın terapötik kullanımı için bir kanıt sağlamaktadır (25).

Drummond ve ark. bu çalışmada, enflamasyonu tedavi etmek için geleneksel olarak kullanılmış ve antienflamatuvar ajanlar olarak kullanılma potansiyelleri olan üç Avrupa bitkisi incelenmiştir. Bitki özleri arasında söğüt kabuğunun sulu ekstresinin insan akut monositik lösemi hücre dizisi makrofajlarında, interlökin-6 ve TNF- $\alpha$  üretimini önemli ölçüde azaltarak apigenin, kersetin ve salisilik asitten daha yüksek bir antienflamatuvar aktivite sergilediği gösterilmiştir. Bu etkiyi sırasıyla *Matricaria chamomilla* ve *Filipendula ulmaria* izlemiştir. Ek olarak izole edilmiş salisilik asitin bu hücrelerdeki oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir (26).

Son yıllarda bir dizi *in vitro* çalışmada söğüt kabuğu ekstresi ve bundan izole edilen fraksiyonlarının etki mekanizması değerlendirilmiştir. Sonucunda söğüt kabuğu ekstresinin antienflamatuvar ve analjezik etkisi hakkında önemli bir fikir elde edilmiştir. Söz konusu etki salisine yapılmıştır ancak farmakolojik araştırmalar, söğüt kabuğu ekstresinin klinik etkinliğinin sadece salisin içeriğiyle açıklanamayacağını göstermiştir (17).

Yüzyıllardır geleneksel kullanımı ile bu çalışmaların sonucu birleştirildiğinde, söğüt kabuğu ekstresinin analjezik ve antienflamatuvar etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (17).

### **2.3.2. Osteoartrit aktivite çalışmaları**

Schmidt ve ark. OA'lı 78 hastayı kapsayan çift kör randomize plasebo kontrollü bir çalışmada kimyasal olarak standartlaştırılmış söğüt kabuğunun klinik etkinliğini ve tolerabilitesini değerlendirmişlerdir. Radyolojik araştırmalar, 65 yaşın üzerindeki % 80 kişiden fazlasının OA'e sahip olduğu göstermektedir. Tedavisi ampiriktir. Analjezik ve NSAID kullanımı ise semptomatik rahatlama sağlamaya yöneliktir. Bitkisel ilaç kullanımının yaygınlaşmaya başlamasıyla NSAID tedavisi almak istemeyen çok sayıda OA hastası vardır. Piyasada bu tür bitkisel ilaçlar bulunmasına karşın, çok azının bileşimi kimyasal olarak standartlaştırılmıştır. Ayrıca randomize kontrollü çalışmalarla etkinliklerini ortaya koyan yayımlar bulunmamaktadır. Söğüt kabuğunun salisin ve bileşenleri oral uygulamadan sonra salisilik asite metabolize olurlar. Bununla birlikte % 100 biyoyararlanımını varsaysak bile, 240 mg salisin 115 mg salisilik asit üretmeyecektir. Bu nedenle salisilik asidin kan seviyesinde analjezik ve antienflamatuvar etki meydana getirmesi beklenemez. Bu durumda, söğüt kabuğu ekstresi ve bunların aktif bileşenlerinin, ASA ve NSAID'lere oranla daha iyi tolere edilebildiği (örneğin daha az gastrointestinal yan etki) ve analjezik etki gösterdiği söylenebilir. Bu sonuçtan yola çıkılarak OA'lı hastalarda kimyasal olarak standartlaştırılmış söğüt kabuğu ekstresinin analjezik etkisini araştırmak için randomize plasebo kontrollü bir araştırma yapılmış, sonuçlar salisin ve plasebo ile karşılaştırılmıştır. WOMAC ağrı skorunda, aktif tedaviden 2 hafta sonra başlangıç seviyesine göre % 14 oranında bir azalma, plasebo grubunda ise % 2'lik bir artış gözlenmiştir. Söğüt kabuğunun iyi tolere edildiği, yan etki göstermediği rapor edilmiştir (27).



Biegert ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada OA ve RA hastalarda, standart söğüt kabuğu ekstresinin etkinliğini ve güvenilirliğini araştırmışlardır. OA'lı 127 hasta ve RA'lı 26 hasta, iki randomize kontrollü çift-kör çalışmada altı hafta süreyle takip edilmiştir. OA çalışması: Hastalar rastgele günde 240 mg salisin, 100 mg diklofenak ve plasebo ile tedavi edilmiştir. RA çalışmasında ise hastalara rastgele günde 240 mg salisin ile plasebo verilmiştir. WOMAC skoruna göre salisin alan grupların hiçbirinde ağrı giderme konusunda anlamlı istatistiksel bir fark görülmemiştir. Sonuç olarak söğüt kabuğu ekstresinin OA'lı hastalarda etkili olmadığını, benzer şekilde, RA'lı hastalarda bu ekstrenin etkinliği belirtilmemiştir. 240 mg salisin içeren ekstre için doğrulama sağlanamamış ve hiçbir yan etki bildirilmemiştir (28).

Shakibaei ve arkadaşları *Rosa canina*, *Salix alba* ve *Urtica dioica* ile hazırlanan bitkisel ekstraların antienflamatuvar etki şekillerini karakterize etmek için tasarlanmış bir çalışma yapmışlardır. Söğüt kabuğu ekstresi ile ilgili olarak ekstrenin köpek eklem kondrositlerinde antienflamatuvar ve anabolik etkiler sergilediğini göstermişlerdir. Ekstreler, interlökin-1 $\beta$ 'nin indirgenmiş NF- $\kappa$ B aktivasyonunu COX-2 ve matrix metalloproteinazların aşağı regülasyonunu içeren karmaşık bir mekanizma ile tersine çevirmiştir. OA'nın tedavisinde bitki ekstralarının etkinliğini ve NF- $\kappa$ B'nin patofizyolojik rol oynadığı diğer koşulları göstermek için daha fazla çalışma gereklidir (29).

### **2.3.3. Kilo kontrolü ve spor performans aktiviteleri çalışmaları**

Söğüt kabuğu ekstresi ile salisilatlar; spor performans ürünleri, zayıflama ve kilo kontrol ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak söğüt kabuğu ekstresi ve salisinin zayıflama ve spor performansı üzerindeki spesifik etkilerini değerlendiren kontrollü çalışmalar yetersizdir. Armstrong ve arkadaşları, obez yetişkinlerde efedrin, acı portakal, guarana ekstresi, zencefil kökü, beyaz söğüt kabuğu ekstresi içeren bitkisel takviyenin kilo verme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bitkisel takviyeyi kullanan bireylerde, dinlenme süresince enerji harcamasında, kan kimyasallarında ve vücut kompozisyonundaki etkilerini belirlemek için çalışmışlardır. 44 günlük aerobik egzersiz programına katılan 5 erkek, 15 kadın toplam 20 kişide yapılan çalışmada, katılımcılara rastgele olarak besin takviyesi veya plasebo verilmiştir. Katılımcıların dinlenme sürecindeki enerji harcaması belirlenmiştir. Serum örnekleri, glikoz, kolesterol, trigliseritler, LDL ve HDL değerleri için analizler yapılmıştır. Vücut kütlesi, % yağ, yağ

kütlesi ve yağsız kütle üzerindeki değişiklikler kaydedilmiştir. Programın bitmesinden sonra değerlendirilen analiz sonuçlarındaki tek anlamlı fark, yağ kütlesi üzerinde olmuştur. Bu sonuç, bitkisel takviyenin yağ kütlesi, % yağ ve vücut kütlelerinde azalmaya neden olabileceğini düşündürmektedir. Ancak 6 hafta kullanılan bu takviyenin enerji tüketimi, diet ve kan kimyası üzerinde etkisi çok azdır. Yararlı etkileri ağrı toleransını artırmak, antioksidan ve antiinflamatuar özelliklere bağlı olabileceğini (30).

Hudson ve arkadaşları kafein ve aspirinin hafif direnç antrenmanı performansına etkisini, algılanan zorluk derecesini ve ağrı algısı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu ergojenik yardımcıların hissedilen ağrı indeksini azaltacağı ve egzersiz sırasında performansı artıracığı hipotezi ileri sürülmüştür. Egzersizden bir saat önce alınan aspirin, kafein ya da plasebo ile birlikte yapılan çift kör çalışmaya, üniversite yaşındaki erkek bireyler katılmıştır. ASA (10 mg/kg) uygulanmasını kapsayan bu çalışma sonucunda, ağrı indeksinde önemli bir düşüş ve direnç antrenmanı performansında yükseliş gözlenmiştir. Bu etkinin COX-2, prostasiklinler ve interlökinler modülasyonu aracılığıyla meydana geldiğine inanılmaktadır. Bu çalışma yalnız beyaz söğüt kabuğu ekstresi ve salisin ile yapılmamasına rağmen, salisilatlar spor performansı açısından yaralı etkiler gösterebilirler sonucuna ulaşılmıştır (31).

Kalman ve arkadaşları, aşırı kilolu sağlıklı erişkinlerde efedrin ve sinefrin bazlı bir bileşiğin vücut kütlesi, vücut kompozisyonu, metabolik değişkenler ve duygu durumu üzerine etkilerini saptamak için bir çalışma yapmışlardır. Deney grubuna 8 hafta süre ile diyetisyen ve egzersiz fizyolojisi uzmanının rehberliğinde, 20 mg efedrin alkaloidleri, 200 mg kafein, 5 mg salisin ve 5 mg sinefrin içeren kapsül, günde 2 kez verilirken diğer gruba plasebo verilmiştir. Deneklere haftada 3 gün çapraz egzersiz programı uygulanmıştır. Takviye alan grubun plasebo grubuna kıyasla daha fazla kilo verme ve vücut yağlarında düşüğe neden olduğu gözlemlenmiştir. Gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Bu durum diyet takviyesinin kas koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir (32).

Boullata ve arkadaşları, ASA alerjisi öyküsü olan bir hastada, söğüt kabuğu içeren diyet takviyesinin kullanılması sonucu ortaya çıkan bir anafilaksi vakasını bildirmektedir. 25 yaşındaki kadın hasta, anafilaktik şok teşhisiyle hastane acil servisine kaldırılmıştır. Epinefrin, difenhidramin, metilprednizolon ile tedavi edilmiştir. Kullandığı ilaç geçmişine bakıldığında, günde 2 kez Stacker 2 (NVE Pharmaceuticals,

Newton, NJ) ticari isimli kapsül aldığını ortaya koymuştur. Bu ürünün aktif maddeleri arasında söğüt kabuğu bulunmaktadır. Bu hastanın ASA'ya alerji öyküsü bildirilmiş ve anafilaksi için başka bir sebep tespit edilememiştir (33).

Salisin ve beyaz söğüt kabuğu ekstresi içeren kombinasyon ürünlerinin kullanımı üzerine yapılan bilimsel çalışmalarda kullanılan ürünlerin içeriğinde; yeşil çay, mate çayı, zencefil, acı portakal, kola, fındık, üzüm çekirdeği gibi maddeler bulunmaktadır. Ancak hiçbir durumda, ürünlerdeki diğer bileşenlerle bağlantılı olarak salisin veya söğüt kabuğu ekstresinin katkısı veya spesifik etkisi belirlenememiştir (17).

Yuan ve ark. obez fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, insülin direnci ve obezite patogenezinde oluşan enflamasyon sürecinde, salisilatların obezite ve diyetle indüklenen insülin direncini tersine çevirdiği sonucuna ulaşmışlardır. Yüksek dozda salisilatların obez farelerde hiperglisemi, hiperinsülinemi ve dislipidemi, insülin sinyalini sensitize ederek normal seviyeye dönüştürmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir (34). Bunun sonucu olarak çeşitli ticari zayıflama takviyeleri söğüt kabuğu ekstresi içermektedir (30).

#### **2.3.4. Antioksidan aktivite çalışmaları**

Diyabetik retinopatinin patogenezinde enflamasyon ve oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çalışmanın hedefi, streptozotosin ile indüklenen diyabetik farelerde erken retinal ve plazma değişikliklerinde, hazırlanan karışımın etkinliğinin araştırılmasıdır. Diyabetik ve diyabetik olmayan (kontrol) farelere 10 gün süresince *Ginkgo biloba* ekstresi,  $\alpha$ -lipoik asit, kırmızı berry ekstresi ve L-karnosin ile kombine edilmiş % 15 salisin içeren 150 mg/kg beyaz söğüt kabuğu ekstresi ile güçlendirilmiş süspansiyon enjekte edilmiştir. Bu hazırlanan süspansiyonun diyabet kaynaklı plazma lipid peroksidasyonunu % 50 oranında azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca güçlendirilmiş bu ekstre; diyabet kaynaklı retina iltihabı, retinal tümör nekroz faktörü- $\alpha$  ve vasküler epidermal büyüme faktörü seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Ancak bu kombinasyondaki beyaz söğüt kabuğu ekstresinin antienflamatuvar ve antioksidan özellikleri bakımından kesin rolü bilinmemektedir (35).

Ishikado ve arkadaşları, insan göbek bağı endotel hücrelerinde ve serbest yaşayan *Caenorhabditis elegans* isimli yuvarlak solucanda, söğüt kabuğunun salisin

İçermeyen ekstresinin antioksidan etkilerini incelemişlerdir. Ekstrenin antioksidan enzimleri indüklediği ve salisinden bağımsız nükleer faktör eritroid-2'ye bağlı faktör -2 ( Nrf2)'nin aktivasyonu yoluyla oksidatif stres oluşumunu önlediğini göstermişlerdir. Söğüt kabuğu ekstresinin klinik yararlılığı için yeni bir potansiyel açıklama sunmuşlardır. Bu çalışma ile salisin türevlerinin ötesinde aktiviteler göstermiş ve söğüt kabuğu ekstresinin etki mekanizması ile ilgili ek bilgiler ortaya koymuşlardır (36).

Kahve ekstresi ve kafein, söğüt kabuğu ekstresi ile birlikte yaygın olarak kullanılır. Kahve ve söğüt kabuğu (*Salix purpurea* ve *Salix myrsinifolia*) ekstresinin aktif bileşenleri arasındaki etkileşim üzerine bir çalışma yapılmıştır. Hammaddeler ve karışımları çok yönlü antioksidan aktivitelerle karakterize edilmekle birlikte, biyoaktif bileşenlerinde birbirleriyle etkileşim halinde oldukları görülmüştür. Bu iki kaynağın fenolik bileşenleri arasında lipit peroksidasyonunu inhibe etme ve gücünü azaltma kabiliyeti açısından sinerji gözlenmiştir. Söğüt kabuğundan elde edilen fitokimyasallar, hidrofilik özelliklere ve termostabiliteye sahiptir. Bu özellikten dolayı kafeinli içeceklerde bileşen olarak kullanılmaktadır. Önerilen karışımlar, oksidatif stresle bağlantılı bazı hastalıkların profilaksisinde veya tedavisinde kullanılabilir. En önemlisi gıdalarda lipit peroksidasyonu ve hücre zarı fosfolipidleri için koruyucu etki gösterebilir. Elde edilen sonuçlar söğüt kabuğunun kafein içerikli içeceklerde bileşen olarak kullanılması, tüketicilere sağlığı teşvik edici faydalar sağlayabilir. Ancak bu konu daha fazla çalışmayı gerektirir (37).

### **2.3.5. Antineoplastik aktivite çalışmaları**

Çeşitli çalışmalarla söğüt kabuğunun antineoplastik etkisi incelenmiştir. Söğüt kabuğu ekstresi (BNO 1455) ve çeşitli fraksiyonları COX seçiciliğine bakılmaksızın *in vitro* olarak insan kolon ve akciğer kanser hücrelerinde, hücre çoğalmasını inhibe ederek ve apoptozisi teşvik ettiklerini göstermişlerdir. Salisinle birlikte flavanoid ve proantosyanidin fraksiyonları anti-poliferatif aktivite sergilemiştir (38).

