



ORIGANUM MINUTIFLORUM O.
SCHWARZ ET P.H. DAVIS ÜZERİNE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Doktora Tezi

Ecz. Gülsüm YILDIZ

Eskişehir 2020

**ORIGANUM MINUTIFLORUM O. SCHWARZ ET P.H. DAVIS ÜZERİNE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ecz. Gülsüm YILDIZ

DOKTORA TEZİ

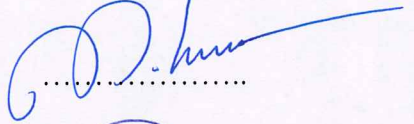


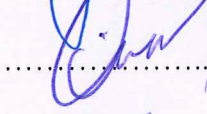

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Neş'e KIRIMER
İkinci Danışman: Prof. Dr. Mine KÜRKCÜOĞLU**

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

Bu Tez Çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1603S114 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Gülsüm YILDIZ'ın "*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar" başlıklı tezi 19/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Neş'e KIRIMER	
Üye	: Prof. Dr. Betül DEMİRCİ	
Üye	: Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ	
Üye	: Prof. Dr. İlhan GÜRBÜZ	
Üye	: Doç. Dr. Alper GÖKBULUT	


Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU-KARABURUN
Müdür



ÖZET

ORIGANUM MINUTIFLORUM O. SCHWARZ ET P.H. DAVIS ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Gülsüm YILDIZ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şubat 2020

Danışman: Prof. Dr. Neş'e KIRIMER

İkinci Danışman: Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU

Bu tez kapsamında Türkiye'de Sütçüler kekiği olarak bilinen ve ticari öneme sahip endemik *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis'un Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun bir monografinin oluşturulması ve toprak üstü kısmından hazırlanan ekstreleri ile uçucu yağının *in vitro* lipoksijenaz, siklooksijenaz ve matriks metaloproteinaz-9 enzim inhibisyonlarının aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Ekstre %70'lik etanol ile hazırlanmış ve sıvı-sıvı ekstraksiyon ile fraksiyonlara ayrılmıştır. Diğer ekstrelere kıyasla siklooksijenaz enzimleri üzerinde yüksek inhibisyon gösteren etil asetat ekstresi kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmıştır. Miktarları fazla olan fraksiyonlar inelenmiş ve bu fraksiyonların, etil asetat ekstresine göre % inhibisyon değerlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Enzimler üzerinde yüksek inhibisyon gösteren ekstrelerin ve fraksiyonların bazı kimyasal bileşenleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi ile belirlenmiştir.

Hidrodistilasyon metodu ile elde edilen uçucu yağın analizi Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın lipoksijenaz, siklooksijenaz ve matriks metaloproteinaz-9 enzimleri üzerinde düşük inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Origanum minutiflorum*, Monograf, Lipoksijenaz, Siklooksijenaz, Matriks metaloproteinaz-9.

ABSTRACT

PHARMACOGNOSTICAL STUDIES ON *ORIGANUM MINUTIFLORUM* O.

SCHWARZ ET P.H. DAVIS

Gülsüm YILDIZ

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, February 2020

Supervisor: Prof. Dr. Ne'e KIRIMER

Co-Supervisor: Prof. Dr. Mine KRKOLU

In this thesis, it is aimed to prepare a monograph of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis, an endemic species with commercial importance in Turkey, in the format of European Pharmacopoeia and investigate *in vitro* inhibition of lipoxigenase, cyclooxygenase and matrix metalloproteinase-9 enzymes of extracts and essential oil prepared from aerial parts using activity guided assay.

Extracts were prepared 70 % ethanol and fractionated by liquid-liquid extraction. Since ethyl acetate extract showed higher inhibition compared to other extracts on cyclooxygenase enzymes, it was fractionated by column chromatography. Fractions with large amount showed higher inhibition % than ethyl acetate extract.

Some chemical composition of the extracts and the fractions that show high inhibition on enzymes were determined by High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry-Mass Spectrometry.

Essential oil obtained by hydrodistillation method was analyzed by Gas Chromatography and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. The essential oil showed low inhibition on lipoxigenase, cyclooxygenase and matrix metalloproteinase-9 enzymes.

Keywords: *Origanum minutiflorum*, Monograph, Lipoxigenase, Cyclooxygenase, Matrix metalloproteinase-9

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince büyük bir sabır ve anlayışla, değerli bilgi, birikim ve tecrübesini bana aktaran, usta-çırak ilişkisi üzerine kurulu mesleğimizde örnek bir akademisyen olan, emekli olduktan sonra da değerli vaktini bana ayıran, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Neş'e KIRIMER'e en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman desteğini hissettiğim, daima sabırla ve anlayışla yaklaşan, ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca her zaman desteğini hissettiğim, tavsiyeleri ile yol gösterici olan, değerli vaktini bana ayıran ve tez çalışmamda GK ve GK/KS analizlerinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Betül DEMİRCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Enzim çalışmalarımda yardımcı olan ve bu süreçte tecrübelerini benimle paylaşan, Sayın Doç. Dr. Halide Edip TEMEL'e teşekkürlerimi sunarım. YPSK/KS-KS çalışmalarımda yardımcı olan, tecrübelerini benimle paylaşan Doç. Dr. Fatih GÖGER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Hale Gamze AĞALAR'a teşekkür ederim. Tez materyalinin teşhisini yapan Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye teşekkür ederim. Tez materyali ile ilgili arazi araştırmasında/gözleminde fedakârlıkla her türlü desteği sağlayan ve yardımcı olan Sütçüler Orman İşletme Şefi Fahri KAYA'ya ve işletme çalışanlarına teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca desteklerinden dolayı başta Farmakognozi Anabilim Dalı olmak üzere Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üye ve elemanlarına teşekkür ederim. Mesleki hayatımı akademik alanda sürdürmeme olanak sağlayan ve doktora süresince programın amacına uygun olarak yürütülmesine katkısı olan Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı kurucularına ve uygulayıcılarına teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi doktora sürecimde de en büyük desteğim olan sevgili aileme teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1805S112.

19/02/2020

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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



Gülsüm YILDIZ

19/02/2020

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES

AND RULES

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



Gülsüm YILDIZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
GÖRSELLER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyası	3
2.2. <i>Origanum</i> L. Cinsi	3
2.2.1. <i>Origanum</i> L. cinsinin yayılışı	4
2.3. <i>Origanum minutiflorum</i> O. Schwarz Et P.H. Davis	4
2.4. Kekik Üretimi ve Ticareti	4
2.4.1. <i>Origanum minutiflorum</i> 'un hasatı ve ticareti	7
2.5. <i>Origanum</i> Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	12
2.5.1. <i>Origanum minutiflorum</i> ile yapılan fitokimyasal çalışmalar	22
2.5.2. Ticari <i>Origanum</i> türlerinin uçucu yağ bileşimleri	23

	<u>Sayfa</u>
2.5.3. <i>Origanum minutiflorum</i> uçucu yağ bileşimi	27
2.6. Kekığın Farmakolojik Etkileri	28
2.6.1. <i>Origanum</i> türleri ile yapılan enzim inhibisyon çalışmaları	28
2.6.2. <i>Origanum minutiflorum</i> türleri ile yapılan enzim inhibisyon çalışmaları	30
2.6.3. <i>Origanum minutiflorum</i> ile yapılan diğer biyolojik aktivite çalışmaları	31
2.7. Deneylerde Kullanılan Enzimler Hakkında Genel Bilgiler	33
2.7.1. Lipoksijenaz (LOX) enzimi	33
2.7.2. Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimleri	35
2.7.3. Matriks metaloproteinaz (MMP-9) enzimi	37
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	39
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal, Enzimler ve Kimyasal Maddeler	39
3.1.1. Bitkisel materyal	39
3.1.2. Kullanılan enzimler	39
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	40
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	41
3.3. Deneysel Çalışmalar	41
3.3.1. Farmakope kalite kontrol deneyleri	41
3.3.1.1. <i>Mikroskopik inceleme</i>	41
3.3.1.2. <i>Su miktar tayini</i>	42
3.3.1.3. <i>Uçucu yağ miktar tayini</i>	42
3.3.1.4. <i>Bütün kül miktar tayini</i>	43
3.3.1.5. <i>Asitte erimeyen kül miktar tayini</i>	43
3.3.1.6. <i>İnce tabaka kromatografisi (İTK)</i>	43

3.3.1.7. <i>Gaz kromatografisi (GK) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GK/KS) ile uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlenmesi</i>	44
3.3.2. Ekstraksiyon çalışmaları	45
3.3.2.1. <i>Ekstraksiyon çalışmaları için çözücü ve metot seçimi</i>	45
3.3.2.2. <i>Ham ekstre ve fraksiyonların hazırlanışı</i>	45
3.3.2.3. <i>Kolon kromatografisi ile alt fraksiyonların hazırlanışı</i>	47
3.3.3. Enzim inhibisyon yöntemleri	49
3.3.3.1. <i>LOX enzim inhibisyon deneyi</i>	49
3.3.3.2. <i>COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyon deneyi</i>	49
3.3.3.3. <i>MMP-9 enzim inhibisyon deneyi</i>	50
3.3.4. YPSK/KS-KS ile ekstrelerin analizi	50
4. BULGULAR VE YORUMLAR	52
4.1. Farmakope Kalite Kontrol Deney Bulguları	52
4.1.1. Makroskopik inceleme	52
4.1.2. Mikroskopik inceleme	52
4.1.3. Su miktar tayini	54
4.1.4. Uçucu yağ miktar tayini	55
4.1.5. GK ve GK/KS analiz bulguları	55
4.1.6. Kül miktar tayini	57
4.1.7. Asitte erimeyen kül miktar tayini	57
4.1.8. İTK bulguları	57
4.2. Aktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama Çalışmaları	58
4.2.1. Ön ekstraksiyon çalışmaları ve verimleri	58
4.2.2. Ham ekstre ve fraksiyonlar ile ilgili bulgular	59

	<u>Sayfa</u>
4.2.3. Kolon kromatografisi ile ilgili bulgular	60
4.3. Enzim İnhibisyon Bulguları	62
4.3.1. LOX enzim inhibisyon bulguları	62
4.3.2. COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyon bulguları	62
4.3.3. MMP-9 enzim inhibisyon bulguları	63
4.4. YPSK/KS-KS Analiz Bulguları	64
4.4.1. Kafeik asit ve türevleri	67
4.4.2. Rozmarinik asit ve türevleri	71
4.4.3. Apigenin ve türevleri	76
4.4.4. Luteolin ve türevleri	91
4.4.5. Kersetin ve türevi	102
4.4.6. Trimetoksi flavonoit türevleri	104
4.4.7. Lignan türevi	111
4.4.8. Megastigman türevi	113
4.4.9. Diğer	116
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER	120
KAYNAKLAR	130
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. 2009-2018 Yılları arasında Türkiye'nin kekik ihracat-ithalat miktarı ve değerleri	5
Tablo 2.2. 2010-2017 Yılları arasında Türkiye'de kekik üretimi	7
Tablo 2.3. Türkiye'de kekik ekim alanı ve üretimi	7
Tablo 2.4. 2012-2018 Yılları arasında satışı yapılan <i>O. minutiflorum</i> miktarı	8
Tablo 2.5. <i>Origanum</i> türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar	12
Tablo 2.6. <i>O. minutiflorum</i> 'da tanımlanmış bileşikler	22
Tablo 2.7. Ticari <i>Origanum</i> türlerinin uçucu yağ bileşimleri	23
Tablo 2.8. <i>O. minutiflorum</i> uçucu yağı ana bileşenleri	27
Tablo 2.9. NSAİ'ların COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerinde inhibisyon IC ₅₀ değerleri	36
Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan enzimler	39
Tablo 3.2. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler	40
Tablo 3.3. Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler	41
Tablo 4.1. <i>O. minutiflorum</i> 'un toprak üstü kısmına ait su miktar tayini sonuçları	54
Tablo 4.2. <i>O. minutiflorum</i> 'un toprak üstü kısmına ait uçucu yağ miktarı ve verimi ..	55
Tablo 4.3. <i>O. minutiflorum</i> 'un toprak üstü kısmına ait uçucu yağ bileşimi	55
Tablo 4.4. <i>O. minutiflorum</i> 'un toprak üstü kısmına ait bütün kül miktar tayini sonuçları	57
Tablo 4.5. <i>O. minutiflorum</i> 'un toprak üstü kısmına ait asitte erimeyen kül miktar tayini sonuçları	57
Tablo 4.6. Ön ekstraksiyon çalışmaları ve verimleri	59
Tablo 4.7. Ham ekstre ve fraksiyonların miktarları	59
Tablo 4.8. Çalışılan ekstrelerin ve uçucu yağın kodları	61
Tablo 4.9. Ekstrelerin ve uçucu yağın LOX enzimi % inhibisyon değerleri	62

Tablo 4.10. NDGA ve E2 ekstresinin LOX enzim inhibisyonu IC ₅₀ değeri	62
Tablo 4.11. Ekstrelerin ve uçucu yağın COX-1 ve COX-2 enzimi % inhibisyon değerleri	63
Tablo 4.12. SC-560 ve Rofekoksib'in COX enzim inhibisyonu IC ₅₀ değerleri	63
Tablo 4.13. Ekstrelerin ve uçucu yağın MMP-9 enzimi % inhibisyon değerleri	63
Tablo 4.14. YPSK/KS-KS analizi sonucu tanımlanan bileşikler (tutunma zamanlarına göre)	65
Tablo 5.1. <i>O. minutiflorum</i> 'da daha önce tespit edilen bileşikler	128
Tablo 5.2. <i>O. minutiflorum</i> 'da varlığı teyit edilen bileşikler	128
Tablo 5.3. <i>O. minutiflorum</i> 'da ilk defa tespit edilen bileşikler	129

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama	48
Şekil 4.1. E3b'ye ait total iyon kromatogramı	64
Şekil 4.2. Kafeik asit'e ait kütle spektrumu	67
Şekil 4.3. Kafeik asit türevi-1'e ait kütle spektrumu	68
Şekil 4.4. Kafeik asit türevi-2'ye ait kütle spektrumu	70
Şekil 4.5. Kafeik asit türevi-2'ye ait UV spektrumu	70
Şekil 4.6. Rozmarinik asit'e ait kütle spektrumu	72
Şekil 4.7. Rozmarinik asit'e ait UV spektrumu	72
Şekil 4.8. Metil rozmarinat'a ait kütle spektrumu	74
Şekil 4.9. Metil rozmarinat'a ait UV spektrumu	74
Şekil 4.10. Rozmarinik asit türevi'ne ait kütle spektrumu	75
Şekil 4.11. Apigenin'e ait kütle spektrumu	77
Şekil 4.12. Apigenin'e ait UV spektrumu	77
Şekil 4.13. Visenin-2'ye ait kütle spektrumu	80
Şekil 4.14. Visenin-2'ye ait UV spektrumu	80
Şekil 4.15. Apigenin pentozit-heksozit'e ait kütle spektrumu	83
Şekil 4.16. Apigenin pentozit-heksozit'e ait UV spektrumu	83
Şekil 4.17. Apigenin- <i>O</i> -heksozit'e ait kütle spektrumu	85
Şekil 4.18. Apigenin- <i>O</i> -heksozit'e ait UV spektrumu	85
Şekil 4.19. Apigenin-7- <i>O</i> -glukuronit'e ait kütle spektrumu	87
Şekil 4.20. Apigenin-7- <i>O</i> -glukuronit'e ait UV spektrumu	87
Şekil 4.21. Apigenin pentozit'e ait kütle spektrumu	88
Şekil 4.22. Asasetin glukuronit'e ait kütle spektrumu	90
Şekil 4.23. Asasetin glukuronit'e ait UV spektrumu	90

Şekil 4.24. Luteolin'e ait kütle spektrumu	92
Şekil 4.25. Luteolin'e ait UV spektrumu	92
Şekil 4.26. İzoorientin'e ait kütle spektrumu	94
Şekil 4.27. İzoorientin'e ait UV spektrumu	94
Şekil 4.28. Luteolin-7- <i>O</i> -glikozit'e ait kütle spektrumu	96
Şekil 4.29. Luteolin-7- <i>O</i> -glikozit'e ait UV spektrumu	96
Şekil 4.30. Luteolin- <i>C</i> -dipentozit'e ait kütle spektrumu	98
Şekil 4.31. Luteolin- <i>C</i> -dipentozit'e ait UV spektrumu	98
Şekil 4.32. Luteolin- <i>C</i> -pentozit'e ait kütle spektrumu	99
Şekil 4.33. Luteolin asetil dipentozit'e ait kütle spektrumu	101
Şekil 4.34. Luteolin asetil dipentozit'e ait UV spektrumu	101
Şekil 4.35. Kersetin'e ait kütle spektrumu	102
Şekil 4.36. Kersetin heksozit'e ait kütle spektrumu	103
Şekil 4.37. Jaseidin'e ait kütle spektrumu	105
Şekil 4.38. Jaseidin'e ait UV spektrumu	105
Şekil 4.39. Jaseidin heksozit'e ait kütle spektrumu	108
Şekil 4.40. Jaseidin heksozit'e ait UV spektrumu	108
Şekil 4.41. Trimetoksi flavonoit heksozit'e ait kütle spektrumu	110
Şekil 4.42. Trimetoksi flavonoit heksozit'e ait UV spektrumu	110
Şekil 4.43. Globoidnan A'ya ait kütle spektrumu	112
Şekil 4.44. Globoidnan A'ya ait UV spektrumu	112
Şekil 4.45. İkarisit türevi'ne ait kütle spektrumu	115
Şekil 4.46. İkarisit türevi'ne ait UV spektrumu	115
Şekil 4.47. Medioresinol/ tuberonik asit heksoziti'ne ait kütle spektrumu	118
Şekil 4.48. Medioresinol/ tuberonik asit heksoziti'ne ait UV spektrumu	118

Sayfa

Şekil 4.49. Tuberonik asit glikoziti 119

Şekil 4.50. Medioresinol 119



GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1. <i>O. minutiflorum</i> herbarium örneği	9
Görsel 2.2. <i>O. minutiflorum</i> arazi fotoğrafları	9
Görsel 3.1. Ticari ürün örneği <i>O. minutiflorum</i>	39
Görsel 3.2. Ham ekstrenin ve fraksiyonların hazırlanışı	47
Görsel 4.1. <i>O. minutiflorum</i> mikroskobik incelemesi	52
Görsel 4.2. Uçucu yağ, timol ve karvakrol'ün İTK ile analizi	58
Görsel 4.3. Ön ekstraksiyon çalışmaları	59
Görsel 4.4. Ham ekstre, ara faz ve fraksiyonların İTK ile analizi	60
Görsel 4.5. Etilasetat ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanması	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

60 G	: 60 A° ortalama por ebadına sahip kalsiyum sülfatlı silikajel
AA	: Araşidonik Asit
Abs	: Absorbans
AChE	: Asetilkolinesteraz
AİD	: Alev İyonlaşma Dedektörü
Amu	: Atomik Kütle Birimi
BuChE	: Bütirikolinesteraz
CO ₂	: Karbondioksit
COX	: Siklooksijenaz
dk.	: Dakika
dH ₂ O	: Bidistile su
EC	: Enzim Komisyon Kodu
EMS	: Genişletilmiş Kütle Tarama
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbarium Akronimi
FDA	: Gıda ve İlaç Birimi
FID	: Alev İyonlaşma Dedektörü
GK	: Gaz Kromatografisi
GK/KS	: Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
HPETE	: Hidroperoksieikozatetraenoik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	: Maksimum İnhibisyonun %50'sini Oluşturan Madde Konsantrasyonu
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
L.	: Linneaus
LOX	: Lipoksijenaz
m/z	: Kütle/yük
MA	: Molekül Ağırlığı
MMP	: Matriks Metaloproteinaz
MS	: Kütle Spektrometresi

NDGA	: Nordihidroguyaretik Asit
nm	: Nanometre
pH	: Hidrojen İyonu Konsantrasyonunun Negatif Logaritması
R.	: Reaktif
Rf	: Tutunma Faktörü
Rt	: Tutunma Zamanı
Sin	: Sinonim
ssp.	: Türler
Std.	: Standart
subsp.	: Alttür
NSAİİ	: Steroidal Yapıda Olmayan Antienflamatuvar İlaçlar
UV	: Ultraviyole
V	: Hacim
var.	: Varyete
YPSK/KS-KS	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi
λ_{max}	: Maksimum Morötesi Görünür Bölge Dalga Boyu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye, coğrafi yapısı sebebiyle genetik çeşitlilik ve endemizm bakımından zengin floraya sahip olmasının yanı sıra birçok bitkinin de gen merkezi konumundadır. Türkiye florasında 11.000'den fazla çiçekli bitki taksonu kaydedilmiştir. Bu taksonların %30'undan fazlası yüksek endemizm oranına sahip aromatik bitkiler içerir (Başer, 2002a).

Tıbbi ve aromatik bitkiler çok eski devirlerden beri gerek baharat gerekse ilaç ve kozmetik hammaddesi olarak kullanılmaktadır. 19. Yüzyıl ortalarından sonra hızla gelişen sentetik ilaçların insan sağlığı üzerine istenmeyen etkilerinin ortaya çıkması, doğal ürünlere dönüşü giderek artırmaktadır. Ülkemiz dünyada tıbbi ve aromatik bitki ticaretinde önemli bir yere sahiptir. Doğadan toplanan 347 türün ticareti yapılmakta ve bu türlerin %30'u ihraç edilmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Önemli ihraç kalemlerimizden olan uçucu yağların hammaddeleri doğadan karşılanmaktadır (Karik vd., 2007). Doğadan toplanan tıbbi ve aromatik bitkilerden istenen kalitede ürün elde edebilmek için, toplamaların sürdürülebilirlik ilkesine dayalı olarak, flora zarar vermeden yapılması, toplayıcıların eğitilmesi, hasat sonrası işlemlerin, depolama ve nakliyenin uygun koşullarda yapılması gerekir. Ancak bu koşullarda dünya pazarının istediği kalite ve standartta ürün elde edilmiş olabilmektedir (Bayram vd., 2010).

Türkiye'nin ticari bitkileri arasında ilk sırayı kekik almaktadır. Türkiye'de 'kekik' olarak kullanılan ve ticareti yapılan türler Lamiaceae familyasına ait bitkilerdir. *Origanum* L., familyanın en önemli cinslerinden biridir. Türkiye'de ticareti yapılan ve uçucu yağ üretiminde kullanılan *Origanum* türleri;

Origanum onites L. (Bilyalı kekik, Türk kekiği, İzmir kekiği),

Origanum vulgare L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart [(Sin: *Origanum heracleoticum* L.) (İstanbul kekiği, Kara Kekik, Yunan kekiği)],

Origanum minutiflorum O. Schwarz et P.H. Davis [(Sütçüler kekiği, Yayla kekiği, Toka kekiği) (Endemik)],

Origanum majorana L. [(Sin: *Origanum dubium* Boiss.) (Beyaz kekik, Alanya kekiği)],

Origanum syriacum L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart (Dağ kekiği, Suriye kekiği, İsrail kekiği, Tarsus kekiği)'dir.

İhraç edilen kekik türleri içerisinde İzmir kekiği (*Origanum onites*) en büyük paya sahiptir. Son zamanlarda, bir diğer endemik tür olan *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart iç piyasada yer almıştır (Başer, 2001; 2002b; 2014; Öztürk vd. 2014; Bayraktar vd., 2017). Ülkemiz ticari kekikleri içinde yer alan *O. majorana* uçucu bileşikleri de göz önüne alınarak yapılan genetik araştırmalar sonucu *O. dubium* olarak isimlendirilmiştir (Lukas vd., 2013).

Ticari *Origanum* türlerinin uçucu yağ bileşimi ve biyolojik etkileri ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasına karşılık diğer sekonder metabolitleri ile ilgili araştırma sayısı azdır. Yaygın olarak öncelikle baharat ve tıbbi bitki olarak kullanılmalarına rağmen biyolojik aktivite araştırmaları da yeterli değildir. *O. minutiflorum* Isparta ilimiz Sütçüler mevkiinde doğal yayıldığı alanlardan sürdürülebilir bir şekilde yıllardır toplanmakta olan endemik bir türdür. Ticari kekikler arasında yer almakta, yurdumuzda ve ihracatı yapılan pek çok ülkede çeşitli gıdalarla birlikte kullanılmakta olmasına rağmen farmakolojik etkileri ile ilgili araştırma yok denecek kadar azdır. (Başer, 2002b).

Tıbbi amaçla kullanılacak hammadde olarak kekik monografi, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyeleri tarafından hazırlanmış ve 1993 yılından bugüne ülkemizin resmi Farmakopesi olan Avrupa Farmakopesi 5. baskısında yayınlanmıştır. "Oregano" başlığı altındaki bu monografıda *O. onites* ve *O. vulgare* ssp. *hirtum* yer almaktadır (European Pharmacopoeia, 2005).

Ticarete verilen türler sadece bu iki türden oluşmadığı için öncelikle *O. minutiflorum*'un Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun monografinin hazırlanması amaçlanmıştır. Aynı zamanda gıdalarla birlikte bol miktarda tüketilen bu türün biyolojik etkilerine ışık tutabilmek için bitkinin toprak üstü kısmından hazırlanan ekstraları ile uçucu yağının *in vitro* lipoksijenaz, siklooksijenaz ve matriks metaloproteinaz-9 enzim inhibisyonlarının belirlenmesi, etkili bulunan ekstraların fraksiyonlanması, etkili fraksiyonların bileşimlerinin YPSK/KS-KS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi) ile aydınlatılması hedeflenmiştir. Uçucu yağın bileşimi GK (Gaz Kromatografisi) ve GK/KS (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi) ile belirlenecektir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyası

Lamiaceae familyasının dünyada yaklaşık 245 cins ve 7886 türü olduğu bilinmektedir. Bu familya üyeleri Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere Avustralya, Güney Batı Asya ve Güney Amerika'da çok sık yayılış göstermektedir. Türkiye Lamiaceae familyasının önemli gen merkezlerinden biridir (Koyuncu vd., 2010; Güner vd., 2012). Lamiaceae, 46 cins, 602 tür ve 179 alt tür ve varyeteyi içeren 782 taksonu ile Türkiye'nin üçüncü büyük familyasıdır. Lamiaceae familyasının 346 taksonu (271 tür ve 75 alttür ve varyete) endemiktir. Yaklaşık %44 endemizm oranı ile bu açıdan Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası konumundadır. Familyanın 24'ü endemik olan 28 de hibriti vardır (Başer vd., 1993; Başer ve Kıırmer, 2018; Celep ve Dirmenci, 2017).

Lamiaceae familyası üyeleri, uçucu yağ taşıyan, bir ya da çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır. Salgı tüyleri taşır ve uçucu yağ içerirler. Gövde dört köşeli, yapraklar çoğu zaman basit, bazen parçalı ve dekuzat dizilişlidir. Çiçekler vertisillat durumundadır, zigomorf ve bilabiattır. Uçucu yağ, başı tek, sapı çok hücreli salgı tüyleri ile başı 8-16 hücreli ve pul şeklindeki Labiatae tipi salgı tüylerindedir. Stamen 4 tane, çoğu zaman didinamdır, bazen de 2 stamen bulunur. Ovaryum 2 karpelden meydana gelmiş 4 gözlü ve üst durumludur, her gözde 1 ovül bulunur; stilus ginobaziktir. Meyve 4 nuska ayrılan bir şizokarptır (Davis, 1982).

2.2. *Origanum* L. Cinsi

Yarı çalmsı veya otsu çok yıllık, tüylü veya tüysüz (genellikle mavimsi yeşil). Gövdeler birkaç tane, yükselici veya dik, genellikle dallanmış. Yaprak subsesil veya ± petiolat, eliptik, ovat, kordat veya suborbikular, tam veya ± dişli, uç kısım obtus veya akuminat. Vertisiller 2-birkaç-çiçekli, infloresans ± yoğun başak şeklinde olup panikul ya da yalancı korimbus şeklinde düzenlenmiş. Brakte her zaman şekil ve boyut bakımından yapraklardan farklı olmaktadır. Genellikle imbrikat, ½-3 x kaliks kadar uzunlukta, ya zarımsı ve kısmen mor ya da sarımsı yeşil veya doku ve renk bakımından yapraklara benzer. Çiçekler hermafrodit veya ginodioik. Kaliks değişken, ± aktinomorf ve 5-dişli, veya zigomorf ve 1-2 dudaklı, 13 veya yaklaşık 10 damarlı; boğaz kısmı genellikle halka şeklinde tüylü. Korolla mor, pembe veya beyaz, ± eşit 2-dudaklı, tüp bazen torba şeklinde ya da yassılaştırmış; üst dudak emarginat veya kısa şeklinde iki loplulu,

alt dudak 3-loplu. Stamenler 4, alt çift daha uzun, korolla dışında veya \pm içinde, üst dudak altında yükselici düz veya ayrılmış; filamentler \pm eşit değil; teka ayrılmış. Meyveler küçük, ovoid, kahverengi (Davis, 1982).

2.2.1. *Origanum L. cinsinin yayılışı*

Origanum cinsi bir İran-Turan elementi olup Doğu Anadolu'dan dünyaya yayılmıştır. Bitkinin ismi Yunanca 'oros' -dağ ve 'ganos' -süs kelimelerinden türemiş ve dağların süsü anlamına gelmektedir. *Origanum*, cinsine ait türlerin yaklaşık %75'i Doğu Akdeniz, çok az bir kısmı Batı Akdeniz bölgesinde yayılmaktadır. Türkiye'de *Origanum* cinsine ait 27 tür ve 31 takson bulunmaktadır. Türler bazında endemizm oranı %67, takson bazında endemizm oranı %58'dir (Celep ve Dirmenci, 2017). Türlerin arasında *O. vulgare* çok geniş bir yayılışa sahip olup 4 alt türü ile Batı Akdeniz'den Orta Asya'ya kadar yayılmaktadır. Türlerin çoğu yüksek kesimlerde ve dağlık alanlarda, (0)-400-1800-(4000) m yükseklikte bulunur. En çok 1200-1500 m yükseklikte yetişmektedir. *Origanum* türlerinin neredeyse tümü taşlık, yamaç ve kayalık alanlarda, uçurumlarda yetişir (Ietswaart,1980; Tümen vd., 1995).

2.3. *Origanum minutiflorum O. Schwarz Et P.H. Davis*

35 cm'ye kadar yükseklikte hemen hemen çalimsız bitkiler, kısa ve ince tüylü. Dallar her gövdede 10 çift kadar, 4 cm'e kadar uzunlukta. Yaprak saplıdan hemen hemen sapsız kadar (saplar 6 mm'ye kadar), ovat veya eliptik, 3-16 x 1-12 mm, \pm akut. Spikül yaklaşık 2-8 x 3 mm. Brakte ovat veya eliptik, 1-3 x 0.5-1.5 mm, \pm obtus. Kaliks yaklaşık olarak 2 mm; üst dudak loplular veya \pm yaklaşık olarak 2/5'ine kadar geniş üçgen dişli; alt dudak \pm üst dudak kadar, geniş üçgen şekilli dişten oluşur. Korolla beyaz, 2.5-4 mm. Çiçeklenme zamanı Temmuz-Ağustos. Kayalıklı kireç taşlı yamaçlar, 1500-1800 m. Endemik bir türdür. Antalya: Kemer, Tahtalı Dağ, Çukur Yayla mevki; Antalya: Çalbalı Dağı, Kar çukuru ve Feşliken Yaylası arası; Isparta: Sütçüler, Çandır, Söğüt Yaylası; Antalya: Saklıkent yörelerinde yayılış gösterir (Davis, 1982; Ietswaart, 1980).

2.4. Kekik Üretimi ve Ticareti

Türkiye, dünya kekik ticaretinde lider konumdadır. Türkiye'yi Meksika, Peru, Yunanistan ve diğer Akdeniz ülkeleri takip etmektedir. Meksika kekiği *Origanum* türlerinden değil *Lippia* türlerinden elde edilmekte ve ağırlıklı olarak Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda Türkiye'den ABD'ye

Oregano ihracatı da artmış durumdadır. Son tahminlere göre dünya çapındaki kekik üretimi yaklaşık 9000 ton civarındadır. 1999 yılında bu miktarın 2/3'ünden fazlası sadece Türkiye tarafından üretilmiştir (Başer, 2002b).

2011 yılında dünya kekik üretimi bir önceki yıla göre yaklaşık olarak %3'lük bir düşüş göstermesine rağmen Türkiye'deki kekik üretiminde aynı dönem için yaklaşık %4'lük artış göstermiştir. Türkiye dünya kekik ihtiyacının yaklaşık %70'ini karşılamıştır. Bu dönemde Türkiye'yi takip eden ülkeler Peru ve Meksika olmuştur (Tunca ve Yeşilyurt, 2017).

Dünya piyasasında Türk kekiklerinin tercih edilme sebebi, kekiklerin işlenmesi için Türkiye'de geliştirilen uzmanlık ve becerilerden kaynaklanmaktadır. Son ürün temiz ve uluslararası standartlara uygundur. Ürün böcek parçaları vb. yabancı madde ve mikrobiyal kirlilik içermez, uçucu yağ verimi %2.5'ten az değildir. Türk kekiklerinin dünya pazarında itibarının iyi olması, yıllık 650 ton ham kekiğin işlenerek tekrar ihraç edilmek üzere Türkiye'ye ithal edilmesine neden olmaktadır (Başer, 2002b). Türkiye'nin kekik ihracat-ithalat değerleri ile ilgili Ormancılık Sektör Raporu verileri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. 2009-2018 Yılları arasında Türkiye'nin kekik ihracat-ithalat miktarı ve değerleri
(Ormancılık Sektör Raporu, 2019)

Yıl	İhracat (kg)	İhracat birim fiyat (\$/kg)	İhracat (\$)	İthalat (kg)	İthalat birim fiyat (\$/kg)	İthalat (\$)
2009	11.381.298	2.5	28.443.776	460.370	2.6	1.198.231
2010	12.912.682	2.0	27.999.903	985.417	2.0	2.148.414
2011	13.112.041	2.3	29.721.036	911.749	2.2	1.851.860
2012	13.900.361	2.8	39.718.997	1.687.976	2.0	3.341.972
2013	14.718.245	3.8	55.976.428	1.695.371	2.5	4.303.706
2014	15.490.927	3.8	59.699.747	1.360.191	2.7	3.654.247
2015	15.153.249	3.7	55.703.347	1.348.315	2.9	3.875.277
2016	17.048.880	3.5	60.380.209	1.658.160	2.9	4.749.539
2017	17.708.505	3.2	56.931.082	1.516.690	2.6	3.963.372
2018	17.426.213	3.2	56.308.621	1.787.584	2.5	4.479.033

Tablo 2.1'e göre Türkiye'nin 2009-2018 yılları arasındaki kekik ihracatı değerlendirmeleri şu şekildedir:

-2009 yılında 28.443.776 ABD Doları getiriye karşılık 11.381.298 kg kekik ihracatı gerçekleştirilmiştir, kekiğin kg başına değeri ise 2.5 ABD Doları olarak hesaplanmıştır.

-17.708.505 kg kekik ihracatının gerçekleştirildiği 2017 yılı 2009-2018 döneminin ihraç edilen kekik miktarının en fazla olduğu yıl olarak değerlendirilmiştir. Bu döneme ait kekik ihracat getirisi 56.931.082 ABD Dolarıdır, kg başına değeri 3.2 ABD Dolarıdır.

-2014 ve 2016 yılları sırasıyla 59.699.747 ABD Doları ve 60.380.209 ABD Doları getiriyle kekik ihracat getirisinin en fazla olduğu yıllar olarak görülmektedir.

-2018 kekik ihracat verilerine göre 17.426.213 kg kekik ihraç edilmiş 56.308.621 ABD Doları getiri elde edilmiştir, kekiğin kg başına değeri 3.2 ABD Dolarıdır.

-Kekik ihracat miktarı artarken birim fiyatta artış olmuş dolayısıyla ihracat gelirinde de artış olmuştur.

-Türkiye'nin 2018 yılı itibari ile son 10 yıldaki kekik ihracatının istikrarlı bir artış gösterdiği söylenebilir.

-Türkiye 2009-2018 yılları arasında 460.370-1.787.584 kg aralığında kekik ithal etmiştir. Türkiye'nin belirtilen yıllar arasındaki kekik ithalatının da kekik ihracatı ile birlikte artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak kekik ihracat ve ithalat miktar ve değerleri kıyaslandığında ithalat rakamlarının çok daha düşük olduğu görülmektedir. İşlenmemiş olarak ithal edilen kekik işlenerek tekrar ihraç edilmektedir. Bu nedenle ithal edilen kekik de katma değer sağlamaktadır.

1000 ton kekik yurt içinde baharat veya çay olarak tüketilmektedir, geri kalan kısım uçucu yağ eldesinde kullanılmakta veya ihraç edilmektedir. Güvenilir verilere ulaşmak zor olsa da 2002 yılı kaynak verilerine göre Türkiye 30 tonun üzerinde kekik uçucu yağı ihraç etmektedir (Başer, 2002b).

Tahminlere göre yıllık 10.000 tonun üzerinde kurutulmuş kekik Türkiye'deki doğal yayılış alanlarından toplanmaktadır. (Başer, 2002b). İhraç edilen kekiğin %95'i doğadan toplanarak, %5'i kültür sahalarından elde edilmekteydi. Ancak, son yıllarda ihraç edilen kekiğin yarısından fazlası kültür sahalarından sağlanmaktadır (Özgüven vd., 2005).

Doğadan toplanan kekikler; *O. onites*, *O. syriacum*, *O. majorana*, *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *O. minutiflorum*, *Thymbra spicata* L. ve *Coridothymus capitatus* L. gibi farklı tür ve cinsleri kapsamaktadır. Türkiye’de, 2010-2017 yılları arasında üretilen işlenmemiş kekik miktarı Tablo 2.2’de verilmiştir. Türkiye’de, odun dışı orman ürünleri kapsamında değerlendirilen ürünlerden biri olan kekik 2017 yılında üretimi en çok yapılan bitkilerden biri olarak değerlendirilmiştir. İşlenmemiş kekik üretimi miktarında belirtilen yıllar içinde düzenli bir artıştan söz edilememekte, dalgalı bir seyir izlediği görülmektedir.

Tablo 2.2. 2010-2017 Yılları arasında Türkiye’de kekik üretimi (Ormanlık Sektör Raporu, 2019)

Yıl	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
İşlenmemiş kekik (Ton)	1.412	9.721	1.786	1.874	2.493	2.159	1.256	1.511

O. onites ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* Isparta, Denizli ve İzmir civarında kültürü yapılan türlerdir (Sokat, 2019). *O. onites*’in organik tarımı Türkiye’nin batı illerinde uygulanmaktadır (Başer, 2002b). Türkiye’deki kekik kültürü ile ilgili ekim alanları ve üretim miktarı Tablo 2.3’te verilmiştir. Tabloya göre kekik üretimi, ekim alanıyla doğru orantılı olarak artış göstermiştir.

Tablo 2.3. Türkiye’de kekik ekim alanı ve üretimi (Bayraktar vd., 2017)

Yıl	2000	2009	2012	2013	2014	2015	2016	2018
Ekim alanı (Hektar)	5.250	8.496	9.428	8.913	9.295	10.486	12.112	13.98
Üretim (Ton)	7.000	12.329	11.598	13.658	11.752	12.992	14.724	15.895

2.4.1. *Origanum minutiflorum*’un hasatı ve ticareti

O. minutiflorum, Isparta ve Antalya illeri arasında dar bir bantta uzanan Batı Toros dağlarında sınırlı dağılıma sahip endemik bir türdür. Isparta’nın çoğunlukla Sütçüler ve Çandır ilçelerinde sürdürülebilir bir şekilde bilinçli olarak yıllardır kontrollü olarak bitkinin hasatı yapılmaktadır. Doğal olarak yetişen bu endemik bitkinin toplanması önceleri çevreciler arasında bazı endişelere neden olmuştur. Ancak, yerel işletme ve beş köy kooperatifi arasında oluşturulan bir protokol ile türün yok olma tehdidi engellenmiştir. Protokol, toplayıcıların bitkiyi her yıl belirlenen ve duyurulan tarihlerden önce toplamaya başlamaya başlamasını engellemiştir. Bitki her yıl Ağustos ayının sonu

ve Eylül ayının başında toplanmaktadır. Bu zaman aralığı bitkinin olgunlaştığı ve tohum verdiği döneme denk gelmektedir. Bitkinin toplanmasına izin verildikten sonra köylü aileleriyle birlikte dağ düzlüklerine taşınır, hasat ve kurutma işlemine başlar. Toplayıcılara, bitki köklerinin tahribini önlemek için keskin bir bıçakla veya keski ile kesilmesi ve çıplak elle-sökülmemesi ile ilgili talimatlar verilir. Başarılı olan bu uygulama doğal yayılış gösterdiği bölgeden sürdürülebilir şekilde hasat için bir örnek oluşturmuştur. Ürün köy kooperatifleri tarafından satın alındıktan sonra tüccarlara satılır. Bitki uçucu yağ kadar, karvakrol bakımından da zengindir (Başer, 2002b; Tümen vd., 1995; Mueller-Riebau vd., 1995). 2012-2018 yılları arasında satışı yapılan *O. minutiflorum*'un miktarı Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. 2012-2018 Yılları arasında satışı yapılan *O. minutiflorum* miktarı
(Sütçüler Orman İşletme Şefliği, 2018)

Yıl	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Satışı yapılan kekik (Ton)	114	168	264	256	215	200	130

Tablo 2.4'e göre 2012 ve 2018 yılları arasında satışı yapılan *O. minutiflorum*'un miktarında istikrarlı bir artış görülememiş ve bazı yıllarda yağış vb. doğa koşulları sebebiyle dalgalanmalar görülmüştür.

Endemik türler, çevre koşulları değişikliğine karşı risk altında olduğu bilinmektedir. Bu amaçla *O. minutiflorum*'un yayılış alanının olası iklim değişikliğine karşı nasıl etkileneceği araştırılmış ve bitkinin uygun habitatlarda in-situ olarak korunması ve tohum bankalarında ex-situ olarak korunmaya alınması önerilmiştir (Dülgeroğlu ve Aksoy, 2018). Ayrıca bitki ile ilgili *in vitro* tohum çimlendirme ve çelikle çoğaltma çalışmaları yapılmıştır (Özkum, 2007; Ünal vd., 2004).

Bitkinin doğal olarak yetiştiği bölgede toplama zamanında arazi gezisi ve gözlemleri planlanmıştır. Bitkinin doğal yayılış yerlerine örnek olarak Gümü Köyü seçilmiş ve köyün yukarı kısmında yer alan Akçal Yaylası'nda gözlem gerçekleştirilmiştir. Bitkinin toplanması, taşınması, kurutulması hakkında bilgi alınmış ve yapılan işlemler gözlemlenmiştir. Gümü Köy muhtarı ile görüşülmüş ve bitkinin yağış vb. hava şartları sebebiyle yeterli büyüklüğe erişmediği zamanlarda Sütçüler Orman İşletme Şefliği ile görüşülerek bölgenin nadasa bırakıldığı bildirilmiştir. Akçal Yaylası

bölgesinden bitkinin %70'lik etanollü örneği ve herbaryum örneği (ESSE No: 15509) hazırlanmıştır (Görsel 2.1). Bölgede Akçal Yayla Bal Ormanı olduğu tespit edilmiştir, kekik balı üreticiliği yapıldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca arıların Varroa hastalığında kekik suyundan yararlandığı öğrenilmiştir. Yapılan araştırma ve gözlemlerle ilgili fotoğraflar Görsel 2.2'de verilmiştir.



Görsel 2.1. *O. minutiflorum* herbaryum örneği



Görsel 2.2. *O. minutiflorum* arazi fotoğrafları (Akçal Yayla Bal Ormanı)

Fotoğraflar: G. YILDIZ



Görsel 2.2. (Devam) *O. minutiflorum* arazi fotoğrafları



Görsel 2.2. (Devam) *O. minutiflorum* arazi fotoğrafları

2.5. *Origanum* Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Origanum türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmaların sayısı oldukça fazladır. *Origanum* türlerinde tespit edilen bileşikler türlere ve makalelere göre Tablo 2.5'te özetlenmişlerdir.

Tablo 2.5. *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
(+)-Kateşin	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
(<i>E</i>)-Ferulik asit	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
10- <i>epi</i> -Litospermik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
12-Hidroksijasmonik asit 12- <i>O</i> - β -D-glukopiranosit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> <i>vulgare</i>	Koukoulitsa vd., 2006 Liu vd., 2011
12-Hidroksijasmonik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
12-Hidroksijasmonik asit-12- <i>O</i> -heksozit	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
12- <i>O</i> -(6'-Kafeoilheksozil) jasmonat	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
2-Kafeoiloksi-3-[2-(4-hidroksibenzi)-4,5-dihidroksi]fenilpropionik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
2- <i>O</i> -(3,4,5-Trihidroksibenzoil) kersitrin	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
3-(3,4-Dihidroksifenil) laktik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014
3,4-Dihidroksibenzoik asit (protokateşik asit)	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014
3,4-Dihidroksikamferol	<i>vulgare</i>	Bunghez vd., 2015
3,4-Trihidroksi benzenproanoik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
3- <i>O</i> -Kafeoilkinik asit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
4-(3,4-Dihidroksibenzoiloksimetil) fenil- β -glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014
4-(3,4-Dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- <i>O</i> - β -glukopiranosit	<i>vulgare</i>	Liu vd., 2011
4-(3,4-Dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- <i>p</i> -D-glukopiranozit	<i>vulgare</i>	Nakatani ve Kikuzaki, 1987
2-Kafeoiloksi-3-[2-(4-hidroksibenzi)-4,5-dihidroksi]fenilpropionik asit	<i>vulgare</i>	Kikuzaki ve Nakatani, 1989
4-[[2',5'Dihidroksibenzoil) oksi] metil] fenil <i>O</i> - β -D-glukopiranozit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
4-[[3',4'-Dihidroksibenzoil)oksi]metil] fenil <i>O</i> - β -D-[6- <i>O</i> -(3'',5''-Dimetoksil-4''-hidroksibenzoil)glukopiranosit	<i>vulgare</i>	Zhang vd.,2014
4-Hidroksibenzoik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
5,3',4'-Trimetoksiflavon	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
5,3'4'-Trihidroksi-7-metoksiflavon	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
5,4'-Dihidroksi-6,7,3''-trimetoksiflavanon	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
5,4'-Dihidroksi-6,7,8,3'-tetrametoksiflavon	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
5,4'-Dihidroksi-6,7-dimetoksiflavon (kirsimaritin)	<i>akhadarensis</i>	Skoula vd., 2008
5,6,3'-Trihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon	<i>majorana</i>	Erenler vd., 2016a
5,6,4'-Trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
5,6,4'-Trihidroksi-7,3'-dimetoksiflavon	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
5,6-Dihidroksi-7,3'4'-trimetoksiflavon	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
5,6-Dihidroksi-7-metoksiflavon (negletein)	<i>vulgare</i>	Zheng vd., 1997
5,7-Dihidroksiflavon (krisin)	<i>vulgare</i>	Zheng vd., 1997
5-Hidroksi-6,7-dimetoksiflavon (mosloflavon)	<i>vulgare</i>	Zheng vd., 1997
5-Hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon (apigenin-7,4'-dimetil eter)	<i>pampanini</i>	Skoula vd., 2008
5- <i>O</i> -Kafeoilkinik asit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
6,8- <i>C</i> -Diheksozil apigenin	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
6-Desmetilnobeletin	<i>pampanini</i>	Skoula vd., 2008
6-Hidroksiapigenin-7- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -feruloil)- β -D-glikopiranozit	<i>majorana</i>	Kawabata vd., 2003
6-Hidroksiapigenin-7- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit	<i>majorana</i>	Kawabata vd., 2003
6-Hidroksiluteolin-7,3'4'-trimetil eter	<i>onites</i>	Tomás-Barberán vd., 1988
6-Hidroksiluteolin-7,3'dimetil eter	<i>onites</i>	Tomás-Barberán vd., 1988
	<i>boissieri</i>	Skoula vd., 2008
	<i>acutidens</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vetteri</i>	Skoula vd., 2008
	<i>syriacum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>scabrum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>intercedens</i>	Skoula vd., 2008
	<i>leptocladum</i>	Skoula vd., 2008
6-Hidroksiluteolin-7- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -feruloil)- β -D-glikopiranozit	<i>majorana</i>	Kawabata vd., 2003
6-hidroksiluteolin-7- <i>O</i> - β -D-glikopiranozit	<i>majorana</i>	Kawabata vd., 2003
A-di-OH, B-mono-OH flavanon	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
A-di-OH-mono- <i>O</i> -metil, B-3'-OH flavon	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Aksillarin	<i>majorana</i>	Skoula vd., 2008; Souleles, 1990
Apigenin	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
	<i>majoricum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
	<i>dictamnus</i>	Skoula vd., 2008

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Apigenin	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
	<i>rotundifolium</i>	Erenler vd., 2017
Apigenin 6,8-di-C-glikozit (visenin-2)	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Apigenin 6,8-di-C-glikozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Apigenin 7-O-[6'''-O-asetil-β-D-galaktopiranosil-(1→3)]-β-D-ksilopiranosit	<i>vulgare</i>	Zhang vd., 2014
Apigenin 7-O-diglukuronit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
Apigenin 7-O-glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Apigenin glikozit	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Apigenin-7,4'-dimetil eter	<i>pampanini</i>	Skoula vd., 2008
Apigenin-7-glikozit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
Apigenin-7-O-glukuronit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	Bunghesz vd., 2015
Apigenin-7-O-β-D-glikozit	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
Apigenin-O-glukuronit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Arbutin	<i>majorana</i>	Erenler vd., 2016a
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Aromadendrin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>compactum</i>	Skoula vd., 2008
Asasetin 7-O-[4'''-O-asetil-β-D-apiofuransil-(1→3)]-β-D-ksilopiranosit	<i>vulgare</i>	Zhang vd., 2014
asasetin 7-O-[6'''-O-asetil-β-D-galaktopiranosil-(1→3)]-β-D-ksilopiranosit	<i>vulgare</i>	Zhang vd., 2014
Asasetin rutinozit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Asasetin	<i>majorana</i>	Skoula vd., 2008; Souleles, 1990
Aspidokarpin	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Benzil alkol hekzil pentoz	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Butanpentanoik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Danşensu	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Shen vd., 2010
Dihidrokamferid	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Dihidrokamferol veya izomeri	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
Dihidrokamferol	<i>vulgare</i>	Cavero vd., 2006
Dihidrokersetin	<i>vulgare</i>	Cavero vd., 2006

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Dihidrokersetin	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Dihidroksi diokso oktadekanoik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Dihidroksibenzoik asit heksoz	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Dihidroksibenzoik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Dihidroluteolin	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Diosmetin	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Diosmin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Epigallokateşin	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
<i>epi</i> -Litospermik asit B	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Epirosmanol etil eter	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Eriodiktiol 6,8-di-C-glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Eriodiktiol	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	Cavero vd., 2006
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
	<i>dictamnus</i>	Skoula vd., 2008
	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
Eriodiktiol-7-O- glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
Fenillaktik asit	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
Ferulik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i>	Matei vd., 2015
	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
	<i>rotundifolium</i>	Erenler vd., 2017
Fisetin	<i>vulgare</i>	Matei vd., 2015
Flavanon glikozit	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Flavon glikozit	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Flavonol diglikozit	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
Fumarik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
Galangin	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Gallik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Gallik asit	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
Galloil kersitrin	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
Gallokateşin	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Gallokateşin izomer 1	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Gallokateşin izomer 2	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Gastrodin 3,4-dihidroksibenzoat	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
Genkvanin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
Gentisik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
Globoidnan A	<i>rotundifolium</i>	Erenler vd., 2017
Glukonik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Hekzadekadioik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Hekzadioik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Heptadioik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Hesperetin	<i>majorana</i>	Erenler vd., 2016a
Hesperidin	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i>	Matei vd., 2015
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Hidrokinon	<i>majorana</i>	Erenler vd., 2016a
Hidroksi kafeik asit	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
Hidroksifenil propionik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Hidroksitirosol	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
Hidroperoksi oktadekadienoik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Hiperozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
İzokersitrin	<i>vulgare</i>	Matei vd., 2015
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
İzoorientin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
İzoramnetin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
İzositrik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Jaseidin izomer 1	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Jaseidin izomer 2	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kafeik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
Kafeik asit dimeri	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Kafeik asit glikozit	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Kafeik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Kafeik asit	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
Kafeoil-arbutin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kalleryanin-3-hidroksi 4-metoksibenzoat	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
	<i>vulgare ssp. vulgare</i>	González vd., 2017
Kalleryanin-3,4-dihidroksibenzoat	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
	<i>vulgare ssp. vulgare</i>	González vd., 2017
Kamferid- <i>O</i> -glukuronit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kamferol	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Kamferol glukuronit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
Kamferol-3-glukuronit	<i>vulgare</i>	Bunghez vd., 2015
Kamferol- <i>O</i> -glukuronit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kamferol- <i>O</i> -heksozil- <i>O</i> -heksozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kamferol- <i>O</i> -heksozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kamferol- <i>O</i> -sambubiosit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kaprolaktam	<i>rotundifolium</i>	Erenler vd., 2017
Karnosik asit	<i>vulgare</i>	Bunghez vd., 2015
Karnosol	<i>vulgare</i>	Bunghez vd., 2015
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Karvakrol	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
Kersetin arabinozit	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Kersetin dimetil eter	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kersetin glukuronit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
Kersetin türevi	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Kersetin	<i>vulgare ssp. hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>vulgare</i>	Cavero vd., 2006
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare ssp. vulgare</i>	Oniga vd., 2018
	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
	<i>dictamnus</i>	Skoula vd., 2008
	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
Kersetin-3'-glukuronit	<i>vulgare</i>	Bunghez vd., 2015
Kersetin-3- <i>O</i> -rutinozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kersetin-7- <i>O</i> -heksozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kersetin- <i>O</i> -heksozit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Kersitrin	<i>vulgare ssp. vulgare</i>	Oniga vd., 2018
Kersitrin-7- <i>O</i> - β -(6''-galloil glikozit)	<i>syriacum</i>	El-Demerdash vd., 2012
Kinik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Kirsilioneol	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Kirsimaritin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>akhadarensis</i>	Skoula vd., 2008
Klorojenik asit	<i>vulgare</i>	Matei vd., 2015
	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
Kosmozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Krisin	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Krisoeriol	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>majoricum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majoricum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Krisosplenol D	<i>majorana</i>	Skoula vd., 2008; Souleles, 1990
Ksantomikrol	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
Ladanein	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
Litospermik asit A	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Litospermik asit B	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Luteolin	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>majoricum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majoricum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
	<i>dictamnus</i>	Skoula vd., 2008
	<i>dictamnus</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Luteolin 7,4'-di- <i>O</i> -glukuronit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Luteolin 7- <i>O</i> -glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Luteolin 7- <i>O</i> -glukuronit-3'- <i>O</i> -glikozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
Luteolin 7- <i>O</i> -glukuronit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Grevsen vd., 2009
	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	González vd., 2017
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Güllüce vd., 2012
	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	González vd., 2017
Luteolin 7- <i>O</i> -ksilozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Güllüce vd., 2012
Luteolin 7- <i>O</i> - β -D-glukuronit	<i>vulgare</i>	Liu vd., 2011
Luteolin diglukuronit	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019

Tablo 2.5. (Devam) Origanum türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	Origanum türü	Kaynak
Luteolin glikozit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i>	González vd., 2014
Luteolin glukuronit	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Luteolin pentozit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
Luteolin rutinozid	<i>majorana</i>	Hossain vd., 2014
Luteolin türevi	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Luteolin-6,8-C-diheksoz	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Luteolin-6,8-di-C-glukozit (lusenin-2)	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Luteolin-7-O-glukuronit	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Luteolin-O-glikozit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Luteolin-O-heksozit	<i>glandulosum</i>	Nabet vd., 2019
Malik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Mesiadanol	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Metilapigenin-O-glukuronit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Mirsetin-3-O-glikozit	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
Mosloflavon	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Naringenin	<i>onites</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	Cavero vd., 2006
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majoricum</i>	Skoula vd., 2008
Negletein	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Oktadioik asit	<i>vulgare</i>	Kivilompolo vd., 2007
Oleanolik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Shen vd., 2010
	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011
	<i>syriacum</i>	Shen vd., 2010
Orientin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Origanol A	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011
Origanol B	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011
Pebrellin	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
Pedaltin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
Penduletin	<i>majorana</i>	Skoula vd., 2008
Penta-OH-di-O-metil-flavon	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
p-Hidroksifenil propionik asit	<i>dictamnus</i>	Proestos vd., 2006
Pirogallol	<i>laevigatum</i>	Çarıkcı vd., 2018
p-Kumarik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
p-Kumarik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Oniga vd., 2018
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
p-Ment-3-en-1,2-diol-1- <i>O</i> - β -Glikopiranozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Prokateşik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> <i>onites</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> <i>onites</i>	Shen vd., 2010 Erenler vd., 2018 Martins vd., 2014 González vd., 2017 González vd., 2017 Erenler vd., 2018
Potokateşik asit etil esteri	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
Retusin	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Rosmadial	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Shen vd., 2010
Rozmarinik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> <i>onites</i> <i>onites</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>viridulum</i> <i>majorana</i> <i>majorana</i> <i>majorana</i> <i>dictamnus</i> <i>laevigatum</i> <i>syriacum</i> <i>heracleoticum</i> <i>rotundifolium</i> <i>glandulosum</i>	Koukoulitsa vd., 2006 Grevsen vd., 2009 Gürbüz vd., 2019 Erenler vd., 2018 Gürbüz vd., 2019 Martins vd., 2014 González vd., 2017 Bunghez vd., 2015 Kivilompolo vd., 2007 Oniga vd., 2018 González vd., 2017 González vd., 2014 Erenler vd., 2016a Taamalli vd., 2015 Hossain vd., 2014 Kouri vd., 2007 Çarıkcı vd., 2018 Shen vd., 2010 Tsimogiannis vd., 2006 Erenler vd., 2017 Nabet vd., 2019
Rozmarinik asit türevi	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
Rutin	<i>vulgare</i> <i>vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Matei vd., 2015 Oniga vd., 2018
Sakranozit A	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Sakuranetin	<i>onites</i> <i>majorana</i>	Skoula vd., 2008 Taamalli vd., 2015
Salisilik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
Salvianolik asit E/B izomer	<i>onites</i> <i>vulgare</i>	Gürbüz vd., 2019 Gürbüz vd., 2019
Salvianolik asit I	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Sebasik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Sitrik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Skutellarein (6-hidroksiapigenin)	<i>majorana</i>	Kawabata vd., 2003
Sorbifolin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
Suksinik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Şirincik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Şiringetin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Şiroik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
Taksifolin	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i>	Martins vd., 2014
	<i>vulgare</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
	<i>heracleoticum</i>	Tsimogiannis vd., 2006
Taksifolin metil eter izomer 1	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Taksifolin metil eter izomer 2	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Tetrahidroksi monometoksisflavanon	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
Timokinol-2,5- <i>O</i> - β -glikopiranozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Timokinol-2- <i>O</i> - β -glikopiranozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Timokinol-5- <i>O</i> - β -glikopiranozit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
Timol	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Timonin	<i>onites</i>	Tomás-Barberán vd., 1988
	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>cordifolium</i>	Skoula vd., 2008
	<i>boissieri</i>	Skoula vd., 2008
	<i>acutidens</i>	Skoula vd., 2008
	<i>vetteri</i>	Skoula vd., 2008
	<i>saccatum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>scabrum</i>	Skoula vd., 2008
	<i>intercedens</i>	Skoula vd., 2008
	<i>leptocladum</i>	Skoula vd., 2008
Timusin	<i>onites</i>	Tomás-Barberán vd., 1988
	<i>onites</i>	Skoula vd., 2008
	<i>intercedens</i>	Skoula vd., 2008
Triakontanol	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011
Trihidroksi oktadekadienoik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
tri-OH, di- <i>O</i> -metil Flavon	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Tuberonik asit	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Ursolik asit	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Shen vd., 2010

Tablo 2.5. (Devam) *Origanum* türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Bileşik	<i>Origanum</i> türü	Kaynak
Ursolik asit	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011
	<i>syriacum</i>	Shen vd.,2010
Vanilik asit	<i>onites</i>	Erenler vd., 2018
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
	<i>dictamnus</i>	Kouri vd., 2007
Vanillin	<i>laevigatum</i>	Çarıkçı vd., 2018
Visenin-2	<i>vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Koukoulitsa vd., 2006
	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
Viteksin	<i>rotundifolium</i>	Erenler vd., 2017
Viteksin/izoviteksin	<i>majorana</i>	Taamalli vd., 2015
β -Sitosterol	<i>vulgare</i>	Rao vd., 2011

2.5.1. *Origanum minutiflorum* ile yapılan fitokimyasal çalışmalar

Sadece *O. minutiflorum* ile ilgili fitokimyasal araştırmalar Tablo 2.6'da özetlenmiştir.

