

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

*Origanum sipyleum*'un UÇUCU YAĞI VE LİPİDLERİNİN  
KAREKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

ŞİLAN AYDEMİR

OCAK 2019

MUĞLA

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

*Origanum sipyleum*'un UÇUCU YAĞI VE LİPİDLERİNİN  
KAREKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

ŞİLAN AYDEMİR

OCAK 2019  
MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

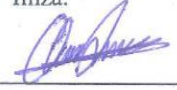
ŞİLAN AYDEMİR tarafından hazırlanan *Origanum sipyleum*'un UÇUCU YAĞI VE LİPİDLERİNİN KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ başlıklı tezinin, 17/01/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Osman DUMAN (Jüri Başkanı)

Kimya Anabilim Dalı,  
Akdeniz Üniversitesi, Antalya

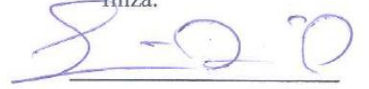
İmza:



Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (Danışman)

Kimya Anabilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (Üye)

Kimya Anabilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Kimya Anabilim Dalı Başkanı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Danışman, Kimya Anabilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 17/01/2019

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Şilan AYDEMİR

17.01.2019



## ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden yararlandığım, yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bu hayatta yol göstericim olan değerli danışman hocam Prof.Dr. Mehmet Emin DURU'ya

Derslerde ve laboratuvarında öğretici fikirleriyle beni hep aydınlatan desteklerini esirgemeyen sevgili hocam Prof.Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e

Tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan, bana her konuda yardım eden ve bilgilerinden yararlandığım sayın Öğr. Gör. Dr. Selçuk KÜÇÜKAYDIN'a vd.m Yüksek Kimyager Meltem TAŞ'a, Yüksek Kimyager Çiğdem KUŞ'a, Yüksek Kimyager Bihter ŞAHİN'e, Kimyager Dilan BAYRAM'a ve Kimyager Aylin ALBAYRAK'a

Lisans tez çalışmamı beraber tamamladığım ve güler yüzüyle her zaman yanımda olan canım hocam Öğr. Gör. Gülsen TEL ÇAYAN'a ve ayrıca bana her zaman destek ve yardımda bulunan Arş. Gör. Ebru DEVECİ'ye ve Dr. Erhan KAPLANER'e,

Bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi destekleri paha biçilemeyen biricik AİLEM'e

Ve emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvi
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Kaynak Özetleri .....	3
1.1.1. Botanik bilgiler .....	3
1.1.1.1. <i>Lamiaceae (Labiatae) familyası</i> .....	3
1.1.1.2. <i>Origanum cinsi</i> .....	4
1.1.1.3. <i>Origanum sipyleum L.</i> .....	4
1.1.2. <i>Origanum sipyleum L.</i> üzerine yapılan çalışmalar.....	5
1.1.3. Uçucu Yağlar .....	8
1.1.3.1. <i>Uçucu yağların elde edilmesi</i> .....	9
1.1.4. Sekonder metabolitler .....	10
1.1.4.1. <i>Terpenler</i> .....	11
1.1.4.2. <i>Fenolik bileşikler</i> .....	12
1.1.5. Antioksidanlar .....	12
1.1.5.1. <i>Birincil antioksidanlar</i> .....	13
.....	15
1.1.5.2. <i>İkincil antioksidanlar</i> .....	15
1.1.6. Asetil- ve bütirilkolinesteraz enzimleri.....	16
1.1.7. Üreaz enzimi .....	16
1.1.8. Tirozinaz enzimi.....	17
1.2. Çalışmanın Amacı .....	17

<b>2. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>19</b>
2.1. Bitki Materyali .....	19
2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler .....	19
2.2.1. Kimyasal maddeler.....	19
2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması .....	19
2.2.2.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .....	19
2.2.2.2. ABTS <sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .....	20
2.2.2.3. $\beta$ -Karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözeltiler .....	20
2.2.2.4. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yönteminde kullanılan çözeltiler .....	20
2.2.2.5. Antikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler.....	20
2.2.2.6. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .....	21
2.2.2.7. Tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler .....	21
2.3. Aletler ve Diğer Gereçler .....	22
2.4. Ekstrelerin Hazırlanması.....	22
2.5. Uçucu Yağın Eldesi ve Analizi .....	23
2.5.1. Uçucu yağın eldesi .....	23
2.5.2. Gaz kromatografisi (GC) analizi.....	23
2.5.3. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi .....	24
2.6. Türevlendirilmiş Hekzan Ekstresinin GC-MS Analizi .....	25
2.7. Aseton ve Metanol Ekstrelerinin Fenolik Bileşen Tayini .....	25
2.8. Antioksidan Aktivite Yöntemleri.....	27
2.8.1. $\beta$ -Karoten renk açılımı yöntemi .....	27
2.8.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi .....	28