Bir başka çalışmada ise söğüt (*Salix safsaf*) yapraklarının sulu ekstresinin *in vivo* ve *in vitro* karsinoma hücrelerine karşı aktivitesini incelemektir. Antineoplastik aktivitesi *in vivo* ve *in vitro* olarak 3 farklı karsinom hücrelerinde incelenmiştir. *In vivo* Ehrlich ascites karsinoma hücreleri, farelerin intraperitoneal boşluğuna enjekte edilmiştir. Söğüt özütü, mide borusu yoluyla uygulanmıştır. Karsinoma hücreleri türetilmiş farelerde

tümör büyümesi söğüt ekstresi ile azaltılmıştır ve ölüm süreci 35 gün süreyle gecikmiştir. *In vitro* olarak söğüt yaprağı ekstresi akut lenfoblastik lösemi olan yedi hastadan ve akut miyeloid lösemi olan 13 hastadan toplanan primer hücreler arasındaki anormal hücrelerin çoğunluğuna etki etmiştir. % 75-80 oranında akut lenfoblastik lösemi hücrelerini ve akut miyeloid lösemi hücrelerini öldürmüştür. Bu etkilerden sorumlu bileşenler tespit edilememiştir. Sonuç olarak söğüt yaprağı ekstresi içerisindeki metabolitler, apoptozu teşvik eden, DNA hasarına neden olan ve hücre membranlarını ve/veya proteinleri denatüre eden tümörleri inhibe edebilmektedir (39).

### 2.3.6. Antipiretik aktivite çalışmaları

Ateşi yükseltilmiş sıçanlarda salisin, saligenin ve salisilik asitin antipiretik etkileri değerlendirilmiştir. Salisinin sıçanlara intragastrik olarak verilmesinden sonra metabolit salisilik asit yavaşça plazmada ortaya çıkmıştır. Konsantrasyonlar, sodyum salisilat veya saligeninin oral yoldan verilmesinden sonra gözlemlenen hızlı görünümün tersine yavaş yavaş artmıştır. 5 mM/kg vücut ağırlığı dozunda oral olarak uygulanan salisin ateşi olmayan sıçanların rektal sıcaklığını etkilemezken, aynı dozda sodyum salisilat ve saligenin vücut sıcaklığını önemli ölçüde düşürmüştür. Bununla birlikte salisin maya kaynaklı ateşi önemli ölçüde azaltmış, normal bir vücut ısısı üretmiştir. Mayayla aynı anda uygulandığında ateşi tamamen önlemiştir. Salisin 5 mM/kg vücut ağırlığı dozlarında uygulandığında gastrik lezyonlara neden olmamıştır. Buna karşılık sodyum salisilat ve saligenin, 1, 2.5 ve 5 mM/kg vücut ağırlığı dozlarında uygulandığında, doza bağımlı olarak şiddetli mide lezyonlarını indüklemiştir. Salisin zayıf emilimi, salisilik asit ve saligenin hızlı absorpsiyonu bu hayvan modelinde doğrulanmıştır. Oral uygulamadan bir saat sonra sıçanların bağırsak yollarında sadece küçük miktarlarda salisilik asit ve saligenin bulunduğu tespit edilmiştir ve dozun % 15,8'i uygulamadan 4 saat sonra halen saligenin olarak mevcuttur. Bir salisin dozunun % 50'den fazlası, tedaviden 1 saat sonra bağırsak yollarında salisin ve saligenin olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar salisinin, yavaş yavaş bağırsağın alt kısmına taşındığını bağırsak bakterileri tarafından saligenine hidrolize edildiği ve emilim sonrasında salisilik aside dönüştüğü ortaya koyan bir ön ilaç olduğunu göstermiştir. Böylece gastrik hasara neden olmadan ateş düşürücü etki yaratmıştır (40).

### 2.3.7. Antikoagülan Aktivite Çalışmaları

Kronik sırt ağrısı olan 51 hastanın tedavisinde kullanılan söğüt kabuğu ekstresinin antikoagülan aktivitesini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Akut kronik bel ağrısı alevlenmesi olan otuz beş hastaya rastgele çift kör çalışmada, ekstre veya plasebo verilmiştir. Stabil kronik iskemik kalp hastalığına sahip diğer 16 hastaya günde 100 mg ASA verilmiştir. Tedavi edilen hastaların trombosit agregasyonu incelenmiştir. Agregasyon ajan olarak araşidonik asit, adenzin difosfat ve kollajen kullanılmıştır. Araşidonik asitin neden olduğu ortalama maksimal trombosit agregasyonu, sırasıyla ekstre, plasebo ve ASA ile tedavi edilen gruplar için % 61, % 78 ve % 13 olmuştur. ASA'nın ekstre ve plaseboya kıyasla trombosit agregasyonu üzerinde anlamlı bir inhibitör etkisi olmuştur. Araşidonik asit ve ADP ile indüklenen maksimal trombosit agregasyonunda plasebo ve ekstre ile muamele edilen gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Kollajen insan trombositlerine eklendiğinde, üç grupta trombosit agregasyonu açısından istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Ekstrenin (240 mg salisin) günlük tüketimi platelet agregasyonunu ASA'ya göre daha az etkilemiştir (41).

### 2.3.8. Migren üzerine Aktivite Çalışmaları

54 hastayı kapsayan, plasebo kontrollü çift kör bir klinik çalışmada, migren veya gergin tip baş ağrısı tedavisinde salisin içeren topikal bir ilacın etkinliği değerlendirilmiştir. Tüm hastalar, Baş Ağrısı Bozukluklarının Uluslararası Sınıflandırması (HIS) ile uyumlu baş ağrısı kriterlerine sahiptirler ve yaklaşık olarak 40 yılda en az 1 yıl boyunca baş ağrısı çekmişlerdir. Hastalar iki gruba ayrılmıştır. İlk grup topikal plasebo alırken diğer gruba salisin içeren topikal bir ilaç verilmiştir. Hastalara, baş ağrısı başlangıcında rolon şeklinde ilacı frontal bölgeye uygulamışlar, alışımlı oral veya parenteral ilaçlarını alıp, gözlerini ve frontal bölgeyi örten bir maske uygulandıktan sonra hastalar yatırılmışlardır. Daha sonra katılımcılar bu topikal ilaç ve maskelerle rahatlama derecesini 0 ila 10 ölçekleriyle derecelendiren formları doldurmuşlardır. Ayrıca bu tedavinin yararlı olup olmadığı sorulmuştur. Plasebo alan 20 hastanın yedisi ilaç ve maskenin yardım ettiğini belirtmiştir. Bu grup tedaviyi 0 ila 10 ölçeğinde, ortalama 4.31 olarak değerlendirmiştir. Salisin alan 34 hastanın 28'i ilacın etkili olduğunu belirtmiştir. Bu grup, ilaca 0 ila 10 aralığında 7.42 puan vermiştir. Salisin ile tedavi edilen hastaların çoğunluğu, analjezik veya narkotik ilaçlara duyulan ihtiyacı olduğu gibi maske ile baş ağrısı sürelerinin önemli ölçüde azaldığını

belirtmişlerdir. Bu çalışma, migren veya gerilme tipi baş ağrısı olanlarda plasebo ve salisin arasında, fotoprotektif maske ile ilişkili olarak önemli bir fark olduğunu göstermektedir (42).

## **2.4. Kullanılış**

### **2.4.1. Tıbbi kullanımı**

Bel ağrısının hafifletilmesi, hafif osteoartrit ve romatizmal şikâyetlerin semptomatik olarak hafifletilmesinde etkisi bulunmaktadır (15).

Doğal tedaviye ilginin artmasıyla, birçok kişi aspirine karşı beyaz söğütü alternatif olarak değerlendirmeye başlamıştır. Bir çift kör, plasebo kontrollü çalışma sonucunda sırt ağrısı için etkili olduğu, yapılan bir başka çalışmada ise osteoartrit için faydalı olduğu tespit edilmiştir. Beyaz söğüt bursit, dismenore, gerginlik tipi baş ağrısı, romatoid artrit ve tendonit gibi durumlar için de kullanılmaktadır (14).

Söğüt ağacı kabuğu ekstresi, uzun yıllar kullanımına rağmen, çok az sayıda hayvan ve insan çalışmaları kabul alıp yayımlanmıştır. Az sayıda gerçekleşen klinik çalışmalarda, söğüt kabuğu ekstresinin kronik sırt ve eklem ağrıları ile osteoartritte kullanımı desteklenmiştir. Söğüt kabuğu ekstreleri, insan çalışmaları ile doğrudan ve dolaylı faydalı etkileri yayınlanmamasına rağmen, antienflamatuvar ve analjezik etkilerinden dolayı spor performans ve zayıflama ürünlerinde yaygın olarak kullanılmıştır. Söğüt kabuğu ekstresi genellikle salisinle standardize edilmiş olsa da ekstre içindeki diğer bileşenler terapötik etkide önemli rol oynamaktadır (17).

Beyaz söğüt kabuğu ekstresi, yaygın olarak, eklem ya da diz ağrısı, akut bel ağrısı, osteoartrit, baş ağrısı, adet krampları, tendinit, ateşle seyreden soğuk algınlığı semptomları ve yaygın ağrılarda kullanılır. Sınırlı sayıda klinik çalışmalar hayvan ve *in vitro* çalışmaları söğüt kabuğu ekstresi ile yapılmıştır (43).

### **2.4.2. Türkiyedeki *Salix* türlerinin geleneksel kullanımı**

*Salix* türlerinin halk arasında geleneksel kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde;

E. Özdemir ve ark., Toros Dağları'nın batı kısmında (Aladağlar, Niğde) yaptıkları etnobotanik çalışmada, yüksek ateşi düşürmek için halkın *Salix alba* L. türünün kök, yaprak ve kabuklarının infüzyonunu kullandıkları gözlemlemiştir (44).

Yapılan başka bir çalışmada Ankara'da yetişen *Salix* türleri araştırılmış ve *Salix alba* yapraklarının Osmanlı Döneminde egzemada; gövde ve dal kabuklarının ise çarpıntılara karşı kullanıldığı saptanmıştır. Gümüşhane, Şiran, Çevre pınarı köylerinde söğüt yaprakları yoğurt ile karıştırılarak bir yatağın üzerine serilir, hasta yatırılır ve hastanın üzeri yine bu karışımla örtülür. Hasta terledikten sonra başka bir yatağa alınır. Güneş çarpmış hastalar için yine bir yatak hazırlanır. Yatağın altına güneş doğmadan toplanmış söğüt yaprakları serilir. Hastanın üstü de söğüt yapraklarıyla kaplanır. Hasta terleyince uygulama tamamlanır. Bitlis, Mutki'den bilinen bir uygulamada yaprağın dekoksyonu ile elde edilen banyoda romatizmalı hasta yıkanır (6).

Yeşilada ve ark., Toros Dağları'ndaki (Akseki köyü ile bölgenin doğusundaki Bolkar Dağlarıyla sınırlanan bölge) geleneksel halk ilaçları araştırmalarında; bölgede *Salix alba* L. türünün yetiştiği ve söğüt kabukları külünün su ile karıştırılmasıyla hazırlanan bulamaçın, yulaf meyvesi içine konularak yılcık tedavisinde geceleri bacaklara uygulandığını gözlemlemiştir. Uygulama alanından sarı bir akıntı gelmiş ve daha sonra yarayı açmak için taze sinirli ot yaprağı uygulanmıştır (45).

Batı Anadolu'da (Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın) yapılan başka bir geleneksel halk ilaçları çalışmasında bölgede *Salix babylonica* L. yetiştiği ve yapraklarının baş ağrısı ve güneş çarpmasında; haricen alına uygulanması ile kullanıldığı kaydedilmiştir (46).

Yeşilada ve ark., yaptıkları Kuzey-batı Anadolu'daki (Zonguldak, Bartın, Karabük ile Kocaeli ve Sakarya) geleneksel halk ilaçları çalışmalarında, *Salix alba* L. türünün taze yapraklarının yenilmesiyle oksiyüriazise karşı tedavide kullanıldığını kayıt etmişlerdir (47).

Sezik ve ark., İç Anadolu'da (Ankara, Kayseri, Niğde, Karaman'ın güneydoğusu ve Konya) yaptıkları geleneksel halk ilaçları çalışmalarında, bölgede, *Salix triandra* L. türünün yetiştiğini ve gövde kabuklarının külü ile su karışımından yapılan bulamaçın siğiller üzerine uygulanmasıyla siğili yok etmekte kullanıldığını kaydetmişlerdir. Normal deri üzerinde iritasyon yaptığından dikkatli olunmalıdır. Benzer bir tedavi,



söğüt yapraklarının vurularak elde edilen suyunun siğiller üzerine uygulanarak siğilleri yok etme tedavisinde kullanılmıştır (48).

Kızamık ateşinde yapraklarının dekoksasyonu çay şeklinde kullanılmıştır (48).

Güneş çarpması ve soğuk algınlığında antipiretik olarak kullanılmıştır. Taze yaprakları sirke ile ıslatılarak hastanın göğüs ve sırtına uygulanmıştır (48).

Kaval ve ark., Geçitli ve Hakkari ili çevresindeki yaptıkları etnobotanik çalışmada bölgede *Salix aegyptiaca* L. ve *Salix alba* L. türlerinin yetiştiğini ve bunlardan sadece *Salix alba* yapraklarının maserasyonunun kompresyon yöntemiyle diş ağrısında kullanıldığını saptamışlardır (49).

Polat ve ark., Espiye, Giresun ili çevresinde yaptıkları etnobotanikal çalışmada, bölgede *Salix alba* türünün yetiştiğini ve yapraklarından hazırlanan dekoksiyonun siğil ve diyabet tedavisinde kullanıldığını gözlemlemişlerdir (50).

Yapılan başka bir çalışma ise Mihalgazi (Eskişehir) bölgesinde *Salix babylonica* L. türünün yetiştiğini, yapraklarından yapılan infüzyonunun hergün bir bardak içilmesi kaydıyla diyabette; gövde kabuklarının infüzyonunun ise gerekli durumda bir bardak içilmesiyle analjezik olarak kullanıldığı kaydedilmiştir (51).

### **2.4.3. Kontrendikasyonlar**

*Salicis cortex*, aşırı duyarlılık, bitki materyallerine veya salisatlara alerji durumunda kontrendikedir (örneğin, astım, bronş spazmı, rinit veya ürtiker) (40).

Hamilelik ve emzirme döneminde, salisilat intoleransı olanlar ile bozulmuş trombosit fonksiyonu bozuk olan hastalarda ve 12 yaş altı küçük çocuklarda kontrendikedir (40).

### **2.4.4. Uyarılar**

12 yaşın altındaki çocuklarda *Salicis cortex*, yalnızca Reye Sendromu olasılığı nedeniyle bir sağlık profesyonelinin tavsiyesi üzerine kullanılmalıdır. Viral bir enfeksiyondan sonra hasta olan bir çocuk veya ergende ciddi kusma, uyuşukluk, bilinç kaybı varsa Reye Sendromundan şüphelenilmelidir. Bu son derece nadir görülen, hayatı tehdit eden bir hastalıktır, acil tıbbi yardım gerektirir (15,40).

Ciddi karaciğer veya böbrek fonksiyon bozukluğu, pıhtılaşma bozuklukları, gastrik/ duodenol ülser ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz eksikliği durumunda, ürün sadece gözetim altında kullanılmalıdır (40).

3 günden uzun süren 39°C ve üzerindeki ateşli hastalık durumunda bir sağlık uzmanına danışılmalıdır. Akut eklem şişmeleri, kızarıklık ve hareket bozukluğu koşulları, Salicis cortex'in ilk haftasında devam ediyorsa veya daha da kötüleşirse bir sağlık uzmanına danışılmalıdır (40).

Diğer NSAI ilaçlara aşırı duyarlılığı olan hastalarda Salicis cortex kullanımı önerilmemektedir. Astım hastalığında şiddetli reaksiyonlar (akut bronkospazm) oluşabileceği için kullanılmalıdır (40).