Tablo 2.6. *O. minutiflorum*'da tanımlanmış bileşikler

Bileşik	Kaynak
(8E,16E)-Tetrakoza-8,16-dien-1,24-diol	Elmastaş vd.,2018
3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-hidroksi-propionik asit (danşensu)	Özgen vd., 2010
3,4-Dihidroksibenzoik asit	Elmastaş vd.,2018
4-(3,4-Dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit	Özgen vd., 2010
Apigenin	Koşar vd., 2003; Elmastaş vd.,2018; Sezen Karaoğlan, 2011
Apigenin-7-O-glukuronit	Elmastaş vd.,2018
Azapan-2-on	Elmastaş vd.,2018
Eriodiktiyol	Elmastaş vd.,2018
Globoidnan A	Elmastaş vd.,2018
Kafeik asit	Koşar vd., 2003
Luteolin	Elmastaş vd.,2018
Luteolin-7-O-glikozit	Koşar vd., 2003
Oleanolik asit	Özgen vd., 2010
Rozmarinik asit	Koşar vd., 2003; Özgen vd., 2010; Elmastaş vd.,2018; Sezen Karaoğlan, 2011
Tetradekanol	Sezen Karaoğlan, 2011
Trikozan-1-ol	Elmastaş vd.,2018
Ursolik asit	Özgen vd., 2010
Visenin-2	Elmastaş vd.,2018; Sezen Karaoğlan, 2011

2.5.2. Ticari *Origanum* türlerinin uçucu yağ bileşimleri

Ticari türler uçucu yağlarındaki yüksek karvakrol oranlarından dolayı tercih edilmektedir. Bu türlerin uçucu yağ bileşimleri ile ilgili makaleler Tablo 2.7 de özetlenmiştir.

Tablo 2.7. Ticari *Origanum* türlerinin uçucu yağ bileşimleri

Tür	Ana bileşikler %	Kaynak
<i>O. dubium</i>	Karvakrol 63, γ -terpinen 11, <i>p</i> -simen 9	Maral vd., 2017
	Karvakrol 81	Arnold vd., 1993
	Çiçeklenme dönemi: Karvakrol 71, <i>p</i> -simen 5, γ -terpinen 3.6, <i>trans</i> -sabinen hidrat 3	Karioti vd., 2006
	Olgunlaşmış çiçeli dönem: Karvakrol 69, <i>p</i> -simen 4, γ -terpinen 3, <i>trans</i> -sabinen hidrat 2	
	Karvakrol 86, <i>p</i> -simen 4	Basım vd., 2019
	Türkiye örnekleri: Karvakrol 4.7-86.2	Figueredo vd., 2006
	Kıbrıs örnekleri: Karvakrol 61.5-89.8	
<i>O. majorana</i>	Karvakrol 73-88, <i>p</i> -simen 3	Kaplan ve Turgut, 2019
	Karvakrol 53, linalol 45	Erdoğan ve Özkan, 2017
	Karvakrol 80, γ -terpinen 7	Orhan vd., 2011
	β -Karyofilen 26, α -terpinolen 14, γ -terpinen 10, sabinen 9	Brada vd., 2012
	Karvakrol 86.7	Schulz vd., 2005
	Linalol 88, timol 12	Karabörklü vd., 2011
	Karvakrol 78-79.5	Başer vd., 1993
	Karvakrol 48-74, timol 0.5-4	Şarer vd., 1985
	Karvakrol 65, timol 4	Şarer vd., 1982
	Karvakrol 78-79, γ -terpinen 4-5, <i>p</i> -simen 4-5	Başer vd., 1993
	Karvakrol 39, <i>p</i> -simen 48, linalol 2, γ -terpinen 2	Boydağ, 1996
	<i>cis</i> -Sabinen hidrat 30-44, linalil asetat 7-10, terpinen-4-ol 8-14, <i>trans</i> -sabinen hidrat 6-7, α -terpineol 4-7, linalol 2-5, γ -terpinen 3-6	Tabanca vd., 2004
	<i>trans</i> -Sabinen hidrat 18, terpinen-4-ol 15, γ -terpinen 9, α -terpinen 6, sabinen 6, <i>cis</i> -sabinen hidrat 6, α -terpineol 5	Kowalski vd., 2019
Linalol 88, timol 12	Karabörklü vd., 2011	

Tablo 2.7. (Devam) Ticari Origanum türlerinin uçucu yağ bileşimleri

Tür	Ana bileşikler %	Kaynak
<i>O. majorana</i>	Karvakrol 78-79.5	Başer vd., 1993
	Karvakrol 48-74, timol 0.5-4	Şarer vd., 1985
	Karvakrol 65, timol 4	Şarer vd., 1982
	Karvakrol 78-79, γ -terpinen 4-5, <i>p</i> -simen 4-5	Başer vd., 1993
	Karvakrol 39, <i>p</i> -simen 48, linalol 2, γ -terpinen 2	Boydağ, 1996
	<i>cis</i> -Sabinen hidrat 30-44, linalil asetat 7-10, terpinen-4-ol 8-14, <i>trans</i> -sabinen hidrat 6-7, α -terpineol 4-7, linalol 2-5, γ -terpinen 3-6	Tabanca vd., 2004
	<i>trans</i> -Sabinen hidrat 18, terpinen-4-ol 15, γ -terpinen 9, α -terpinen 6, sabinen 6, <i>cis</i> -sabinen hidrat 6, α -terpineol 5	Kowalski vd., 2019
<i>O. minutiflorum</i>	Karvakrol 79, <i>p</i> -simen 8	Özkum vd., 2010
	mikroçoğaltım: karvakrol 86, <i>p</i> -simen 4, γ -terpinen 4	
	Karvakrol 98	Öz vd., 2012
	Karvakrol 75-84, <i>p</i> -simen 6-9	Başer vd., 1993
	Karvakrol 91, linalol 3, <i>p</i> -simen 1	Albayrak ve Aksoy, 2019
	Karvakrol 76, <i>p</i> -simen 6, γ -terpinen 2	Boydağ, 1996
	Karvakrol 56, triklorometan 19, <i>p</i> -simen 8.8	Erlar ve Çetin, 2009
	Karvakrol 42-84	Kırimer vd., 1995
	Karvakrol 86-91	Figueredo vd., 2006
	Karvakrol 74, <i>p</i> -simen 7, γ -terpinen 4	Altundağ vd., 2011
	Karvakrol 85	Baydar vd., 2004
	Karvakrol 75-82	Başer vd., 1991
	Karvakrol 91-93	Şarer vd., 1996
	Karvakrol 68, <i>p</i> -simen 12, γ -terpinen 8,	Dadaloğlu ve Evrendilek, 2004
	Karvakrol 83	Schulz vd., 2005
	Yapraklar: Karvakrol 45	Göze vd., 2016
	Çiçekler: Karvakrol 34	
<i>O. onites</i>	Karvakrol 68, γ -terpinen 15	Orhan vd., 2011
	Karvakrol 69, γ -terpinen 9, timol 5.7, <i>p</i> -simen 5	Schulz vd., 2005
	Karvakrol 59, linalol 13	Saygın ve Saraç, 2019
	Karvakrol 84-89, γ -terpinen 3-6	Özkan, vd., 2010

Tablo 2.7. (Devam) Ticari Origanum türlerinin uçucu yağ bileşimleri

Tür	Ana bileşikler %	Kaynak
<i>O. onites</i>	Karvakrol tipi: Karvakrol 80	Başer vd., 1993
	Linalool tipi: Linalol 92	
	Karvakrol 40-52	Kızıl vd., 2009
	Tohum: α -linoleik asit 56-57, linoleik asit 22, (Z)-9-oktadekanoik (18:1)-oleik 9, palmitik asit (16:0) 6-7	Azcan vd., 2004
	Karvakrol 77, <i>p</i> -simen 4, timol 1	Boydağ, 1996
	Karvakrol 87	Baydar vd., 2004
	Karvakrol 76, linalol 9, <i>p</i> -simen 4, timol 2	Carroll vd., 2017
	Karvakrol 70, linalol 12, timol 9	Ayvaz vd., 2010
	Karvakrol 54-71, <i>p</i> -simen 6-14, γ -terpinen 2-10.8	Kokkini vd., 2004
	Karvakrol 68, <i>p</i> -simen 11, γ -terpinen 7	Sertkaya vd., 2010
	Karvakrol 83, timol 13	Görmez ve Diler, 2014
	Karvakrol 47, <i>p</i> -simen 16, γ -terpinen 9, mirsen 9	Yaylı vd., 2014
	Karvakrol 81, linalol 6	Koca ve Çevikbaş, 2015
	Karvakrol 60-87	Figueredo vd., 2006
	Karvakrol 30, linalol 28, timol 17, <i>p</i> -simen 5	Erler ve Çetin, 2009
	Karvakrol 64, linalol 14, <i>p</i> -simen 7	Bostancıoğlu vd., 2012
	Karvakrol 57, γ -terpinen 9, linalol 8, <i>p</i> -simen 8	Atak vd., 2016
	Karvakrol 69-82	Arnold vd., 1993
	13 Örnek: Karvakrol 65-81, γ -terpinen 4-9, <i>p</i> -simen 2-6	Tonk vd., 2010
	1 Örnek: Timol 66, karvakrol 6, γ -terpinen 5	
	Karvakrol 70.7-85.7	Ceylan vd., 1999
	Karvakrol 19-82	Kırimer vd., 1995
	<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	20 Örnek: Karvakrol 8-83, timol 0.3-60, <i>p</i> -simen 6-31
20 Örnek, Kültür: karvakrol 5-89, timol 0.3-68, γ -terpinen 3-20, <i>p</i> -simen 4-32		
Karvakrol 80, <i>p</i> -simen 9, γ -terpinen 2		Sivropoulou vd., 1996

Tablo 2.7. (Devam) Ticari *Origanum* türlerinin uçucu yağ bileşimleri

Tür	Ana bileşikler %	Kaynak
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	Karvakrol 0-57, timol 8-56, γ -terpinen 13-31, <i>p</i> -simen 4-10	Russo vd., 1998
	Türkiye örnekleri: Karvakrol 3-93	Figueredo vd., 2006
	Kıbrıs örnekleri: Karvakrol 57-85	
	Karvakrol 61, linalol 9, <i>p</i> -simen 7	Maral vd., 2017
	Karvakrol 23-79	Başer vd., 1994
	Karvakrol 71, γ -terpinen 8	Sezik vd., 1993
	Karvakrol 44-85	Kırimer vd., 1995
	Linalol 96	Sarıkürkçü vd., 2015
	Karvakrol 57-78, γ -terpinen 3-12 timol 6-9	Başer vd., 1993
	Karvakrol 51-63, linalol 2-28, <i>p</i> -simen 5-9, γ -terpinen 6-10	Özcan vd., 2012
<i>O. syriacum</i> var. <i>benvanii</i>	Karvakrol 42.5-83.0	Arnold vd., 2000
	Karvakrol 43-79	Kırimer vd., 1995
	Karvakrol 43, timol 25, γ -terpinen 13, <i>p</i> -simen 6	Başer vd., 1993
	Karvakrol 61, <i>p</i> -simen 7	Schulz vd., 2005
<i>O. acutidens</i>	Karvakrol 66, <i>p</i> -simen 14	Başer vd., 1997
	Toprak üstü kısmı: <i>p</i> -simen 9, karvakrol 68	Cosge vd., 2009
	Korolla kısmı: <i>p</i> -simen 18, karvakrol 52	
	Karvakrol 87, <i>p</i> -simen 2, linalil asetat 1.7, borneol 1.6, β -karyofilen 1.3	Kordalı vd., 2008
	Karvakrol 76, <i>p</i> -simen 7, borneol 3	Figueredo vd., 2012
	Karvakrol 65, <i>m</i> -simen 9, <i>trans</i> -karyofilen 4, γ -terpinen 3.5	Göze vd., 2010
	Karvakrol 62, <i>p</i> -simen 6	Güleç vd., 2014

DNA verileri Türkiye Florası'na kaydedilen *O. majorana* türünün *O. dubium* olarak değiştirilmesi gerektiğini göstermiştir. Bu nedenle, Türkiye'den karvakrol yönünden zengin *O. majorana* yağları ile ilgili daha önce yayınlanmış karvakrolce zengin örnekler *O. dubium* olarak okunmalıdır (Lukas vd., 2013).

2.5.3. *Origanum minutiflorum* uçucu yağ bileşimi

O. minutiflorum ile ilgili çalışmalar genellikle uçucu yağ bileşimi ve verimi üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalarda bitkinin uçucu yağ verimi % 1.7-4.9, uçucu yağın ana bileşiği olan karvakrol oranı %44-92 arasındadır (Başer vd., 1991; Kırimer vd., 1995; Oflaz, 2001; Baydar, 2005; Figueredo vd., 2006).

Başka bir çalışmada karvakrol oranı %81.81, diğer bileşenlerin oranı *p*-simen %5.62, borneol %2.25 ve β -karyofillen %1.98 olarak belirlenmiştir (Görmez ve Diler, 2017).

Doğadan toplanan ve mikro-çoğaltım ile elde edilen *O. minutiflorum*'un uçucu yağları verimleri ve bileşimleri bakımından karşılaştırılmıştır. Mikro-çoğaltılmış bitkinin uçucu yağ verimi daha düşük bulunmuştur. Mikro-çoğaltım ve doğadan toplanan bitkilerin uçucu yağlarında karvakrol hariç diğer bileşikler arasında çok az bir fark bulunmuştur. Mikro-çoğaltım ile elde edilen bitki uçucu yağının ana bileşenleri ise karvakrol (%85.7), *p*-simen (%4.1) ve γ -terpinen (%3.9)'dir. Doğadan toplanan bitkiden elde edilen yağın ana bileşenleri ise sırasıyla karvakrol, *p*-simen ve γ -terpinen %78.6, %7.7 ve %2.2'dir. Her iki durumda da timol içeriği, %0.4'tür. Fenolik monoterpen olan karvakrol içeriğinin, *in vitro* çoğaltma yöntemi ile elde edilen bitki uçucu yağında arttığı ancak diğer bileşiklerin doğadan toplanan bitki uçucu yağı ile aynı olduğu bildirilmiştir (Özkum vd., 2010).

O. minutiflorum'un uçucu yağının distilasyon zamanına göre bileşimi ve verimi incelenmiştir. 60 dk.'lık distilasyonun uçucu yağ verimi ve karvakrol içeriğinin en yüksek olmasından dolayı bitkinin distilasyonunda en uygun sürenin 60 dk. olduğu belirlenmiştir (Toker vd., 2017).

O. minutiflorum'un 6 farklı örneğinin uçucu yağ verimi ve ana bileşenler bakımından incelenmiştir. Araştırmanın sonuçları Tablo 2.8'de verilmiştir (Başer, 2002b).

Tablo 2.8. *O. minutiflorum* uçucu yağı ana bileşenleri (Başer, 2002b)

Çalışılan örnek	% Uçucu yağ verimi	% Karvakrol	% Timol	% γ -Terpinen	% <i>p</i> -Simen	% Linalol
6	1.1-3.8	42-84	0.02-3	3-11	4-17	0.006-0.2

2.6. Kekik'in Farmakolojik Etkileri

Uçucu yağı karvakrolce zengin olan kekik olarak bilinen bitkilerin başında *Origanum* türleri olmak üzere *Thymbra*, *Satureja* ve *Thymus* türleri gelmektedir. Bu türler başta ülkemiz olmak üzere birçok ülkede halk arasında yaygın olarak tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısmı ve yaprağı halk arasında gastrointestinal rahatsızlıklarda yaygın olarak çay şeklinde tüketilmektedir. Karvakrolce zengin olan kekik suyu gastrointestinal rahatsızlıklarda, kan glikoz ve kolesterol seviyesini düşürmede ve kanserlerde dahilen kullanılmaktadır (Başer, 2002b; Baytop, 1999; Baytop ve Başer, 1995).

Bu yaygın kullanıma paralel olarak gerek ekstreleri gerekse uçucu yağları ile çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu tez kapsamında bu araştırmaların derlendiği makaleler özetlenmektedir. Tez kapsamında enzim inhibisyon araştırmaları yer aldığı için bu tür çalışmalara ve özellikle *O. minutiflorum* ile yapılan araştırmaların detaylarına yer verilmiştir.

Origanum türlerinin biyolojik/farmakolojik aktiviteleri kısaca şu şekilde özetlenebilir: antifungal, antibakteriyal, antioksidan, analjezik, antiinflamatuvar ve antispazmodik, immüno stimulan, antimutajenik ve antikanser, insektisit ve antiparazitik, böcek çekici ve antiparazitik, insektisidal, nematisidal ve mollusisidal (Baricevic ve Bartol, 2002).

Origanum türlerinin alerjik potansiyele sahip olduğunu gösteren klinik çalışmalar mevcuttur. *O. majorana* uçucu yağı bileşenlerinden biri olan limonenin toksik etkili olduğu tespit edilmiştir. *O. majorana*'nın gıda olarak tüketildiğinde ağız çevresinde dermatit geliştirdiği bildirilmiştir. *O. vulgare*'nin diğer Lamiaceae familyası üyeleri ile çapraz duyarlılık gösterdiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla belirlenmiştir. *O. vulgare* patch testi ile değerlendirilmiş ve alerjik kontak dermatiti tetiklediği tespit edilmiştir (Baricevic ve Bartol, 2002).

2.6.1. *Origanum* türleri ile yapılan enzim inhibisyon çalışmaları

O. onites'in toprak üstü kısmından hazırlanan etanol ekstresinin asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, α -amilaz, α -glukozidaz ve pankreatik lipaz enzim inhibisyonları araştırılmış ve ekstrenin α -glukozidaz enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri 814.00 μ g/mL olarak bulunmuştur (Ekin vd., 2019).

O. majorana'nın zengin fenol içeriğine sahip %70 aseton ekstresinin güçlü tirozinaz inhibisyonu ($IC_{50}=0.11$ mg/mL) gösterdiği saptanmıştır. Cilt bakımı kozmetik ürünleri için UV ışınlarına karşı koruyucu potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2011). *O. majorana*'nın arbutin bakımından zengin olan etanol ekstresinin (25 μ g/mL) tirozinaz enzim inhibisyonu %18, aynı ekstrenin (50 μ g/mL) asetilkolin esteraz enzim inhibisyonu %37 olarak bulunmuştur (Duletic-Lausevic vd., 2018). *O. majorana* uçucu yağı asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu IC_{50} değeri 36.40 mg/mL olarak bulunmuş ve potansiyel asetilkolinesteraz inhibitörü olarak rapor edilmiştir (Mossa ve Nawwar, 2011).

O. vulgare'den izole edilen rozmarinik asitin (214.1 μ M) dipeptidil peptidaz IV enzimi üzerinde güçlü inhibisyon gösterdiği ve diabetes mellitus tedavisinde kullanabileceği bildirilmiştir (Abbas vd., 2019).

O. vulgare subsp. *hirtum* ve *O. vulgare* subsp. *vulgare* uçucu yağlarının asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz enzimleri üzerinde inhibisyonları incelenmiştir. *O. vulgare* subsp. *hirtum* bu enzimler arasında tirozinaz enzimi (%45) üzerinde yüksek inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir ve bu etkinin yağın yüksek oranda linalol (%96) içermesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Timol (%58) ve karvakrol (%16) oranı yüksek olan *O. vulgare* subsp. *vulgare* uçucu yağı bu enzimler üzerinde düşük inhibisyon göstermiştir (Sarıkürkçü vd., 2015).

Origanum vulgare var. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart aseton ekstresinin (100 μ g/mL) asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu %36 iken bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu %37 olarak bulunmuştur (Orhan vd., 2010).

Lin vd. (2011) *O. majorana* ve *O. vulgare*'nin su ile hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz enzimi inhibisyonları sırasıyla %22 ve %5 olarak bulunmuştur.

O. onites, *O. majorana* ve *O. vulgare* ekstrelerinin glikojen sentaz kinaz 3- β , β -sekretaz ve kazeinkinaz 1 δ enzimleri üzerinde inhibisyonları incelenmiştir. *O. onites* ve *O. majorana* ekstrelerinin glikojen sentaz kinaz 3- β enzim inhibisyonu IC_{50} değerleri sırasıyla 7.94 μ g/mL ve 12.75 μ g/mL olarak bulunmuştur. *O. majorana* β -sekretaz enzim inhibisyonu IC_{50} değeri 220 μ g/mL olarak tespit edilmiştir. *O. onites* ve *O. majorana*'nın kazeinkinaz 1 δ enzim inhibisyonu IC_{50} değerleri 250 μ g/mL'in altında bulunmuştur. Bu

verilere göre *O. onites*, *O. majorana* ve *O. vulgare*'nin nörolojik rahatsızlıklarda etkili olabileceği belirtilmiştir (Gürbüz vd., 2019).

O. onites, *O. vulgare* ve *O. majorana* uçucu yağlarının (1 mg/mL) asetilkolinesteraz enzim inhibisyonları sırasıyla %96, %98 ve %95 iken butirilkolinesteraz enzim inhibisyonları sırasıyla %93, %57 ve %94 olarak bulunmuştur (Orhan vd., 2008).

O. ehrenbergii Boiss. ve *O. syriacum* uçucu yağının asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzim inhibisyonları incelenmiştir. *O. ehrenbergii* uçucu yağı her iki enzim üzerinde güçlü inhibisyon göstermiştir. Uçucu yağın asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri 0.3 g/mL olarak hesaplanmıştır (Loizzo vd., 2009).

O. dubium'un çiçeklenme (A) ve olgunlaşmış çiçeklenmiş (B) dönemlerinde elde edilen uçucu yağları ve yağların ana bileşeni olan karvakrolün LOX (soybean) enzim inhibisyonu incelenmiştir. Örnekler 10 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Örneklerin % inhibisyon sonuçları 10 µg/mL için, %18 (A uçucu yağ), %50 (B uçucu yağ) ve %35 (karvakrol) iken 100 µg/mL için, %91 (A uçucu yağ), %85 (B uçucu yağ) ve %89 (karvakrol) olduğu tespit edilmiştir (Karioti vd., 2006).

O. dubium'un toprak üstü kısmından hazırlanan diklorometan, metanol ve metanol:su (5:1) ekstralarının 3 mg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmış ve ekstraların LOX (soybean) enzimi % inhibisyonları sırasıyla, %48, %30 ve %22 olarak belirlenmiştir. (Karioti vd., 2015).

O. rotundifolium Boiss. toprak üstü kısmından hazırlanan etil asetat ekstresinin (100 µg/mL) asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyonları %30, %43 ve %39 olarak bulunmuştur (Şenol vd., 2016).

2.6.2. *O. minutiflorum* ile yapılan enzim inhibisyon çalışmaları

O. minutiflorum'un toprak üstü kısmından hazırlanan etil asetat ve su ekstralarının (100 µg/mL) asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyonları incelenmiştir. Asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyonları etil asetat için %22, %19 ve %43 iken su ekstresi için %4, %3 ve %6 olarak belirlenmiştir (Şenol vd., 2016).

O. munitiflorum uçucu yağı (1 mg/mL) asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzim inhibisyonları sırasıyla %100 ve %95 olarak hesaplanmıştır ve oldukça güçlü inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Orhan vd., 2008).

2.6.3. *Origanum minutiflorum* ile yapılan diğer biyolojik aktivite çalışmaları

Bitki ekstresi ile ilgili araştırmalar ağırlıklı olarak antimikrobiyal çalışmalardır. Bitkinin metanol ekstresi *Mycobacterium tuberculosis* üzerinde etkili bulunmuş ve ekstrede karvakrol, rozmarinik asit, eriodiktiol ve luteolin ana fenolik bileşikler olarak tanımlanmıştır (Aşkun vd., 2009). *O. minutiflorum* su, metanol ve etanol ekstrelerinin ve uçucu yağının *Helicobacter pylori* üzerindeki etkisi incelenmiştir. Uçucu yağın (920 mg/mL) güçlü etki gösterdiği tespit edilmiş ve zon inhibisyon değeri ≥ 90 mm olarak bulunmuştur (Özen vd., 2014). Bitkinin metanol ekstresinin antifungal aktivitesi incelenmiştir. Ekstrenin minimum inhibisyon konsantrasyon değeri 1.6 mg/mL olarak bulunmuş ve oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Aşkun vd., 2008).

O. minutiflorum uçucu yağı ve sıcak su ile hazırlanan ekstresi balık yemlerine belirli oranlarda karıştırılarak immünostimulan ve antioksidan etkileri araştırılmış ve sonuçlar pozitif bulunmuştur (Sarı ve Üstüner-Ayda, 2018). *O. minutiflorum* infüzyonu uçucu yağa göre süt ürünlerinde oksidasyona karşı daha fazla koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir. Uçucu yağı ve infüzyonun süt ürünlerinde saklama sırasında fiziksel stabiliteyi etkilemediği tespit edilmiştir. İnfüzyonun uçucu yağa göre oksidasyona karşı belirtilmiştir (Boroski vd., 2012). *O. minutiflorum* infüzyonunun *in vivo* hiperglisemik etkisi incelenmiş ve infüzyonun kan glikoz seviyesini belirgin şekilde azalttığı görülmüştür. Ayrıca diyabetli ratlarda aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz enzimlerini düşürdüğü görülmüştür (Kılıçgün ve Korkmaz, 2014). *O. minutiflorum*'un toprak üstü kısmından hazırlanan etil asetat ve su ekstrelerinin toplam fenol ve flavonoit miktarları, DPPH, DMPD, NO ve demir bağlama aktiviteleri araştırılmış ve etil asetat ekstresinin su ekstresine göre toplam fenol ve flavonoit içeriği yüksek bulunmuştur (Şenol vd., 2016).

Bitkiyle ilgili biyolojik aktivite çalışmaları daha çok uçucu yağı ile yapılmıştır. *O. minutiflorum* uçucu yağının başta gıda patojenleri olmak üzere pek çok Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizma, bitki ve hayvan patojenleri, larva ve akarlar üzerinde yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Öke ve Aslım, 2010; Aslım ve Yücel

2008; Dadalıoğlu ve Evrendilek 2004; Vardar-Ünlü vd., 2007; Baydar vd., 2004; Bayramoğlu, 2005; Seydim ve Sarikuş, 2006; Şarer vd., 1996.; Morsy vd., 2014; Ok vd.,2015a; Erler ve Çetin, 2009; Çetin ve Yanıkoğlu, 2006; Çetin vd., 2009; Sampson vd., 2005; Ellse ve Wall, 2014; Altundağ ve Aslım, 2011; Altundağ vd.,2011; Demirel vd., 2009; Lehtijarvi, 2006; Arslan ve Derviş, 2010; Mueller-Riebau vd., 1995; Görmez ve Diler, 2017).

O. onites ve *O. minutiflorum* uçucu yağlarının albino fareler üzerinde akut toksisite testlerine bakılmış ve LD₅₀ değerleri sırasıyla 1.6 mL/kg ve 2.4 mL/kg olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada ‘hot plate’ metodu ile uçucu yağların analjezik etkisi incelenmiş ve yağların etkili bulunmuştur. Başka bir çalışmada *O. majorana* uçucu yağının LD₅₀ değeri 2.24 g/kg, *Origanum* türlerinin uçucu yağının LD₅₀ değeri ise 1.85 g/kg olarak bulunmuştur. *Origanum* türlerinin analjezik ve düz kaslar üzerinde gevşetici etkisinin olmasının yanı sıra terapötik indeksinin geniş olması tedavide kullanıma uygun olarak değerlendirilmiştir (Cingi vd., 1991). Başka bir çalışmada aynı türlerin uçucu yağları *Drosophila melanogaster*’de somatik mutasyon rekombinasyon testi kullanılarak genotoksisite açısından test edilmiştir. İki türe ait uçucu yağın da kayda değer genotoksik etki göstermediği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada yağların potasyum dikromat ve kobalt klorite karşı antigenotoksit etkilerine bakılmıştır. Uçucu yağların bu iki metalin oluşturacağı genotoksik etkiyi ortadan kaldıracabileceği saptanmıştır (Demir vd., 2013).

O. minutiflorum su ile farklı oranlarda karıştırılan (%0.5-4.5) uçucu yağ, %2 klorhekzidin ve %5.25 sodyum hipoklorit hPDL (insan peridodontal ligamenti) fibroblast ve meme kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki bakımından incelenmiştir. %0.5’lik uçucu yağ en az sitotoksik etki göstermiştir (Ok vd., 2015b). Uçucu yağın (200 µg/mL) köpek meme tümör hücre serileri CMT-U27 ve CMT-U309 üzerindeki sitotoksik etkisi sırasıyla %74 ve %87 olarak saptanmıştır (Anlaş vd., 2017). Uçucu yağın MMT testi ile MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucu uçucu yağın IC₅₀ dozları yağ doku kaynaklı mezenkimal kök hücre için 40.5 µL/mL, MCF-7 için 11.5 µL/mL ve MDA-MB-231 için 14.5 µL/mL olarak bulundu. (Özkan vd., 2017; 2019). Uçucu yağının nöroblastoma hücrelerine karşı nörotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Sarı vd., 2017). Uçucu yağın antianjiyogenetik aktivitesi incelenmiş ve beklenen etki görülmemiştir (Göze vd., 2010).

O. minutiflorum ve *O. majorana* uçucu yağlarının eşit oranda karışımı, *Salvia triloba* L. uçucu yağı *Hypericum perforatum* L.'un zeytin yağ maseratı ve zeytin yağ karışımından hazırlanan yara iyileştirici bir formülasyon geliştirme çalışması yapılmıştır. Çalışma sonucunda formülasyon ürününün *H. perforatum*'un tek başına yaptığı yara iyileştirici etkisini artırmış ve ayrıca bakterisidal ve kandidiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Süntar vd., 2011).

2.7. Deneyleerde Kullanılan Enzimler Hakkında Genel Bilgiler

Bu tez kapsamında *O. minutiflorum* ekstreleri ve uçucu yağı ile inhibisyonları incelenen lipoksijenaz (LOX), siklooksijenaz (COX) ve matriks metaloproteinaz (MMP-9) enzimleri ile ilgili genel bilgilere yer verilmiştir.

2.7.1. Lipoksijenaz (LOX) enzimi

LOX enzimleri, bitkiler, hayvanlar, gıda mayası, algler, mantarlar, siyanobakteriler ve yosunlarda tespit edilen bir enzim grubudur (Brash, 1999). Bu enzimler aktif merkezlerinde hem yapısında olmayan demir (Fe^{+2}) iyonu içeren, 75-100 10^3 Da molekül ağırlıklı tek bir polipeptik zincirinden oluşan bir metaloproteindir (Tripathi ve Mishra, 2016).

LOX enzimleri substrat olarak kullandıkları çoklu doymamış yağ asitlerine iki oksijen molekülü eklemeye yaparak oksitlenmesini katalize eder, yağ asidi hiperoksitlerini oluşturur. Fizyolojik olarak LOX enzimleri, konjüge dien hidroperoksitler üretmek için *cis-cis*-1,4-pentadien yapısı içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin dioksidasyonunu katalizlemektedir (Baysal ve Demirdöven, 2007). Reaksiyon sonucunda *cis* ve *trans* çift bağı içeren ürün oluşur. Bu ürün 234 nm dalga boyunda absorpsiyon vermektedir. LOX enzim deneylerinde bu özellikten yararlanılmaktadır (Kesebir vd., 2019). LOX enzimlerinin çoğu, substrat olarak iki çift bağ arasında aktifleştirilmiş bir metilen grubu içeren linoleik ve α -linolenik asit gibi serbest yağ asitlerinin varlığını gerektirse de, pentadien yapısı içermeyen (12-keto-(9Z)-oktadesenoik asit) diğer moleküller veya metil esterlerini de substrat olarak kullanırlar (Robinson vd., 1995). LOX enzimlerinin substratı memelilerde araşidonik asit (eikozatetra-5E, 8E, 11E, 14E-enoik asit, AA) iken, bitkilerde linoleik asit (oktadeka-9Z, 12Z-dienoik asit, LA) ve α -linoleik asittir (Aparoy vd., 2008).

LOX enzimlerinin kısmen substratının özelliğine ve kısmen elde edildiği kaynağa göre birkaç alt grubu vardır. Araşidonik asitin oksitlenme bölgesine göre LOX enzimleri genellikle beş ana gruba ayrılır: 5-LOX (EC 1.13.11.34), 8-LOX (EC 1.13.11.40), 11-LOX (EC 1.13.11.45), 12-LOX (EC 1.13.11.31), ve 15-LOX (EC 1.13.11.33)'tur. 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX ve 15-LOX izoenzimleri memeli organizmalar için önemlidir. Ayrıca, 5-LOX ve 15-LOX enzimleri bitkiler için de önemlidir (Baysal ve Demirdöven, 2007).

LOX reaksiyonlarında birincil ürünleri AA'nın hidroperoksitleridir (hidroperoksieikozatetraenoik asitler veya HPETE). Böylece, 5-LOX esas olarak 5-HPETE, 15-LOX ise 15-HPETE, vb. üretir. Memelilerin çeşitli dokularında 9-HPETE indirgeme ürünü, 9-hidroksieikozatetraenoik asit olmasına rağmen memelilerde 9-LOX hakkında kesin bilgi mevcut değildir. LOX enzimleri (EC 1.13.11.12) standart substratı olan LA ile konumsal özellikleri bakımından farklılık göstererek 9- veya 13-hidroperoksit LA [9- veya 13-hidroperoksioktadekadienoik asit] üretirler. Patates yumrusu LOX enzimleri, çeşitli LA türevlerini, dokozaheksaenoik asit ve AA oluşumunu katalize eder. Soya fasulyesi LOX enzimleri 15-LOX olarak değerlendirilirken, patates LOX enzimleri kinetik ve mekanik olarak insan 5-LOX enzimi ile benzerlik göstermektedir. Her iki enzim de standart LOX inhibitör analizlerinde kullanılmaktadır. Soya fasulyesi LOX enzimi şimdiye kadar kristalleşebilen ilk LOX enzimi olmuştur ve üç boyutlu olan bu enzim hala şimdiye kadar kristalleşmeyen diğer LOX enzimlerinin yapılarını tahmin etmek için kullanılır. LOX enzimlerinden başarıyla kristalleşebilen bir diğer enzim tavşan retikülosit 15-LOX'tur. LOX enzimleri hücre metabolizmasını ve apoptozu düzenleyen lipit sinyalizasyon yollarının merkezinde olan lökotrien, lipoksin ve çeşitli fizyolojik olarak aktif bileşiklerin oluşumunda önemli rol oynayan enzimlerdir (Butovich vd., 2008).

Lipit peroksidasyonu daha çok çoklu doymamış yağ asitlerini okside ederek kardiyovasküler sistem hastalıkları (KSH), diyabet, kanser, nörolojik rahatsızlıklar dahil çeşitli patolojik durumların etiolojisinde rol oynamaktadır. Araşidonik asit membran bütünlüğünü korumakla birlikte endokannabinoidler, epoksieikozatrienoik asit, tromboksan A₂, prostaglandinler, lökotrienler gibi birçok biyoaktif mediatörün öncüsü olan memeli hücreesindeki en önemli çoklu doymamış yağ asitleridir. Araşidonik asit genellikle üç tür enzim tarafından metabolize edilir; siklooksijenaz, sitokrom P45 ve

lipoksijenaz. Bunlar arasında lipoksijenaz lipit peroksidasyon üretiminde en önemli rolü oynamaktadır (Sun vd., 2019).

LOX enzim metabolitlerinin aşırı üretimi, kanser gelişimi, inme, miyokard enfarktüsü, iskemi ve/veya iskemi sonrası enflamatuvar yanıt, artrit, astım, kanser, enflamasyon ve diğer birçok hastalık ve patolojik durum ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle klinik kullanım için uygun ve seçici LOX enzim inhibitörlerinin tasarlanması en önemli hedefler arasındadır (Butovich vd., 2008). NDGA düşük konsantrasyonda (< 5µM) seçici lipoksijenaz enzimi inhibitörüdür (Korn ve Horn, 1990).

LOX enzimleri artrit, alerjik astım, sedef hastalığı, enflamatuvar bağırsak hastalığı, KSH, böbrek, cilt hastalıkları, metabolik sendrom gibi enflamasyon ile ilgili hastalıklar ve alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Saçan ve Turhan, 2014).

Kanser, kardiovasküler ve nörodejeneratif rahatsızlıkların tedavisi için yeni LOX inhibitörlerine ihtiyaç vardır. Mevcut terapötik uygulamalarda Zileuton ve Minosiklinler gibi LOX inhibitörleri bulunmaktadır. Hepatotoksik etkisi ve ilaç etkileşimleri sebebiyle, bu inhibitörler yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır (Saçan ve Turhan, 2014).

2.7.2. Siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimleri

COX (prostaglandin G/H sentaz, EC 1.14.99.1) enzimi, araşidonik asitten prostanooidlerin biyosentezini iki basamakta katalizler. Bu biyosentez basamaklarından birincisi araşidonik asitin oksitlenmesi ile ara ürün prostaglandin G₂ oluşumu, ikincisi ise oluşan prostaglandin G₂'nin prostaglandin H₂'ye indirgenmesidir. COX enzimlerinin iki izoformu vardır. Genellikle, COX-1 enziminin fizyolojik işleri yerine getiren çoğu dokuda ekspresyonu gerçekleştirilirken, indüklenebilir türevi COX-2 enzimi, çeşitli enflamatuvar ajanlara cevap olarak ekspresse edilir (Ouellet ve Percival, 1995).

COX-1 enzimi hemostaziste, mide koruyucu ve homeostatik fonksiyonlarda gerekli olan prostaglandinleri sağlarken, COX-2 enzimi enflamasyon ve tümör oluşumu gibi patofizyolojik durumlarda prostaglandin oluşumunda baskın rol oynamaktadır (Rouzer ve Marnett, 2009). COX-2 enzimi karakteristik enflamatuvar semptomlarından (kızarıklık, ağrı, ödem, ateş ve fonksiyon kaybı) sorumludur. Ayrıca çeşitli kanser türleri

(kolorektal, meme) ve Alzheimer ve Parkinson hastalığı oluşumunda da de rol oynamaktadır (Charlier ve Michaux, 2003).

5-LOX yolağı, enflamasyonda COX enzimlerinin inhibisyonu ile reseptör sayısında artışa bağlı olarak astım oluşumuna sebep olmaktadır. COX-2 ve 5-LOX enzimlerinin çift inhibisyonu daha güvenli streoid yapıda olmayan antienflamatuvar ilaç (NSAİ) sağlamak için bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Bu çift etki sadece güçlü antienflamatuvar etki sağlamakla kalmayıp NSAİ'ların ve seçici COX-2 inhibitörlerinin yan etkisini de azaltacaktır (Charlier ve Michaux, 2003; Bertolini vd., 2001).

COX ve LOX enzimleri arasındaki dengenin tümör oluşumunu kritik olarak belirlemektedir. Düşük COX enzimi aktivitesi altında, dış uyaranlara yanıt olarak hücre zarlarından salınan araziidonik asit LOX enzimleri tarafından metabolize edilir (Mashima ve Okuyama, 2015).

Aspirin, COX izoformlarını farklı yollar üzerinden inhibe eden seçici olmayan bir NSAİ'dir. Son yıllarda, bilimsel çalışmalar seçici COX-1/COX-2 inhibitörleri yönüne kaymıştır. COX-1 inhibitörleri, başta gastrointestinal sistem olmak üzere ülser gibi ciddi yan etkilere sebep olabilmektedir. Bu yan etkilerden dolayı seçici COX-2 inhibitörleri aranmaktadır. NSAİ'ların COX enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri karşılaştırmalı olarak Tablo 2.9'da verilmiştir. Son zamanlarda Koksib adı verilen yeni jenerasyon NSAİ'lar bulunmuştur. Ancak bunlardan biri olan Rofekoksib kardiyotoksitesinden dolayı kullanımdan kaldırılmıştır (Limongellia vd., 2010).

Tablo 2.9. NSAİ'ların COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri (µg/mL) (Mitchell vd., 1993)

NSAİ	COX-2	COX-1	COX-2/COX-1 Oranı
Tolmetin	7	0.04	175
Aspirin	50	0.3	166
İbuprofen	15	1	15
Asetaminofen	20	2.7	7.4
Diklofenak	0.35	0.5	0.7
Naproksen	1.3	2.2	0.6
Selekoksib	0.34	1.2	0.3
Rofekoksib	0.84	63	0.013

2.7.3. Matriks metaloproteinaz-9 (MMP-9) enzimi

MMP, aktif bölgelerinde çinko iyonu gerektiren tipik bir metaloproteinazdır. Şu ana kadar 18 çeşit kadar MMP izole edilmiş, klonlanmış ve toplu olarak MMP ailesi olarak adlandırılmıştır. MMP enzimleri fibroblastlar, kondrositler, osteoblastlar, nötrofiller ve makrofajların yanı sıra tümör hücreleri tarafından üretilmektedir. MMP enzimlerini aktiviteleri gen ekspresyonu, proenzim aktivasyonu ve aktif inhibisyonu enzimlerin spesifik doku inhibitörleri ile düzenlenir. MMP enzimlerinin anormal üretimi, MMP enzimleri ve spesifik doku inhibitörleri arasındaki stokiometrik dengesizlik tümör metastazı, romatoid artrit ve multipl skleroz gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır (Tamura vd., 1998).

MMP enzimleri substratlarına göre, interstisyel kollajenaz (MMP-1); jelatinaz A (MMP-2); üç stromelisin (MMP-3, -10 ve -11); uterin metaloproteinaz (MMP-7); nötrofil kolajenaz (MMP-8) ve jelatinaz B (MMP-9) olarak sınıflandırılır. MMP enzimlerinin farklı kanser türleri için yeni bir biyomarkır olduğu tespit edilmiştir: göğüs kanseri (MMP-1, -9, -13), pankreas kanseri (MMP-2, -7, -9), akciğer kanseri (MMP-1, -7, -9), mesane kanseri (MMP-2, -9), kolorektal kanseri (MMP-1, -2, -7, -9, -13), yumurtalık kanseri (2, -9, -14), prostat kanseri (MMP-2, -9) ve beyin tümörleri (MMP-2, -9) (Roy vd., 2009). Jelatinazlar, MMP-2 ve MMP-9 bazı özel substratları paylaşmalarına rağmen farklı hücre tiplerinden sentezlendikleri bilinmektedir. MMP-2, fibroblast, endotelial ve epiteliyal yapısal hücrelerden sentezlenirken, MMP-9, makrofaj, nötrofil ve eozinofil enflamatuvar hücrelerinde üretilir (Corbel vd., 2002). Artmış MMP-9 ekspresyonu, KVS hastalıkları, romatoid artrit, karaciğer fibrozu ve periodontal hastalıkları içeren pek çok enflamatuvar patolojisi ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Diyabetes mellitus'ta görülen vasküler komplikasyonlarda ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin, COX-2/PGES-1 ekspresyonunu uyardığı ve makrofajlarda MMP-9 sentezini indüklediği tespit edilmiştir. Tümör büyümesi ve anjiyogenez sırasında MMP-9'un doku yıkımında ve yeniden biçimlendirilmesinde rolü olduğu belirlenmiştir (Halade vd., 2013).

MMP-9 inhibitörü doksisisiklinin *Trypanosoma cruzi*'nin kardiyak hasara neden olan enfeksiyonunu zayıflattığı bildirilmiştir (Gutierrez vd., 2008). Şu anda FDA'nın onay verdiği tek MMP inhibitörü doksisisiklin molekülüdür (Lee vd., 2004; Zhang vd., 2012).

Hayvan deneylerinde MMP inhibitörleri etkili bulunmuştur. Geniş spektrumlu MMP inhibitörleri, insanlarda kas-iskelet sistemi üzerindeki istenmeyen etkileri sebebiyle başarılı bulunmamıştır. Bu zamana kadar MMP'ler ile ilgili başarısızlıkların sebebi MMP enzimleri için seçici inhibitörlerinin olmamasıdır. Günümüzde ilaç keşfinde MMP enzimleri için seçici inhibitörlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir (Halade vd., 2013).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal, Enzimler ve Kimyasal Maddeler

3.1.1. Bitkisel materyal

Bu çalışmada *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis'un 2017 yılı ticari ürün örneği (Antalya İnan Tarım Ürünleri) kullanılmıştır. Materyal örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi herbaryumunda (ESSE no: 15441) saklanmaktadır. (Görsel 3.1).



Görsel 3.1. Ticari ürün örneği *O. minutiflorum*

3.1.2. Kullanılan enzimler

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan enzimler

Enzim	Kaynak	Firma
LOX	<i>Glycine max</i> (Soya fasulyesi)	Sigma
COX-1 ve COX-2	Kolorimetrik inhibitör tarama test kiti (Koyun COX-1 enzimi ve insan COX-2 rekombinant enzimi)	Cayman Chemical
MMP-9	Kolorimetrik tarama kiti (İnsan rekombinant MMP-9 enzimi)	Enzo

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Deneilerde kullanılan kimyasal maddeler analitik kalitededir. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi analizlerinde YPSK kalitesinde çözücüler kullanılmıştır. Enzim inhibisyonu deneylerinde ultra saf su kullanılmıştır. Tüm diğer deneysel çalışmalarda ise bidistile su kullanılmıştır.

Tablo 3.2. *Deneilerde kullanılan kimyasal maddeler*

Kimyasal madde	Firma
Derişik HCl	Sigma
Etanol	Sigma
<i>n</i> -Hekzan	Sigma
Diklorometan	Sigma
<i>n</i> -Bütanol	Sigma
Etil asetat	Sigma
Dietil eter	Sigma
Anisaldehit	Fluka
Glasiyel asetik asit	Sigma
Metanol	Merck
H ₂ SO ₄	Sigma
Susuz Na ₂ SO ₄	Doğa İlaç Hammaddeleri Tic. Ltd. Şti.
Toluen	Merck
Kloroform	Merck
Asetik asit	Sigma
Formik asit	Fluka
Asetonitril	Merck
Dimetil sülfoksit	Merck
Silika jel 60 F ₂₅₄ TLC Alüminyum levha	Merck
NDGA	Sigma
LOX	Sigma
Linoleik asit	Sigma
K ₂ HPO ₄ dibazik	Sigma
KH ₂ PO ₄ monobazik	Sigma
Karvakrol	Sigma
Timol	Sigma

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Tablo 3.3. *Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler*

Cihaz/Malzeme	Firma
Analitik terazi	Mettler Toledo
Desikatör	İldam
Etüv	Ecocell
Çeker ocak	Hedlab X-pro
Kül fırını	Nabertherm
Rotavapor	Heildolph
Elisa okuyucu	BioTek
Kaba terazi	AND GX-6100
Kuvartz mikroplate	Hellma
YPSK cihazı	Shimadzu Prominance
SK/KS/KS cihazı	Aplied Biosystem 3200Q trap
Liyofilizatör	Lyovac
Mekanik karıştırıcı	Heildolph
Ultrasonik banyo	Bandalin Sonorex
Mikroplaka ısıtıcılı karıştırıcı	Biosan
pH metre	Wtw PH 720 Ph Metre
Vorteks	IKA
UV-spektrofotometre	Camag
Mikroskop	Axio Lab. A1 Zeiss
Mikroskopa bağlı kamera	AxioCam ERc 5s
GK	Shimadzu GC 2010
GK/KS	Agilent 5975 GC-MSD ve Agilent 6890N GC/FID
Volumetrik su miktar tayin apareyi	İldam
Clevenger apareyi	İldam
Ultra saf su cihazı	Sartorius Stedim Biotech

3.3. Deneysel Çalışmalar

3.3.1. Farmakope kalite kontrol deneyleri

Kalite kontrol deneyleri Avrupa Farmakopesi 2004'de yer alan analizlere ve 2016'da Oregano monografında yer alan yöntem ve testlere göre yapılmıştır (Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu, 2004; 2016)

3.3.1.1. Mikroskopik inceleme

Havanda toz haline getirilmiş toprak üstü kısımlarının, kloralhidrat reaktifi ile bek alevi üzerinde dikkatlice kaynatılarak preparatı hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar Axio Lab. A1 Zeiss marka araştırma mikroskobu ve bu mikroskoba bağlı AxioCam ERc

5s marka kamera ile incelenerek elde edilen görüntüler kaydedilmiştir. İncelemede toz drogların mikroskopik ayrımında önemli olan elementlere; örtü tüyleri, salgı tüyleri, stoma ve yaprağa ait diğer özelliklere bakılmıştır. Görüntüleme tespit edilen karakterlerin ölçümü görüntüleme-kaydetme programı olan ZEN ile her objektife uygun olan kalibrasyonda mikrometrik olarak yapılmıştır. Ölçekler fotoğraflarda gösterilmiştir.

3.3.1.2. Su miktar tayini

İşlem, %1'den daha fazla uçucu yağ içeren droglara uygulanır. 250 mL'lik distilasyon balonuna 200 mL toluen R ve 2 mL su R konulur. Balon üzerine su distilasyon apareyi yerleştirilmiş ve işlem başlatılmıştır. İşleme, dereceli kısımda su miktarı sabit kalana kadar devam edilmiştir. Süre sonunda aparey soğumaya bırakılmıştır. Dereceli kısımdan toluenin absorbe etmediği su miktarı okunmuştur (a). Sonra, su miktar tayini yapılacak olan drogtan tartılmış olan 10 g numune, aynı distilasyon balonu içerisine yüklenmiştir. İşlem başlatılmıştır. Apareyin dereceli kısmında biriken su miktarında değişme olmayıncaya kadar işleme devam edilmiştir. İşlem tamamlanınca sistem soğutulmuş ve dereceli kısımda biriken su miktarı okunmuştur (b). Okunan miktardan ilk işlemde elde edilen su miktarı çıkartılmıştır. Elde edilen sonuç üzerinden 100 g droğun taşımış olduğu su miktarı hesaplanmıştır. İşlemler üç tekrarlı olarak aşağıdaki denklem kullanılarak yapılmıştır (3.1).

$$\% \text{ Su miktarı} = \left(\frac{b-a}{10} \right) \times 100 \quad (3.1.)$$

(a=Birinci distilasyonda elde edilen suyun mililitre olarak miktarı,

b=İkinci distilasyonda elde edilen toplam suyun mililitre olarak miktarı)

3.3.1.3. Uçucu yağ miktar tayini

Bitkisel materyalden uçucu yağ eldesi Clevenger apareyi ile yapılmıştır. 20 g parçalanmış drog 2 L'ik balona konulduktan sonra üzerine 1000 mL distile su ilave edilmiştir. 3 saat süre ile distilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda apareyin soğuması beklenmiştir. Apareyin uçucu yağın toplandığı ölçekli kısmından uçucu yağ miktarı mL cinsinden okunmuştur. Kuru droğun uçucu yağ miktarı % olarak hesaplanmıştır. Bu işlemler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen uçucu yağ, çeşitli analiz işlemleri ve aktivite deneyleri için +4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.3.1.4. Bütün kül miktar tayini

Porselen kroze boş halde 600 °C (± 25)'ye ayarlanmış kül fırınında 30 dk kor hale getirilip soğutularak sabit tartıma getirilmiştir. Krozenin darası alınmıştır. Sabit tartıma getirilen boş kroze içerisine 1 g toz drog konulmuş ve tam tartımı alınmıştır. Bu halde öncelikle 100-105 °C'lik etüvde 1 saat süreyle kurutulmuş, daha sonra 600 °C (± 25)'lik kül fırınında 1 saat yakılmıştır. Fırından çıkarılıp desikatörde soğuması için bekletildikten sonra tartılmıştır. Bu işleme külü içeren kroze sabit vezne gelinceye kadar (son iki tartım arasındaki ağırlık farkı 0.5 mg'ı geçmeye kadar) devam edilmiştir. Son tartımdan boş krozenin darası çıkarılmış ve droğun içerdiği bütün kül miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır. İşlemler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.3.1.5. Asitte erimeyen kül miktar tayini

Bütün kül miktar tayini için elde edilen kül üzerine distile su (15 mL) ve HCl R (10 mL) ilave edilerek krozenin ağzı saat camıyla kapatılmış ve ısıtıcı üzerinde 10 dk hafif bir şekilde kaynaması sağlanmıştır. Soğuduktan sonra, kül bırakmayan filtre kâğıdından (İsolab, 125 mm siyah bant) süzölmüştür. Filtre kâğıdı turnosol kâğıdı ile kontrol edilerek nötr oluncaya kadar sıcak distile su ile yıkanmıştır. Üzerinde kalan bakiye ile birlikte filtre kâğıdı tekrar krozenin içine konulmuş ve 100-105 °C'lik etüvde 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra 600 °C (± 25)'ye ayarlanmış kül fırınında yakılmıştır. Yakma işleminden sonra kroze desikatörde soğumaya bırakılmıştır ve tartımı alınmıştır. Son iki tartım arasındaki fark 1 mg'dan daha fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar bu işleme devam edilmiştir. Elde edilen miktardan droğun % olarak HCl asitte çözünmeyen kül miktarı hesaplanmıştır.

3.3.1.6. İnce tabaka kromatografisi (İTK)

Deneyde Merck marka silikagel F₂₅₄ plaklar kullanılmıştır. 10 x 20 cm ebadında kesilmiş plaklar 1 saat süreyle sıcaklığı 100 °C'ye getirilmiş etüvde aktive edilerek kullanılmıştır. Kromatografi tankı içerisinde homojen doygunluk sağlanması amacı ile önce süzgeç kâğıdı yerleştirilmiştir. Daha sonra mobil faz olarak kullanılan metilen klorür (diklorometan) ilave edilmiştir. Test çözeltisi, 1 g toz edilmiş bitkisel drog üzerine 5 mL metilen klorür eklenmiş ve 3 dk çalkalandıktan sonra adi süzgeç kâğıdı üzerine 2 g susuz sodyum sülfat konulduktan sonra süzülerek hazırlanmıştır. 1 mg timol ve 10 µL karvakrol 10 mL metilen klorürde çözülerek referans çözelti hazırlanmıştır. Plaklara test

çözeltilisinden ve referans çözeltiliden bant halinde 20 µL uygulanmıştır. Tank, çözücü sistemi ile doyduktan sonra plaklar 15 cm sürüklenmiştir. Sürükleme işleminden sonra İTK plakları oda sıcaklığında kurutulup ilk önce UV lamba altında gözlenebilen lekeler belirlenmiştir. Plaklar üzerine taze hazırlanmış olan anisaldehit çözeltisi (EK 2) püskürtülmüş ve 100-105 °C’de 10 dk. ısıtılarak renklenmesi sağlanmıştır.

Kromatogramda test çözeltisi ile elde edilen ana lekeler, referans çözeltisi ile elde edilen lekelerin rengi, boyutları ve tutunma faktörü (Rf)’ne göre karşılaştırılmıştır.

3.3.1.7. Gaz kromatografisi (GK) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GK /KS) ile uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlenmesi

Elde edilen uçucu yağın GK ve GK /KS sistemi ile eş zamanlı olarak analizleri gerçekleştirilmiştir. GK sisteminde FID dedektörü ile tespit edilen bileşiklerin bağlı yüzdeleri FID kromatogramlarından alan değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. GK/KS sistemi ile bileşenlerin kütle spektrumları alınmıştır. Değerlendirme işlemleri "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi" yanı sıra Wiley, Adams ve MassFinder 2.1 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak, ayrıca tutunma indeksleri karşılaştırılarak yapılmıştır (McLafferty ve Stauffer, 1989; Koenig vd., 2004).

GK Analiz Koşulları

<i>Sistem</i>	: Agilent 6890N GC
<i>Kolon</i>	: HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
<i>Taşıyıcı Gaz</i>	: Helyum (0.8 mL dk ⁻¹)
<i>Sıcaklıklar</i>	
<i>Enjeksiyon</i>	: 250 °C
<i>Kolon</i>	: 60 °C’de 10 dk, 4°C dk. artışla 220 °C’ye, 220 °C’de 10 dk., 1 °C dk. artışla 240 °C’ye
<i>Detektör</i>	: 300 °C, FID

GK/KS Analiz Koşulları

<i>Sistem</i>	: Agilent 5975 GC-MSD
<i>Kolon</i>	: HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
<i>Taşıyıcı Gaz</i>	: Helyum (0.8 mL dk ⁻¹)
<i>Sıcaklıklar</i>	

GK/KS Analiz Koşulları (Devam)

<i>Enjeksiyon</i>	: 250 °C
<i>Kolon</i>	: 60 °C'de 10 dk., 4 °C dk. artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dk., 1 °C dk. artışla 240 °C'ye
<i>Elektron Enerjisi</i>	: 70 Ev
<i>Kütle Aralığı</i>	: 35-450 m/z

3.3.2. Ekstraksiyon çalışmaları

3.3.2.1. Ekstraksiyon çalışmaları için çözücü ve metot seçimi

Bitkinin toprak üstü kısmından 5 g'lık numuneler ile 3 farklı ekstre hazırlanmıştır. 5 g'lık numune %96'lık etanol ile iki defa 48'er saat maserasyona tabi tutulmuştur. Maseratlar birleştirilmiş, yoğunlaştırılmış ve % verim hesabı yapılmıştır. Diğer 5 g'lık numuneler ayrı ayrı *n*-hekzan ve %96'lık etanol ile 8 saat Soxhlet apareyinde devamlı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstreler rotavapor (<40 °C) kullanılarak yoğunlaştırılmış ve % verim hesabı yapılmıştır. Ekstreler + 4 °C'de saklanmıştır.

Elde edilen 3 farklı ekstrenin içeriği ince tabaka kromatografisi ile kıyaslanmıştır. İTK uygulamasında mobil faz olarak toluen:etil asetat (90:10), belirteç olarak da anisaldehit çözeltisi kullanılmıştır. Sürükleme işlemi 15 cm olarak seçilmiştir. İTK plağı sürükleme işleminden sonra oda ısısında kurutulmuş, 254 nm ve 366 nm UV'de görülebilecek lekeler incelenmiştir. Daha sonra anisaldehit çözeltisi uygulanmış ve plak renklendirilmiştir.

3.3.2.2. Ham ekstre ve fraksiyonların hazırlanışı

Ham ekstre hazırlamak için bitkisel materyalin 500 g parçalanmış, toprak üstü kısmı %70'lik etanol ile çalkalayıcı kullanılarak iki defa 48 saat maserasyona tabi tutulmuştur. Maserasyon sonrası elde edilen süzüntüler birleştirilerek rotavaporda < 40°C'de yoğunlaştırılmıştır.

Elde edilen ham ekstrenin bir miktarı daha sonra içerik açısından fraksiyonlarla kıyaslanmak üzere ayrılmıştır. Geri kalan kısmı bir miktar %70'lik etanol ile çözülmüş ve ayırma hunisine konulmuştur. %70'lik etanollü ekstre ayırma hunisinde sırasıyla şu çözücülerin 250 mL'şeri ile 3'er kez sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur: *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve suyla doyurulmuş *n*-bütanol. Diklorometan ile ekstraksiyonda

diklorometan ve sulu faz arasında tam bir faz ayrımı olmadığı görülmüştür. Sulu faza yarı yarıya su ilave edilerek diklorometan ve sulu faz arasındaki polarite farkı artırılarak faz ayrımı oluşturulmuş, ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Sıvı sıvı ekstraksiyon sonucu bu çözücülerle birlikte en son kalan sulu faz dahil 5 farklı fraksiyon elde edilmiştir. Aynı çözücü ile yapılan fraksiyonlar birleştirilip rotavaporda < 40 °C’de yoğunlaştırılmıştır. Tam olarak yoğunlaştırılmayan *n*-bütanol fraksiyonu ve sulu faz liyofilize edilmiştir.

Ham ekstre ve 5 fraksiyon, 5 farklı mobil faz sistemi seçilerek İTK ile içerik açısından karşılaştırılmıştır (Reich ve Schibli, 2007). Kullanılan mobil faz sistemleri:

1. Toluen:Etil asetat (95:5)
2. Kloroform:Metanol:Su (70:30:4)
3. Etil asetat:Asetik asit:Formik asit:Su (100:11:11:27)
4. Asetonitril:Su:Formik asit (30:8:2)
5. *n*-Bütanol:Asetik asit:Su (7:1:2)

Uygulama: Bant olarak

Develope: 15 cm

Kurutma: Havada

Elde edilen numuneler İTK plaklarına bant halinde uygulanmış ve plaklar 15 cm sürüklenme işleminden sonra oda sıcaklığında kurutulmuştur. Çalışmada silikajel GF₂₅₄ kaplı plaklar kullanılmıştır. Plakların değerlendirilmesi 254 nm ve 366 nm UV dalga boylarında tarama ile yapılmış, ayrıca belirteç olarak anisaldehit çözeltisi püskürtülerek plaktaki bantlar renklendirilmiştir.



