

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



***ORIGANUM L. CİNSİ AMARACUS VE ANATOLICON*
SEKSIYONU TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ
VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE ÖNCÜ

BALIKESİR, KASIM - 2018

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



***ORIGANUM L. CİNSİ AMARACUS VE ANATOLICON*
SEKSİYONU TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ
VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE ÖNCÜ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Turgut KILIÇ (Tez Danışmanı)

Dr. Züleyha ÖZER (Eş Danışmanı)

Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

Doç. Dr. Onur TURHAN

BALIKESİR, KAIM - 2018

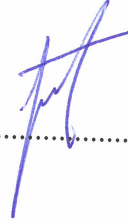
KABUL VE ONAY SAYFASI

Merve ÖNCÜ tarafından hazırlanan “*ORIGANUM L. CİNSİ AMARACUS VE ANATOLICON SEKSİYONU TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI*” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 23.11.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Turgut KILIÇ



.....

Üye
Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ



.....

Üye
Doç. Dr. Onur TURHAN



.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 113Z225 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

ORIGANUM L. CİNSİ AMARACUS VE ANATOLICON SEKSİYONU TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE ÖNCÜ

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. TURGUT KILIÇ)

(EŞ DANIŞMAN: DR. ZÜLEYHA ÖZER)

BALIKESİR, EYLÜL - 2018

Bu çalışmada *Origanum* L. cinsi *Amaracus* (Gled.) Benth. (*Origanum boissieri* Ietsw, *O. saccatum* P.H.Davis, *O. solymicum* P.H.Davis, *O. ayliniae* Dirmenci & Yazıcı) ve *Anatolicon* Benth. seksiyonu türlerinin (*O. sipyleum* L., *O. hypericifolium* O.Schwarz & P.H.Davis) fitokimyasal analizleri yapılmış ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Öncelikle bitkilerden elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC-MS ile analiz edilmiş, sırasıyla, 27, 27, 31, 16, 32 ve 24 farklı bileşen tespit edilmiştir. Ana bileşenler olarak; *O.boissieri*, *O. ayliniae*, *O. hypericifolium* türlerinde; karvakrol (% 30.1, % 53.7, % 68.8), *O. saccatum*, *O. solymicum* türlerinde; *p*-simen (% 37.9 ve % 29.6), *O. sipyleum* türünde ise; γ -terpinen (% 28.7) belirlenmiştir.

Bitkilerden hazırlanan kloroform, aseton ve metanol ekstralarının sekonder bileşenleri LC-MS/MS ile tanımlanmıştır. Ekstrelerde özellikle yüksek oranda rosmarinik asit ve penduletin tespit edildi.

Aynı zamanda ekstraların antioksidan aktiviteleri, DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi, Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu (β -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi) ve CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici antioksidan kapasite) yöntemleri ile belirlenmiştir. Antikolinesteraz Aktivite Tayini Ellman Yöntemi kullanılarak Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerine karşı yapılmıştır.

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi çalışmaları sonunda Kloroform ekstraları oldukça zayıf inhibisyon etkisi gösterirken aseton ekstralarının de ise zayıftan-orta dereceye inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Antioksidan aktivite deneyleri sonucunda bu türlerin antioksidan kapasitesi değerlendirildiğinde; özellikle halk arasında kullanılan *O. ayliniae* türünün antioksidan kapasitesinin oldukça iyi olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Origanum*, *Amaracus*, *Anatolicon*, fitokimyasal analiz.

ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES ON SECTION AMARACUS AND ANATOLICON OF *ORIGANUM L.* SPECIES

MSC THESIS

MERVE ÖNCÜ

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR:PROF. DR. TURGUT KILIÇ)

(CO-SUPERVISOR:DR. ZÜLEYHA ÖZER)

BALIKESİR, SEPTEMBER 2018

In this study, the genus *Origanum L.*, *Amaracus (Gled.) Benth.* (*Origanum boissieri* Ietsw, *O. saccatum* P.H.Davis, *O. solymicum* P.H.Davis, *O. ayliniae* Dirmenci & Yazıcı) and *Anatolicon* section species (*O. sipyleum L.*, *O. hypericifolium O.Schwarz & P.H.Davis*) phytochemical analyzes and their biological activities were examined. First, components of essential oils obtained from plants were analyzed by GC-MS and 27, 27, 31, 16, 32 and 24 different components were detected. As main components; *O. boissieri*, *O. ayliniae*, *O. hypericifolium species*; carvacrol (30.1 %, 53.7 %, 68.8 %), *O. saccatum*, *O. solymicum species*; p-cymene (37.9 % and 29.6 %), and *O. sipyleum species*; γ -terpinene (28.7 %) has been identified.

The secondary components of the chloroform, acetone and methanol extracts prepared from the plants were identified by LC-MS / MS. Especially in the extracts, rosmarinic acid and penduletin were detected at high altitudes.

At the same time, antioxidant activities of extracts were determined by DPPH Free Radical Extraction Activation, Lipid Peroxidation Inhibition (β -Carotene-Linoleic Acid Method) and CUPRAC (Cu (II) Ion Reductive Antioxidant Capacity) methods. The anticholinesterase activity assay was performed against acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes using the Ellman Method.

Studies of DPPH free radical scavenging activity have shown that chloroform extracts exhibit a very weak inhibition effect while acetone extracts have weak- to moderate inhibition values. When the antioxidant capacity of these species is evaluated as antioxidant activity tests, it has been determined that the antioxidant capacity of the species of *O. ayliniae*, which is used especially among the people, is quite good.

KEYWORDS: *Origanum, Amaracus, Anatolicon, Phytochemical analysis.*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ABSTRACT	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL ve KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	9
1.1 Bitkinin Özellikleri	12
1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası.....	12
1.1.2 <i>Origanum</i> Cinsi	13
1.1.3 <i>Origanum boissieri</i> Ietsw.	15
1.1.4 <i>Origanum saccatum</i> P.H.Davis.....	15
1.1.5 <i>Origanum solymicum</i> P.H.Davis	16
1.1.6 <i>Origanum sipyleum</i> L.	16
1.1.7 <i>Origanum hypericifolium</i> O.Schwarz & P.H.Davis.....	17
1.1.8 <i>Origanum ayliniae</i> Dirmenci, & Yazıcı	17
1.2 Uçucu Yağlar	18
1.3 Fenolik Bileşikler	19
1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	19
1.3.1.1 Flavonoid Olmayanlar (Fenolik Asitler)	19
1.3.1.2 Flavonoidler.....	20
1.3.1.2.1 Antosiyanidinler	21
1.3.1.2.2 Flavonlar ve Flavonollar.....	21
1.3.1.2.3 Flavanonlar	22
1.3.1.2.4 Kateşinler	23
1.3.1.2.5 Proantosiyanidinler.....	23
2. DENEYSEL BÖLÜM	24
2.1 Kimyasal Çalışmalar	24
2.1.1 Bitkisel Materyal.....	24
2.1.2 Kimyasal Materyal	24
2.1.3 Uçucu Yağların Eldesi	25
2.1.4 GC-MS Koşulları	25
2.1.5 Ekstrelerin Hazırlanması	26
2.1.6 LC-MS/MS Analizi	26
2.2 Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	34
2.2.1 Biyolojik Aktivite Testlerinde Kullanılan Deneysel Yöntemler	34
2.2.1.1 Antioksidan Aktivite Yöntemleri	34
3. BULGULAR	38
3.1 Uçucu Yağ Bileşen Sonuçları.....	38
3.2 Fenolik Bileşen Analiz Sonuçları	40
3.3 Biyolojik Aktivite Analiz Sonuçları	45
3.3.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları	45
3.3.1.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	45

3.3.1.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu (β -Karoten/Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları	47
3.3.1.1 CUPRAC Yöntemi.....	49
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
4.1 Uçucu Yağ Analiz Sonuçları.....	51
4.2 Fenolik Bileşen Analiz Sonuçları	52
4.3 Biyolojik Aktivite Sonuçları	53
4.3.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları.....	53
4.3.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu (β -Karoten / Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları.....	54
4.3.3 CUPRAC Yöntemi.....	54
4.3.4 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları	55
5. KAYNAKLAR.....	56
6. EKLER.....	62

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1: <i>Origanum boissieri</i> I.etsw bitkisine ait fotoğraflar.....	15
Şekil 1. 2: <i>Origanum saccatum</i> P.H.Davis bitkisine ait fotoğraflar.	15
Şekil 1. 3: <i>Origanum solymicum</i> P.H.Davis bitkisine ait fotoğraflar.....	16
Şekil 1. 4: <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisine ait fotoğraflar.	16
Şekil 1. 5: <i>Origanum hypericifolium</i> O.Schwarz & P.H.Davis bitkisine ait fotoğraflar.....	17
Şekil 1. 6: <i>Origanum aylinae</i> Dirmenci, Akçiçek & Yazıcı bitkisine ait fotoğraflar.....	17
Şekil 1. 7: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları.	21
Şekil 1. 8: Flavan (a) ve Flavon (b) yapıları.	22
Şekil 1. 9: Flavanonun yapısı.	23
Şekil 2. 1: Kullanılan bazı standartların LC-MS/MS kromotogramı (Flavanoit ve türevleri) (2.5 mg/L).....	31
Şekil 2. 2: Kullanılan bazı standartların LC-MS/MS kromotogramı (Fenolikler ve diğerleri) (2.5 mg/L).....	32
Şekil 2. 3: Galantamin.....	36
Şekil 4. 1: <i>Origanum</i> cinsinde miktarca fazla belirlenen uçucu yağ bileşenlerinin kimyasal yapıları.	51
Şekil 4. 2: <i>Origanum</i> türlerindentanımlanan kumarik asit, türevleri ve diğer bileşiklerin kimyasal yapıları.	53

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2. 1: <i>Origanum</i> türlerinin listesi.....	24
Tablo 2. 2: LC-MS/MS cihaz parametreleri.	29
Tablo 2. 3: LC-MS/MS yöntemi validasyon parametreleri.	30
Tablo 3. 1: <i>Amaracus</i> ve <i>Anatolican</i> seksiyonlarının uçucu yağ bileşenleri. ...	38
Tablo 3. 2 : <i>O. boissieri</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.	40
Tablo 3. 3: <i>O. saccatum</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.	41
Tablo 3. 4: <i>O. solymicum</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.	42
Tablo 3. 5: <i>O. ayliniae</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.:	43
Tablo 3. 6: <i>O. sipyleum</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.	44
Tablo 3. 7: <i>O. hypericifolium</i> türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları. .	45
Tablo 3. 8: <i>Origanum</i> türlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi sonuçları...46	
Tablo 3. 9: <i>Origanum</i> türlerinin β -Karoten-Linoleik asit antioksidan aktivitesi sonuçları.	48
Tablo 3. 10: <i>Origanum</i> türlerinin CUPRAC aktivitesi sonuçları.....	49
Tablo 3. 11: <i>Origanum</i> türlerinin asetilkolinesteraz aktivite sonuçları.....	50

SEMBOL ve KISALTMALAR LİSTESİ

cm	:	Santimetre
mm	:	Milimetre
m	:	Metre
°C	:	Santigrat derece
α	:	Alfa
β	:	Beta
γ	:	Gama
nm	:	Nanometre
mg	:	Miligram
L	:	Litre
g	:	Gram
m/z	:	Kütle/ elektron
mm	:	Milimetre
μL	:	Mikrolitre
v/v	:	Hacim/hacim
μm	:	Mikrometre
V	:	Volt
psi	:	İnçkareye etki eden pound
s/m	:	Saniye/metre
mg/kg	:	Miligram/kilogram
mg/L	:	Miligram/litre
Hz	:	Hertz
MHz	:	Mega Hertz
mM	:	Milimolar
mL	:	Mililitre
mmol	:	Milimol
δ	:	Delta
p	:	Para
t	:	Triplet
s	:	Singlet
d	:	Dublet
m	:	Multiplet
ppm	:	Pert Per Million
ng	:	Mikrogram

ÖNSÖZ

Çalışmam süresince bana yol gösterip yönlendiren ve değerli zamanlarını ayıran, her zaman sabırlı ve anlayışlı olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Turgut KILIÇ'a ve ikinci danışmanım Sayın Dr. Züleyha ÖZER'e teşekkür ederim.

Beni bugünlere kadar getiren, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım anneme, canım babama çok değerli kardeşime, sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Balıkesir, Kasım 2018

Merve ÖNCÜ

1. GİRİŞ

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki Labiatae familyası genel olarak uçucu yağ, fenolik bileşikler (flavonoitler, fenolik asitler, asetofenon bileşikleri), diterpen ve triterpenlerin yanı sıra alkaloid türü bileşenleri içerirler [1].

Origanum L. (Lamiaceae) türlerinde yapılmış olan fitokimyasal çalışmalar özellikle uçucu olan sekonder metabolitleri üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda bu türlerin uçucu yağlarının özellikle karvakrol ve timol gibi fenolik bileşenlerce zengin olduğu, ayrıca γ -terpinen, *p*-simen, linalool, terpinen-4-ol ve sabinen hidrat gibi bileşenlerin de fazla miktar da bulunan diğer bileşenler olduğu belirlenmiştir [2-4].

Bu türlerin taşıdığı uçucu olmayan sekonder bileşenlerle ilgili çalışmalarda ursolik asit, rozmarinik asit, kafeik asit, ferulik asit, apigenin, luteolin, salvigenin ve kateşin ana bileşen olarak belirlenmiştir [5]. Ayrıca bu türe ait ekstraların antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antispazmodik, antitümöral, analjezik, antimutajenik, anjiyojenik, antiparasitik, antiplatelet, antielastaz etkileri taşıdığı rapor edilmiştir [6]. *Origanum* türleri fenol bileşikleri bakımından zengin olmalarından dolayı tıpta, antibakteriyal, antimikrobiyal, solucan düşürücü, spazm giderici, öksürük kesici, romatizma ağrılarına karşı, diş hekimliğinde, ayrıca yemeklerde baharat olarak, parfümeri sanayinde, antioksiadatif etkisinden dolayı konservecilik başta olmak üzere gıda sanayinde yaygın kullanım alanına sahiptir [7]. *Origanum* türlerinin büyük çoğunluğunda ana bileşiği karvakrol adlı bir monoterpendir ve bu yağ kuvvetli antiseptiktir [8]. Örneğin, *O. minutiflorum* P.H.Davis' un karvakrol oranı %90'lar civarındadır. Yine bu türün gram (+) ve gram (-) bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkileri ile antifungal (*Candida albicans* ve *C. tropicalis*) etkileri araştırılmış ve kuvvetli antibakteriyal ve antifungal etki göstermiştir [9]. Ülkemizde yetişen *Origanum* türlerinin çoğunluğu uçucu yağ bileşenleri bakımından çalışılmıştır [10-13]. Uçucu yağ ana bileşenleri karvakrol, *p*-simen, borneol, linalool, germakren ve β -karyofillen' dir [11]. Ancak, antimikrobiyal ve antifungal ve antioksidan aktivite bakımından bu türlerin büyük bir kısmı çalışılmamıştır. Antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan aktiviteleri belirlenen sadece 5 türdür [14].