#### **2.4.5. Güvenirlik**

Daha öncede belirtildiği gibi salisin, kimyasal olarak salisilik asit ve ASA ile benzerdir. Bununla birlikte salisinin, salisilik asit veya aspirin kadar mideyi rahatsız edici etkisi görülmemiştir sonucuna dayanılarak yan etkiler hafif olma eğilimindedir (43).

Aspirin alerjisi olan kişiler söğüt kabuğu kullanmaktan kaçınmalıdır (17,27). Anafilaktik reaksiyon içeren bir vaka çalışması bildirilmiştir. Doğrudan söğüt kabuğundan kaynaklı olduğunu onaylamak için hiçbir test yapılmamıştır (33).

Beyaz söğüt kabuğu ekstresi kullanımında, akut solunum sıkıntısı sendromuyla ilgili bir rapor bildirilmiştir. Hastada, beyaz söğüt kabuğu takviyesini içtikten 30 dakika sonra aniden kesik kesik öksürük ve nefes darlığı gelişmiştir. Besin takviyesinin kaynağı ve bileşimiyle ilgili hiçbir bilgi sağlanamamış ve doğrulamak için hiçbir test yapılmamıştır. Hasta başarılı bir şekilde metilprednizolon, difenhidramin ve ranitidin ile tedavi edilmiştir (52).

Söğüt kabuğu ekstresinin kullanımına ilişkin çeşitli uyarılar yayımlanmıştır. Gastrit, mide ülseri, şeker hastalığı, astım ya da hemofili olan kişiler söğüt kabuğu ekstresi kullanmaktan kaçınmalıdır. Ayrıca söğüt kabuğunun antikoagülanlarla, betabloker ve diüretiklerle ve NSAID türü ilaçlarla etkileşime girebileceği de belirtilmektedir. Buna ek olarak, 16 yaşından küçük çocuklarda Reye Sendromuna

neden olabilecek potansiyellerinin olmasından dolayı beyaz söğüt kabuğu ekstresininin kullanılması önerilmez (53).

Söğüt kabuğu ekstresinin yaygın kullanımına rağmen herhangi bir mide ülseri, kanama bozukluğu veya ilaç etkileşimleriyle ilgili vaka bildirilmemiştir. Yine de en ciddi yan etkinin aspirin ve salisilatlarla alerjisi olan bireylerde anafaktik reaksiyonlar olabileceği düşünülmektedir (20, 27, 33, 49). Yalnızca söğüt kabuğu ekstresi ya da diğer bileşenlerle birlikte olan 70 ürün ile yapılan bir çalışmada, sadece % 4,3 oranında aspirin duyarlılığı ve % 2,9 Reye Sendromu hakkında uyarı listelenmiştir (54).

#### **2.4.6. Yan etkiler ve toksisite**

Önemli bir yan etkisi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, mide rahatsızlığı, ülserler, mide bulantısı, kusma ve mide kanaması, salisilat içeren tüm bileşiklerin potansiyel yan etkileri olmaktadır. Söğüt kabuğunun aşırı dozları deri döküntüsü, mide tahrişi, mide bulantısı, kusma, böbrek iltihabı ve kulak çınlamasına neden olabilir (53).

Kanıtlar, standart dozlarda alınan söğüt kabuğunun, çok küçük bir doz olan 50 mg aspirine eş değer olduğunu göstermektedir (14). Söğüt, kan koagülasyonunu, aspirin ile aynı oranda bozmamakta (55) ve mideyi aynı derecede tahriş etmemektedir (14). Bununla birlikte, uzun vadede veya yüksek dozlarda kullanıldığında, söğüt kabuğunda aspirin ile ilişkili yan etkilere neden olabileceğini varsaymak mantıklı görünmektedir. Aspirin tedavisinin tüm riskleri potansiyel olarak geçerlidir (17).

#### **2.4.7. İlaç etkileşimleri ve diğer etkileşimler**

Söğüt kabuğu, kan inceltici, antiinflamatuvar ilaçlar, metotreksat, metaklopramid, fenitoin, probenesid, spironolaktan ve valproat ile olumsuz etkileşime girebilir. Varfarin, heparin, klopidogrel, tiklopidin ve pentoksifilin gibi kan sulandırıcı ilaçlarla kombine kullanılmamalıdır. Aspirin, metotreksat, metaklopramid, fenitoin, sülfonamid, spironolakton ve diğer potasyum tutucu diüretikler ve valproik asitle birlikte kullanılmamalıdır. Gebe, emziren, ciddi karaciğer ya da böbrek hastalığı olanlarda güvenilirliği bilinmemektedir (14).

Günümüzde, salisinin kumarin ve heparin gibi antikoagülan ilaçlarla etkileşime girdiğini gösteren herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, Salicis cortex,

antikoagülanların etkilerini artırabilir. Antikoagülan tedavi alan hastalar, sağlık uzmanının gözetimi olmadan bitkisel ürün kullanmamalıdır (40).

#### **2.4.8. Dozaj ve doz aşımı**

Tedavide kullanılacak standart söğüt kabuğu ekstresinin 120 ila 240 mg/gün dozda salisin içermesi beklenmektedir (14). Yetişkin oral günlük doz: 120-240 mg toplam salisine eşdeğer ekstreler, tentürler, fluideksler ya da ikiye bölünmüş dozda, 6-12 mg toz edilmiş drog (120-240 mg toplam salisine karşılık gelen) dekoksilyonudur (40).

Aşırı doz: Toksik etki rapor edilmemiştir (15).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

İki ana başlık altında toplanan bu bölümde ilk kısımda deneylerde kullanılan bitkisel materyaller hakkında bilgi verilmektedir.

İkinci kısımda ise Avrupa Farmakopesi'ne göre bitkisel materyallerin analizinde kullanılan yöntemler hakkında detaylı bilgiler verilmektedir.



### 3.1. Bitkisel materyaller

**Tablo 5. Bitkisel materyallerin kaynakları**

Bitki Materyali	Ambalaj Türü	Şehir	Fotoğraf
Söğüt kabuğu materyali-1	Kapalı ambalaj	Ankara	
Söğüt kabuğu materyali-2	Kapalı ambalaj	İstanbul	
Söğüt kabuğu materyali-3	Kapalı ambalaj	İstanbul	
Söğüt kabuğu materyali-4	Kapalı ambalaj	Ankara	
Söğüt kabuğu materyali-5	Kapalı ambalaj	İstanbul	
Söğüt kabuğu materyali-6	Kapalı ambalaj	Mersin	

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Avrupa Farmakopesi 7.0'a göre bitkisel materyallerin analizi**

Avrupa Farmakopesi 7.0'da yer alan "Salicis cortex" monografi esas alınarak aktar ve baharatçılardan alınan 6 farklı söğüt kabuğu örneği farmakope formatında incelenmiştir.

#### **3.2.1.1. Makroskobik inceleme**

Droğun ilk teşhisi için önemli bir incelemedir. Salicis cortex örneklerinin Leica Zoom 2000-Z30V binoküler lup altında morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Materyaller beyaz kâğıt üzerine yayıldıktan sonra kabukların kalınlıkları bir cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Yakından resimleri çekilen örneklerin özellikleri belirlenmiştir. Dış ve iç yüzey özellikleri, renkleri, tabakaları, kabukların kırılışı (lifli, düz) makroskobik açıdan incelenmiştir.

#### **3.2.1.2. Mikroskobik İnceleme**

Labaratuvar şartlarında Carl Zeiss Axio lab a1 mikroskobu kullanılarak tüm materyallerin mikroskobik özellikleri belirlenmiştir. İnceleme ortamı olarak kloralhidrat çözeltisi ve SARTUR çözeltisi kullanılmıştır. 355 numaralı elekten geçecek şekilde toz edilmiş olan numunelerin hepsi, kloralhidrat ve SARTUR çözeltisi kullanılarak 10x10 ve 10x40'lık oranda büyütülerek mikroskop altında incelenmiştir. Materyallerde lif demetleri, kalsiyum okzalat kristalleri, kalınlaşmış mantar hücreleri, kollenkima dokularının varlığı araştırılmıştır.

#### **3.2.1.3. Yabancı madde tayini**

Droğun elde edilişi sırasında ya da sonradan eklenen yabancı maddelerin belirlenmesine dayanan yöntemdir. Avrupa Farmakopesi 7.0'da yer alan yabancı madde tayinine göre beyaz kâğıt üzerine yayılan bütün numunelerde yabancı maddeler ayrıldıktan sonra miktarları hesaplanmıştır.

Aşağıdaki formüle göre hesap yapılmıştır.

$$\% \text{ yabancı madde} = B \times 100 / A$$

B: Numunedeki yabancı madde ağırlığı

A: Numunenin ağırlığı

Bu hesaplama sırasında söğüt kabukları 100 g ile 500 g arasında miktar ince bir tabaka halinde beyaz bir kâğıt üzerine yayılmıştır. Bu yayılan söğüt kabukları arasında yaprak, tohum, çiçek, tüy, taş, kum, toprak, kıl, böcek ve ağacın diğer kısımları çıplak göz veya 6× oranında büyütme mercek ile incelenip ayrılmıştır. Ayrılan yabancı maddeler tartılarak yüzdesi hesaplanmıştır.

#### 3.2.1.4. Kurutmada kayıp

Droğun 105°C'de taşıdığı nemi kaybetmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Avrupa Farmakopesi 7.0'daki klasik farmakope tayinlerinden kurutmada kayıp deneyine göre tüm numunelerin kütleli kayıp miktarı hesaplanmıştır. Deneyde 105°C'ye ısıtılmış etüv ve desikatör kullanılmıştır.

% kurutmada kayıp oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$D = (A + B) - C$$

$$\% \text{ kurutmada kayıp} = D \times 100 / B$$

A: Porselen kabın darası

B: Tartılan drog ağırlığı

C: Kurutmadan sonraki porselen kabın ağırlığı (son tartım)

D: Kurutma işleminden sonra meydana gelen kütleli kayıp

1'er gram tartılan toz droglar, önceden kurutulan ve darası alınan porselen kapların içinde 105°C'de 2 saat etüvde kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulmaya bırakılmıştır. Soğuyan kaplar tekrar tartılıp kurutma sırasında meydana gelen kayıp yüzde olarak hesaplanmıştır.





Resim 3. Kurutmada kayıp deneyi.

### 3.2.1.5. Toplam kül tayini

Bitkide bulunan ve çevreden gelen anorganik maddelerin gravimetrik bir yöntemle tayin edilmesidir. Avrupa Farmakopesi 7.0'daki klasik farmakope tayinine göre, tüm numunelerin kül miktarları hesaplanmıştır. Deneyde kapalı kroze, desikatör, Carbolite Furnucate CSF 1100 kül fırını kullanılmıştır.

% bütün kül oranı hesaplanırken kullanılan formül aşağıdaki gibidir.

$$D = C - A$$

$$\% \text{ bütün kül} = D \times 100 / B$$

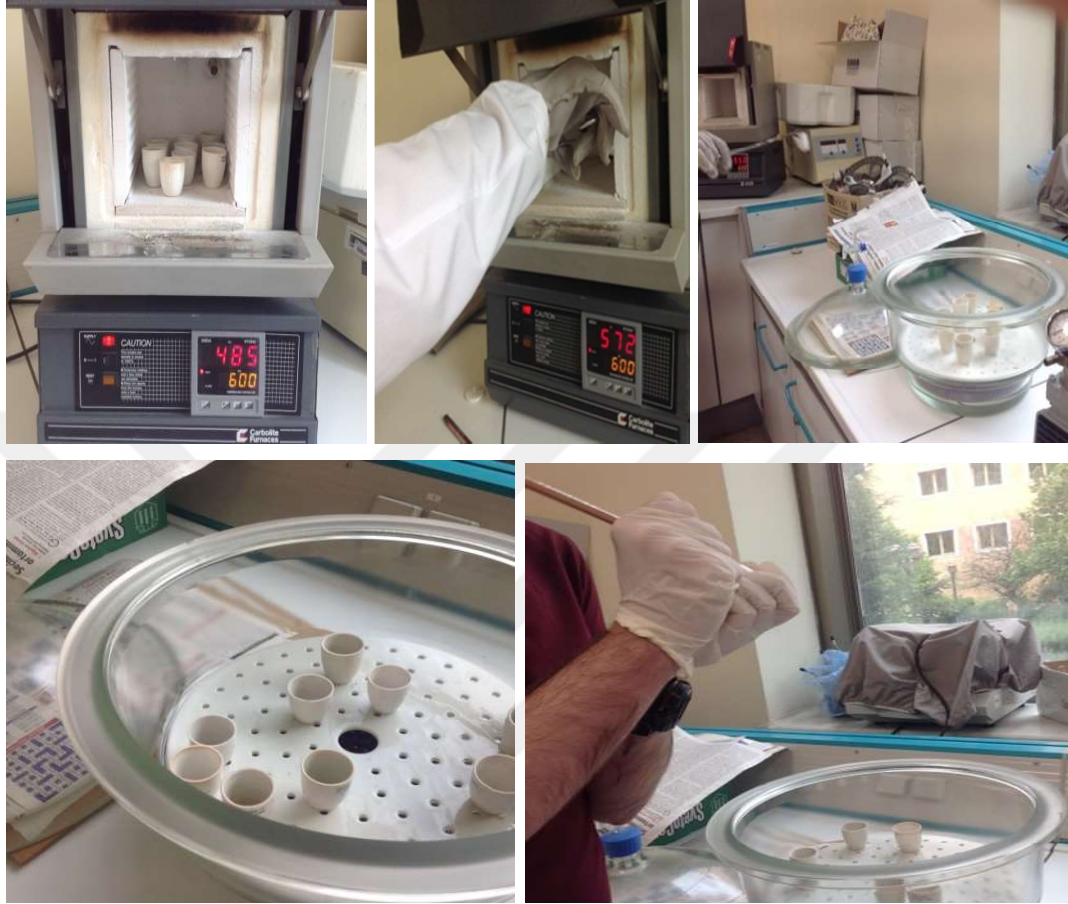
A: Krozenin darası

B: Tartılan drog ağırlığı

C: Soğutma işleminden sonra porselen kabın ağırlığı (son tartım)

D: Toplam kül miktarı

Numaralandırılan krozele etüvde 30 dakika kor haline gelinceye kadar kızdırılmıştır. Desikatörde soğutulduktan sonra tekrar tartılmıştır. 1 gram teşhis edilecek madde krozele konulduktan sonra 60 dakika kül fırınında 600°C'de yakılmıştır. Her bir yakma işleminden sonra desikatörde soğumaya bırakılmıştır. Desikatörden alınan krozele tekrar tartılmıştır. Son tartımdan boş krozenin ağırlığı çıkarılarak kül miktarı bulunmuş ve yüzde cinsinden değeri hesaplanmıştır.

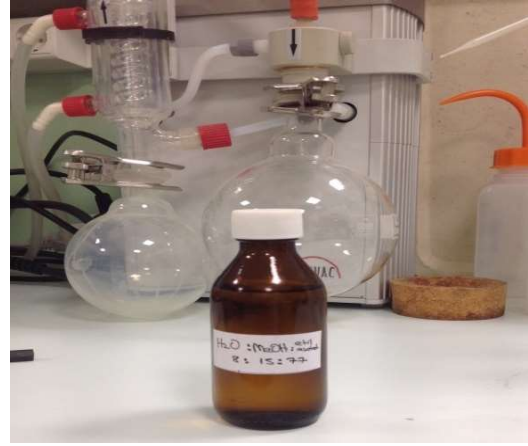


Resim 4. Toplam kül deneyi

### 3.2.2. Teşhis Reaksiyonları

#### 3.2.2.1. İnce tabaka kromatografisi ( İTK)

Deneyde Merck marka (Darmstadt, Almanya) 20x10 cm ölçülerinde 60F<sub>254</sub> TLC silikajel kaplı İTK plakları ve CAMAG marka (Muttens, İsviçre) cam sürüklemeye tankı kullanılmıştır. Referans solüsyon olarak Sigma-Aldrich firmasından temin edilen salisin, görüntüleme için CAMAG UV görüntüleme kabini kullanılmıştır. Deneyin hareketli fazının hazırlanmasında Avrupa Farmakopesi 7.0'da yer alan "Salicis cortex" monografi esas alınmıştır. Bu monografa göre referans solüsyon 2 mg/ml salisin ve 2 mg/ml klorojenik asit içerirken, hareketli faz ise EtOAc:MeOH:H<sub>2</sub>O (77:15:8) şeklindedir.