2.8.3. ABTS <sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi yöntemi.....	28
2.8.4. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi..	29
2.9. Antikolinesteraz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi.....	29
2.9.1. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi .....	29
2.9.2. Bütirikolinesteraz inhibisyon aktivitesi .....	30
2.10. Üreaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi.....	30
2.11. Tirozinaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi .....	30
<b>3. BULGULAR VE İRDELEME.....</b>	<b>31</b>
3.1. Ekstre ve Uçucu Yağ Verimleri .....	31
3.2. Ekstrelerin ve Uçucu Yağın Antioksidan Aktivite Sonuçları .....	31
3.2.1. β-Karoten renk açılımı yöntemi sonuçları .....	31
3.2.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları .....	33
3.2.3. ABTS <sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi sonuçları .....	34
3.2.4. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi	36
3.3. Ekstrelerin ve Uçucu Yağın Antikolinesteraz Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları .....	38
3.4. Ekstrelerin Üreaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları .....	40
3.5. Ekstrelerin Tirozinaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları .....	41
3.6. Uçucu Yağın ve Hekzan Ekstresinin Gaz Kromatografisi – Kütle Spektroskopisi Sonuçları.....	43
3.7. <i>Origanum sipyleum</i> Uçucu Yağı ve Hekzan Ekstresinin Bileşenlerinin Kütle Spektrumları.....	47
3.9. <i>Origanum sipyleum</i> 'un Aseton ve Metanol Ekstrelerinin Fenolik Bileşenleri	67
<b>4.SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>70</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>74</b>
EK A. <i>Origanum sipyleum</i> 'a ait ekstrelerin ve aktivitelerin resimleri.....	74
<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>75</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>88</b>

## ÖZET

# *Origanum sipyleum*'un UÇUCU YAĞI VE LİPİDLERİNİN KAREKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Şilan AYDEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

Ocak 2019, 88 sayfa

Bu tez çalışmasında, *Origanum sipyleum*'un toprak üstü kısımlarından sırasıyla hekzan, diklorometan, aseton, metanol ve su ile ekstraksiyonları yapıldı. Ayrıca, bitkinin topraküstü kısmından uçucu yağ elde edildi. Tüm ekstraların ve uçucu yağın antioksidan, antikolinesteraz, üreaz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri araştırıldı. Uçucu yağın ve uçucu türeve dönüştürülen hekzan ekstresinin bileşenleri GC ve GC/MS ile kalitatif ve kantitatif olarak belirlendi. Tüm ekstraların ve uçucu yağın antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi, DPPH radikal giderimi, ABTS<sup>+</sup> katyon radikal giderimi ve CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi ile belirlendi. Bu yöntemlere göre; metanol ve aseton ekstralarının diğer ekstralar ve uçucu yağ göre, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Uçucu yağda ise en yüksek inhibisyon,  $\beta$ -karoten renk açılımı yönteminde (%63,85) hesaplandı. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyon aktivite testinde en yüksek aktiviteyi diklorometan ekstresi gösterirken (%61,67), Bütirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon testinde ise bitkinin uçucu yağı (%60,95) gösterdi. Üreaz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktivitelerinde ise, en yüksek aktivite metanol ekstresinde (sırayla, %72,29 ve %68,32) görüldü. Gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisiyle yaptığımız çalışmalarda uçucu yağda 26 bileşen tespit edildi.

Belirlenen bileşenlerin tamamı karakterize edildi. Buna göre,  $\beta$ -karyofilen (%22,7),  $\gamma$ -terpinen (%18,3) ve  $\beta$ -kubeben (%17,1) bileşenlerinin majör bileşen olduğu belirlendi. Hekzan ekstresinde ise palmitik asit (%48,20), heptakosanol (%9,10), cis-oleik asit (%8,90) ve sinnamik asit (%8,65) bileşenlerinin majör olduğu belirlendi. Bitkinin antioksidan aktivitesi yüksek olan metanol ve aseton ekstrelerinin fenolik bileşenleri HPLC-DAD sistemi ile araştırıldı. Buna göre aseton ekstresinde protokateşik asit majör bileşen olarak bulunurken hem metanol hem de aseton ekstresinde kateşin hidrat ortak bulunan flavonoid yapılu bileşik olduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** *Origanum sipyleum*, Antioksidan Aktivite, Antikolinesteraz, Üreaz, Triozinaz, Fenolik Bileşik



## ABSTRAT

# INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL AND LIPIDS OF *Origanum sipyleum*

Şilan AYDEMİR

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Emin DURU

January 2019, 88 pages

In this thesis, the aerial part of *Origanum sipyleum* was extracted from hexan, dicloromethane, acetone, methanol and water. Respectively essential oil was obtained from aerial part of *Origanum sipyleum*. Antioxidant, anticholinesterase, urease and tyrosinase enzyme inhibition activities were investigated from all of extracts and essential oil. The components of the essential oil and the hexane extract were determined qualitatively and quantitatively by GC and GC / MS. Antioxidant activities of all extracts and essential oil were determined by  $\beta$ -carotene bleaching methods, DPPH free radical scavenging, ABTS<sup>+</sup> cation radical scavenging and CUPRAC reducing power. According to these methods; acetone and methanol extracts of *O.sipyleum* were exhibited the highest antioxidant activity. In essential oil, the highest inhibition was calculated in the  $\beta$ -carotene bleaching methods (63,85%). The highest activity of acetylcholinesterase (AChE) enzyme inhibition activity test were showed the dichloromethane extract (61.67%), and for the highest activity of butyrylcholinesterase (BChE) enzyme inhibition activity test were showed the plant's essential oil (60.95%). In the urease and tyrosinase enzyme inhibition activities, the highest activity was obtained in methanol extract (72.29% and 68.32% respectively). In our studies 26 components were detected in essential oil by gas