Tıbbi ve aromatik bitkilerin antiseptik özellikleri çok eski yıllardan beri bilinmesine rağmen, ancak 1900'lü yılların başında laboratuvarlarda fitokimyasal özellikleri araştırılmaya başlamıştır. Bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinden birçok mikroorganizmanın büyümesini durdurabilecek maddeler izole edilmiştir. Antik çağlardan bu yana, insanoğlu bazı yaygın enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde bitkileri kullanmıştır. Halk arasında yaban mersini (*Myrtus communis* L.) üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde, oğulotu (*Melissa officinalis* L.), sarımsak (*Allium sativum* L.) ve çay ağacı (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Chell) gibi türler geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadırlar. Pek çok bitkisel özüt; solunum, üriner ve gastrointestinal sistemlerdeki bulaşıcı patojenlerin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etki gösteren kimyasallar genel olarak alkaloid, flavonoid, isoflavonoidler, taninler, kumarinler, terpenler, fenilpropanler ve organik asitlerdir. Antimikrobiyal ajanların etki mekanizmaları mikroorganizmaların hedef bölgeleri ve bakteri hücre yapıları ile ilişkilidir. Bakteriler hücre duvarı yapılarına göre gram pozitif ve gram negatif olmak üzere 2 grupta incelenir [15].

Ülkemizde, Labiatae türlerinin bir kısmı (*Coridothymus* Rchb.f., *Satureja* L., *Thymbra* L., *Thymus* L. gibi) ile birlikte *Origanum* türlerinin birçoğunun “kekik” adı altında ticareti yapılmaktadır. Bugün kekik adı altında ticareti yapılan türlerin toplam miktarı 11 000 tondan fazladır [8]. Bu miktar ile Türkiye dünya kekik ticaretinin %70'ini gerçekleştirmektedir [16]. Ticareti yapılan tüm bu türler “karvakrol” yönünden zengindirler. Ticareti yapılan *Origanum* türleri şöyle sıralanabilir; *Origanum onites* L. (İzmir kekiği, Bilyalı kekik), *O. vulgare* L. subsp. *hirtum* A.Terracc. (İstanbul kekikiği, karakekik), *O. majarona* L. (Beyaz kekik, Alanya beyazı), *O. minutiflorum* (Yayla kekiği, Cıngıllı kekik), *O. vogelii* Greuter & Burdet (Sinek kanadı) *O. syriacum* L. subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet (Tarsus kekiği, Tarsus beyazı)'dir. Kekik ticareti içerisinde *Origanum* türlerinin yeri oldukça büyüktür (7200 ton). Bunun önemli bir kısmı doğadan toplanırken (4900 ton), bir kısmında kültür formlarından elde edilmektedir (2300 ton) [8]. Son yıllarda kültür alanları hızla artarak 25000 dekara kadar ulaşmıştır. Türlerin ticari değeri genel olarak baharat olarak kullanımından kaynaklanmaktadır. Baharat olarak kullanımının yanı sıra, kekik yağı, kekik suyu ve çay olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kekik ticaretinin önemli bir kısmı AB ülkeleri ve ABD'ye yapılmaktadır. Bu ticaretin (baharat, kekik suyu, kekik yağı) yıllık değeri 20 milyon dolar civarındadır. Bu değere en fazla katkıyı *Origanum* türleri sağlamaktadır.

Türkiye, Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarının kesişme noktasında ve iki kıtada toprakları bulunan nadir ülkelerden biridir. Bu coğrafik özellik, beraberinde iklimsel çeşitliliği

getirmekte ve iklimsel çeşitliliğin doğal sonucu olarak canlı çeşitliliğinin zengin olmasına neden olmaktadır. Ayrıca Türkiye, coğrafik özelliğinin bir yansıması olarak üç farklı fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bir konumdadır. Türkiye'nin Karadeniz kıyıları Avrupa-Sibirya, Güney Marmara, Kıyı Ege ve Akdeniz bölgesi Akdeniz ve İç Ege, İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu İran-Turan fitocoğrafya bölgelerinin etkisi altındadır. Bu özellikler, tür çeşitliliğinin ve ülkeye özgü tür sayısının, bir kıtanın sahip olabileceği kadar tür çeşitliliğine sahip olmasını sağlamıştır. Türkiye 10000 civarında (yaklaşık 12000 takson) bitki türü sayısı ile, kendisinden 15 kat daha büyük Avrupa kıtasıyla neredeyse aynı sayıda (yaklaşık 12000 tür) tür sayısına sahiptir. Son olarak hazırlanan Türkiye Florasınagöre, 167 familya, 1320 cinse ait 9996 tür, ve toplamda 11707 adet takson yayılış göstermektedir [17].

1.1 Bitkinin Özellikleri

1.1.1 Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Lamiaceae familyası dünya genelinde 236 cins ve 7200 türe sahiptir. Lamiaceae familyası hoş kokularından, güzel görüntülerinden ve tıbbi faydalarından dolayı insanlar tarafından yaygın kullanılmaktadır. Bu familyanın üyeleri çoğunlukla çay olarak tüketilmekte olup, ayrıca içerdikleri kuvvetli aromatik bileşikler nedeniyle alternatif tıpta, ilaç endüstrisinde ve kozmetikte bolca kullanılmaktadır [18,19].

Ülkemizde en fazla tür içeren familya sıralaması zaman zaman değişse de, genellikle ilk üç sıra şöyledir. Asteraceae (Papatyagiller) 1311, Fabaceae (Baklagiller) 1059, Lamiaceae 603 adet tür sayısı ile ülkemizde en çok tür içeren familyalardır. Yine en fazla endemik tür içeren familyalar sıralamasında bu üç familya ilk üç sırayı paylaşmaktadır.

Familya ile ilgili yapılan en son ve en kapsamlı sınıflandırmalara göre [17,18]. Lamiaceae 7 alt familyaya ayrılmıştır: Symphorematoideae Briquet, Viticoideae Briquet, Ajugoideae Kosteletzky, Prostantheroideae Luersson, Nepetoideae Kosteletzky, Scutellarioideae Caruel ve Lamioideae Harley. *Origanum* cinsi Nepetoideae alt familyası içerisinde Mentheae oymağı ve Menthinae alt oymağı içerisinde yer almaktadır [17,18].

1.1.2 *Origanum* L. Cinsi

Origanum ismi Yunanca'dan gelir ve dağ süsü (oros=da, ganos=süs) anlamındadır. *Origanum* cinsi Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasındadır. Bu familyada 46 cins 603 tür (782 takson) bulunmaktadır. Taksonların 346'sı endemiktir ve endemizm oranı % 44'tür [20-23].

Labiatae familyasına ait *Origanum* türleri genelde kireçli topraklarda, sıcak ve kurak iklimlerde iyi yetişirler. Bu türler doğal yollarla doğadan toplanırlarken bazılarının ise tohumla üretimi yapılmaktadır [24].

Origanum türlerinin en büyük ortak özellikleri fazlasıyla uçucu yağ içermeleri ve bu yağın ana bileşenlerinin karvakrol ve timol oluşudur. Bu bileşenler kekiğe kendine has kokusunu vermektedir. Karvakrol bir monoterpendir ve kuvvetli bir antiseptiktir. Ciltten kolayca emilir, hücre zarını kolayca geçer ve yaraları iyileştirir. Ayrıca karvakrol güçlü bir ağrı kesicidir. Halk arasında kekik yağı ağırlı bölgelere sürülerek kullanılır [22, 23].

Origanum türleri fenol bileşikleri açısından zengindirler. Alternatif tıpta, antibakteriyal, antimikrobiyal, solucan düşürücü, balgam söktürücü, spazm giderici, öksürük kesici ve romatizma ağrılarına karşı kullanılırlar. Ayrıca yemeklerde baharat olarak, içerdikleri uçucu yağ sayesinde parfümeri sanayinde, antioksidatif etkisinden dolayı da gıda sanayinde sıkça kullanılırlar [25-28].

Türkiye Florası ve sonrasında, 24 tür (27 takson) ve 5 hibrit takson kayıtlıdır. Bu çalışma sonucunda, Ege adalarında yayılış gösteren *O. calcaratum* Juss. ve *O. symes* Calström Türkiye'den bulunamamıştır. *O. munzurense* Sorger & Kit Tan türü ise hibrit bir takson olarak yeniden düzenlenmiştir. Türkiye'deki hibrit taksonlara 6 yeni hibrit takson ilave edilmiştir. Sonuç olarak, tür sayısı 21 (24 takson) ve hibrit sayısı da 12 olarak tespit edilmiştir. 21 türün 10'u endemik, 12 hibrit taksonun ise 10'u endemiktir. Türkiye'de hibritler ile beraber *Origanum* cinsine dahil toplam takson sayısı 36, endemik takson sayısı ise 22'dir. Endemizm oranı 61'dir [20-23].

Türkiye'de yayılış gösteren *Origanum* cinsi türlerinin seksiyonlara göre dağılımı, seksiyon ve tür ayırım anahtarı aşağıdaki gibidir.

Sect. *Amaracus*

O. ayliniae

O. boissieri

O. saccatum

O. solymicum

Sect. *Anatolicon*

O. hypericifolium

O. sipyleum

Sect. *Chilocalyx* (Briq.) Ietsw.

O. bilgeri P.H.Davis

O. vogelii

O. minutiflorum

Sect. *Origanum*

O. vulgare

Sect. *Brevifilamentum* Ietsw.

O. rotundifolium Boiss.

O. acutidens (Hand.-Mazz.) Ietsw.

O. haussknechtii Boiss.

O. brevidens (Bornm.) Dinsm.

O. leptocladum Boiss.

O. husnucan-baseri H.Duman, Aytaç & A.Duran

Sect. *Longitubus* Ietsw.

O. amanum Post.

Sect. *Majorana* (Mill.) Benth.

O. majorana

O. onites

O. syriacum

Sect. *Prolaticorolla* Ietsw.

O. laevigatum Boiss.

Bu çalışmada *Origanum* cinsi *Amaracus* ve *Anatolicon* seksiyonu türlerinin uçucu yağ ve fenolik bileşiklerinin belirlenmesi ile biyolojik aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1.3 *Origanum boissieri* Ietsw

O. boissieri ülkemizde Güney Doğu Anadolu bölgesinde (İçel), 1500-2500 m yükseklikte, çok yıllık ve yarıçalı şeklinde, gölgeli kayalarda endemik olarak yetişmektedir [24].



Şekil 1. 1: *Origanum boissieri* türüne ait fotoğraflar.

1.1.4 *Origanum saccatum* P.H.Davis

O. saccatum ülkemizde Akdeniz bölgesinde (Antalya, Isparta), 0-2000 m yükseklikte, çok yıllık ve yarıçalı şeklinde, kalkerli kayalar ve yamaçlarda, bazen de Pinus koruluğunda endemik olarak yetişmektedir [24].



Şekil 1. 2: *Origanum saccatum* türüne ait fotoğraflar.

1.1.5 *Origanum solymicum* P.H.Davis

O. solymicum ülkemizde Akdeniz bölgesinde (Antalya), 60-1000 m yükseklikte, çok yıllık ve yarıçalı şeklinde, kalkerli kaya ve yamaçlarda, bazen de *Pinus* sp. ormanı altında endemik olarak yetişmektedir [24].



Şekil 1. 3: *Origanum solymicum* türüne ait fotoğraflar.

1.1.6 *Origanum sipyleum* L.

O. sipyleum ülkemizde Marmara, Karadeniz, Ege, İç Anadolu ve Akdeniz Bölgesinde (Çankırı, Karabük, Kastamonu, Afyonkarahisar, Antalya, Aydın, Bilecik, Denizli, Eskişehir, Isparta, Konya, Kütahya, Manisa, Muğla, Uşak), 100-1500 m yükseklikte, çok yıllık ve yarıçalı şeklinde, kalkerli kayalar ve yamaçlarda, *Pinus* koruluğunda, meşe makisi bozkırında yetişmektedir [24].



Şekil 1. 4: *Origanum sipyleum* türüne ait fotoğraflar.

1.1.7 *Origanum hypericifolium* O.Schwarz & P.H.Davis

O. hypericifolium ülkemizde Akdeniz ve Ege bölgesinde (Denizli, Muğla), 1300-2000 m yükseklikte, çok yıllık ve yarıçalı şeklinde, kalkerli ve serpantin kayalar ve yamaçlarda, bazen de *Pinus nigra* ormanlarında endemik olarak yetişmektedir [24].



Şekil 1. 5: *Origanum hypericifolium* türüne ait fotoğraflar.

1.1.8 *Origanum ayliniae* Dirmenci & Yazıcı

O. ayliniae ülkemizde endemik ve dar yayılışlıdır. Dilek yarımadası Milli parkı sınırları içerisinde tespit edilmiştir. Türün ikinci bir lokasyonu, Dilek yarımadasının devamı olan Ödemiş-Priene harabelerinin üzeridir. Ancak, bu lokasyondan örnek toplanamamıştır. Bilinen tek lokasyonda kalker kaya çatlaklarında yetişen yarı çalimsı bir türdür [29].



Şekil 1. 6: *Origanum ayliniae* türüne ait fotoğraflar.

1.2 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerin kök, gövde, yaprak, meyve, kabuk ve çiçek gibi organlarından çeşitli yöntemlerle elde edilen, kuvvetli ve hoş kokulu, kolayca kristalleşebilen, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, genellikle renksiz veya açık sarı renginde olan karışımlardır. Uçucu yağlar bitkiye kendine has kokusunu ve lezzetini veren çok sayıda bileşikten oluşurlar [30-32]. Bu yağlar bitkinin türüne, bağlı olduğu familyaya göre salgı tüyü, salgı cebi, salgı kanalı veya salgı hücrelerinde bulunabilirler [33].

Uçucu yağlar bitki kimyasında önemli rol oynamaktadır. Bulunduğu bitkiyi dış etkenlere karşı korur. Bitkinin önemli hormonları uçucu yağında bulunur ve bu yağlar bitkideki bilgi akışını sağlar [34].

Bütün uçucu yağların saklama koşulları önemlidir. Depolama süresince hava, ısı ve ışığa uzun süre maruz kaldıklarında genellikle oksidasyona, polimerizasyona ve hidrolizasyona uğrarlar. Bu yüzden hava geçirmez, koyu renkli cam ya da alüminyum kaplarda ağzını sıkıca kapatarak hatta azot altında soğuk ve karanlık yerlerde muhafaza edilmelidir [35].

Uçucu yağların bileşimleri ve miktarı baharatın yetiştiği bölge coğrafyasına, cinsine, üretim şekline bağlı olarak değişiklik gösterir [1].

Uçucu yağlar bitkilerin aroma maddeleridir ve uzun yıllardır farklı amaçlar için birçok alanda kullanılmaktadır. Kullanım alanlarının başında ilaç, kozmetik, gıda sanayi, ağız bakım ürünleri, parfümeri, boyacılık, aromaterapi ve fitoterapi gelmektedir [36]. Oda sıcaklığında bile buharlaşabildikleri için uçucu yağ adını, parfümeride kullanılmalarıyla da esansiyel yağ adını alabilmektedirler [36].