Resim 5. Hareketli faz hazırlanması

Test solüsyonu A hazırlamak için 1'er gram tartılan toz edilmiş numunelere 10 ml metanol eklendi. 50°C'de su banyosunda çalkalayarak 10 dakika ısıtıldı. Oda ısısına geldikten sonra süzüldü.



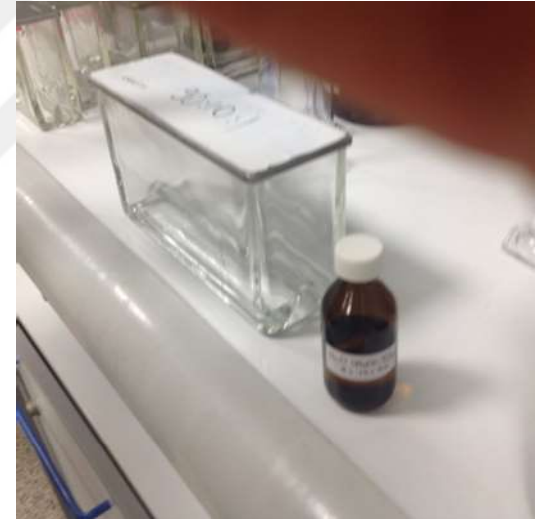
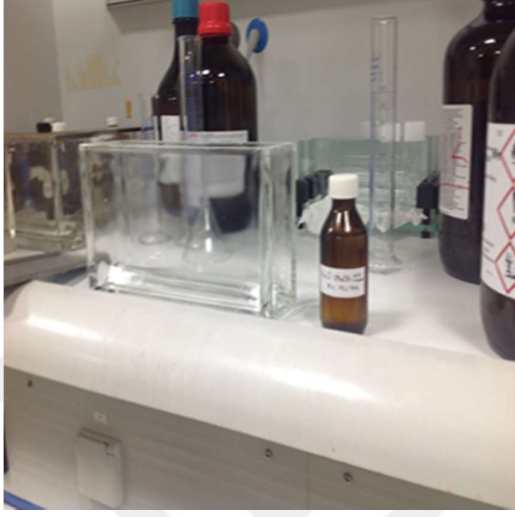
Resim 6. Test A solüsyonunun hazırlanması

Test solüsyonu B hazırlamak için 5 ml test A solüsyonlarından alınıp üzerine 1 ml (50g/L) susuz sodyum karbonat çözeltisi eklenip 60°C’de su banyosunda 10 dk. ısıtılıp soğuduktan sonra süzöldü.



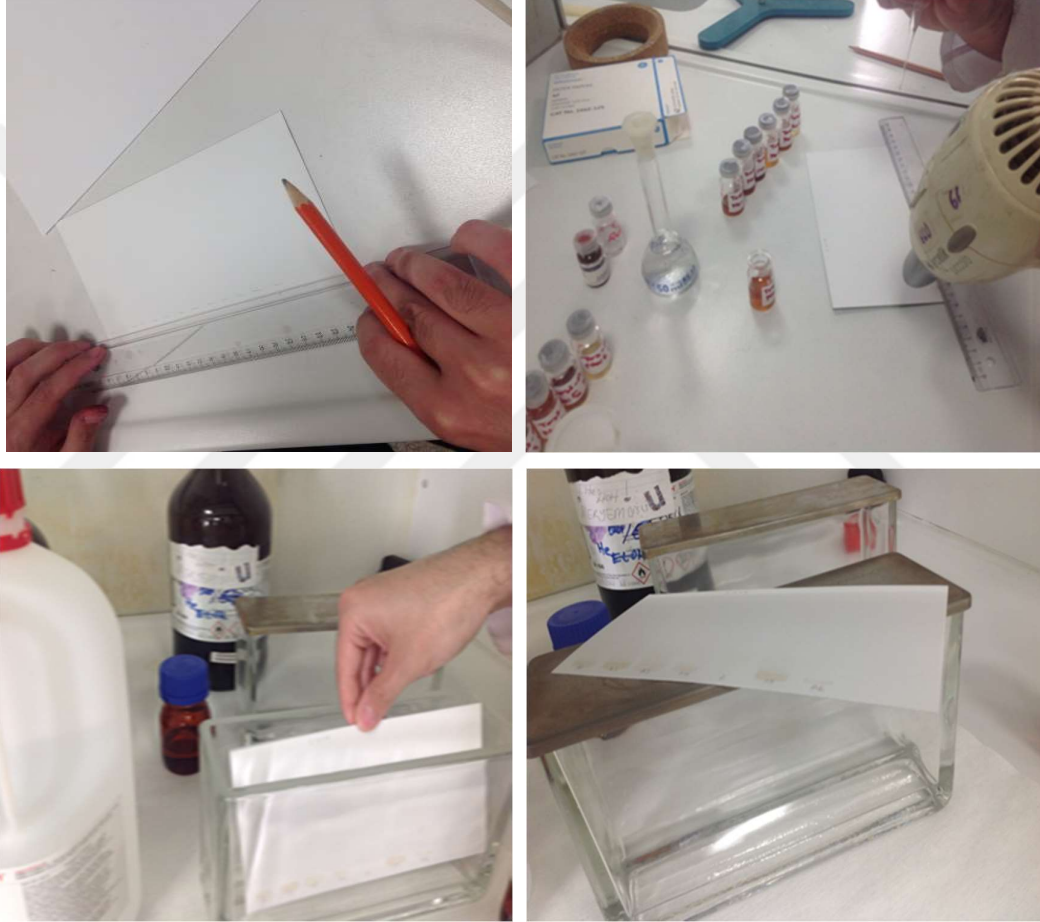
Resim 7. Test B solüsyonunun hazırlanması

Tankın içine hazırlanan hareketli faz konduktan sonra kapağı kapatılarak tankın mobil faz ile doyrulması sağlandı.



Resim 8. İTK tankının hazırlanması

İTK plağına cetvel yardımıyla tatbik edilecek çözeltilerin yerleri plağın alt kısmından 1 ml yukarıdan başlanarak kurşun kalemle işaretlendi. Silikajel kaplı İTK plaklarına referans solüsyon, test A ve test B solüsyonlarından tatbik edildi. İTK plakları mobil faz ile doyurulmuş tankın içine konuldu. 8 cm sürüklenme gerçekleştikten sonra alınan İTK plakları kurumaya bırakıldı.



Resim 9. İTK plaklarının hazırlanması

Kuruyan İTK plaklarının üzerine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: MeOH (5:95) karışımından yapılan sprey sıkıldı. 105°C’de 5 dakika ısıtıldı. Etüvden alınan İTK plakları gün ışığında ve UV lambası altında incelendi.

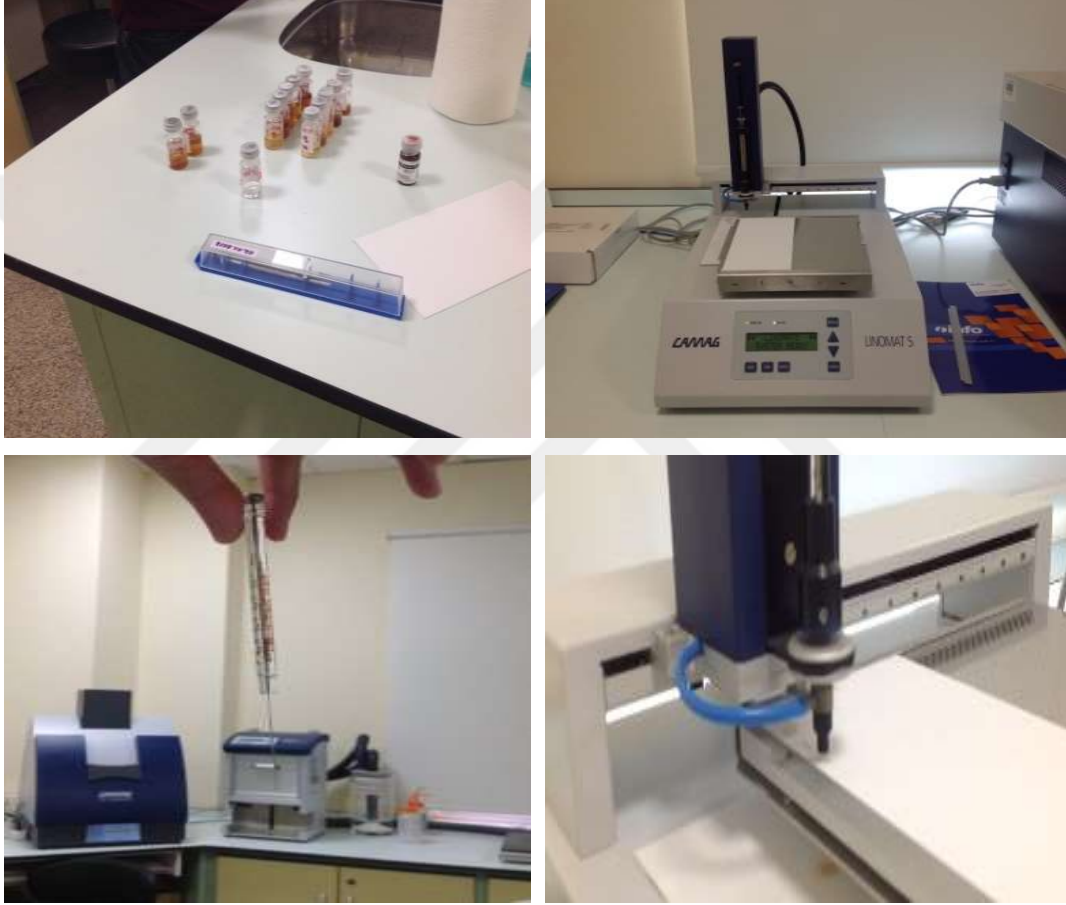


Resim 10. İTK yönteminin son aşaması

### 3.2.2.2. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi ( HPTLC)

Deneyde İTK plağı olarak Merck marka 60F<sub>254</sub> TLC silikajel kaplı İTK alüminyum plakları, CAMAG Linomat 5 YPİTK cihazı, 20x10 ölçülerinde CAMAG marka cam sürüklenme tankı, CAMAG UV görüntüleme kabini kullanılmıştır. Avrupa Farmakopesi 7.0’da yer alan “Salicis cortex” monografi referans olarak alınmıştır. Referans solüsyon 2 mg/ml salisin ve 2 mg/ml klorojenik asit içerirken, hareketli faz ise EtOAc:MeOH:H<sub>2</sub>O (77:15:8) şeklindedir.

İTK için hazırlanan test A ve test B çözeltileri kullanılmıştır. silikajel ile kaplı İTK plaklarına Test A, B ve referans çözeltiler plağın kenarından 15 mm uzaklıktan başlayıp, dipten 8 mm yükseklikte 10 µl hacimde cihazın enjektörü ile tatbik edilerek İTK plakları kurutulmaya bırakılmıştır.



Resim 11. YPİTK cihazının kullanılması



EtOAc:MeOH:H<sub>2</sub>O (77:15:8) ile yapılan hareketli faz ile doyurulmuş kromatografi tankının içine İTK plakları konulup 9 cm sürüklenme gerçekleştirildikten sonra İTK plakları tanktan çıkarılıp kurutulmaya bırakılmıştır. Kuruyan İTK plaklarının 254 ve 366 dalga boyundaki UV ışığı altındaki görüntüleri çekilmiştir. Kuruyan İTK plaklarının üzerine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:MeOH (5:95) karışımından yapılan sprey ile püskürtme yapılmış ve etüvde 105°C'de yaklaşık bir dakika kurumaya bırakılmıştır. Etüvden alınan İTK plakları gün ışığında incelenmiştir.



Resim 12. YPİTK yönteminin son aşaması

## 4. SONUÇLAR

Söğüt kabuğu numunelerinde yapılan deney sonuçları verilerek Avrupa Farmakopesi'nde yer alan referans değerlerle karşılaştırılmıştır.

### 4.1. Numunelere ait sonuçlar

Bu kısımda makroskobik, mikroskobik inceleme sonuçları, kurutmada kayıp, toplam kül tayini ve tanınma reaksiyonları sonuçları sunulmuştur.

#### 4.1.1. Makroskobik inceleme sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografisi, makroskobik inceleme sonuçlarını değerlendirmede referans olarak alınmıştır. Materyallerin binoküler lup ve çıplak göz ile incelenmesi sonucunda elde edilen morfolojik bulgular, farmakopede belirtilen özellikler ile karşılaştırılarak Tablo 4'te verilmiştir.



Resim 13. Salicis cortex materyallerinin dış kabuk ve iç kabuk görüntüleri

NUMUNE	Avrupa Farmakopesi 7,0'da belirtilen morfolojik özellikler					
	Kabuklar 1-2 mm kalınlığındadır.	Esnek uzunlamasına ya da kıvrılan parçaları vardır	Dış yüzey pürüzsüz veya uzunlamasına buruşuk sarı yeşilimsi ya da kahverengi-gridir.	İç yüzey türe bağlı olarak prüzsüz veya ince boyuna çizgili, beyaz soluksarı, kırmızımsı-kahverengidir.	Dış kısımdan kırılan parçaları kısa, iç bölgede kaba liflidir.	Mevcut yıldaki dallarının çapı 10 mm den daha büyük değildir. Odunu beyaz ya da soluk sarıdır.
1	2,15 mm 2,00 mm	✓	✓	✓	✓	✓
2	1,12 mm 1,75 mm	✓	✓	✓	✓	✓
3	1,80 mm 2,10 mm 2,00 mm	✓	✓	✓	✓	✓
4	1 cm ✗ 1,2 cm	✗	✓	✓	✓	✗
5	2,03 mm 1,97 mm 2,00 mm	✓	✓	✓	✓	✓
6	1 cm ✗ 4,17 cm	✓	✓	✓	✓	✗

**Tablo 6. Makroskobik inceleme sonuçları**

Yapılan incelemeler doğrultusunda, aktarlardan alınan 1, 2, 3, 5 nolu söğüt kabuğu numunelerinin makroskobik olarak inceleme ile elde edilen bulguların Avrupa farmakopesi 7,0 da yer alan morfolojik özellikler ile aynı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. 4 ve 6 nolu numuneler ise farmakopedeki “Salicis cortex” monografında yer alan makroskobik özelliklerde belirtilen kriterlere uymamaktadır.

#### 4.1.2. Mikroskobik inceleme sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında 355 nolu elekten geçirilen “Salicis cortex” tozu sarı-soluk yeşilimsi, sarı veya açık kahverengidir şeklinde özelliği belirtilmiştir.