Görsel 3.2. *Ham ekstrenin ve fraksiyonların hazırlanışı*

3.3.2.3. Kolon kromatografisi ile alt fraksiyonların hazırlanışı

3.5 g etil asetat ekstresi tartılarak 5 mL kadar metanolde çözülmüş ve ardından 3 g silikajel 60 G dolgu materyali ile bulamaç haline getirilmiştir. Etil asetat-silikajel bulamacı su banyosu üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Kolon kromatografisinde fraksiyonlanacak ekstre miktarına uygun olarak 4 cm çapında, 40 cm uzunluğunda kolon tercih edilmiştir. 40 g silikajel 250 mL diklorometan ile süspansiyon edilmiştir. Silikajel süspansiyonu kolona yavaş yavaş ilave edilmiştir. Silikanın kurumaması için üzerinden sürekli diklorometan geçirilmiştir. Bunun üzerine etil asetat-silikajel bulamacı kolon üzerine ilave edilmiştir. Çözücü sistemi olarak diklorometan:metanol polaritenin artan oranlarında aşağıda belirtildiği gibi sistemden geçirilmiştir. Fraksiyon toplama işlemi 30 mL'lik fraksiyonlar halinde yapılmıştır. Elde edilen fraksiyonlar, rotavapor ile $< 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yoğunlaştırılmıştır. Fraksiyon toplama çözücü % oranları aşağıdaki şekildedir:

Diklorometan % 100

Diklorometan:Metanol (99.5:0.5)

Diklorometan:Metanol (99:1)

Diklorometan:Metanol (98:2)

Diklorometan:Metanol (95:5)

Diklorometan:Metanol (90:10)

Diklorometan:Metanol (80:20)

Diklorometan:Metanol (60:40)

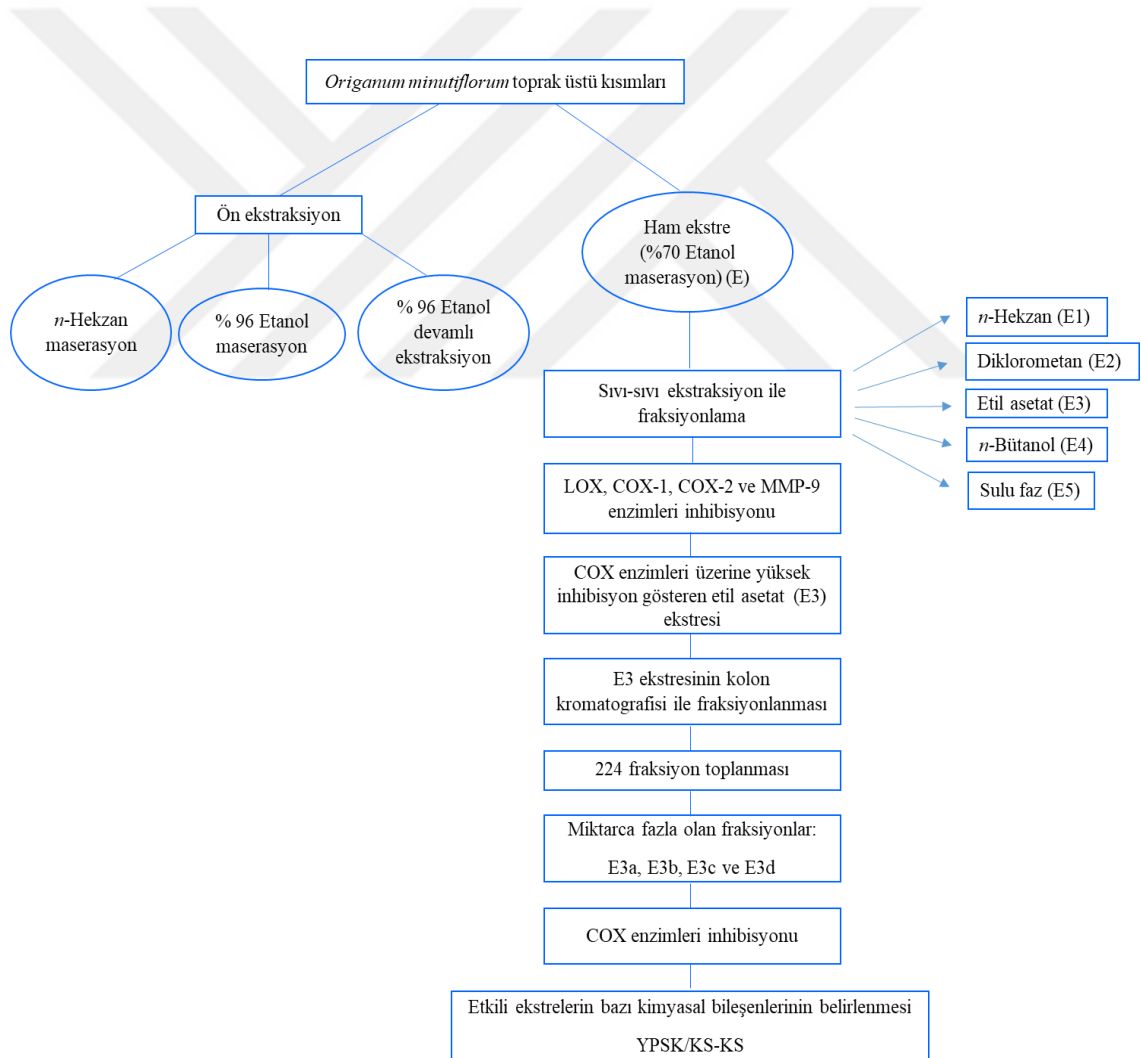
Diklorometan:Metanol (20:80)

Metanol % 100

Toplanan fraksiyonlar İTK ile içerik açısından karşılaştırılmıştır. İTK incelenmesinde aşağıdaki çözücü sistemleri kullanılmıştır:

1. Diklorometan:Metanol (70:30)
2. Diklorometan:Metanol (60:40)
3. Etil asetat:Asetik asit:Formik asit:Su (100:11:11:27)

Ekstre ve fraksiyonların hazırlanmasında AYF esas alınmıştır. Bu doğrultuda, ekstrelerin fraksiyonlanması için siklooksijenaz ve lipoksijenaz aktivite sonuçları belirleyici olmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama

3.3.3. Enzim inhibisyon yöntemleri

3.3.3.1. LOX enzimi inhibisyon deneyi

Ham ekstre, kaba fraksiyonlar ve alt fraksiyonların lipoksijenaz inhibisyon aktiviteleri, Baylac ve Racine (2003). tarafından tanımlanan metodun modifiye edilmesi ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Potasyum fosfat tamponu (1,94 mL; 100 mM; pH 8.8) 40 µL örnek çözeltisi ve 20 µL LOX çözeltisi karıştırılarak 25°C’de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakılarak, reaksiyon 50 µL linoleik asit ilavesi ile başlatılmıştır. 234 nm’de 10 dakika boyunca absorbans değişimi kaydedilmiştir. Örnekler ve nordihidroguyaretik asit (NDGA, pozitif kontrol) uygun konsantrasyonlarda uygun çözücüde çözülerek hazırlanmıştır. Deneydeki kinetik ölçümler için kuvarz mikropilaka kullanılmıştır. İnhibisyon değerleri %50’nin üzerinde olan örneklerin IC₅₀ değerleri hesaplanarak standart ile karşılaştırılmıştır. Tüm ölçümler üç kez tekrar edilerek sonuçlar Ortalama ± Standart hata olarak ifade edilmiştir.

3.3.3.2. COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyonu deneyi

Numunelerin COX enzim inhibisyonları “Cayman COX Kolorimetrik İnhibitör Tarama Test Kiti” ölçüm yönteminin uyarlanması ile yapılmıştır. Tampon çözeltisi, 3 mL 0.1 M Tris-HCl (pH 8, 37 °C), 27 mL dH₂O karışımı olarak hazırlanmıştır. COX enzimi çözeltisi ve Hem solüsyonu bu tampon kullanılarak dilüe edilmiştir. 100 µL araşidonik asit 100 µl 0.1 M KOH ile karıştırılıp dH₂O ile seyreltilmiştir. Mikropilakada kör hariç bütün kuyucuklara enzim konulmuştur. 10 µL COX enzim çözeltisi, 10 µL numune eklenerek 5 dk. 25°C’de inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası kolorimetrik substrat (TMPD) ve araşidonik asit (substrat) tüm kuyucuklara 20 µL ilave edilmiştir. Her kuyucuğun son hacmi 220 µL’ye tamamlandıktan sonra mikropilaka 2 dk. 25°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi inkübatörde gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında 590 nm’de absorbanslar ölçülmüştür. Standart inhibitör olarak COX-1 enzimi için SC-560; COX-2 enzimi için Rofekoksib kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak çalışılmıştır ve sonuçlar Ortalama ± Standart hata olarak verilmiştir. %50 üzerinde inhibisyon gösteren numuneler için IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Standart inhibitörlerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.3.3.3. MMP-9 enzim inhibisyonu deneyi

MMP-9 inhibisyon çalışması “MMP-9 Kolorimetrik Tarama Kiti” prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. Kit prosedürüne göre standart inhibitör NNGH (N-İzobütil-N-[4-metoksifenilsülfonil]glisil hidroksiamikasit), substrat olarak kullanılan kromojenik tiyopeptid ve enzim tampon ile dilüe edilmiştir. Dilüe edilmiş enzim mikropłakanın kör kuyucukları hariç diğer bütün kuyucuklarına 20 µL ilave edilmiştir. İnhibitör ve numuneler mikropłakanın ilgili kuyucuklarına 20 µL olarak uygulanmıştır. İşleme 30 dk. 37°C inkübasyon ile devam edilmiştir. İnkübasyon sonrası bütün kuyucuklara 10 µL substrat ilave eklenmiş ve absorbans değerleri 412 nm’de 10 dk. süresince ölçülmüş ve dakikadaki absorbans değişimi belirlenmiştir. Deneyde, MMP-9 enzimi, tiyopeptidin peptid bağını yıkarak bir sülfidril grubu açığa çıkarmıştır. Sülfidril grubu Ellman reaktifi ile tepkimeye girerek 412 nm’de belirlenebilen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asidi oluşturmuştur. Deney 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Hesaplamalar kör olarak kullanılan kuyucukların absorbans değerleri çıkarılarak yapılmış ve sonuçlar ortalama % inhibisyon ± standart sapma olarak verilmiştir.

LOX, COX ve MMP-9 enzim inhibisyonu deneylerinde % inhibisyon hesaplamaları aşağıdaki denklem kullanılarak yapılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.2.)$$

(A_{kontrol} : Kontrolün absorbansı, $A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansıdır)

3.3.4. YPSK/KS-KS ile ekstrelerin analizi

Enzimler üzerinde yüksek inhibisyon gösteren ekstre ve fraksiyonların yapıları YPSK/KS-KS analizleri ile aydınlatılmıştır.

YBSK Analiz Koşulları

<i>Cihaz</i>	: Shimadzu 20 A Prominace Sıvı Kromatografisi sistemi
<i>Dedektör</i>	: Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS
<i>Kolon</i>	: GL Science Intertsil ODS 4,6 x 150mm, 3µm
<i>Kolon Sıcaklığı</i>	: 40°C
<i>Akış Hızı</i>	: 0.7 mL/dk.

YBSK Analiz Koşulları (Devam)

Mobil fazların gradient akışı

Zaman (dk)	B Konsantrasyon
0.01	15
15	40
18	45
30	45
35	75
38	85
39	95
40	100
45	100
46	15

Kütle Spektroskopisi Analiz Koşulları

Yöntem : Genişletilmiş kütle tarama (EMS)

Polarite : Negatif mod

Kütle aralığı : m/z :100-1100 amu

Spektrumlar Analyst 1.6 yazılımı kullanılarak kaydedilmiştir. Etkili olan fraksiyonlar ve alt fraksiyonlar için total iyon kromatogramı ve 280 nm’de elde edilen kromatogramdaki pikler, tutunma zamanları (Rt) ve kütle spektrumları literatür ile karşılaştırılma yapılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE YORUMLAR

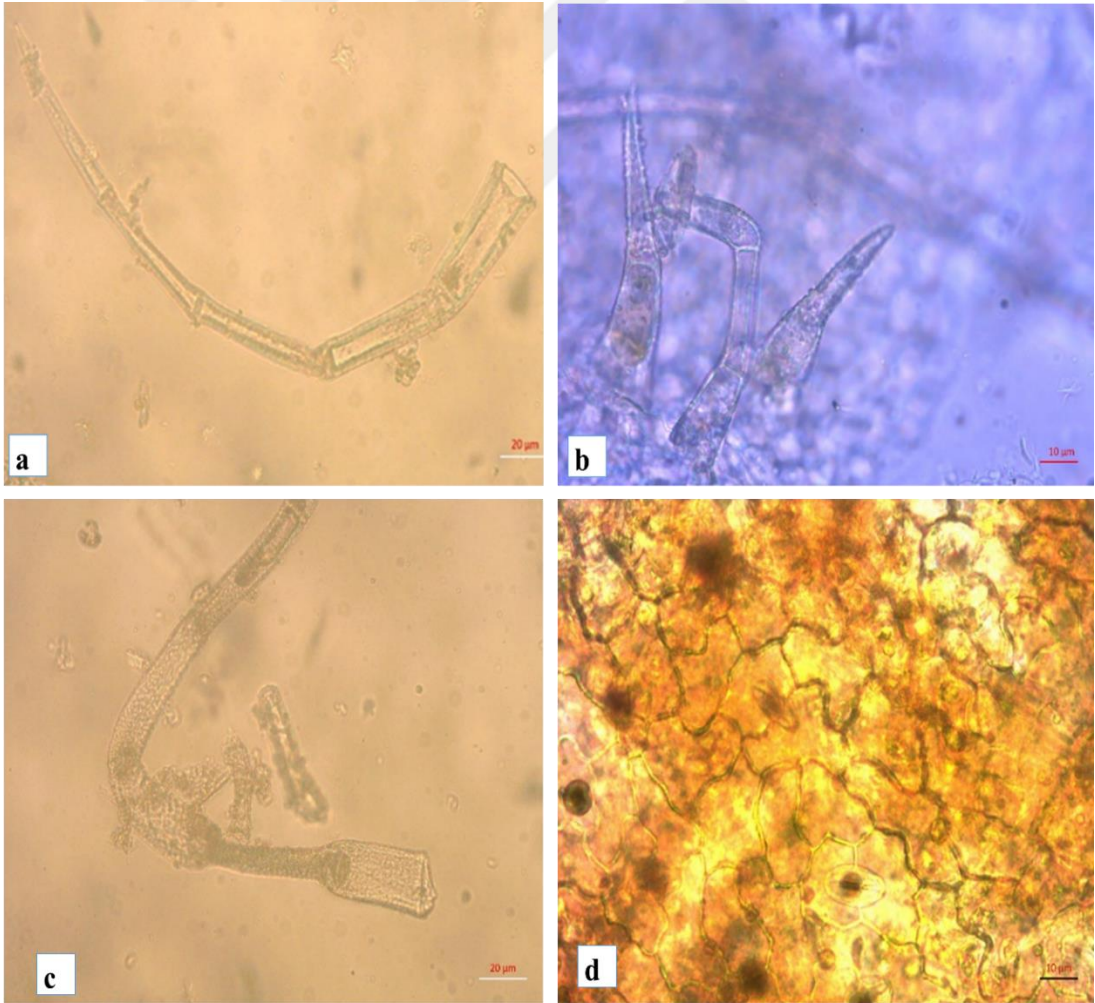
4.1. Farmakope Kalite Kontrol Deney Bulguları

4.1.1. Makroskopik inceleme

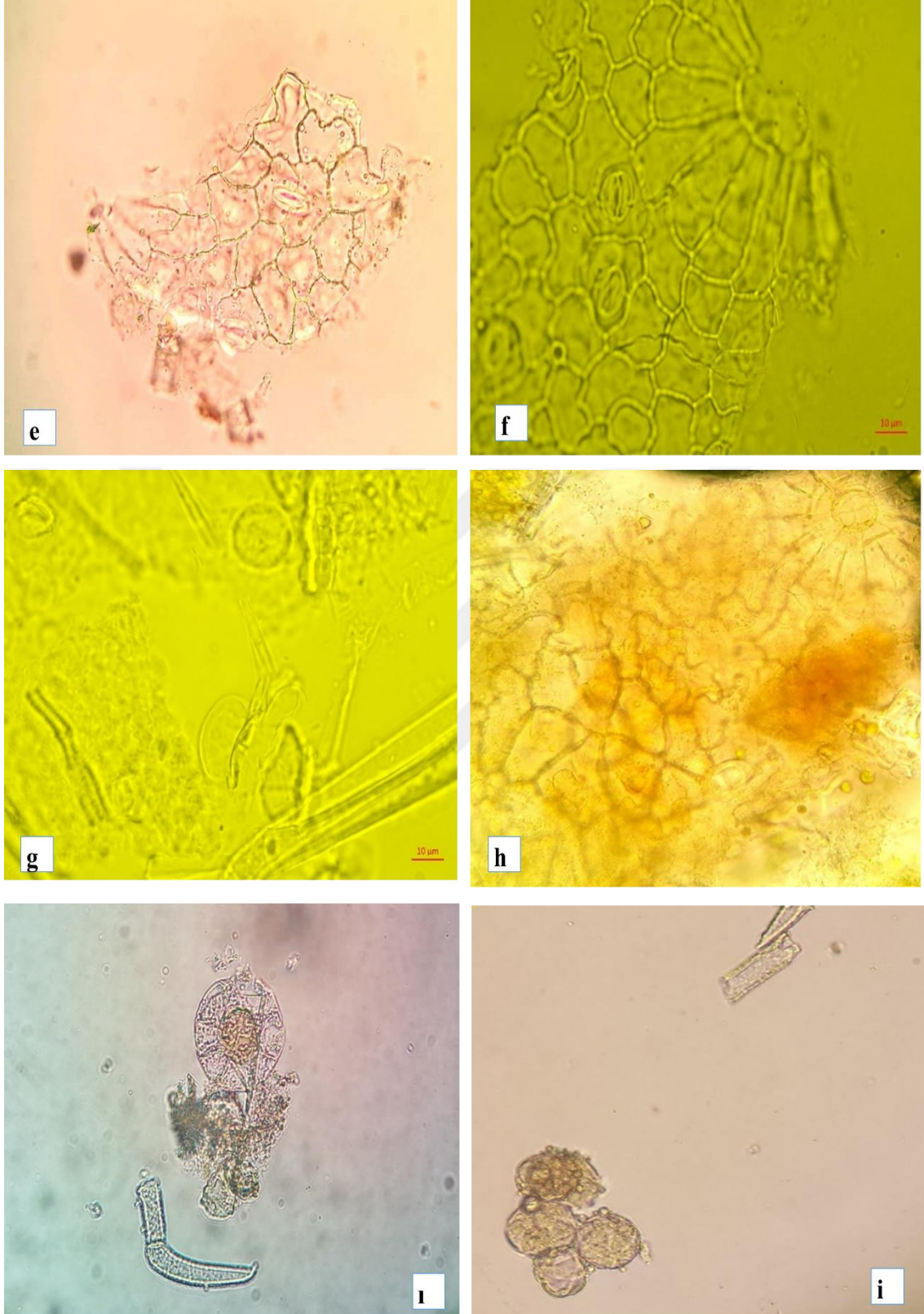
Numunenin karakteristik, keskin ve aromatik kokulu olduğu tespit edilmiştir. Numunenin açık yeşil renkli olduğu gözlemlenmiştir.

4.1.2. Mikroskopik inceleme

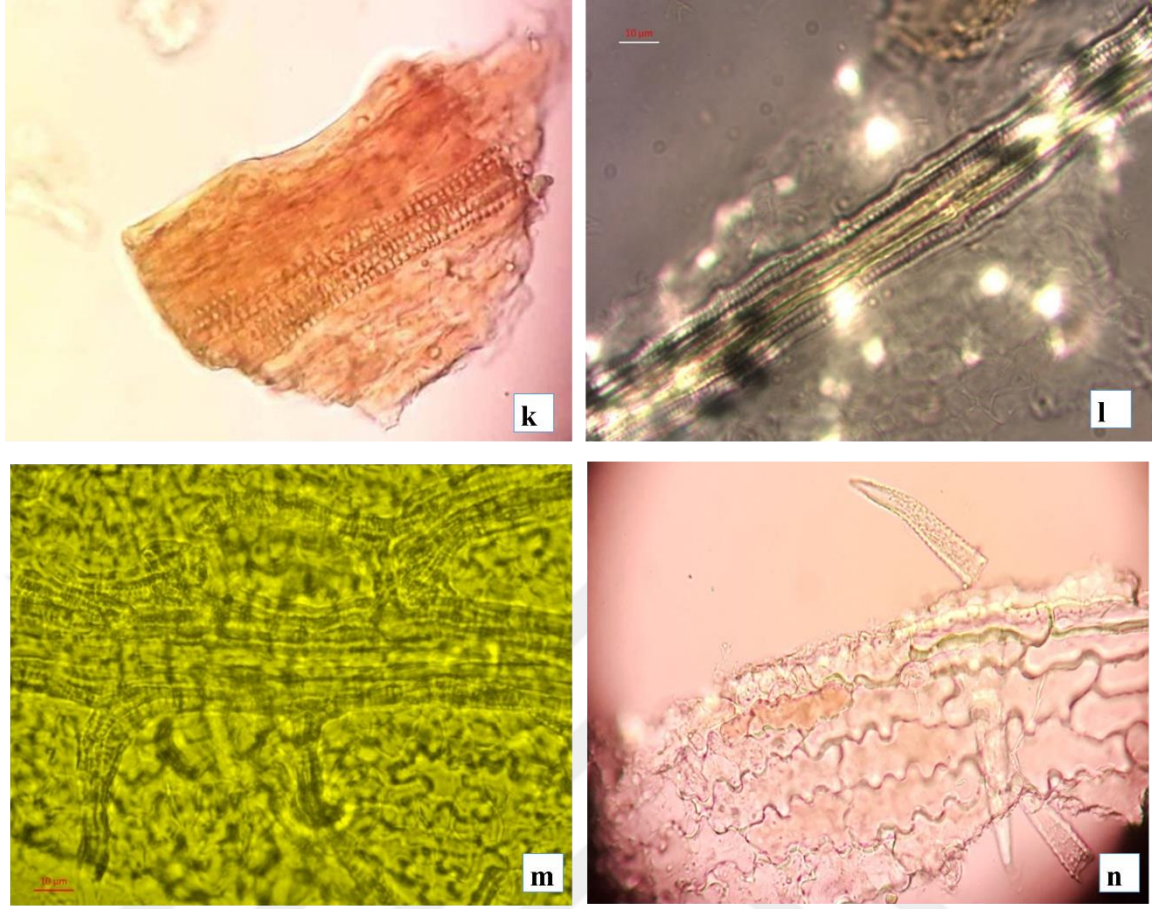
Hazırlanan preparatlarda bol miktarda örtü tüyüne rastlanmıştır. Örtü tüyleri kütikulası çizgicikli, çift sıralı çok hücrelidir. Başı sekiz sapı tek hücreli Lamiaceae (Labiatae) tipi salgı tüyleri tespit edilmiştir. Diasitik stomalar yaprağın alt ve üst yüzeyinde (bifasyal) mevcuttur. Alt epiderma karakteristik dalgalı hücre çeperlerine sahiptir. İletim demetleri bulunmaktadır (Görsel 4.1).



Görsel 4.1. *O. minutiflorum* mikroskopik incelemesi (a, b,c: örtü tüyü; d: stoma)



Görsel 4.1. (Devam) *O. minutiflorum* mikroskobik incelemesi (e: stoma; f: stoma ve salgı tüyü; g: salgı tüyü yandan görünüş; h: salgı tüyü üstten görünüş ve alt epiderma; i: salgı tüyü üstten görünüş ve örtü tüyü, j: polenler)



Görsel 4.1. (Devam) *O. minutiflorum*'un toprak üstü kısmına ait mikroskopik görüntüler
(k, l, m: iletim demetleri; n: örtü tüyü ve üst epiderma)

4.1.3. Su miktar tayini

Serin ve havadar yerde muhafaza edilen materyalin su miktar sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir. Numunelerde bulunan ortalama su miktarı 5.33 ± 0.47 'dir. Avrupa Farmakopesi (2004) *Oregano* monografına göre su miktarı en fazla %12'dir (120 mL/kg). Bu verilere göre *O. minutiflorum* örneğindeki su miktarı farmakope değerleri ile uyuşmaktadır.

Tablo 4.1. *O. minutiflorum*'un toprak üstü kısmına ait su miktar tayini sonuçları

Örnek (g)	Su miktarı (mL)	% Su miktarı
10.0	0.5	5.0
10.0	0.6	6.0
10.0	0.5	5.0
Ortalama su miktarı		5.33±0.47

4.1.4. Uçucu yağ miktar tayini

Clevenger aпараты kullanılarak 3 saatlik hidrodistilasyon sonucu kuru drog üzerinden hesaplanmış uçucu yağ verimleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Avrupa Farmakopesi (2016) Oregano monografına göre uçucu yağ miktarı köklerin uzaklaştırıldığı çiçek ve yapraklarda en az 25 mL/kg (kuru drogda), total yağın karvakrol ve timol içeriği en az %60 olmalıdır. Materyalde ortalama uçucu yağ verimi %3.9 mL/g olarak bulunmuştur. Total yağın karvakrol ve timol içeriği %83.5 olarak hesaplanmıştır. *O. minutiflorum* hem yağ verimi hem de karvakrol+timol içeriği bakımından Avrupa Farmakopesi (2016) değerlerine uygundur.

Tablo 4.2. *O. minutiflorum*’un toprak üstü kısmına ait uçucu yağ miktarı ve verimi

Örnek (g)	Uçucu yağ miktarı (mL)	% Verim
20.05	0.8	3.99
16.02	0.6	3.75
20.00	0.8	4.00
Ortalama uçucu yağ verimi		3.91±0.12

4.1.5. GK ve GK/KS analiz bulguları

Bitkinin uçucu yağ bileşiminin %97.9’u aydınlatılmış ve toplam 56 bileşik tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *O. minutiflorum*’un toprak üstü kısmına ait uçucu yağ bileşimi

RRI	Bileşenler	%
1014	Trisiklen	e
1024	Metil izovalerat	e
1032	α -Pinen	0.3
1035	α -Tuyen	0.4
1051	2,5-Dietil tetrahidrofuran	e
1076	Kamfen	0.2
1118	β -Pinen	0.1
1174	Mirsen	0.5
1176	α -Fellandren	0.1
1151	δ -Karen	0.3
1203	Limonen	0.1
1213	1,8-Sineol	0.7
1255	γ -Terpinen	1.1
1280	<i>p</i> -Simen	3.0
1290	Terpinolen	0.1

Tablo 4.3. (Devam) *O. minutiflorum* 'un toprak üstü kısmına ait uçucu yağ bileşimi

RRI	Bileşenler	%
1393	3-Oktanöl	e
1459	1-Okten-3-öl	0.2
1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	1.1
1505	Dihidroedulan II	e
1553	Linalöl	0.1
1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0.3
1571	<i>trans</i> -p-Ment-2-en-1-öl	0.1
1612	β -Karyofilen	1.3
1614	Karvakrol metil eter	0.1
1611	Terpinen-4-öl	1.0
1628	Aromadendren	0.1
1634	<i>cis</i> -İzodihidrokarvon	e
1614	<i>trans</i> -Dihidrokarvon	e
1638	<i>cis</i> -p-Ment-2-en-1-öl	e
1687	α -Humulene	0.1
1683	<i>trans</i> -Verbenöl	e
1706	α -Terpineöl	0.5
1719	Borneöl	1.1
1737	β -Bisabolen	0.2
1751	Karvon	0.1
1704	γ -Murolen	e
1784	(<i>E</i>)- α -Bisabolen	e
1798	Metil salisilat	e
1802	Kuminaldehit	e
1845	<i>trans</i> -Karveöl	e
1864	p-Simen-8-öl	0.1
1940	4-İzopropil salisilaldehit	e
2008	Karyofilen oksit	0.6
2030	Metil öjenöl	0.1
2050	Humulen epoksit II	e
2098	Globulöl	e
2113	Kuminalkol	e
2144	Spatulenöl	0.3
2186	Öjenöl	e
2198	Timöl	0.2
2209	T-Muroöl	e
2221	İzokarvakrol	e
2239	Karvakrol	83.3
2289	<i>cis</i> -İzoelemisin	0.1
2392	Karyofilenöl II	0.1
	Total	97.9

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır;

% FID verilerine göre hesaplanmıştır; **e:** Eser miktar (< %0.1)

4.1.6. Kül miktar tayini

Materyalde bulunan inorganik maddelerin belirlenmesi amacıyla farmakopede belirtilen prosedüre göre yapılan toplam kül miktarı sonuçları Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Avrupa Farmakopesi (2016) Oregano monografına göre bütün kül miktarı en fazla %15 olmalıdır. Örneklerde tespit edilen ortalama kül miktarı 7.7 ± 0.14 'tür. Bulunan değer farmakope değerleri ile uyusmaktadır.

Tablo 4.4. *O. minutiflorum*'un toprak üstü kısmına ait bütün kül miktar tayini sonuçları

Örnek (g)	Bütün kül (g)	Bütün kül %
1.5	0.1188	7.9
1.5	0.1133	7.6
1.5	0.1143	7.6
Ortalama bütün kül		7.7±0.14

4.1.7. Asitte erimeyen kül miktar tayini

Materyalde bulunması muhtemel olan asitte erimeyen ağır metaller gibi inorganik maddelerin miktarını belirlemek amacıyla, farmakopede belirtildiği şekilde yapılan asitte erimeyen kül miktarı sonuçları Tablo 4.5'te verilmiştir. Avrupa Farmakopesi Oregano monografında belirtilen asitte erimeyen kül miktarı en fazla %4'tür. Asitte erimeyen kül miktarı 0.55 ± 0.2 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.5. *O. minutiflorum*'un toprak üstü kısmına ait asitte erimeyen miktar tayini sonuçları

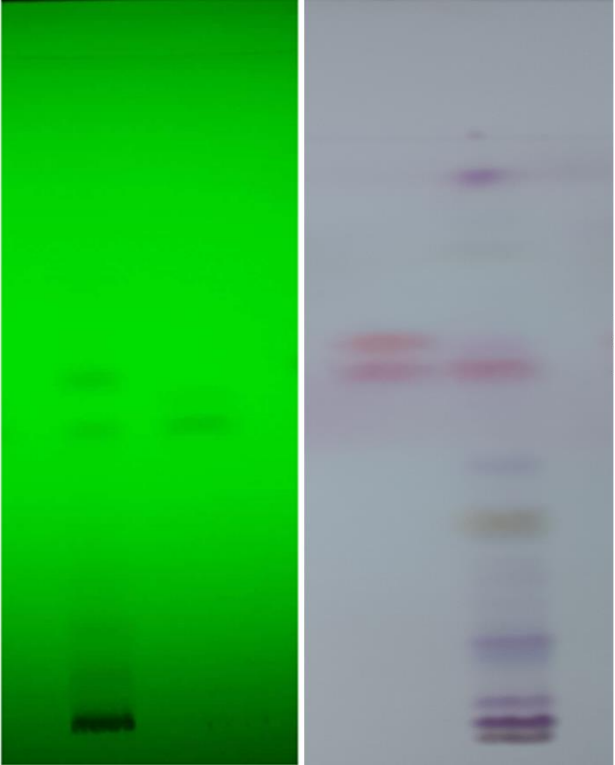
Örnek (g)	Asitte erimeyen kül (g)	Asitte erimeyen kül (%)
1.5	0.0086	0.57
1.5	0.0080	0.53
1.5	0.0084	0.56
Ortalama bütün kül		0.55 ± 0.2

4.1.8. İTK bulguları

Materyalden Avrupa Farmakopesi (2016)'nde belirtildiği şekilde *O. minutiflorum*'un İTK ile incelemesi yapılmıştır. UV lamba altında (254 nm ve 366 nm) belirgin lekeler ekstredeki lekelerle karşılaştırılmıştır. Referans ve test çözeltileri ile elden edilen kromatogramlardaki lekeler farmakopede belirtilen lekelerle karşılaştırmalı olarak Görsel

4.2’de verilmiştir. Referans ve test çözeltisinde yer alan karvakrol ve timolün tutunma faktörleri (Rf) ve verdiği lekelerin rengi aynıdır.

Plagın tepesi			
	Mavimsi-mor leke		
	Açık yeşil leke		
Timol: pembe leke	Pembe leke (timol)		
Karvakrol: açık menekşe leke	Açık menekşe leke (karvakrol)		
	Açık mor leke		
	Gri leke		
	Açık yeşil leke		
	Mavimsi-mor leke		
	Şiddetli kahverengi leke		
Şahit Çözelti	Test Çözeltisi		

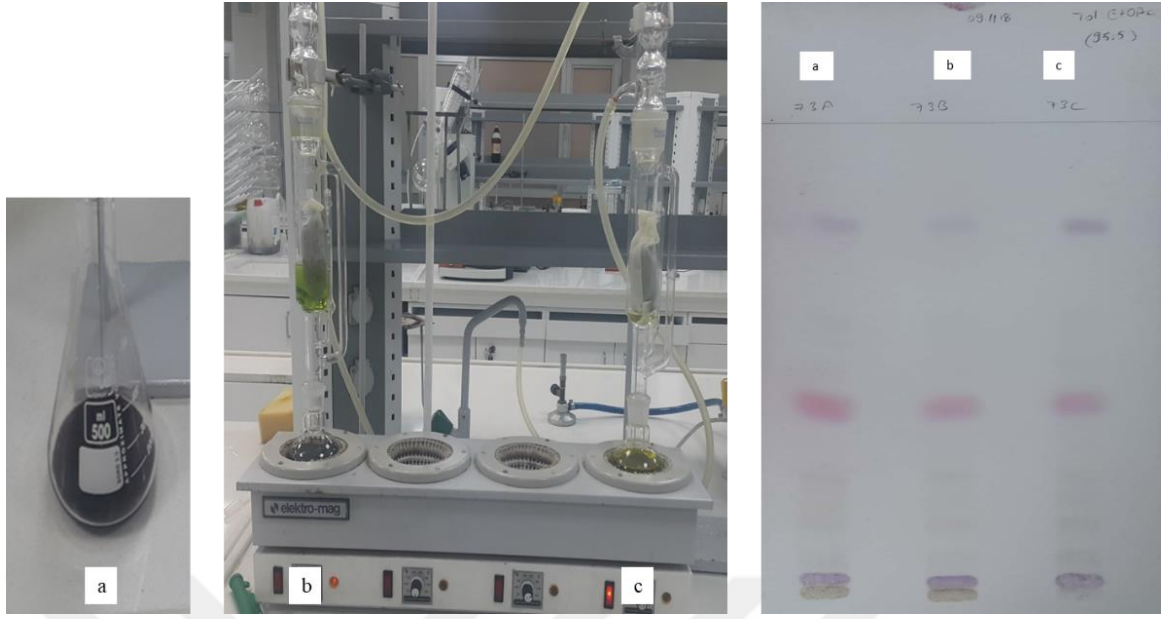


Görsel 4.2. Uçucu yağ, timol ve karvakrol’ün İTK ile analizi

4.2. Aktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama Çalışmaları

4.2.1. Ön ekstraksiyon çalışmaları ve verimleri

Ekstraksiyon ve fraksiyonlama çalışmaları AYF metodu esas alınarak yapılmış, *O. minutiflorum*’un enzimler üzerinde inhibisyonunu ortaya koymak için hazırlanan ekstratlar ve verimleri Tablo 4.6’da verilmiştir. Elde edilen 3 farklı ekstrenin içeriği ince tabaka kromatografisi ile kıyaslanmıştır (Görsel 4.3)



Görsel 4.3. Ön ekstraksiyon çalışmaları (a) %96'lık etanol-maserasyon, b) %96'lık etanol-devamlı ekstraksiyon, c) *n*-hekzan-devamlı ekstraksiyon)

Tablo 4.6. Ön ekstraksiyon çalışmaları ve verimleri

Çözücü	Yöntem	% Verim
%96'lık Etanol	48 saat maserasyon	7.7
%96'lık Etanol	8 saat devamlı ekstraksiyon (Soxhlet apareyi)	12.9
<i>n</i> -Hekzan	8 saat devamlı ekstraksiyon (Soxhlet apareyi)	4.2

Ekstre içeriklerinin benzer olduğu görülmüş ise de sonuç olarak, devamlı ekstraksiyon yönteminin ısı etkisiyle ekstre nin yapısını bozabileceği dikkate alınarak, ekstraksiyon yöntemi olarak maserasyon, ekstre nin verimi açısından da etanol çözücü olarak seçilerek çalışmalar devam edilmiştir.

4.2.2. Ham ekstre ve fraksiyonlar ile ilgili bulgular

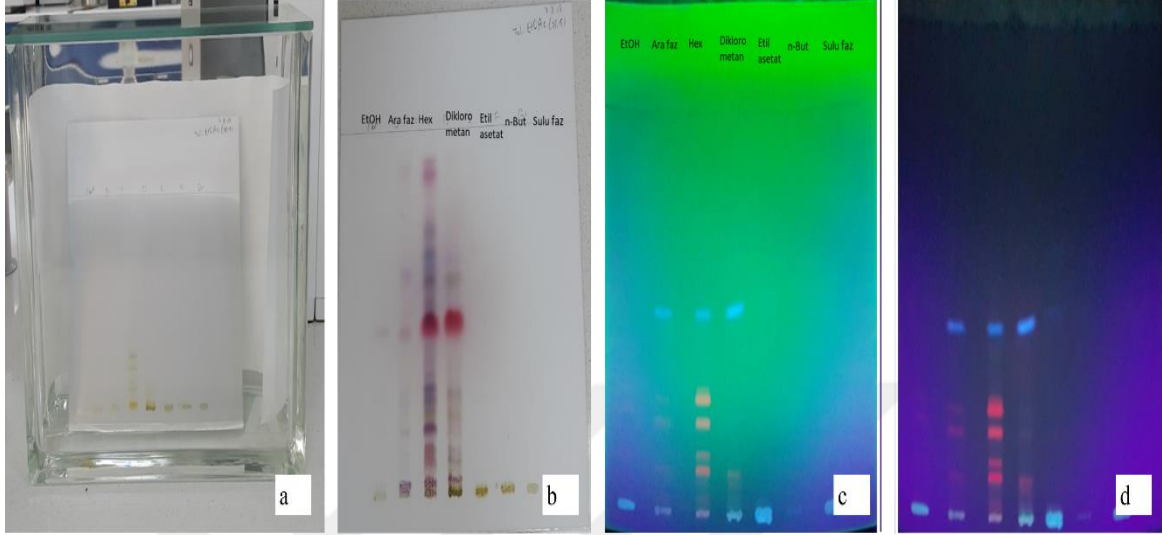
Elde edilen maseratların miktarları Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Ham ekstre ve fraksiyonların miktarları

Ekstre	% 70 Etanol	<i>n</i> -Hekzan	Diklorometan	Etil asetat	<i>n</i> -Bütanol	Sulu faz
Miktar (g)	107	9	16	6	18	50

Örnek olarak toluen:etil asetat (95:5) çözücü sistemine ait kromatogram Görsel 4.4.'te verilmiştir. İnce tabaka kromatografisi sonuçları incelendiğinde çözücü sistemlerinden 1.'si hekzan fraksiyonu; 2. ve 3.'sü etil asetat fraksiyonu; 5.'si ise *n*-

bütanol ve sulu faz fraksiyonlarının ayrımı için uygun çözücü sistemleri olduğu belirlenmiştir.



Görsel 4.4. Ham ekstre, ara faz ve fraksiyonların İTK ile analizi (a) İTK tankında sürükleme işlemi, b) Reaktif püskürtüldükten sonra c) 254 nm dalga boyundaki, d) 366 nm dalga boyundaki)

4.2.3. Kolon kromatografisi ile ilgili bulgular

Etil asetat ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmasında 224 fraksiyon toplanmıştır (Görsel 4.5) Toplanan fraksiyonlar İTK ile karşılaştırılmış, benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Birleştirilen fraksiyonlar da kendi aralarında İTK ile karşılaştırılmıştır. Tekrar benzer olanlar birleştirilmiş ve 14 fraksiyon elde edilmiştir.



Görsel 4.5. Etil asetat ekstresinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanması

Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen uçucu yağ, ekstre ve fraksiyonlar olası karışıklığı önlemek için kodlanarak kaydedilmiştir. Bu kodlamalar ilgili bölümlerde kullanılmıştır. Ekstreler ve fraksiyonların kodları Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Çalışılan ekstrelerin ve uçucu yağın kodları

Kod	Ekstre
E	%70 Etanol (Ham ekstre)
E1	<i>n</i> -Hekzan
E2	Diklorometan
E3	Etil asetat
E3a	Etil asetat alt fraksiyon 1
E3b	Etil asetat alt fraksiyon 2
E3c	Etil asetat alt fraksiyon 3
E3d	Etil asetat alt fraksiyon 4
E4	<i>n</i> -Bütanol
E5	Sulu faz
UY	Uçucu yağ

4.3. Enzim İnhibisyon Bulguları

4.3.1. LOX enzim inhibisyon bulguları

Örneklerin LOX enzim inhibisyon sonuçları Tablo 4.9’da verilmiştir. Çalışılan örnekler arasında E2 örneğinin LOX enzimi üzerinde yüksek inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. E2 örneğinin IC₅₀ değeri 13.83±1.02 µg/mL, NDGA IC₅₀ değeri 6.00±0.25 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.10).

Tablo 4.9. Ekstrelerin ve uçucu yağın LOX enzimi % inhibisyon değerleri

Örnek (100 µg/mL)	% İnhibisyon
E	65.80±2.00
E1	17.45±0.55
E2	82.33±0.94
E3	40.94±1.81
E3a	67.33±1.89
E3b	-
E3c	54.00±1.00
E3d	68.47±0.94
E4	24.50±0.50
E5	-
UY	-

-: İnhibisyon yok.

Tablo 4.10. NDGA ve E2 ekstresinin LOX enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri

Örnek	IC ₅₀ µg/mL
NDGA	6.00±0.25
E2	13.83±1.02

4.3.2. COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyon bulguları

Örneklerin COX enzimleri üzerinde inhibisyon sonuçları Tablo 4.11’de verilmiştir. Çalışılan örnekler arasında E3 ekstresi COX enzimleri üzerinde yüksek inhibisyon göstermiştir. E3 örneğinin IC₅₀ değerleri COX-1 enzimi için 26.75±1.25 µg/ml, COX-2 enzimi için 51.67±1.55 µg/mL olarak hesaplanmıştır. COX-1 standart inhibitörü SC-560’ın ve COX-2 standart inhibitör rofekoksibin IC₅₀ değerleri sırasıyla 0,000021±10⁻⁶ µg/mL ve 0.049±0.001 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.12). E3a, E3b, E3c ve E3d, COX-2 enzimi üzerinde yüksek inhibisyon göstermiştir.

Tablo 4.11. Ekstrelerin ve uçucu yağın COX-1 ve COX-2 enzimi % inhibisyon değerleri

Örnek (100 µg/mL)	COX-1	COX-2
E	-	36.71±4.31
E1	-	8.48±0.56
E2	-	40.19±1.11
E3	78.50±0.50	83.96±1.37
E3a	65.78±4.42	59.96±0.65
E3b	-	90.90±2.60
E3c	-	86.36±0.65
E3d	-	97.62±0.22
E4	-	41.17±1.08
E5	20.18±1.23	26.84±0.28
UY	55.26±1.58	33.10±0.42

-: İnhibisyon yok.

Tablo 4.12. SC-560 ve Rofekoksib'in COX enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri

İnhibitör	IC ₅₀ µg/mL
SC-560 (COX-1)	0.000021±10 ⁻⁶
Rofekoksib (COX-2)	0.049±0.001

4.3.3. MMP-9 enzimi inhibisyon bulguları

Ekstre ve uçucu yağ örnekleri MMP-9 enzimi üzerinde zayıf inhibisyon aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin ve NNGH'ın MMP-9 enzim inhibisyon sonuçları Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Ekstrelerin ve uçucu yağın MMP-9 enzimi % inhibisyon değerleri

Örnek (100 µg/mL)	% İnhibisyon
E	22.74±1.36
E1	-
E2	39.68±2.94
E3	45.11±2.03
E4	16.97±1.25
E5	13.55±2.93
UY	12.87±0.78
NNGH (1.3 µM)	90.06±0.64

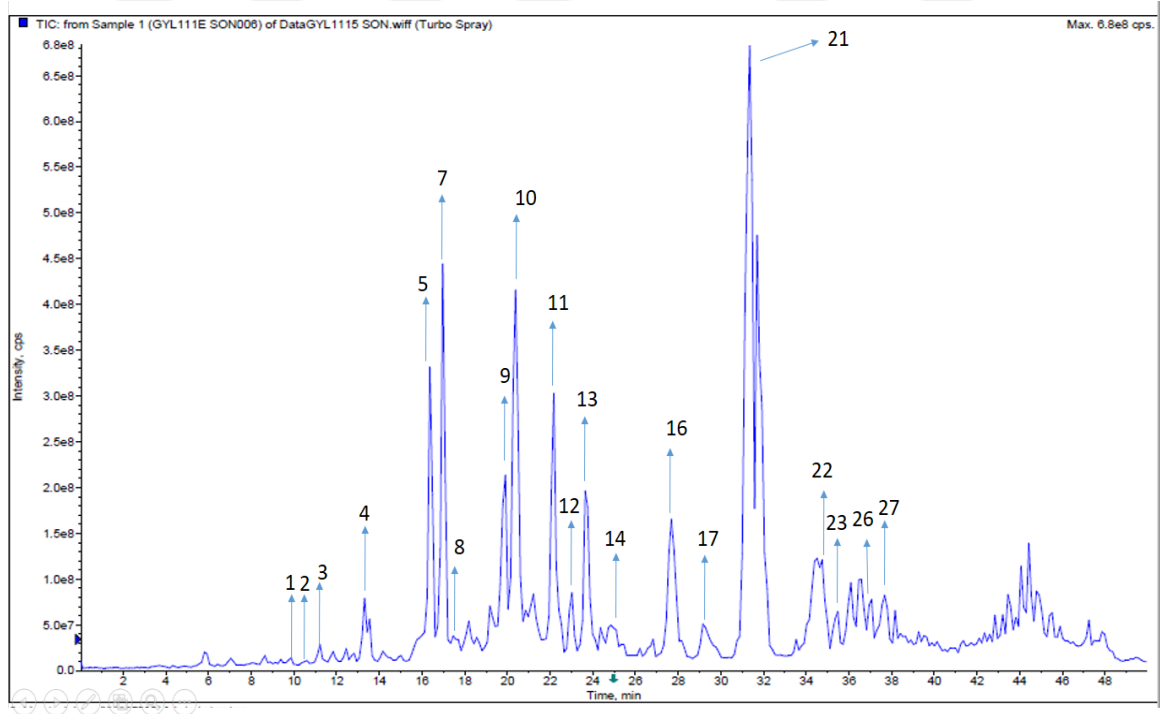
-: İnhibisyon yok.

4.4. YPSK/KS-KS Analiz Bulguları

Enzim inhibisyon çalışmalarında yüksek inhibisyon gösteren etil asetat ve diklorometan ekstraları yanısıra miktar olarak fazla olan ve yüksek enzim inhibisyonuna sahip etil asetat ekstresi alt fraksiyonlarının bileşimleri YPSK/KS-KS ile tespit edilmiştir. Tespit edilen maddelerin yapıları UV ve kütle spektrumları, tutunma zamanları ve literatür bilgiler ile karşılaştırılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. Yapıları belirlenen bileşikler Tablo 4.14’te verilmiştir.

Yorumlamaların açıklanabilmesi için her bir bileşiğin bulunduğu fraksiyon/ların kodu (Rt, tutunma zamanı, dk.), bağıl yüzdesi, molekül ağırlığı (MA), elektronegatif iyon modunda çalışıldığı için $[M-H]^-$ değeri, temel piki, fragmentleri ve kütle spektrumları sırasıyla verilmiştir.

Moleküllerin tanımlanmasında temsilen E3b alt fraksiyonuna ait total iyon kromatogramı Şekil 4.1’de verilmiştir Aynı ekstrenin 280 nm’deki total iyon kromatogramı Ek 3’te verilmiştir.



Şekil 4.1. E3b'ye ait total iyon kromatogramı

Tablo 4.14. YPSK/KS-KS analizi sonucu tanımlanan bileşikler (tutunma zamanlarına göre)

No	RT, dk.	λ_{\max} (nm)	MA	[M-H] ⁻	Temel pik	Diğer iyonlar	Muhtemel yapı	Tespit edildiği ekstrler
1	10.5		460	459	161	297, 251, 179, 135, 133	Kafeik asit türevi-1*	E3, E3b, E3c
2	10.7		180	179		161, 135, 107,	Kafeik asit	E3, E3b
3	10.9	286	388	387		225, 207, 163, 101, 85	Tuberonik asit heksozit/Me diorezinol*	E2, E3, E3a, E3b
4	13.3	239, 267, 327	594	593	353	575, 503, 473, 455, 395, 383, 365, 311, 233	Visenin-2	E2, E3, E3a, E3b, E3c, E3d
5	16.6	241, 265, 280, 323	522	521	359	344, 341, 326, 311, 296, 216, 203, 173, 101, 89	Jaseidin heksoziti ya da başka bir trimetoksi flavonoit heksozit*	E2, E3, E3a, E3b
6	17.1	238, 269, 335	522	521	341	359, 329, 311, 296, 203, 113, 101	Trimetoksi flavonoit heksozit*	E2, E3, E3a, E3c, E3d
7	17.3	257, 269, 349	448	447	327	429, 387, 357, 339, 329, 311, 297, 285, 255, 241, 175, 133	İzoorientin*	E2, E3, E3a, E3b, E3c, E3d
8	17.6		464	463	301	221, 161, 139	Kersetin heksozit*	E3b, E3c
9	19.9	239, 266, 332	652	651		489, 323, 221, 179, 161, 135, 133	Kafeik asit türevi-2*	E3b
10	20.4	254, 266, 346	448	447	285	327, 227, 175, 151, 133	Luteolin-7-O-glikozit	E2, E3, E3a, E3b, E3c, E3d
11	22.0	244, 280, 330	360	359	161	197, 179, 135	Rozmarinik asit	E2, E3, E3a, E3b, E3c, E3d
12	22.9	240, 266, 331	564	563	269	431, 413, 311, 273	Apigenin pentozit-heksozit*	E3b
13	23.9	241, 266, 330	550	549		531, 489, 387, 369, 221, 207, 179, 133	İkarisit türevi*	E3b, E3c, E3d
14	24.0	266, 334	432	431	269	311, 273, 240, 149, 117	Apigenin-O-heksozit*	E2, E3, E3a, E3b, E3c, E3d
15	25.6	267, 339	446	445	269	311, 272, 225, 175, 133, 99, 85	Apigenin-7-O-glukuronit	E3c, E3d
16	27.7	248, 268, 341	550	549	285	417, 399, 327, 309	Luteolin-C-dipentozit*	E3, E3a, E3b, E3c
17	28.7		418	417	285	327, 288, 256, 175, 133	Luteolin pentozit*	E3b, E3c

Tablo 4.14. (Devam) YPSK/KS-KS analizi sonucu tanımlanan bileşikler (tutunma zamanlarına göre)

No	RT, dk.	λ_{max} (nm)	MA	[M-H] ⁻	Temel pik	Diğer iyonlar	Muhtemel yapı	Tespit edildiği ekstraler
18	31.4	246, 280, 330	374	373		207, 193, 179, 161, 135, 107	Metil rozmarinat*	E3, E3a
19	31.8		302	301	151	272, 249, 229, 179, 121, 107, 93	Kersetin*	E2
20	32.0		402	401	268/269	341, 272, 234, 211, 151, 117	Apigenin pentozit*	E2
21	32.9	224, 260, 320	492	491	311	267, 197, 179, 135, 123	Globoidnan A	E3, E3a, E3b, E3c, E3d
22	35.0	240, 260, 328	592	591	285	549, 531, 513, 459, 417, 399, 327, 299, 151	Luteolin asetil dipentozit*	E3, E3a, E3b, E3c, E3d
23	35.6	240, 265, 324	460	459	268/269	339, 311, 275, 195, 151	Asasetin glukuronit*	E3b
24	36.2	261, 326	286	285	133	267, 217, 199, 175, 151, 133, 107	Luteolin	E3, E3b, E3c, E3d
25	37.4	240, 290, 346	360	359	344	329, 314, 301, 259, 214, 179, 161, 151, 123	Jaseidin*	E2, E3b
26	37.6		522	521	359	341, 299, 267, 229, 179, 161, 135, 113, 101	Rozmarinik asit türevi*	E2, E3b
27	38.0	240, 266, 326	270	269	117	181, 151, 117	Apigenin	E2, E3b

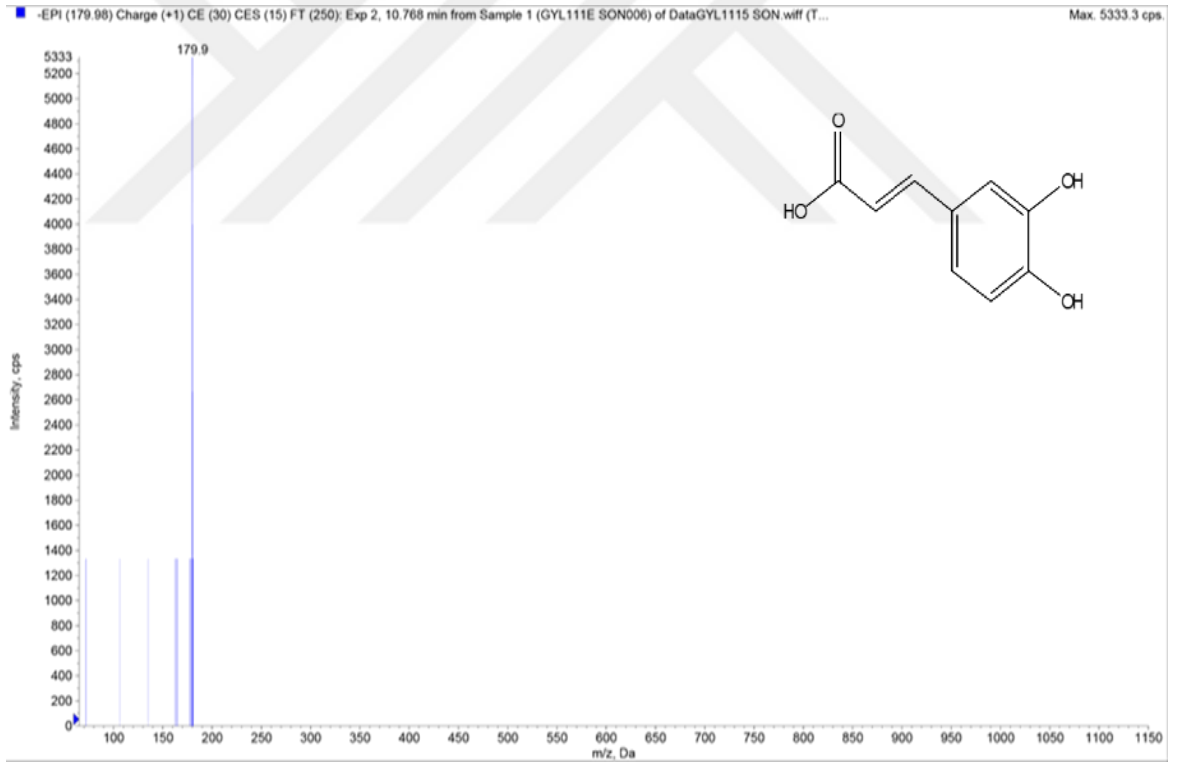
**O. minutiflorum*'da ilk kez tanımlanan bileşikler

4.4.1. Kafeik asit ve türevleri

2 numaralı madde: Kafeik asit

Bulunduğu ekstraktlar, bağlı yüzde: E3 (%2.3), E3c (oranda)

10.7 dakikada kolonu terk eden moleküler iyon piki m/z 179 $[M-H]^-$ olan bileşiğin diğer iyon pikleri m/z 161, 135 ve 107'dir (Şekil 4.2). KS/KS verileri detaylı incelendiğinde molekülden su kaybıyla m/z 161 $[M-H-18]^-$ iyonu, CO_2 kaybıyla m/z 135 $[M-H-44]^-$ iyonu oluştuğu tespit edilmiştir. Yapılan kaynak taramalarında bu parçalanma ürünleri kafeik asit için karakteristik olduğu tespit edilmiştir (Marzouk vd., 2018; Wu vd., 2009). Molekül parçalanması standart kafeik asit parçalanması ile uyumaktadır. Kafeik asit, Lamiaceae familyasında sık rastlanan bir hidrosinamik asit türevidir. Daha önce birçok *Origanum* türünde tespit edilen kafeik asit *O. minutiflorum*'da ilk defa tespit edilmiştir.

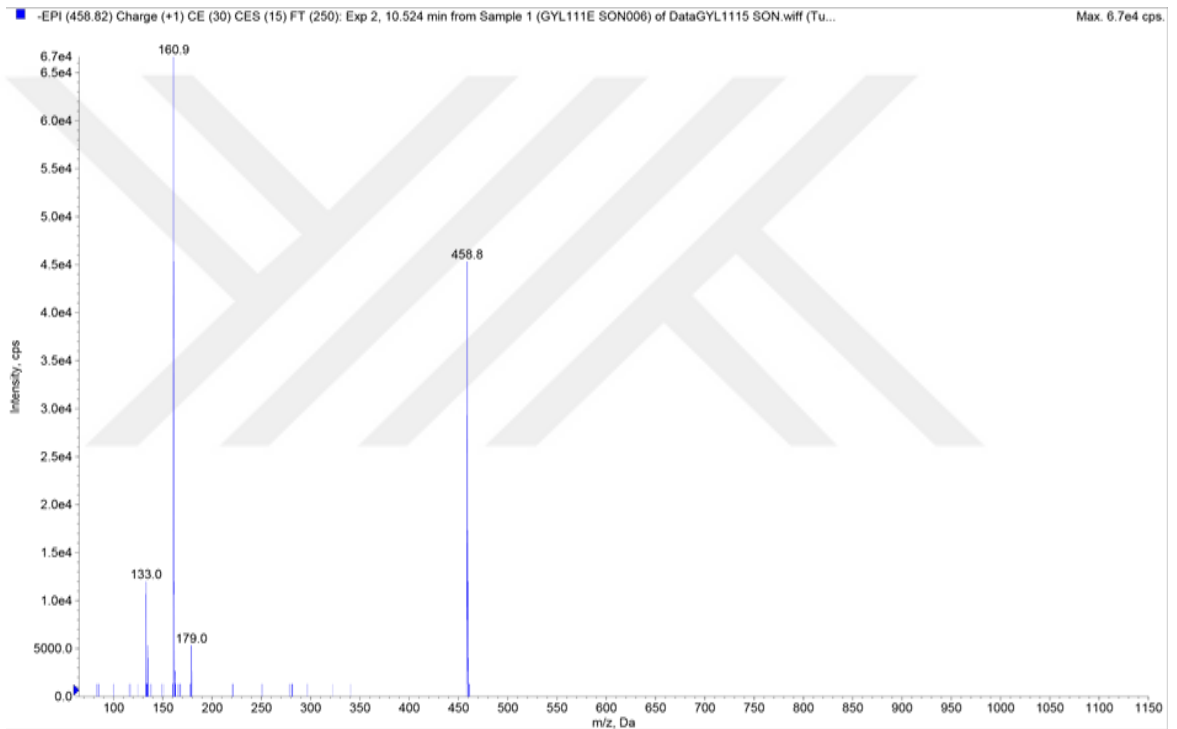


Şekil 4.2. Kafeik asit'e ait kütle spektrumu

1 numaralı madde: Kafeik asit türevi-1

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%3.5), E3b (Eser oranda), E3c (Eser oranda)

10.5 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 459 ve temel piki m/z 161'dir. Molekülün diğer iyonları m/z 297, 251, 179, 135 ve 133'tir (Şekil 4.3). Moleküldeki m/z 179, 135 ve 133 karakteristik kafeik asit parçalanmasıdır. Molekül iyonu ve m/z 297 iyonu arasındaki 162 amu'luk fark molekülde bir heksoz olduğunu göstermektedir. Molekülün diğer parçalanmaları hakkında tam bir kanıya varılamamıştır. Molekül bu haliyle kafeik asit türevi olarak adlandırılmıştır.



Şekil 4.3. Kafeik asit türevi-1'e ait kütle spektrumu

9 numaralı madde: Kafeik asit türevi-2

Bulunduğu ekstraler, bağıl yüzde: E3b (%4.5)

Tutunma zamanı 19.9 olan bileşiğin moleküler iyonu m/z 651, diğer iyonları m/z 489, 323, 221, 179, 161, 135, 133'tür (Şekil 4.4). Molekülün UV absorbands değerleri λ_{\max} = 239, 266, 332 nm'dir (Şekil 4.5).

Kaynak verilerde moleküler iyonu m/z 651 olan birçok bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden biri p-kumarik asit glikozittir. Bileşiğin m/z 163, 119 parçalanma ürünleri p-kumarik asit için karakteristiktir, incelenen molekülde bu iyonlara rastlanmamıştır (Sánchez-Rabaneda vd., 2003). Başka bir çalışmada m/z 651 moleküler iyonuna ve m/z 163 temel pikine sahip bileşik cis p-kumarik asit türevi olarak tanımlanmış ve UV absorbands değeri λ_{\max} = 300 nm olarak tespit edilmiştir (Barros vd., 2012).