Uzun yıllardır halk arasında tedavi amaçlı kullanılan bitkiler bilimsel bir değerlendirmeden geçirilerek fitoterapi adı altında yeni bir bilim dalı haline getirilmiştir. Bu yeni bilim dalı her geçen gün daha fazla önem kazanmaktadır [37].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkedeki insanların %80'nin bu terapi yöntemlerini kullanarak tedavi olduğu göstermektedir [38].

1.3 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, benzen halkasına bir ya da daha fazla hidroksil (OH) grubunun bağlandığı aromatik bileşiklerdir. Bitkiler bünyelerinde, ikincil metabolit olarak adlandırılan ve kendilerini zararlılara karşı korumada rol aldığı düşünülen çok sayıda fenolik bileşik içermektedirler [39]. Bitkilerde oldukça fazla bulunan fenolik bileşiklerin birçoğunun yapısı tanımlanmıştır [40]. Bu bileşikler meyve ve sebzelerde renk ve tat unsuruna etki eden önemli bir bileşik grublarıdır [41].

Canlılar, metabolizma işleyişi sonucu üretilen reaktif oksijen türleri (ROS: Reactive Oxygen Species) tarafından sürekli olarak oksidatif strese maruz kalmaktadır. Bu da hücrelerde bulunan DNA, lipit, protein gibi molekülleri zarara uğratarak birçok hastalığa sebebiyet vermektedir [42]. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler bu moleküllerin peroksidasyonunu inhibe ettikleri için antioksidan olarak kullanılırlar [43].

1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

1.3.1.1 Flavonoid Olmayanlar (Fenolik Asitler)

Fenolik asitler, hidroksibenzoik (C₆-C₁ fenilmetan yapısına sahip) ve hidroksisünamik asitler (C₆-C₃ fenilpropan yapısına sahip) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Hidroksibenzoik asitler bitkisel kaynaklarda çok az miktarda bulunmaktadır. Hidroksisünamik asitler ise halkaya bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler [42 - 44].

p-OH benzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit, gallik asit, salisilik asit, siringik asit ve ellajik asitler hidroksibenzoik; kafeik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, klorojenik asit ve tr-sünamik asit hidroksisünamik asit türevleridir [45-47].

Hidroksi benzoik asitler, yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleri, pozisyonları ve sayılarına bağlı olarak çeşitlenmektedir. Bu grubun en önemli bileşikleri vanilik asit, gallik asit, resorsilik asit, siringik asit, protokateşik asittir. Hidroksillenmeye ve hidroksil radikallerine yüksek tepki gösteren monohidroksi benzoatlar etkin hidroksil gidericilerdir.

Dihidroksi benzoik asitlerin türevlerinin antioksidan aktiviteleri, hidroksillerin şekline bağlı olarak, orto-, para- durumlarında yüksek aktivitede olurken, meta-, para- durumunda düşük aktivitede olmaktadır [48].

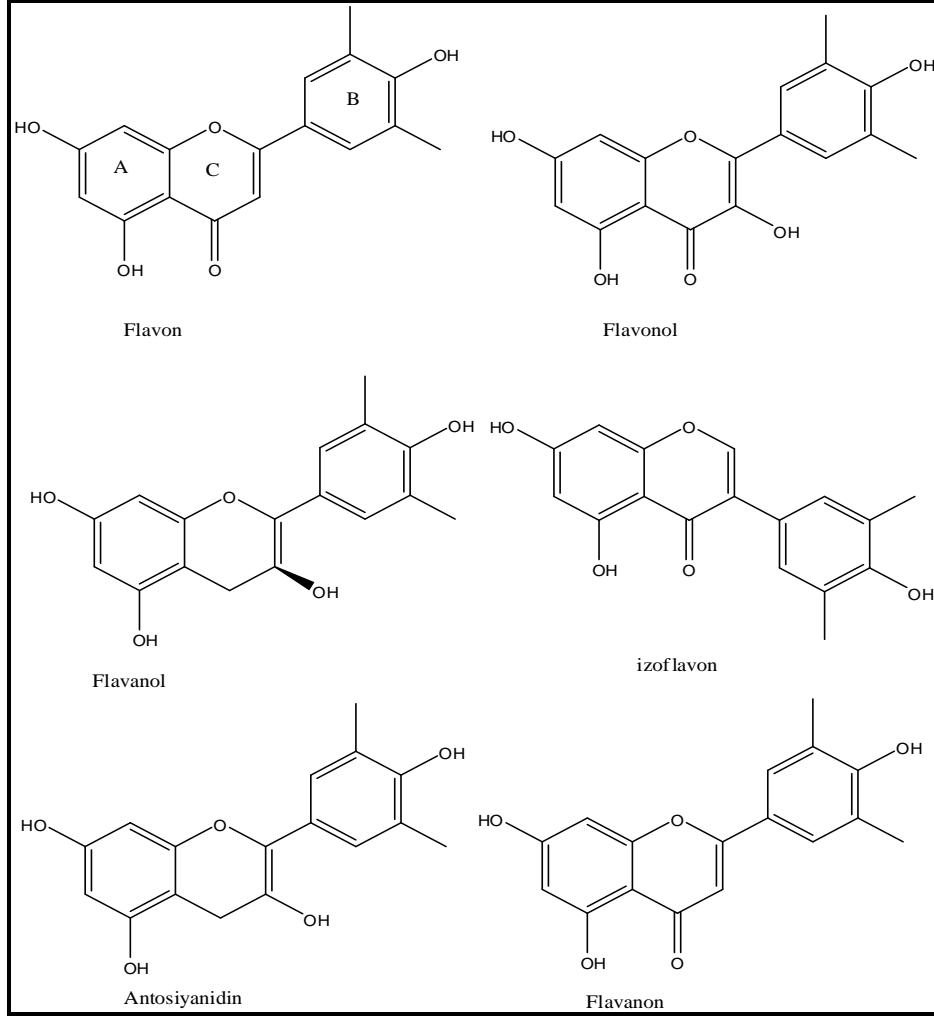
1.3.1.2 Flavonoidler

Flavonoidler, önemli antioksidan ve kelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en yaygın bitki fenolikleri sınıfıdır. Karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren flavonoidler, difenilpropan (C6-C3-C6) yapısındadır. Yapılarındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı flavonoidlerin kolaylıkla glikozitlenmelerine sebep olur [49]. Flavonoidlerin temel yapı kimyasalları Şekil 1.7' de verilmektedir.

Flavonoidler, antimikrobiyal, antiviral, antiülserojenik, sitotoksik, mutajenik, antienflamatuar, antihipertansif ve özellikle antioksidan etkilerinden dolayı araştırmacıların dikkatini çekmektedir [50, 51].

Yapısal olarak beş gruba ayrılırlar;

- 1- Antosiyanidinler
- 2- Flavonlar ve flavonollar
- 3- Flavanonlar
- 4- Kateşinler
- 5- Proantosiyanidinler



Şekil 1. 7: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları.

1.3.1.2.1 Antosiyanidinler

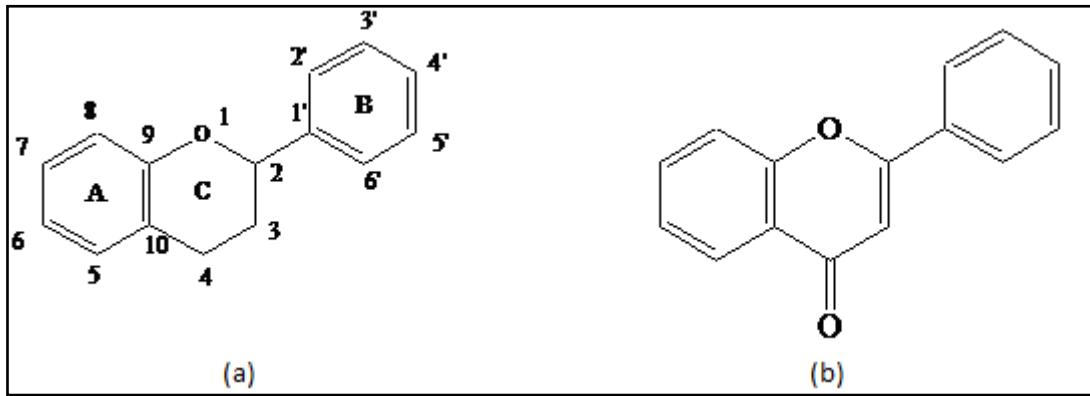
Antosiyaninler, flavanollerin B aromatik halkasına bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelir. Aglikonları antosiyanidinlerdir. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delfinidindir. Renkli meyvelerde özellikle kırmızı ve mor renkli meyvelerde bol miktarda bulunur [52].

1.3.1.2.2 Flavonlar ve Flavonollar

Flavonoidlerin bitkilerde sıkça rastlanan bir sınıfı flavonlardır. Çekirdek iskeletleri Şekil 1.8'de verilmiştir. Bu bileşiklerin hetero halkasında C-2 ve C-3 atomları arasında çift bağın bulunması karakteristiktir. Flavonlar, flavononların 2,3-dehidro türevleridir. Bitkilerde

hem serbest (aglikon), hem de glikozitleri halinde bulunurlar. Günümüz de bitkilerden 300'ün üzerinde flavon aglikon izole edilmiştir.

Flavonların basit üyeleri, aromatik halkalarda hidroksil ve/veya metoksil grupları içeren türevleridir. Yapılarında yalnız oksijen fonksiyonu (hidroksi ve/veya metoksil grupları) içermelerinden dolayı, bu grup bileşiklere, oksijenli veya O-süstitüye flavonlar da denir. Flavonların O-süstitüye türevleri doğada yaygındır. Flavonlar yapılarında bulunan, O-süstitüentlerin (hidroksil ve metoksil gruplarının) sayısına bağlı olarak gruplandırılabilirler [53]. Apigenin ve luteolin flavonlara örnek verilebilir.



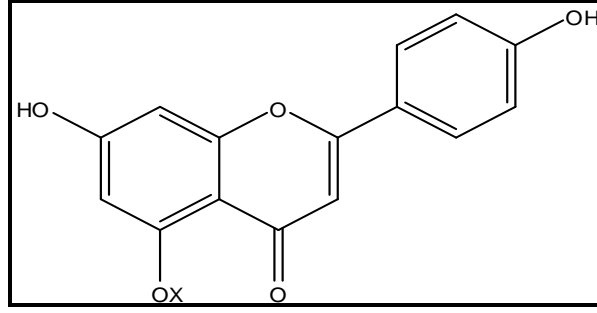
Şekil 1. 8: Flavan (a) ve Flavon (b) yapıları.

Flavonoller, C halkasının en fazla yükseltgendiği flavonoid sınıfıdır. C-3 pozisyonunda hidroksil grubu içeren 2-fenilbenzo- γ -piran çekirdeği içerdiklerinden dolayı, flavonollere 3-hidroksiflavonlar da denilebilir. Flavonoller, flavonoidlerin bitkilerde en çok rastlanan ve yapı çeşidi en fazla olan sınıfıdır.

Flavonoller, kristalsi veya amorf özellikli olup, flavonlar gibi açık sarı veya sarı renklidirler. Bu bileşikler genellikle oksijenli ortamda, flavonlara göre daha dayanıksızdırlar. Kaempferol, quercetin ve myricetin flavonollere örnek olarak verilebilir.

1.3.1.2.3 Flavanonlar

Flavanon yapısı, flavonlardan farklı olarak ortasındaki halkada çifte bağ içermez ve Şekil 1. 9'da flavanonun yapısı görülmektedir [54].



Şekil 1. 9: Flavanonun yapısı.

Glikozit formundaki flavanonlar turunçgillerde yaygın olarak bulunmaktadır. Örneğin; greyfurtlarda acı tadı veren naringin bir flavanon glikozittir [54].

1.3.1.2.4 Kateşinler

Kateşinler, çay ve bazı meyve-sebzelerde bulunan antioksidan etkili falvonoid grubudur. Yeşil çay kateşinler ve kateşin türevlerini kapsayan flavonoidler bakımından zengindir. Kimyasal yapıları flavan 3- ol'lerdir ve en sık bulunanları, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (+)-gallokateşin, (-)- epigallokateşindir. Kateşinler, iki asimetric karbona ve bundan dolayı da dört olası izomere sahiplerdir; C2 ve C3 atomuna bağlı hidrojenler trans ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşinden, cis ise (-)-epikateşin ve (-)- epigallokateşinden söz edilmektedir [55].

1.3.1.2.5 Proantosiyanidinler

Kateşinlerin oluşturduğu polimerik yapılara proantosiyanidinler adı verilir. Sadece epikateşin/kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prodelfinidin denir [41]. Bitkilerde yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan yapılardır [39].

2. DENEYSEL BÖLÜM

2.1 Kimyasal Çalışmalar

2.1.1 Bitkisel Materyal

Kimyasal çalışmalar için bitki örneklerinin toprak üstü kısımları doğadan taze olarak tarafımızdan toplanmış ve Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ tarafından teşhis edilmiştir. Bitkilerin birer örnekleri Balıkesir Üniversitesi Herbariumunda saklanmaktadır.

Tablo 2. 1: *Origanum* türlerinin listesi.

Herbarium No	Tür Adı	Lokalite
TD 4285	<i>Origanum boissieri</i>	Mersin : Tarsus, Çamlıyayla - Saimdibi arası 15. km
TD 4296	<i>Origanum saccatum</i>	Alanya, Gökbel - Çökelek yayla arası 8. km
TD 4302	<i>Origanum solymicum</i>	Antalya : Kemer, Kesme boğazı, P.brutia altı, kalkerli kaya
TD 4435	<i>Origanum ayliniae</i>	Dilek yarımadası Milli parkı
TD 4308	<i>Origanum sipyleum</i>	Denizli, Serinhisar - Denizli arası 5. km
TD 4315	<i>Origanum hypericifolium</i>	Denizli : Honaz, Honaz Dağı, kuzey yamaç, Arpacık yayla yolu, <i>P.nigra</i> altı, yamaçlar

2.1.2 Kimyasal Materyal

Bitkilerden ekstre hazırlamak için Kloroform (CHCl₃) (Merck), Aseton ((CH₃)₂CO) (Merck) ve Metanol (CH₃OH) (Merck) kullanıldı.

LC-MS/MS analizinde standart olarak; Fumarik asit (%99, Sigma-Aldrich), pirogallol (%98, Sigma-Aldrich), rutin (%94, Sigma-Aldrich), klorojenik asit (%95, Sigma-Aldrich), gallik asit (%99, Merck), *p*-hidroksibenzoik asit (99 %, Merck), şiringik asit (%95, Sigma-Aldrich), *t*-ferulik asit (%99, Sigma-Aldrich), kafeik asit (%98, Sigma-Aldrich), pelorganin klorit (%98, Sigma-Aldrich), kuersitrin (%97, Sigma-Aldrich), salisilik asit (%99, Sigma-Aldrich), *p*-kumarik asit (%98, Sigma-Aldrich), luteolin-7-O-glikozit (%99, AppliChem), rosmarinik asit (%96, Sigma-Aldrich), pirogallol (%98, Sigma-Aldrich), apigenin (%95, Sigma-Aldrich), kamferol (%96, Sigma-Aldrich), luteolin (98 %, Sigma-Aldrich), herniarin (98%, Sigma-Aldrich), kuersetin (98 %, Sigma-Aldrich)ve isorhamnetin (%98, Genay-France) kullanıldı.