Resim 14. Salicis cortex numunelerinin toz edilmiş halindeki renkleri

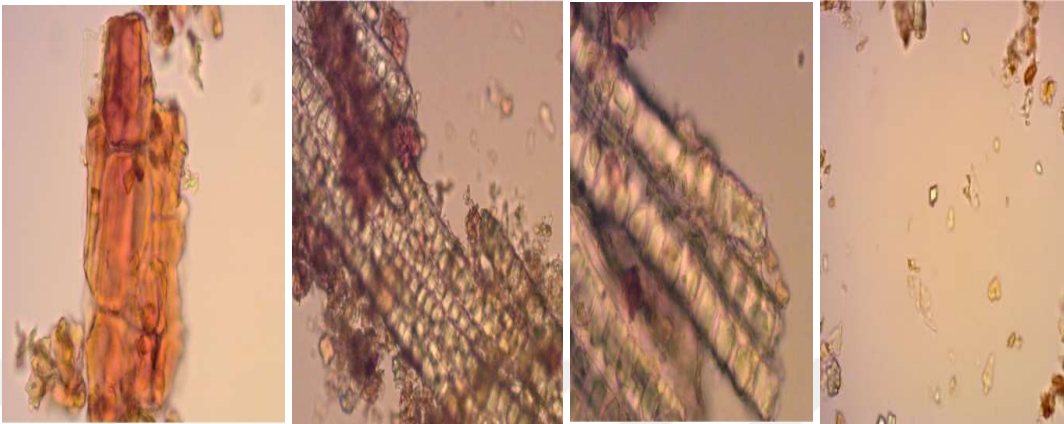
Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında, kabukların kloralhidrat çözeltisi kullanarak mikroskop altında incelenmesi sonucunda en fazla 600 µm uzunluğunda dar lif demetleri, prizma şeklinde kalsiyum okzalat kristalleri kalın duvarları çevrelediği, kalın korteks parankimasının oyuk oyuk ya da çukurlu ve derinden boncuklu duvarlar şeklinde olduğu, büyük kümeler halinde kalsiyum oksalat kristalleri içerdiği belirtilmiştir. Ayrıca kalınlaşmış mantar hücreleri, tomurcuk şeklinde kahverengimsi kollenkima grupları mevcut olduğu, dalların odunlaşmış lif parçaları ve damarları içerdiği de not edilmiştir. Materyallerin mikroskop altında kloralhidrat çözeltisi ile yapılan incelemeler sonucunda elde edilen bulguları, farmakopede belirtilen özellikler ile karşılaştırılarak Tablo 7'de verilmiştir.

**Tablo 7. Mikroskobik inceleme sonuçları**

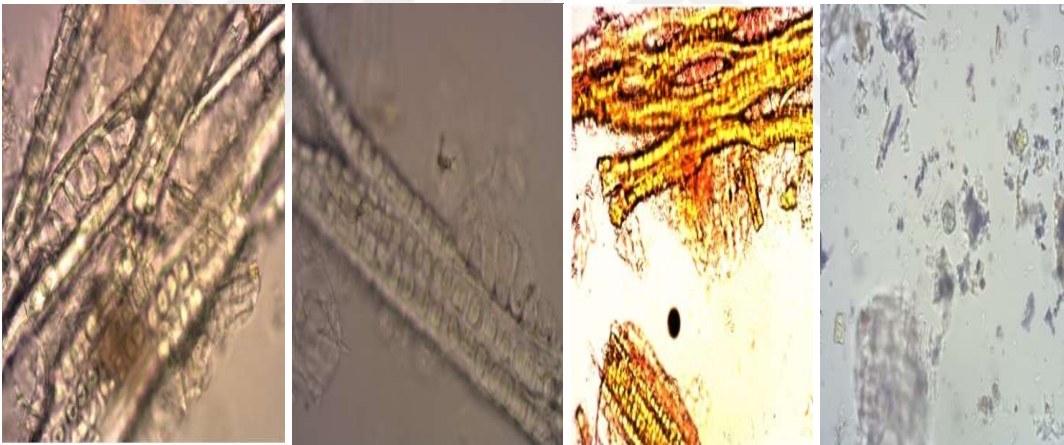
<b>Avrupa Farmakopesi 7.0'da belirtilen mikroskobik özellikler</b>						
Numune	Lif demetleri	Prizma şeklinde kalsiyum okzalat kristalleri	Kalın kortex parankiması ve büyük kümeler şeklinde kalsiyum okzalat kristalleri	Kalınlaşmış mantar hücreleri	Tomurcuk şeklinde kahverengi kollenkima grupları	Dallarda odunlaşmış lif parçaları ve damarları
1	✓	✓	✓	✗	✓	✓
2	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3	✓	✓	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Söğüt kabuğu numunelerinin mikroskop altında görüntüleri

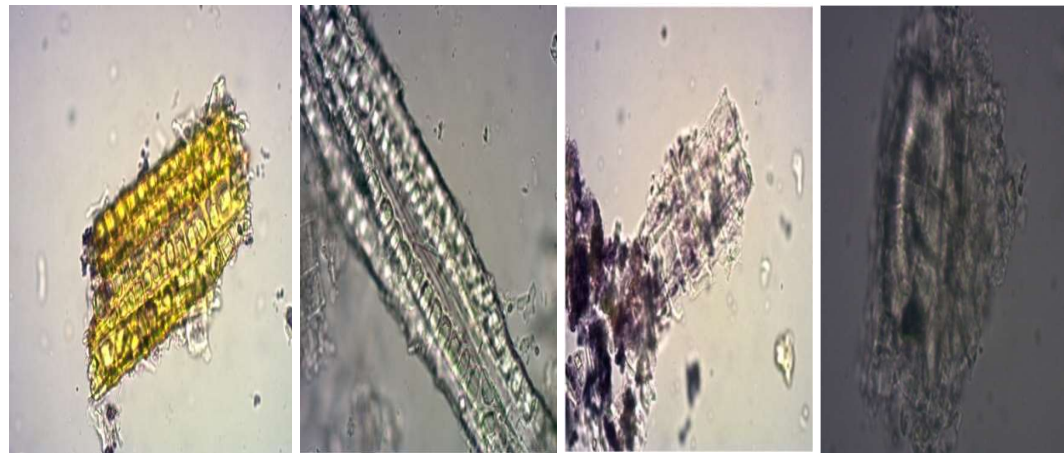
**Numune 1**



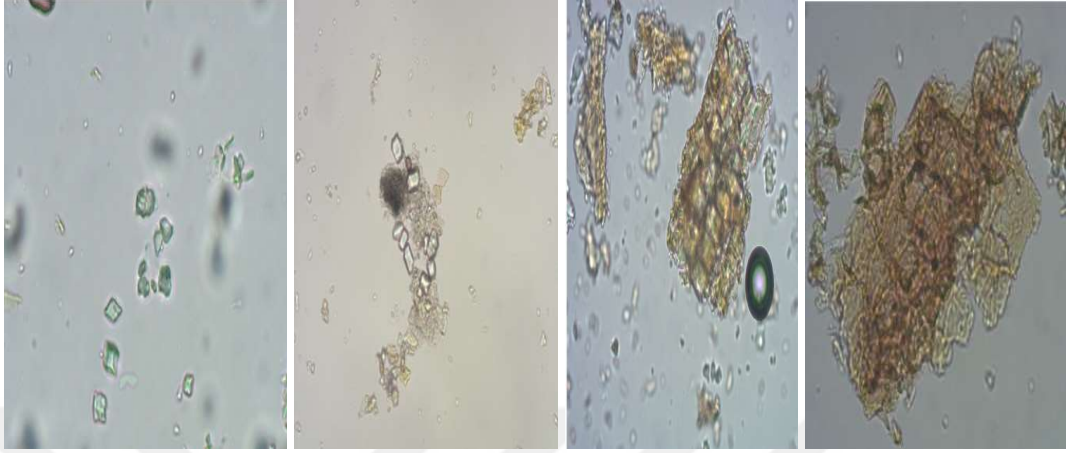
**Numune 2**



**Numune 3**



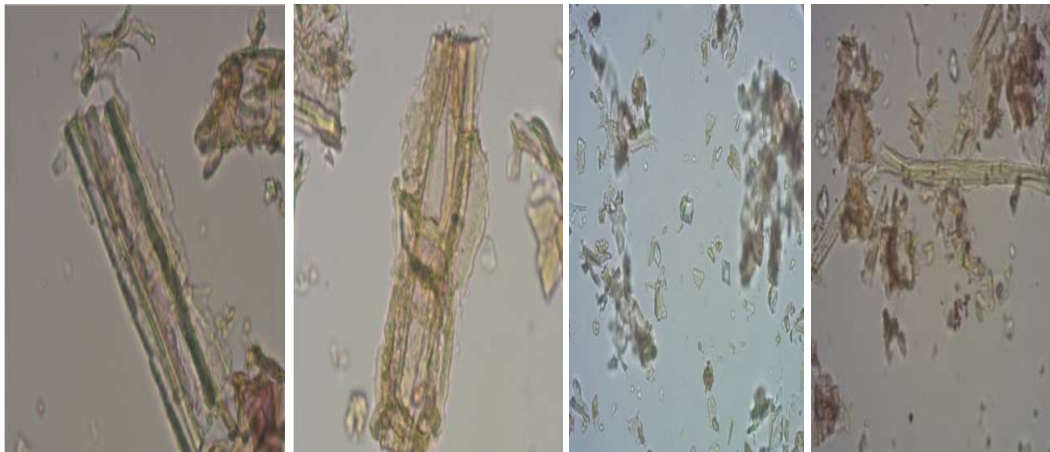
**Numune 4**



**Numune 5**



**Numune 6**



Resim 15. Salicis cortex numunelerinin mikroskop altında görüntüleri

Söğüt kabuğu numunelerinin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda Avrupa farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında belirtilen bilgilerle benzer özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmaktadır.

#### 4.1.3. Yabancı Madde Tayini sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografı yabancı madde tayini sonuçlarını değerlendirmede referans olarak alınmıştır. Monografda "bitkisel droglar küf, böcek ve diğer hayvan artıklarını taşımamalı ve çapı 10 mm'den büyük parça oranı % 3'den fazla, diğer yabancı madde oranı % 2'den fazla olmamalıdır." ifadesi bulunmaktadır.



Resim 16. Salicis cortex numunesinde bulunan yabancı maddelerin ayrılması



Avrupa Farmakopesi 7.0'daki yabancı madde tayini ile materyallerde yapılan incelemelerin sonuçları karşılaştırılarak tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8. Yabancı madde tayini sonuçları**

<b>Avrupa Farmakopesi 7.0'da belirtilen özellikler</b>			
Numune	% 2 den fazla küf, böcek ve diğer hayvan artıkları olmayacak.	Çapı 10 mm'den büyük parça % 3'den fazla olmayacak.	Sonuç
<b>1</b>	59 g numunede 0,13 g yaprak parçaları mevcut y.madde yüzdesi % 1,18	59 g numunenin bütün parçaları 10 mm'den küçük.	✓
<b>2</b>	62,439 g numunede yabancı madde mevcut değil.	62,439 g numunenin bütün parçaları 10 mm'den küçük.	✓
<b>3</b>	73,432 g numunede yabancı madde mevcut değil.	73,432 g numunenin bütün parçaları 10 mm'den küçük.	✓
<b>4</b>	94,190 g numunede yabancı madde mevcut değil.	94,190 g numunede 32,266 g'nın çapı 10 mm'den küçük, 54,924 g'nın çapı 10 mm'den büyük % 58,3 büyük parça mevcut	x
<b>5</b>	53,181 g numunede yabancı madde mevcut değil.	53,181 g numunenin bütün parçaları 10 mm'den küçük	✓
<b>6</b>	55,969 g numunede yabancı madde mevcut değil.	55,969 g numunede 10,752 g küçük parça 45,217 g büyük parça % 80,78 büyük parça	x

Yapılan incelemeler sonucunda aktarlardan alınan söğüt kabuğu numunelerinden 4 ve 6 nolu numuneler hariç diğerleri Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında yer alan yabancı madde tayinine ait bilgilere benzer özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmaktadır.

#### 4.1.4. Kurutmada kayıp sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'da "Salicis cortex" monografı kurutmada kayıp deneyinin sonuçlarını değerlendirmede referans olarak alınmıştır. Farmakopeye göre "1 gram toz drog 105°C'de 2 saat etüvde kurutulduktan sonra en fazla % 11 k/k oranında kayıp belirlenmiştir" şeklinde özellikler belirtilmektedir.

Kurutmada kayıp deneyi yapılan materyallerden elde edilen bulgular ile farmakopede belirtilen özellikler karşılaştırılarak tablo 9'da verilmiştir.

**Tablo 9. Kurutmada kayıp miktarı sonuçları**

Numune	Kurutmada kayıp miktarı (%)	Sonuç
1	9,7	✓
2	7,3	✓
3	6,5	✓
4	6,3	✓
5	7,5	✓
6	10,6	✓

Aktarlardan alınan altı farklı söğüt kabuğu numunesinde yapılan kurutmada kayıp deneylerinin sonucunda, bütün numunelerde farmakopede verilen oranın altında kütleli kayıp meydana gelmiştir. Bu sonuçlar, Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında en fazla % 11 k/k oranına göre geçerli bir miktardır.

#### 4.1.5. Toplam Kül Tayini sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografı kurutmada kayıp deneyinin sonuçlarını değerlendirmede referans olarak alınmıştır. Farmakopeye göre 1 g toz drogda yapılan toplam kül miktarı tayininde en fazla % 10 oranında kül miktarı kabul edilmektedir. Avrupa Farmakopesi 7.0'daki bütün kül deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Tablo 10. Toplam kül miktarı sonuçları**

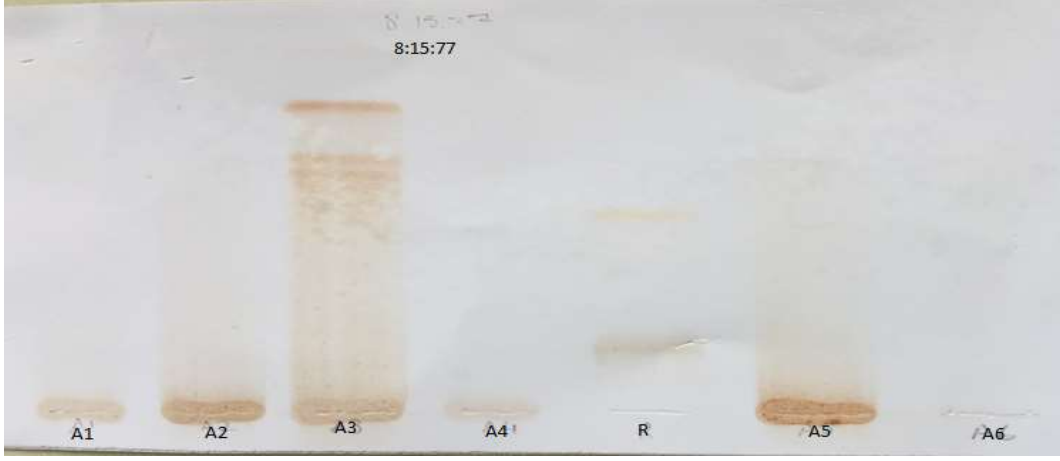
Numune	Toplam kül miktarı ( %)	Sonuç
1	% 8,45	✓
2	%8,79	✓
3	%8,49	✓
4	%19,38	✗
5	%8	✓
6	%10,29	✗

Aktarlardan alınan altı farklı söğüt kabuğu numunesinden 4 ve 6 nolu numuneler hariç hepsi Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografındaki % 10 k/k oranına göre geçerli bir miktardır. 6 nolu numunede % 10,29 kül miktarı ile % 10'a çok yakın bir sonuç elde edilirken 4 nolu numune ise monografdaki kriterlere uymamaktadır.

#### 4.1.6. İTK sonuçları

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında belirtilen İTK deneylerinden yararlanılarak İTK deneyleri yapılmıştır. Bu deneyde 2 tane İTK plağı hazırlanmıştır. Hazırlanan test çözeltileri de İTK ile incelenmiştir.

Deney sonucunda İTK plaklarındaki renk değişiklikleri gün ışığında incelenerek aşağıda görüntüler elde edilmiştir.