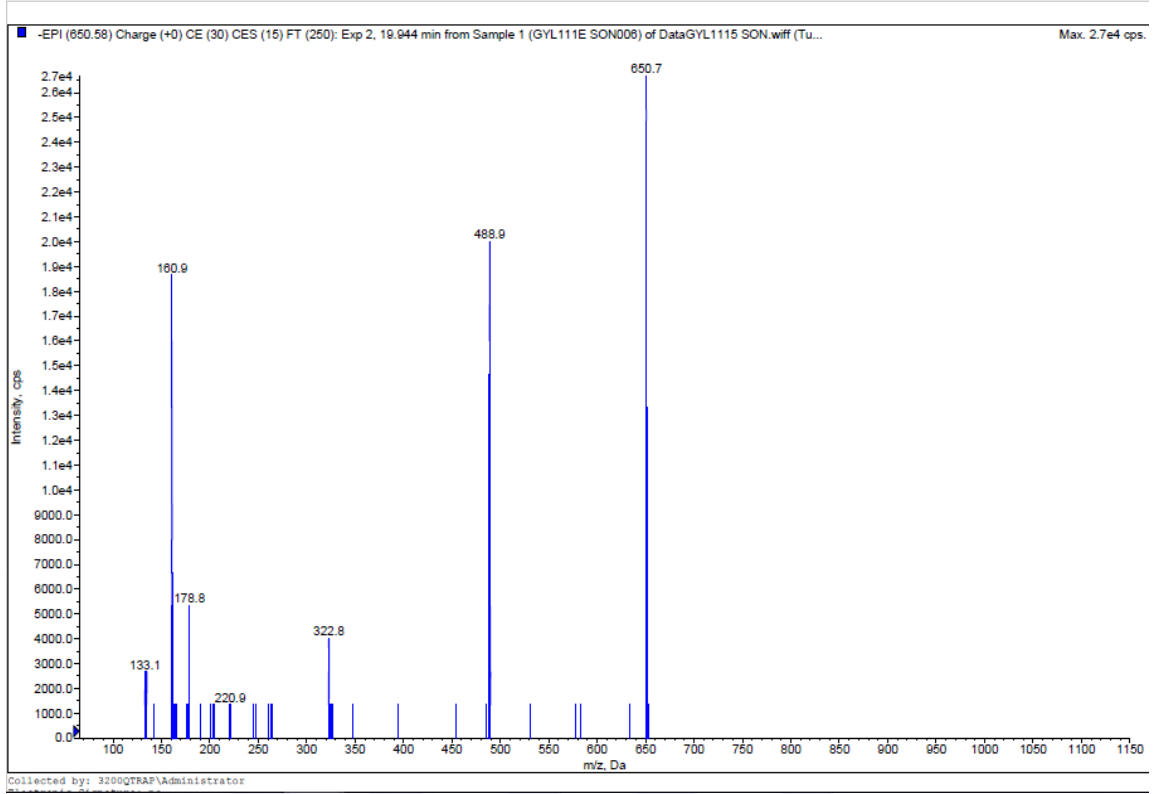
Molekül ile benzer moleküler iyonuna sahip trisin-7-O-ramnosil glukuronitin parçalanma ürünleri m/z 329, 314, 299'dur. Bu iyon pikleri incelenen molekülde gözlenmemiştir (Coutinho vd., 2016).

Benzer moleküler iyonuna sahip başka bir bileşik izoskutellarian-7-O-(6"-O-asetil)-ballosil (1"- \rightarrow 2")- β -glikozit, parçalanma ürünleri m/z 609, 447, 429, 285'tir, λ_{\max} = 278, 306, 326 nm'dir. Bu parçalanma ürünlerine incelenen molekülde rastlanmamıştır (Zivkovic vd., 2017).

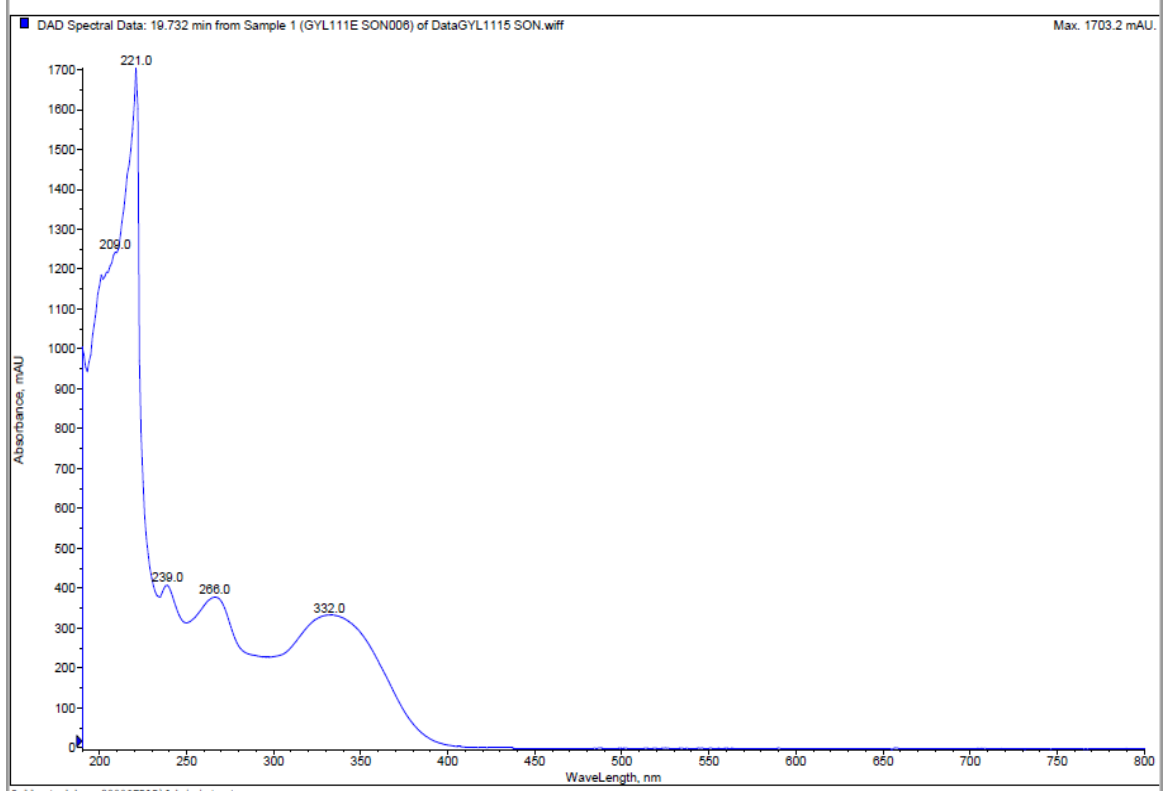
m/z 651 moleküler iyonlu luteolin-7-O-heksozil-8-C-(6"-asetil)-heksozitin parçalanma ürünleri m/z 489, 327, 179, 151'dir ve molekül ile benzer parçalanmalar göstermiştir. Ancak m/z 151 iyonu luteolinin parçalanma ürünlerinden biridir, incelenen molekülün parçalanma ürünlerinde tespit edilmemiştir (Sobeh vd., 2016).

m/z 489 moleküler iyonuna sahip birçok bileşik tespit edilmiştir; kamferol-O-(asetil) heksozit, kersetin-O-(asetil) ramnozid, sinapik asit türevi, gallika asit türevi (Spínola, 2018; Hofmann vd., 2016). Bu bileşiklerin parçalanma ürünlerinin de molekülün parçalanma ürünleri ile örtüşmediği tespit edilmiştir.

Molekülün kütle spektrumu incelendiğinde molekül iyonu ve m/z 489 iyonu arasındaki 162 amu'luk fark yapının bir heksoz içerdiğini göstermektedir. Molekülün m/z 179, 161, 135, 133 iyonları kafeik asitin parçalanma ürünleridir. m/z 221 ve m/z 179 iyonları arasındaki 42 amu'luk fark molekülden bir asetil grubu ayrıldığını göstermektedir. Molekül bu haliyle yapıda asetil ve heksoz içeren bir kafeik asit türevi olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.4. Kafeik asit türevi-2'ye ait kütle spektrumu



Şekil 4.5. Kafeik asit türevi-2'ye ait UV spektrumu

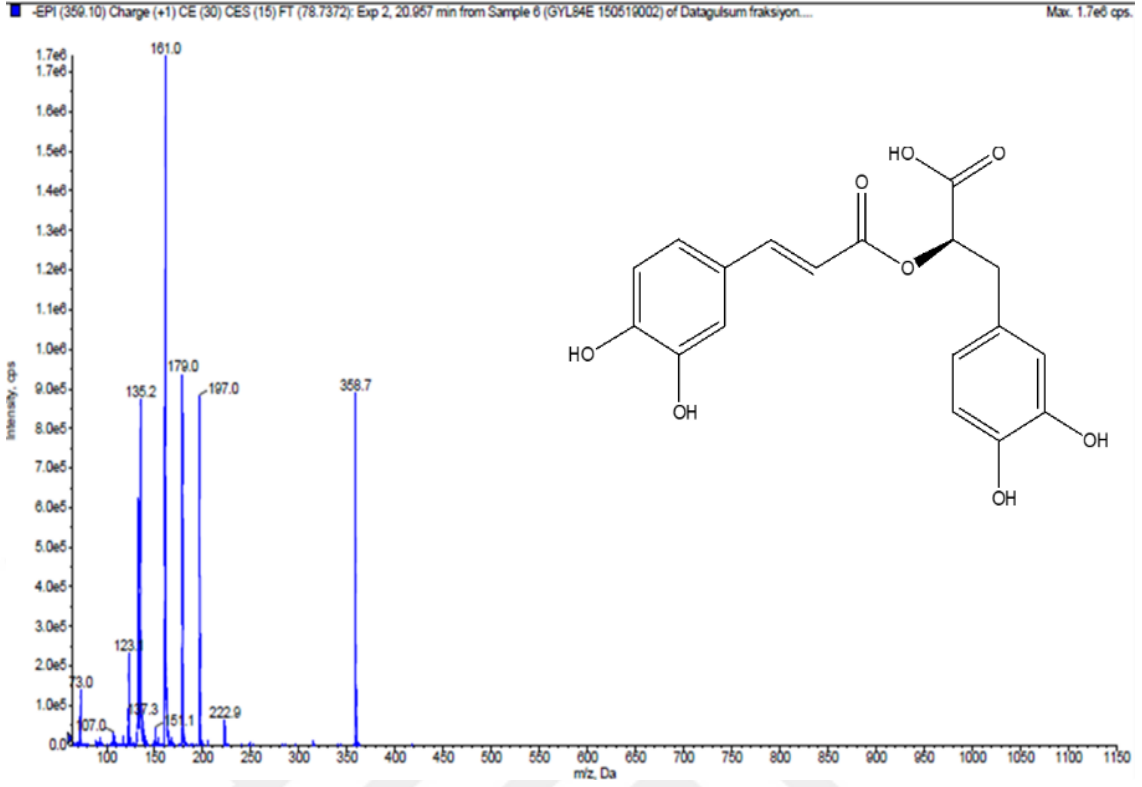
4.4.2. Rozmarinik asit ve türevleri

11 numaralı madde: Rozmarinik asit

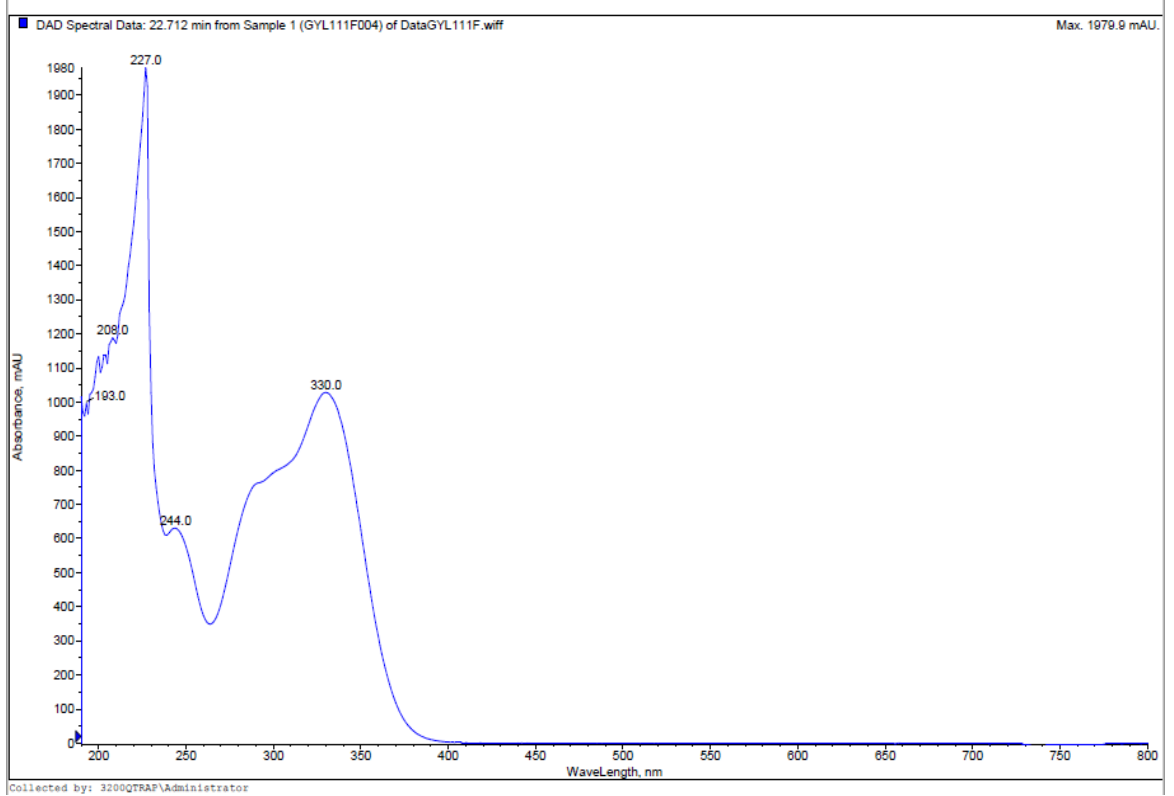
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%2), E3 (%23), E3a (%52.7), E3b (%5.6), E3c(%5.7), E3d (%7.8)

22 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 359 ve temel piki m/z 161'dir (Şekil 4.6). Kütle spektrumundaki m/z 197, 179 ve 135 karakteristik parçalanma ürünleri molekülün rozmarinik asit olduğunu göstermektedir. Bir kafeik asit dimeri olan rozmarinik asit KS/KS verileri incelendiğinde m/z 197 [danşensu-H]⁻ (danşensu, (2R)-3-(3,4-dihidroksifenil) laktik asit, 2-hidroksi dihidrokafeik asit), m/z 179 [kafeik asit-H]⁻ ve m/z 135 [kafeik asit-H-CO₂]⁻ şeklinde parçalanma ürünleri oluşturduğu görülmektedir. m/z 161 [kafeik asit-H₂O]⁻ iyon piki molekülün kafeoil kaybından dolayı ortaya çıkmıştır (Parejo vd., 2004a; Hossain vd., 2010; Barros vd., 2013). Molekülün parçalanma ürünleri standart rozmarinik asit parçalanmaları ile benzerlik göstermektedir. Molekülün UV absorbans değerleri λ_{\max} = 244, 280, 330 nm'dir (Şekil 4.7). Yapılan kaynak taramalarında rozmarinik asitin UV absorbans değerleri λ_{\max} = 280, 329 nm olarak tespit edilmiştir. Molekülün ve kaynak bilgilerden elde edilen rozmarinik asitin UV spektrumu uyduğu görülmüştür (Shekarchi vd., 2012).

Rozmarinik asit etilasetat ekstresinin ana bileşiğini oluşturmaktadır. Rozmarinik asite, Lamiaceae familyasının pek çok cinsinde rastlanmakla birlikte *Origanum* türlerinde en fazla gözlenen bileşiklerdendir (Shan vd., 2005; Sellami vd., 2009). Rozmarinik asit *Origanum minutiflorum*'da daha önce izole edilmiştir (Elmastaş vd., 2018; Sezen Karaoğlan, 2011; Koşar vd., 2003).



Şekil 4.6. Rozmarinik asit'e ait kütle spektrumu

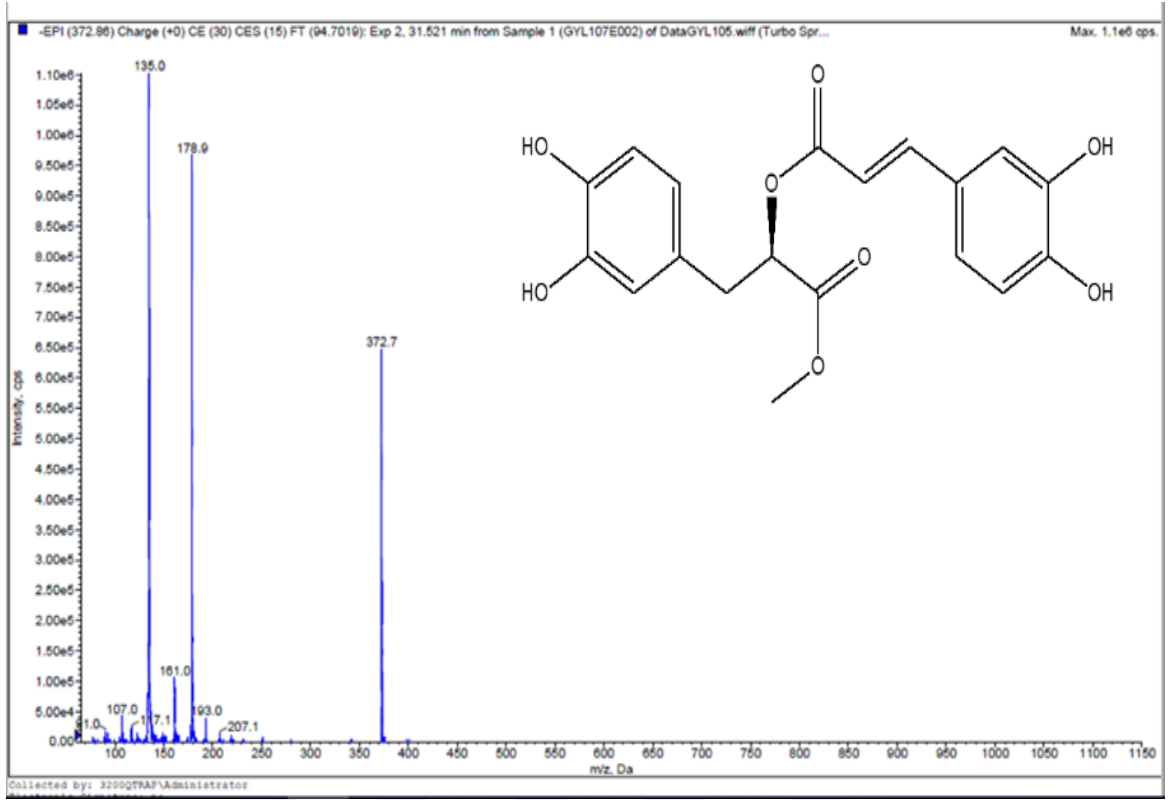


Şekil 4.7. Rozmarinik asit'e ait UV spektrumu

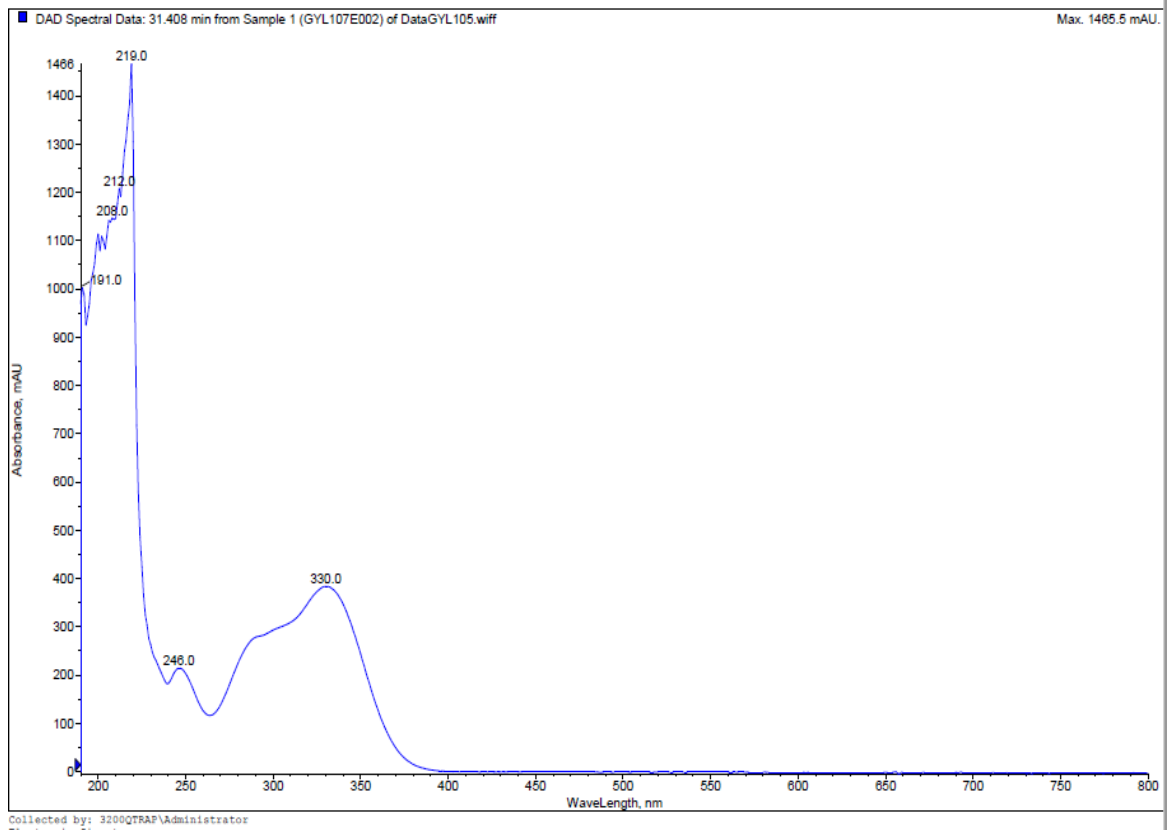
18 numaralı madde: Metil rozmarinat

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%10), E3a (Eser oranda)

31.4 dakikada kolonu terk eden bileşiğin, molekül iyonu m/z 373'dir (Şekil 4.8). Molekülün KS/KS verileri üzerinde inceleme yapıldığında, m/z 179 ve m/z 135 iyon piklerinden bu bileşiğin bir kafeik asit türevi olduğu anlaşılmaktadır. Hatta bileşiğin bir kafeik asit dimeri (179×2) olduğu ve rozmarinik asite benzer parçalanma gösterdiği görülmüştür (Hossain vd., 2010). m/z 193 ve m/z 161 iyon pikleri arasında 32 amu'luk fark molekülden metanol grubunun ayrıldığını göstermektedir. Böylece metil grubunun karboksilik asitin hidroksil grubuna bağlanmış olma yorumu yapılabilir. Molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 246, 280, 330$ nm olduğu tespit edilmiş (Şekil 4.9). Molekülün UV spektrumu rozmarinik asit ile benzer olması da bu sonucu destekler niteliktedir. Kaynak verilerde metil rozmarinatın UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 205, 264, 331$ nm olarak tespit edilmiştir (Tang vd., 2019). Kütle ve UV spektrumu verileri kaynak bilgiler ile değerlendirildiğinde bu yapının rozmarinik asit esteri olduğu anlaşılmaktadır. (Zeng vd., 2006; Parejo vd., 2004a; Mena vd., 2016). Bu bileşik daha önce *Origanum* türlerinden izole edilmiştir (Ding vd., 2010). *O. minutiflorum*'da ilk defa tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. Metil rozmarinat'a ait kütle spektrumu



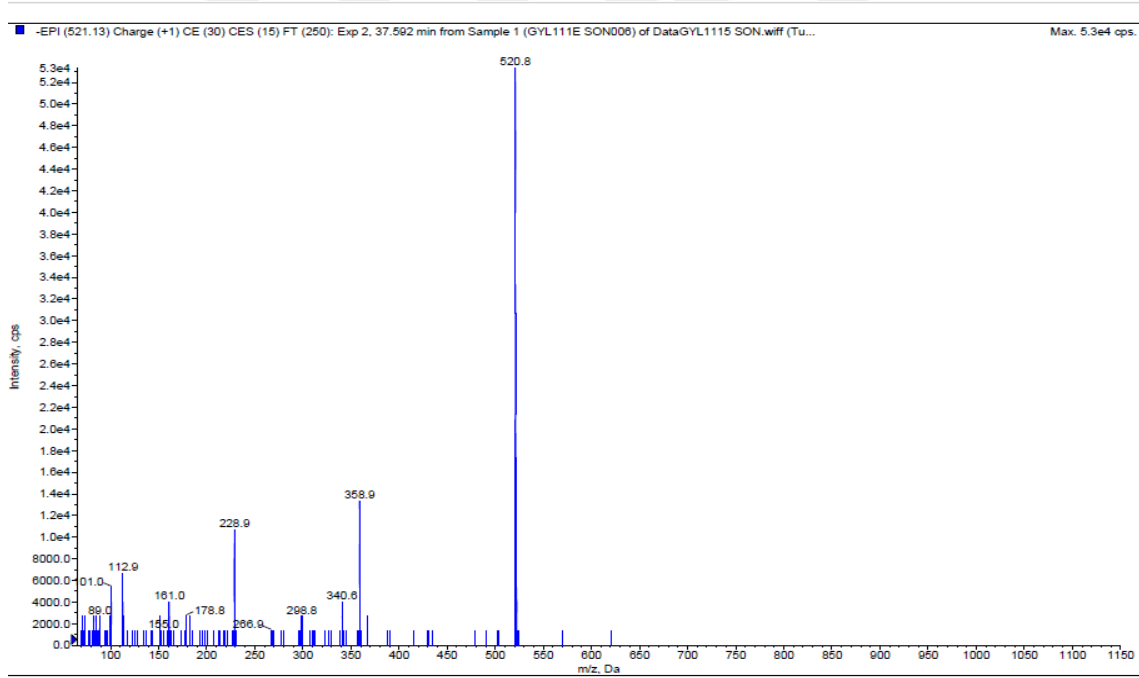
Şekil 4.9. Metil rozmarinat'a ait UV spektrumu

26 numaralı madde: Rozmarinik asit türevi

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%16.1), E3b (%1.4)

37.6 dakikada kolonu terk eden molekül piki m/z 521, temel piki 359 olan bileşiğin diğer parçalanma ürünleri m/z 341, 299, 229, 267, 179, 161, 135, 113 ve 101'dir (Şekil 4.10). 5 numaralı molekülün tanımlanırken olası m/z 521 moleküler iyon pikli ve m/z 359 temel pikli moleküller incelenmiştir

Temel piki m/z 359 $[M-H-162]^-$, yapıdan heksoz grubu ayrılması sonucu oluşmuştur. Kütle spektrumu verileri incelendiğinde m/z 179, 161 ve 135 iyon pikleri molekülün bir kafeik asit türevi olduğunu göstermektedir. m/z 359 moleküler iyonu ve parçalanma ürünleri m/z 197, 179, 161 ve 135 olan rozmarinik asit bir kafeik asit dimeridir. Molekül ilk olarak bir rozmarinik asit heksozu olarak değerlendirmeye alınmıştır. Ancak rozmarinik asit heksoz molekülü rozmarinik asitten daha önce kolonu terk ettiği bilinmektedir (Ziani vd.,2018; Martins vd., 2015). Bu bilgilerle ışığında bileşik rozmarinik asit türevi olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.10. Rozmarinik asit türevi'ne ait kütle spektrumu

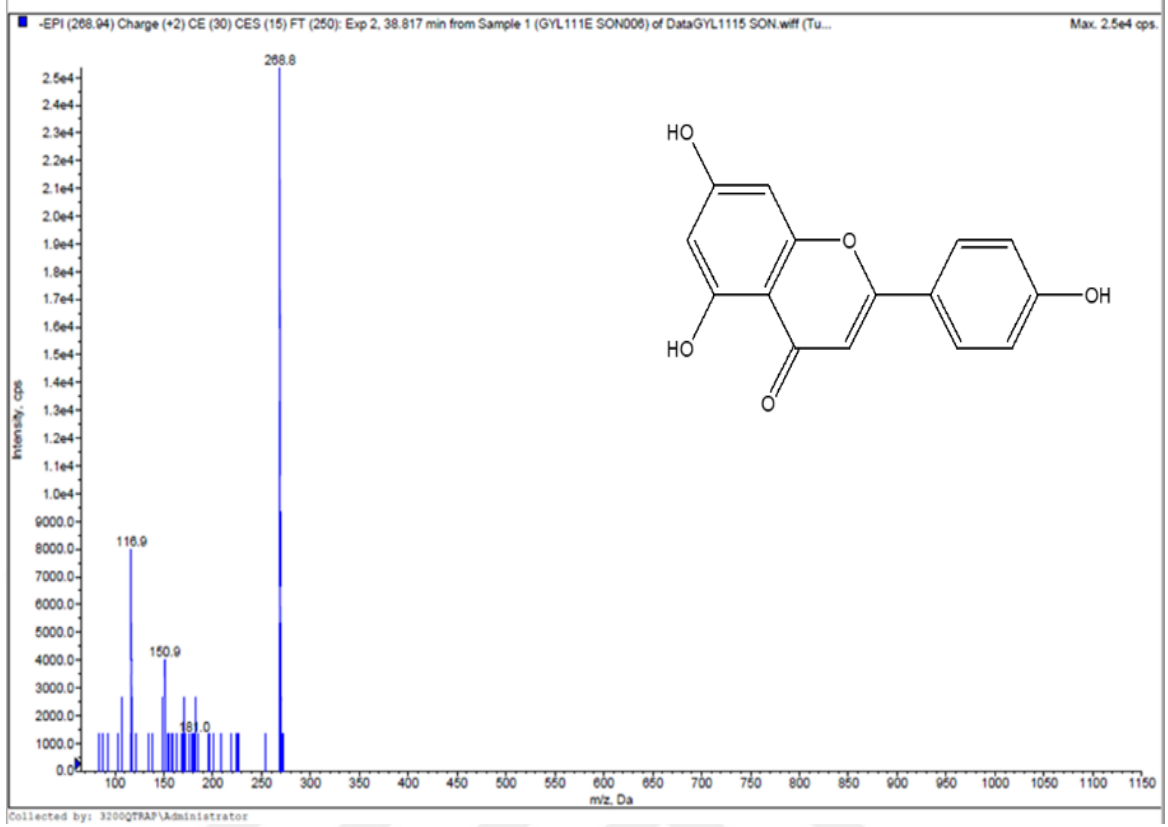
4.4.3. Apigenin ve türevleri

27 numaralı madde: Apigenin

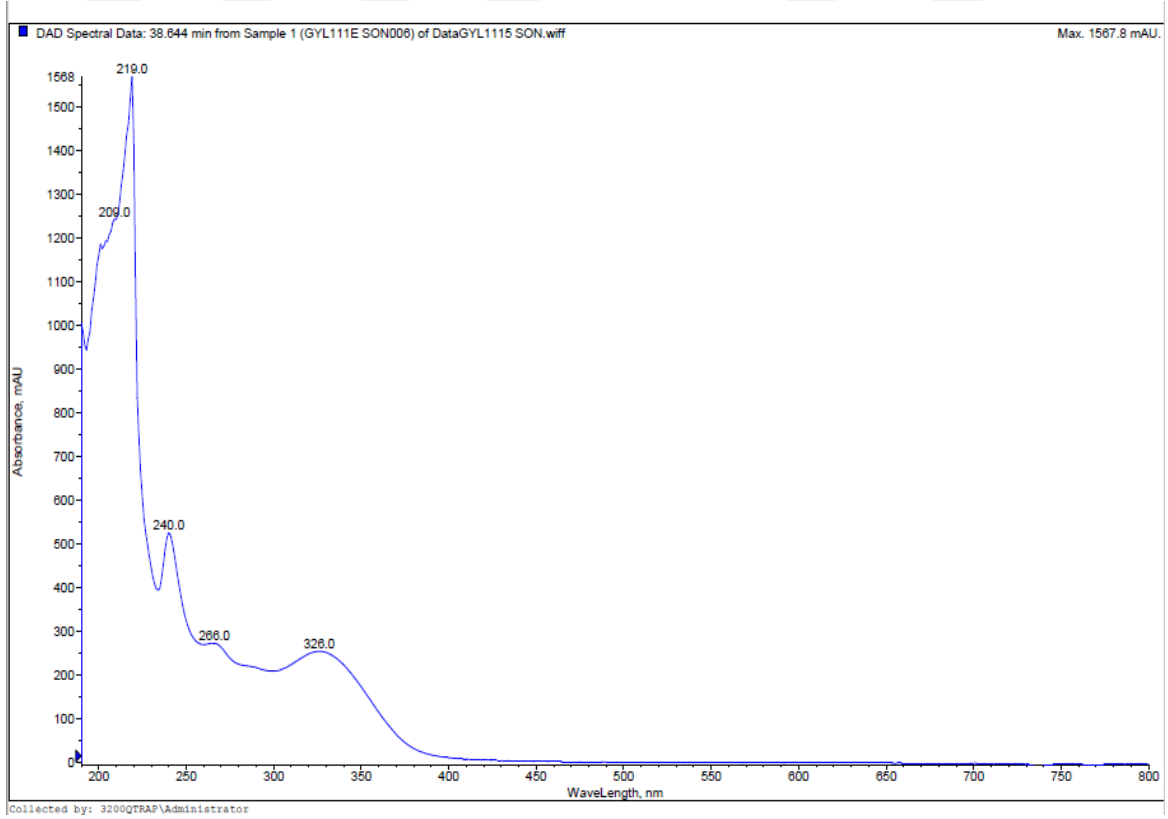
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%13.3), E3b (Eser oranda)

38 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 269 ve temel piki m/z 117'dir (Şekil 4.11). Bileşiğin UV absorpsiyon değerleri $\lambda_{\max} = 240, 266, 326$ nm'dir (Şekil 4.12). Molekülün ilk olarak apigenin olma ihtimali olduğu düşünülse de bakalein ve norvogonin bileşiklerinin aynı molekül ağırlığına sahip olduğuna kaynak verilerde rastlanmıştır. Bu iki bileşiğin kendi aralarında benzer ancak apigeninden farklı parçalanmalar gösterdiği tespit edilmiştir. Bu üç bileşik de CO, CO₂ kaybı sonucu m/z 241 ve m/z 225 iyon piklerini vermektedir. Bakalein ve norvogoninde trihidroksil gruplarının tamamı A halkası üzerinde konumlanmışken apigeninde bu gruplar A ve B halkaları üzerinde konumlanmıştır. m/z 149 iyonu apigenin için önemli bir parçalanma ürünüdür ve bir hidroksil grubunun A flavon halkasında olduğunu, m/z 151 iyonu ise iki hidroksil grubunun B flavon halkası üzerinde olduğunu göstermektedir. A ve B halkaları üzerinde gerçekleşen bu parçalanmalar molekülün apigenin olduğunu göstermektedir (Wu vd., 2004). Aynı molekül ağırlığına sahip apigenin izomeri genisteinde m/z 133 iyon pikine rastlanırken apigenin de farklı olarak m/z 149 iyon piki mevcuttur (Buslig ve Manthey, 2013). Bu veriler apigenin olma ihtimalini kuvvetlendirmiştir. Molekül iyonu m/z 269 olan apigenin için karakteristik parçalanmalar m/z 225, 117, 151 ve 107'dir. Apigenin kaynak verilerdeki UV absorpsiyon değerleri $\lambda_{\max} = 269, 334$ nm'dir. (Otlowska vd., 2018; Plazonic vd., 2009; Simirgiotis vd., 2015). Molekülün ve apigeninin UV spektrum değerleri birbiriyle uyusmaktadır.

Molekülün parçalanma ürünleri standart apigeninin parçalanma ürünleri ile benzerdir. Apigenin *O. minutiflorum*'da daha önce izole edilmiştir (Elmastaş vd., 2018).



Şekil 4.11. Apigenin'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.12. Apigenin'e ait UV spektrumu

4 numaralı madde: Visenin-2

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%1.2), E3 (%0.8), E3a (%0.2), E3b (%4), E3c (%7.4), E3d (%5.4)

13.3 tutunma zamanlı ve moleküler iyon piki m/z 593 $[M-H]^-$ olan maddenin bağıl yoğunluğu en yüksek fragmentleri m/z 353, 383 ve 473, diğer fragmentleri m/z 575 ve 503'tür (Şekil 4.13). Molekül, m/z 575 $[M-H-18]^-$, m/z 503 $[M-H-90]^-$, m/z 473 $[M-H-120]^-$, m/z 383 $[M-H-120-90]^-$ ve m/z 353 $[M-H-120-120]^-$ şeklinde parçalanma göstermiştir.

Flavonoitlerin C-glikozitleri analizi O-glikozitlerine göre daha zordur. Bu zorluğun iki nedeni bulunmaktadır: 1) MS/MS fragmantasyonunda kopmalar, aglikon ile şeker arasındaki C-C bağıının kopmasından ziyade şekerde iç bölünme şeklinde olmaktadır, 2) özellikle di-C-glikozitler veya daha karmaşık alt tipler için standartların bulunmaması bir diğer nedendir. Her ne kadar MS/MS, bazı C-diglikozit ve O-C-diglikozit flavonoitleri karakterize etmek için başarılı bir şekilde kullanılmış olsa da, MS/MS ile tamamen yapı aydınlatması gerçekleştirilemez, çünkü yapısal çeşitliliğe sahip güvenilir referans bileşikler azdır ve karakteristik fragmentlerin bağıl yoğunlukları, cihaz programları ve deneysel koşullar arasında değişiklik gösterir (Geng vd., 2016).

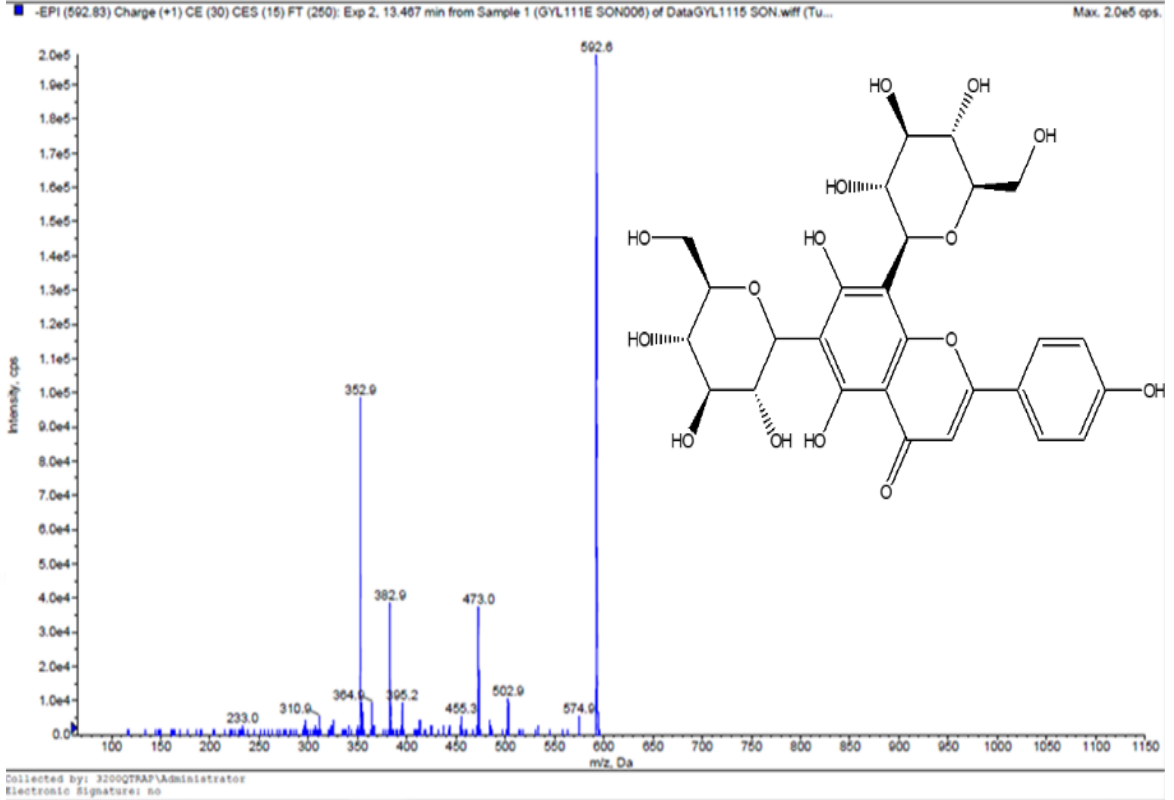
Yukarıda da anlatıldığı gibi C-glikozitleri, O-glikozitleri gibi sadece aglikon kısmından parçalanmamakta, C-C bağı güçlü olduğu için aglikon ile birlikte şeker molekülünün bir kısmını da içeren parçalanma ürünleri meydana getirirler. Kaynak taramalarında KS/KS negatif mod spektrumunda C-diglikozit flavonoitlere özgü parçalanmaların, dehidrasyon $[M-H-18]^-$, glikozun 0,3 çapraz halka bölünmesi $[M-H-90]^-$ ve glikozun 0,2 çapraz halka bölünmesi; $[M-H-120]^-$, $[aglikon+113]^-$ ve $[aglikon+83]^-$ şeklinde olduğu belirlenmiştir (Figueirinha vd., 2008; Zhang M. vd., 2011; Ibrahim vd., 2015). Bu bilgilere göre parçalanmalar incelenmiştir. m/z 383 $[269+113]$ ve m/z 353 $[269+83]$ parçalanmalar C-glikozit bağları için karakteristiktir. Bu fragmentler aglikonun molekül iyonu m/z 269 olduğunu göstermektedir (Benayad vd., 2014).

Kaynak veriler dikkate alındığında şeker molekülünün C-O bağlarının ayrılması ile oluşan 90 amu ve 120 amu'luk karakteristik kopmalar yapının 2 heksoz içerdiğini (glikoz, galaktoz veya herhangi bir heksoz) göstermektedir. Yapıdan iki şeker molekülü (162×2) çıkarıldığında da ($593-324 = 269$) aglikonun molekül ağırlığının 269 olduğu sonucunu doğrulamaktadır. m/z 269 $[M-H]^-$ apigenin karakteristik iyonudur.

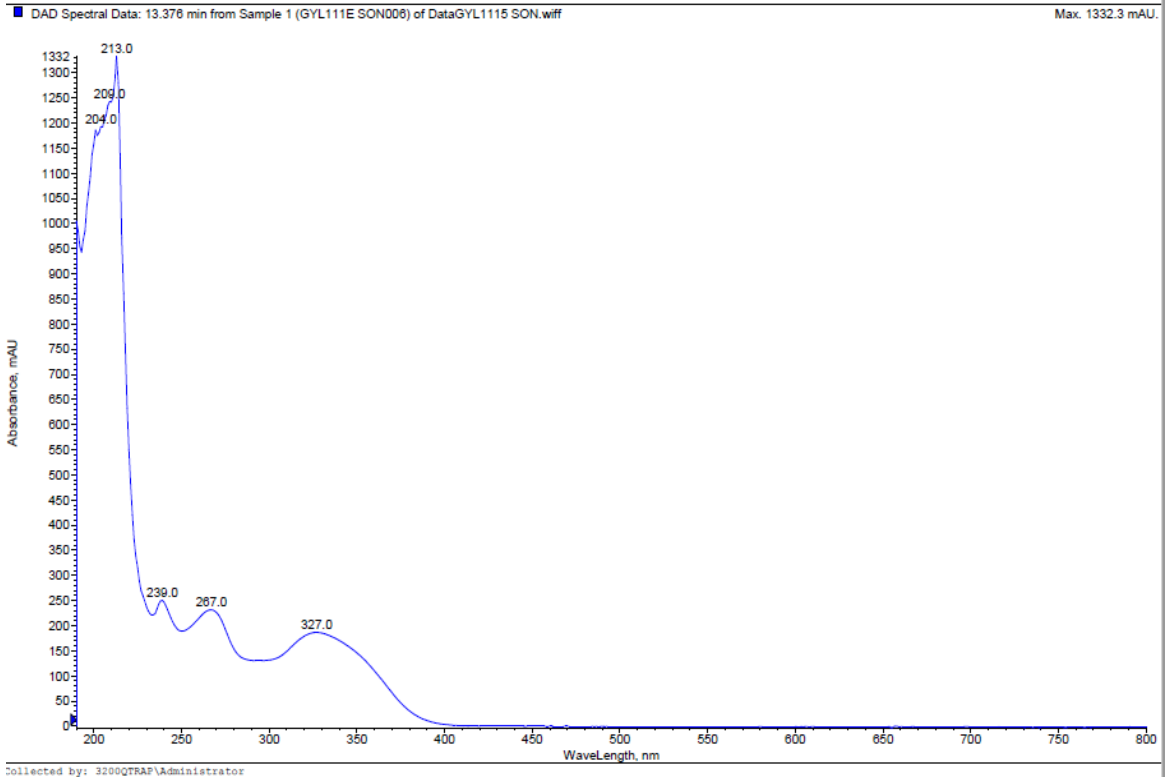
Apigenin-*C*-heksoz-*C*-pentoz (m/z 563) parçalanması m/z 503 [M-H-60]⁻ iyon piki içermektedir, apigenin-*C*-heksoz-*C*-heksoz (m/z 593) parçalanmasında görülen m/z 503 [M-H-90]⁻ şeklinde parçalanmaktadır (Vallverdú-Queralt vd., 2015). Bu durum molekülün 2 heksoz taşıdığını doğrulamaktadır. Apigenin *C*-glikozitlerinde şekerlerin olası bağlanma yerlerinin A halkasının 6 veya 8 numaralı karbonlar olduğu görülmektedir.

Kaynaklarda apigenin-6,8-di-*C*-heksozit yapısına sahip moleküllerle molekülün moleküler iyonu ve parçalanma ürünleri benzerlik göstermektedir. Apigenin 6,8-*C*-diglikozite Lamiaceae familyasında *Lavandula*, *Mentha*, *Thymus* türlerinde sıklıkla ve birçok *Origanum* türünde rastlanmıştır (Pereira, 2013; Grevsen vd., 2009; Koukoulitse vd., 2006; Martins vd, 2014; Sezen Karaoğlan, 2011). Önceki çalışmalarda apigenin 6,8-*C*-diglikozit *O. minutiflorum*'dan izole edildiği tespit edilmiştir (Elmastaş vd., 2018). Molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 239, 267, 327$ nm (Şekil 4.14) ile kaynak verilerdeki UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 232, 272$ ve 334 nm uyumludur (Parejo vd., 2004b; Geng vd., 2016; Brito vd., 2014; Benayad vd., 2014).

Molekülün daha önce bazı *Origanum* türlerinde belirlenmiş olması ve özellikle *Origanum minutiflorum*'dan izole edilmiş olması molekülün visenin-2 (apigenin-6,8-*C*-diglikozit) olarak adlandırılmasını sağlamıştır.



Şekil 4.13. Visenin-2'ye ait kütle spektrumu



Şekil 4.14. Visenin-2'ye ait UV spektrumu

12 numaralı madde: Apigenin pentozit-heksozit

Bulunduğu ekstre, bağlı yüzde: E3b (%1.4)

22.9 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 563 ve temel piki m/z 269'dur. Molekülün diğer parçalanma ürünleri m/z 431, 413, 311 ve 273'tür (Şekil 4.15). Molekülün UV absorbands değerleri $\lambda_{max} = 240, 266, 330$ nm'dir (Şekil 4.16).

m/z 431 $[M-H-132]^-$ iyonu molekülden bir pentoz molekülünün kopması ile oluşmuştur. m/z 269 $[M-H-132-162]^-$ iyon pikinden molekülün aglikon kısmı apigenin olan yapısında bir heksoz ve bir pentoz içeren glikozit olduğu anlaşılmıştır.

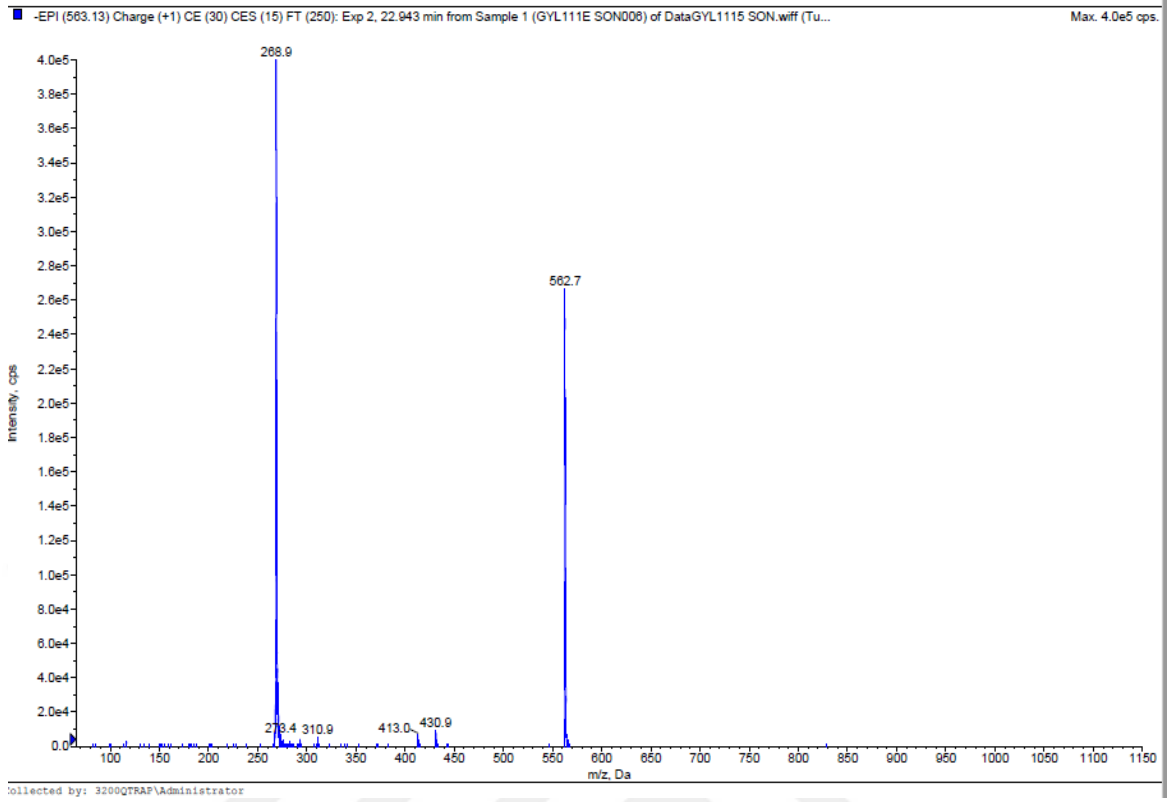
Kaynak verilerinde aynı molekül ağırlığına sahip birçok bileşik tespit edilmiştir. Molekülün kütle spektrumundaki değerlendirmeler sonucunda tespit edilen bileşiklerden apigenin türevleri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır.

m/z 563 moleküler iyon pikli apigenin-6-C-pentozil-8-C-heksozit molekülünün parçalanma ürünleri m/z 545,503,473,443,383,353'tür, $\lambda_{max} = 336$ nm'dir (Roriz vd., 2014). Başka bir çalışmada m/z 563 moleküler iyon pikine sahip bileşik apigenin-*O*-pentozil-heksozit olarak tanımlanmış ve bileşik m/z 440, 323, 269 olarak parçalanma göstermiştir (İbrahim vd., 2015). Apigenin-6-C-arabinozil-8-C-glikozit ve apigenin-6-C-glikozil-8-C-arabinozit bileşiklerinin de molekül ile benzer molekül ağırlığına sahip olduğu ve m/z 503.1, 473.1, 443, 383, 353, 325, 297 parçalanma ürünlerini verdiği tespit edilmiştir (İslam vd., 2013). m/z 563 apigenin (6-C- β -D-glikopiranozil) 8-C- α -L-arabinozit (Şaftozit) parçalanma ürünleri m/z 473, 353 269, 337'dir, $\lambda_{max} = 269, 327$ nm'dir (Simirgiotis vd., 2013). Molekül ile benzer molekül ağırlıklı bir diğer bileşik olan apigenin 7-*O*-arabinosilglikozitin parçalanma ürünleri m/z 565, 433, 269 ve $\lambda_{max} = 265, 335$ 'tir (Piasecka vd., 2015). Bu bileşiklerin, incelenen molekül ile UV spektrum değerlerinin uyumlu olduğu görülürken, parçalanma ürünlerinin tam olarak örtüşmediği tespit edilmiştir.

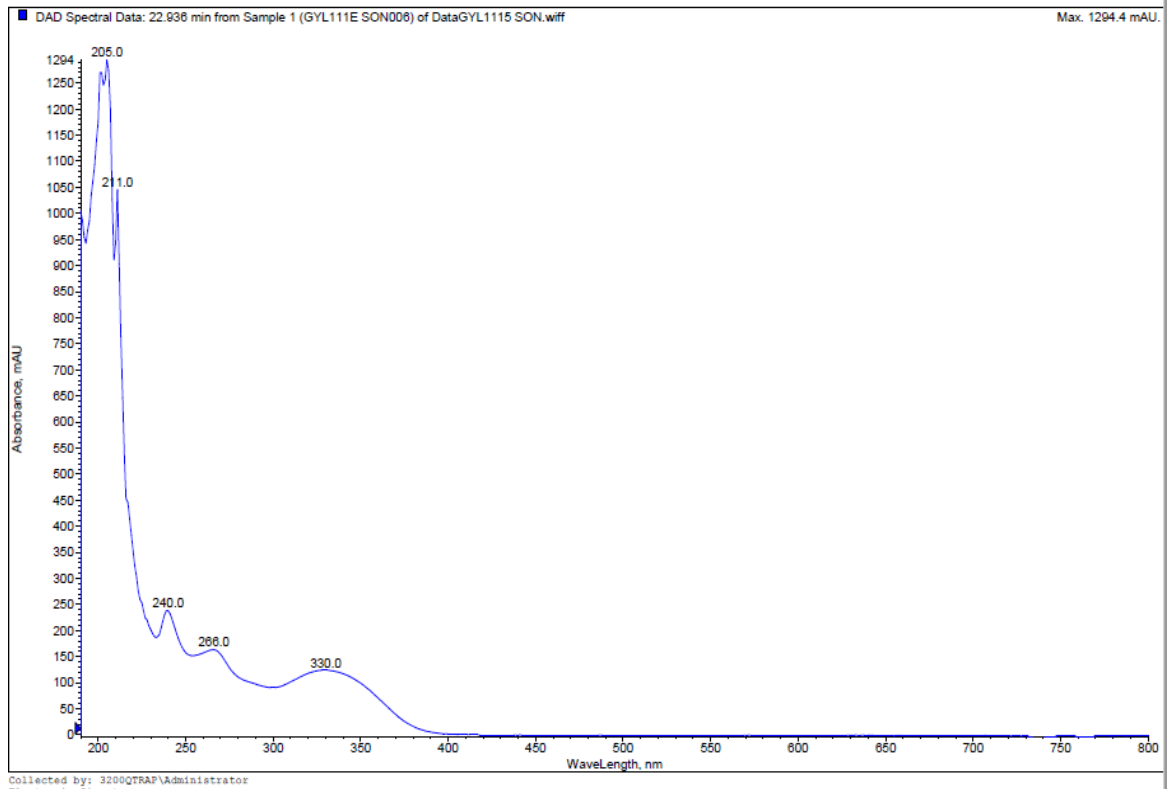
Kaynak verilerde kütle ve UV spektrumu açısından benzer olan iki apigenin türevi bileşik tespit edilmiştir; 2''-*O*-pentozil-8-C-heksozil-apigenin ve 2''-*O*-pentozil-6-C-heksozil-apigenin. Bu iki maddenin UV absorbands değerlerinin ($\lambda_{max} = 267, 338$ nm) aynı olduğu tespit edilmiştir (Pereira vd., 2012). Molekülün parçalanma ürünlerinden m/z 413 iyonu molekülden 150 amu luk fark ile 2''-*O*-pentozil yapısının varlığına işaret etmektedir (Ferrerres vd., 2007). Kaynak verilerinde m/z 431 molekül iyonuna sahip apigenin-8-C-glikozitin (viteksin) spektrumu incelediğinde m/z 311 iyon piki dikkat çekici bulunmuştur (Sánchez-Rabaneda vd., 2003; http-1). Molekülün spektrumunda bu

iyon pikine rastlanması molekülün apigenin-8-*C*-glikoziti türevi olabileceğini düşündürmüştür. Ancak kaynak veriler dikkate alınarak yapılan değerlendirmede heksoz ve pentoz yapılarının apigenin ile hangi konumdan bağlandığını belirlemek mümkün olmamıştır. Bileşik bu haliyle apigenin pentozit-heksozit olarak tanımlanmıştır.





Şekil 4.15. Apigenin pentozit-heksozit'e ait kütle spektrumu

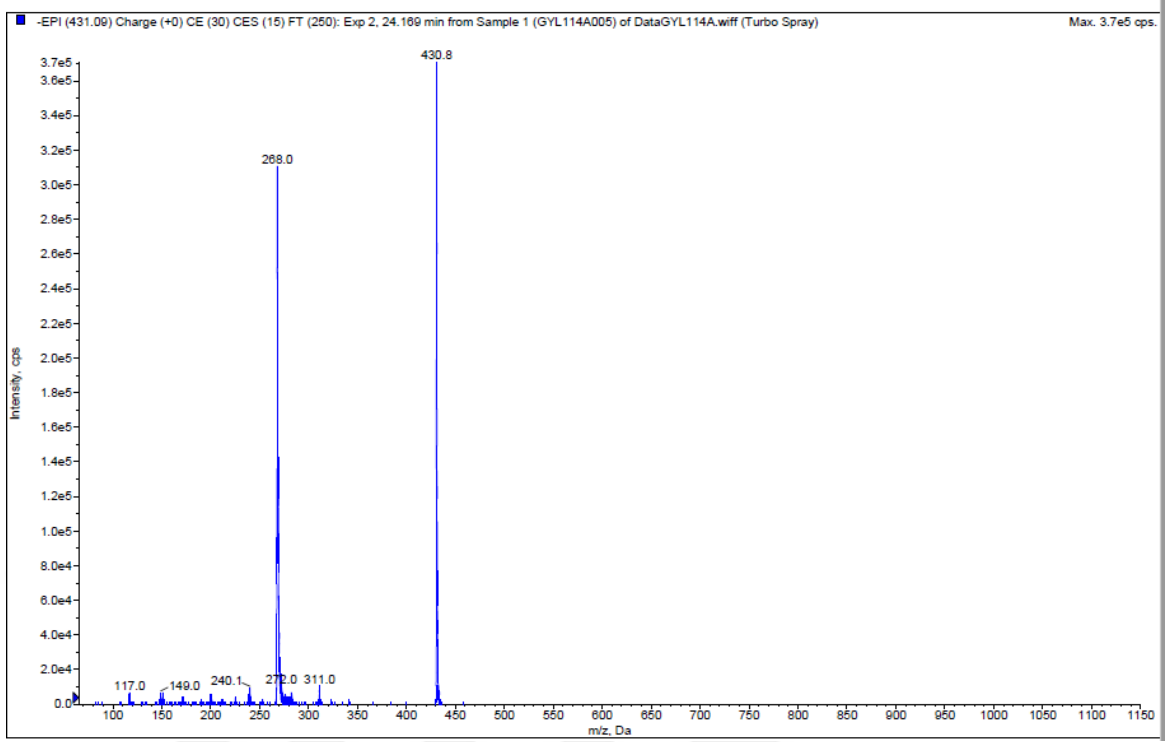


Şekil 4.16. Apigenin pentozit-heksozit'e ait UV spektrumu

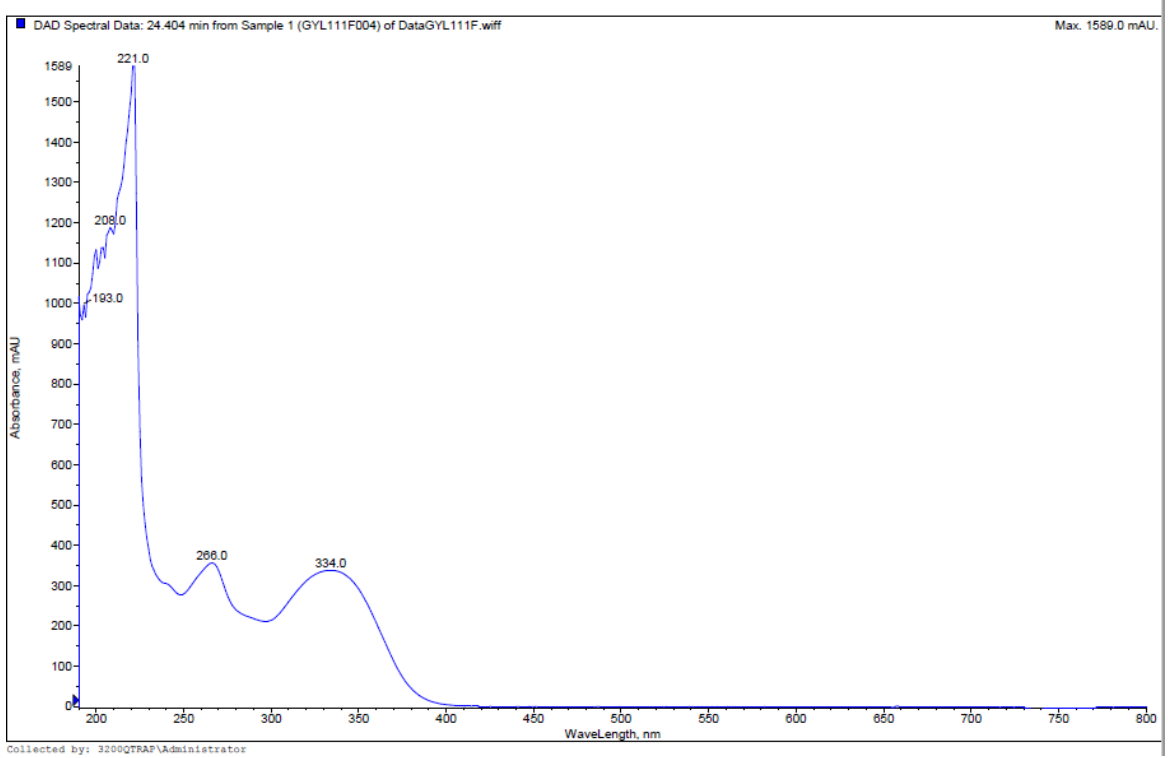
14 numaralı madde: Apigenin-*O*-heksozit

Bulunduğu ekstraler, bağıl yüzde: E2 (%2.0), E3 (%5.7), E3a (%3.0), E3b (%1.1), E3c (%2.5), E3d (%1.9)

24 dakikada kolonu terk eden molekülün iyon piki m/z 431 $[M-H]^-$ ve temel piki m/z 269'dur (Şekil 4.17). Bu iki iyon arasındaki 162 amu'luk fark heksoz kaybına karşılık gelmektedir. m/z 269 apigenin için karakteristiktir. 38 dakikada kolonu terk eden molekül (27 numaralı madde) apigenin olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla molekülün bir apigenin glikoziti olduğu söylenebilir. Flavonoitler normalde bitkilerde *O*-glikozit türevleri olarak bulunur. m/z 269 iyon pikinin bağıl yoğunluğu apigenin *O*-glikozitlerinde daha fazla iken m/z 311 iyon pikinin bağıl yoğunluğu *C*-glikozitlerinde daha fazladır. Molekül apigenin-7-*O*-heksoz ile benzer parçalanma göstermektedir. Molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{max} = 266, 334$ nm (Şekil 4.18.) kaynak verilerdeki apigenin-7-*O*-heksoz verileri ile $\lambda_{max} = 268, 338$ nm uyumludur (Lin vd., 2007). Ancak molekülde heksoz molekülünün bağlanma yeri tam olarak belirlenememiştir. Bileşik bu haliyle apigenin *O*-heksozit olarak tanımlanmıştır (Cuyckens vd., 2000; Grevsen vd., 2009; Geng vd., 2016; Kang vd., 2016; Vallverdú-Queralt vd., 2015; Sanchez-Rabaneda vd., 2003; Spínola vd., 2015). Apigenin-*O*-heksozit türevlerine *Origanum* türlerinde sıklıkla rastlanmaktadır, *Origanum minutiflorum*'da ilk defa tespit edilmiştir (Sezen Karaoğlan, 2011).