2.1.3 Uçucu Yağların Eldesi

Uçucu yağların eldesi için su buharı destilasyonu yöntemi kullanılmıştır. Destilasyon yöntemi; kurutulmuş ve ıslatmakla bozunmayan bitkisel materyallerden uçucu yağ elde edilmesi için uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemle, elde edilen uçucu yağın yanında aromatik suda elde edilir. Su destilasyonu yönteminde, eklenecek su miktarı uçucu yağı çıkarılacak bitkiyi örtecek kadar olmalıdır. Sistem dışarıdan ısıtılarak suyun dokulara nüfus etmesi sağlanır ve bu şekilde kuvvetli polar maddelerin önce çözünmesi sağlanır. Düşük polariteye sahip maddeler ise daha sonra distillenir. Yağ taşıyan buharlar soğutucudaki soğuk suyun etkisiyle tekrar yoğunlaşarak toplama kabında toplanır. Toplama kabında toplanan uçucu yağlar, sudan hafif olduğu için faz oluşturur ve sonrasında kolayca ayrılır [56].

Bu çalışmada uçucu yağ analizinde kullanılmak üzere bitkilerdeki uçucu yağlar klevenger aparatı ile elde edildi. Bu amaçla yaklaşık 100 gram kadar bitki 2 litrelik bir balonda hidrodestilasyona tabi tutuldu. Destilasyon sonunda elde edilen uçucu yağ alındı ve analiz süresine kadar +4⁰C' de muhafaza edildi.

2.1.4 GC-MS Koşulları

GC/MS ölçümleri, Thermo-Electron TSQ GC-MS/MS model gaz kromatografisinde gerçekleştirilmiştir. Polar olmayan phenomenex DBS silika kolonda (30 m×0.25 mm ve

0.25µm film kalınlığında), 1mL/min hızında (20 psi) helyum gazı kullanılmıştır. GC fırın sıcaklığı, 10 dakika için 50 °C'de tutulmuş ve 250 °C'ye 5 °C/min hızında çıkması için programlanmıştır. Sonra 250 °C'de 15 dakika sabit tutulmuştur. Ayrılma oranı 1:20 olarak ayarlanmıştır. İnjektion hacmi, 0.1µL idi. EI/MS ölçümü, 70 eV iyonizasyon enerjisinde yapılmıştır. Kütle aralığı, 35-650 amu m/z idi. Kovats indeksinin hesabında referans noktası olarak alkanlar kullanılmıştır. İncelenen maddelerin, tutulma zamanlarına göre, karakterizasyonu yapılmış ve elde edilen bu veriler literatürdeki (NICS ve Wiley) örneklerin verileri ile karşılaştırılmıştır.

2.1.5 Ekstrelerin Hazırlanması

Fenolik bileşenlerin analizi için; çiçeklenme zamanında toplanan bitkilerin gövde kısımları gölgede kurutulup küçük parçalara öğütüldü. 100 gram öğütülmüş bitki önce 2L Kloroform (C) çözücüsünde 15 gün masere edildikten sonra süzülüp kuruluğa kadar evaporatör yardımıyla çözücüsü buharlaştırılmıştır. Kalan bitki asetona koyularak maseresyona devam edilmiş, 15 gün sonra aynı işlemler tekrarlanmıştır. Aseton (Ac) ekstresinden kalan bitki son olarak Metanol (M) ile muamele edilmiş ve kuru ekstre elde edilene kadar çözücüsü buharlaştırılmıştır. Elde edilen ekstreler C, Ac ve M2 olarak kodlanmıştır. Ayrıca 100 gramlık bitki doğrudan metanole konularak M1 ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen ekstreler LC-MS/MS yardımı ile analiz edilmiştir [56].

2.1.6 LC-MS/MS Analizi

Kromotografi koşulları aşağıda belirtilmiştir;

Cihaz: Zivak® HPLC ve Zivak® Tandem Gold Triple quadrupole (Istanbul, Turkey) kütle spektrometresi

Kolon: Synergy Max C18 kolon (250 x 2 mm ID., 5 µm tanecik büyüklüğü)

Mobil faz: Su (A, 0.1 % formik asit), metanol (B, 0.1 % formik asit)

Kademeli elüsyon: 0-1.00 dakika 55 % A ve 45 % B, 1.01-20.00 dakika 100 % B ve son olarak 20.01-23.00 55 % A ve 45 % B.

Akış hızı: 0.25 mL/dakika

Kolon sıcaklığı: 30 °C

Enjeksiyon hacmi: 10 µL.

ESI parametreleri:

Gaz basıncı: 2.40 m Torr CID

Enjektör voltajı: 5.000.00 V

Koruma voltajı: 600.00 V

Gaz sıcaklığı: 300.00⁰C

API sıcaklığı: 50.00⁰C

Nebullizer gaz basıncı: 55 psi

Kurutucu gaz basıncı: 40.00 psi

Parametreler Tablo 2. 2' de verilmiştir.

LC- MS/MS ile analiz için standart çözeltiler metanol içerisinde sırasıyla 10 mg/L, 5 mg/L ve 0.1 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Kullanılan metanol Merck (Darmstadt, Germany) den temin edilmiştir. Kurkumin çözeltisi 100 mg/L hazırlanmış olup deneylerin her birinde 50 µL kullanılmıştır.

Örnek çözeltileri ise aşağıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır.

50 mg ekstre 5 ml etanol-su karışımında (50:50 v/v) çözüldü. Karışım 1 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra üzerine 50 µL kurkumin ilave edildi, metanol ile seyreltildi. Elde edilen son çözeltiden 1 ml alınarak kapaklı vial otomatik numune şişelerine konuldu ve 10 µL çözelti LC ye enjekte edildi. Otomatik numune şişelerindeki örnekler deney boyunca 15⁰C de tutuldu.

Bileşiklerin validasyonu için kurkumin iç standart olarak kullanılmıştır. Validasyon parametreleri doğruluk, tekrar edilebilirlik, belirleme limiti (BL) kuantifikasyon limiti (KL) olarak belirlendi.

Her bir bileşik için yöntemin doğrusallığı standart çözeltinin analizi ile belirlenmiştir. Her bileşiğin doğrusallık aralıkları verilmiştir. Korelasyon katsayısı $r^2 \geq 0.99$ olarak bulunmuştur. Ayrıca rapor edilen bileşikler için Lineer regresyon eşitliği x derişim, y ise pik alanını göstermek üzere Tablo 2. 3’de belirtilmiştir.

Yöntemin doğruluğu her bileşiğin üç derişimi için tekrarlanmasıyla değerlendirilmiş ve iyi bir kesinlik ve sonuçlar gereksiz tekrardan kaçınılarak sağlanmıştır.

Yukarıdaki bileşikler için LC-MS/MS metodunda BL ve KL 0.5-50 mg/L olarak hesaplanmıştır. BL değerini standart sapmadan 3 kat daha büyükken, KL değerinin ise 10 kat büyük olduğu görülmüştür.

Lineer aralıktaki her bir analitin ve rapor edilen metodun derişimi kalibrasyon eğrisi ile bulunmuştur. Son olarak, hesaplanan derişim aşağıdaki eşitlikle mg/kg ham örnek olarak çevrilmiştir.

Tablo 2. 2: LC-MS/MS cihaz parametreleri.

	Bileşik	Ana iyon	Parçalanma iyonu	Çarpışma enerjisi (V)
1	Gallik asit	168,6	124	13
2	Kaempferol	287	152,3	30
3	Salvigenin	329	295,8	15
4	Penduletin	345,2	311	25
5	Fumarik asit	115	71	8
6	<i>p</i> -OH benzoik asit	136,7	92,6	12
7	Vanilin	150,7	135,4	12
8	<i>p</i> -Kumarik asit	163,2	118,7	14
9	Kaffeik asit	179	135	10
10	<i>t</i> -Ferulik asit	193	133	15
11	Şirinjik asit	196,7	181,4	12
12	Luteolin	285	132	30
13	Kuersetin	301	178,5	16
14	Ellajik asit	301	228,3	25
15	Isoramnetin	315	300	15
16	Kuersetagenin-3,6-dimetileter	345,1	329,5	16
17	Klorojenik asit	353	191	14
18	Rozmarinik asit	359,2	160,5	15
19	Luteolin-7-O-Glukozid	447	284,5	14
20	Luteolin-5-O-Glukozid	447	289,5	20
21	Kaempferol-3-O-rutinosit	593	284,4	18
22	Rutin	609	301	16
23	Kuersitrin	471,9	309,9	16
24	Kurkumin*	369,3	176,9	20

* İç standart olarak kullanılmıştır.

$$\text{Miktar (mg/kg)} = \frac{C_a \times V_{\text{son}}}{m \times V_{\text{ilk}}} \times 1000$$

C_a : Analit derişimi (mg/ L)

V_{son} : Analizden önceki son seyreltik hacim (L)

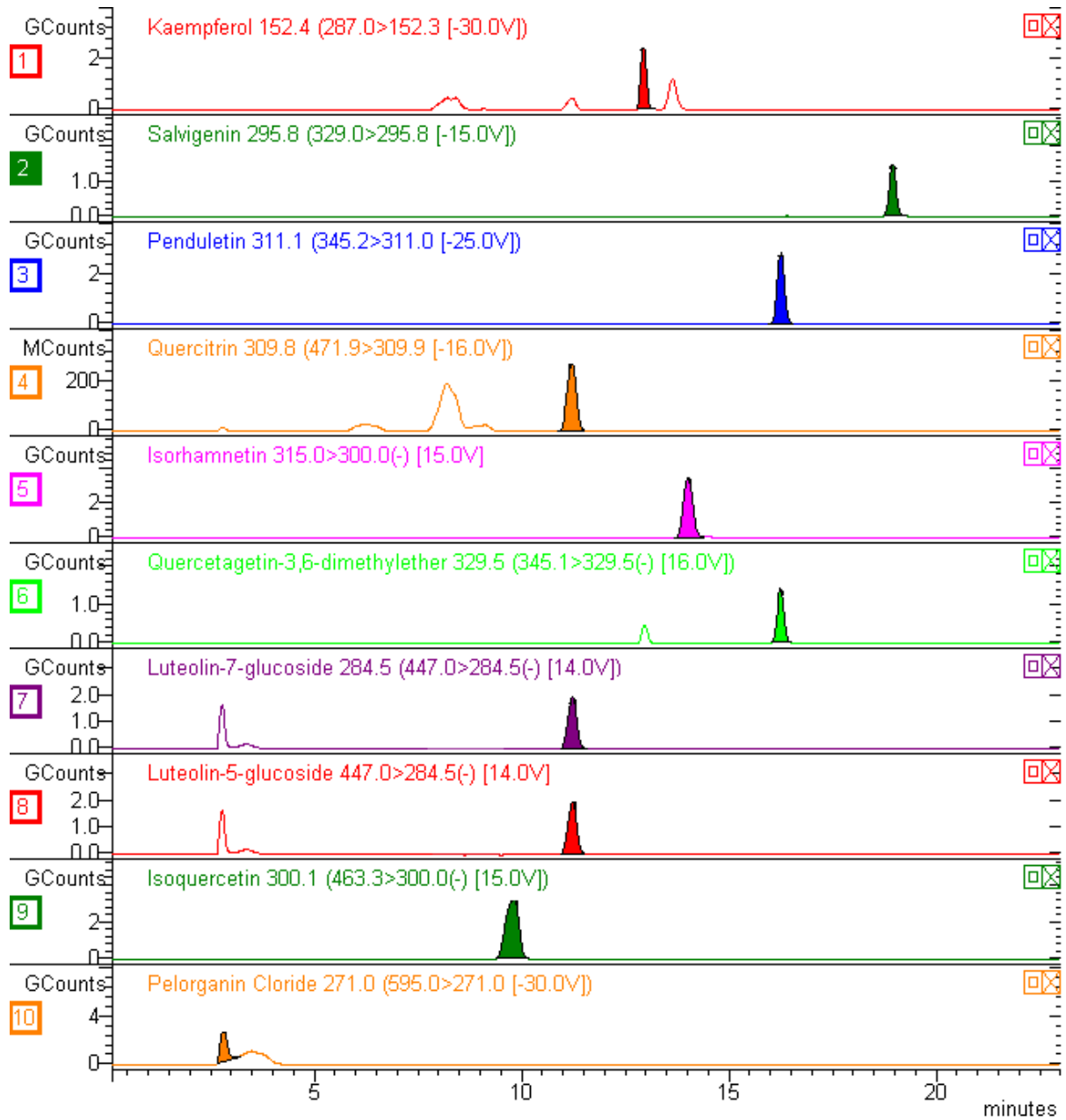
m : Ekstrat miktarı (g)

V_{ilk} : İlk örnek hacmi (L)

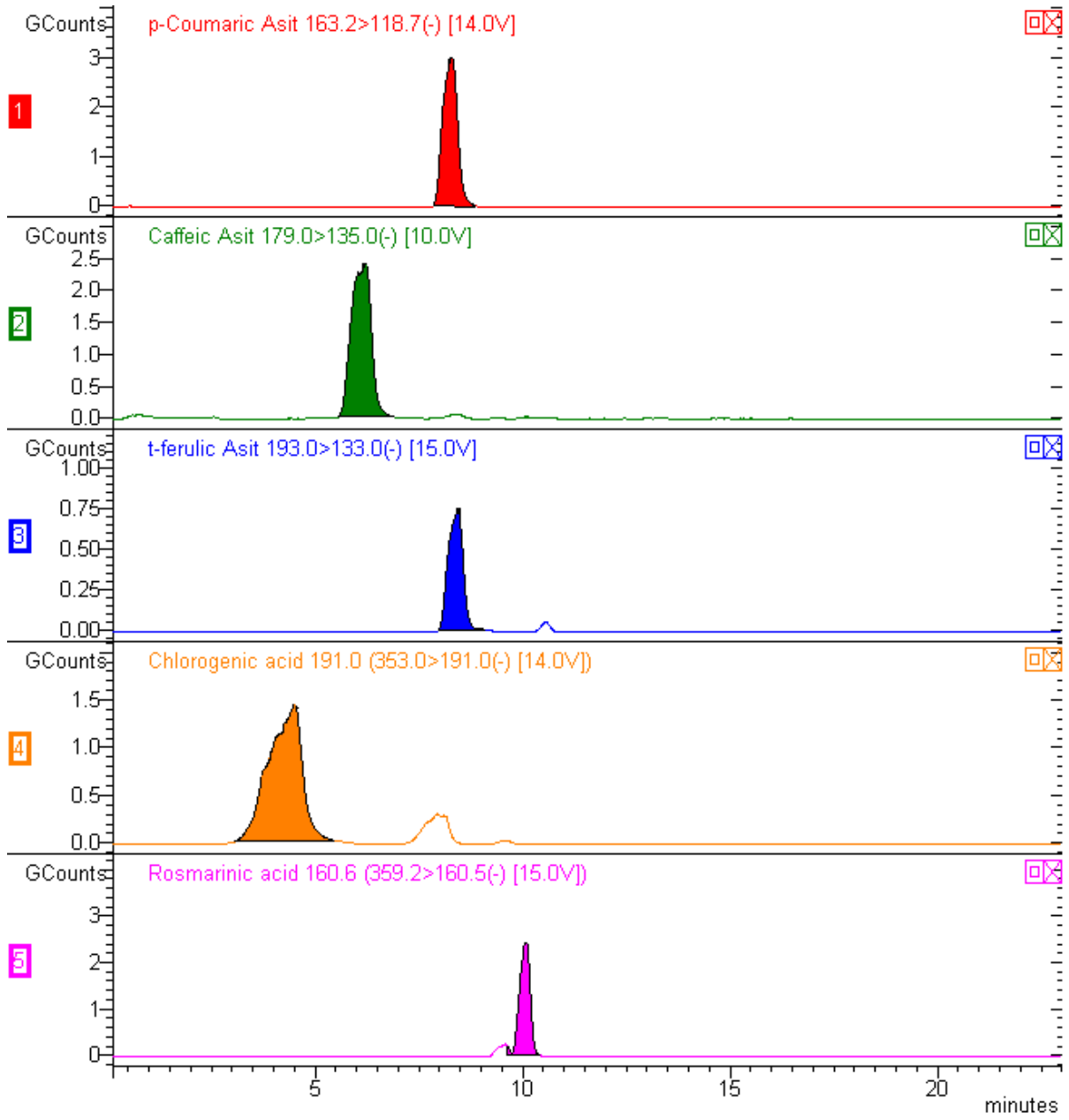
LC-MS / MS metodunun kuantifikasyon belirsizliği ve kaynaklarının değerlendirilmesi için EURACHEM/CITAC kılavuzu kullanılmıştır [56, 57].