Resim 17. Test A çözeltisi tatbik edilmiş İTK plak görüntüsü

Aktarlardan alınan altı farklı Salicis cortex numunesinde yapılan İTK deneyi sonucunda Test A çözeltileri ile referans solüsyondaki renk değişiklikleri karşılaştırıldığında, numunelerden hiçbiri referans solüsyon ile aynı bant görüntüsüne sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

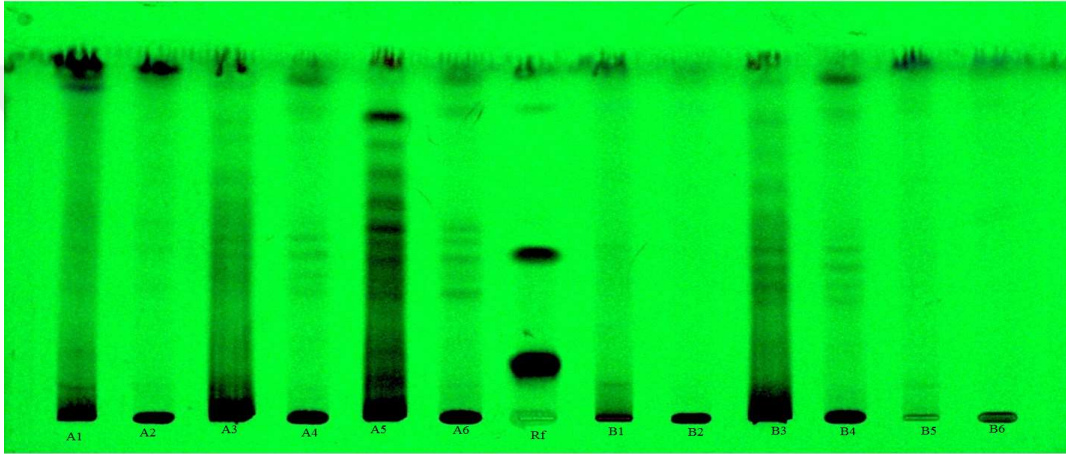


Resim 18. Test B çözeltisi tatbik edilmiş İTK plak görüntüsü

Aktarlardan alınan altı farklı Salicis cortex numunesinde yapılan İTK deneylerinin sonucunda Test B materyallerin tamamının İTK plak görüntüsünde referans solüsyon ile aynı bant görüntüsüne benzemediği tespit edilmiştir.

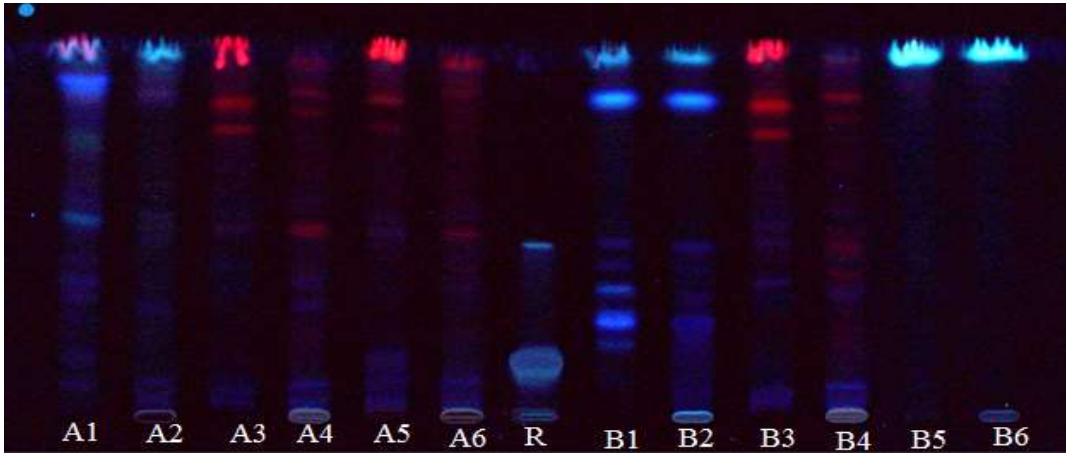
#### 4.1.7. YPİTK sonuçları

YPİTK için Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında belirtilen İTK deneylerinden yararlanılmıştır. 2 tane İTK plağı hazırlanmıştır. İlk plağa test A, test B ve referans çözeltiden 10 µl hacimde tatbik edilirken ikinci plağa 20 µl hacimde tatbik edilerek 2 farklı görüntünün referans çözeltisinin görüntüsüyle karşılaştırılması sağlanmıştır. Deneyin sonucunda 254 ve 366 dalga boyundaki UV ışığı altındaki görüntüleri çekildi. Elde edilen görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Resim 19. Revelatör püskürtülmemiş 1. İTK plağının 254 nm'deki görüntüsü

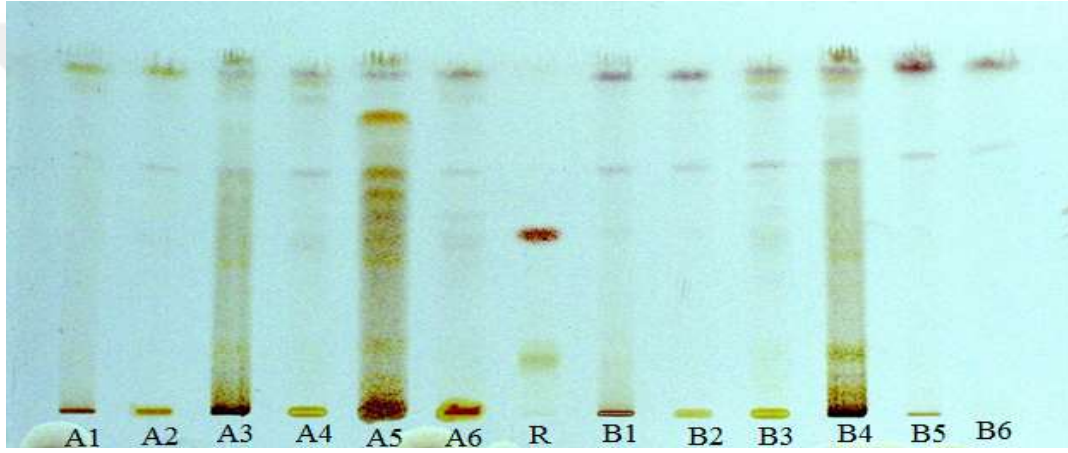
Revelatör püskürtülmemiş İTK plağının 254 dalga boyundaki UV ışığı altındaki İTK plak görüntüsü, referans solüsyonun görüntüsü ile karşılaştırıldığında benzer absorsiyon bant görüntüleri elde edilmemiştir.



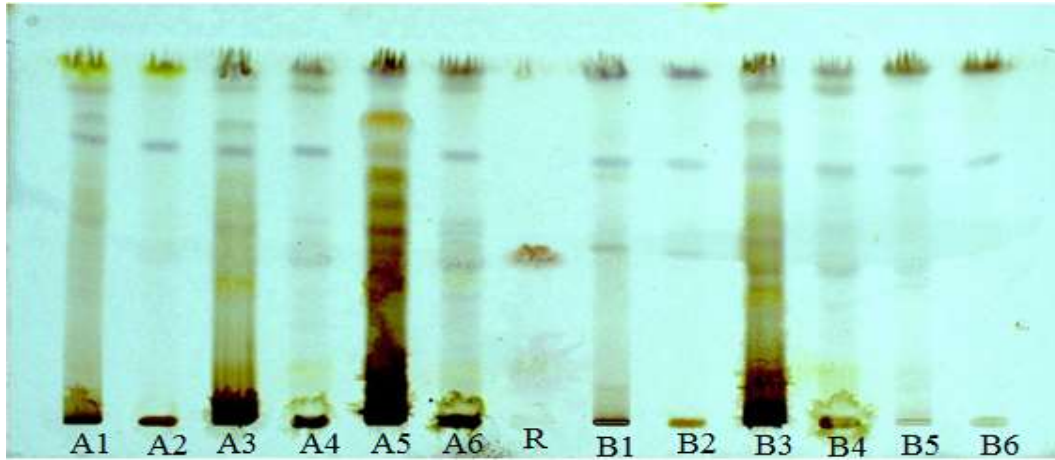
Resim 20. Revelatör püskürtülmemiş 1. İTK plağının 366 nm'deki görüntüsü

Revelatör püskürtülmemiş İTK plağının 366 nm'deki görüntüsünde referans solüsyonu açık mavi bant görüntüsü vermiş, Test A çözeltesinin hiç birinde aynı renk bant görüntüsüne rastlanmamış, Test B çözeltilerinden B1 ve B2'de koyu mavi renk elde edilirken, B4 çözeltisinde kırmızı renk elde edilmiştir. Elde ettiğimiz görüntüler sonucunda hiçbir numunenin referans solüsyonu ile aynı renk bant görüntüsüne sahip olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

İTK plaklarına H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:MeOH (5:95) çözeltisinden yapılan spreyn püskürtülüp, etüvde kurutulmasından sonra elde edilen görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Resim 21. Revelatör uygulamasından sonraki 1. İTK plak görüntüsü



Resim 22. Revelatör uygulanmasından sonraki 2. İTK plak görüntüsü

Yoğun relevant püskürtülmüş plağın güneş ışığındaki görüntüsünde referans solüsyonu koyu kahverengi bir renk bandı verirken, hiçbir numune bu bant görüntüsüne uygun bir renk görüntüsü vermemiştir.

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Aktar ve baharatçılarda “söğüt kabuğu” adı altında satılan altı farklı örnek üzerinde Avrupa Farmakopesi esas alınarak kalite kontrol çalışmaları yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda elde edilen bulgular, farmakope ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Aktarlardan toplanan materyallerin tümüne farmakopede yer alan makroskobik, mikroskobik ve yabancı madde tayini deneyleri, kurutmada kayıp, toplam kül tayini, teşhis (İTK ve YPİTK) deneyleri yapılmıştır.

Yapılan makroskobik incelemeler sonucunda 4 ve 6 nolu söğüt kabuğu numunesi dışında diğer bütün numuneler Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında belirtilen bilgilere benzer morfolojik özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Mikroskobik incelemelerde ise tüm materyallerin farmakope kriterlerine uygun oldukları görülmüştür. Sekonder kabuk, iletme demetleri, primer kabuk kollenkima dokusu ve ca-okzalit hücreleri bütün kabuk örneklerinde mevcuttur.

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında yabancı madde miktarı en fazla % 2'dir şeklinde belirtmektedir. Bütün materyaller bu kurala uyarken, farmakopede belirtilen çapı 10 mm'den büyük parça % 3'den fazla olmayacak kuralına ise 4 ve 6 nolu numuneler uymamaktadır.

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında 1 g toz edilmiş toz drog 105°C'de 2 saat etüvde kurutulduktan sonra en fazla % 11 k/k oranında kurutmada kayıp oranı belirtilmektedir. Yapılan kurutmada kayıp deneylerinin sonucunda bütün numuneler farmakopede belirtilen özelliğe uymaktadır.

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki “Salicis cortex” monografında bütün kül miktarı en fazla % 10'dur şeklinde belirtilmektedir. Buna göre 4 nolu numunede (% 19,38) çok yüksek bir değer bulunurken, 6 nolu numunede (% 10,29) ise % 10'a çok yakın bir sonuç elde edilmiştir. 4 nolu numune, monografında belirtilen değere uymamaktadır.

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında yer alan İTK için hazırlanan test A ve test B çözeltileri kullanılmıştır. Tüm materyaller için 2 tane İTK plağı kullanılmıştır. Bu plaklardan ilkinde test A çözeltisi, ikincisine ise test B çözeltisi tatbik edilerek sonuçlar incelenmiştir. Deney sonunda İTK plaklarına revelatör püskürtme ve etüvde kurutma işlemlerinden sonra elde edilen görüntüleri çekilmiş ve sonuçlar şu şekilde değerlendirilmiştir.

- Test A çözeltisi ile hazırlanan plaktaki absorpsiyon bant görüntüleri referans solüsyon ile karşılaştırıldığında hiçbir plak bant görüntüsü, referans görüntüsüne benzememektedir.
- Test B çözeltisi ile hazırlanan plaktaki absorpsiyon bant görüntülerinde ise hiçbir plak bant görüntüsü, referans solüsyonunun görüntüsüne benzememektedir.

Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografında yer alan İTK test çözeltileri ve mobil faz hazırlama bilgilerinden yararlanılarak materyallere YPİTK deneyleri yapılmıştır. Deneylerde 2 tane İTK plağı kullanılmıştır. İlk plağa Test A ve Test B solüsyonları ve referans çözeltisi tatbik edilirken, ikinci plağa ise bu çözeltiler daha yoğun olarak tatbik edilerek YPİTK ile incelenmiştir. Deney sonucunda, bütün İTK plaklarının UV spektrumunda 254 nm ve 366 nm'deki görüntüleri, İTK plaklarına revelatör püskürtme ve etüvde kurutma işlemlerinden sonra elde edilen görüntüleri çekilmiştir. İTK plakları görüntüleri birlikte aşağıda değerlendirilmiştir.

- 254 nm'de solvan püskürtülmemiş absorpsiyon bant görüntüleri referans ile karşılaştırıldığında hiçbir materyalin görüntüleri birbirine benzememektedir.
- 366 nm'de solvan püskürtülmemiş absorpsiyon bant görüntülerinde ise hiçbir materyalin görüntüsü referans solüsyonu görüntüsüne benzememektedir.
- Solvan püskürtülen 1. İTK plağının güneş ışığı altında görüntüsü referans solüsyon ile karşılaştırıldığında hiçbir materyalin görüntüsü referans çözeltisi görüntüsüne benzememektedir.
- Solvan püskürtülen 2. İTK plağın güneş ışığı altındaki görüntüsü referans solüsyon ile karşılaştırıldığında ise hiçbir materyalin görüntüsü referans görüntüsüne benzememektedir.



*Salix* cinsi, salisin içeriği, ekonomik değeri ve ekosistemlerde üstlendiği rol nedeniyle önemli bir cinstir (6). Ekolojik özelliklerinin yanı sıra, farklı organizmalar için zengin habitat ve gıda kaynağı, hayvanlar için barınak ve gölge, birçok küçük canlı için yaşam ortamı oluşturur. Çabuk köklenebilmesi, kolaylıkla üretilebilmesi, hızlı büyümesi, sürgün verme kapasitesinin yüksek olması gibi nedenlerle, enerji plantasyonları tesisine uygun tür olarak kabul edilir. Bulunduğu yere kolayca uyum sağlayan söğütler, hızla köklenir ve gelişir; yayılan geniş kök sistemiyle toprağı sıkı tutar. Bu nedenle nehir kıyıları, göller, suni göletler, drenaj alanları ve doğal kanalların çevresini sabitlemek için kullanılır (11). Toprak erezyonu ile uzun vadeli bozulmayı önlemek için Yeni Zelanda'da 1960'lı yıllarda 2 milyonun üzerinde *Salix* taksonu devlet tarafından dikilmiştir (56).

*Salix* çevresel bozulmanın etkilerini azaltmada umut verici bir kaynaktır. Bazı metallere karşı söğütlerin direnci ve metal biriktirme kabiliyeti belgelenmiş, kimyasallarla bozulmuş sahaların iyileştirilmesi için kullanımı önerilmiştir (57). Toprağı kirleten kimyasallara karşı, yüksek direnç gösteren söğüt türleri, kirletilmiş toprakların ıslahında kullanılmaktadır (11).

*Salix* türlerinin kabukları tanence zengindir ve eldiven derilerinin hazırlanmasında yardımcı madde olarak kullanılmaktadır (10).