Şekil 4.17. Apigenin-O-heksozit'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.18. Apigenin-O-heksozit'e ait UV spektrumu

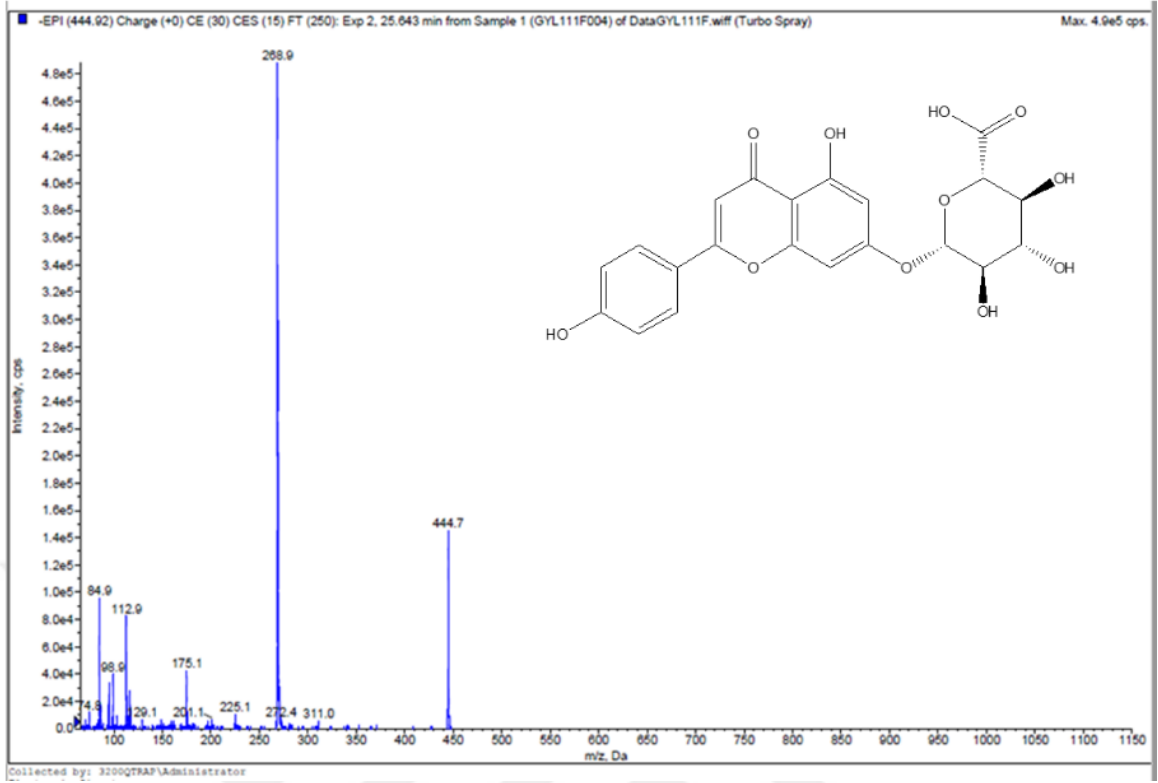
15 numaralı madde: Apigenin-7-*O*-glukuronit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3c (%11.7), E3d (%2.0)

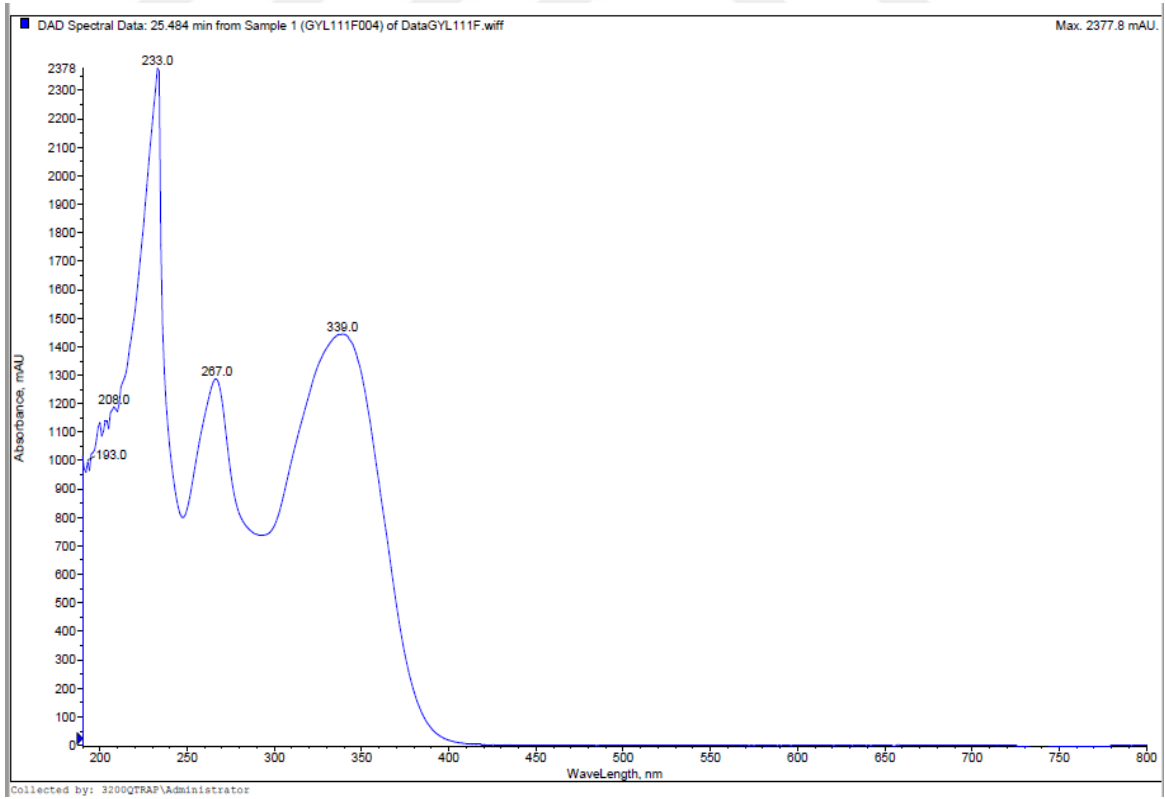
25.6 tutunma zamanlı molekülün moleküler iyon piki m/z 445 ve temel piki m/z 269 (apigenin)'dur. Molekülün diğer parçalanma ürünleri m/z 311, 272, 225, 175, 113, 99 ve 85'tir (Şekil 4.19). Molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 267, 339$ nm'dir (Şekil 4.20).

Apigenin türevlerinin karakteristik UV spektrumları bant I 366 nm merkezli, bant II 266 nm merkezlidir. Molekülün ve apigenin türevlerinin UV absorbans değerleri benzerlik göstermektedir (Grevsen vd., 2009). Molekül iyon ile m/z 269 iyonu arasındaki 176 amu'luk fark molekülde bir glukuronil varlığına işaret etmektedir (Hossain vd., 2010; Martins vd., 2014). Flavonoidlerde glukuronik asit yapısının karakteristik olarak flavonoidlerin C7-OH üzerinden bağlandığı tespit edilmiştir (Cuyckens vd., 2000).

Kaynak bilgilerle örtüşen veriler molekülün apigenin-7-*O*-glukuronit olarak tanımlanmasını sağlamıştır. Daha önceki çalışmalarda *Origanum minutiflorum*'da bu maddenin izole edilmiş olması da tanımlamayı kuvvetlendirmiştir (Elmastaş vd., 2018).



Şekil 4.19. Apigenin-7-O-glukuronit'e ait kütle spektrumu

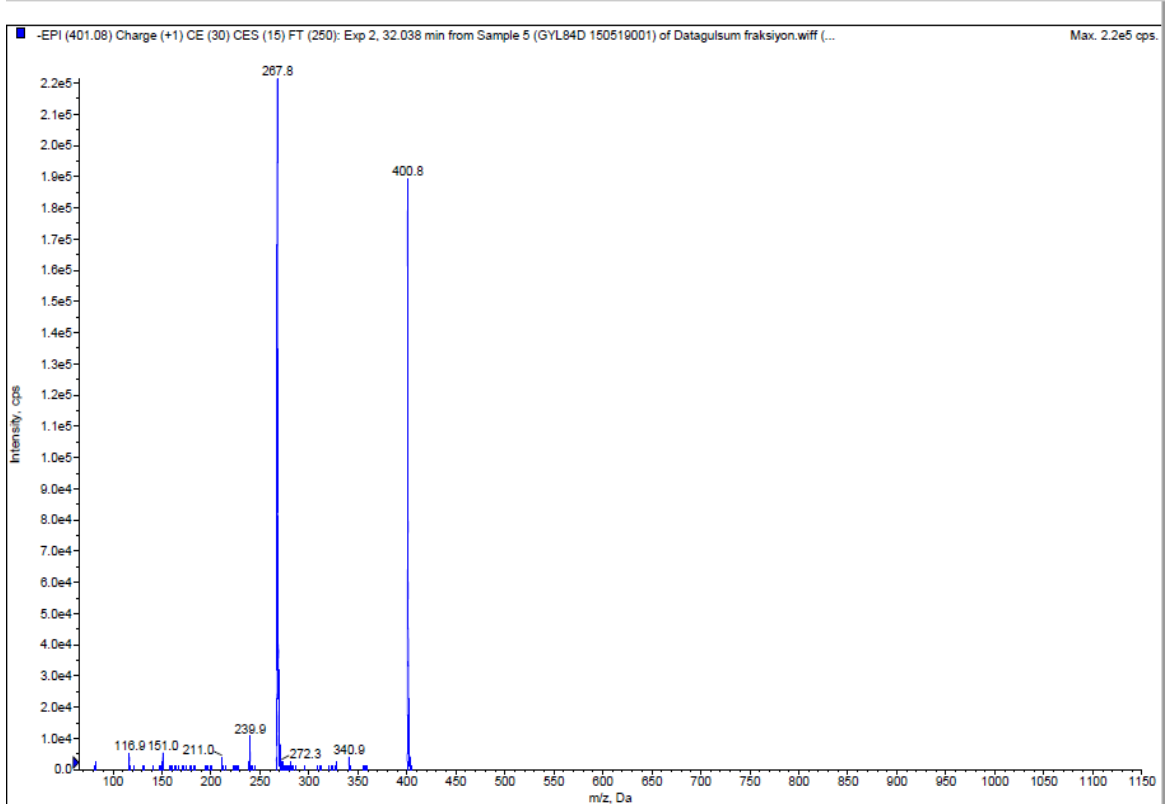


Şekil 4.20. Apigenin-7-O-glukuronit'e ait UV spektrumu

20 numaralı madde: Apigenin pentozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%2.3)

32 dakikada kolonu terk eden molekül iyon piki m/z 401 olan molekülün temel piki m/z 268'dir (Şekil 4.21). Temel pikin hemen yanında beliren m/z 269 iyonu ve karakteristik apigenin parçalanmalarından m/z 117 ve 151 iyonları molekülün bir apigenin türevi olduğunu göstermektedir. Molekül iyonu ve temel pik arasındaki 132 amu'luk fark pentoz grubunun varlığını göstermektedir. Şeker moleküllerinin parçalanmaları sırasında açığa çıkan 60 amu'luk fark sonucu oluşan m/z 341 [M-H-60]⁻ iyonu yapının bir şeker içerdiğini doğrulamaktadır. Molekül bu bilgiler ve kaynak veriler dâhilinde apigenin pentozit olarak tanımlanmıştır (Gülsoy vd., 2018).



Şekil 4.21. Apigenin pentozit'e ait kütle spektrumu

23 numaralı madde: Asasetin glukuronit

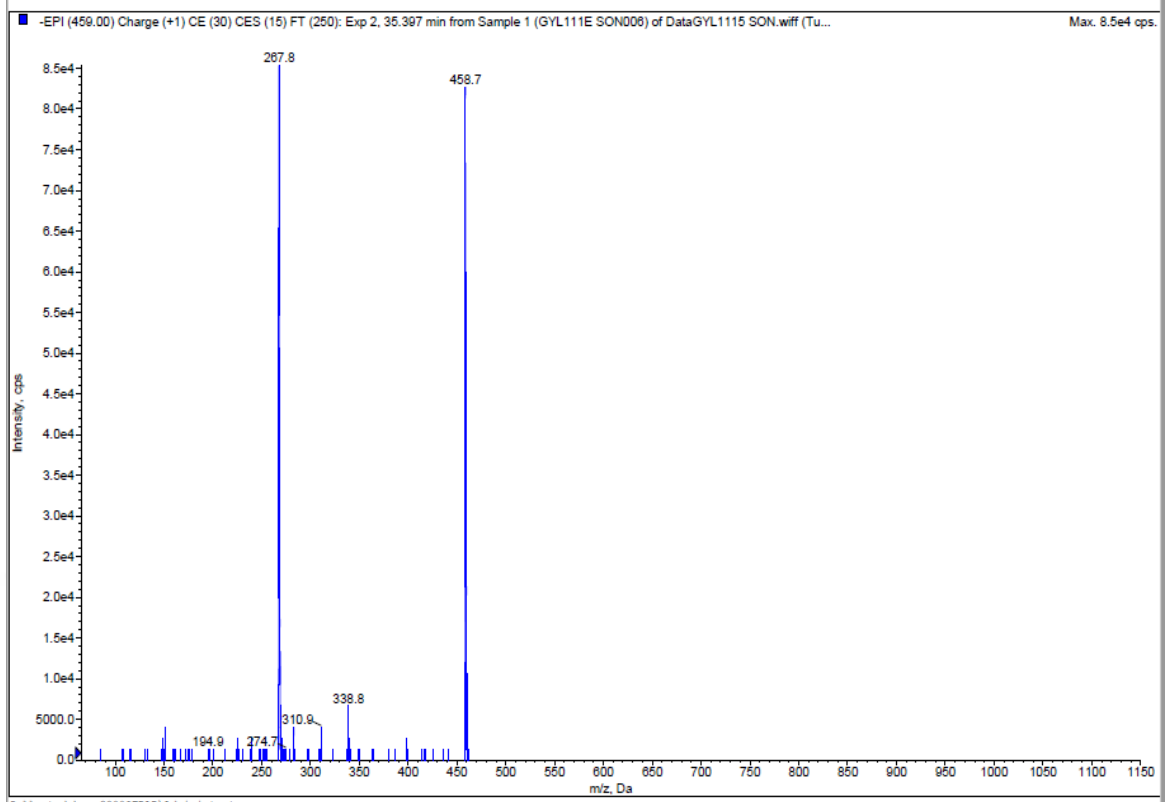
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3b (Eser düzeyde)

35.6 dakikada kolonu terk eden molekül ağırlığı m/z 459 olan bileşiğin temel piki m/z 268 (apigenin)'dir (Şekil 4.22). Molekülün UV basorbans değerleri $\lambda_{\max} = 240, 265, 324$ nm'dir (Şekil 4.23).

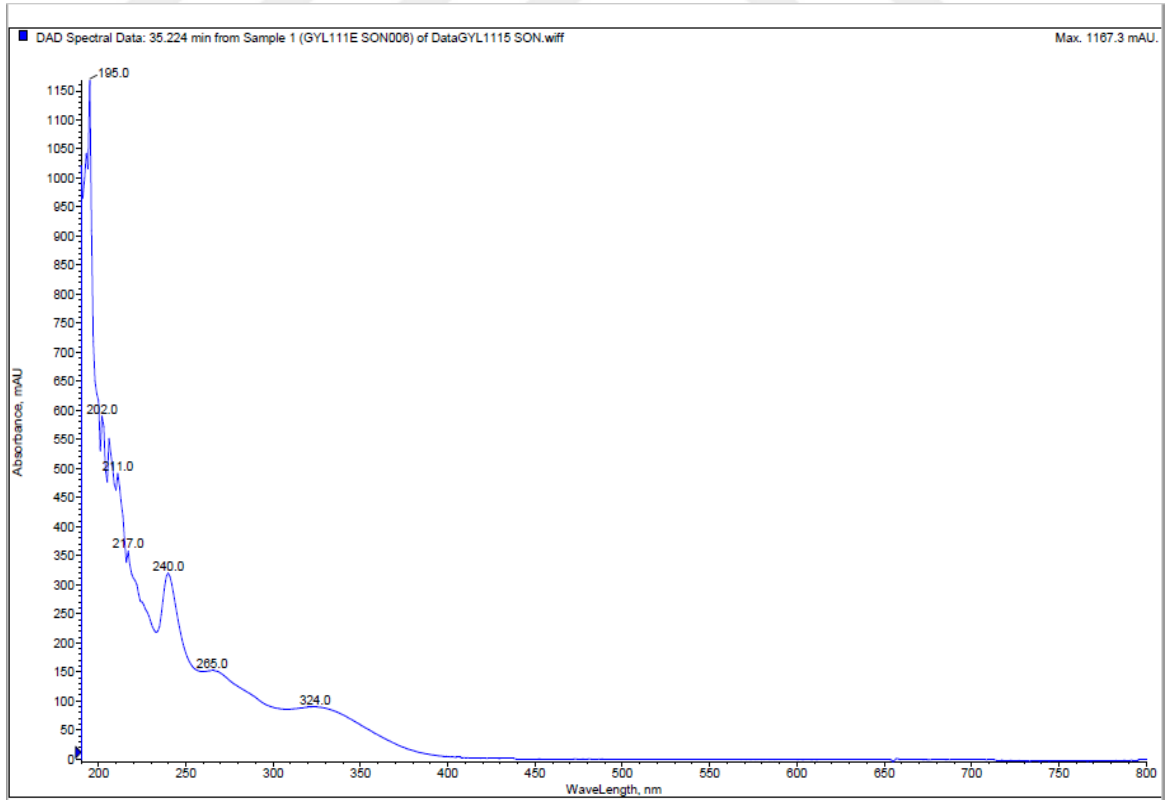
Bileşiğin temel piki m/z 268 $[M-H-176-15]^-$ molekülden glukuronit ve metil grubunun ayrılmasıyla oluşmuştur. m/z 268 temel pik üzerinde yapılan incelemelerde maddenin bir apigenin türevidir olduğu m/z 268 apigenin radikali iyonundan anlaşılmaktadır. Bu pikin hemen yanında m/z 269 apigenin piki de belirlemiştir.

Kaynak taramalarında molekülün asasetin-7-*O*-glukuronit m/z 459 molekülü ile benzer parçalanmalara sahip olduğu tespit edilmiştir. Asasetin-7-*O*-glukuronit molekülünün temel pik iyonu m/z 283 asasetin (4-metil apigenin) molekül iyonuna karşılık gelmektedir. Apigenin türevidir olan bu bileşikte metil ayrılması ile oluşan m/z 268 iyonunun bağıl bolluğu daha az iken incelenen molekülde m/z 268 iyonun temel pik olması ilginç bulunmuştur. Molekülün KS/KS analizinde m/z 283 iyonu minör düzeyde tespit edilmiştir. Asasetin 7-*O*-glukuronit UV absorpsiyon değerleri $\lambda_{\max} = 268, 334$ nm molekül UV absorpsiyon değerleri ile yakın bulunmuştur (Barreira vd., 2014).

Yapılan araştırmalarda molekülde glukuronit ve metil grubunun bağlanma yerleri tespit edilememiştir. Bu verilerle yapılan değerlendirmeler sonucunda bileşik asasetin glukuronit olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.22. Asasetin glukuronit'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.23. Asasetin glukuronit'e ait UV spektrumu

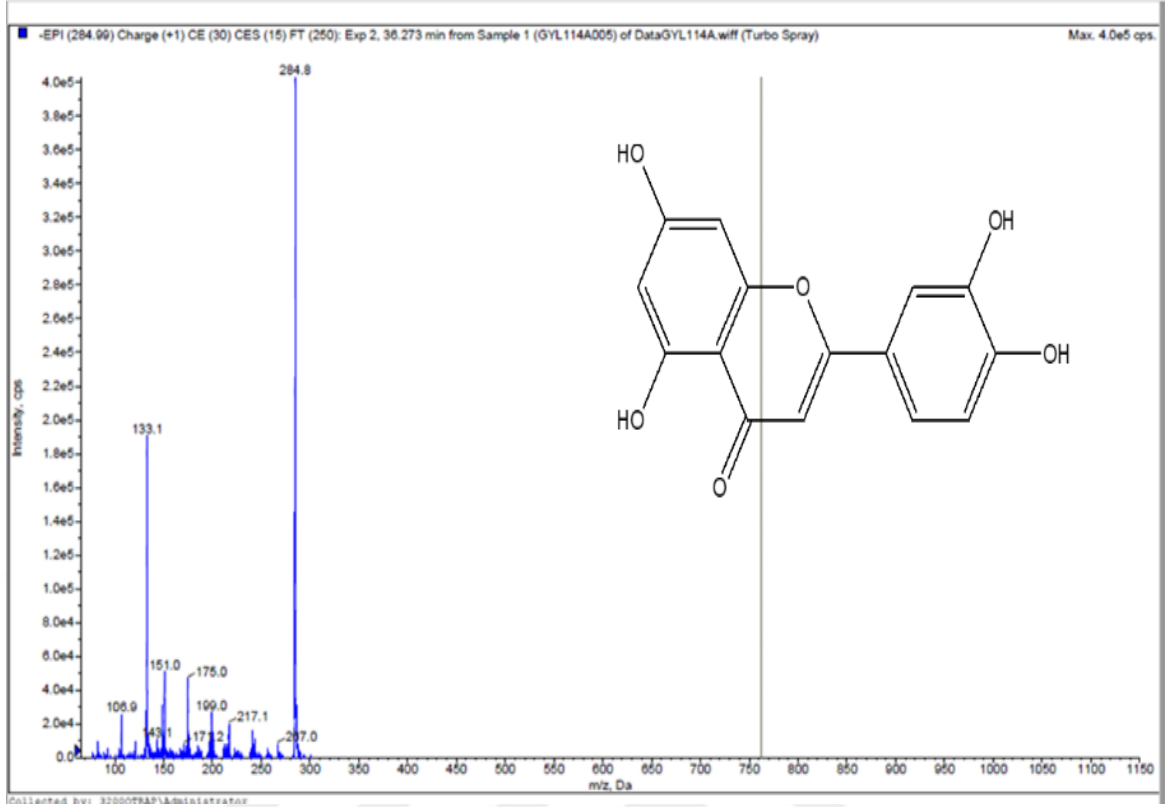
4.4.4. Luteolin ve türevleri

24 numaralı madde: Luteolin

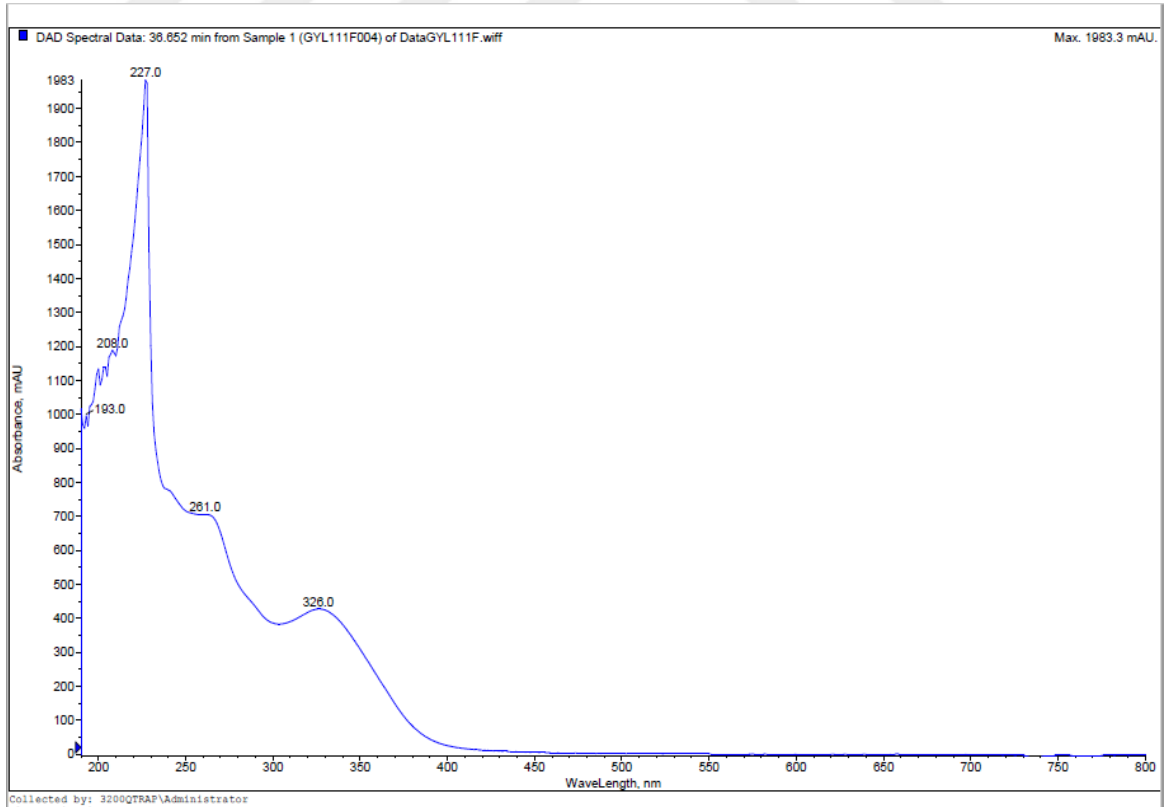
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%1.2), E3b (Eser oranda), E3c (%3), E3d (%1.6)

Tutunma zamanı 36.2 olan molekülün kütle spektrumu analizinde m/z 285 [M-H]⁻ iyonunun parçalanma ürünleri m/z 217 [M-H-68]⁻, m/z 199 [M-H-86]⁻, m/z 151 [M-H-134]⁻, m/z 133 [M-H-152]⁻ ve m/z 107 [M-H-178]⁻ olarak gözlenmiştir (Şekil 4.24). Bu parçalanmalar luteoline özgü parçalanmalardır (Taamalli vd., 2015). Ancak bu karakteristik parçalanmayı gösteren bir diğer bileşik ise kamferoldür. Kamferol yapı olarak luteolindeki bir OH grubunun yer değiştirmesi ile oluşmaktadır. Kamferol luteoline göre daha az polar bir bileşiktir. Bileşikler arasındaki bu benzerlik bileşiklerin tutunma zamanlarının da yakın olmasına neden olacaktır. Bileşiğin UV absorbans değerleri $\lambda_{max} = 261, 326$ nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.25). Kamferolün UV absorbans değerleri $\lambda_{max} = 265, 365$ nm iken luteolinin UV absorbans değerleri $\lambda_{max} = 254, 267$ nm (Brito vd., 2014; http-1) ve $\lambda_{max} = 350$ nm civarı olarak verilmektedir (Barreira vd., 2014). Luteolin ve kamferol UV absorbans değerlerinin birbirine yakın olması da bu moleküller için çok belirleyici olmamıştır. Molekülün parçalanma ürünleri standart luteolin parçalanma ürünleri ile benzer bulunmuştur.

Bütün bu verilerle birlikte ekstrelerin genel olarak luteolin glikoziti içerdiğini görmekteyiz. Glikozitlerinin aglikonlardan daha polar olması sebebiyle kullanılan YBSK koşullarında aglikonlardan önce kolonu terk ettikleri bilinmektedir. Ekstrelerdeki luteolin glikozitleriyle birlikte bu molekülün tutunma zamanları ve spektrumları incelediğinde molekülün luteolin olduğu düşünülmüştür. Luteolinin daha önce *O. minutiflorum*'dan izole edilmiş olması ve kamferolün bitkide daha önce tespit edilmemiş olması tanımlamamızı güçlendirmektedir (Elmastaş vd., 2018).



Şekil 4.24. Luteolin'e ait kütle spektrumu

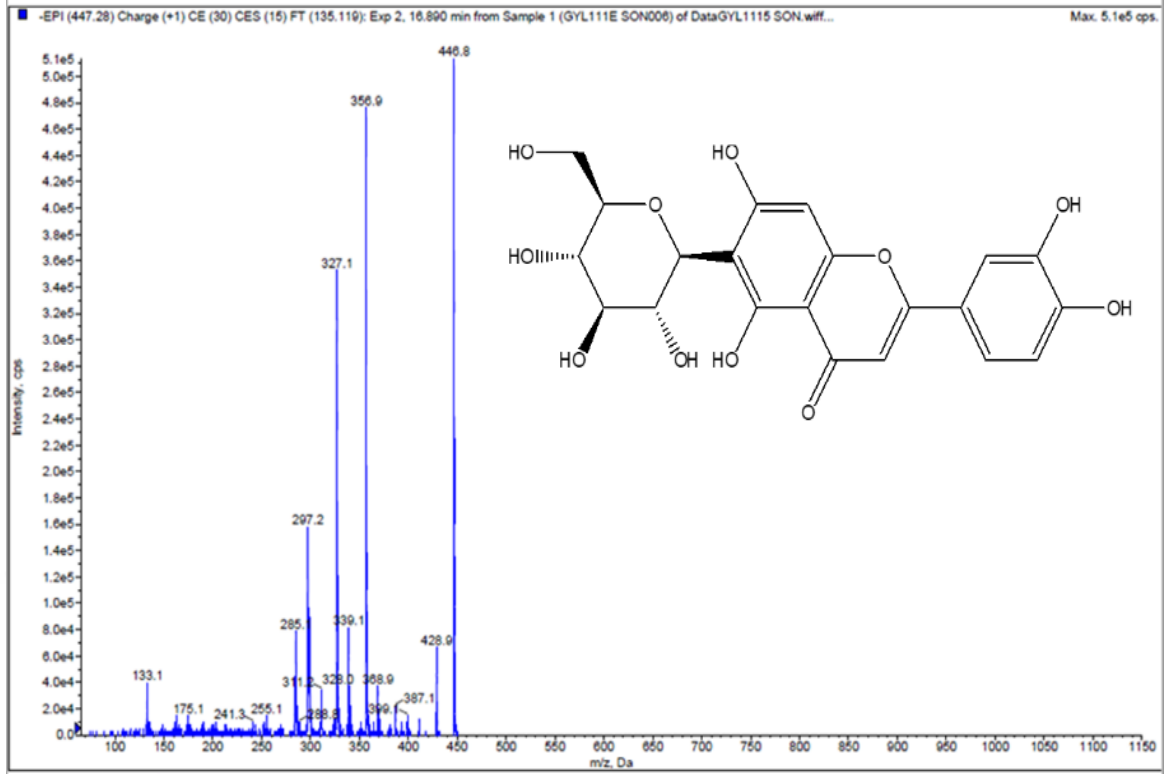


Şekil 4.25. Luteolin'e ait UV spektrumu

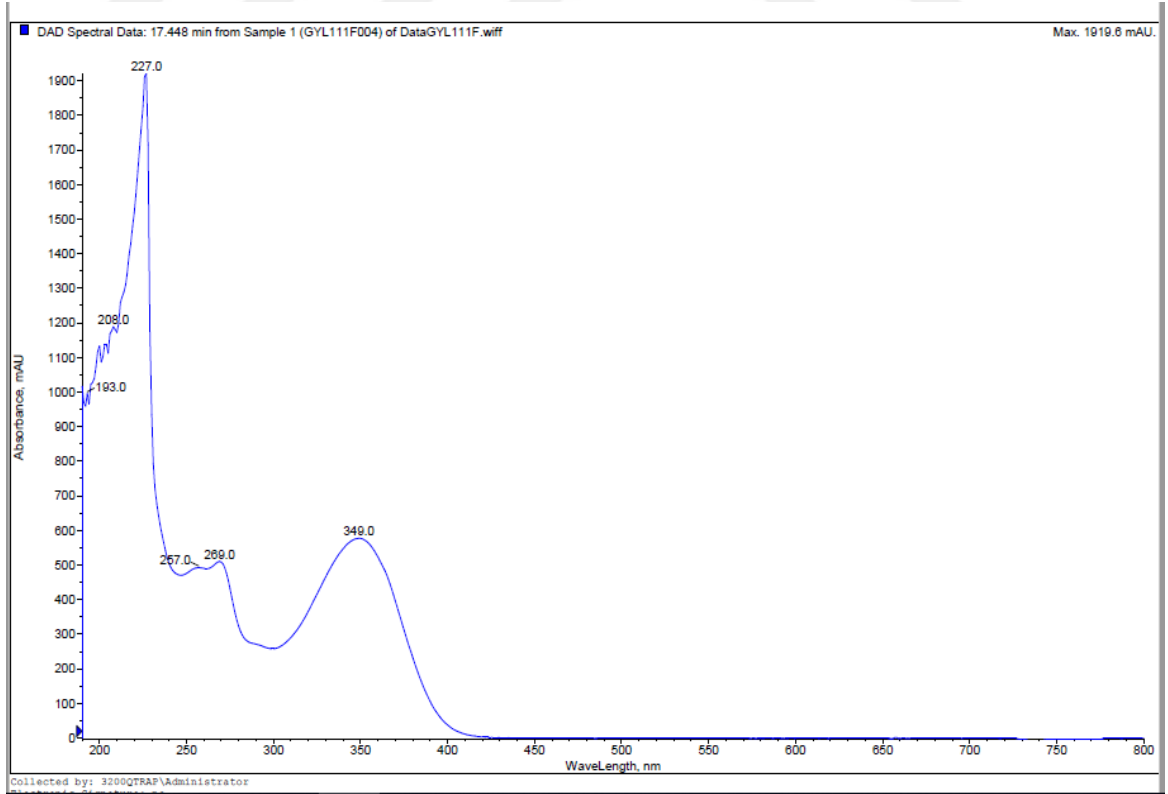
7 numaralı madde: İzorientin

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (Eser oranda), E3 (%2.3), E3a (%2.0), E3b (%5.7), E3c (%2.9), E3d (%3.0)

Tutunma zamanı 17.3 olan bileşiğin moleküler iyonu m/z 447 ve temel iyonu m/z 357'dir. Molekülün bağıl yoğunluğu fazla olan fragmentleri m/z 327, 297, 285'tir (Şekil 4.26). Molekülün UV absorbands değeri $\lambda_{\max} = 257, 269, 349$ nm'dir (Şekil 4.27). m/z 357 $[M-H-90]^-$ ve m/z 327 $[M-H-120]^-$ fragmentleri orientin (luteolin-8-C-glikozit) ve izoorientin (luteolin-6-C-glikozit) için karakteristiktir. 6-C-heksoziti için diyagnostik olan m/z 357 iyon pikinin bağıl bolluğu m/z 327 iyon pikinin bağıl bolluğundan daha fazla iken, 8-C-heksozitinde m/z 327 iyon pikinin bağıl bolluğu m/z 357 iyon pikine göre daha fazladır. Bu izomerlerin ayrımı konusunda daha detaylı inceleme yapıldığında 6-C-glikozitlerine özgü olarak negatif modda yapıdan net bir su kaybı olduğu tespit edilmiştir. Su kaybının 8-C-glikozitlerinde kaydedilmemiş olması bu iki maddenin ayrımının yapılmasını sağlamaktadır. Molekülün parçalanma ürünlerinden m/z 429 iyonu yapıdan bir molekül H_2O çıkışı ile oluşmuştur (Waridel vd., 2001; Taamalli vd., 2015). Kaynak verilerde luteolin-8-C glikozit UV absorbands değerleri $\lambda_{\max} = 254, 267$ nm iken luteolin-6-C-glikozit UV absorbands değerleri $\lambda_{\max} = 269, 296, 350$ nm olarak tespit edilmiştir (Brito vd., 2014; Materska, 2015). Molekülün ve luteolin-6-C-glikozitinin UV değerlerinin birebir örtüştüğü tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında molekül izoorientin olarak isimlendirilmiştir. İzorientin daha önce *Origanum majorana*'da ve *Origanum dictamnus*'ta tespit edilmiştir (Murai vd., 2019; Skaltsa ve Harvala, 1987; Sezen Karaoğlan, 2011). *O. minutiflorum*'da ilk defa tanımlanmaktadır.



Şekil 4.26. İzorientin'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.27. İzorientin'e ait UV spektrumu

10 numaralı madde: Luteolin-7-*O*-glikozit

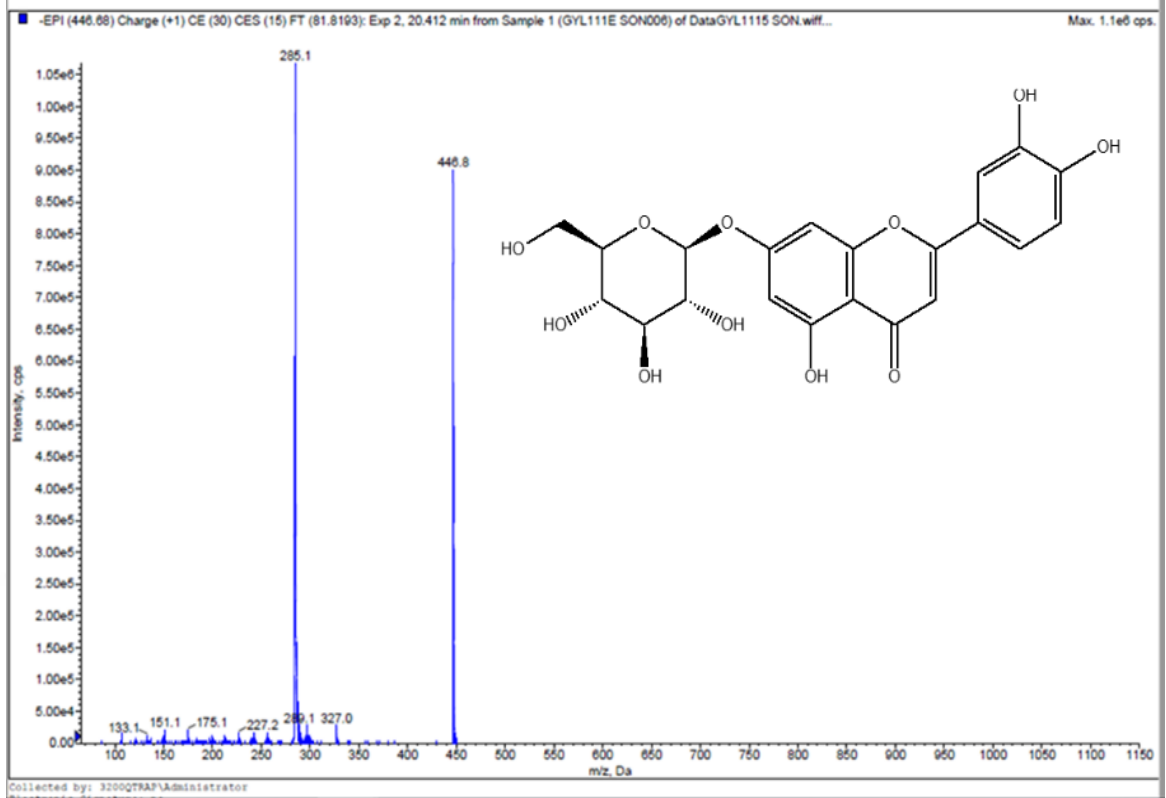
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%1.4), E3 (%5.7), E3a (%5.0), E3b (%6.8), E3c (%2.7), E3d (%4)

20.4 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 447 ve temel piki m/z 285 tir (Şekil 4.28). Molekülün UV absorbands değerleri $\lambda_{max} = 254, 266, 346$ nm'dir (Şekil 4.29). m/z 285 moleküler iyon pikine sahip bileşikler; luteolin, kamferol, krisoeriol veya sakuretin/izosakuretin olduğu tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmede m/z 179, 161 ve 135 iyonlarının kafeik asite ait olduğu ve yukarıda sıralanan bileşiklerin parçalanma ürünleri ile uyuşmadığı belirlenmiştir. Ancak flavonoit parçalanmalarının aynı molekül için farklı şekiller de görülebileceği unutulmamalıdır (Justesen, 2000). KS/KS verileri incelediğinde yapıda metil ayrılmasına dair bir iyon pikinin görülmemesi molekülün krisoeriol ve sakuretin/izosakuretin olma ihtimalini zayıflatmıştır.

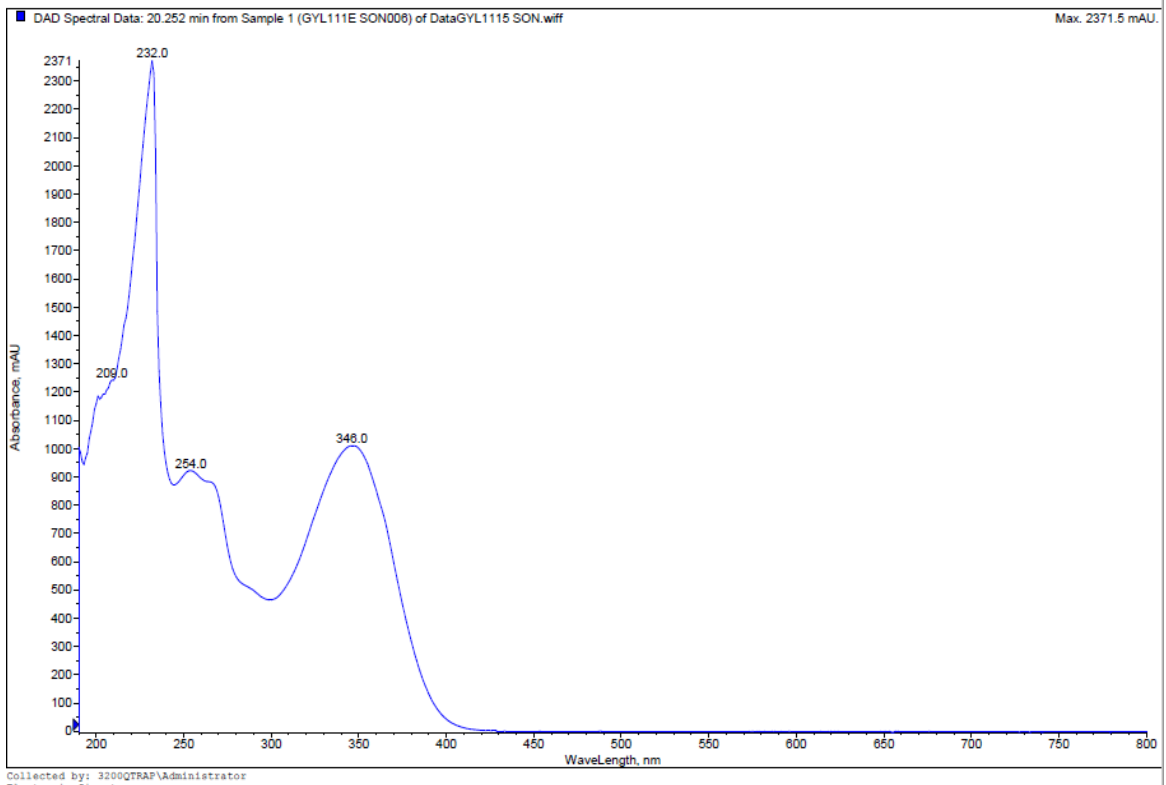
Molekül iyon piki ve temel piki arasındaki 162 amu'luk fark yapıda yapıda bir heksoz (glikoz, galaktoz vb.) molekülünün varlığına işaret etmektedir.

Maddenin bitkideki biyosentezini dikkate alınca ve aynı ekstrede bir flavonoit olduğu düşünüldüğünde glikozitin de bulunması kuvvetle muhtemeldir. Molekülde luteolin 36.2 dakikada (24 numaralı madde) tespit edilmiştir.

Kaynak bilgileri dâhilinde molekül luteolin-*O*-heksoziti olarak değerlendirilmiştir. Ancak şeker grubunun hangi OH pozisyonundan bağlandığı tam olarak belirlenememiştir (Chen vd., 2016). Luteolin 7-*O*-glikozitin UV absorbands değerleri $\lambda_{max} = 256, 266, 346$ nm'dir (Lin vd., 2007). Molekülün ve luteolin-7-*O*-glikozitin UV absorbands değerleri uyumludur. Luteolin-7-*O*-glikozitin *O. minutiflorum*'da daha önce tespit edilmiş olması molekülün bu madde olduğunu destekler niteliktedir (Koşar vd., 2003;. Grevsen vd., 2009).



Şekil 4.28. Luteolin-7-O-glikozit'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.29. Luteolin-7-O-glikozit'e ait UV spektrumu

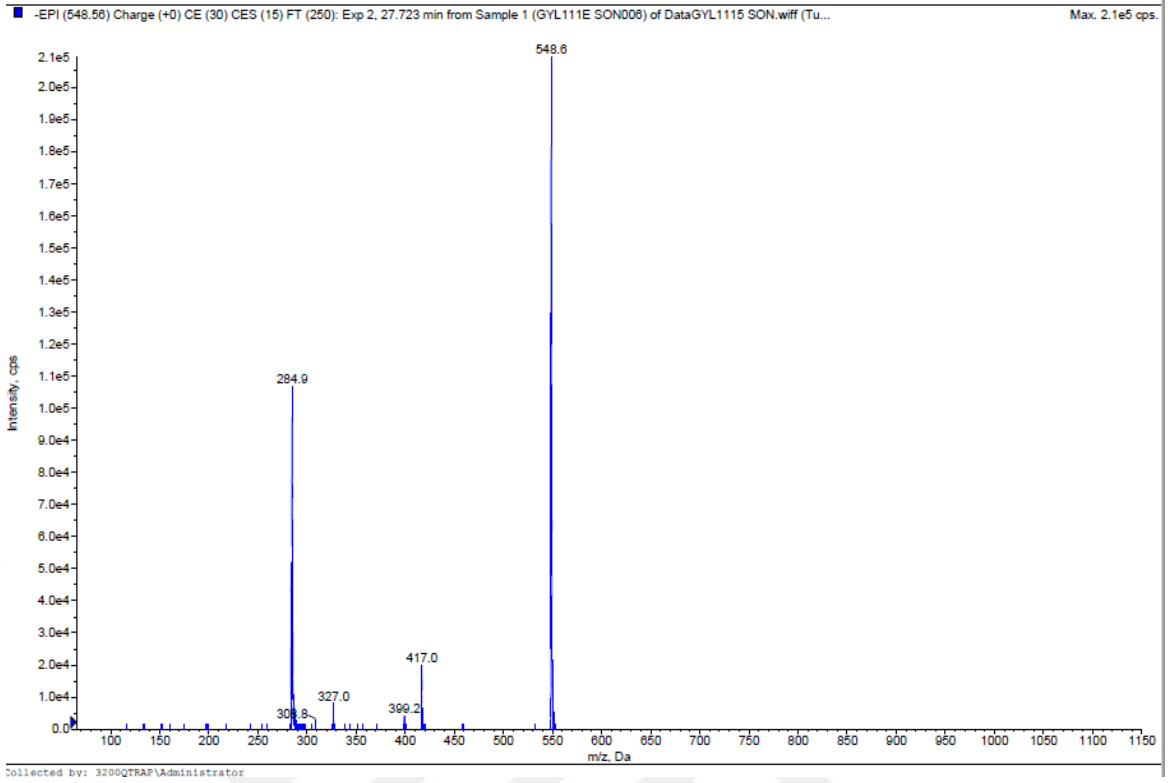
16 numaralı madde: Luteolin-*C*-dipentozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%2.2), E3a (%3.8), E3b (%2.6), E3c (%1.8)

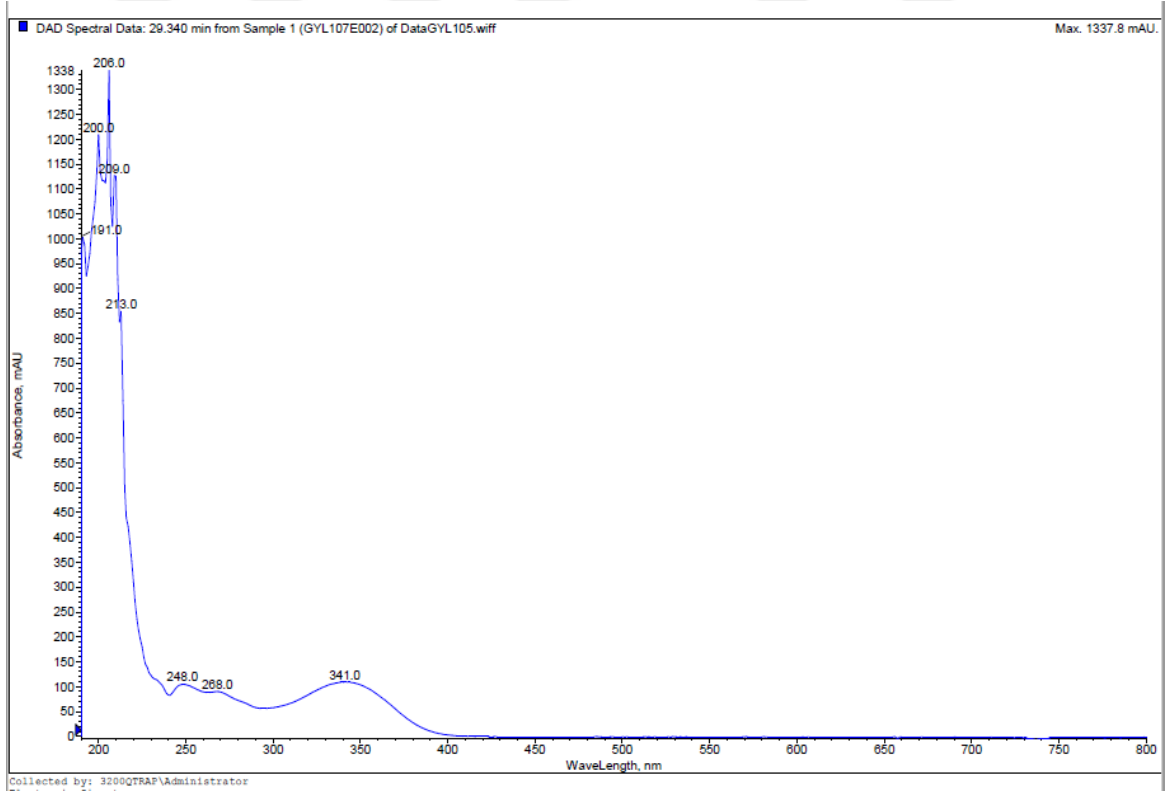
27.7 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyonu m/z 549 $[M-H]^-$ temel piki m/z 285 (luteolin)'dir. Molekülün diğer iyon pikleri m/z 417, 399, 327 ve 309'dur (Şekil 4.30). Bileşiğin UV absorbands değerleri $\lambda_{max} = 248, 268, 341$ nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.31).

Molekülün parçalanma ürünleri incelendiğinde m/z 417 $[M-H-132]^-$ pentoz ve m/z 285 $[M-H-132-132]^-$ dipentoz iyon piklerinin olduğu görülmüştür.

Kaynak verilerde molekülden bir pentoz ayrılmasına karşılık gelen m/z 417 $[M-H]^-$ luteolin-6-*C*-pentoz molekülünün parçalanma ürünlerinin benzerlik gösterdiği ve UV absorbands değerleri $\lambda_{max} = 292, 334$ nm olduğu tespit edilmiştir. Molekülün m/z 339 iyon pikinin m/z 417 iyonundan bir molekül su kaybı ile oluştuğu hesaplanmıştır. Molekülün diğer parçalanma ürünü m/z 327 $[M-H-90]^-$ iyon piki yapının *C*-şekeri olduğunu göstermekte ve bu iyon pikleri molekülün luteolin pentoziti olma ihtimalini desteklemektedir (Farag vd., 2016). Yapılan araştırmalarda luteolin-6,8-*C*-dipentozit molekülleri molekül ile aynı kütle spektrumuna, aynı molekül iyonuna (m/z 549) sahip olduğu ve UV absorban değerinin $\lambda_{max} = 350$ nm olduğu tespit edilmiştir (Roriz vd., 2014). Ancak pentoz gruplarının molekülün hangi karbona bağlı olduğu hakkında tam bir kanıya varılamamıştır. Bu değerlendirmeler neticesinde molekülün luteolin-*C*-dipentozit olabileceğine karar verilmiştir (Stanoeva vd., 2017).



Şekil 4.30. Luteolin C-dipentozit'e ait kütle spektrumu

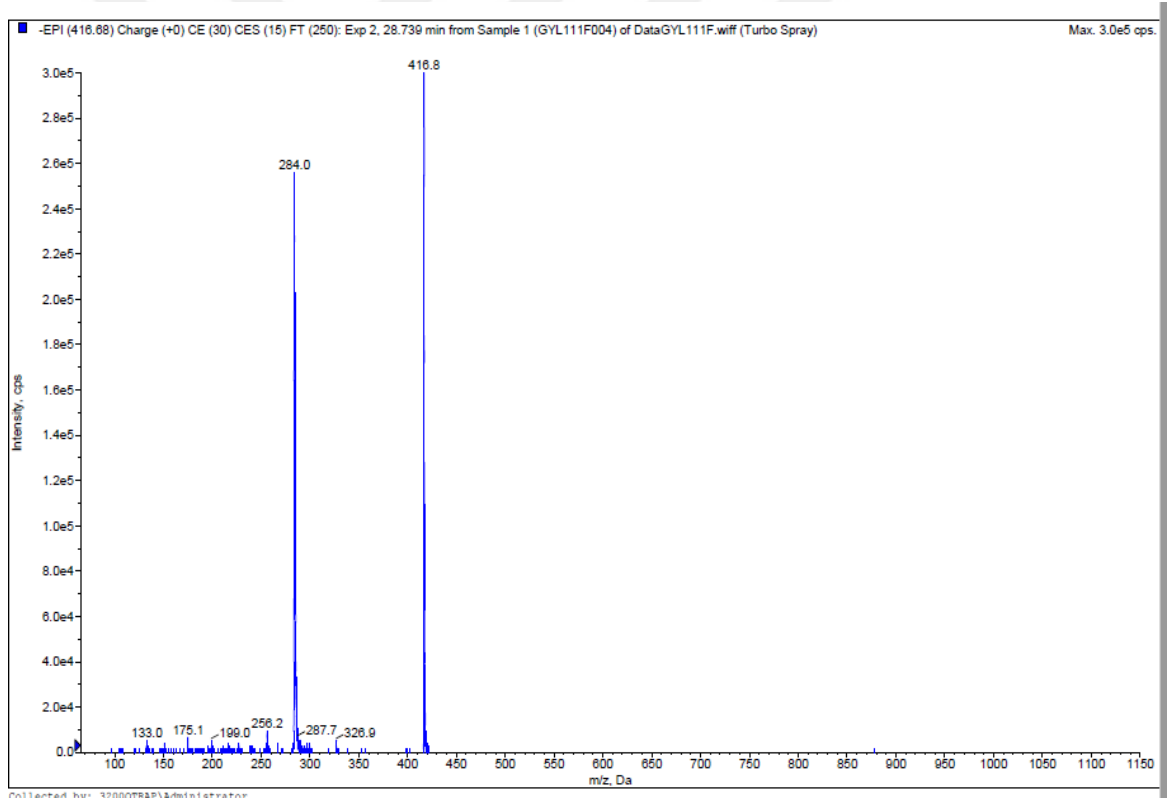


Şekil 4.31. Luteolin-C-dipentozit'e ait UV spektrumu

17 numaralı madde: Luteolin pentozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3b (Eser oranda), E3d (Eser oranda)

28.7 dakikada kolonu terk eden bileşiğin moleküler iyonu m/z 417 $[M-H]^-$ ve temel piki m/z 284'dir. Spektrum incelendiğinde temel pikin yanında m/z 285 (luteolin) iyon piki tespit edilmiştir. Molekülün diğer iyon pikleri m/z 327, 288, 256, 199, 175 ve 133'tür (Şekil 4.32). m/z 285 $[M-H-132]^-$ iyon piki molekülün bir pentoz içerdiğini göstermektedir. Molekül parçalanması daha önce tanımlanan luteolin dipentozit ile benzer bulunmuştur. Luteolin dipentozit, luteolin pentozite göre daha polardır ve kolonu daha erken terk etmiştir. Bu bilgiler dahilinde molekül luteolin pentozit olarak tanımlanmıştır.