Tablo 2. 3: LC-MS/MS yöntemi validasyon parametreleri.

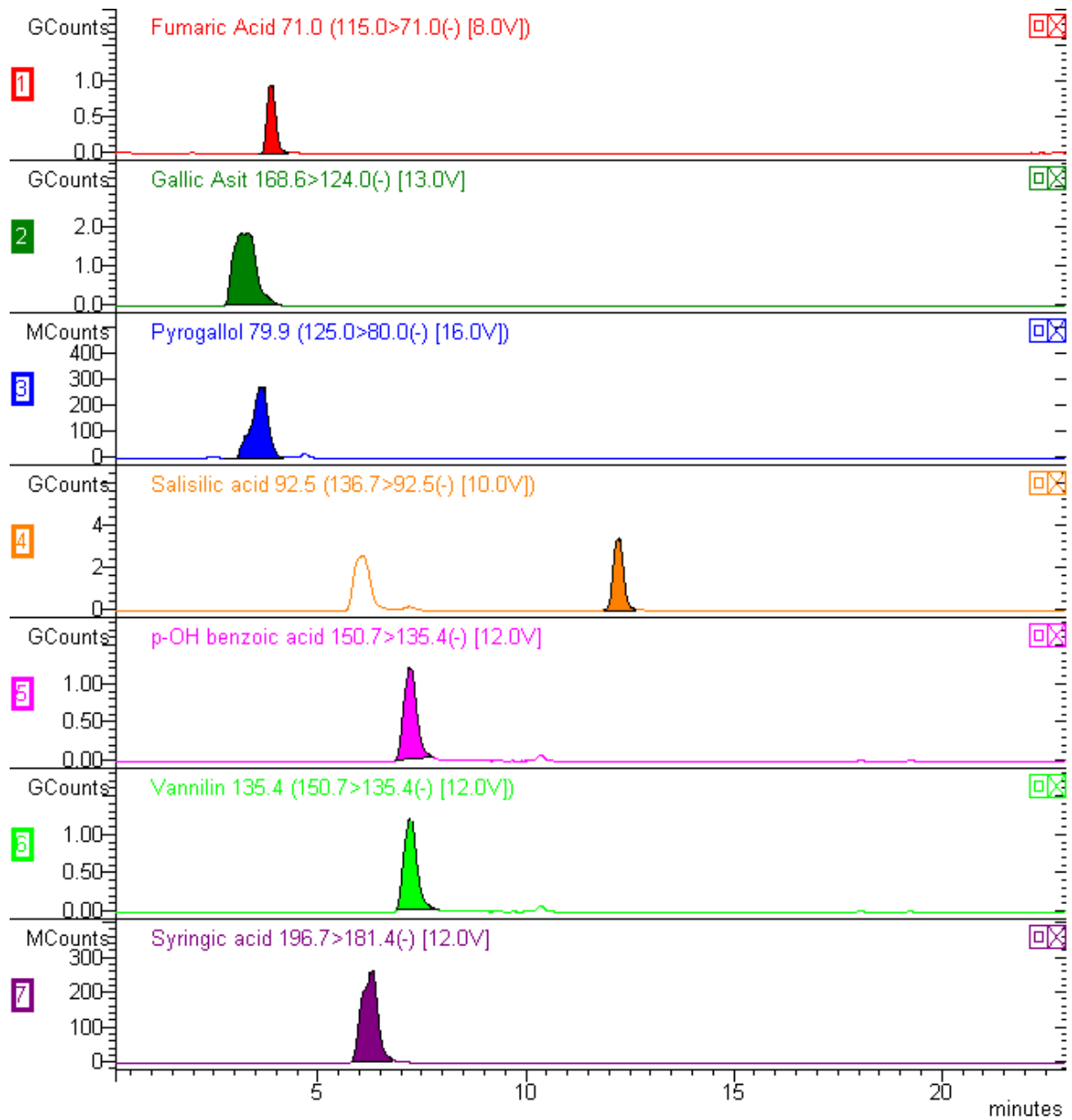
	Bileşikler	Lineer Regresyon Eşitlikleri	R^2	BL (mg/L)	KL (mg/L)	RSD (%)
1	Gallik asit	$y=0,0569x+0,0177$	0,9912	0,002	0,008	4,85
2	Kaempferol	$y=0,0230x+0,0116$	0,9841	0,002	0,008	5,47
3	Salvigenin	$y=0,0355x+0,8620$	0,9912	0,036	0,119	5,21
4	Penduletin	$y=0,1630x+0,0262$	0,9965	0,089	0,297	9,47
5	Fumarik asit	$y=0,0569x+0,0177$	0,9912	0,003	0,01	5,44
6	p-OH benzoik asit	$y=0,1230x+0,0280$	0,9939	0,002	0,007	4,78
7	Vanilin	$y=0,0982x+0,0158$	0,9982	0,019	0,064	6,57
8	p-Kumarik asit	$y=0,2670x+0,1810$	0,9774	0,006	0,021	6,39
9	Kaffeik asit	$y=0,3300x+0,0036$	0,9924	0,028	0,093	8,04
10	t-Ferulik asit	$y=0,0655x+0,0266$	0,9925	0,047	0,158	5,21
11	Şirinjik asit	$y=0,0305x+0,0079$	0,9973	0,022	0,073	8,39
12	Luteolin	$y=0,2120x+0,0699$	0,9937	0,062	0,207	0,16
13	Kuersetin	$y=0,1150x+0,0078$	0,9938	0,001	0,002	0,11
14	Ellajik asit	$y=0,0244x+0,0048$	0,9951	0,02	0,068	0,11
15	Isoramnetin	$y=0,0739x+0,5100$	0,9608	0,088	0,294	3,67
16	Kuersetagetin-3,6-dimetiler	$y=0,0181x+0,0202$	0,9924	0,022	0,074	0,1
17	Klorojenik asit	$y=0,2620x+0,0674$	0,9980	0,445	1,483	5,45
18	Rozmarinik asit	$y=0,1960x+0,0043$	0,9982	0,022	0,072	3,73
19	Luteolin-7-O-glukozid	$y=0,1350x+0,0246$	0,9957	0,022	0,072	8,56
20	Luteolin-5-O-glukozid	$y=0,2300x+0,0413$	0,9926	0,01	0,034	1,12
21	Kaempferol-3-O-rutinosit	$y=0,1080x+0,0135$	0,9977	0,014	0,045	8,15
22	Rutin	$y=0,0232x+0,0008$	0,9969	0,01	0,034	7,9
23	Kuersitrin	$y=0,0290x+0,0058$	0,9918	0,001	0,002	4,28



Şekil 2. 1: Kullanılan bazı standartların LC-MS/MS kromotogramı (Flavanoit ve türevleri) (2.5 mg/L).



Şekil 2. 2: Kullanılan bazı standartların LC-MS/MS kromotogramı (Fenolikler ve diğerleri) (2.5 mg/L).



Şekil 2.2: Devamı.

2.2 Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.2.1 Biyolojik Aktivite Testlerinde Kullanılan Deneysel Yöntemler

2.2.1.1 Antioksidan Aktivite Yöntemleri

2.2.1.1.1 DPPH (Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi

DPPH radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla öncelikle derişimi 0.1 mM olacak şekilde metanol içerisinde hazırlandı ve bu çözeltiden 4 ml, 1 ml örnek çözeltisine eklendi. Oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% inhibisyon)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrolün Absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin Absorbansı

DPPH’ın rengi açıldığı için absorbsiyonda azalma olur. Reaksiyon karışımının düşük absorbsiyon göstermesi serbest radikal giderim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtir [56, 57].

2.2.1.1.2 CUPRAC (Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

1 mM DMF, 10 mM CuCl₂, 7,5 mM Neocuproine, 1 M NH₄CH₃COO (pH 7,0) çözeltileri ve distile su 1:1:1:0,6 oranlarında karıştırılıp etanol içindeki 25 ul bileşik çözeltisiyle (seyreltme oranı 1:20) plakalara koyuldu. 30 dk bekletilip 450 nm’de Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detection System’e karşı ölçüldü. TEAC CUPRAC sonucu, referans olarak trolox (TR) üzerinden mmol TR g⁻¹ olarak verilmiştir. Etanol negatif, kurkumin ise pozitif kontrol olarak kullanıldı. Kurkuminin TEAC_{CUPRAC} değeri 0,9 mmol TR g⁻¹ olarak hesaplandı. Bileşikleri TEAC_{CUPRAC} değerleri referanslar kullanılarak hesaplandı [56, 57].

TEAC (mmol TR g⁻¹) = (Absorbans/ ε_{TR}) (205/25) (20/1) (2/0,02).

Burada absorbans ε_{TR} = 16700 (Apak vd. 2008),

(205); toplam reaksiyon hacmi

(25); reaksiyona katılan bileşiklerin hacmi

(20/1); seyreltme faktörü

(2); bitki ekstrelerindeki çözelti hacmi (ml)

(0.02); bitki ekstre miktarı (g)

(2/0,02); yerine kullanılan katsayı

2.2.1.1.3 β-Karoten Linoleik Asit Yöntemi

1 ml kloroform içerisinde bulunan 0.5 mg β-karotene 25 µL linoleik asit ve 200 mg Tween 40 emülgatör karışımı eklendi. Kloroform vakum altında buharlaştırıldıktan sonra oksijenle doyurulmuş 100 ml su ile kuvvetli bir şekilde çalkalanmasıyla elde edilen karışımdan 4000 µL farklı konsantrasyonlarda örnek çözeltisi içeren tüplere koyuldu. Emülsiyon, test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm'de ölçüldü. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β-karotenin rengi kayboluncaya kadar (yaklaşık 120 dk) inkübasyona devam edildi. BHT ve α-tokoferol standart olarak kullanıldı. Absorbans yine 470 nm'de ölçüldü. β-karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı [56, 57]

$$R = \ln(a/b) / t$$

In= Doğal logaritma

a: Başlangıç absorbansı

b: 120 dk sonraki absorbans

t: İnkübasyon Süresi (dk)

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Burada:

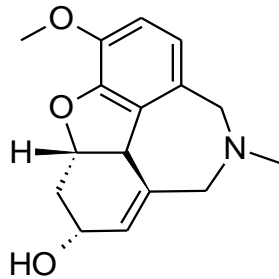
AA: Antioksidant aktivite

R_{kontrol} : Kontrolün Renginin Açılma Hızı

$R_{\text{örnek}}$: Örneğin Renginin Açılma Hızı

2.2.1.1.4 Antikolinesteraz Aktivite Yöntemi

Asetil- ve bütiril kolinesterazın inhibitör aktiviteleri Ellman, Courtney, Andres ve Featherston tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemle ölçüldü [58]. Antikolinesteraz aktivitesinin DTNB metoduyla ölçüldüğü deneyde asetilkolin iyodür ve bütirilkolin iyodür reaksiyonda substrat olarak kullanıldı. 100 ve 50 mikrolitre 100 mM (ph 8.0) sodyum fosfat tamponu AChE ya da BChE ile karıştırılıp 15 dk 25°C inkübe edilip 0.5 mM DTNB eklendi. Reaksiyon asetiltiyokolin iyodür (0.71 mM) ya da bütiriltiyokolin klorür (0.2 mM) ilavesiyle başlatıldı. Sırasıyla asetilkolin iyodür veya bütirilkolin iyodürün enzimatik hidrolizi ile açığa çıkan tiyokolinin DTNB ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonu 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlendi. Kontrol olarak metanol kullanıldı. Standart olarak Şekil 2.3'de açık yapısı gösterilen, *Galanthus* bitkisinden izole edilen alkaloid tipi ilaç olan Galantamin kullanıldı [56, 57]



Şekil 2. 3: Galantamin.

Antikolinesteraz aktivitesi, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\%inhibisyon = \frac{A_{kontrol} - A_{\text{\u00f6rnek}}}{A_{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

Antikolinesteraz aktivitesi, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$[(E-S) / E] \times 100$$

E; test \u00f6rnekleri olmayan enzim aktivasyonu

S; test \u00f6rnekleri olan enzim aktivasyonu

3. BULGULAR

3.1 Uçucu Yağ Bileşen Sonuçları

Tablo 3. 1: *Amaracus* ve *Anatolican* seksiyonlarının uçucu yağ bileşenleri.