*Salix* türlerinin odunu suyla oluşan çürümeye karşı oldukça dirençlidir (4). Bu özelliklerinden dolayı selüloz ve kâğıt üretimi, küçük el aletleri yapımı, mobilya, kayık, odun ihtiyacının karşılanması, hayvanlar için yem olarak kullanılması gibi çeşitli alanlarda yararlanılmaktadır. Genç dalları kırılmadan bükülebildiği için, binlerce yıldan beri su bentlerinin ve hendeklerin tahkimi, çit yapımı, sepet imali vb işler için yoğun biçimde kullanılmaktadır. Çiçekli bitki olan (*Salix aegyptiaca* L.var *longifrons* Bornm.) türü, özellikle Avrupa'da kesme çiçekçilik alanında değerlendirilir. Türkiye, doğal söğüt taksonları açısından zengin çeşitliliğe sahiptir. Ülkemizde, hem odun ihtiyacının karşılanması, hem de peyzaj düzenleme ve toprak ıslahı çalışmalarında kullanılacak, çok çeşitli takson ve genotip bulunmaktadır (11).

Söğüt ağacı (*Salix* L.) kabuğunun veya yapraklarının, tedavide ilaç olarak kullanıldığı, eski Mısır, Sümer, Hitit yazıtlarında kaydedilmiştir. Yıllar sonra bu veri, bilimsel olarak kanıtlanmış; bu bilgiden hareketle, çağımızda dünyanın en çok kullanılan ilacı olan "Aspirin" elde edilmiştir. Bütün yararlı özellikleri *Salix* cinsini eczacılık açısından çok önemli bir yere koymaktadır. Bu yüzden *Salix* türleri ile ilgili olarak daha fazla Farmasotik Botanik çalışma ve araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmadaki temel amaç, söğüt bitkisi kabuk kısımlarının Avrupa Farmakopesi 7.0'da yer alan "Salicis cortex" monograftaki kritere uygunluğunun araştırılarak, aktar ve baharatçılardan tedarik edilen bitkisel numunelerin halk sağlığı açısından güvenilirliğinin değerlendirilmesidir. Çalışmaların başında konu ile ilgili literatür taranmış, *Salix* türleri Ankara Üniversitesi herbaryum kayıtlarından incelenmiştir. Numuneler İTK yöntemiyle standart madde ile karşılaştırılarak sonuca ulaşılmıştır. Araştırma, fotoğraf ve çizimlerle detaylandırılmıştır.

Çalışmada incelenen 6 farklı materyalin farmakopeye uygun olmamasının nedenlerinden birinin, drogun bitki üzerinden alındığı yerin uygun olmaması kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bitkideki salisin içeriği türlere, cinsiyete ve dokulara bağlı olarak değişim göstermektedir. *Salix viminalis* üzerinde yapılan bir çalışmada numunenin ağacın hangi kısmından alındığının önemli olduğunu ispatlanmıştır. Dalın uç kısımlarına doğru gidildikçe içerdiği mineral konsantrasyonunun ve kabuk odun oranının kabuk lehine arttığı dolayısıyla salisinin artışı gözlemlenmiştir. Anılan çalışmada gösterilmiştir ki 3 yaşında bir dalın örnekleme noktasından yapılacak küçük bir sapma bazı kimyasal maddelerde % 10'a varan sapmalar yaptırabilmektedir. Bu nedenle söğüt kabuğu örneğinin bitki üzerinden alındığı yerin büyük önemi vardır (6,58).

Bitkilerin kimyasal içeriğinin iklim, coğrafya, yetiştirme koşulları ve diğer pek çok çevresel etki ile değiştiği bilinmektedir. Bu nedenle beklenen yararın sağlanabilmesi için içerisinde yararlı bileşenleri yeterince taşıyıp taşımadığının mutlaka analiz edilmesi gerekir. Aynı çevresel koşullarda yetişen bitkiler bile önceden tahmin edilemeyen sebeplerden etkilenebilirler. Altı farklı söğüt kabuğu örneğinde farmakopeye uygun olmamasının nedenlerinden bir diğerinin, bu örneklerin toplanma zamanından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Farklı mevsimsel süreçlerde güneş ışıklarının Dünyaya geliş açısı değişmekte bu da yeryüzüne ulaşan UV ışınlarının miktarını etkilemektedir. Artmış morötesi-B (UV-B) radyasyonunun *Salix myrsinifolia* ikincil kimyasına etkisi üzerine Tegelberg ve Julkunen-Tiitto bir çalışma yapmışlardır. Ortamdaki ultraviyole ışınının artışı yapraklarda flavanoidleri ve bazı fenolik maddeleri artırırken salisilat bileşiklerini azalttığı sonucuna ulaşmışlardır (59). Literatürdeki

bulgular, söğüt kabuğu örneklerinin toplanma zamanının etken madde miktarını etkilediğini göstermektedir.

Bu çalışma sonuçlarını etkileyen en büyük etken söğüt kabuğunun tedarik edildiği kaynak sayısıdır. Söğüt kabuğuna olan düşük talep nedeniyle ilgili materyaller aktarlara sınırlı sayıdaki depodan (İstanbul Eminönü Hırdavatçılar Yokuşu, Ankara OSTİM) ulaştırılmıştır. Daha genellenebilir sonuçlar yapılabilmesi için farklı bölgelerden farklı zamanlarda temin edilen numunelerin test edilmesi gerekmektedir.

Araştırmada YBİTK kullanılarak söğüt kabuklarında salisin içeriği tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Avrupa Farmakopesi 7.0'daki "Salicis cortex" monografi ile karşılaştırıldığında farmakopeye uygunluk göstermemektedir. Eczacılık açısından önemli bir yere sahip olan *Salix* cinsi ile ilgili olarak gerçekleştirilen bu çalışma, aktar ve baharatçılarda söğüt kabuğu adı altında satılan drogun standartlara uymadığını göstermiştir. Bu çalışma halk arasında bu tür drogların başlıca tedarik adresi olarak bilinen aktar ve baharatçıların güvenilirliğini sorgulamaktadır. Ayrıca tedarik sürecinde görüşülen aktarların etken madde hakkında bilgi sahibi olmadıkları görülmüştür.

Sonuç olarak bitki yetiştiriciliği, analiz yöntemlerinin zorlukları, ürün temini, raf ömrü ve saklama koşullarının toplum sağlığına uygun hale getirilebilmesi sırasında karşılaşılabilecek sorunlar aktif sağlık personeli tarafından sağlanmalıdır. Tedaviye yardımcı bitkisel drogların satışı, insanların temel sağlık problemlerine yönelik danışmanlık hizmetleri ve yönlendirme konusunda görevleri üstlenmiş olan eczacılara düşmektedir. Daha çok insana daha çabuk ve daha kolay hizmeti verebilecek eğitilmiş deneyimli bir meslek grubu olarak; bitkisel ürünlerin tedarik merkezi, yeterli bilgi sahibi olmayan aktarlar yerine eczaneler olmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Council of Europe, European Pharmacopoeia. Willow bark. *Salicis cortex*. 67075 Strasbourg Cedex, France. 2010.
2. Nahrstedt A, Schmidt M, Jaggi R, Metz J, Khayyal MT. Willow Bark Extract: The Contribution of Polyphenols to the Overall Effect. *Wien Med Wochenschr* 157: 348-351, 2007.
3. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (2. baskı). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, p 340, 1999.
4. Şimşek D. Ankara Çevresinde yetişen *Salix* L. Taksonları üzerinde anatomik ve palinolojik çalışmalar. Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2014.
5. Skvortsov AK., Edmondson JR. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Ed.P.H.Davis), Volume 7. Edinburg University Press, Edinburg, pp 694-716, 1982.
6. Arihan O. Ankara Çevresinde Yetişen *Salix* L. (Söğüt) Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar. Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2003.
7. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural MT. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul, 2012.
8. DV Biology (<http://dvbiology.org> adresinden elde edildi)
9. Wu J, Nyman T, Wang D, Argus GW, Yang YP, Chen JH. Phylogeny of *Salix* subgenus *Salix* s.I. (Salicaceae): delimitation, biogeography and reticulate evolution. *BMC Evolutionary Biology* 15: 31, 2015.
10. Avcı M. Türkiye’nin Doğal Söğütleri ve Coğrafi Dağılımları. *Coğrafya Dergisi*, [dergipark.ulakbim.gov.tr](http://dergipark.ulakbim.gov.tr), 1999.
11. <https://www.researchgate.net/publication/314285461> Sogut Salix L .
12. Topçuoğlu MA, Selekler K. Keşfinin 100. Yılında Aspirin. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara, 1996.

13. [www.uralakbulut.com.tr](http://www.uralakbulut.com.tr)>2013/10. Aspirin: Dünyada en çok kullanılan ilaç.
14. EBSCO CAM Review Board. White Willow's Therapeutic Uses. Salem Press Encyclopedia of Health, 2015.
15. ESCOP Monographs. 2. baskı. Exeter, 2003.
16. Kammerer B, Kahlich R, Bieger C, Gleiter CH, Heide L. HPLC-MS/MS Analysis of Willow Bark Extracts Contained in Pharmaceutical Preparations. *Phytochem Anal* 16: 470-478, 2005.
17. Shara M, Stohs SJ. Efficacy and Safety of White Willow Bark (*Salix alba*) Extracts. *Phytotherapy Research* 29: 1112-1116, 2015.
18. Agnolet S, Wiese S, Verpoorte R, Staerk D. Comprehensive Analysis of Commercial Willow Bark Extracts by New Technology Platform: Combined use of Metabolomics, High-performance Liquid Chromatography–solid-phase Extraction–nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and High-resolution Radical Scavenging Assay. In *Journal of Chromatography A*. 2 1262: 130-137, 2012.
19. Vlachojannis JE, Cameron M, Chrubasik S. A Systematic Review on the Effectiveness of Willow Bark for Musculoskeletal Pain. *Phytother Res.* 23:897-900, 2009.
20. Chrubasik S, Eisenberg E, Balan E, Weinberger T, Luzzati R, Conrath C. Treatment of Low Back Pain Exacerbations with Willow Bark Extract: A Randomized Double-Blind Study. In *The American Journal of Medicine* 109 (1) : 9-14, 2000.
21. Uehleke B, Müller J, Stange R, Kelber O, Melzer J. Willow Bark Extract STW 33-I in the Long-term Treatment of Outpatients with Rheumatic Pain Mainly Osteoarthritis or Back Pain. *Phytomedicine* 20 (11) : 980-984, 2013.
23. Ulrich G.M, Kelber O, Koptina A, Freischmidt A, Heilmann J, Müller J, Zeitler H, Seidel MF, Ludwig M, Heinrich EU, Winterhoff H. Novel neurological and immunological targets for salicylate-based phytopharmaceuticals and for the anti-depressant imipramine. *Phytomedicine* 19: 930-939, 2012.
24. Freischmidt A, Jürgenliemk G, Kraus B, Okpanyi SN, Müller J, Kelber O, Weiser D, Heilmann J. Contribution of flavonoids and catechol to the reduction of ICAM-1

expression in endothelial cells by a standardised Willow bark extract. *Phytomedicine*. 19: 245-252, 2012.

25. Bonaterra GA, Heinrich EU, Kelber O, Weiser D, Metz J, Kinscherf R. Anti-inflammatory effects of the willow bark extract STW 33-I (Proaktiv®) in LPS-activated human monocytes and differentiated macrophages. *Phytomedicine*.17: 1106-1113, 2010.

26. Drummond EM, Harbourne N, Marete E, Martyn D, Jacquier J, O'Riordan D, Gibney ER. Inhibition of proinflammatory biomarkers in THP1 macrophages by polyphenols derived from chamomile, meadowsweet and willow bark. *Phytother Res*. 27: 588-594, 2013.

27. Schmid B, Ludtke R, Selbmann HK, Kötter I, Tschirdewahn B, Schaffner W, Heide L. Efficacy and Tolerability of a Standardized Willow Bark Extract in Patients with Osteoarthritis: Randomized, Placebo-controlled, Double Blind Clinical Trial. *Phytother. Res*. 15, 344-350, 2001.

28. Biegert C, Wagner I, Lüdtker R, Kötter I, Lohmüller C, Günaydin I, Taxis K, Heide L. Efficacy and Safety of Willow Bark Extract in the Treatment of Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis: Results of 2 Randomized Double-Blind Controlled Trials. *J Rheumatol*. 31: 2121-30, 2004.

29. Shakibaei M, Allaway D, Nebrich S, Mobasher A. Botanical Extracts from Rosehip (*Rosa canina*), Willow Bark (*Salix alba*), and Nettle Leaf (*Urtica dioica*) Suppress IL-1 $\beta$ -Induced NF- $\kappa$ B Activation in Canine Articular Chondrocytes. *Evidence Based Complementary and Alternative Med*. Article ID: 509383, 16 pages, 2012.

30. Armstrong WJ, Johnson P, Duhme S. The Effect of Commercial Thermogenic Weight Loss Supplement on Body Composition and Energy Expenditure in Obese Adults. *Journal of Exercise Physiology (online)* 4: 28-35, 2001.

31. Hudson GM, Green JM, Bishop PA, Richardson MT. Effects of caffeine and aspirin on light resistance training performance, perceived exertion, and pain perception. *J Strength Cond Res*. 22: 1950-1957, 2008.

32. Kalman D.S, Colker CM, Shi Q, Swain MA. Effects of a weight-loss aid in healthy overweight adults: double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Current therapeutic research* 61: 199-205, 2000.
33. Boullata JI, McDonnell PJ, Oliva CD. Anaphylactic reaction to a dietary supplement containing willow bark. *Ann Pharmacother.* 37: 832-835, 2003.
34. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li Z-W, Karin M, Shoelson SE. Reversal of Obesity- and Diet-Induced Insulin Resistance with Salicylates or Targeted Disruption of Ikk $\beta$ . *Science* Vol. 293, Issue 5535, pp. 1673-1677, 2001.
35. Bucolo C, Marrazzo G, Platania CB, Drago F, Leggio GM, Salomone S. Fortified extract of red berry, *Ginkgo biloba*, and white willow bark in experimental early diabetic retinopathy. *J Diabetes Res. Journal of Diabetes Research*, Article ID 432695, 6 pages, 2013.
36. Ishikado A, Sono Y, Matsumoto M, Robida-Stubbs S, Okuno A, Goto M, King GL, Blackwell TK, Makino T. Willow bark extract increases antioxidant enzymes and reduces oxidative stress through activation of Nrf2 in vascular endothelial cells and *Caenorhabditis elegans*. *Free Radic Biol Med*; 65, 2013.
37. Durak A, Gawlik Dziki U. The Study of Interactions between Active Compounds of Coffee and Willow (*Salix* sp.) Bark Water Extract. *BioMed Research International* Article ID: 386953, 2014.
38. Hostanska K, Jürgenliemk G, Abel G, Nahrstedt A, Saller R. Willow bark extract (BNO1455) and its fractions suppress growth and induce apoptosis in human colon and lung cancer cells. *Cancer Detect Prev.* 31: 129-139, 2007.
39. El-Shemy H.A, Aboul-Enein A.M, Aboul-Enein K.M, Fujita K. Willow Leaves' Extracts Contain Anti-Tumor Agents Effective against Three Cell Types. *PLoS ONE*.2 (1) : e178, 2007.
40. WHO monographs on selected medicinal plants volume 4 .
41. Krivoy N, Pavlotzky E, Chrubasik S, Eisenberg E. Effect of *Salicis cortex* extract on human platelet aggregation. *Planta Medica* 67: 209-212, 2001.

42. M Hyson. Anticephalgic Photoprotective Premeditated Mask. A Report of a Successful Double-Blind Placebo-Controlled Study of a New Treatment for Headaches With Associated Frontalis Pain and Photophobia. *Headache* 38: 475-477, 1998.
43. Highfield ES, Kemper KJ. White willow bark (*Salix alba*). The Longwood Herbal Task Force, 1-12, 1999.
44. Özdemir E, Alpınar K. An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde - Turkey). *J Ethnopharmacol.* 166: 53-65, 2015.
45. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y, Takaishi Y. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmacol.* 46: 133-52, 1995.
46. Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, Takaishi Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *J Ethnopharmacol.* 53: 75-87, 1996.
47. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. *J Ethnopharmacol.* 64: 195-210, 1999.
48. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *J Ethnopharmacol.* 75: 95-115, 2001.
49. Kaval I, Behçet L, Cakilcioglu U. Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkâri-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 155: 171-184, 2014.
50. Polat R, Cakilcioglu U, Kaltalıoğlu K, Uluşan MD, Türkmen Z. An ethnobotanical study on medicinal plants in Espiye and its surrounding (Giresun-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 163: 1-11, 2015.
51. Uzun M, Kaya A. Ethnobotanical research of medicinal plants in Mihalgazi (Eskişehir, Turkey). *Pharm Biology.* 54(12):2922-2932, 2016.