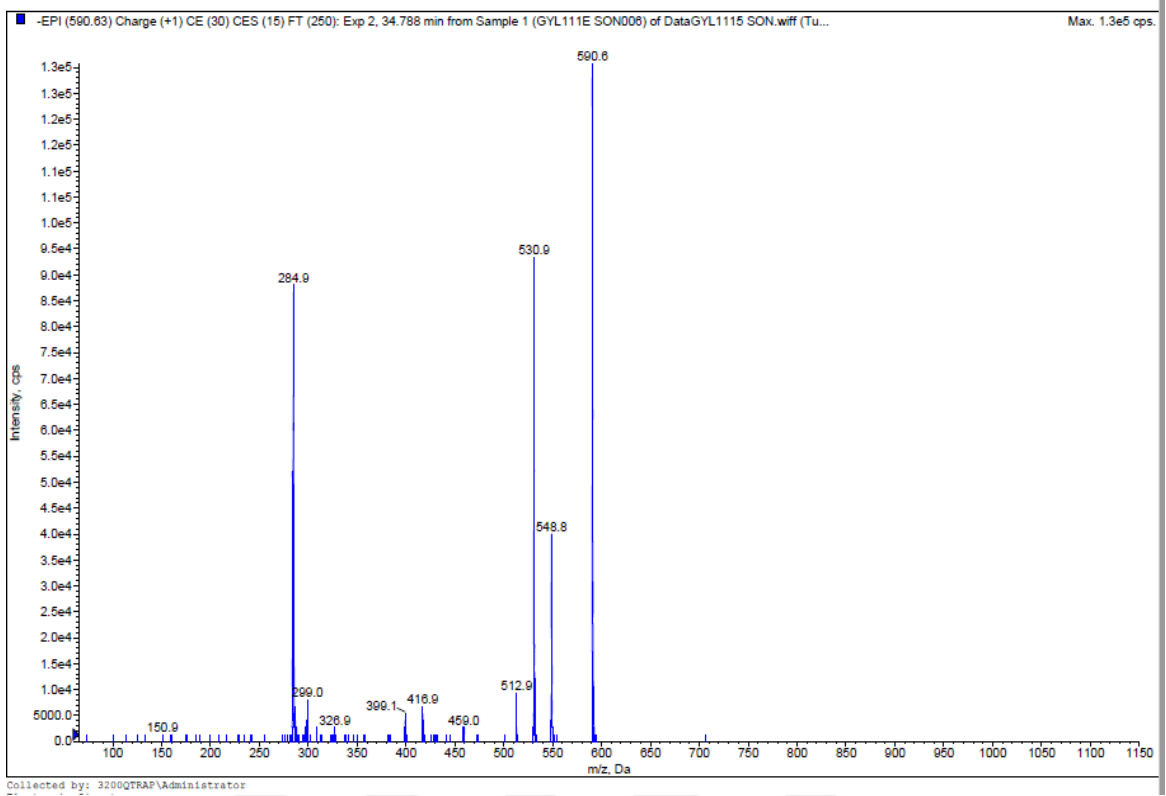


Şekil 4.32. Luteolin-C-pentozit'e ait kütle spektrumu

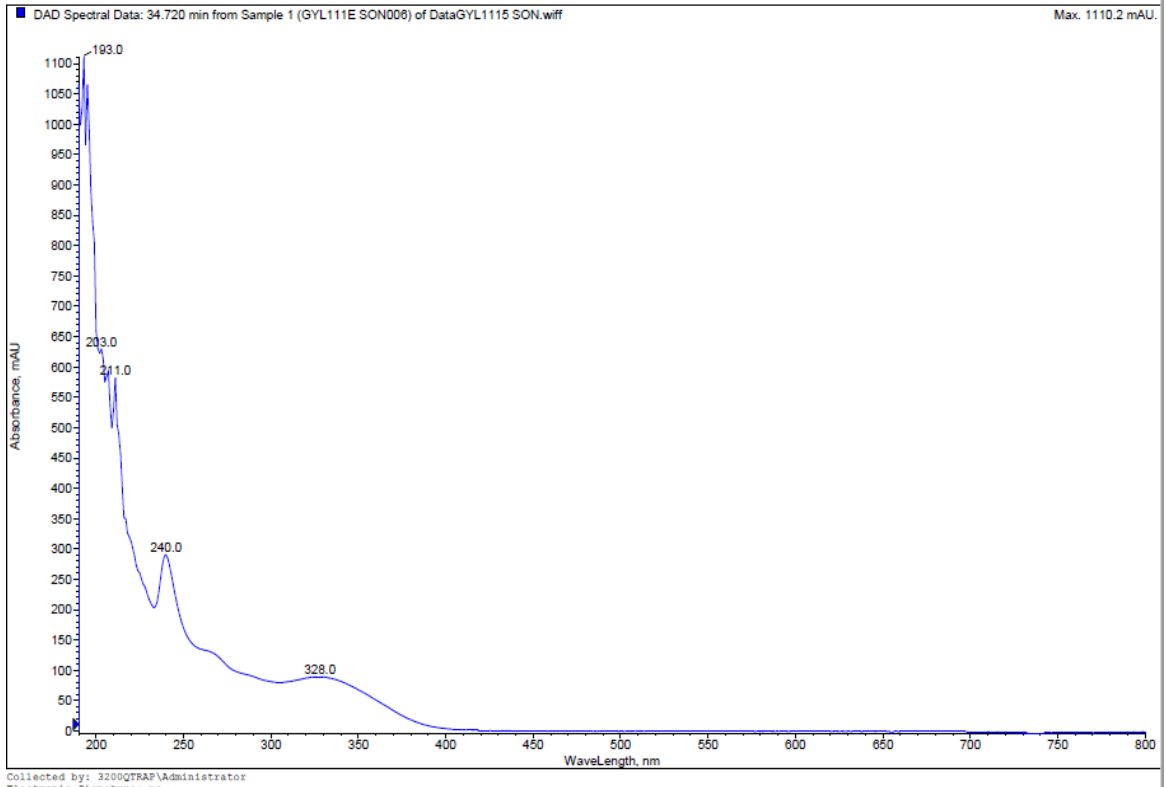
22 numaralı madde: Luteolin-asetil-dipentozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%3.5), E3a (%3.4), E3b (%0.9), E3c (%0.9), E3d (Eser oranda)

35 dakikada kolonu terk eden m/z 591 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip bileşiğin temel piki m/z 285 (luteolin)'tir. Molekölün diğer parçalanma ürünleri m/z 549, 531, 513, 459, 417, 399, 327, 299 ve 151'dir (Şekil 4.33). Molekölün UV absorptans değerleri λ_{max} = 240, 260, 328 nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.34). m/z 285 iyon pikini veren birçok molekölün olduğu ve bu olası maddelerin neler olabileceğini ve bu molekölü luteolin olarak değerlendirme sebebi daha önce tanımlanan maddelerde açıklanmıştır. Buna ilave olarak yapıda metil kopması olmaması bu olasılık maddelerinden krisoerin ya da sakuretin/izosakuretinini elememize neden olmuştur. Molekölün kütle spektrumuna baktığımızda daha önce 16 numaralı madde olan luteolin C-dipentozit olarak tanımlanan madde ile oldukça benzerlik göstermektedir. Molekül m/z 591 $[M-H]^-$ iyon piki ve luteolin dipentozit m/z 549 $[M-H]^-$ piki arasındaki 42 amu'luk fark bulunmaktadır. Bu farkın asetil grubundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu bilgilerle asetillenmenin şekerin hangi OH'i üzerinden olduğunu belirlemek mümkün olmamıştır. Ancak daha önce belirlenen maddenin asetillenmiş hali olduğu düşünülüp madde luteolin-asetil-dipentozit olarak adlandırılmıştır (Stanoeva vd., 2017).



Şekil 4.33. Luteolin asetil dipentozit'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.34. Luteolin asetil dipentozit'e ait UV spektrumu

4.4.5. Kersetin ve türevi

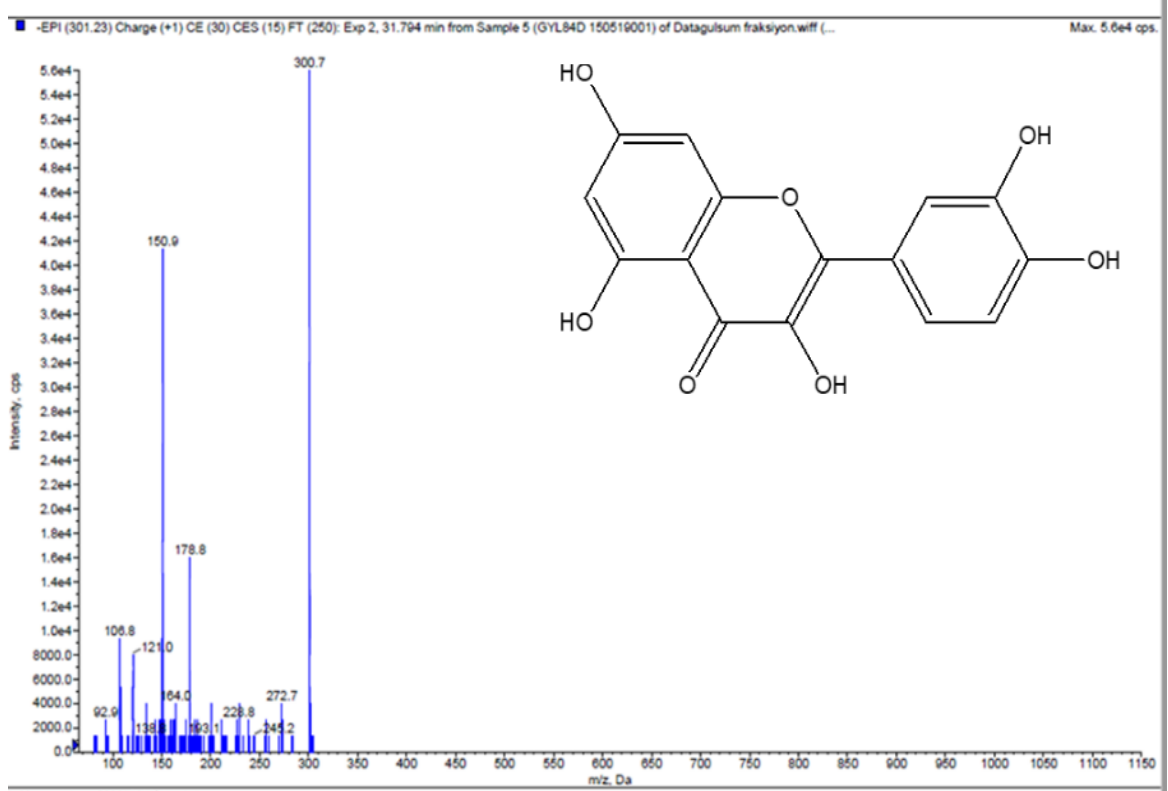
19 numaralı madde: Kersetin

Bulunduğu ekstraler, bağıl yüzde: E2 (Eser oranda)

31.8 dakikada kolonu terk eden ve moleküler iyon piki m/z 301 olan bilşiğin temel piki m/z 151'dir (Şekil 4.35).

m/z 301 iyonu molekülün ilk olarak kersetin olma ihtimalini düşündürmüştür. Ancak kaynak verilerde elajitanen ve hesperetin moleküllerinin de aynı molekül ağırlığına sahip olduğu tespit edilmiştir. Elajitanen için m/z 257 ve 229 iyon pikleri karakteristik iken kersetin için m/z 179 ve 151 iyon piklerinin karakteristik olduğu tespit edilmiştir (Wu vd., 2018). Hesperetin molekülünde yapısındaki metil kaybından dolayı görülen m/z 286 piki kersetinde görülmemektedir.

Kaynak verileri değerlendirilerek bu molekülün kütle spektrum verilerinin kersetin parçalanma ürünleri ile uyduğu görülmüştür. Kersetin türevleri daha önce *Origanum* türlerinde tespit edilmiştir (Gutiérrez-Grijalva vd., 2018; Erenler vd., 2018). Bu bilgiler ışığında molekül kersetin olarak tanımlanmıştır.

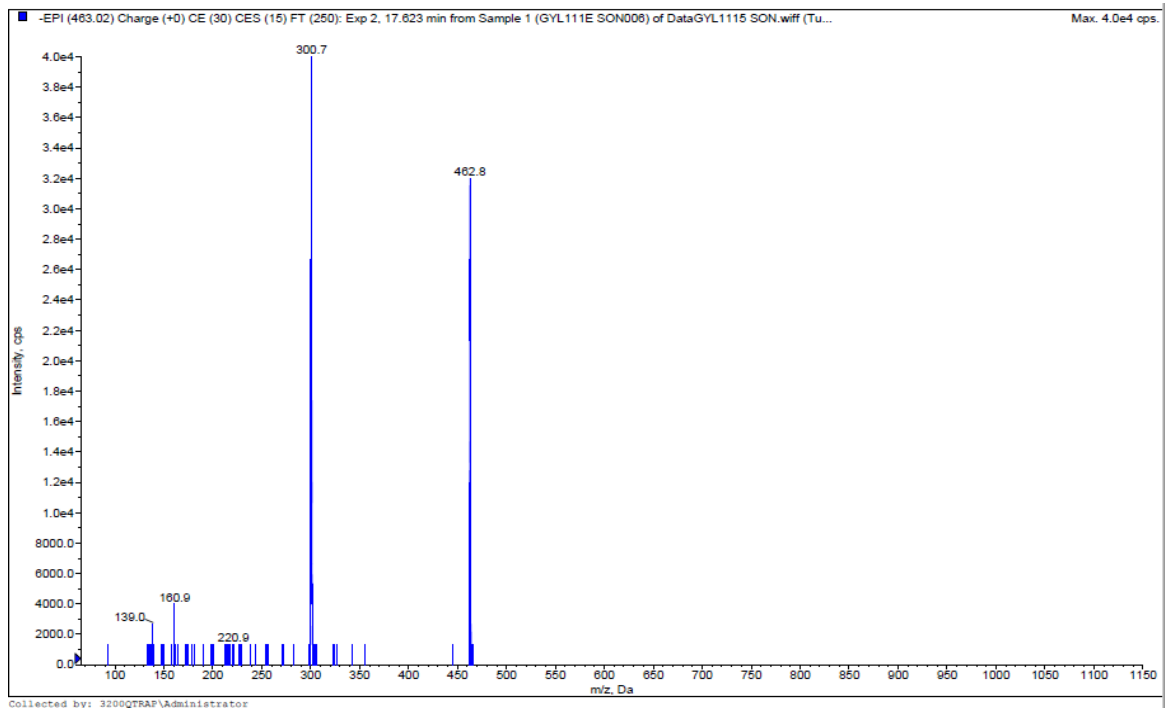


Şekil 4.35. Kersetin'e ait kütle spektrumu

8 numaralı madde: Kersetin heksozit

Bulunduğu ekstraler, bağıl yüzde: E3b (Eser oranda), E3c (Eser oranda)

17.6 dakikada kolonu terk eden bileşiğin, moleküler iyon piki m/z 463, temel piki m/z 301'dir. Molekülün diğer pikleri m/z 300, 221, 161 ve 139'dur (Şekil 4.36). Moleküler iyon ve temel pik arasındaki 162 amu'luk fark yapının heksoz içerdiğini göstermektedir. Temel pik olan m/z 301 iyonu karakteristik kersetin molekül iyonu olarak düşünülmüştür. Ancak aynı molekül ağırlığına sahip bir diğer molekül hesperetindir. Hesperetin ve kersetin moleküllerinin formülleri incelendiğinde hesperetin yapısında bir metil grubu varken kersetinde böyle bir grubun olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumda hesperetinde metil kaybına karşılık gelen m/z 286 iyon piki kersetinde görülmeyecektir (Vallverdú-Queralt vd., 2015; Chen vd., 2016). Molekülün kütle spektrumunda bu iyon pikine rastlanmamıştır. Kaynak verilerde kersetin-*O*-glikozit ve molekülün parçalanma ürünleri benzerlik göstermektedir (Saldanha vd., 2013). Ancak molekülde hangi heksoz grubu olduğunu ve bu heksoz grubunun kersetine hangi konumda bağlı olduğunu bulmak mümkün olmamıştır. Bu veriler ışığında molekül kersetin heksozit olarak tanımlanmıştır. Kaynak taramalarında *Origanum* türlerinden kersetin ve kersetin glikozitlerinin tanımlandığı belirlenmiştir (Erenler vd., 2018; Hawas vd., 2008). Kersetin-heksozit bileşiği *O. minutiflorum*'da ilk kez tanımlanmıştır.



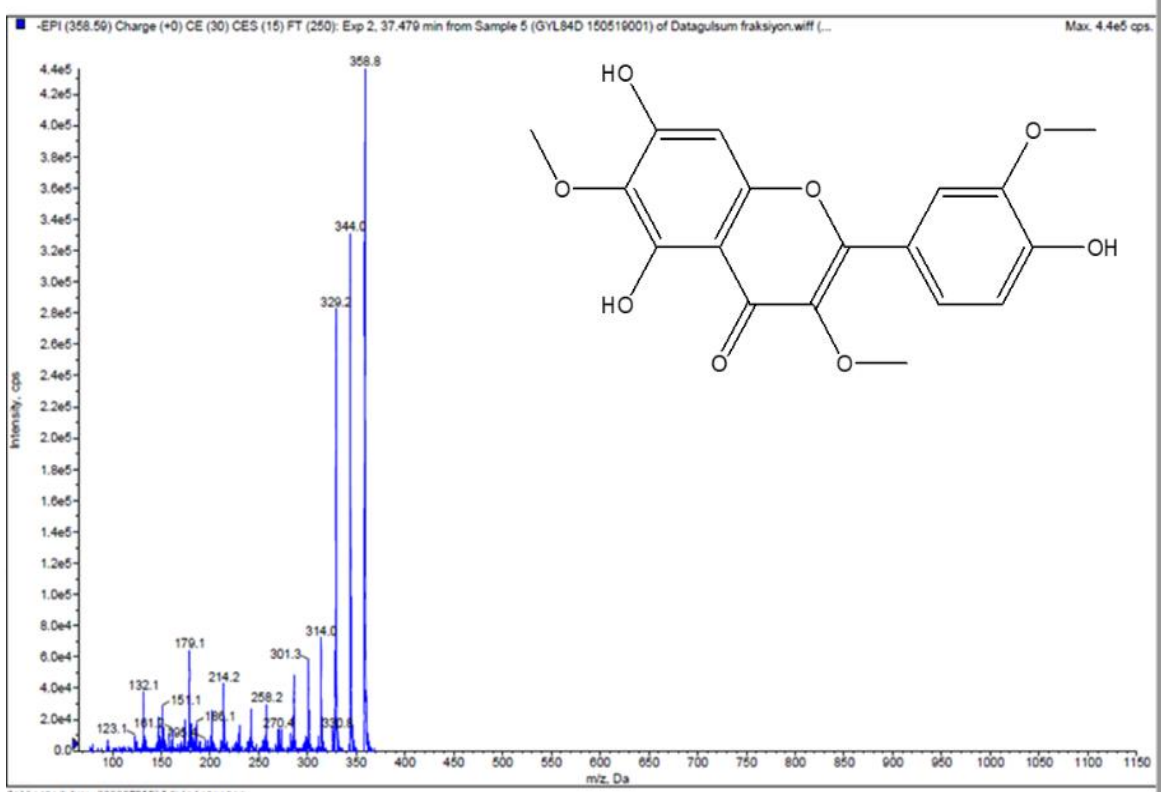
Şekil 4.36. Kersetin heksozit'e ait kütle spektrumu

4.4.6. Trimetoksi flavonoit türevleri

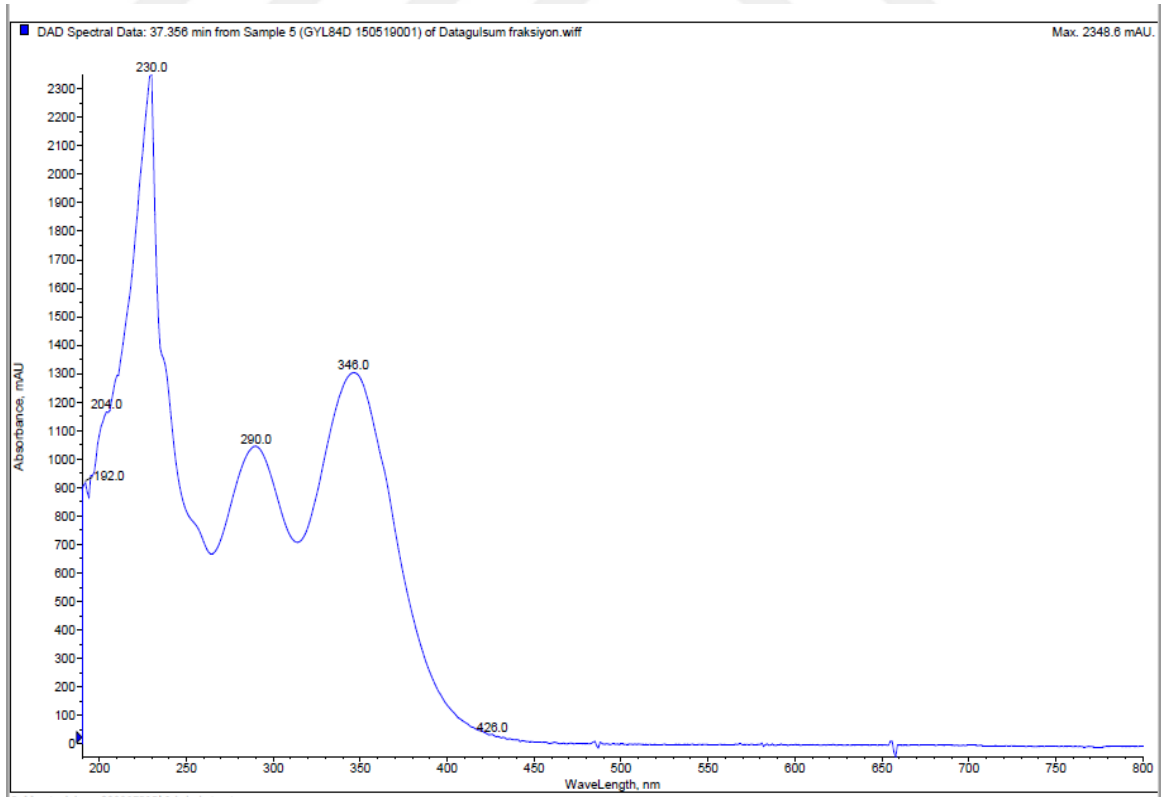
25 numaralı madde: Jaseidin

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%13.3), E3b (Eser oranda)

m/z 359 moleküler iyon pikli m/z 344 temel pikli bileşik 37.4 dakikada kolonu terk etmektedir (Şekil 36). Molekülün UV spektrum değerleri $\lambda_{\max} = 230, 250, 290, 346$ nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 37). Molekülün ard arda kaybedilen üç metil grupları sonucu oluşan major parçalanma ürünleri m/z 344, 329 ve 314'tür. Hidroksilli polimetoksiflavonoitler metil kaybı ile karakteristik pikler verirler (Wang vd., 2019). Molekül ağırlığı m/z 359 ve metil kaybı ile oluşan parçalanma ürünlerinin trihidroksi trimetoksi flavonların hepsinde benzer olduğu tespit edilmiştir. Kaynak taramalarında bu moleküllerden krisosplenol D, sirsimaritin, timonin, jaseidin isomer I ve jaseidin isomer II *Origanum* türlerinde tespit edilmiştir. Akoresin ve sideritiflavonda görülen m/z 311 iyon piki jaseidinde görülmemiştir. Jaseidine ait m/z 301 iyon piki molekül iyonundan iki metil kaybindan sonra CO kaybıyla oluşmaktadır (Taamalli vd., 2015). m/z 301 iyon pikine bu molekülün parçalanma ürünlerinde de rastlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu molekül bir trihidroksi trimetoksi flavon olan jaseidin (sinonim: Kersetagetin-3, 6, 3'-trimetil eter) ya da başka bir trimetoksi flavon türevi olarak tanımlanmıştır (http-1).



Şekil 4.37. Jaseidin'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.38. Jaseidin'e ait UV spektrumu

5 numaralı madde: Jaseidin heksozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (%2), E3 (%1.4), E3a (%0.3), 3Eb (%5.5)

Tutunma zamanı 16.6 olan molekülün iyon piki m/z 521'dir. Molekülün temel piki olan m/z 359 yapıdan bir heksoz kopması sonucu oluşmuştur. Molekülün diğer fragmentleri m/z 344, 341, 326, 311, 296, 217, 203 173, 101 ve 89 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.39). m/z 359 iyonundan bir metil kopması sonucu m/z 344 iyon piki, bir molekül su kaybı sonucu m/z 341 iyonu oluşmuştur. Aynı molekülde su kaybından sonra iki molekül metil kopması olduğu m/z 326 ve m/z 311 iyon piklerinin görülmesiyle tespit edilmiştir. Molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 241, 265, 280$ ve 323 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.40).

Molekül iyon piki m/z 521 olan olası moleküller aşağıda irdelenmiştir.

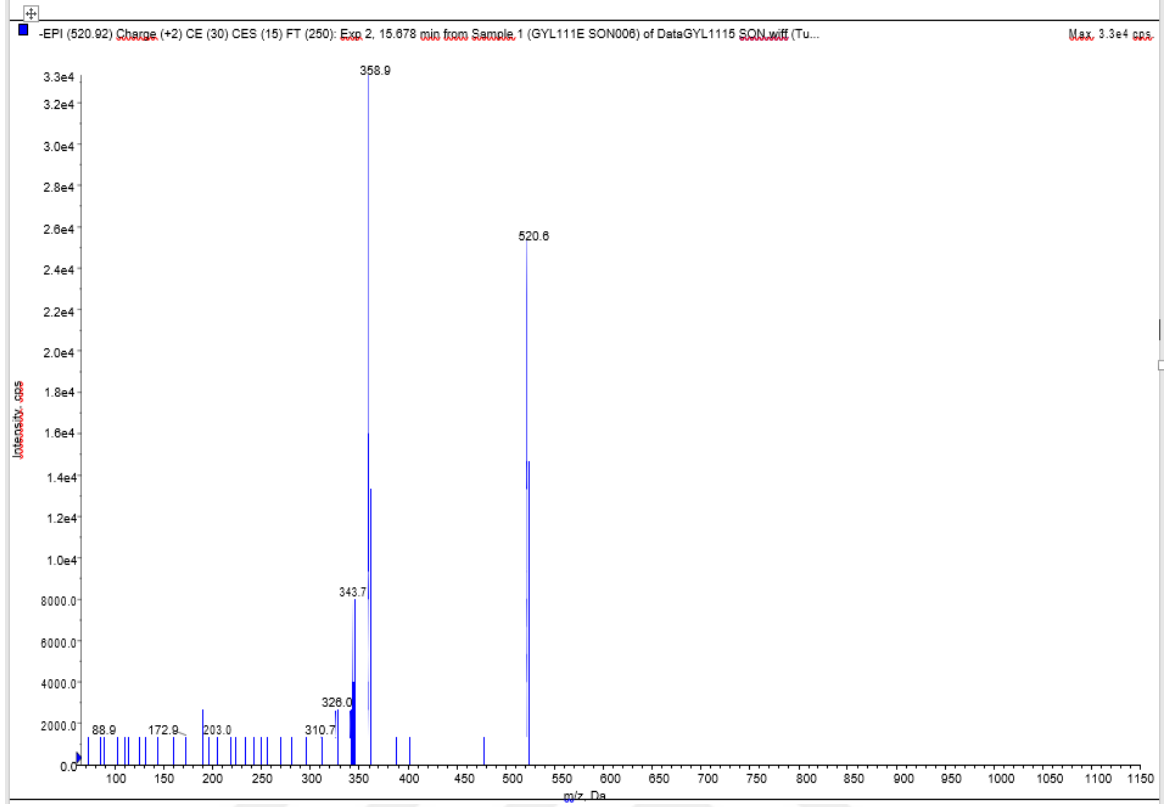
Molekül ağırlığı ve parçalanma ürünleri benzer olan moleküllerden ilk olarak Lamiaceae familyası üyelerinden *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis*'te tespit edilen rozmarinik asit heksozit dikkat çekmiştir (Miron vd., 2013; Martins vd., 2015). Rozmarinik asit-3-*O*- β -D-glikozite ait UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 230, 320$ nm tespit edilmiştir (Zhou vd., 2014). Benzer bir madde rozmarinik asit-3'-*O*- β -D-glikopiranozit olarak adlandırılmıştır (Vogelsang vd., 2006). Ancak bu molekülde rozmarinik asite ait m/z 197 ve m/z 161 iyon piklerine rastlanmamıştır (Espin vd., 2016).

Bir lignan glikoziti olan larisirezinol heksoz molekülü de m/z 521 moleküler iyon pikine sahiptir. Molekülden heksoz grubunun ayrılması ile m/z 359 iyon piki oluşmuştur. Larisirezinol m/z 359 iyon pikinden 30 amu'luk fark ile formaldehit kaybı olarak m/z 329 pikinin olduğu belirtilmiştir. Molekülün farklı çalışmalarda UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 278, 281$ nm olarak tespit edilmiştir. Furfuran lignanların karakteristik olarak 281 nm civarında maksimum absorbans verdiği bilinmektedir (Morreel vd., 2010; Eyles vd., 2007; Huis vd., 2012). Larisirezinolün bu molekül ile UV absorbans değerleri bakımından örtüşmediği görülmektedir. Ayrıca KS/KS verileri incelendiğinde larisirezinol için karakteristik olan formaldehit kaybı sonucu oluşan m/z 329 pikine rastlanmamıştır. Dolayısıyla larisirezinol olma olasılığı zayıf ihtimal olarak görülmüştür.

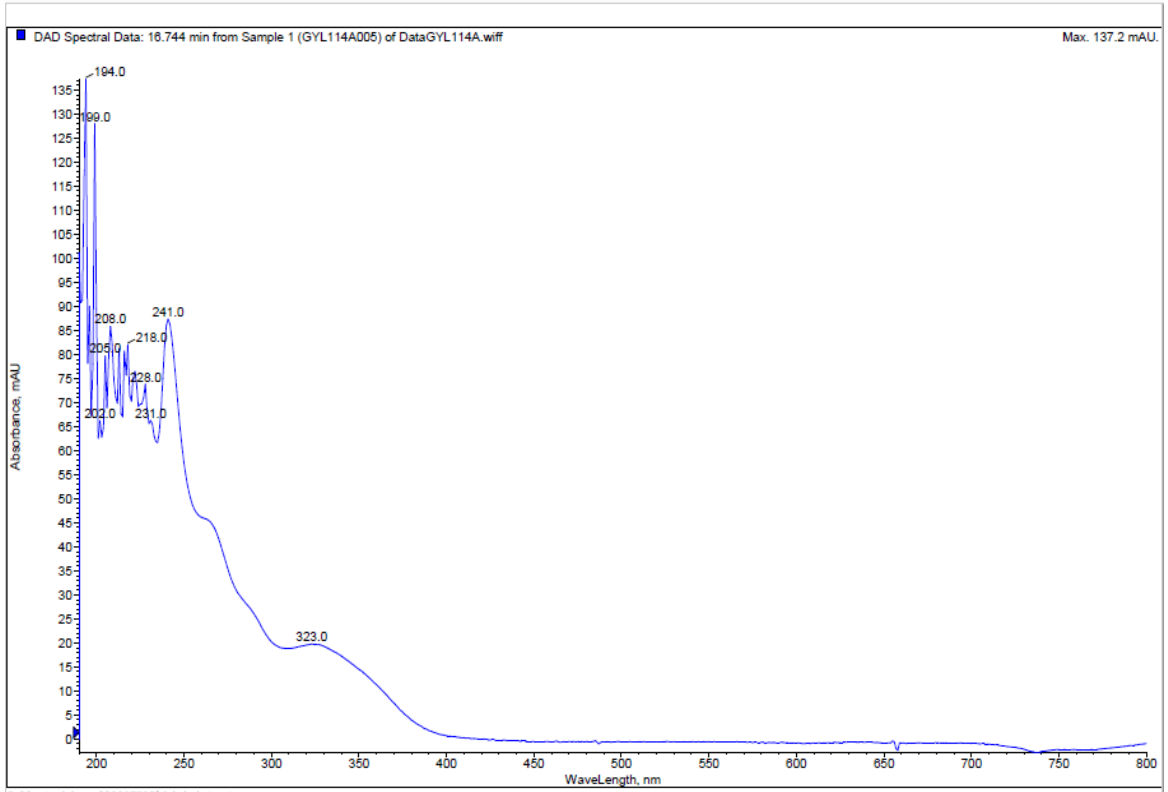
Molekül iyon piki m/z 521, temel iyon piki m/z 345 ve diğer bir parçalanma ürünü m/z 329 olan molekül siringetin heksuronik asit olarak adlandırılmıştır (Bujor, 2016). Ancak KS/KS analizinde siringetin varlığına işaret eden m/z 345 temel pike rastlanmamıştır.

Benzer parçalanma gösteren bir diğer bileşik Menispermaceae familyası bitkilerinden *Tinospora* türlerinde sıklıkla tespit edilen furanoid diterpen glikozit olarak tanımlanmıştır. Furanoid diterpen glikozitin molekül iyon piki m/z 521, temel piki m/z 359 ve diğer parçalanma ürünleri m/z 506, 345, 344 ve 341'dir (Xu vd., 2017). Lamiaceae familyasında *Teucrium montanum* türlerinde klerodan veya norklerodan tip furanoid diterpen Montanin D (m/z 362; $\lambda_{\max} = 222$ nm) izole edilmiştir (Malakov vd., 1978). Ancak kaynak taramalarında furanoid diterpen yapılı moleküllere *Origanum* türlerinde tanımlandığı bilgisine rastlanmamıştır.

Molekül ağırlığı benzer olan bir diğer molekül m/z 521 ve diğer parçalanma ürünleri m/z 359, 344, 329, 313, 300, 189, 159 olan polimetoksi flavonoit-*O*-heksozittir (Bender vd., 2018). Trimetoksi flavonoitlere ve glikozitlerine *Origanum* türlerinde sıklıkla rastlanmaktadır. m/z 359 molekül iyon pikine sahip olan pek çok polimetoksi flavonoit olduğu tespit edilmiş ve bunların her birisinin benzer parçalanmaları verebileceği görülmüştür (Erenler vd., 2016a; Taamalli vd., 2015; Skoula vd., 2008). Polimetoksi flavonoitler metil gruplarının kaybı ile karakteristik pikler verir. Polimetoksi flavonların kütle spektrumlarının değerlendirilmesinde metil gruplarının sayısı önemlidir. Moleküldeki parçalanmalardan molekülün üç metil içerdiği tespit edilmiştir. Bu hali ile molekülün trimetoksi flavonit heksoziti olduğu düşünülmüştür. Molekül, jaseidin olarak tanımlanan 25 numaralı molekül ile benzer parçalanmalar gösterdiği dikkat çekmiştir. Jaseidin tutunma zamanı 37.4 dakika, bu molekülün tutunma zamanı 16.6 dakikadır. Molekülün jaseidinden önce kolonu terk etmesi glikozit yapılarının aglikon (jaseidin) kısmından önce terk edeceği bilgisiyle tutarlı bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında molekül jaseidin heksoziti ya da başka bir trimetoksi flavonoit heksoziti olabileceği düşünülmüştür.



Şekil 4.39. Jaseidin heksozit'e ait kütle spektrumu

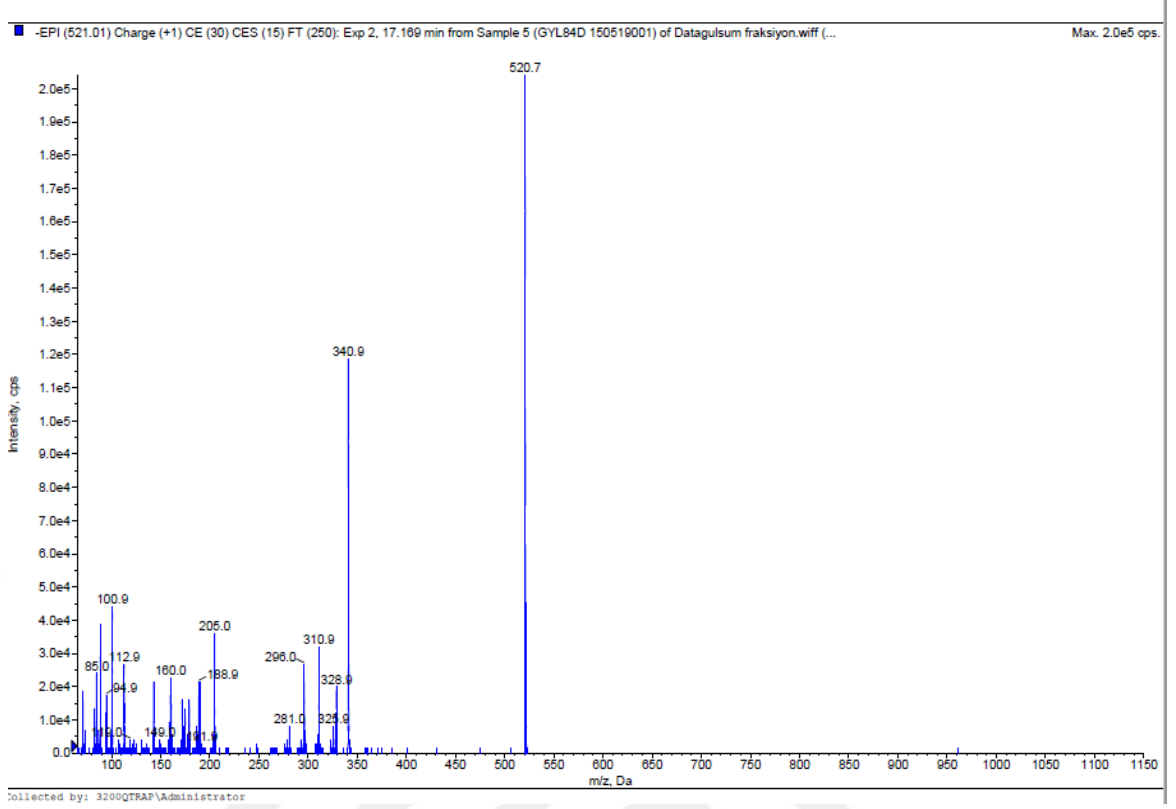


Şekil 4.40. Jaseidin heksozit'e ait UV spektrumu

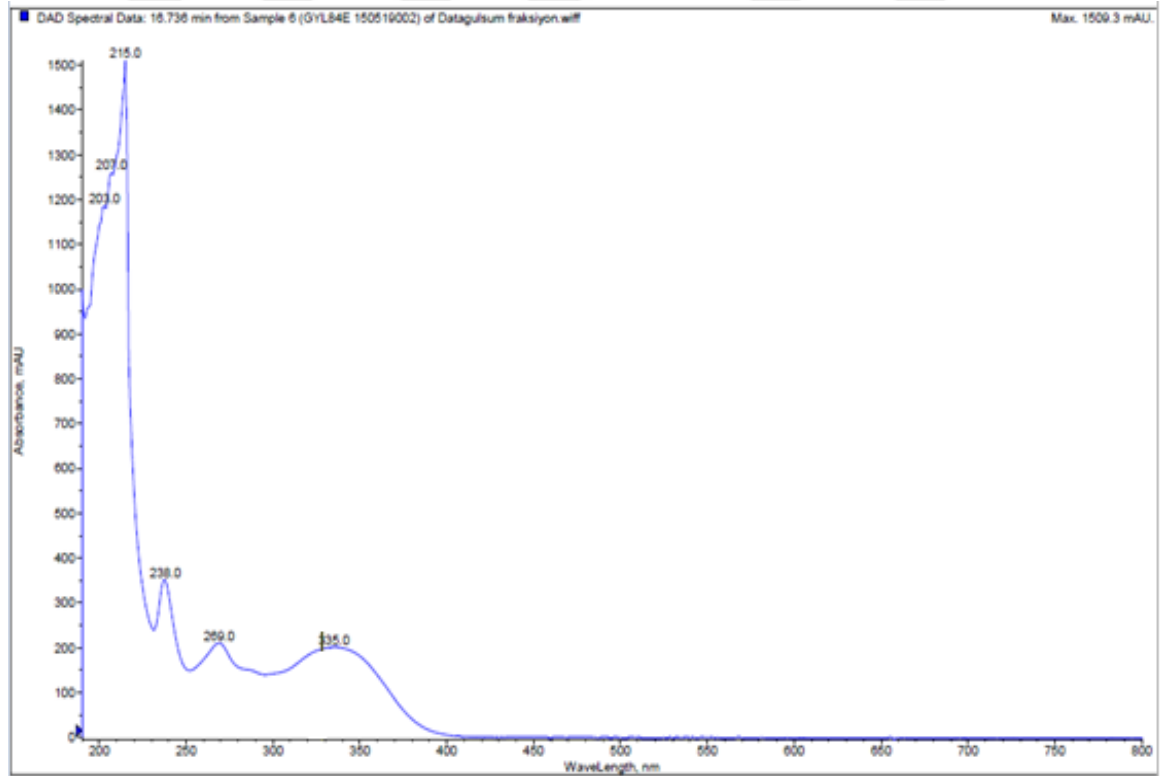
6 numaralı madde: Trimetoksi flavonoit heksozit

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E2 (Eser oranda), E3 (Eser oranda), E3a (0.9), E3b (Eser oranda), E3c (% 1.4), E3d (Eser oranda)

Tutunma zamanı 17.1 olan molekülün iyon piki m/z 521, temel piki m/z 341'dir. Molekülün diğer parçalanma ürünleri m/z 359, 344, 329, 311, 296, 203, 113 ve 101'dir (Şekil 4.41). Molekülün UV absorpsiyon değerleri $\lambda_{max} = 238, 269, 335$ nm'dir (Şekil 4.42). Molekül parçalanma ürünleri incelendiğinde molekülde birden fazla metil ve su kaybı olduğu görülmektedir. Moleküldeki bu parçalanmalar 5 numaralı molekül ile benzerlik göstermektedir. Molekül iyon piki m/z 521 olan olası moleküller 5 numaralı molekül tanımlanırken irdelenmiştir. Molekül bu hali ile trimetoksi flavonoit heksozit olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.41. Trimetoksi flavonoit heksozit'e ait kütle spektrumu



Şekil 4.42. Trimetoksi flavonoit heksozit'e ait UV spektrumu

4.4.7. Lignan türevi

21 numaralı madde: Globoidnan A

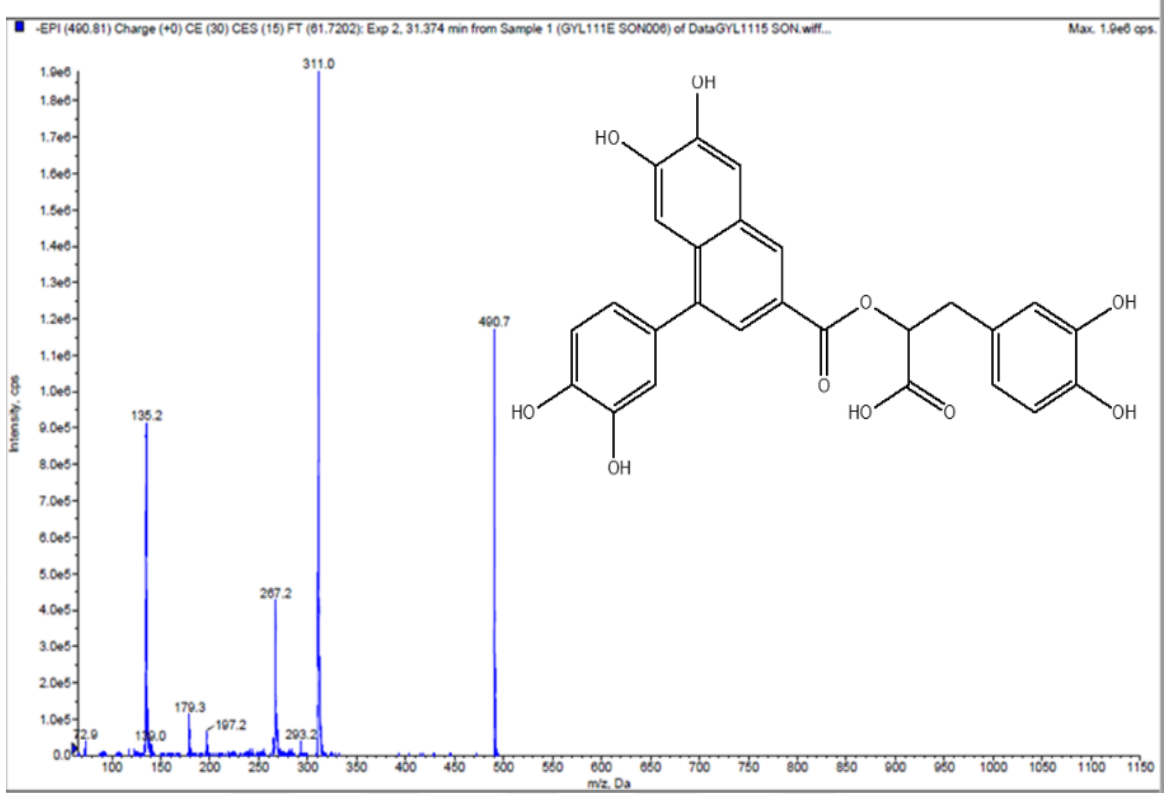
Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3 (%36), E3a (%5), E3b (%66), E3c (%60), E3d (%74)

Etilasetat ekstresinin alt fraksiyonlarında bağıl bolluğu fazla olan bileşik, kolonu 32.9 dakikada terk etmektedir. Moleküler iyon piki m/z 491 [M-H]⁻ ve temel piki m/z 311 olan bileşiğin diğer parçalanma ürünleri m/z 267 ve 135'tir (Şekil 4.43).

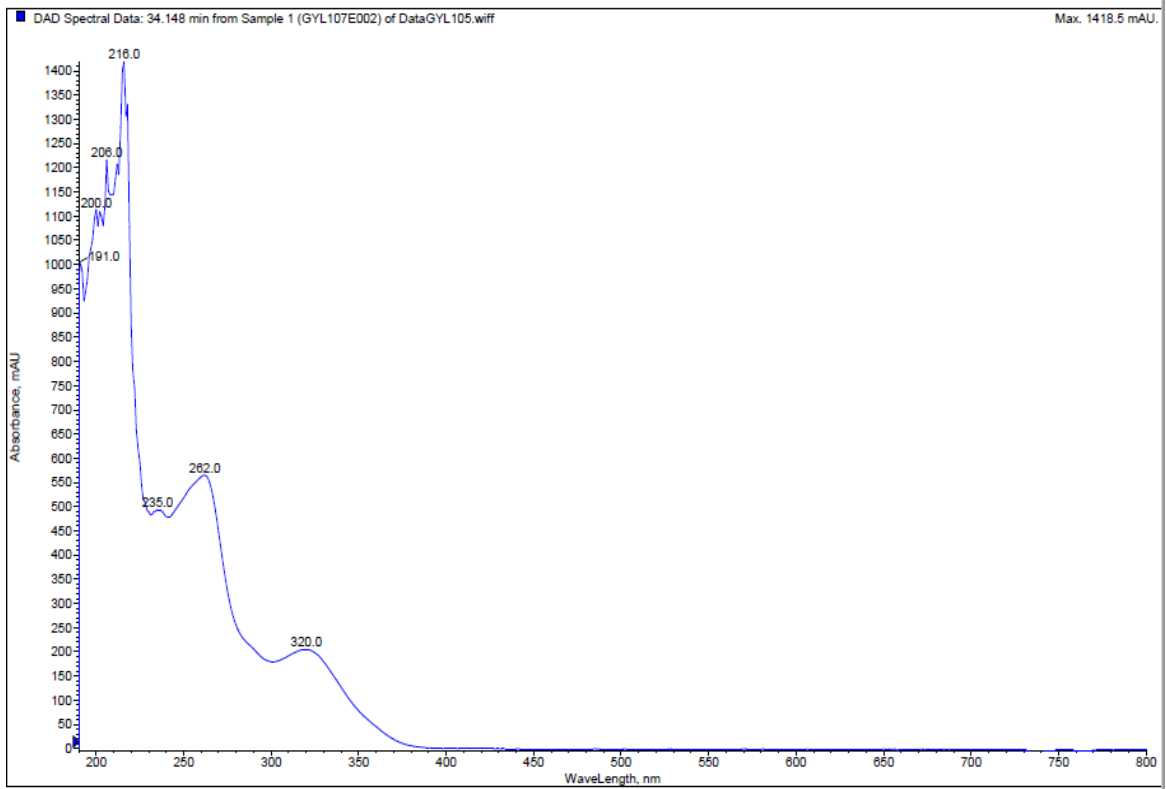
Elde edilen bu iyon pikleri, benzer parçalanmalara sahip iki bileşik, Salvianolik asit C ve Globoidnan A'da görülmektedir. Kaynak verilerde Salvianolik asit C'nin kütle spektrumu incelendiğinde molekülün temel pikinin dansensu kaybı sonucu oluşan m/z 293 [M-H-198]⁻ olduğu görülmektedir (Barros vd., 2013; Cai vd., 2019; Yang vd., 2015; Shao vd., 2018; Pang vd., 2018; Zeng vd., 2006). Globoidnan A'nın spektrumunda ise temel pik kafeik asit kaybı sonucu oluşan m/z 311 [M-H-180]⁻'dir (Seigner vd., 2019). Moleküller UV absorbans değerleri açısından da karşılaştırıldığında Salvianolik asit C UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 202, 215, 288, 312, 340$ nm iken globoidnan A UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 224, 260, 320$ nm'dir (Ai ve Li, 1988; Krzyzanowska vd., 2018; Ovenden vd., 2004). Bu molekülün UV absorbans değerleri $\lambda_{\max} = 235, 262, 320$ nm olarak tespit edilmiş (Şekil 4.44) ve Globoidnan A'nın absorbans değerleri ile uyumlu bulunmuştur.

Moleküllerin kütle ve UV spektrumları kaynak bilgiler ışığında değerlendirildiğinde molekül globoidnan A olarak tanımlanmıştır.

Globoidnan A *Origanum*'lardan ilk olarak *O. glandulosum*'dan izole edilmiştir (Basli vd., 2014). Aynı bileşik *Origanum rotundifolium* ve *Thymus praecox* subsp. *grossheimii* (Ronniger) J alas'ta da tespit edilmiştir (Erenler vd., 2016b; 2017). Globoidnan A daha önce Elmastaş ve arkadaşlarının çalışmasında *O. minutiflorum*'dan izole edilmiştir (Elmastaş vd., 2018). Molekülün daha önce de *O. minutiflorum*'da tespit edilmiş olması bu lignan bileşiğin tanımlanmasını doğrular niteliktedir.



Şekil 4.43. Globoidnan A'ya ait kütle spektrumu



Şekil 4.44. Globoidnan A'ya ait UV spektrumu

4.4.8. Megastigman türevi

13 numaralı molekül: İkarisit türevi

Bulunduğu ekstreler, bağıl yüzde: E3b (%2.2), E3c (Eser oranda), E3d (Eser oranda)

Tutunma zamanı 23.9 olan m/z 549 [M-H]⁻ moleküler iyon pikli bileşiğin temel piki m/z 161'dir. Molekülün diğer parçalanma ürünleri m/z 531, 489, 387, 369, 221, 207, 179, 133'tür (Şekil 4.45). Molekülün UV absorpsiyon değerleri $\lambda_{max} = 241, 266, 330$ nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.46). Moleküler iyon piki m/z 549 ve m/z 387 iyon piki arasındaki 162 amu'luk fark yapıda bir heksoz olduğunu göstermektedir. Minör düzeyde görülen m/z 489 [M-H-60]⁻ iyonu molekül iyonu ile 60 amu'luk fark sonucu oluşmuştur. Şeker moleküllerinin parçalanmaları sırasında açığa çıkan 60 amu'luk fark yapının bir glikozit olma ihtimalini kuvvetlendirmiştir.

Molekülün parçalanma ürünleri m/z 387 ve 207 ile daha önce üzerinde tartışılan, ikarisit B₅, medioresinol ve tuberonik asit heksoziti ile benzer parçalanma göstermektedir. Ancak tutunma zamanı açısından değerlendirildiğinde medioresinolün, medioresinol heksozitinden daha sonra kolonu terk etmesi gerekmektedir. Sıralamadaki bu farklılık ilginç bulunmuştur. Yapılan kaynak taramalarında medioresinol O-heksoz molekülünün medioresinolden önce kolonu terk ettiğine dair herhangi bir çalışma tespit edilmemiştir (Mena vd., 2016; Chikha vd., 2018).

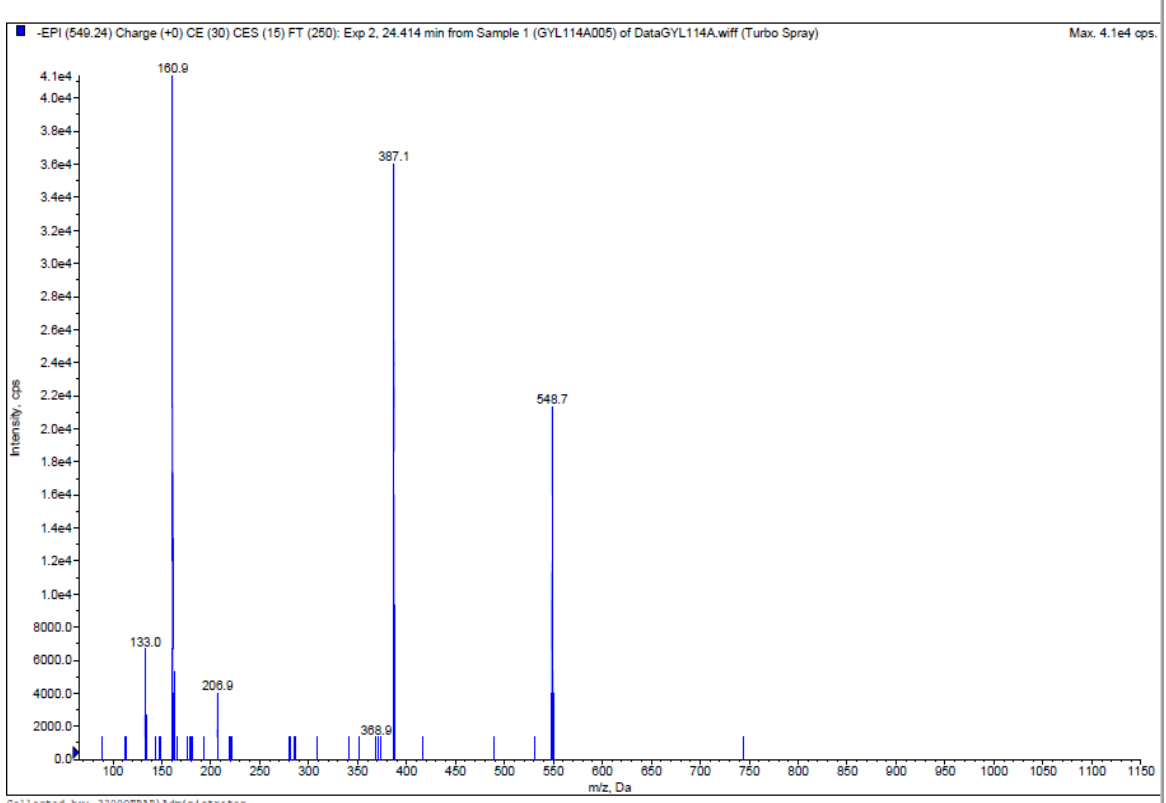
Kaynaklarda, aglikon olarak ekstrelerde tespit edilen aglikonları taşıyan (luteolin ve apigenin) molekül iyonu m/z 549 olan flavonoidler üzerinde bir araştırma yapılmıştır. 6,8-di-C-Arabionopiranosilluteolinin molekül yapısı incelediğinde benzer parçalanmaları verebileceği gözlenmiştir (Schoeneborn ve Mues., 1993). Fakat bu molekülün parçalanması esnasında hiçbir şekilde m/z 387 parçalanması üzerinden m/z 207 iyonu tespit edilmemiştir.

Kaynak verilerinde tuberonik asit diheksozit (tuberonik asit heksozit m/z 387) bileşiğinin varlığına dair herhangi bir veriye rastlanmamıştır.

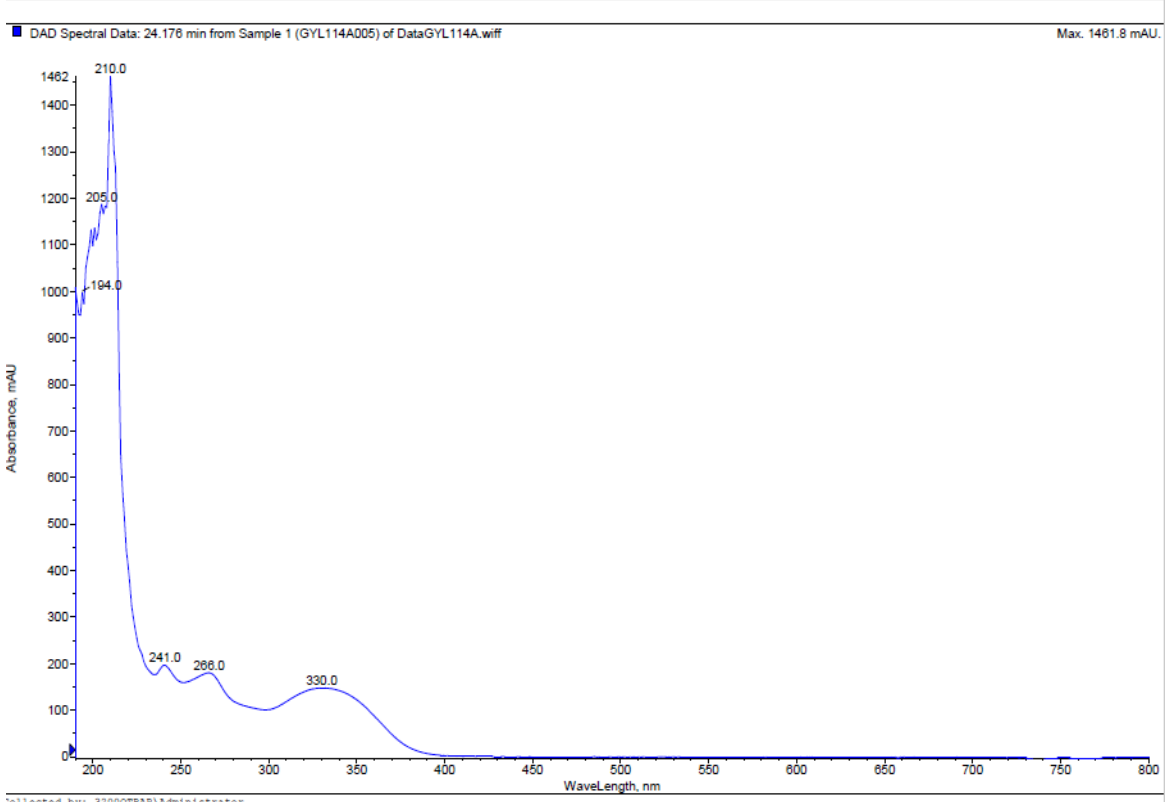
Kaynak taramalarında ikarisit B₅ glukopiranosit molekülünün kayıtlı olduğu görülmüştür. Molekül formülü incelendiğinde m/z 489 iyonunun glukopiranozit'in 0,2 kopması sonucu, m/z 387 ve m/z 161 nin ise glikozitik bağ kopması sonucu ortaya çıkmış olabilir. m/z 179 ve 161 iyonlarının (1-4) ve (1-3) glikozitik bağlarının parçalanmaları sırasında açığa çıktığına dair kaynak bilgileri mevcuttur. Molekülün (1-3) veya (1-4) glikozidik bağı, ikarisit B₅ glukopiranosit olabileceğini düşündürmüştür (Guan vd.,

2008; Shitamoto vd., 2011). İkarisit B₅'in UV absorbans değeri $\lambda_{\max} = 244$ nm olarak tespit edilmiştir ancak molekülün glikopiranosit türevi ile ilgili UV spektrum değerine ulaşamamıştır. İkarisit türevleri Lamiaceae familyasının daha çok *Mentha* türlerinde tespit edilmiş, *Origanum* türlerinde rastlanmamıştır (Yamamura vd., 1998; Matsunami vd., 2010). Bu bilgiler ışığında bileşiğin ikarisit türevi olabileceği düşünülmüştür.





Şekil 4.45. İkarisit türevine ait kütle spektrumu



Şekil 4.46. İkarisit türevine ait UV spektrumu

4.4.9. Diğer

3 numaralı madde: Tuberonik asit heksozit/Medioresinol

Bulunduğu ekstreler, bulunduğu ekstreler: E2 (%4), E3 (%12.4), E3a (%13.6), E3b (Eser oranda)

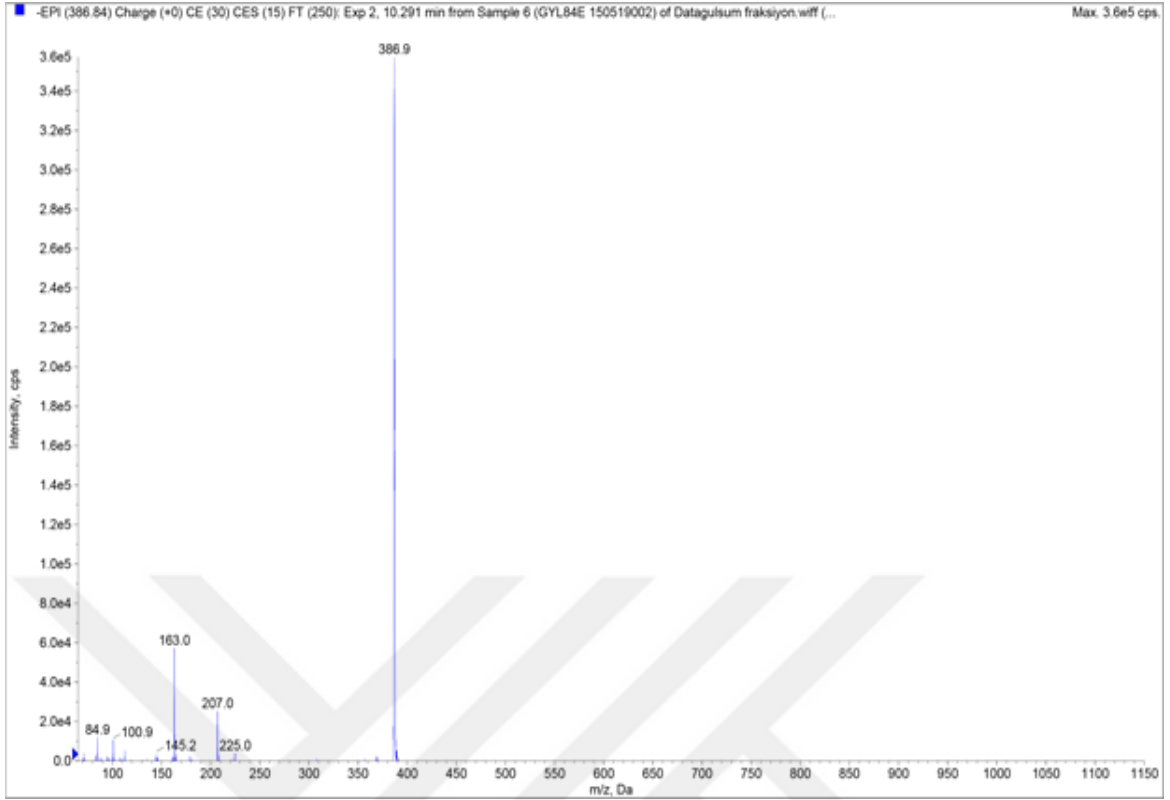
Tutunma zamanı 10.9 dakika ve molekül iyonu m/z 387 $[M-H]^-$ olan molekülün diğer parçalanma ürünleri m/z 225, 207, 163, 101 ve 85'tir (Şekil 4.47). Molekülün UV absorbans değerleri ise $\lambda_{max} = 286, 237, 222$ nm'dir (Şekil 4.48). Yapılan kaynak taramalarında molekül ağırlığı ve kütle spektrumu molekül ile benzerlik gösteren farklı maddelere de rastlanmıştır. Molekülün m/z 207, 163 ve 101 parçalanma ürünleri ikarisit B₅ ile benzerlik göstermektedir. İkarisit B₅'in UV absorbans değeri $\lambda_{max} = 244$ nm olarak tespit edilmiştir ve bu düşük absorbans değerinin bileşikte konjugasyonun az olmasına bağlanmıştır (Yamamura vd., 1998; Matsunami vd., 2010). İncelenen molekülün 286 nm'de yüksek absorbans vermesi ikarisit B₅ verileri ile uyuşmamaktadır

1.Olasılık: Tuberonik asit heksozit (Şekil 4.49)

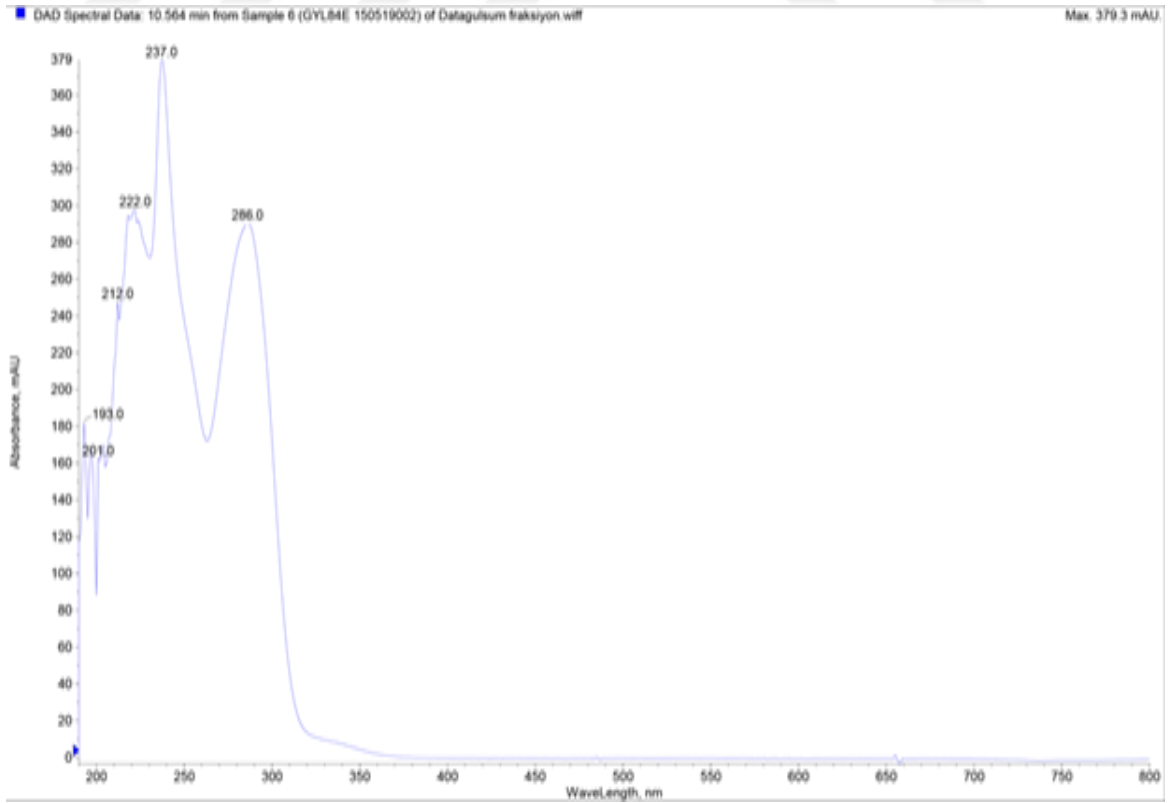
Origanum vulgare, *Origanum onites*, *Origanum vulgare* subp., *hirtum*, *Origanum gladulasum* ve *Thymus longicaulis* 'te tespit edilen 12-hidroksijasmonik asit heksozit (sinonim: tuberonik asit heksozit) incelenen bileşikle molekül ağırlığı ve parçalanma ürünleri açısından benzerlik gösteren bir bileşiktir (Nabet vd., 2019; Mahomoodally vd., 2019). m/z 225 iyon pikinin yapıdan heksoz molekülünün ayrılması sonucu oluşması bileşiğin tuberonik asit glikoziti olma ihtimalini güçlendirmiştir. 12-Hidroksijasmonik asit heksozitin molekül iyonu m/z 387, temel piki m/z 207 olarak verilmiştir. Diğer iyon pikleri m/z 225, 163'tür. Oluşan m/z 163 iyon pikinin yapıdan CO₂ kaybı sonucu oluştuğu görülmüştür (Galasso vd., 2014; Koukoulitsa vd., 2006). 12-Hidroksijasmonik asit heksozit $\lambda_{max} = 229$ nm olarak tespit edilmiştir. Ancak başka bir çalışmada 12-hidroksijasmonik asit 12-*O*-heksozit ve 5'-hidroksijasmonik asit-5'-*O*-heksozit ait $\lambda_{max} = 272, 335$ nm olarak tespit edilmiştir (Nabet vd., 2019). 12-hidroksijasmonik asit heksozit ile molekülün parçalanma ürünlerinin benzer bulunmasına rağmen kaynak verilerdeki UV spektrum değerlerindeki farklılıktan dolayı molekül ile karşılaştırma tam olarak yapılamamıştır.