Bileşikler	KI*	<i>Amaracus</i>				<i>Anatolican</i>	
		OB	OSP	OSH	OA	OSL	OH
Hidrokarbon ve türevleri							
3-metil nonan	971	-	0,1	3,6	-	0,6	t
1-okten-3-ol	979		1,4	0,5	-	0,4	1,4
3-oktanol	991	-	0,1	0,2	-	0,1	0,1
2-metil dekan	1063		-	0,5	-	0,2	0,6
% aydınlatılan		-	1,6	4,8	-	1,3	2,1
Monoterpen hidrokarbonlar							
α -thujen	930	-	-	0,4	-	0,7	-
α -pinen	939	-	0,1	1,5	-	0,3	-
camphen	954	0,3	-	1,1	-	t	-
sabinen	975	-	-	0,5	-	-	-
β -pinen	979	-	0,2	0,6	-	3,3	-
α -fellandren	1003	-	t	0,1	-	0,1	-
α -terpinen	1017	-	0,4	1,2	-	1,6	t
<i>p</i>-simen	1025	29,8	37,9	29,6	13,9	21,6	1,6
limonen	1029	-	0,1	0,6	-	0,5	t
(E)- β -osimen	1050	1,7	-	-	1,7	0,4	-
γ -terpinen	1060	0,2	12,5	12,7	-	28,7	1,3
% aydınlatılan		32,0	51,2	48,3	15,6	57,2	2,9
Oksijenlenmiş monoterpenler							
sabinenhidrat-cis	1070	0,1	-	-	0,8	-	-
α -terpinol	1089	-	-	0,3	-	0,1	0,1
undekan	1100	-	-	8,0	-	0,3	0,1
pinen hidrat	1123	0,6	-	-	-	-	-
1-terpineol	1134	0,9	-	-	-	-	-
cis- β -terpineol	1144	10,2	-	-	-	-	-
kamfor	1146	6,4	-	0,2	0,5	-	-
menth-3-en-8-ol	1150	2,6	-	-	-	-	-
menton	1153	0,4	-	-	0,1	-	-
trans- β -terpineol	1163	0,5	-	-	0,1	-	-
borneol	1169	-	1,8	9,0	-	1,8	9,2
4-terpineol	1177		2,2	0,8	-	0,6	1,3
α -terpineol	1189		5,4	1,2	-	0,3	1,0
mirtenal	1196	-	0,3	0,2	-	-	0,1
karveol-cis	1229	-	-	-	0,7	-	-
karvon	1243		1,8	-	-	2,5	-

Tablo 3. 1: Devamı

karvakrol methileter	1245	2,6	-	-	14,4	-	-
bornil asetat	1289		0,2	0,3	-	-	-
cimen-7-ol	1291		2,6	-	-	-	0,3
terpinen-7-al	1291	0,6	-	-	-	-	-
karvakrol, ethileter	1298	0,6	-	-	-	-	-
δ -elemen	1338	2,1	-	-	3,1	-	-
α -kubebene	1351	0,2	-	-	-	-	-
α -ylangen	1375	-	-	-	0,2	-	-
% aydınlatılan		27,8	14,3	20,0	19,9	5,6	12,1
Seskiterpen hidrokarbonlar							
α -kopaen	1377	-	-	-	-	1,1	-
β -burbonen	1388	0,4	-	-	-	-	0,2
β -elemene	1391	-	0,2	-	-	-	-
(Z)-karyofillen	1409	-	4,3	3,9	-	2,5	5,4
α -gurjunen	1410	-	0,1	-	-	-	-
aromadendren	1441	2,0	-	-	5,6	-	-
α -humulen	1455	0,2	0,7	0,3	-	0,3	0,3
E- β -farnesen	1457	0,2	0,1	-	-	-	-
allo-aromadendren	1460	1,0	-	-	2,1	-	-
τ -muurolen	1480	-	-	1,3	-	1,9	2,4
germakren-D	1485	-	-	1,3	-	4,0	0,4
α -kadinen	1539	-	-	0,1	-	0,8	0,2
% aydınlatılan		3,8	5,4	6,9	7,7	10,6	8,9
Oksijenlenmiş seskiterpenler							
spatulenol	1578	3,4	-	1,3	2,5	1,8	1,2
karyofillen oksit	1583	0,1	3,0	2,1	0,1	0,5	1,7
α -kadinol	1654	0,3	-	-	-	-	-
ledol	1590	-	0,2	-	-	-	0,1
viridiflorol	1593	-	-	-	-	0,2	t
α -kadinol	1660	-	0,1	-	-	-	0,1
valeranon	1675	-	0,3	0,2	-	0,2	0,1
α -bisabolol	1686	-	0,1	t	-	0,2	-
% aydınlatılan		3,8	3,7	3,6	2,6	2,9	3,2
Fenolik bileşenler							
timol	1290	2,5	-	-	-	-	-
karvakrol	1299	30,1	21,6	15,2	53,7	21,2	68,8
% aydınlatılan		32,6	21,6	15,2	53,7	21,2	68,8
Toplam (%)		100,0	97,8	98,8	99,5	98,8	98,0
* Kolonda alikonma süreleri.							

3.2 Fenolik Bileşen Analiz Sonuçları

Tablo 3. 2 : *O. boissieri* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	7,91±0,56	-	49,68±3,51	56,5±3,99
Kamferol-3-rutinosit	-	-	-	-
Salvigenin	-	25,28±1,72	-	-
Penduletin	22,11±2,24	62,73±6,36	17,15±1,74	-
Kuersetin	-	-	27,84±3,7	8,95±1,19
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	14,33±2,68	35,53±6,65	16,74±3,14	-
Luteolin	-	-	2,65±0,68	5,55±1,42
Rutin	2,54±0,17	-	1,49±0,1	6,22±0,41
Kumarik asit ve türevleri				
Kafeikasit	71,62±14,17	9,27±1,83	46,78±9,26	218,59±43,26
t-Ferulikasit	70,18±4,9	-	-	182,95±12,78
Klorojenikasit	13,09±1,81	6,8±0,94	6,91±0,96	10,83±1,5
Rozmarinikasit	1358,25±104,15	3,72±0,29	403,00±30,9	2085,33±159,9
Basit fenolikler ve diğerleri				
Fumarikasit	34,58±2,4	-	27,09±1,88	218,87±15,18
Gallikasit	5,67±0,39	-	6,05±0,42	-
Pirogallol	-	-	-	20,23±1,35
Şirinjik asit	25,19±1,7	-	-	222,3±14,97
Ellajik asit	-	-	7,91±0,53	-
Toplam (mg/kg kuru bitki)	1625,47	145,16	613,29	3036,32

Tablo 3. 3: *O. saccatum* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	119,09±8,41	15,58±1,1	1307,04±92,25	99,48±7,02
Kamferol-3-rutinosit	-	-	21,73±1,96	-
Salvigenin	104,83±7,13	240,62±16,38	173,9±11,83	-
Penduletin	169,52±17,19	418,7±42,45	378,86±38,41	14,37±1,46
İzoramnetin	41,59±3,67	85,98±7,59	105,85±9,34	-
Kuersetin	13,47±1,79	-	281,61±37,44	4,66±0,62
Kuersetagetin-3,6-dimetiler	52,54±9,84	94,26±17,65	81,92±15,34	5,16±0,97
İzokuersetin	-	-	-	-
Kuersitrin	-	-	-	-
Luteolin	12,27±3,15	-	337,74±86,75	16,09±4,13
Luteolin-7-O-glukozit	-	-	1,7±0,17	4,27±0,43
Rutin	15,02±0,98	-	114,44±7,5	142,22±9,32
Kumarik asit ve türevleri				
p-Kumarikasit	-	-	5,97±0,92	-
Kafeikasit	78,98±15,63	8,41±1,66	77,79±15,39	122,23±24,19
t-Ferulikasit	158,83±11,1	-	2,82±0,2	210,18±14,69
Klorojenikasit	123,39±17,09	7,78±1,08	-	224,61±31,1
Rozmarinikasit	1462,53±112,15	4,16±0,32	1295,34±99,33	2421,83±185,7
Basit fenolikler ve diğerleri				
Fumarikasit	189,08±13,11	-	4,08±0,28	268,38±18,61
Gallikasit	7,24±0,5	-	7,54±0,52	7,02±0,49
Pirogallol	29,95±1,99	-	-	17,23±1,15
Toplam(mg/kg kuru bitki)	2578,33	875,49	4092,48	3557,73

Tablo 3. 4: *O. solymicum* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	65,44±4,62	-	420,71±29,69	685,87±48,41
Kamferol-3-rutinosit	-	-	3,66±0,33	-
Salvigenin	16,64±1,13	17,03±1,16	45,26±3,08	-
Penduletin	3,5±0,36	9,94±1,01	15,53±1,57	-
İzoramnetin	-	-	10,79±0,95	-
Kuersetin	12,59±1,67	-	173,82±23,11	-
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	1,63±0,3	-	14,63±2,74	-
İzokuersetin	-	-	1,91±0,55	-
Luteolin	5,02±1,29	-	94,86±24,37	-
Luteolin-7-O-glukozit	9,6±0,98	-	7,19±0,73	-
Rutin	10,35±0,68	-	2,21±0,14	-
Kumarik asit ve türevleri				
Kafeikasit	99,45±19,68	5,95±1,18	73,4±14,53	-
t-Ferulikasit	143,73±10,04	-	3,28±0,23	-
Klorojenikasit	70,07±9,7	6,79±0,94	7,45±1,03	437,23±60,55
Rozmarinikasit	2020,01±154,89	4,7±0,36	967,42±74,18	-
Basit fenolikler ve diğerleri				
Fumarikasit	201,59±13,98	-	-	-
Gallikasit	7,79±0,54	-	7,95±0,55	1046,31±72,56
Pirogallol	31,21±2,08	-	-	-
Toplam(mg/kg kuru bitki)	2698,62	44,41	1850,07	2169,41

Tablo 3. 5: *O. ayliniae* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.:

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	14,9±1,05	-	10,59±0,75	8,56±0,6
Salvigenin	97,06±6,61	398,51±27,12	246,39±16,77	158,31±10,77
Penduletin	103,77±10,52	206,54±20,94	403,86±40,94	239,61±24,29
İzoramnetin	-	56,37±4,11		
Kuersetin	-	10,25±1,02	-	-
Kuersetagetin-3,6-dimetiler	-	26,33±5,22	58,36±8,59	-
İzokuersetin	-	-	-	-
Luteolin	-	-	3,58±0,15	-
Apigenin	-	-	10,38±0,89	-
Palargonin	50,65±5,15		88,59±9,02	53,6±5,45
Kumarik asit ve türevleri				
t-Ferulikasit	187,43±13,1	-	-	99,69±6,97
Klorojenikasit	166,29±23,03	-	-	50,17±6,95
Rozmarinikasit	-	-	-	-
Basit fenolikler ve diğerleri				
Gallikasit	-	-	-	5,67±0,39
Pirogallol	690,73±45,96	-	-	-
Toplam(mg/kg kuru bitki)	1310.83	698.00	821.75	615.61

Tablo 3. 6: *O. sipyleum* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	150,61±10,63	-	646,58±45,64	114,06±8,05
Kamferol-3-rutinosit	-	-	2,51±0,23	-
Salvigenin	47,36±3,22	18,79±1,28	-	-
Penduletin	-	12,48±1,27	20,33±2,06	-
Kuersitrin	22,91±1,46	-	-	24,41±1,56
Luteolin	19,74±5,07	-	180,73±46,42	30,23±7,76
Luteolin-7-O-glukozit	21,63±2,2	-	6,68±0,68	62,88±6,4
Luteolin-5-O-glukozit	134,15±8,63	-	-	36,92±2,38
Rutin	1,79±0,12	-	2.00±0,13	-
Kumarik asit ve türevleri				
p-Kumarikasit	-	-	4,84±0,74	-
Kafeikasit	112,33±22,23	5,71±1,13	100,8±19,95	135,21±26,76
t-Ferulikasit	130,43±9,11	-	8,56±0,6	136,57±9,54
Klorojenikasit	11,12±1,54	8.00±1,11	-	9,23±1,28
Rozmarinikasit	-	3,62±0,28	1760,77±135,01	2495,11±191,32
Basit fenolikler ve diğerleri				
Fumarikasit	216,91±15,04	-	59,91±4,15	216,14±14,99
Gallikasit	5,15±0,36	-	7,42±0,51	5,12±0,36
Pirogallol	12,71±0,85	-	-	13,62±0,91
Vanilin	-	-	7,87±0,72	-
Toplam(mg/kg kuru bitki)	886.84	48.60	2809.00	3044.62

Tablo 3. 7: *O. hypericifolium* türünün fenolik bileşiklerinin analiz sonuçları.

Bileşikler	M1	C	Ac	M2
Flavonoit ve türevleri				
Kamferol	208,75±14,73	-	648,93±45,8	-
Kamferol-3-rutinosit	-	-	8,3±0,75	-
Salvigenin	29,11±1,98	-	-	-
Penduletin	273,75±27,75	57,09±5,79	478,88±48,55	-
Kuersetin	11,88±1,58	-	135,46±18,01	-
Kuersetagetin-3,6-dimetileter	3,19±0,6	-	5,63±1,05	-
Luteolin	40,26±10,34	-	185,34±47,61	-
Rutin	5,28±0,35	-	2,33±0,15	-
Kumarik asit ve türevleri				
p-Kumarikasit	-	-	-	-
Kafeikasit	79,36±15,71	8,83±1,75	27,8±5,5	-
t-Ferulikasit	123,15±8,61	-	-	-
Klorojenikasit	15,79±2,19	6,94±0,96	6,84±0,95	-
Rozmarinikasit	-	7,51±0,58	175,84±13,48	-
Basit fenolikler ve diğerleri				
Fumarikasit	258,25±17,91	-	-	-
Gallikasit	5,81±0,4	-	5,1±0,35	-
Pirogallol	27,5±1,83	-	-	-
Ellajik asit	-	-	14,37±0,96	-
Toplam(mg/kg kuru bitki)	1082,08	80,37	1694,82	

3.3 Biyolojik Aktivite Analiz Sonuçları

3.3.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

3.3.1.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

Bitkilerin her birinden elde edilen dört ektrat için DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak BHT (Bütildihidroksitoluen), BHA (Bütildihidroksianisol) ve α-tokoferol (Vitamin E) kullanıldı.

Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi % inhibisyon olarak Tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3. 8: *Origanum* türlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi sonuçları.

DPPH (% İnhibisyon)

<i>O. boissieri</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	1,59±0,35	7,09±0,74	13,83±0,67	28,47±0,60
Kloroform	2,42±0,42	4,94±0,17	9,49±0,41	18,28±0,03
Aseton	5,58±0,28	15,55±0,36	30,62±0,06	57,43±0,67
Metanol-2	17,54±0,35	41,07±0,77	76,66±0,25	85,34±0,16
<i>O. saccatum</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	10,27±0,31	36,15±1,02	78,02±1,03	84,36±0,18
Kloroform	4,11±0,17	14,44±0,43	29,48±0,67	54,78±0,29
Aseton	9,52±0,81	27,36±0,59	54,67±0,26	82,50±0,90
<i>O. solymicum</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	14,91±0,93	48,38±1,07	76,51±1,52	85,21±0,40
Kloroform	2,95±0,72	7,55±0,91	21,82±1,07	31,56±0,12
Aseton	11,25±0,29	28,32±1,23	58,01±1,19	83,37±0,23
Metanol-2	40,33±1,48	83,18±0,03	84,75±0,44	85,89±0,14
<i>O. ayliniae</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	83,45±0,18	80,29±0,51	74,18±0,53	69,61±0,60
Kloroform	9,60±0,30	29,85±2,21	63,14±2,40	82,31±0,51
Aseton	16,12±0,77	35,07±2,36	66,74±0,53	80,61±0,86
Metanol-2	81,48±2,18	81,07±0,17	78,81±0,62	74,80±0,52
<i>O. sipyleum</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	27,15±1,21	63,07±1,07	83,80±0,28	86,10±0,23
Kloroform	0,35±0,07	1,95±0,37	2,40±0,49	2,95±0,86
Aseton	7,96±0,35	27,90±0,32	58,44±1,52	81,70±1,43
Metanol-2	21,45±1,00	65,98±0,54	84,03±0,29	86,07±0,15
<i>O. hypericifolium</i>	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
Metanol-1	14,93±0,66	40,78±0,83	78,67±0,97	84,19±0,13
Kloroform	0,94±0,04	3,97±0,37	5,37±0,70	13,13±0,63
Aseton	8,11±0,79	31,92±1,32	64,32±1,50	83,69±0,15
Metanol-2	17,15±0,66	38,07±1,22	74,58±1,11	84,53±0,43

3.3.1.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu (β -Karoten/Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları

Bitkilerden hazırlanan ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) yapıldı. Aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT, (Bütilhidroksitoluen), BHA (Bütilhidroksianisol), α -tokoferol (Vitamin E) ve kurkumin kullanıldı. Sonuçlar Tablo 3. 9' da verilmiştir.