52. Srivali N, Cheungpasitporn W, Chongnarungsin D, Edmonds LC. White willow bark induced acute respiratory distress syndrome. *Nort American Journal of Medical Sciences*. 5: 330-331, 2013.
53. <http://www.umm.edu/health/medical/altmed/herb/willow-bark>. University of Maryland Medical Center
54. Clauson KA, Santamarina ML, Buettner CM, Cauffield JS. Evaluation of presence of aspirin-related warnings with willow bark. *Ann Pharmacother*. 39: 1234-1237, 2005.
55. Krivoy N, Pavlotzky E, Chrubasik S, et al. Effect of *Salicis cortex* extract on human platelet aggregation. *Planta Med* . 66: 1-4, 2000.
56. Wilkinson A.G. Poplars and willows for soil erosion control in New Zealand. *Biomass & Bioenergy* 16: 263-274, 1999.
57. Kuzovkina Y.A. ve Quigley M.F. Willows beyond wetlands: uses of *salix* L. species for environmental projects. *Water, Air, and Soil Pollution* 162: 183-204, 2005.
58. Sander ML, Ericsson T. Vertical distributions of plant nutrients and heavy metals in *Salix viminalis* stems and their implications for sampling. *Biomass and Bioenergy*, 57-66, 1998.
59. Tegelberg R, Julkunen-Tiitto R. Quantitative changes in secondary metabolites of dark-leaved willow (*Salix myrsinifolia*) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum*, 541-547, 2001.

## 7. EKLER

Willow bark

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 7.0

### IDENTIFICATION

- A. The stem is much branched, up to about 1.5 mm in diameter, cylindrical or indistinctly quadrangular, green, reddish or purplish, the older stems brown and woody, the younger stems pubescent. The leaves are opposite, 3 mm to 12 mm long and up to 4 mm wide, elliptical to ovate-lanceolate with an obtuse apex, cuneate and shortly petiolate at the base; the margin is entire and markedly ciliate, especially near the base; both surfaces are more or less glabrous but distinctly punctate. The inflorescence is composed of about 6 to 12 flowers in rounded to ovoid, terminal heads. The calyx is tubular, two-lipped with the upper lip dividing to form 3 teeth, the lower lip with 2 teeth, edged with long hairs; inner surfaces strongly pubescent, the hairs forming a closed tube after flowering. The corolla is purplish-violet to red, two-lipped, the lower lip with 3 lobes, upper lip notched, inner surface strongly pubescent; stamens 4, epipetalous, projecting from the corolla tube.
- B. Reduce to a powder (355) (2.9.12). The powder is greyish-green to brownish-green. Examine under a microscope using *chloral hydrate solution R*. The powder shows the following diagnostic characters: fragments of the leaf epidermises with sinuous, slightly thickened anticlinal walls and stomata of the diacytic type (2.8.3); numerous covering trichomes on both epidermises and along the leaf margins, the majority short, conical, unicellular, with thickened and warty walls, fewer long, uniseriate, composed of up to 8 cells, slightly swollen at the joints, with moderately thickened walls; abundant glandular trichomes, mostly multicellular with a small, rounded, unicellular stalk and a large globular head composed of a number of indistinct, radiating cells containing brown secretion, others smaller, capitate, with unicellular stalk and a unicellular, globoid or ovoid head; purplish-violet fragments of the corolla, the outer epidermis with numerous covering and glandular trichomes, inner epidermis papillose; pollen grains spherical to elliptical, 30 µm to 40 µm in diameter, with a finely grained exine and 6 germinal pores.
- C. Thin-layer chromatography (2.2.27).  
*Test solution*. To 1.0 g of the powdered drug (355) (2.9.12) add 5 mL of *methylene chloride R* and shake for 3 min. Filter through about 2 g of *anhydrous sodium sulfate R*.  
*Reference solution*. Dissolve 5 mg of *thymol R* and 10 µL of *carvacrol R* in 10 mL of *methylene chloride R*.  
*Plate*: TLC silica gel F<sub>254</sub> plate R.  
*Mobile phase*: *methylene chloride R*.  
*Application*: 20 µL, as bands.  
*Development*: over a path of 15 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.

Top of the plate	
Thymol: a quenching zone	A prominent quenching zone A quenching zone (thymol)
Reference solution	Quenching zones Test solution

*Detection B*: spray with *anisaldehyde solution R* using 10 mL for a plate 200 mm square and heat at 100-105 °C for 10 min.

*Results B*: 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 lower third of the chromatogram obtained with the test solution. The intensity of the zones due to thymol and carvacrol depends upon the sample examined (chemotypes).

Top of the plate	
Thymol: a brownish-pink zone	A brownish-pink zone (thymol)
Carvacrol: a pale violet zone	A pale violet zone (carvacrol)
Reference solution	Test solution

### TESTS

**Foreign matter** (2.8.2): maximum 3 per cent, determined on 30 g.

Foreign matter may also consist of acicular to linear-lanceolate leaves with a strongly bent margin, the adaxial surface showing covering trichomes shaped as pointed teeth with warty walls, the abaxial surface showing many types of warty covering trichomes: unicellular, straight or slightly curved, bicellular or tricellular, often elbow-shaped, and bicellular or tricellular, more or less straight (*Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*).

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

**Total ash** (2.4.16): maximum 10.0 per cent.

**Ash insoluble in hydrochloric acid** (2.8.1): maximum 3.0 per cent.

### ASSAY

Carry out the determination of essential oils in herbal drugs (2.8.12). Use 50.0 g of the cut drug, a 1000 mL round-bottomed flask and 500 mL of *water R* as the distillation liquid. Distil at a rate of 2-3 mL/min for 2 h without *xylene R* in the graduated tube.

07/2010:1583

## WILLOW BARK

Salicis cortex

### DEFINITION

Whole or fragmented dried bark of young branches or whole dried pieces of current-year twigs of various species of genus *Salix* including *S. purpurea* L., *S. daphnoides* Vill. and *S. fragilis* L.

*Content*: minimum 1.5 per cent of total salicylic derivatives, expressed as salicin (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>; M, 286.3) (dried drug).

### IDENTIFICATION

- A. The bark is 1-2 mm thick and occurs in flexible, elongated, quilled or curved pieces. The outer surface is smooth or slightly wrinkled longitudinally and greenish-yellow or brownish-grey. The inner surface is smooth or finely striated longitudinally and white, pale yellow or reddish-brown, depending on the species. The fracture is short in the outer part and coarsely fibrous in the inner region. The diameter of current-year twigs is not greater than 10 mm. The wood is white or pale yellow.
- B. Reduce to a powder (355) (2.9.12). The powder is pale yellow, greenish-yellow or light brown. Examine under a microscope using *chloral hydrate solution R*. The powder shows the following diagnostic characters: bundles of narrow fibres, up to about 600 µm long, with very thick walls and surrounded by a crystal sheath containing prism crystals of calcium oxalate; parenchyma of the cortex with thick, pitted and deeply beaded walls, and containing large cluster crystals of calcium oxalate; uniseriate medullary rays; thickened cork

cells. Groups of brownish collenchyma from the bud may be present. Twigs show, additionally, fragments of lignified fibres and vessels.

C. Thin-layer chromatography (2.2.27).

**Test solution (a).** To 1.0 g of the powdered drug (355) (2.9.12) add 10 mL of *methanol R*. Heat in a water-bath at about 50 °C, with frequent shaking, for 10 min. Cool and filter.

**Test solution (b).** To 5.0 mL of test solution (a) add 1.0 mL of a 50 g/L solution of *anhydrous sodium carbonate R* and heat in a water-bath at about 60 °C for 10 min. Cool and filter if necessary.

**Reference solution.** Dissolve 2 mg of *salicin R* and 2 mg of *chlorogenic acid R* in 1.0 mL of *methanol R*.

**Plate:** TLC silica gel plate R (5-40 µm) [or TLC silica gel plate R (2-10 µm)].

**Mobile phase:** *water R*, *methanol R*, *ethyl acetate R* (8:15:77 V/V/V).

**Application:** 10 µL [or 2 µL], as bands.

**Development:** over a path of 15 cm [or 6 cm].

**Drying:** in a current of warm air.

**Detection:** spray with a mixture of 5 volumes of *sulfuric acid R* and 95 volumes of *methanol R*. Heat at 100-105 °C for 5 min and examine in daylight.

**Results:** see below the sequence of zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and test solutions (a) and (b). Furthermore, other zones may be present in the chromatograms obtained with test solutions (a) and (b).

Top of the plate		
Salicin: a reddish-violet zone	Several reddish-violet zones may be present A weak reddish-violet zone (salicin)	A reddish-violet zone (salicin)
Chlorogenic acid: a brown zone		
Reference solution	Test solution (a)	Test solution (b)

TESTS

**Foreign matter (2.8.2):** maximum 3 per cent of twigs with a diameter greater than 10 mm and maximum 2 per cent of other foreign matter.

**Cadmium (2.4.27):** maximum 2.0 ppm.

**Loss on drying (2.2.32):** maximum 11 per cent, determined on 1.000 g of the powdered drug (355) (2.9.12) by drying in an oven at 105 °C for 2 h.

**Total ash (2.4.16):** maximum 10 per cent.

ASSAY

Liquid chromatography (2.2.29).

**Test solution.** To 1.000 g of the powdered drug (355) (2.9.12) add 40 mL of *methanol R* and 40.0 mL of a 4.2 g/L solution of *sodium hydroxide R*. Heat in a water-bath at about 60 °C under a reflux condenser, with frequent shaking, for about 1 h. After cooling, add 4.0 mL of a 103.0 g/L solution of *hydrochloric acid R*. Filter the suspension into a 100 mL volumetric flask, wash and dilute to 100.0 mL with a mixture of 50 volumes of *methanol R* and 50 volumes of *water R*. Filter through a membrane filter (nominal pore size 0.45 µm).

**Reference solution.** Dissolve 5.0 mg of *picein R* in 25.0 mL of a mixture of 20 volumes of *water R* and 80 volumes of *methanol R* (solution A). Dissolve 15.0 mg of *salicin CRS* in 25 mL of a mixture of 20 volumes of *water R* and 80 volumes of *methanol R*; add 5.0 mL of solution A and dilute to 50.0 mL with *water R*.

Column:

– size:  $l = 0.10$  m,  $\varnothing = 4.6$  mm;

– stationary phase: octadecylsilyl silica gel for chromatography R (3 µm).

Mobile phase:

– mobile phase A: *tetrahydrofuran R*, 0.5 per cent V/V solution of *phosphoric acid R* (1.8:98.2 V/V);

– mobile phase B: *tetrahydrofuran R*;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 15	100	0
15 - 17	100 → 90	0 → 10
17 - 23	90	10
23 - 25	90 → 100	10 → 0
25 - 40	100	0

**Flow rate:** 1.0 mL/min.

**Detection:** spectrophotometer at 270 nm.

**Injection:** 10 µL.

**Retention time:** salicin = about 6.4 min; picein = about 7.7 min.

**System suitability:** reference solution:

– resolution: minimum 1.5 between the peaks due to salicin and picein.

Calculate the percentage content of total salicylic derivatives, expressed as salicin, using the following expression:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 2}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = area of the peak due to salicin in the chromatogram obtained with the test solution;

$A_2$  = area of the peak due to salicin in the chromatogram obtained with the reference solution;

$m_1$  = mass of the drug to be examined used to prepare the test solution, in grams;

$m_2$  = mass of *salicin CRS* used to prepare the reference solution, in grams;

$p$  = percentage content of salicin in *salicin CRS*.

04/2008:2312

WILLOW BARK DRY EXTRACT

Salicis corticis extractum siccum

DEFINITION

Dry extract produced from *Willow bark (1583)*.

**Content:** minimum 5.0 per cent of total salicylic derivatives, expressed as salicin ( $C_{13}H_{18}O_7$ ;  $M_r$  286.3) (dried extract).

PRODUCTION

The extract is produced from the herbal drug by a suitable procedure using either water or a hydroalcoholic solvent equivalent in strength to a maximum of 80 per cent V/V ethanol.

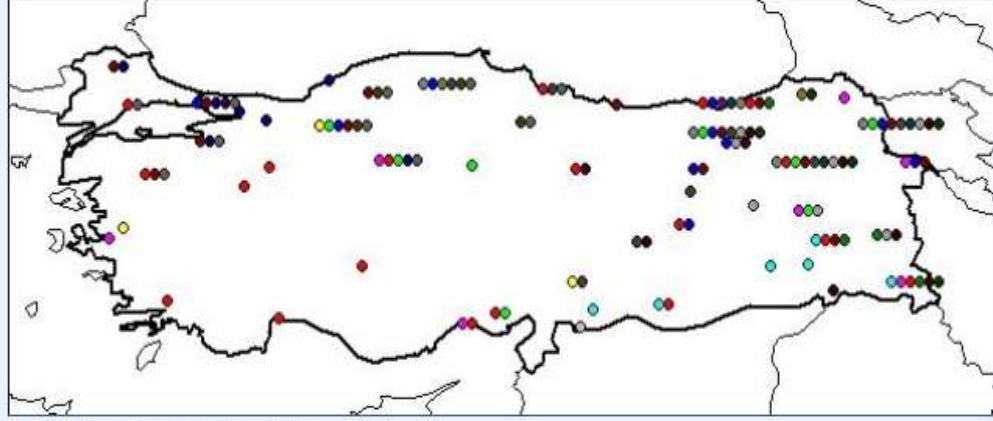
CHARACTERS

**Appearance:** yellowish-brown amorphous powder.

IDENTIFICATION

Thin-layer chromatography (2.2.27).

**Test solution (a).** To 0.200 g of the extract to be examined add 5 mL of *methanol R*. Sonicate for 5 min, filter and dilute to 10 mL with *methanol R*.



- ◆ *Salix acmophylla*
- ◆ *Salix triandra* **alttür** *triandra*
- ◆ *Salix pentandra*
- ◆ *Salix pentandroides*
- ◆ *Salix alba*
- ◆ *Salix excelsa*
- ◆ *Salix fragilis*
- ◆ *Salix trabzonica*
- ◆ *Salix caucasica*
- ◆ *Salix pedicellata* **alttür** *pedicellata*
- ◆ *Salix caprea*
- ◆ *Salix aegyptiaca*
- ◆ *Salix cinerea*
- ◆ *Salix pseudomedemii*
- ◆ *Salix pseudodepressa*
- ◆ *Salix viminalis*
- ◆ *Salix armenorossica*
- ◆ *Salix elaeagnos*
- ◆ *Salix elbursensis*
- ◆ *Salix amplexicaulis*
- ◆ *Salix wilhelmsiana*

EK 2. *Salix* türlerinin Türkiye’de dağılımı

## 8. ÖZGEÇMİŞ

13 Ağustos 1976 Turhal doğumlu olup ilkokulu Yozgat/Çekerek Atatürk İlkokulu'nda, ortaokul ve lise eğitimini Ankara Kanuni Lisesinde tamamladı. 1994 yılında Eskişehir Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne başlayarak 1998 yılı haziran ayında bitirdi.

1998 Kasım ayında Ankara ili Etimesgut ilçesinde Neslihan Eczanesi'ni açarak günümüze kadar Neslihan Eczanesi'nde mesul müdür olarak çalışmaktadır.

2014 yılında Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fitoterapi Tezli Yüksek Lisans programında lisansüstü öğrenimine başladı. 2016 yılında programı tamamlayıp tez çalışmalarına başladı.