2. Olasılık: Medioresinol (Şekil 4.50)

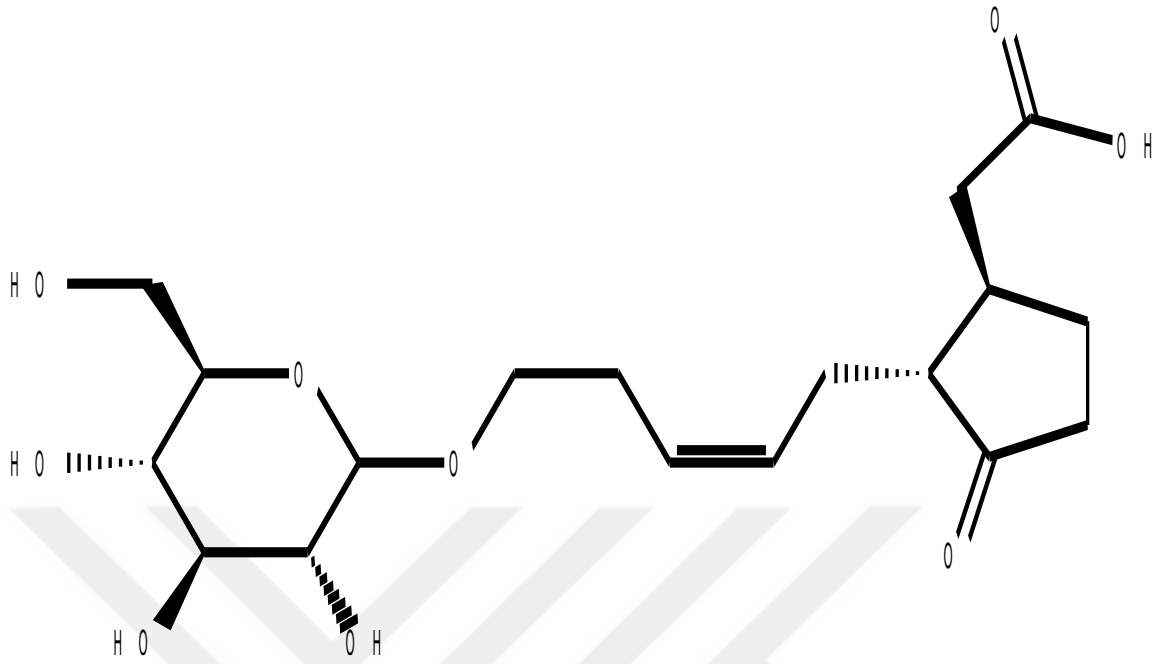
Molekül iyonu m/z 387 ve parçalanma ürünleri m/z 369, 207 ve 163 olan lignan yapısındaki medioresinol molekül ile uyumlu olan bir diğer bileşiktir. Fenolik bir lignan olan medioresinol daha önce *Origanum* türlerinde tanımlanmıştır. Chikha vd. (2018) çalışmasında medioresinolün UV absorbans değeri $\lambda_{\max} = 284$ nm olarak tespit edilmiştir (Hossain vd., 2010; Kapp vd., 2013; Marzouk vd., 2018; Mena vd., 2016; Nabet vd., 2019). Medioresinol incelenen molekül ile kütle ve UV spektrumları açısından benzer bulunmuştur. Ancak molekülün parçalanma ürünleri 1. Olasılıkta değerlendirilen tuberonik asit heksoziti ile de uyumlu olduğundan bileşik tam olarak tanımlanamamıştır. Bu bilgiler ışığında bileşiğin ya tuberonik asit heksoziti ya da medioresinol olduğu düşünülmüştür.



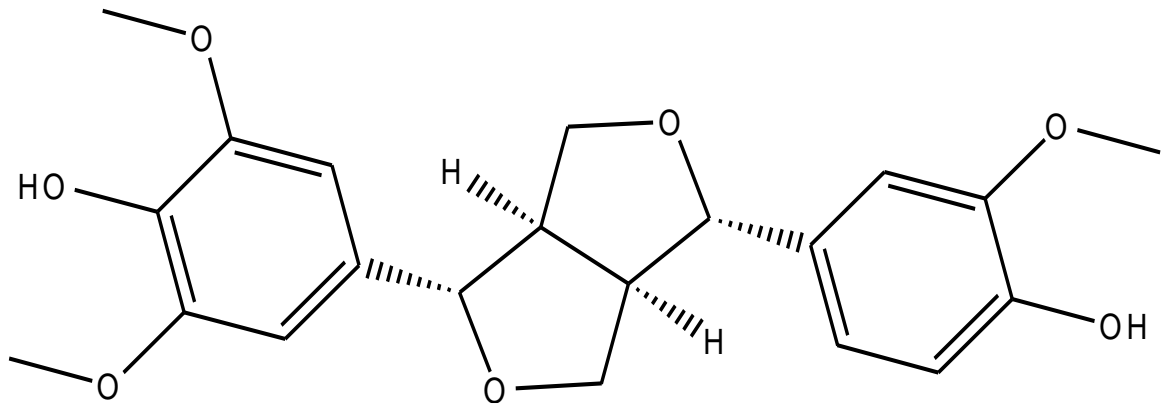
Şekil 4.47. Medioresinol/tuberonik asit heksoziti'ne ait kütle spektrumu



Şekil 4.48. Medioresinol/tuberonik asit heksoziti'ne ait UV spektrumu



Şekil 4.49. Tuberonic asit glikozit



Şekil 4.50. Medioresinol

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında Türkiye’de ticari öneme sahip endemik bir tür olan *O. minutiflorum* O. Schwarz et P.H. et Davis’un kalite standartlarını belirlemek için Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun bir monografi oluşturulması ve tıbbi değerini ortaya koymak ve biyolojik aktivite yollarını belirlemek için toprak üstü kısmından hazırlanan ekstreleri ve uçucu yağının lipoksijenaz, siklooksijenaz ve matriks metaloproteinaz-9 enzim inhibisyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Avrupa Farmakopesi *Oregano* monografında yer alan kalite standartını belirleyici analizler *O. minutiflorum*’a uygulanmıştır. Analiz sonuçlarının monografteki verilerle uyduğu görülmektedir. Kullanılan droğun taşıdığı su miktarının monografda verilen değerlerden oldukça az bulunması bitkinin küçük yapraklara ve çiçeklere sahip olmasının avantajı olarak değerlendirilmiştir. Droğun bu özelliğinin depolamada, nakliye işlemleri ve ihracat sürecinde mikrobiyal kirlilik vb. önleyerek droğun kalitesinin korunmasında önemli bir etken olabileceği düşünülmüştür. Bitkinin yerleşim bölgelerinden uzak, yüksek rakımlı doğal yayılış alanlarından toplanmasının bitkiye sağladığı avantajlardan biri inorganik kirliliğinin çok az olmasıdır. Bitkinin ticari kekikler arasında tercih edilmesinin en önemli sebeplerinden biri uçucu yağ verimi ve karvakrol içeriğinin yüksek olmasıdır. Yapılan çalışmada bitkinin uçucu yağ verimi ve karvakrol + timol içeriğinin monografda yer alan diğer iki türün uçucu yağı ile benzer oranda olduğu belirlenmiştir.

Endemik bir tür olan *O. minutiflorum* Türkiye’nin ihraç edilen önemli *Origanum* türleri arasında olmasına karşın bitkinin kalitesini belirleyen herhangi bir standart bulunmamaktadır. Bitkinin Avrupa Farmakopesi *Oregano* monografında yer alan diğer *Origanum* türleri ile (*O. onites* (İzmir Kekiği) ve *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letsw. (İstanbul Kekiği)) benzer özellikler göstermesi nedeniyle daha sonra yapılacak olan monograf düzenlemelerinde *Oregano* monografına dâhil edilebileceği düşünülmüştür. Monograf taslağı EK 4’te yer almaktadır. Bu monograf değişikliğinin farmakopeye önerilmesi aşamasında, endemik bir bitki ve sadece kontrollü toplanması nedeniyle, farklı yıllarda toplanan örneklerle analizlerin tekrarlanması yararlı olacaktır.

O. minutiflorum’un ülke ekonomisine katkısının yanı sıra dâhilen kullanıma sahip olması bitkinin kalitesinin belirlenmesini gerekli kılmaktadır.

Origanum türleri ve özellikle *O. minutiflorum*’un uçucu yağı ile ilgili çalışmalar oldukça fazla olmakla beraber ekstreleri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Oysaki bu türler gıda olarak veya tıbbi amaçla tüketilmektedir. *O. minutiflorum* ile ilgili ekstraksiyon çalışmaları AYF metodu ile yapılmıştır. Öncelikle ekstraksiyon için çözücü ve metot seçimi için bir ön çalışma yapılmıştır. Bu ön çalışmadan elde edilen ekstratların değerlendirilmesinde elde edilen verimler ve sıcaklığın bileşikleri üzerine yapacağı olumsuz etkiler de göz önünde bulundurulmuş ve yapılmıştır. %70'lik etanol ile maserasyon yöntemi tercih edilerek ham ekstre hazırlanmıştır. Ham ekstrenin, sırasıyla *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve *n*-bütanol çözücülerini ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu ekstratların 100 µg/mL konsantrasyondaki *in vitro* LOX, COX ve MMP-9 enzim inhibisyonları araştırılmıştır. Değerlendirmeler her bir enzim için standart inhibitörler ile kıyaslanarak yapılmıştır. Enzim inhibisyonu %50 ve üzeri değere sahip ekstratlar değerlendirilmelerde dikkate alınmış ve enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

Çalışmada LOX enzimi üzerinde en yüksek inhibisyonu E2 ekstresinin (%82.33±0.94) gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.9). E2 ekstresinin LOX enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri 13.83±1.02 µg/mL iken NDGA'nın IC₅₀ değeri 6.00±0.25 µg/mL olarak belirlenmiştir.

COX enzimleri üzerinde en yüksek inhibisyonu E3 ekstresi gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.11). E3 ekstresinin COX-1 enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri 26.75±1.25 µg/mL, COX-2 enzim inhibisyonu IC₅₀ değeri 51.67±1.55 µg/mL olarak hesaplanmıştır. COX-1 enzimi için standart inhibitör olarak kullanılan SC-560'ın IC₅₀ değeri 0.000021±10⁻⁶ µg/mL ve COX-2 enzimi için rofekoksib'in IC₅₀ değeri 0.049±0.001 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Çalışmada E1 dışında tüm ekstratlar MMP-9 enzimi üzerinde inhibisyon göstermiştir. Ancak elde edilen % inhibisyon değerleri kıyaslandığında E3 ekstresinin (%45.11±2.03) diğer ekstratlara göre MMP-9 üzerinde en güçlü inhibisyona sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Bu değerlendirmeler sonucunda COX enzimleri üzerine diğer ekstratlara kıyasla yüksek inhibisyon gösteren E3 ekstresi ile kolon kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlama yapılmıştır. Kolon kromatografisinden toplanma sırasına göre kodlaması yapılan fraksiyonlar arasında miktarı fazla olan E3a, E3b, E3c ve E3d alt fraksiyonların COX enzim inhibisyonları incelenmiştir.

Enzim inhibisyon deneylerinde alt fraksiyonlar 100 µg/mL konsantrasyonda çalışılmıştır. Çalışılan alt fraksiyonlar arasında sadece E3a fraksiyonu COX-1 enzimi

üzerinde 65.78 ± 4.42 değerinde inhibisyon göstermiştir ve E3 ekstresine (78.50 ± 0.50) kıyasla COX-1 enzimi üzerinde zayıf inhibisyon göstermiştir. E3b, E3c ve E3d fraksiyonları COX-1 enzimi üzerinde inhibisyon göstermemiştir. COX-2 enzim üzerinde yüksek inhibisyon gösteren alt fraksiyonların % inhibisyon değerleri, E3a, %59.90; E3b, %90.90; E3c, %86.40 ve E3d, %97.62 olarak tespit edilmiştir. E3b, E3c, E3d alt fraksiyonları E3 ekstresine göre COX-2 enzimi üzerinde yüksek inhibisyon göstermiştir. AYF metodu ile etkidenden sorumlu bileşikler polarite artışıyla fraksiyonlanarak konsantre hale getirilmiştir. Alt fraksiyonlarda polarite artışı ile doğru orantılı olarak enzim inhibisyonunun arttığı görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar, fraksiyonlamanın amaca uygun olduğunu göstermiştir.

Muhtemel bir aktivitenin gözden kaçırılmasını önlemek amacıyla E3 ekstresinin yüksek inhibisyon göstermediği LOX enzimi üzerinde alt fraksiyonların inhibisyon etkisi incelenmiştir. Alt fraksiyonların LOX enzimi % inhibisyon değerleri E3a, 67.33 ± 1.89 ; E3c, 54.00 ± 1.00 ve E3d, 68.47 ± 0.94 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.9). Alt fraksiyonların LOX enzim inhibisyon değerlerinin E3 ekstresi ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da fraksiyonlamanın amacını desteklemektedir.

Uçucu yağ COX-1 enzim üzerinde 55.26 ± 1.58 oranında inhibisyon göstermiştir. Uçucu yağ LOX enzimi üzerinde inhibisyon göstermezken (Tablo 4.9), MMP-9 enzimi üzerinde inhibisyonu zayıf bulunmuştur (12.87 ± 0.78) (Tablo 4.13). Uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün COX-1 ve COX-2 enzimlerini üzerinde inhibisyon göstererek antienflamatuvar aktivite gösterdiği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Landa vd., 2009; Wagner vd., 1986). Karvakrolün ibuprofen ile kombine edilerek sinerjik etki oluşturduğu ve enflamatuvar parametreleri azalttığı, LD₅₀ değerinin 5000 mg/kg olduğu bildirilmiştir (Mahtaj vd., 2015). Ayrıca karvakrolün ratlar üzerinde yapılan hepatokarsinoma çalışmasında MMP-2 ve MMP-9 enzimlerini inhibe ettiği ve antikanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Subramaniyan vd., 2014)

Kullanılan enzimler üzerinde yüksek inhibisyon gösteren (E2, E3, E3a, E3b, E3c ve E3d) fraksiyonların kimyasal bileşimi YPSK/KS-KS ile analiz edilmeye çalışılmıştır. Total iyon kromatogramları ve 280 nm'de elde edilen kromatogramlardaki her bir pikin kütle spektrumları ve UV spektrumları, öncelikle tür sonra da familya bazında yapılan kaynak taramaları sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Çalışmalarda Pubchem, MassBank ve Dictionary of Natural Products datalarından da faydalanılmıştır (<http> 1-3).

Yapılan analizler sonucunda etkili ekstrelerdeki ana bileşenler sırasıyla şu şekildedir: E2 ekstresinde bir trimetoksiflavon olan jaseidin, E3 ekstresinde rozmarinik asit olduğu tespit edilmiştir. E3 ekstresi ve alt fraksiyonları içerdikleri rozmarinik asit oranı açısından değerlendirildiğinde; rozmarinik asit oranının E3 ekstresine göre alt fraksiyonlarda azaldığı tespit edilmiştir. Ancak rozmarinik asitin aksine globoidnan A'nın fraksiyonlama ile alt fraksiyonlarda anlamlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Kafeik asit ve türevleri

Kafeik asit, bitkiler aleminde yaygın bulunan hidroksisinnamik asit türevi polifenolik bir sekonder metabolittir. Bu fenolik bileşik, organik asit esterleri, şeker esterleri, amitler ve glikozitler olarak basit formda (monomerler) veya dimerler, trimerler ve flavonoit türevleri gibi daha karmaşık formda veya bitkilerde hücre duvarında proteinlere ve diğer polimerlere de bağlı olarak bulunabilir. Yapılan çalışmada kafeik asit ve türevleri E3, E3b ve E3c ekstrelerinde az oranda tespit edilmiş. Kaynak taramalarında bu bileşiklerin metanol ve etil asetat çözücülerini ile bitkiden ekstre edileceğine dair bilgilerin bulunması da bu görüşü desteklemektedir. Kafeik asit birçok *Origanum* türünde daha önce tanımlanmıştır. Koşar vd. (2003) YPSK/KS-KS çalışmasında standart kafeik asit kullanarak *O. minutiflorum*, *O. vulgare*, *O. onites* ve *O. syriacum* türlerinde tespit ettiği kafeik asit miktarları (mg/g) sırasıyla; 0.14, 54.00, 0.12 ve 0.21'dir.

Kafeik asitin ve türevlerinin sayısız fizyolojik etkisi *in vitro* ve *in vivo* deneylerle gösterilmiştir. Bu etkiler, antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, antiaterosklerotik, immüno stimulant, antidiyabetik, kardiyoprotektif, antiproliferatif, hepatoprotektif, antikanser ve anti-hepatosellüler karsinom aktivitedir. Kafeik asitin kanser hücreleri oluşumunda ekspresse olan MMP-2 ve MMP-9 enzimlerini de baskılayarak hepatik karsinomda etki gösterdiği tespit edilmiştir (Espindola vd., 2019).

Kafeik asitin, 5-LOX ve dolayısıyla lökotrien biyosentezini seçici olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir. Kafeik asitin 5-LOX üzerine inhibisyon ID₅₀ değeri 3.7 10⁻⁶M'dir. Ayrıca, araşidonik asit ile indüklenen trombosit agregasyonu yüksek doz kafeik asit ile inhibe edilmiştir (Yasuko vd., 1984). Renal iskemi geliştirilmiş ratlar üzerine kafeik asit ve kafeik asitin seçici COX-2 inhibitörü selekoksib ile kombinasyonunun etkisi araştırılmıştır. Kafeik asit ile kafeik asit + selekoksib kombinasyonunun böbrek koruyucu potansiyeli olduğu tespit edilmiştir. Renal iskemi patolojisinde LOX ve COX yolağı anahtar rol oynamaktadır. Kafeik asitin renal iskemideki etki mekanizmasını bu yolak üzerinden gösterebileceği bildirilmiştir (Kinra vd., 2019). Kafeik asitin ve rozmarinik

asitin analjezik ve antiinflamatuvar etkisi incelenmiştir. Kafeik asitin her iki etkiye de sahip olduğu tespit edilirken, rozmarinik asitin antiinflamatuvar etki gösterdiği ancak analjezik etki göstermediği tespit edilmiştir (Gamero vd., 2011).

Kafeik asit vücutta metabolize olarak daha hidrofilik hale gelir ve emilimi kolaylaşır (Espindola vd., 2019). Bu özellik gıda olarak kullanılan *Origanum* türlerinde az oranda da olsa bulunan kafeik asitin fizyolojik etkilerinin yanı sıra bir diğer avantajı olduğu söylenebilir.

Rozmarinik asit ve türevleri

Rozmarinik asit bir kafeik asit esteridir, diğer adı 3,4-dihidroksifenillaktik asittir. Rozmarinik asit ilk olarak *Rosmarinus officinalis* L. bitkisinden izole edilmiştir. Rozmarinik asit başta Lamiaceae familyası olmak üzere doğada sıklıkla rastlanan bileşiklerdendir (Petersen ve Simmonds, 2003; Shekarchi vd., 2012). Koşar vd. (2003) YPSK/KS-KS sisteminde standart rozmarinik asit kullanarak *O. minutiflorum*, *O. vulgare*, *O. onites* ve *O. syriacum* türlerinde tespit ettiği rozmarinik asit miktarları (mg/g) sırasıyla; 6.36, 13.25, 3.96 ve 7.84 olarak tespit edilmiştir.

Rozmarinik asitin, antioksidan, antikanser, antiviral, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antinosiseptif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antianjiyogenik aktivite gibi çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kaynak taramalarında bileşiğin antiinflamatuvar aktivitesi ile ilgili çok sayıda çalışma olduğu görülmüştür (Swarup vd., 2007; Sanbongi vd., 2003; Gamero vd., 2011; Cao vd., 2016). Bileşiğin antiinflamatuvar aktivitesinin LOX ve COX inhibisyonuna dayandığı ile ilgili çalışmalara rastlanmıştır (Nunes vd., 2017; Petersen ve Simmonds, 2003). Fareler üzerine yapılan çalışmada rozmarinik asitin otoimmün romatoid artiriti tedavi edici etkisi araştırılmış ve hücrelerde COX-2 ekspresyonunu baskıladığı tespit edilmiştir (Youn vd., 2003). Bileşiğin COX-2 enzim ekspresyonunu azaltarak antikanser aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Scheckel vd., 2008). *Prunella vulgaris* L.'in etanol ekstresinde yoğun olarak tespit edilen rozmarinik asitin COX-2 ve iNOS protein ekspresyonu üzerinde inhibisyon etki gösterdiği, saf rozmarinik asitin ise sadece COX-2 üzerinde inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Huang vd., 2009). *Thunbergia laurifolia* Lindl. yapraklarının etanol ekstresinden izole edilen rozmarinik asitin 100 mg/kg konsantrasyonda önemli antinosiseptif ve antiinflamatuvar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Rozmarinik asitin hem merkezi hem periferik antinosiseptif aktiviteye ayrıca akut ve kronik enflamasyona karşı antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu belirtilmiştir

(Boonyarikpunchai vd., 2014). Rozmarinik asitin antienflamatuvar aktivitesini MMP-9 inhibisyonu üzerinden gösterdiği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Rocha vd., 2015).

Yapılan çalışmada rozmarinik asit miktarının LOX, COX enzimler üzerinde yüksek inhibisyon gösteren ekstrelerde yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar rozmarinik asitin antienflamatuvar etkisini destekler niteliktedir.

Rozmarinik asitin intravenöz uygulamada yarılanma ömrünün kısa olduğu, farelerde çok düşük toksisite gösterdiği ve LD₅₀ değerinin 561 mg/kg⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Rozmarinik asit içeren bileşiklerin kozmetik sanayinde kullanılarak antioksidan etkilerinden dolayı kanserden koruyucu etki sağlayabileceğine dair bilgiler mevcuttur (Petersen ve Simmonds, 2003).

Metil rozmarinat E3 ve E3a ekstrelerinde tespit edilmiştir. Kaynak verilerde metil rozmarinatın antienflamatuvar etkisi rozmarinik asite göre daha yüksek bulunmuştur (Thammason vd., 2018). *Salvia palestina* Bentham'nın etil asetat ekstresinden izole edilen rozmarinik asit ve metil rozmarinatın LOX enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri sırasıyla 76.00 ve 8.20 µg/mL olarak belirlenmiştir (İçen, 2019).

Apigenin ve türevleri

Apigenin kimyasal olarak 4',5,7,-trihidroksiflavon olarak bilinen bir flavon bileşigidir. Doğal ürünlerde apigenin, apigenin-7-O-glukozit ve çeşitli asillenmiş türevleri halinde bulunmaktadır. Son zamanlarda apigeninin düşük toksisiteye sahip olması ve diğer flavonoidlere göre kanser hücreleri üzerine gösterdiği kuvvetli etkisi bileşiğe ilgiyi artırmıştır. Bileşiğin antikanser etkisinin antioksidan ve antienflamatuvar etkisinden kaynakladığı belirtilmiştir (Shukla ve Gupta, 2010; Van Dross vd., 2005). Apigeninin antienflamatuvar aktivitesi COX-2 ekspresyonunu baskılamasıyla oluştuğu belirtilmiştir (Wang vd., 2014). Bileşik diyetle alındığında sistemik olarak emilir (Shukla ve Gupta, 2010).

Apigenin, enflamasyonlu hücrelerden NO (nitrik oksit) ve sitokin salınımını azaltarak hücre canlılığını koruduğu ve sinir iltihabına karşı koruyucu etki gösterdiği için potansiyel bir antienflamatuvar olarak değerlendirilmektedir (Balez vd., 2016). *S. palaestina*'dan izole edilen apigenin ve apigenin-7-O-glukuronitin LOX üzerinde inhibisyon etki göstermediği tespit edilmiştir (İçen, 2019).

Luteolin ve türevleri

Luteolin, 3',4',5,7-tetrahidroksiflavon, bitkilerde yaygın olarak bulunan bir flavonoidtir. Luteolin farmakolojik aktiviteleri fonksiyonel olarak birbiriyle ilişkili olan

pekçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bileşiğın antienflamatuvar ve antikanser aktivitesi birbiriyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. (Lin vd., 2008). Fareler üzerinde yapılan çalışmada luteolinin *in vivo* TNF- α inhibe edici aktivite ve antienflamatuvar ve antialerjik aktivite gosterdiği saptanmıştır (Ueda vd., 2002). Kaynaklarda luteolin antienflamatuvar aktivitesini COX-2 ekspresyonunun baskılanması dahil olmak üzere pek çok yoldan gosterdiği bildirilmiştir. Luteolinin seçici COX-2 mRNA inhibitoru potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir (Seelinger vd., 2008). *Taraxacum officinale* L. bitkisinin etil asetat ekstresinin %10 oranında luteolin ve luteolin-7-*O*-glikozit içerdiği tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin 20 μ M'dan daha düşük konsantrasyonda nemli düzeyde COX-2 protein ekspresyonunu ve nitrik oksit sentazı baskıladığı belirlenmiştir (Hu ve Kitts, 2004).

Apigenin ve luteolinin antienflamatuvar etki gosterdiği ve Alzheimer dahil olmak üzere nrolojik rahatsızlıklarda nroprotektif etki gosterebileceği bildirilmiştir (Rezaizadeh vd., 2008).

Koşar vd. (2003) YPSK/KS-KS analizinde standart olarak luteolin-7-*O*-glikozit kullanmış ve *O. minutiflorum*, *O. vulgare*, *O. onites* ve *O. syriacum* türlerinde luteolin-7-*O*-glikozit miktarları (mg/g) sırasıyla; 1.70, 2.93, eser oranda ve 4.03 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan *in vivo* alışmalarda izoorientinin 15 mg/kg dozda antinosiseptif 30 mg/kg dozda antienflamatuvar etki gosterdiği tespit edilmiştir (Küpeli vd., 2004).

Kersetin ve türevleri

Kersetin, kimyasal ismi 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon olan bir flavanoldr. Kersetin ve diğer flavonoidlerin eikozanoid biyosentezini (antiprostanoide ve antienflamatuvar cevap ile) değiştirdiği, dşuk yoğunluklu lipoproteini oksidasyondan koruduğu (aterosklerotik plak oluşumunu nlediği), platelet oluşumunu nlediği (antitrombosit), kardiyovasküler düz kasının gevfemesini sağladığı (antihipertansif, antiaritmik etkiler) tespit edilmiştir. Flavonoidlerin antienflamatuvar aktivitelerinin hem LOX hem de COX yolağı üzerinden gerçekleştiğini gosteren çalışmalar mevcuttur (Kim vd., 1998). Kersetinin COX ve 5-LOX enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri sırasıyla, 16 μ M, 13.3 μ M'dır (Formica ve Regelson, 1995).

Jaseidin ve türevi trimetoksi flavonoidler

Kaynak taramalarında polihidroksi flavonoidlerin serbest radikal süpürücü etkiye, polimetoksi flavonoidlerin ise antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu gosteren çalışmalara rastlanmıştır. Polimetoksi flavonoidlerin birçok aktiviteye sahip olduğu

görülmüştür. Bir polimetoksi flavonoit türevi olan nobiletinin COX-2 ve MMP-9 enzim inhibisyon yollarında etki gösterdiği bildirilmiştir (Li vd., 2009; Lin d., 2003; Ishiwa vd., 2000).

Lignan türevi

Alt fraksiyonlarda ana bileşik olarak tespit edilen globoidnan A ((2R)-(3,4-dihidroksifenil)-2-[4- A (3, 4-dihidroksifenil) -6, 7-dihidroksi-2-naftoil]oksi propanoik asit) ilk olarak *Eucalyptus globoidna* Blakely'dan izole edilmiş ve bileşiğin HIV integras enzimi üzerinde inhibisyon gösterdiği ve IC₅₀ değerinin 0.64 µM olduğu belirlenmiştir (Ovenden vd., 2004).

Symphytum officinale L. ile ilgili antienflamatuvar aktivite çalışmasında YPSK/KS-KS analizleri ile etil asetat ekstresinde rozmarinik asit ve globoidnan A bileşiklerinin miktarının fazla olduğu belirlenmiştir (Seinger vd., 2019).

Globoidnan A ilk olarak *Eucalyptus globoidna*, *O. minutiflorum* ve *Thymus praecox* Opiz'dan izole edilmiştir. Bileşiğin HIV viral DNA'sını bir konakçı hücre DNA'ya dönüşmesini sağlayan HIV integrasın etkisini engellediği bilinmektedir. Ayrıca HeLa (insan serviks karsinomu) veya C6 (sıçan beyni tümörü) hücre hatlarına karşı anti-proliferatif aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Krzyżanowska-Kowalczyk vd., 2018). Bileşiğin ağrı ve ağrı ile ilişkili hastalıklar üzerine etkisinin araştırıldığı tespit edilmiştir (Nilsson vd., 2013).

Globoidnan A bileşiğinin fraksiyonlamayla ekstrlerdeki oranı ve aynı şekilde enzim inhibisyonu oranına paralel olarak artış göstermiştir. Bu bilgiler dâhilinde fraksiyonların enzim inhibisyonundaki etkili bileşiğinin globoidnan A olabileceği düşünülmüştür. Bileşiğin antienflamatuvar etkili olduğu ileri sürülebilir. Ancak bu yapılacak izolasyon çalışmaları sonucu elde edilecek saf bileşik ile enzim inhibisyon deneyleri tekrarlanarak doğrulanabilir. Kaynak taramalarında globoidnan A bileşiği ile ilgili çok az biyolojik aktivite çalışmasına rastlanmıştır. Bileşiğin olası etkilerinin araştırılması önem taşımaktadır.

Kaynak taramalarında megastigman bileşiklerinin aktiviteleri ile ilgili bilgilere rastlanmamıştır.

Bu tez kapsamında farmakope için *O. minutiflorum* için bir monograf ön çalışması gerçekleştirilmiş, çeşitli ekstralarının LOX ve COX enzimleri inhibisyonunun dikkate değer oranda olduğu belirlenmiştir. Bir *Origanum* türü ile COX ve MMP-9 enzim inhibisyonu araştırmaları ilk kez gerçekleştirilmiştir.

O. minutiflorum'da daha önce tespit edilen bileşikler Tablo 5.1'de, varlığı yapılan çalışma ile teyit edilen bileşikler Tablo 5.2'de, bu türde ilk defa tespit edilen bileşikler Tablo 5.3'te verilmiştir.

Tablo 5.1. *O. minutiflorum*'da daha önce tespit edilen bileşikler

(8 <i>E</i> ,16 <i>E</i>)-Tetrakoza-8,16-dien-1,24-diol
3,4-Dihidroksibenzoik Asit
4-(3,4-Dihidroksibenzoiloksimetil) fenil- β -D-Glukopiranozit
Azepan-2-on
Danşensu
Eriodiktiyol
Oleanolik asit,
Tetradekanol
Trikozan-1-ol
Ursolik asit

Tablo 5.2. *O. minutiflorum*'da varlığı teyit edilen bileşikler

Apigenin
Apigenin-7- <i>O</i> -glikozit
Globoidnan A
Kafeik asit
Luteolin
Luteolin-7- <i>O</i> -glikozit
Rozmarinik asit
Visenin-2

Tablo 5.3. *O. minutiflorum*'da ilk defa tespit edilen bileşikler

Apigenin pentozit
Apigenin pentozit-heksozit
Apigenin- <i>O</i> -heksozit
Asasetin glukuronit
İkarisit türevi
İzoorientin
Jaseidin heksozit/trimetoksi flavonoit heksoziti
Jaseidin
Kafeik asit türevi
Kersetin heksozit
Kersetin
Luteolin asetil dipentozit
Luteolin pentozit
Luteolin- <i>C</i> -dipentozit
Metil rozmarinat
Rozmarinik asit türevi
Tuberonik asit/medioresinol

Daha büyük ölçekte ekstraksiyon işlemi yapılarak enzim inhibisyonu değerlendirmeleri yapılabilir, yüksek inhibisyon gösteren fraksiyonlarda etkili bileşik/bileşiklere ulaşılabilir.

Ülkemizde ve dünyada gıdalarla birlikte yoğun olarak kullanılan türlerden biri olan *O. minutiflorum*'un bileşeni ve aktiviteleri ile ilgili çok az sayıda araştırma olması nedeniyle seçilen bu araştırmanın sonucunda elde edilen bilgilerin bitkinin tıbbi kullanımına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, G., Al Harrasi, .A., Hussain, H., Hamaed, A., Supuran, C. T. (2019). The management of diabetes mellitus-imperative role of natural products against dipeptidyl peptidase-4, α -glucosidase and sodium-dependent glucose co-transporter 2 (SGLT2). *Bioorganic Chemistry*. 86, 305-315.
- Ai, C. B., Li, L. N. (1988). Stereostructure of salvianolic acid B and isolation of salvianolic acid C from *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products*, 51 (1), 145-149.
- Albayrak, S., Aksoy, A. (2019). Phenolic contents and biological activity of endemic *Origanum minutiflorum* grown in Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53 (1), 160-170.
- Altundağ, S., Aslım, B. (2011). Effect of some endemic plants essential oils on bacterial spot of tomato. *Journal of Plant Pathology*, 37-41.
- Altundağ, S., Aslım, B., Öztürk, S. (2011). *In vitro* Antimicrobial Activities of Essential Oils from *Origanum minutiflorum* and *Sideritis erytrantha* subsp. *erytrantha* on phytopathogenic bacteria. *Journal of Essential Oil Research*, 23 (1), 4-8.
- Anlaş, C., Alkan, F. Ü., Sarı, A. B., Üstüner, O., Bakirel, T. (2017). *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. PH Davis'in terapötik potansiyelinin değerlendirilmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 31 (1), 27-32.
- Aparoy P., Reddy R. N., L. Gurupsarad, M. R. Reddy, P. Reddanna. (2008) Homology modeling of 5-lipoxygenase and hints for better inhibitor design. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22, 611-619.
- Arnold, N., Bellomaria, B., Valentini, G. (2000). Composition of the essential oil of three different species of *Origanum* in the eastern Mediterranean. *Journal of Essential Oil Research*, 12 (2), 192-196.
- Arnold, N., Bellomaria, B., Valentini, G., Arnold, H. J. (1993). Comparative study of the essential oils from three species of *Origanum* growing wild in the Eastern Mediterranean region. *Journal of Essential Oil Research*, 5 (1), 71-77.
- Arslan, M., Derviş, S. (2010). Antifungal activity of essential oils against three vegetative-compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26 (10), 1813-1821.

Aslım, B., Yücel, N. (2008). *In vitro* antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. *Food Chemistry*, 107 (2), 602-606.

Aşkun, T., Tümen, G., Satil, F., Ateş, M. (2009). *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chemistry*, 116 (1), 289-294.

Aşkun, T., Tümen, G., Satil, F., Kılıç, T. (2008). Effects of some lamiaceae species methanol extracts on potential mycotoxin producer fungi. *Pharmaceutical Biology*, 46 (10-11), 688-694.

Atak, M., Mavi, K., Üremiş, I. (2016). Bio-herbicidal effects of Oregano and Rosemary essential oils on germination and seedling growth of bread wheat cultivars and weeds. *Romanian Biotechnological Letters*, 21 (1), 11149-11159.

Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi I. (2004). *T.C. Sağlık Bakanlığı ve İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu*, Ankara.

Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi II (I-N). (2016). *T.C. Sağlık Bakanlığı ve İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu*, Ankara.

Ayvaz, A., Sağdıç, O., Karabörklü, S., Öztürk, I. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, 10, 21.

Azcan, N., Kara, M., Demirci, B., Başer, K. H. C. (2004). Fatty acids of the seeds of *Origanum onites* L. and *O. vulgare* L. *Lipids*, 39 (5), 487-489.

Balez, R., Steiner, N., Engel, M., Muñoz, S. S., Lum, J. S., Wu, Y., Sidhu, K. (2016). Neuroprotective effects of apigenin against inflammation, neuronal excitability and apoptosis in an induced pluripotent stem cell model of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 6, 31450.

Baricevic, D., Bartol, T. (2002). The biological/pharmacological activity of the *Origanum* genus. Oregano, the genera *Origanum* and *Lippia*. New York: *Taylor & Francis Inc*, 177-201.

Barreira, J. C., Dias, M. I., Živković, J., Stojković, D., Soković, M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. (2014). Phenolic profiling of *Veronica* spp. grown in mountain, urban and sandy soil environments. *Food Chemistry*, 163, 275-283.

Barros, L., Dueñas, M., Dias, M. I., Sousa, M. J., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. (2013). Phenolic profiles of cultivated, *in vitro* cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. *Food Chemistry*, 136 (1), 1-8.

Barros, L., Dueñas, M., Pinela, J., Carvalho, A. M., Buelga, C. S., Ferreira, I. C. (2012). Characterization and quantification of phenolic compounds in four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmers' varieties in northeastern Portugal homegardens. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67 (3), 229-234.

Basım, H., Turgut, K., Kaplan, B., Basım, E., Turgut, A. (2019). The potential application of *Origanum dubium* Boiss. essential oil as a seed protectant against bean and tomato seed-borne bacterial pathogens. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 18 (3), 79-86.

Basli, A., Delaunay, J. C., Pedrot, E., Bernillon, S., Madani, K., Monti, J. P., Tristan, R. (2014). New cyclolignans from *Origanum glandulosum* active against β -amyloid aggregation. *Records of Natural Products*, 8 (3), 208.

Başer, K. H. C. (2001). Her derde deva bir bitki kekik. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 402, 74-77.

Başer, K. H. C. (2002a). Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry*, 74 (4), 527-545.

Başer, K. H. C. (2002b). *The Turkish Origanum species*. In: Oregano, The genera *Origanum* and *Lippia*, Ed.: S.E.Kintzios, *Taylor and Francis*, London, pp. 109-126.

Başer, K. H. C. (2014). Türkiye'nin önemli tıbbi ve aromatik odun dışı orman ürünleri. *Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Eczacılık ve Ormanlıktaki Önemi Çalıştayı*, İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Elâzığ Orman Bölge Müdürlüğü, Malatya.

Başer, K. H. C., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Tümen, G. (1994). The essential oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish origin. *Journal of Essential Oil Research*, 6 (1), 31-36.

Başer, K. H. C., Özek, T., Tümen, G., Sezik, E. (1993). Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance. *Journal of Essential Oil Research*, 5 (6), 619-623.

Başer, K. H. C., Tümen, G., Duman, H. (1997). Essential oil of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) letswaart. *Journal of Essential Oil Research*, 9 (1), 91-92.

Başer, K. H. C., Tümen, G., Sezik, E. (1991). The essential oil of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz and PH Davis. *Journal of Essential Oil Research*, 3 (6), 445-446.

Başer, K., Kırimer, N. (2018). Essential oils of Anatolian Lamiaceae-an update. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 5 (4), 1-28.

Baydar, H. (2005). Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et P.H. Davis)'nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2) 175-178.

Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15 (3), 169-172.

Baylac, S., Racine, P. (2003). Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts. *International Journal of Aromatherapy*, 13 (2-3), 138-142.

Bayraktar, Ö. V., Öztürk, G., Arslan, D. (2017). Türkiye'de bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi ve pazarlamasındaki gelişmelerin değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26 (2), 216-229.

Bayram, E., Kırıcı, S., Tansi, S., Yılmaz, G., Kızıl, O. A. S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, 11-15.

Bayramoğlu, E. E. E. (2005). Natural and environment-friendly new bactericide for leather industry: Essential oil of *Origanum minutiflorum*. *Journal of Biological Sciences*, 5 (4), 455-457.

Baysal, T., Demirdöven, A. (2007). Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 40 (4), 491-496.

Baytop, T. (1999). Türkiye'de bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün (Therapy with medicinal plants in Turkey, past and present), *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul.

Baytop, T., Başer, K.H.C. (1995) On essential oils and aromatic waters used as medicine in Istanbul between 17th and 19th centuries. In K. H. C. Başer (ed.), *Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils*, Istanbul, Turkey, 15-19 October 1995, *AREP Publ.*, Istanbul, Vol 2, 99-107.

Benayad, Z., Gómez-Cordovés, C., Es-Safi, N. (2014). Characterization of flavonoid glycosides from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) crude seeds by

HPLC-DAD-ESI/MS analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 15 (11), 20668-20685.

Bender, O., Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Mollica, A., Ceylan, R., Molina-García, L. and Atalay, A. (2018). Integration of *in vitro* and *in silico* perspectives to explain chemical characterization, biological potential and anticancer effects of *Hypericum salsugineum*: A pharmacologically active source for functional drug formulations. *PloS one*, 13 (6), e0197815.

Bertolini, A., Ottani, A., Sandrini, M. (2001). Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal. *Pharmacological Research*, 44 (6), 437-450.

Boonyarikpunchai, W., Sukrong, S., Towiwat, P. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 124, 67-73.

Boroski, M., Giroux, H. J., Sabik, H., Petit, H. V., Visentainer, J. V., Matumoto-Pintro, P. T., Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 47 (1), 167-174.

Bostancıoğlu, R. B., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C., Koparal, A. T. (2012). Assessment of anti-angiogenic and anti-tumoral potentials of *Origanum onites* L. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (6), 2002-2008.

Boydag, İ. (1996). Üç *Origanum* türü; *Origanum majorana* L., *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis ve *Origanum onites* L. uçucu yağlarının fraksiyonlu distilasyonu (Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi).

Brada, M., Saadi, A., Wathélet, J. P., Lognay, G. (2012). The essential oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum floribundum* Munby in Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15 (3), 497-502.

Brash A.R., 1999, Lipoxygenase: Occurrence, function, catalysis, and acquisition of substrate. *Journal Biological Chemistry*, 274, 23679-23682.

Brito, A., Ramirez, J., Areche, C., Sepúlveda, B., Simirgiotis, M. (2014). HPLC-UV-MS profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of fruits from three *Citrus* species consumed in Northern Chile. *Molecules*, 19 (11), 17400-17421.

Bujor, O. C. (2016). Extraction, identification and antioxidant activity of the phenolic secondary metabolites isolated from the leaves, stems and fruits of two shrubs

of the Ericaceae family (Doctoral dissertation). University of Avignon–National Institute for Agricultural Research, Avignon, France.

Bunghez, F., Rotar, M. A., Pop, R. M., Romanciuc, F., Csernaton, F., Fetea, F., Socaciu, C. (2015). Comparative phenolic fingerprint and LC-ESI+ QTOF-MS composition of oregano and rosemary hydrophilic extracts in relation to their antibacterial effect. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 72.

Buslig, B., Manthey, J. (Eds.). (2013). Flavonoids in cell function. *Springer Science & Business Media*. Vol. 505.

Butovich, I. A., Lukyanova, S. M. (2008). Inhibition of lipoxygenases and cyclooxygenases by linoleyl hydroxamic acid: comparative in vitro studies. *Journal of Lipid Research*, 49 (6), 1284-1294.

Cai, H., Su, S., Li, Y., Zhu, Z., Guo, J., Zhu, Y., Duan, J. (2019). Danshen can interact with intestinal bacteria from normal and chronic renal failure rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1758-1771.

Cao, W., Hu, C., Wu, L., Xu, L., Jiang, W. (2016). Rosmarinic acid inhibits inflammation and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by suppression of NF- κ B signaling in H22 tumor-bearing mice. *Journal of Pharmacological Sciences*, 132 (2), 131-137.

Carroll, J. F., Demirci, B., Kramer, M., Bernier, U. R., Agramonte, N. M., Başer, K. H. C., Tabanca, N. (2017). Repellency of the *Origanum onites* L. essential oil and constituents to the lone star tick and yellow fever mosquito. *Natural product research*, 31 (18), 2192-2197.

Cavero, S., García-Risco, M. R., Marín, F. R., Jaime, L., Santoyo, S., Señoráns, F. J., Ibanez, E. (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano: chemical and functional characterization via LC-MS and *in vitro* assays. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38 (1), 62-69.

Celep, F., Dirmenci, T. (2017). Systematic and Biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 4 (4), 14-27.

Ceylan, A., Bayram, E., Geren, H. (1999). Investigation on agronomical and quality characteristics of improved clones in *Origanum* (*Origanum onites* L.) breeding. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23 (EK5), 1163-1168.

Charlier, C., Michaux, C. (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38 (7-8), 645-659.

Chen, G., Li, X., Saleri, F., Guo, M. (2016). Analysis of flavonoids in *Rhamnus davurica* and its antiproliferative activities. *Molecules*, 21 (10), 1275.

Chikha, O., Hammouda, H., Trabelsi-Ayadi, M., Guyot, S., Cherif, J. (2018). LC-ESI-MS identification of phenolic compounds from Tunisian flaxseeds (*Linum usitatissimum* L.) *Advances in Chemistry and Biochemistry Sciences*, 01-12.

Cingi, M., Kırimer, N., Sarıkardaşoğlu I., C. C., Başer, K. H. C. (1991). *Origanum onites* ve *Origanum minutiflorum* uçucu yağlarının farmakolojik etkileri. 9. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler.

Corbel, M., Belleguic, C., Boichot, E., Lagente, V. (2002). Involvement of gelatinases (MMP-2 and MMP-9) in the development of airway inflammation and pulmonary fibrosis. *Cell Biology and Toxicology*, 18 (1), 51-61.

Cosge, B., Türker, A., İpek, A., Gürbüz, B. (2009). Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart, an endemic species to Turkey. *Molecules*, 14 (5), 1702-1712.

Coutinho, I. D., Baker, J. M., Ward, J. L., Beale, M. H., Creste, S., Cavalheiro, A. J. (2016). Metabolite profiling of sugarcane genotypes and identification of flavonoid glycosides and phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (21), 4198-4206.

Cuyckens, F., Ma, Y. L., Pocsfalvi, G., Claeysi, M. (2000). Tandem mass spectral strategies for the structural characterization of flavonoid glycosides. *Analisis*, 28 (10), 888-895.

Çarıkcı, S., Kılıç, T., Özer, Z., Dirmenci, T., Arabacı, T., Gören, A. C. (2018). Quantitative determination of some phenolics in *Origanum laevigatum* Boiss extracts via validated LC-MS/MS method and antioxidant activity. *Journal Chemical Metrology*, 12, 121-127.

Çetin, H., Çilek, J. E., Aydın, L., Yanıkoğlu, A. (2009). Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 160 (3-4), 359-361.

Çetin, H., Yanıkoğlu, A. (2006). A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector ecology*, 31 (1), 118-122.

Dadalıoğlu, I., Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 8255-8260.

Davis, P. H. (1982). Flora of Turkey and East Eagean Island, Vol. 7., *Edinburgh University Press*, Edinburgh, p.297-313.

Demir, E., Kay, B., Marcos, R., Cenkeci, S. K., Çetin, H. (2013). Investigation of the genotoxic and antigenotoxic properties of essential oils obtained from two *Origanum* species by *Drosophila* wing SMART assay. *Turkish Journal of Biology*, 37 (2), 129-138.

Demirel, N., Şener, O., Arslan, M., Üremiş, I., Uluc, F. T., Çabuk, F. (2009). Toxicological responses of confused flour beetle, *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrinoidea) to various plant essential oils. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (8), 6403-6410.

Ding, H. Y., Chou, T. H., Liang, C. H. (2010). Antioxidant and antimelanogenic properties of rosmarinic acid methyl ester from *Origanum vulgare*. *Food Chemistry*, 123 (2), 254-262.

Duletić-Laušević, S., Aradski, A. A., Kolarević, S., Vuković-Gačić, B., Oalđe, M., Živković, J., Marin, P. D. (2018). Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of *Origanum majorana* L.(Lamiaceae) extracts. *J. Applied Botany and Food Quality*, 91, 126-134.

Dülgeroğlu, C., Aksoy, A. (2018). Küresel iklim değişikliğinin *Origanum minutiflorum* Schwarz & PH Davis' in coğrafi dağılımına etkisinin maksimum entropi algoritması ile tahmini. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11 (2), 182-190.

Ekin, H. N., Orhan, D. D., Orhan, İ. E., Orhan, N., Aslan, M. (2019). Evaluation of enzyme inhibitory and antioxidant activity of some Lamiaceae plants. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23 (4).

El-Demerdash, M. A., El-Shahaby, O. A., Khedr, A., Kefalas, P., El-Zayat, M. M. (2012). Antioxidant activity and phenolic profile of wild and cultivated endemic

Origanum syriacum var. *sinaicum* In Saint Catherine Protectorate, Southern Sinai *Journal of Environmental Sciences*, 41 (4), 611-621.

Ellse, L., Wall, R. (2014). The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. *Medical and Veterinary Entomology*, 28 (3), 233-243.

Elmastaş, M., Çelik, S. M., Genç, N., Akşit, H., Erenler, R., Gülçin, İ. (2018). Antioxidative activity of an anatolian herbal tea-*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International Journal of Food Properties*, 21 (1), 374-384.

Erdoğan, A., Özkan, A. (2017). Investigation of antioxidative, cytotoxic, membrane-damaging and membrane-protective effects of the essential oil of *Origanum majorana* and its oxygenated monoterpene component linalool in human-derived Hep G2 cell line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 16 (Suppl).

Erenler, R., Demirtaş, İ., Karan, T., Gül, F., Kayır, O., Karakoç, O. C. (2018). Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum onites* L. *Trends in Phytochemical Research*, 2 (2), 91-96.

Erenler, R., Meral, B., Şen, O., Elmastaş, M., Aydın, A., Eminağaoğlu, O., Topçu, G. (2017). Bioassay-guided isolation, identification of compounds from *Origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology*, 55 (1), 1646-1653.

Erenler, R., Şen, O., Akşit, H., Demirtaş, I., Yağlıoğlu, A. S., Elmastaş, M., Telci, İ. (2016a). Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96 (3), 822-836.

Erenler, R., Şen, O., Yıldız, İ., Aydın, A. (2016b). Antiproliferative activities of chemical constituents isolated from *Thymus praecox* subsp. *grossheimii* (Ronniger) Jalas. *Records of Natural Products*, 10 (6), 766.

Erler, F., Çetin, H. (2009). Components from the essential oils from two *Origanum* species as larvicides against *Euproctis chrysorrhoea* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 26 (1), 31-40.

Esen, G., Azaz, A. D., Kürkcüoğlu, M., Başer, K. H. C., Tınmaz, A. (2007). Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) letsvaart from the Marmara region, Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 22 (5), 371-376.

Espin, S., Gonzalez-Manzano, S., Taco, V., Poveda, C., Ayuda-Durán, B., Gonzalez-Paramas, A. M., Santos-Buelga, C. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red *Ecuadorian cultivars* of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chemistry*, 194, 1073-1080.

Espíndola, K. M. M., Ferreira, R. G., Narvaez, L. E. M., Silva, A. R., Silva, A. G. B., Vieira, A. P. O., Monteiro, M. C. (2019). Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 9.

European Pharmacopoeia (5th ed.). (2005). Oregano monograph 01/2005:1880. (pp. 2155e2156) Strasbourg: *Council of Europe*.

Eyles, A., Jones, W., Riedl, K., Cipollini, D., Schwartz, S., Chan, K., Bonello, P. (2007). Comparative phloem chemistry of Manchurian (*Fraxinus mandshurica*) and two North American ash species (*Fraxinus americana* and *Fraxinus pennsylvanica*). *Journal of Chemical Ecology*, 33 (7), 1430-1448.

Farag, M. A., Porzel, A., Wessjohann, L. A. (2012). Comparative metabolite profiling and fingerprinting of medicinal licorice roots using a multiplex approach of GC-MS, LC-MS and 1D NMR techniques. *Phytochemistry*, 76, 60-72.

Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1), 52-67.

Ferreres, F., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P. B., Valentão, P., Tomás-Barberán, F. A. (2007). Characterization of C-glycosyl flavones O-glycosylated by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1161 (1-2), 214-223.

Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez-Alonso, J. J., Santos-Buelga, C., Batista, M. T. (2008). *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC-PDA-ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 110 (3), 718-728.

Figueredo, G., Cabassu, P., Chalchat, J. C., Pasquier, B. (2006). Studies of Mediterranean Oregano populations. VII: chemical composition of essential oils of carvacrol-rich Oregano of various origins. *Journal of Essential Oil Research*, 18 (3), 244-249.

- Figueredo, G., Musa Özcan, M., Chalchat, J. C., Bağcı, Y., Chalard, P. (2012). Chemical composition of essential oil of *Hyssopus officinalis* L. and *Origanum acutidens*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15 (2), 300-306.
- Formica, J. V., Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33 (12), 1061-1080.
- Galasso, S., Pacifico, S., Kretschmer, N., Pan, S. P., Marciano, S., Piccolella, S., Bauer, R. (2014). Influence of seasonal variation on *Thymus longicaulis* C. Presl chemical composition and its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Phytochemistry*, 107, 80-90.
- Gamaro, G. D., Suyenaga, E., Borsoi, M., Lermen, J., Pereira, P., Ardenghi, P. (2011). Effect of rosmarinic and caffeic acids on inflammatory and nociception process in rats. *ISRN Pharmacology*, 2011, 451682-451682.
- Geng, P., Sun, J., Zhang, M., Li, X., Harnly, J. M., Chen, P. (2016). Comprehensive characterization of C-glycosyl flavones in wheat (*Triticum aestivum* L.) germ using UPLC-PDA-ESI/HRMSn and mass defect filtering. *Journal of Mass Spectrometry*, 51 (10), 914-930.
- González, M. D., Lanzelotti, P. L., Luis, C. M. (2017). Chemical fingerprinting by HPLC-DAD to differentiate certain subspecies of *Origanum vulgare* L. *Food Analytical Methods*, 10 (5), 1460-1468.
- González, M. D., Luis, C. M., Lanzelotti, P. L. (2014). Polyphenolic profile of *Origanum vulgare* L. ssp. *viridulum* from Argentina. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 83 (1), 179-184.
- Görmez, Ö., Diler, Ö. (2017). Balık patojenlerine karşı bazı bitkisel uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi. *Yalvaç Akademi Dergisi*, 2 (1), 112-122.
- Göze, İ., Alim, A., Ercan, N., Vural, N. (2016). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities and chemical composition of essential oils of the leaf and flower of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. PH Davis. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1 (2), 19-24.
- Göze, İ., Çetin, A., Göze, A. (2010). Investigation of effects of essential oils of *Origanum minutiflorum* O Schwarz et PH Davis and *Cyclotrichium niveum* (Labiatae) plants on angiogenesis in shell-less chick embryo culture. *African Journal of Biotechnology*, 9 (14), 2156-2160.

Grevsen, K., Frette, X. C., Christensen, L. P. (2009). Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate. *European Journal of Horticultural Science*, 74 (5), 193.

Guan, Z., Li, S., Lin, Z., Yang, R., Zhao, Y., Liu, J., Chen, A. (2014). Identification and quantitation of phenolic compounds from the seed and pomace of *Perilla frutescens* using HPLC/PDA and HPLC–ESI/QTOF/MS/MS. *Phytochemical Analysis*, 25 (6), 508-513.

Gutierrez, F. R. S., Lalu, M. M., Mariano, F. S., Milanezi, C. M., Jonathan, C., Gerlach, R. F., Silva, J. S. (2008). Increased activities of cardiac matrix metalloproteinases matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 are associated with mortality during the acute phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 197 (10), 1468-1476.

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Picos-Salas, M. A., Leyva-López, N., Criollo-Mendoza, M. S., Vazquez-Olivo, G., Heredia, J. B. (2018). Flavonoids and phenolic acids from Oregano: occurrence, biological activity and health benefits. *Plants*, 7 (1), 2.

Güleç, A. K., Erecevit, P., Yüce, E., Arslan, A., Bağcı, E., Kırbağ, S. (2014). Antimicrobial activity of the methanol extracts and essential oil with the composition of endemic *Origanum acutidens* (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17 (2), 353-358.

Güllüce, M., Karadayı, M., Güvenalp, Z., Özbek, H., Arasoğlu, T., Barış, O. (2012). Isolation of some active compounds from *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and determination of their genotoxic potentials. *Food Chemistry*, 130 (2), 248-253.

Gülsoy-Toplan, G., Göger, F., Yıldız-Pekoz, A., Gibbons, S., Sarıyar, G., Mat, A. (2018). Chemical Constituents of the Different Parts of *Colchicum micranthum* and *C. chalcedonicum* and their cytotoxic activities. *Natural Product Communications*, 13 (5), 1934578X1801300506.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T. (2012). Türkiye bitkileri listesi. (Damarlı Bitkiler), *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, (s 262).

Gürbüz, P., Martinez, A., Pérez, C., Martínez-González, L., Göger, F., Ayran, İ. (2019). Potential anti-Alzheimer effects of selected Lamiaceae plants through

polypharmacology on glycogen synthase kinase-3 β , β -secretase, and casein kinase 1 δ . *Industrial Crops and Products*, 138, 111431.

Halade, G. V., Jin, Y. F., Lindsey, M. L. (2013). Matrix metalloproteinase (MMP)-9: a proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation. *Pharmacology & Therapeutics*, 139 (1), 32-40.

Hawas, U. W., El-Desoky, S. K., Kawashty, S. A., Sharaf, M. (2008). Two new flavonoids from *Origanum vulgare*. *Natural Product Research*, 22 (17), 1540-1543.