Tablo 3. 9: *Origanum* türlerinin β -Karoten-Linoleik asit antioksidan aktivitesi sonuçları.

		(% İnhibisyon)			
<i>O. boissieri</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	25,18 \pm 0,97	46,36 \pm 0,59	60,06 \pm 0,51	68,61 \pm 0,64
	Kloroform	2,06 \pm 0,44	11,37 \pm 0,64	18,03 \pm 0,37	21,83 \pm 0,96
	Aseton	12,89 \pm 0,47	45,58 \pm 0,75	56,03 \pm 0,59	65,09 \pm 0,28
	Metanol-2	53,48 \pm 0,13	60,72 \pm 0,22	67,01 \pm 0,97	76,01 \pm 0,94
<i>O. saccatum</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	65,43 \pm 0,84	71,08 \pm 0,43	72,85 \pm 0,93	75,99 \pm 0,55
	Kloroform	1,11 \pm 0,92	10,17 \pm 0,70	16,43 \pm 0,54	27,16 \pm 0,46
	Aseton	40,35 \pm 0,99	64,18 \pm 0,58	66,60 \pm 0,37	78,80 \pm 0,53
	Metanol-2	53,10 \pm 0,96	62,35 \pm 0,47	70,72 \pm 0,14	79,49 \pm 0,77
<i>O. solymicum</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	68,06 \pm 0,30	72,28 \pm 0,54	76,76 \pm 0,04	82,14 \pm 0,77
	Kloroform	14,64 \pm 0,24	18,07 \pm 0,14	23,28 \pm 0,15	25,79 \pm 0,28
	Aseton	68,85 \pm 0,39	72,45 \pm 0,42	74,55 \pm 0,14	87,34 \pm 0,91
	Metanol-2	73,23 \pm 0,15	76,47 \pm 0,28	79,32 \pm 0,88	82,64 \pm 0,39
<i>O. ayliniae</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	85,56 \pm 3,02	87,91 \pm 1,57	72,57 \pm 0,83	84,63 \pm 4,66
	Kloroform	41,54 \pm 0,73	74,32 \pm 2,02	92,53 \pm 3,65	93,20 \pm 0,69
	Aseton	71,51 \pm 3,03	75,47 \pm 2,95	85,82 \pm 1,99	88,40 \pm 0,63
	Metanol-2	74,83 \pm 2,83	82,78 \pm 5,58	86,92 \pm 1,41	90,22 \pm 2,94
<i>O. sipyleum</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	51,29 \pm 0,78	61,47 \pm 0,29	65,85 \pm 0,27	69,75 \pm 0,77
	Kloroform	4,40 \pm 0,89	19,34 \pm 0,56	24,82 \pm 0,09	26,78 \pm 0,35
	Aseton	19,98 \pm 0,13	48,50 \pm 0,04	60,40 \pm 0,30	72,92 \pm 0,27
	Metanol-2	60,80 \pm 0,07	64,68 \pm 0,76	70,56 \pm 0,58	74,79 \pm 0,98
<i>O. hypericifolium</i>		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	Metanol-1	70,86 \pm 0,89	75,06 \pm 0,83	76,94 \pm 0,58	79,96 \pm 0,08
	Kloroform	9,48 \pm 0,09	19,71 \pm 0,45	25,17 \pm 0,28	29,96 \pm 0,04
	Aseton	43,08 \pm 0,09	48,33 \pm 0,38	55,28 \pm 0,51	69,54 \pm 0,84
	Metanol-2	69,44 \pm 0,50	73,61 \pm 0,70	76,06 \pm 0,17	82,96 \pm 0,82
Standartlar		10 μg/mL	25 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL
	BHA	93,84 \pm 0,38	95,86 \pm 0,33	97,54 \pm 0,11	98,90 \pm 0,69
	BHT	90,70 \pm 0,37	94,78 \pm 0,31	96,38 \pm 0,32	97,37 \pm 0,16
	α-Tokoferol	64,38 \pm 0,29	77,47 \pm 0,91	81,60 \pm 0,25	92,21 \pm 0,13
	Kurkumin	54,11 \pm 6,81	81,16 \pm 0,92	97,07 \pm 2,50	95,09 \pm 1,26

3.3.1.1 CUPRAC Yöntemi

TEAC CUPRAC sonucu, referans olarak trolox (TR) üzerinden mmol TR g⁻¹ olarak verilmiştir. (+) denetim olarak Kurkumin bileşiği kullanılmış olup kurkumin için bakır indirgeme kapasitesi bu yöntemle 0,9 mmol TR g⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Tablo 3. 10: *Origanum* türlerinin CUPRAC aktivitesi sonuçları.

TEAC_{CUPRAC} (mmol TR g⁻¹)				
	Metanol-1	Kloroform	Aseton	Metanol-2
<i>O. boissieri</i>	0,345±0,017	0,373±0,037	0,506±0,047	1,068±0,224
<i>O. saccatum</i>	1,121±0,139	0,651±0,058	1,045±0,137	1,500±0,348
<i>O. solymicum</i>	1,269±0,241	0,398±0,032	1,143±0,159	1,875±0,400
<i>O. ayliniae</i>	2,740±0,120	1,270±0,08	1,590±0,220	2,620±0,220
<i>O. sipyleum</i>	1,580±0,240	0,108±0,010	0,883±0,054	1,369±0,298
<i>O. hypericifolium</i>	1,603±0,150	0,203±0,031	1,429±0,036	1,191±0,206

3.3.1.4 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Anti-Alzheimer aktivitesinin belirlenmesi için asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkinesteraz (BChE) enzimleri kullanılarak 200 µg/mL derişimde % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

Tablo 3. 11: *Origanum* türlerinin asetilkolinesteraz aktivite sonuçları.

	AChE % İnhibisyon (200µg/mL)				BChE % İnhibisyon (200µg/mL)			
	M1	C	Ac	M2	M1	C	Ac	M2
<i>O. boissieri</i>	0	0	0	0	28,96±0,65	46,69±0,63	31,14±0,58	0
<i>O. saccatum</i>	0	0	0	0	31,46±1,10	37,39±1,20	59,42±0,25	0
<i>O. solymicum</i>	0	0	0	0	3,00±0,50	49,35±0,82	48,76±0,86	8,55±0,40
<i>O. sipyleum</i>	0	0	0	0	37,34±0,37	35,59±0,38	21,09±0,21	0
<i>O. hypericifolium</i>	51,32±2,69	0	49,81±0,53	0	54,91±0,85	33,79±0,86	62,08±0,55	0
Galantamin	80,24±0,28	82,10±0,51	82,10±0,51	80,24±0,28	80,78±1,22	82,05±0,48	82,05±0,48	80,78±1,22

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

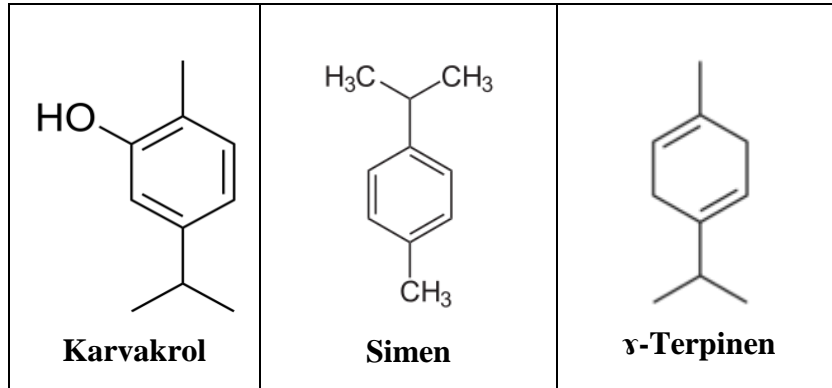
4.1 Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

Tablo 3.1' de verilen *Origanum* cinsi *Amaracus* seksiyonu türlerinin uçucu yağ analiz sonuçları incelendiğinde yüksek oranlı bileşen olarak karvakrol (% 53.7), simen (% 37.9) ve karvakrol metil eter (% 14.4) bileşenleri belirlenmiştir.

Tablo 3.1' de verilen *Origanum* cinsi *Anatolicon* seksiyonu türlerinin uçucu yağ analiz sonuçları incelendiğinde yüksek oranlı bileşen olarak karvakrol (% 68.8), γ -terpinen (% 28.7), simen (% 21.6) ve karyofilen-(Z) (% 5.4) belirlenmiştir.

Yeni tür *O. aylinae*'nin uçucu yağ bileşenleri incelendiğinde karvakrol kemotip olduğu görülmüş olup en fazla bulunan bileşenler karvakrol (% 53.7), karvakrol metil eter (% 14.4) ve *p*-simen (% 13.9) olarak belirlenmiştir.

En fazla belirlenen bileşenlerin yapıları Şekil 4.1' de verilmiştir.



Şekil 4. 1: *Origanum* cinsinde miktarca fazla belirlenen uçucu yağ bileşenlerinin kimyasal yapıları.

Tez kapsamında çalıştığımız *Origanum* türlerinin uçucu yağ bileşenleri aromatik monoterpen yapısında olup bu cinse özgü aromayı veren kimyasallardır. Özellikle karvakrol ve timol taşıyan türler halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Karvakrol ve timol ile ilgili yapılan çalışmalarda her iki

madeninde güçlü antibakteriyal özellik gösterdiği, ayrıca antifungal, antimikrobiyal ve insektisidal aktivitelerle sahip olduğu bildirilmiştir [59,60].

4.2 Fenolik Bileşen Analiz Sonuçları

Origanum türlerinin Sekonder bileşiklerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda Tablo. 3.2 – Tablo. 3.7’ da verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablolarda M1 kodu proje kapsamında çalışılan *Origanum* türlerinden doğrudan hazırlanan metanol ekstresini, C doğrudan hazırlanan kloroform ekstresini, Ac kloroformla tüketildikten sonra geri kalan bitkiden hazırlanan aseton ekstresini, M2 ise asetonla tüketildikten sonra geri kalan bitkiden elde edilen metanol ekstresini ifade etmektedir. Sonuçlar mg/ kg kuru bitki cinsinden verilmiştir.

Tablolar incelendiğinde polar olmayan kloroform ekstralarında beklendiği gibi daha az fenolik bileşik tespit edilirken polar metanol ekstralarında yüksek miktarda fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Toplamda 25 farklı bileşen tespit edilebilmiştir.

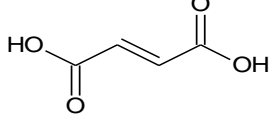
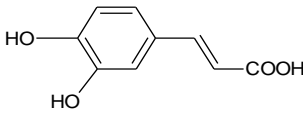
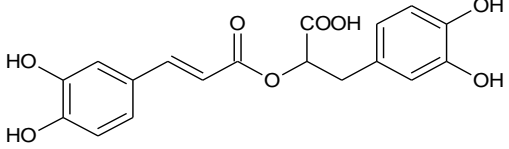
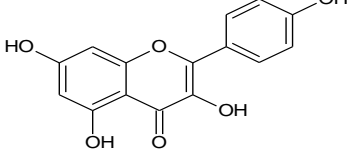
Metanol (M1) ekstralarında en fazla 17 farklı sekonder bileşik belirlenmiştir. Metanol ekstraları incelendiğinde *Origanum saccatum* türünün ve *O. solymicum* türünün bitki ekstraları 15 farklı bileşenle sekonder bileşik bakımından en zengin olmakla birlikte *O. aylinae* türü 7 farklı bileşenle en az sekonder bileşen içeren tür olarak tespit edilmiştir. Bu ekstralarda ana bileşenler fumarik asit ve kamferol fenoliklerden oluşmaktadır.

Kloroform (C) ekstralarından en fazla bileşen *O. saccatum* türünde belirlenmiştir. Bu ekstre 8 farklı bileşen içerdiği tespit edilmiştir. *O. hypericifolium* türünde ise sadece 4 adet bileşen tayin edilebilmiştir.

Aseton (Ac) ekstralarından *O. saccatum* ve *O. solymicum* türlerinde 16 adet bileşen tespit edilirken *O. aylinae* türünde sadece 7 adet bileşen tayin edilebilmiştir. Bu ekstralarda ana bileşenler rozmarinik asit ve kamferol fenoliklerden oluşmaktadır.

Metanol (M2) ekstralarından *O. saccatum* türünde en fazla 14 farklı bileşen tayin edilmişken *O. solymicum* türlerinde sadece 3 adet bileşen tayin edilebilmiştir.

M2 ekstreleri arasında miktarca en zengin bileşen olarak rosmarinik asit belirlenmiştir.

	
Fumarik asit	Kafeik asit
	
Rosmarinik asit	Kamferol

Şekil 4. 2: *Origanum* türlerindentanımlanan kumarik asit, türevleri ve diğer bileşiklerin kimyasal yapıları.

4.3 Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.3.1 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

Bitkilerin her birinden elde edilen dört ekstrap için DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak BHT (Bütihidroksitoluen), BHA (Bütihidroksianisol) ve α-tokoferol (Vitamin E) kullanıldı.

Ekstrelerin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi % inhibisyon olarak Tablo 3. 8' de verilmiştir.

Bu tablo incelendiğinde DPPH radikalini % inhibe etme oranı en iyi olan türler *O. sipyleum* ve *O. hypericifolium* türlerinin özellikle M2 ekstreleri iyi inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Diğer türler için fenolik bileşenlerce zengin olan her iki metanol ekstresinde oldukça iyi inhibisyon değerleri verdiği görülmüştür.

Kloroform ekstreleri oldukça zayıf inhibisyon etkisi gösterirken aseton ekstrelerin de ise zayıftan-orta dereceye inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

4.3.2 Lipid Peroksidasyon İnhibisyonu (β -Karoten / Linoleik Asit)Yöntemi Sonuçları

Bitkileriden hazırlanan ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri β -karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) yapıldı. Aktivite karşılaştırmalarında standart olarak BHT, (Bütihidroksitoluen), BHA (Bütihidroksianisol), α -tokoferol (Vitamin E) ve kurkumin kullanıldı. Sonuçlar Tablo 3. 9' da verilmiştir.

O. ayliniae ve *O. hypericifolium* türleri en iyi inhibisyon değerlerine sahipken bu türleri *O. saccatum* türü takip etmektedir. DPPH sonuçlarına benzer şekilde M2 ekstreleri aynı türün ekstreleri içinde en aktif ekstre olarak belirlenmiştir. Özellikle 100 $\mu\text{g/mL}$ derişimde bu ekstreler standartlara yakın derecede inhibisyon değerine sahiptirler.

4.3.3 CUPRAC Yöntemi

TEAC CUPRAC sonucu, referans olarak trolox (TR) üzerinden mmol TR g^{-1} olarak verilmiştir. (+) denetim olarak Kurkumin bileşiği kullanılmış olup kurkumin için bakır indirgeme kapasitesi bu yöntemle 0,9 mmol TR g^{-1} olarak belirlenmiştir.

CUPRAC sonuçlarına göre *O. ayliniae* oldukça iyi değerlere sahipken bunu *O. hypericifolium* ekstresi takip etmektedir. Tablo 3.10'da görüldüğü gibi özellikle *O. ayliniae* türünün M1 ekstreleri standart olarak kullanılan kurkuminden daha yüksek değerleri sahiptir (2.740 mmol TR g^{-1}).

Antioksidan aktivite deneyleri sonucunda bu türlerin antioksidan kapasitesi değerlendirildiğinde; özellikle halk arasında kullanılan *O. ayliniae* türünün antioksidan kapasitesinin oldukça iyi olduğu belirlenmiştir. Aktif bulunan ekstrelerde belirlenen ana bileşenler flavonoidler ve türevleridir. Flavonoidlerin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiş olup hücresel hasarı önleyip, onararak yaşlanmayla mücadele ettiği rapor edilmiştir [61,62].

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda bu türlerin güçlü bir antioksidan kaynağı olduğu söylenebilir.

4.3.4 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Anti-Alzheimer aktivitenin belirlenmesi için asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimleri kullanılarak 200 µg/mL derişimde % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

Ekstrelerin çoğunluğu AChE enzimini inhibe etmezken sadece *O. hypericifolium* türünün M1 ve Ac ekstreleri inhibisyon değeri göstermiştir. BChE enzimini ise aktivitesine bakılan türlerin hepsinin inhibe ettiği gözlenmiştir. Antioksidan gücü oldukça zayıf olan kloroform ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite bakımından metanol ekstrelerine göre daha iyi sonuçlara sahip olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin bu ekstrelerin daha çok flavonoid ve türevleri içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar flavonoidlerin antikolinesteraz aktivitelerinin iyi olduğunu göstermiştir [63].

5. KAYNAKLAR

- [1] Başer, K. H. C., The Turkish *Origanum* species. In: Oregano. The genera *Origanum* and *Lippia*, (Ed. SE Kintzios). Taylor and Francis, London (2002).
- [2] Joshi, P. K., Joshi, N., Tewari G. and Tandon, S., “Chemical, biological and pharmacological aspects of *Origanum* species: A brief review”, *J. Indian Chem. Soc.* 92, 1603-1615, (2015).
- [3] Özkan, G. and Özcan, M. M., “Some phenolic compounds of extracts obtained from *Origanum* species growing in Turkey”, *Environ. Monit. Asses.* 186, 4947-4957, (2014).
- [4] Basli, A. J., Delaunay, C., Pedrot, E., Bernillon, S., Madani, K., Monti, J. P. J., Merillon, M., Chibane, M. and Tristan, R. “New cyclolignans from *Origanum glandulosum* active against b-amyloid aggregation”, *Rec. Nat. Prod.*, 8, 208-216, (2014).
- [5] Gülsoy, S. “Evaluation of essential oils and phenolic compounds of some *Origanum* (Labiatae/Lamiaceae) taxonomy”, *Asian J. Chem.*, 24, 2479, (2012).
- [6] Chishti, S., Kaloo, A. Z. and Sultan, P., “Medicinal importance of genus *Origanum*: A review”, *J. Pharmacognosy Phytother*, 5, 170-177, (2013).
- [7] Özgüven, M., Kırıcı, S., Tansı, S., Aksungur, P. and Yaman, A. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Araştırma ve Geliřtirme Projesi. *TOAG-990/DPT*, (1995).
- [8] Kırimer, N., Boydađ, İ., Sargın, N., Aslandere, Ö., Ticareti Yapılan *Origanum* Türlerinin Dođadaki Durumu. TUBİTAK-TBAG-Ç.SEK/10 (101T012), (2003).
- [9] şarer, E., Pańçalı, S. and Yıldız, S. “*Origanum minutiflorum* O.Schwarz & P.H. Davis uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi”, *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 25(1), 29-38, (1996).
- [10] Başer, K.H.C., “Essential oils of Labiatae from Turkey-Recent results”, *Lamiales Newsletter*, 3, 6-11, (1994).
- [11] Başer, K.H.C., “Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey”, *Pure Appl. Chem.*, 74, 527-545, (2002).
- [12] Baser, K.H.C., “Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils”, *Current Pharmaceutical Design*, 14, 3106-3119, (2008).
- [13] Aydın, S., Ozturk, Y., Beis R. and Baser, K.H.C. “Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity”, *Phytotherapy Research*, 10, 342-344, (1998).

- [14] Baricevic, D. and Bartol, T., “The biological/pharmacological activity of the *Origanum* genus”, *Pharmacology*, 5, 176-213, (2002).
- [15] Sikkema, J., De Bont, J.A. and Poolman, B., “Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons”, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 59, 201-222, (1995).
- [16] Bayram, E., “Kekik Yetiştiriciliği. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi”, *Teknik Bülten*, 42, (2003).
- [17] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T.(edlr), “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)”, *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları*, İstanbul, (2012).
- [18] Harley, R.M., Atkins, S., Budantsev, A., Cantino, P.D., Conn, B., Grayer R.J., Harley, M.M., De Kok, R., Krestovskaja, T., Morales, A., Paton, A. J., Ryding, O. and Upson, T., “Labiatae”, In JW Kadereit (ed.). *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. 6 (Lamiales). Berlin: Springer, 241-242, (2004).
- [19] Jamzad, Z., “A survey of Lamiaceae in the flora of Iran”, *Rostaniha*, 14, 59-67, (2013).
- [20] Celep, F. and Dirmenci, T., “Systematic and bio-geographic overview of Lamiaceae in Turkey”, in *Proceedings of International Symposium on Advances in Lamiaceae Science*, Antalya, Turkey. (2017).
- [21] Dirmenci, T., Yazıcı, T., Arabacı, T., Çelenk, S., Özcan, T. and Dündar, E., “A new hybrid of *Origanum* L.: *O. × dumanii* Dirmenci, Arabacı & Yazıcı”, in *Proceedings of SEAB*, Antalya, Turkey, (2016).
- [22] Dirmenci, T., Yazıcı, T., Arabacı, T., Çelenk, S., Özcan, T. and Dündar, E., “A new hybrid of *Origanum* L.: *O. × bilgilii* Dirmenci, Yazıcı & Arabacı”, in *Proceedings of SEAB*, Antalya, Turkey. (2016).
- [23] Dirmenci, T., Yazıcı, T., Arabacı, T., Çelenk, S., Özcan, T. and Dündar, E. A new hybrid of *Origanum* L.: *O. × adae* Dirmenci, Yazıcı & Akçiçek, in *Proceedings of SEAB*, Antalya, Turkey, (2016).
- [24] Davis, P.H., Mill R.R., Tan K. (Eds.) *Flora Of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 10. (Suppl.). Edinburgh: Edinburgh Univ. Press. (1988).
- [25] Goze, I., Alim, A. Cetinus, S. A., Cetin, A., Durmus, N., Atas, A.T. and Vural, N., “In vitro antimicrobial, antioxidant, and antispasmodic activities and the composition of the essential oil of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart”, *J. Med. Food*. 13, 705-709, (2010).
- [26] Goze, I., Alim, A., Tepe, A. S., Sokmen, M., Sevgi, K. and Tepe, B., “Screening of the antioxidant activity of essential oil and various extracts of *Origanum rotundifolium* Boiss. from Turkey”, *J. Med. Plants Res*. 3, 246-254, (2009).
- [27] Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., Akpulat, H. A., Sahin, F. and Sokmen, A., “In vitro antioxidant,

antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*”, *J. Agri. Food Chem.*,52, 3309-3312, (2004).

- [28] Kurşat, M., Emre, I., Yılmaz, Ö. and Erecevit, P., “Antioxidant and antimicrobial activity in the seeds of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (C. Koch) Ietswaart and *Origanum acutidens* (Hand. -Mazz.) Ietswaart from Turkey”, *Grasas Y. Aceites.*, 62, 410-417, (2011).
- [29] Dirmenci, T., Yazıcı, T., Arabacı, T., Çelenk, S., Özcan, T. and Dündar, E., “A new species of *Origanum* L.:*O. ayliniae* Dirmenci, Akçiçek &Yazıcı”,*in Proceedings of SEAB*, Antalya, Turkey, (2016).
- [30] Bal, Y., “Bitkilerden etken madde izolasyonu ve özelliklerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, (2001).
- [31] Başer, K.H.C., Lavanta, *Bağbahçe dergisi*, Şubat, sayı 9, s.24-25, (2007),
- [32] Çalıkoğlu, E., Kıralan, M. And Bayrak, A., “Türkiye 9. Gıda Kongresi, Uçucu Yağ Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakış”, Bolu, (2006).
- [33] Başer, K. H. C. and Kırimer, N., *Farmakognozi III*, (2009).
- [34] Çelen, S., “Anadolu Çaprazına Özgü Dört *Thymus* L. (Lamiacea) Türü Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimleri, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivite Özellikleri”, Doktora tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, (2011).
- [35] Baydar, H., Schulz, H., Krüger, H., Erbaş, S. and Kineci, S., “Influences of fermentation time, hydro-distillation time and fractions on essential oil composition of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.)”, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 11, 224-232, (2008).
- [36] Baytop, T., *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, Nobel Tıp Kitapevleri, İkinci Baskı, (1999).
- [37] Tanker, M. and Tanker, N., “Farmakognozi”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No.65, Ankara, 269-393, (1990).
- [38] Üstündağ, S., “Kemoterapi alan kanser hastalarının semptom yönteminde kullandıkları tamamlayıcı tedavi yaklaşımlarının yaşam kalitesine etkisi” Yüksek Lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2013).
- [39] Saldamlı, İ., *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 463-492, (2007).
- [40] Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S. and Cabaroğlu, T., “Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri”, II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Tokat, 309-312, (2006).

- [41] Shahidi, F. and Naczki, M., Food Phenolics, Sources, Chemistry, Effects, Applications, Technomic Publishing Companies Inc., 851 New Holland Avenue, Box 3535, Lancaster, Pennsylvania, 17604, USA, 199-225, 331, (1995).
- [42] Alpkent, Z. ve Demir, M., Gıdalarda bulunan antioksidan maddeler ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı*, 24-26. (2006).
- [43] Yen, G. C., Duh, P. D. and Tsai, C. L., "Relationship between antioxidant activity and maturity of *Peanut hulls*", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 67-70, (1993).
- [42] Alpkent, Z. ve Demir, M., "Gıdalarda Bulunan Antioksidan Maddeler ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri", Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, (2006).
- [44] Kılınç, K. ve Kılınç, A., "Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri", *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 110-118,(2002).
- [45] Cadenas, E. ve Packer, L., "Handbook of Antioxidants", Marcel Dekker, Inc., 2nd Edition, New York, 279-337, 473-489, (2002).
- [46] Lodovici, M., Guglielmi, F., Meoni, M. and Dolara, P., "Effect of Natural phenolic acids on DNA oxidation in vitro", *Food and Chemical Toxicology*, 39, 1205-1210, (2001).
- [47] Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M. and Duran, N., "Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines", *Food Chemistry*, 82, 409-416, (2003).
- [48] Rice-Evans, C.A., Miller, N. J. ve Paganga, G., "Structure-antioxidant Activity Relationship of Flavonoids and Phenolic Acids", *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956, (1996).
- [49] Bilaloğlu, G. V. ve Harmandar, M., "Flavonoidler", İstanbul: Aktif Yayınevi, 334-354, (1999).
- [50] Dillard, C. J. ve German, J. B., "Phytochemicals: Nutraceuticals and Human Health", *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1744-1756, (2000).
- [51] Prior, R. L., "Fruits and Vegetables in the Prevention of Cellular Oxidative Damage", *Am. J. Clin. Nutr.*, 78, 570-578, (2003).
- [52] Keskin, H. ve Erkmen, G., "Besin Kimyası", Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul, (1987).
- [53] Bohm, B. A. and Fong, C. "Nonpolar flavonoids of *Wilkesia* and *Argyroxiphium*", *Phytochemistry*, 29, 1175-1177, (1990).
- [54] Cemeröğlu, B., *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, 1, Ankara, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, 77-88, (2004).

- [55] Köksal, G., “Şeftali Meyvesinde Fenolik Madde Dağılımı ve Pulpa İşleme Sırasında Değişimi”, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 34-36, (2008).
- [56] Yılmaz, H., Çarıkçı, S., Kılıç, T., Dirmenci, T., Arabacı, T. and Gören, A.C. “Screening of chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activity of section *Brevifilamentum* of *Origanum* (L.) species” *Rec. Nat. Prod.*, 11, 439-455, (2017).
- [57] Hatipoğlu, S. D., Zorlu, N., Dirmenci, T., Goren, A. C., Ozturk, T. and Topcu, G., “Determination of volatile organic compounds in forty-five *Salvia* species by thermal desorption-GC-MS technique”, *Rec. Nat. Prod.*, 10, 659-700, (2016).
- [58] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. and Featherston, R. M., “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity”, *Biochem. Pharma.* 7, 88-95, (1961).
- [59] Başer, K. H. C., “The Turkish *Origanum* Species. In: Oregano”. *The Genera Origanum and Lippia*, (Ed. SE Kintzios). Taylor and Francis, London, (2002).
- [60] Joshi, P. K., Joshi, N., Tewari, G., and Tandon, S., “Chemical, biological and pharmacological aspects of *Origanum* species: A brief review”, *J. Indian. Chem. Soc.* 92, 1603-1615, (2015).
- [61] Ertas, A., Gören, A. C., Hasimi, N., Tolan, V. and Kolak, U., “Evaluation of antioxidant, cholinesterase inhibitory and antimicrobial properties of *Mentha longifolia* subsp. *noeana* and its secondary metabolites”, *Rec. Nat. Prod.* 9, 105-115, (2015).
- [62] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E., “Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay”, *Microchim. Acta.* 160, 413-419, (2008).
- [63] Kalin, P., Gulcin, I. and Goren, A. C., “Antioxidant activity and polyphenol content of Cranberries (*Vaccinium macrocarpon*)”, *Rec. Nat. Prod.* 9, 496-50, (2015).

6. EKLER

EK A