Hofmann, T., Nebehaj, E., Albert, L. (2016). Antioxidant properties and detailed polyphenol profiling of European hornbeam (*Carpinus betulus* L.) leaves by multiple antioxidant capacity assays and high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometry. *Industrial Crops and Products*, 87, 34

Hossain, M. B., Camphuis, G., Aguiló-Aguayo, I., Gangopadhyay, N., Rai, D. K. (2014). Antioxidant activity guided separation of major polyphenols of marjoram (*Origanum majorana* L.) using flash chromatography and their identification by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 37 (22), 3205-3213.

Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. P., Martin-Diana, A. B., Barry-Ryan, C. (2010). Characterization of phenolic composition in Lamiaceae spices by LC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (19), 10576-10581.

Hu, C., Kitts, D. D. (2004). Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264. 7 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265 (1-2), 107-113.

Huang, N., Hauck, C., Yum, M. Y., Rizshsky, L., Widrlechner, M. P., McCoy, J. A., Birt, D. F. (2009). Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 and nitric oxide in RAW 264.7 mouse macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (22), 10579-10589.

Huis, R., Morreel, K., Fliniaux, O., Lucau-Danila, A., Fénart, S., Grec, S., Hawkins, S. (2012). Natural hypolignification is associated with extensive oligolignol accumulation in flax stems. *Plant Physiology*, 158 (4), 1893-1915.

Ibrahim, R. M., El-Halawany, A. M., Saleh, D. O., El Naggar, E. M. B., El-Shabrawy, A. E. R. O., El-Hawary, S. S. (2015). HPLC-DAD-MS/MS profiling of phenolics from *Securigera securidaca* flowers and its anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25 (2), 134-141.

Ietswaart, J. H. (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (*Labiatae*) *The Hague: Leiden University Press*. Vol. 4, p. 158.

Ishiwa, J., Sato, T., Mimaki, Y., Sashida, Y., Yano, M., Ito, A. (2000). A citrus flavonoid, nobiletin, suppresses production and gene expression of matrix metalloproteinase 9/gelatinase B in rabbit synovial fibroblasts. *The Journal of Rheumatology*, 27 (1), 20-25.

Islam, M. N., Downey, F., Ng, C. K. Y. (2013). Comprehensive profiling of flavonoids in *Scutellaria incana* L. using LC-Q-TOF-MS. *Acta Chromatogr*, 25 (3), 555-569.

İçen, M.S. (2019). *Salvia palaestina* Benth. bitkisinin lipoksijenaz enzimi üzerindeki etkisinin araştırılması. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi, İnönü Üniversitesi ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri.

Justesen, U. (2000). Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation mass spectrometry for the characterisation of flavonoits in extracts of fresh herbs. *Journal of Chromatography A*, 902 (2), 369-379.

Kang, J., Price, W. E., Ashton, J., Tapsell, L. C., Johnson, S. (2016). Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of *Sorghum wholegrains* by LC-ESI-MSn. *Food Chemistry*, 211, 215-226.

Kaplan, B., Turgut, K. Chemical diversity of essential oils within the population of *Origanum dubium* Boiss. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 6 (4), 6-12.

Kapp, K., Hakala, E., Orav, A., Pohjala, L., Vuorela, P., Püssa, T., Raal, A. (2013). Commercial peppermint (*Mentha× piperita* L.) teas: Antichlamydial effect and polyphenolic composition. *Food Research International*, 53 (2), 758-766.

Karabörklü, S., Ayvaz, A., Yılmaz, S., Akbulut, M. (2011). Chemical composition and fumigant toxicity of some essential oils against *Ephestia kuehniella*. *Journal of Economic Entomology*, 104 (4), 1212-1219.

Karik, Ü., Tınmaz, A. B., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., Tümen, G. (2007). İstanbul kekiği (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*) populasyonlarında farklı biçim zamanlarının verim ve kaliteye etkileri. *Bahçe*, 36 (1), 37-48.

Karioti, A., Milosevic-Ifantis, T., Pachopos, N., Niryiannaki, N., Hadjipavlou-Litina, D., Skaltsa, H. (2015). Antioxidant, anti-inflammatory potential and chemical

constituents of *Origanum dubium* Boiss. growing wild in Cyprus. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30 (1), 38-43.

Karioti, A., Vrahimi-Hadjilouca, T., Droushiotis, D., Rancic, A., Hadjipavlou-Litina, D., Skaltsa, H. (2006). Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*, 72 (14), 1330-1334.

Kawabata, J., Mizuhata, K., Sato, E., Nishioka, T., Aoyama, Y., Kasai, T. (2003). 6-Hydroxyflavonoids as α -glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67 (2), 445-447.

Kesebir, A. Ö., Kılıç, D., Küfrevioğlu, Ö. (2019). Lipoksigenaz enziminin sığır karaciğerinden kısmi saflaştırılması, karakterizasyonu, salisilik asitin ve bazı flavonların enzim üzerine etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (3), 1452-1459.

Kılıçgün, H., Korkmaz, M. (2014). Hepatoprotective and antidiabetic activity of *Origanum minutiflorum* grown wild in Turkey. *Bothalia Journal*, 44, 3.

Kırimer, N., Başer, K. H. C., Tümen, G. (1995). Carvacrol-rich plants in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 31 (1), 37-41.

Kızıllı, S., İpek, A., Arslan, N., Khawar, K. M. (2009). Some agronomical characteristics and essential oil content of Oregano (*Origanum onites* L.) as influenced by planting densities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12 (2), 172-180.

Kikuzaki, H., Nakatani, N. (1989). Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*, 53 (2), 519-524.

Kim, H. P., Mani, I., Iversen, L., Ziboh, V. A. (1998). Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58 (1), 17-24.

Kinra, M., Arora, D., Mudgal, J., Pai, K. S. R., Rao, C. M., Nampoothiri, M. (2019). Effect of caffeic acid on ischemia-reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Pharmacology*, 103 (5-6), 315-319.

Kivilompolo, M., Oburka, V., Hyötyläinen, T. (2007). Comparison of GC-MS and LC-MS methods for the analysis of antioxidant phenolic acids in herbs. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388 (4), 881-887.

Koca, S. B., Çevikbaş, M. (2015). Antifungal effect of *Origanum onites* essential oil as an alternative to formalin in the artificial incubation of narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Aquaculture Research*, 46 (9), 2204-2210.

Koenig, W.A., Joulain, D., Hochmuth, D.H. (2004). Terpenoids and related constituents of essential oils, MassFinder 3, D. H. Hochmuth (ed.), Hamburg, Germany.

Kokkini, S., Karousou, R., Hanlidou, E., Lanaras, T. (2004). Essential oil composition of Greek (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) and Turkish (*O. onites*) Oregano: a tool for their distinction. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (4), 334-338.

Kordalı, S., Çakır, A., Özer, H., Çakmakçı, R., Kesdek, M., Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and *p*-cymene. *Bioresource Technology*, 99 (18), 8788-8795.

Korn, S. J., Horn, Richard. (1990). Nordihydroguaiaretic acid inhibits voltage-activated Ca^{2+} currents independently of lipoxygenase inhibition. *Molecular Pharmacology*, 38 (4), 524-530.

Koşar, M., Dorman, H. J. D., Bachmayer, O., Başer, K. H. C., Hiltunen, R. (2003). An improved on-line HPLC-DPPH method for the screening of free radical scavenging compounds in water extracts of Lamiaceae plants. *Chemistry of Natural Compounds*, 39 (2), 161-166.

Koukoulitsa, C., Karioti, A., Bergonzi, M. C., Pescitelli, G., Di Bari, L., Skaltsa, H. (2006). Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* growing wild in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (15), 5388-5392.

Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H., Oreopoulou, V. (2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8 (2), 155-162.

Kowalski, R., Kowalska, G., Jankowska, M., Nawrocka, A., Kałwa, K., Pankiewicz, U., Włodarczyk-Stasiak, M. (2019). Secretory structures and essential oil composition of selected industrial species of Lamiaceae. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 8, 2.

Koyuncu O., Yaylacı Ö. K., Öztürk D., Erkara İ. P., Savaroğlu F., Akçoşkun Ö., Ardiç M. (2010). Osmaneli (Bilecik-Türkiye) ve çevresinde doğal yayılış gösteren

Lamiaceae taksonlarının risk kategorileri ve etnobotanik özellikleri, *Biological Diversity and Conservation*, 3 (3), 31-45.

Krzyżanowska-Kowalczyk, J., Pecio, Ł., Moldoch, J., Ludwiczuk, A., Kowalczyk, M. (2018). Novel phenolic constituents of *Pulmonaria officinalis* L. LC-MS/MS comparison of spring and autumn metabolite profiles. *Molecules*, 23 (9), 2277.

Küpeli, E., Aslan, M., Gürbüz, I., Yeşilada, E. (2004). Evaluation of *in vivo* biological activity profile of isoorientin. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59 (11-12), 787-790.

Landa, P., Kokoska, L., Pribylova, M., Vanek, T., Marsik, P. (2009). *In vitro* anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E 2 biosynthesis. *Archives of Pharmacal Research*, 32 (1), 75-78.

Lee, C. J., Chen, L. G., Chang, T. L., Ke, W. M., Lo, Y. F., Wang, C. C. (2011). The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry*, 124 (3), 833-841.

Lee, H. M., Ciancio, S. G., Tuter, G., Ryan, M. E., Komaroff, E., Golub, L. M. (2004). Subantimicrobial dose doxycycline efficacy as a matrix metalloproteinase inhibitor in chronic periodontitis patients is enhanced when combined with a non-steroidal anti-inflammatory drug. *J Periodontol* 75, 453–463.

Lehtijärvi, H. D. (2006). Antifungal effect of essential oils from some Turkish herbs against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Phytopathologia Mediterranea*, 45 (3), 261-265.

Li, S., Pan, M. H., Lo, C. Y., Tan, D., Wang, Y., Shahidi, F., Ho, C. T. (2009). Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones. *Journal of Functional Foods*, 1 (1), 2-12.

Limongelli, V., Bonomi, M., Marinelli, L., Gervasio, F. L., Cavalli, A., Novellino, E., Parrinello, M. (2010). Molecular basis of cyclooxygenase enzymes (COXs) selective inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (12), 5411-5416.

Lin, C. C., Yang, C. H., Wu, P. S., Kwan, C. C., Chen, Y. S. (2011). Antimicrobial, anti-tyrosinase and antioxidant activities of aqueous aromatic extracts from forty-eight selected herbs. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (26), 6203-6209.

Lin, L. Z., Mukhopadhyay, S., Robbins, R. J., Harnly, J. M. (2007). Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20 (5), 361-369.

Lin, N., Sato, T., Takayama, Y., Mimaki, Y., Sashida, Y., Yano, M., Ito, A. (2003). Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages. *Biochemical Pharmacology*, 65 (12), 2065-2071.

Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H. M. (2008). Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 8 (7), 634-646.

Liu, H., Zheng, A., Liu, H., Yu, H., Wu, X., Xiao, C. and Tang, H. (2011). Identification of three novel polyphenolic compounds, origanine A-C, with unique skeleton from *Origanum vulgare* L. using the hyphenated LC-DAD-SPE-NMR/MS methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (1), 129-135.

Loizzo, M. R., Menichini, F., Conforti, F., Tundis, R., Bonesi, M., Saab, A. M., Frega, N. G. (2009). Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chemistry*, 117 (1), 174-180.

Lukas, B., Samuel, R., Mader, E., Başer, K. H. C., Duman, H., Novak, J. (2013). Complex evolutionary relationships in *Origanum* section Majorana (Lamiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171 (4), 667-686.

Mahomoodally, M. F., Zengin, G., Aladağ, M. O., Özparlak, H., Diuzheva, A., Jekő, J., Aumeeruddy, M. Z. (2019). HPLC-MS/MS chemical characterization and biological properties of *Origanum onites* extracts: a recent insight. *International Journal of Environmental Health Research*, 29 (6), 607-621.

Mahtaj, L. G., Feizpour, A., Kianmehr, M., Soukhtanloo, M., Boskabady, M. H. (2015). The effect of carvacrol on systemic inflammation in guinea pigs model of COPD induced by cigarette smoke exposure. *Pharmacological Reports*, 67 (1), 140-145.

Malakov, P., Papanov, G., Mollov, N. M., Spassov, S. L. (1978). Montanin-D, a New Furanoid Diterpene of Clerodane Type from *Teucrium montanum* L. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 33 (10), 1142-1144.

Maral, H., Türk, M., Çalışkan, T., Kırıcı, S. (2017) Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of six Lamiaceae plants growing in Southern Turkey. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 4 (4), 62-68.

Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., Ferreira, I. C. (2014). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L. different

performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food Chemistry*, 158, 73-80.

Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., Ferreira, I. C. (2015). Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, 170, 378-385.

Marzouk, M. M., Hussein, S. R., Elkhateeb, A., El-shabrawy, M., Abdel-Hameed, E. S. S., Kawashty, S. A. (2018). Comparative study of *Mentha* species growing wild in Egypt: LC-ESI-MS analysis and chemosystematic significance. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8 (08), 116-122.

Mashima, R., Okuyama, T. (2015). The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. *Redox Biology*, 6, 297-310.

Matei, A. O., Gatea, F., Radu, G. L. (2015). Analysis of phenolic compounds in some medicinal herbs by LC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 53 (7), 1147-1154.

Materska, M. (2015). Flavone C-glycosides from *Capsicum annuum* L.: relationships between antioxidant activity and lipophilicity. *European Food Research and Technology*, 240 (3), 549-557.

Matsunami, K., Otsuka, H., Takeda, Y., Miyase, T. (2010). Reinvestigation of the absolute stereochemistry of megastigmane glucoside, icariside B5. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58 (10), 1399-1402.

McLafferty, F.W., Stauffer, D.B. (1989). The wiley/NBS registry of mass spectral data, J. Wiley and Sons, New York.

Mena, P., Cirlini, M., Tassotti, M., Herrlinger, K., Dall'Asta, C., Del Rio, D. (2016). Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acids, terpenoids, and volatile fraction of a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *Molecules*, 21 (11), 1576.

Miron, T. L., Herrero, M., Ibáñez, E. (2013). Enrichment of antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis*) by pressurized liquid extraction and enzyme-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1288, 1-9.

Mitchell, J. A., Akarasereenont, P., Thiemermann, C., Flower, R. J., Vane, J. R. (1993). Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (24), 11693-11697.

Morreel, K., Kim, H., Lu, F., Dima, O., Akiyama, T., Vanholme, R., Ralph, J. (2010). Mass spectrometry-based fragmentation as an identification tool in lignomics. *Analytical Chemistry*, 82 (19), 8095-8105.

Morsy, M. K., Khalaf, H. H., Sharoba, A. M., El-Tanahi, H. H., Cutter, C. N. (2014). Incorporation of essential oils and nanoparticles in pullulan films to control foodborne pathogens on meat and poultry products. *Journal of Food Science*, 79 (4).

Mossa, A. T. H., Nawwar, G. A. M. (2011). Free radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of *Origanum majorana* L. essential oil. *Human & Experimental Toxicology*, 30 (10), 1501-1513.

Mueller-Riebau, F., Berger, B., Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (8), 2262-2266.

Murai, Y., Kitajima, J., Iwashina, T. (2019). C-Glycosylflavones from the leaves and flowers of *Gentiana algida* in Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series. B*, 45(2), pp. 87–92.

Nabet, N., Gilbert-López, B., Madani, K., Herrero, M., Ibáñez, E., Mendiola, J. A. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction recovery of bioactive compounds from *Origanum glandulosum* and *Thymus fontanesii*. *Industrial Crops and Products*, 129, 395-404.

Nakatani, N., Kikuzaki, H. (1987). A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*, 51 (10), 2727-2732.

Nilsson, H., Mcmanus, S., Muhamed, A. (2013) Use of compounds for the treatment of pain. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (Pct). World Intellectual Property. Organization I International Bureau International Publication Number. International Publication Date WO 2013/167743 Al. 14 November 2013.

Nunes, S., Madureira, A. R., Campos, D., Sarmiento, B., Gomes, A. M., Pintado, M., Reis, F. (2017). Therapeutic and nutraceutical potential of rosmarinic acid- Cytoprotective properties and pharmacokinetic profile. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (9), 1799-1806.

Oflaz, S. (2001). Ticari *Origanum* türlerinin farmakognozik araştırmaları. Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi.

Ok, E., Adanır, N., Hakkı, S. (2015b). Comparison of cytotoxicity of various concentrations *Origanum* extract solution with 2 % chlorhexidine gluconate and 5.25 % sodium hypochlorite. *European Journal of Dentistry*, 9 (1), 6.

Ok, E., Adanır, N., Öztürk, T. (2015a). Antibacterial and smear layer removal capability of oregano extract solution. *European Journal of Dentistry*, 9 (1), 20.

Oniga, I., Pușcaș, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Olah, N. K., Sevastre, B., Marica, R., Hanganu, D. (2018). *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies. *Molecules*, 23 (8), 2077.

Orhan, İ. E., Belhatab, R., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Hoşbaş, S., Kartal, M. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32 (3), 566-571.

Orhan, İ. E., Özçelik, B., Kan, Y., Kartal, M. (2011). Inhibitory effects of various essential oils and individual components against extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) produced by *Klebsiella pneumoniae* and their chemical compositions. *Journal of Food Science*, 76 (8), M538-M546.

Orhan, İ., Kartal, M., Kan, Y., Şener, B. (2008). Activity of essential oils and individual components against acetyl and butyrylcholinesterase. *Zeitschrift fuer Naturforschung C*, 63 (7-8), 547-553.

Ormancılık Sektörü Raporu 2019. tocabirsen.org.tr

Otlowska, O., Ślebioda, M., Kot-Wasik, A., Karczewski, J., Śliwka-Kaszyńska, M. (2018). Chromatographic and spectroscopic identification and recognition of natural dyes, uncommon dyestuff components, and mordants: *Case Study of a 16th Century Carpet with Chintamani Motifs*. *Molecules*, 23 (2), 339.

Ouellet, M., Percival, M. D. (1995). Effect of inhibitor time-dependency on selectivity towards cyclooxygenase isoforms. *Biochemical Journal*, 306 (1), 247-251.

Ovenden, S. P., Yu, J., San Wan, S., Sberna, G., Tait, R. M., Rhodes, D., Meurer-Grimes, B. M. (2004). Globoidnan A: a lignan from *Eucalyptus globoides* inhibits HIV integrase. *Phytochemistry*, 65 (24), 3255-3259.

Öke, F., Aslım, B. (2010). Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (6), 1728-1733.

Öz, E., Çetin, H., Yanıkoğlu, A. (2012). Chemical composition and fumigant activity of essential oils of three Lamiaceae species against German Cockroach (*Blattella germanica* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 21 (6a), 1571-1577.

Özcan, M. M., Pedro, L. G., Al-Juhaimi, F., Endes, Z., Erol, A. S., Duman, E., Er, F. (2012). Constituents of the essential oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* growing wild in Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15 (4), 572-576.

Özen, F., Ekinci, F. Y., Korachi, M. (2014). The inhibition of *Helicobacter pylori* infected cells by *Origanum minutiflorum*. *Industrial Crops and Products*, 58, 329-334.

Özgen, U., Karaoğlan, E. S., Kazaz, C. (2010). Phytochemical studies on the aerial parts of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae). *Planta Medica*, 76 (12), P301.

Özgüven M., S. Sekin, B. Gürbüz, N. Şekeroğlu, F. Ayanoğlu, S. Erken. (2005). Tütün, tıbbi ve aromatik bitkiler üretimi ve ticareti. VI. Türkiye Ziraat Mühendisleri Teknik Kongresi Bildiri Kitabı, Cilt.1: 481-501, Ankara.

Özkan, G., Baydar, H., Erbaş, S. (2010). The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish Oregano (*Origanum onites* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (2), 205-209.

Özkan, O., Aydemir, I., Sari, İ., Dönmez, G., Kırık, F. E., Savran, A., Tuğlu, M. İ. (2017). Investigation of cytotoxic effect of *Origanum minutiflorum* on cancer cells. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, 1 (10), 991.

Özkan, O., Özbey, C., Aydemir, I., Sari, İ., Dönmez, G., Kırık, F. E., Tuğlu, M. İ. (2019). Kanser hücreleri üzerine *Origanum minutiflorum*'un Sitotoksik Etkisinin Araştırılması. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (2), 74-80.

Özkum D., Kürçüoğlu M., Tipirdamaz R., Başer K. H. C. (2010). Essential oils from wild and micropropagated plants of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et Davis, *Journal of Essential Oil Research*, 22, 135-137.

Özkum, D. (2007). *In vitro* shoot regeneration of Oregano (*Origanum minutiflorum* Schwarz & Davis). *Hacettepe J. Biology and Chemistry*, 35 (2), 97-100.

Öztürk M., Temel M., Tınmaz A. B. (2014). Türkiye'de kekik üretim ve pazarlaması, II. *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu 23-25 Eylül 2014*, Yalova.

Pang, H. H., Jiang, M. F., Wang, Q. H., Wang, X. Y., Gao, W., Tian, Z. H., Huang, J. M. (2018). Metabolic profile of danshen in rats by HPLC-LTQ-Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 19 (3), 227-244.

Parejo, I., Caprai, E., Bastida, J., Viladomat, F., Jáuregui, O., Codina, C. (2004a). Investigation of *Lepechinia graveolens* for its antioxidant activity and phenolic composition. *Journal of Ethnopharmacology*, 94 (1), 175-184.

Parejo, I., Jauregui, O., Sánchez-Rabameda, F., Viladomat, F., Bastida, J., Codina, C. (2004b). Separation and characterization of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (12), 3679-3687.

Pereira, O. R. (2013). Characterization of phenolic constituents of medicinal plants and evaluation of pharmacological activities: focus in antioxidant and anti-inflammatory properties (Doctoral dissertation, Universidad de Salamanca).

Pereira, O. R., Silva, A. M., Domingues, M. R., Cardoso, S. M. (2012). Identification of phenolic constituents of *Cytisus multiflorus*. *Food Chemistry*, 131 (2), 652-659.

Petersen, M., Simmonds, M. S. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62 (2), 121-125.

Piasecka, A., Sawikowska, A., Krajewski, P., Kachlicki, P. (2015). Combined mass spectrometric and chromatographic methods for in-depth analysis of phenolic secondary metabolites in barley leaves. *Journal of Mass Spectrometry*, 50 (3), 513-532.

Plazonić, A., Bucar, F., Maleš, Ž., Mornar, A., Nigović, B., Kujundžić, N. (2009). Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Molecules*, 14 (7), 2466-2490.

Proestos, C., Sereli, D., Komaitis, M. (2006). Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food chemistry*, 95 (1), 44-52.

Rao, G. V., Mukhopadhyay, T., Annamalai, T., Radhakrishnan, N., Sahoo, M. R. (2011). Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn. *Pharmacognosy Research*, 3 (2), 143.

Reich, E., Schibli, A. (2007). High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. *Thieme*.

Rezai-Zadeh, K., Ehrhart, J., Bai, Y., Sanberg, P. R., Bickford, P., Tan, J., Shytle, R. D. (2008). Apigenin and luteolin modulate microglial activation via inhibition of STAT1-induced CD40 expression. *Journal of Neuroinflammation*, 5 (1), 41.

Robinson, D. S., Wu, Z., Domoney, C., Casey, R. (1995). Lipoxygenases and the quality of foods. *Food Chemistry*, 54 (1), 33-43.

Rocha, J., Eduardo-Figueira, M., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., Bronze, R., Fernandes, E. (2015). Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 116 (5), 398-413.

Roriz, C. L., Barros, L., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. (2014). *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A phytochemical study focused on antioxidant compounds. *Food Research International*, 62, 684-693.

Rouzer, C. A., Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of Lipid Research*, 50 (Supplement), S29-S34.

Roy, R., Yang, J., Moses, M. A. (2009). Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *Clin Oncol* 27 (31), 5287-5297.

Russo, M., Galletti, G. C., Bocchini, P., Carnacini, A. (1998). Essential oil chemical composition of wild populations of Italian Oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (9), 3741-3746.

Saçan, O., Turhan, E. Y. (2014). Lipoxygenase inhibitory activities of some plant extracts and chemical compounds. *European Journal of Biology*, 73 (2), 47-52.

Saldanha, L., Vilegas, W., Dokkedal, A. (2013). Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* cambess. Using FIA-ESI-IT-MSn and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. *Molecules*, 18 (7), 8402-8416.

Sampson, B. J., Tabanca, N., Kırimer, N., Demirci, B., Başer, K. H. C., Khan, I. A., Wedge, D. E. (2005). Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis)(Aphididae: Homoptera). *Pest Management Science*, 61 (11), 1122-1128.

Sanbongi, C., Takano, H., Osakabe, N., Sasa, N., Natsume, M., Yanagisawa, R., Yoshikawa, T. (2003). Rosmarinic acid inhibits lung injury induced by diesel exhaust particles. *Free Radical Biology and Medicine*, 34 (8), 1060-1069.

Sánchez-Rabaneda, F., Jauregui, O., Lamuela-Raventos, R. M., Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C. (2003). Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1008 (1), 57-72.

Sarı, A. B., Üstüner-Aydal, O. (2018). Antioxidant and immunostimulant effects of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P.H. Davis in rainbow trout. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27 (2), 1013-1021.

Sarı, İ., Dönmez, G., Kırık, F. E., Aydemir, I., Özkan, O., Savran, A., Tuğlu, M. İ. (2017). The Neurotoxic Effects of *Origanum minutiflorum*. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, 1 (10), 1026.

Sarıkürkçü, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R., Aktümsek, A. (2015). Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70, 178-184.

Saygın, H., Saraç, B. (2019). Scavenging effect, chemical composition and antispasmodic activity of the essential oil of *Origanum onites* L. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7 (12), 2137-2141.

Scheckel, K. A., Degner, S. C., Romagnolo, D. F. (2008). Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1-dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines. *The Journal of Nutrition*, 138 (11), 2098-2105.

Schoeneborn, R., Mues, R. (1993). Flavone di-C-glycosides from *Plagiochila jamesonii* and *Plagiochasma rupestre*. *Phytochemistry*, 34 (4), 1143-1145.

Schulz, H., Özkan, G., Baranska, M., Krüger, H., Özcan, M. (2005). Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 39 (2), 249-256.

Seelinger, G., Merfort, I., Schempp, C. M. (2008). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Medica*, 74 (14), 1667-1677.

Seigner, J., Junker-Samek, M., Plaza, A., D'Urso, G., Masullo, M., Piacente, S., de Martin, R. (2019). A *Symphytum officinale* root extract exerts anti-inflammatory

properties by affecting two distinct steps of NF- κ B signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 10.

Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*, 30 (3), 395-402.

Sertkaya, E., Kaya, K., Soylu, S. (2010). Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 31 (1), 107-112

Seydim, A. C., Sarıkuş, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 9 (5), 639-644.

Sezen Karaoğlan, E. (2011). Bazı *Origanum* türleri üzerinde farmakognozik çalışmalar. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Sezik, E., Tümen, G., Kırımer, N., Özek, T., Başer, K. H. C. (1993). Essential oil composition of four *Origanum vulgare* subspecies of Anatolian origin. *Journal of Essential Oil Research*, 5 (4), 425-431.

Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (20), 7749-7759.

Shao, X., Zhao, J., Wang, X., Tao, Y. (2018). Rapid screening and quantitative determination of active components in qing-hua-yu-re-formula using UHPLC-Q-TOF/MS and HPLC-UV. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*.

Shekarchi, M., Hajimehdipoor, H., Saeidnia, S., Gohari, A. R., Hamedani, M. P. (2012). Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacognosy Magazine*, 8 (29), 37.

Shen, D., Pan, M. H., Wu, Q. L., Park, C. H., Juliani, H. R., Ho, C. T., Simon, J. E. (2010). LC-MS method for the simultaneous quantitation of the anti-inflammatory constituents in oregano (*Origanum* species). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (12), 7119-7125.

Shitamoto, J., Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Shinzato, T., Takeda, Y. (2011). Tricalysionoside A, a megastigmane gentiobioside, sulfatricalysines A-F, and

tricalysiosides X-Z, ent-kaurane glucosides, from the leaves of *Tricalysia dubia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59 (1), 72-77.

Shukla, S., Gupta, S. (2010). Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharmaceutical Research*, 27 (6), 962-978.

Simirgiotis, M. J., Schmeda-Hirschmann, G., Bórquez, J., Kennelly, E. J. (2013). The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) fruit: A source of bioactive flavonoid C-glycosides isolated by HSCCC and characterized by HPLC-DAD-ESI/MS/MS. *Molecules*, 18 (2), 1672-1692.

Simirgiotis, M., Benites, J., Areche, C., Sepúlveda, B. (2015). Antioxidant capacities and analysis of phenolic compounds in three endemic *Nolana* species by HPLC-PDA-ESI-MS. *Molecules*, 20 (6), 11490-11507.

Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (5), 1202-1205.

Skaltsa, H., Harvala, C. (1987). Chemical study of *Origanum dictamnus* L. Part 2. Leaf glucosides. *Planta Med Phytother*; 21, 56-62.

Skoula, M., Grayer, R. J., Kite, G. C., Veitch, N. C. (2008). Exudate flavones and flavanones in *Origanum* species and their interspecific variation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36 (8), 646-654.

Sobeh, M., ElHawary, E., Peixoto, H., Labib, R. M., Handoussa, H., Swilam, N., Linscheid, M. W. (2016). Identification of phenolic secondary metabolites from *Schotia brachypetala* Sond.(Fabaceae) and demonstration of their antioxidant activities in *Caenorhabditis elegans*. *PeerJ*, 4, e2404.

Sokat, Y. (2019). Denizli ve Manisa illeri kekik (*Origanum onites*) fideliklerinde bulunan yabancı ot türleri, yoğunlukları ve rastlanma sıklıkları. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6 (4), 808-813.

Souleles, C. (1990). The flavonoids of *Origanum dubium*. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 24 (3), 175-178.

Spínola, V. A. R. (2018). Nutraceuticals and functional foods for diabetes and obesity control. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Portekiz.

Spínola, V., Pinto, J., Castilho, P. C. (2015). Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD-ESI-MSn and screening for their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 173, 14-30.

Stanoeva, J. P., Stefova, M., Andonovska, K. B., Stafilov, T. (2017). LC/DAD/MS and ICP-AES assay and correlations between phenolic compounds and toxic metals in endemic *Thymus alsarensis* from the thallium enriched allchar locality. *Natural Product Communications*, 12 (2), 1934578X1701200206.

Subramaniyan, J., Krishnan, G., Balan, R., Divya, M. G. J., Ramasamy, E., Ramalingam, S., Thiruvengadam, D. (2014). Carvacrol modulates instability of xenobiotic metabolizing enzymes and downregulates the expressions of PCNA, MMP-2, and MMP-9 during diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 395 (1-2), 65-76.

Sun, Q. Y., Zhou, H. H., Mao, X. Y. (2019). Emerging roles of 5-lipoxygenase phosphorylation in inflammation and cell death. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

Süntar, I., Akkol, E. K., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K. H. C., Yeşilada, E. (2011). A novel wound healing ointment: a formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 134 (1), 89-96.

Sütçüler Orman İşletme Şefliği 2018 (Sütçüler Orman İşletmesi 2012-2018 yılları arası odun dışı ürünler satış cetveli).

Swarup, V., Ghosh, J., Ghosh and Saxena, A., Basu, A. (2007). Antiviral and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid in an experimental murine model of Japanese encephalitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51 (9), 3367-3370.

Şarer, E., Pancali, S. and Yildiz, S. (1996). *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25 (1), 29-38.

Şarer, E., Scheffer, J. J. C., Janssen, A. M., Svendsen, A. B. (1985). Composition of the essential oil of *Origanum majorana* grown in different localities in Turkey. In *Essential Oils and Aromatic Plants* (pp. 209-212). Springer, Dordrecht.

Şarer, E., Scheffer, J. J. C., Svendsen, A. B. (1982). Monoterpenes in the essential oil of *Origanum majorana*. *Planta Medica*, 46 (12), 236-239.

Şenol, F. S., Orhan, I. E., Özgen, U., Renda, G., Bulut, G., Güven, L., Şekeroğlu, N. (2016). Memory-vitalizing effect of twenty-five medicinal and edible plants and their isolated compounds. *South African Journal of Botany*, 102, 102-109.

Taamalli, A., Arráez-Román, D., Abaza, L., Iswaldi, I., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A. (2015). LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis*, 26 (5), 320-330.

Tabanca, N., Özek, T., Başer, K. H. C., Tümen, G. (2004). Comparison of the essential oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum x majoricum* Cambess. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (3), 248-252.

Tamura, Y., Watanabe, F., Nakatani, T., Yasui, K., Fuji, M., Komurasaki, T., Sugita, K. (1998). Highly selective and orally active inhibitors of type IV collagenase (MMP-9 and MMP-2): N-sulfonylamino acid derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41 (4), 640-649.

Tang, G., Liu, X., Gong, X., Lin, X., Lai, X., Wang, D., Ji, S. (2019). Studies on the chemical compositions of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 84 (3), 245-252.

Thammason, H., Khetkam, P., Pabuprapap, W., Suksamrarn, A., Kunthalert, D. (2018). Ethyl rosmarinate inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide and prostaglandin E2 production in alveolar macrophages. *European Journal of Pharmacology*, 824, 17-23.

Toker, R., Gölükcü, M., Tokgöz, H. (2017). Effects of distillation times on essential oil compositions of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz Et. PH Davis. *Journal of Essential Oil Research*, 29 (4), 330-335.

Tomás-Barberán, F. A., Husain, S. Z., Gil, M. I. (1988). The distribution of methylated flavones in the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 16 (1), 43-46.

Tonk, F. A., Yüce, S., Bayram, E., Giachino, R. R. A., Sönmez, Ç., Telci, İ., Furan, M. A. (2010). Chemical and genetic variability of selected Turkish oregano (*Origanum onites* L.) clones. *Plant Systematics and Evolution*, 288 (3-4), 157-165.

Tripathi, A. K., Mishra, S. (2016). Biotechnological approaches. In *Ecofriendly Pest Management for Food Security* (pp. 685-701). Academic Press.

Tsimogiannis, D., Stavrakaki, M., Oreopoulou, V. (2006). Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*). *International Journal of Food Science & Technology*, 41, 39-48.

Tunca, H., Yeşilyurt, M. E. (2017), Türkiye ve dünya’da kekik, DTB Raporu, Denizli.

Tümen, G., Başer, K. H. C., Kırimer, N. (1995). The essential oils of Turkish *Origanum* species: A treatise. In *Flavours, Fragrances and Essential Oils, Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils*, Istanbul, Turkey, pp. 15-19.

Ueda, H., Yamazaki, C., Yamazaki, M. (2002). Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25 (9), 1197-1202.

Ünal, O., Gökçeoğlu, M., Topcuoğlu, Ş. F. (2004). Antalya endemiği *Origanum* türlerinin tohum çimlenmesi ve çelikle çoğaltılması üzerinde araştırmalar. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (2), 135-147.

Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Alvarenga, J. F. R., Martinez-Huelamo, M., Leal, L. N., Lamuela-Raventos, R. M. (2015). Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. *Food Science and Technology*, 35 (1), 189-195.

Van Dross, R. T., Hong, X., Pelling, J. C. (2005). Inhibition of TPA-induced cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by apigenin through downregulation of Akt signal transduction in human keratinocytes. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, 44 (2), 83-91.

Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Dönmez, E., Vural, N. (2007). Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz et PH Davis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87 (2), 255-259.

Vogelsang, K., Schneider, B., Petersen, M. (2006). Production of rosmarinic acid and a new rosmarinic acid 3'-O-β-D-glucoside in suspension cultures of the hornwort *Anthoceros agrestis* Paton. *Planta*, 223 (2), 369-373.

Wagner, H., Wierer, M., Bauer, R. (1986). In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds. *Planta Medica*, (3), 184-187.

Wang, J., Liu, Y. T., Xiao, L., Zhu, L., Wang, Q., Yan, T. (2014). Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF-kB pathway. *Inflammation*, 37 (6), 2085-2090.

Waridel, P., Wolfender, J. L., Ndjoko, K., Hobby, K. R., Major, H. J., Hostettmann, K. (2001). Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-

trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers. *Journal of Chromatography A*, 926 (1), 29-41.

Wu, T., Phuong, N.N.M., Van Camp, C., Smagghe, G., Le, T.T., Raes, K., Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J. (Eds.). (2018). Non-extractable polyphenols and carotenoids. *Royal Society of Chemistry*. (Vol. 5) Chapter 4, pp. 60.

Wu, W., Liu, Z., Song, F., Liu, S. (2004). Structural analysis of selected characteristic flavones by electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Sciences*, 20 (7), 1103-1105.

Wu, Z. J., Ma, X. L., Fang, D. M., Qi, H. Y., Ren, W. J., Zhang, G. L. (2009). Analysis of caffeic acid derivatives from *Osmanthus yunnanensis* using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *European Journal of Mass Spectrometry*, 15v (3), 415-429.

Xu, L. L., Guo, F. X., Chi, S. S., Wang, Z. J., Jiang, Y. Y., Liu, B., Zhang, J. Y. (2017). Rapid screening and identification of diterpenoids in *Tinospora sinensis* based on high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry. *Molecules*, 22 (6), 912.

Yamamura, S., Ozawa, K., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K. (1998). Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry*, 48 (1), 131-136.

Yang, S. T., Wu, X., Rui, W., Guo, J. and Feng, Y. F. (2015). UPLC/Q-TOF-MS analysis for identification of hydrophilic phenolics and lipophilic diterpenoids from *Radix Salviae Miltiorrhizae*. *Acta Chromatographica*, 27 (4), 711-728.

Yasuko, K., Tomohiro, N., Sei-Itsu, M., Ai-Na, L., Yasuo, F., Takashi, T. (1984). Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 792 (1), 92-97.

Yaylı, B., Tosun, G., Karakse, M., Renda, G., Yayli, N. (2014). SPME/GC-MS analysis of volatile organic compounds from three Lamiaceae species (*Nepeta conferta* Hedge & Lamond, *Origanum onites* L. and *Satureja cuneifolia* Ten.) growing in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 26 (9), 2541-2544.

Youn, J., Lee, K. H., Won, J., Huh, S. J., Yun, H. S., Cho, W. G., Paik, D. J. (2003). Beneficial effects of rosmarinic acid on suppression of collagen induced arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 30 (6), 1203-1207.

Zeng, G., Xiao, H., Liu, J., Liang, X. (2006). Identification of phenolic constituents in *Radix Salvia miltiorrhizae* by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20 (3), 499-506.

Zhang, X. L., Guo, Y. S., Wang, C. H., Li, G. Q., Xu, J. J., Chung, H. Y., Wang, G. C. (2014). Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*, 152, 300-306.

Zhang, Y. Y., Wang, Q., Qi, L. W., Qin, X. Y., Qin, M. J. (2011). Characterization and determination of the major constituents in *Belamcandae Rhizoma* by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56 (2), 304-314.

Zhang, Y., Gu, Y., Lee, H. M., Hambaradjieva, E., Vranková, K., M Golub, L., Johnson, F. (2012). Design, synthesis and biological activity of new polyenolic inhibitors of matrix metalloproteinases: a focus on chemically-modified curcumins. *Current Medicinal Chemistry*, 19 (25), 4348-4358.

Zheng, S. Z., Wang, X. X., Gao, L. M., Shen, X. W., Liu, Z. L., Zheng, S. Z. (1997). Studies on the flavonoid compounds of *Origanum vulgare* L. *ChemInform*, 28 (40).

Zhou, X. J., Yan, L. L., Yin, P. P., Shi, L. L., Zhang, J. H., Liu, Y. J., Ma, C. (2014). Structural characterisation and antioxidant activity evaluation of phenolic compounds from cold-pressed *Perilla frutescens* var. *arguta* seed flour. *Food Chemistry*, 164, 150-157.

Ziani, B. E., Barros, L., Boumehira, A. Z., Bachari, K., Heleno, S. A., Alves, M. J., Ferreira, I. C. (2018). Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function*, 9 (1), 149-159.

Živković, J. Č., Barreira, J. C., Šavikin, K. P., Alimpić, A. Z., Stojković, D. S., Dias, M. I., Ferreira, I. C. (2017). Chemical profiling and assessment of antineurodegenerative and antioxidant properties of *Veronica teucrium* L. and *Veronica jacquinii* Baumg. *Chemistry & Biodiversity*, 14 (8), e1700167.

http-1: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Erişim tarihi: 05.05.2019).

http-2: <https://massbank.eu/MassBank/Search> (Erişim tarihi: 05.05.2019).

http-3: <http://dnp.chemnetbase.com/faces/chemical/ChemicalSearch.xhtml> (Erişim tarihi: 15.11.2019).

EKLER

EK-1. Reaktiflerin hazırlanışı

Kloralhidrat çözeltisinin hazırlanışı: 80 g kloralhidrat R 20 mL su içinde çözülerek hazırlanmıştır (Avrupa Farmakopesi Adaptasyon, 2004).

Anisaldehit reaktifinin hazırlanışı: 0.5 mL anisaldehyd R, 10 mL glasiyel asetik asit R, 85 mL metanol R ve 5 mL sülfürik asit R takiben sıra ile karıştırılır (Avrupa Farmakopesi Adaptasyon, 2004).

EK-2. Denklemler

E.2.3.1.

$$\% \text{ Su miktarı} = ((b - a)/10) \times 100$$

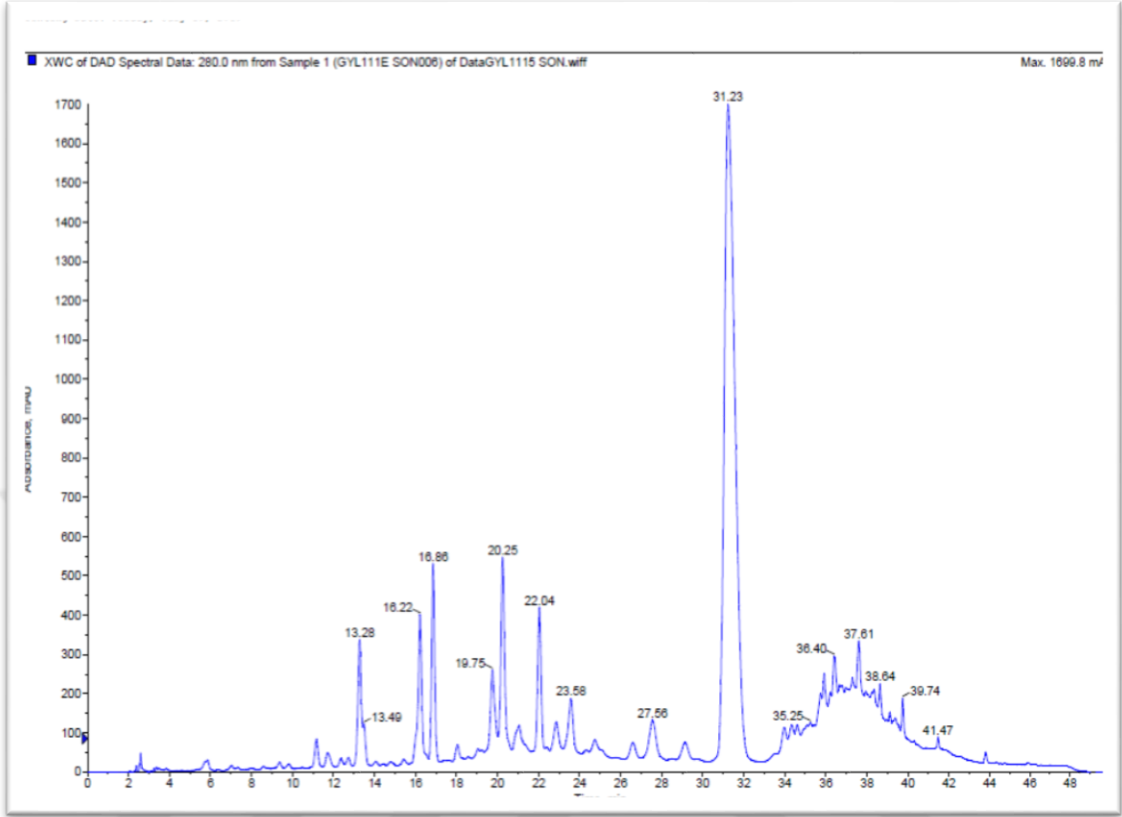
(a=birinci distilasyonda elde edilen suyun mililitre olarak miktarı,
b=ikinci distilasyonda elde edilen toplam suyun mililitre olarak miktarı)

E.2.3.2.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \times 100$$

(A_{kontrol}: Kontrolün absorbanansı, A_{örnek}: Örneğin absorbanansıdır)

EK-3. E3b alt fraksiyonun 280 nm'deki kromatogramı



EK-4. Monograf taslağı (Avrupa Farmakopesi, 2016)

Sütçüler Kekikği

OREGANO

Origanum minutiflori herba

TANIM

Origanum minutiflorum O. Schwarz et P.H. Davis kurutulmuş olan gövdelerinden ayrılmış bütün yaprak ve çiçekleridir.

İçerik:

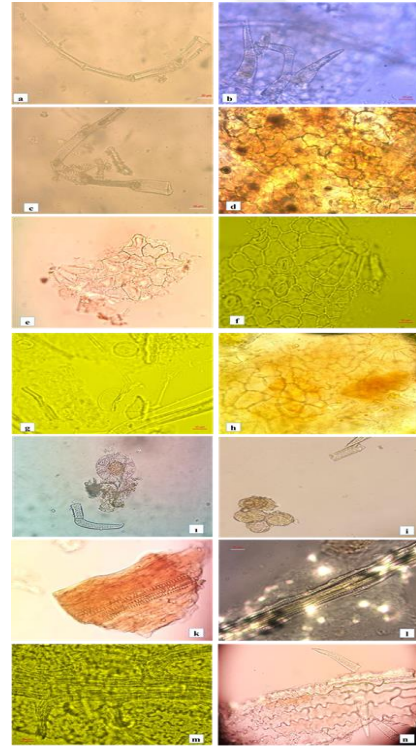
-Uçucu yağ: 39.1 mL/kg (kuru drog)

-Karvakrol ve timol içeriğinin toplamı (ikisi C₁₀H₁₄O, bMA 150.2): uçucu yağda %83.5

Teşhis

A. *Origanum minutiflorum* yapraklar yeşil renklidir. Dalları her gövdede 10 çifte kadar, 4 cm'e kadar uzunlukta. Yaprak saplıdan hemen hemen sapsız kadar (saplar 6 mm'e kadar), oval veya eliptik, 3-16 x 1-12 mm, ± akut. Spikül yaklaşık 2-8 x 3 mm. Brakte oval veya eliptik, 1-3 x 0.5-1.5 mm, ± obtus. Kaliks yaklaşık olarak 2 mm; üst dudak loplu veya ± yaklaşık olarak 2/5'ine kadar geniş üçgen dişli; alt dudak ± üst dudak kadar, geniş üçgen şekilli dişten oluşur. Korolla beyaz, 2.5-4 mm (Davis, 1982).

B. Mikroskopik inceleme: Toz haline getirilir. Toz drog sarımsı-yeşil renktedir. Kloralhidrat çözeltisi R kullanılarak mikroskop altında incelenir (Görsel 1). Toz aşağıdaki karakteristik elementleri gösterir, diasitik stoma (d, e, f.) ve genellikle başı sekiz saplı tek hücreli çok sayıda salgı tüyleri (g, h, ı), örtü tüyü kütikulası çizgicikli, çift sıralı genellikle çok hücreli örtü tüyleri (a, b, c, ı, n), diasitik tipte stomalar yaprağın alt ve üst yüzeyinde de (bifasyal) bulunur, alt epiderma (h) ve üst epiderma karakteristik dalgalı duvarlara sahip (n), küre şeklinde, nispeten seyrek polen taneleri (i) iletim demetleri (k, l, m).



Görsel 1. Kekik toz edilmiş bitkisel droğunun test B'de tanımlanması için mikroskopik görüntüleri

EK-4. (Devam) Monograf taslağı

C. İnce Tabaka Kromatografisi

Test çözeltisi: 1.0 g toz edilmiş bitkisel drog üzerine 5 mL metilen klorür R eklenir ve 3 dk. çalkalanır, sonra yaklaşık 2 g susuz sodyum sülfat R aracılığıyla süzülür.

Şahit çözeltisi: 1 mg timol R ve 10 µL karvakrol R, 10 mL metilen klorür R’de çözülür.

Plak: İTK Silika jel plak R.

Hareketli faz: metilen klorür R.

Uygulama: 20 µL, bant halinde.

Sürüklenme: 15 cm üzerinde bir ilerleme.

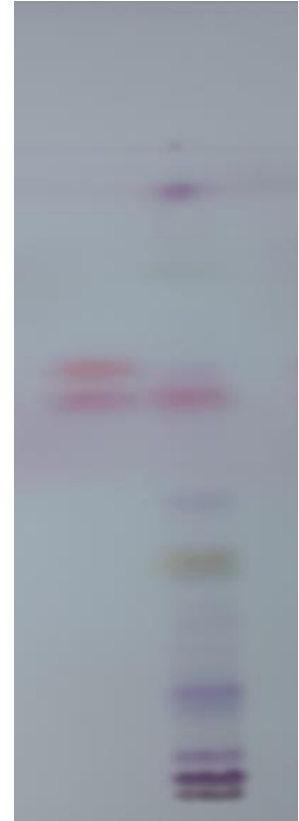
Kurutma: havada.

Tespi: 200 mm² plağa 10 mL anisaldehit çözeltisi R. püskürtülür ve 100-105 °C’de 10 dk. ısıtılır.

Sonuçlar: Şahit çözelti ve test çözeltisi ile elde edilen kromatogramlardaki lekeler aşağıda görüldüğü gibi sıralanmıştır. Bunların yanısıra, test çözeltisi ile elde edilen kromatogramın üst kısmında ve alt kısmında başka lekeler vardır.

Plagın tepesi	
	Mavimsi-mor leke
	Açık yeşil leke
Timol: pembe leke	Pembe leke (timol)
Karvakrol: açık menekşe leke	Açık menekşe leke (karvakrol)
	Açık mor leke
	Gri leke
	Açık yeşil leke
	Mavimsi-mor leke
	Şiddetli kahverengi leke
Şahit Çözelti	Test Çözeltisi

--Timol
--Karvakrol



EK-4. (Devam) Monograf taslağı

TESTLER

Su: 10 g toz edilmiş drog üzerinden tespit edildiğinde 53.3 mL/kg'dır.

Toplam kül: %7.7'dir.

Hidroklorik asitte erimeyen kül:
%0.55'tir.

TAYİN

Uçucu Yağ: İncelenecek droğun 30.0 g'ı, 1000 mL yuvarlak tabanlı balon ve distilasyon sıvısı olarak 400 mL su R kullanılır.

Dereceli tüpe kesilen R koymaksızın 2 saat boyunca 2-3 mL/dk. hızda distillenir.

Karvakrol ve timol. Gaz kromatografisi normelleştirme işlemi kullanılır.

Test çözeltisi. Uçucu yağ tayininde elde edilen uçucu yağ susuz sodyum sülfat R'nin küçük bir miktar üzerinden süzülür ve susuz sodyum sülfat R ve cihazı yıkayarak heptan R ile 5.0 mL'ye seyreltilir.

Şahit çözelti. 0.20 g timol R ve 50 mg karvakrol R, heptan R'de çözülür ve aynı çözücü ile 5.0 mL'ye seyreltilir.

Kolon:

-malzeme: kaynaşmış silika;

-boyut: l=60 m, Ø=0.25 mm;

-sabit faz: makrogol 20.00 R (film kalınlığı Ø µm):

Taşıyıcı gaz: azot kromatografi için R veya helyum kromatografi için R.

Akış hızı: 1.5 mL/dk.

Ayrılma oranı: 1:100.

Sıcaklık

	Zaman (dk.)	Sıcaklık (°C)
Kolon	0-45	40→250
Enjeksiyon yuvası		190
Dedektör		210

Tespit. Alev iyonlaştırma dedektörü.

Uygulama: 0.2 µL.

Elüsyon sırası: şahit çözeltinin bileşiminde görülen sırayla; bu maddelerin alıkonma zamanları kaydedilir.

Sistem uygunluğu: şahit çözelti:

Ayrım gücü: timol ve karvakrol pikleri arasında en az 1.5.

Şahit çözeltisi ile elde edilen kromatogramda belirlenen alıkonma zamanları kullanılarak, test çözeltisi ile elde edilen kromatogramda şahit çözelti bileşenlerinin yeri bulunur. Timol ve karvakrol'ün yüzde içerikleri belirlenir.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Gülsüm YILDIZ

Doğum Yeri : Tokat

İletişim adresleri

Email : yildiz60gulsum@gmail.com

ORCID ID : 0000-0002-1697-3793

Eğitim Durumu

İlköğretim : Gülbahar Hatun İlköğretim Okulu (1994-2002)

Lise : Tokat Anadolu Lisesi (2002-2006)

Lisans : Erciyes Üniversitesi-Mustafa Kılıçer Eczacılık Fakültesi
(2008-2013)

Doktora : Anadolu Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü
(2016-Halen devam ediyor)

Yabancı Dil(ler)

İngilizce : İyi Derece YDS, 78,75 (2015),
YÖKDİL, 86,25 (2017)

Mesleki Deneyim

Kurum : Hastane

Birim : Eczane

Unvan : Eczacı (2013-2015)

Kurum : Van 100. Yıl Üniversitesi

Birim : Eczacılık Fakültesi

Unvan : Araştırma Görevlisi (2015-Halen devam ediyor)

Kurum : Anadolu Üniversitesi

Birim : Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Eczacılık Fakültesi

Unvan : Araştırma Görevlisi (2547 sayılı kanununun 35. maddesi gereği
görevlendirme) (2016-2020)

Bilimsel Etkinlikler

Organizasyon Komitesinde : I. Ulusal Aroid Kongresi Organizasyon
Yer Aldığı Kongreler Komitesi,Eskişehir-Türkiye, 27-29 Haziran 2019.

Yayınlar

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

Demirci, B., Yıldız, G., Kırimer, N., Ocak, A. and Başer, K. H. C. (2018). Essential oil composition of *Stachys obliqua* Waldst. et Kit. *Natural Volatiles & Essential Oils*, N5 (1), 17-22.

Abak, F., Yıldız, G., Atamov, V. and Kürkçüoğlu, M. (2018). Composition of the essential oil of *Salvia montbretii* Benth. from Turkey. *Records of Natural Products*, 12 (5).

Kürkçüoğlu, M., Yıldız, G. and Bülent, K. (2019). Essential oil composition of two *Scutellaria* from Tokat province of Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 6 (2), 115-118.

Öztürk, G., Ağalar, H. G., Yıldız, G., Göger, F. and Kırimer, N. (2019). Biological activities and luteolin derivatives of *Verbascum eskisehirensis* Karavel., Ocak & Ekici. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23 (3).

Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

Şeker Karatoprak G., Yıldız G. ve Gürbüz P. (2016). "*Pistacia terebinthus* meyvesi ve menengiç kahvesinden hazırlanan ekstraların toplam fenolik ve flavonoit madde kompozisyonlarının ve antioksidan etkilerinin karşılaştırılması", Erciyes Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, cilt.25, ss.29-33.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Özek, T., Yur, S., Yıldız, G., Tekin, F., Göger, F. and Özek ,G. Enzyme inhibition and free radical scavenging activities of wild collected *Thymbra sintenisii* Bornm. et Aznav. subsp. sintenisii Bornm. et Aznav. from Turkey, *International Symposium on Biodiversity and Edible Wild Species*, Antalya, Turkey, April 3-5, 2017.

Demirci, B., Yıldız, G., Kırimer, N., Ocak, A. and Başer, K. H. C. (2018). Essential oil composition of *Stachys obliqua* Waldst. et Kit., *International Symposium on Advance in Lamiaceae Science*, Antalya, Turkey, April 26-29, 2017

- Demirci, B., Yıldız, G., Koyuncu, M., Buharalıoğlu, K. and Başer K. H. C. Composition of *Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don essential oil from Cyprus, *I. Medical and Aromatical Plants Congress*, Konya, Turkey, May 10-12, 2017
- Yıldız, G., Köse, Y.B. and Demirci, B., Biological activities of *Sideritis taurica* Stephan ex. Wild essential oil and its infusion, *48. International Symposium on Essential Oils*, Pécs, HUNGARY, September 10-13, 2017
- Yıldız, G., Kürkçüoğlu, M. and Kırimer, N. Volatile components of various parts of *Pistacia terebinthus* L. subsp. *palaestina* (Boiss.), *II. International Gazi Pharma Symposium Series*, Ankara, Turkey, October 11-13, 2017
- Yıldız, G. and Duman S. B. Aromaterapide en çok kullanılan uçucu yağlar, *I. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, Türkiye, P-242, 2017.
- Yıldız, G., Duman, S. B., Kırimer, N. *Peganum harmala* L. 'nın Türkiye' de halk arasında kullanımı. *I. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, TÜRKİYE, P-243, 2017.
- Duman, S. B., Yıldız, G. and Altıntaş A. Apiterapi ve insan sağlığı üzerindeki etkileri. *I. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, Türkiye, P-550-551, 2017.
- Duman, S. B., Yıldız, G. and Kırimer, N. *Sorbus domestica* l.' nın Türkiye' deki geleneksel kullanımı. *I. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, Türkiye, P-552, 2017.
- Yıldız, G., Kürkçüoğlu, M. and Kırimer. Composition of the essential oil of *Hypericum lanuginosum* Lam. var. *Lanuginosum* Lam. *The 4th Mediterranean Symposium on Medicinal And Aromatic Plants*, Antalya, Turkey, April 18-22, P-131, 2018
- Yıldız, G. and Demirci. B. Volatile compounds of *Haplophyllum theioides* (Fisch ex DC.) G. Don. *The 4th Mediterranean Symposium on Medicinal And Aromatic Plants*, Antalya, TURKEY, April 18-22, P-132, 2018.
- Yıldız, G., Köse, Y.B. and Kürkçüoğlu, M. Essential oil composition of *Xeranthemum annuum* L. from Turkey, *2th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)*, Ankara, Turkey, June 26-29, P-162,2018.

Kurkcuoglu, M., Yildiz, G., Kose, Y.B. Volatile Compounds of *Scutellaria altissima* L. and *Scutellaria orientalis* L. subsp. *pinnatifida* Edmondson from Turkey, *The International Chemistry & Biology Conference'18* (ChemBioCon18), Sharm El Sheikh, Egypt, 10-14 July 2018.

Yıldız, G., Köse, Y.B. and Demirci, B. Characterization of Essential Oil and Infussion of *Nepeta nuda* L. subsp. *albiflora* (Boiss.) Gams, , *Uluslararası 4. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu*, Çeşme, Türkiye, October 2-4, P-225, 2018.

Yıldız, G., Köse, Y.B. and Kürkçüoğlu, M. Essential Oil Composition of *Sideritis montana* L. subs. *montana* from Tokat in Turkey *Uluslararası 4. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu*, Çeşme, Türkiye, October 2-4, P-224, 2018.

Yıldız, G, Duman, S. B. and Altıntaş A. Kozmetik sanayide fitokozmetikler, *II. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, TÜRKİYE, P-892, 2018.

Yıldız, G, Duman, S. B. and Altıntaş A. Probiyotiklerin nörolojik rahatsızlıklar üzerine etkisi. *II. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, TÜRKİYE, P-893, 2018.

Avşar Duman, S. B., Yıldız, G and Altıntaş A. *Viburnum opulus* L. (gilaburu)'nun geleneksel kullanımı ve biyoaktivite çalışmalarının incelenmesi. *II. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, TÜRKİYE, P-1031, 2018.

Avşar Duman, S. B., Yıldız, G and Altıntaş A. Obezite tedavisini destekleyici termojenik etkili bitkisel droglar. *II. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi*, Ürgüp, TÜRKİYE, P-1032, 2018.

Yıldız, G., Köse, Y.B. and Kürkçüoğlu, M. Essential oil composition of *Centranthus longiflorus* Steven subsp. *longiflorus* from Turkey. *The Fifth International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants*. Nisan, 2019, Kapadokya, Türkiye.

Yıldız, G., Köse, Y.B. and Demirci, B. Distillation time effects on essential oil compositions of *Satureja cuneifolia* Ten. *50th International Symposium on Essential Oils*, PP-152, Eylül, 2019, Viyana, Avusturya.

Yıldız, G., Köse, Y.B. and Kürkçüoğlu, M. Volatile components of two *Onosma* from Turkey. *50th International Symposium on Essential Oils*, PP-154, Eylül, 2019, Viyana, Avusturya

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Yıldız, G. ve Kırimer, N. 'Doğadan Fabrikaya *Zingiber officinale* Roscoe', *XII. Ulusal Türk Eczacılık Tarihi Toplantısı*, P-96, 2016, Haziran, Eskişehir, Türkiye.

Yıldız G., Demirci, B., Duran, A. and K. H. C. Başer. *Artemisia squamata* L. Türünün meyve ve topraküstü kısımlarının uçucu yağ kompozisyonu, *XIII. Bitkisel İlaç Hammeddeleri Toplantısı*, Antalya, TURKEY, April 9-12, P-78, 2018.

Araştırmacı Olarak Yer Aldığı Ulusal Projeler

Origanum minutiflorum O. Schwarz et P.H. Davis üzerine farmakognozik araştırmalar, (Proje no:1805S112). Anadolu Üniversitesi-BAP, Başlangıç tarihi; 15.05.2018 (devam ediyor)

Echinophora tenuifolia L. subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin L. uçucu yağ ve farklı polaritedeki ekstraktların inflamasyon belirteçleri üzerine etkisinin *in vitro* olarak incelenmesi, (Proje no: 1807S271). Anadolu Üniversitesi-BAP, 2018-2019. (Sonlandırıldı).