chromatography and gas chromatography-mass spectroscopy. And all of the identified compounds were characterized. According to that,  $\beta$ -caryophyllene (22,7%),  $\gamma$ -Terpinene (18,3%) and  $\beta$ -Cubebene (17,1%) compounds were determined as major compounds. And for the hexane extract, palmitic acid (48,20%), heptacosanol (9,10%), cis-oleic acid (8,90%) ve cinnamic acid (8,65%) compounds were seen as major compounds. By the HPLC-DAD system, acetone and methanol extracts phenolic compounds, which has high antioxidant activity of plant, were determined. And so for the acetone extract protocatechuic acid was determined as major compound. Catechin hydrate was detected as flavonoid compound from both of extract.

**Keywords:** *Origanum sipyleum*, Essential Oil, Antioxidant Activity, Anticholinesterase, Phenolic Compounds

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. GC analiz şartları .....	23
Çizelge 2.2. GC-MS analiz şartları .....	24
Çizelge 2.3. Hekzan ekstresi silil türevleri için GC-MS analiz şartları .....	25
Çizelge 2.4. HPLC-DAD cihazının analiz şartları .....	26
Çizelge 3.1. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin ve uçucu yağının verimleri .....	31
Çizelge 3.2. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları .....	32
Çizelge 3.3. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi .....	34
Çizelge 3.4. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların ABTS <sup>+</sup> katyonu radikali giderim aktivitesi .....	35
Çizelge 3.5. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların CUPRAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite sonuçları .....	37
Çizelge 3.6. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	38
Çizelge 3.7. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	39
Çizelge 3.8. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	41
Çizelge 3.9. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin ve standartların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	42
Çizelge 3.10. <i>Origanum sipyleum</i> uçucu yağının kimyasal bileşenleri ve oranları .....	43
Çizelge 3.11. <i>Origanum sipyleum</i> hekzan eksresinin kimyasal bileşenleri ve oranları .....	47
Çizelge 3.12. <i>Origanum sipyleum</i> 'un aseton ve metanol ekstresinin fenolik bileşenleri .....	68

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sekonder metabolitlerin oluşumu .....	11
Şekil 1.2. Terpenlerin biyosentezi .....	12
Şekil 1.3. Birincil Antioksidanlar .....	15
Şekil 3.1. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları .....	33
Şekil 3.2. <i>O. sipyleum</i> 'um ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	34
Şekil 3.3. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların ABTS <sup>+</sup> katyonu radikali giderim aktivitesi .....	36
Şekil 3.4. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların CUPRAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite sonuçları.....	37
Şekil 3.5. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları.....	39
Şekil 3.6. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları.....	40
Şekil 3.7. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	41
Şekil 3.8. <i>O. sipyleum</i> 'un ekstrelerinin ve standartların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları .....	42
Şekil 3.9. <i>Origanum sipyleum</i> uçucu yağının GC/MS spektrumu.....	45
Şekil 3.10. <i>Origanum sipyleum</i> türevlendirilmiş hekzan ekstresinin GC/MS spektrumu .....	46
Şekil 3.11. $\beta$ -Pinen'in kütle spektrumu (m/z).....	48
Şekil 3.12. Terpeneolen'in kütle spektrumu (m/z).....	48
Şekil 3.13. <i>p</i> -Simen'in kütle spektrumu (m/z).....	49
Şekil 3.14. $\gamma$ -Terpinen'in kütle spektrumu (m/z).....	49
Şekil 3.15. <i>cis</i> - $\beta$ -Terpineol'un kütle spektrumu (m/z).....	50
Şekil 3.16. İzoborneol'un kütle spektrumu (m/z) .....	50
Şekil 3.17. Terpinen-4-ol'un kütle spektrumu (m/z) .....	51
Şekil 3.18. $\alpha$ -Terpinenol'un kütle spektrumu (m/z) .....	51
Şekil 3.19. <i>p</i> -Kumik aldehit'in kütle spektrumu (m/z).....	52
Şekil 3.20. Timol metil eter'in kütle spektrumu (m/z) .....	52

Şekil 3.21. Karvakrol'ün kütle spektrumu (m/z) .....	53
Şekil 3.22. Timol'ün kütle spektrumu (m/z).....	53
Şekil 3.23. δ-Elemen'in kütle spektrumu (m/z).....	54
Şekil 3.24. α-Kopaen'in kütle spektrumu (m/z) .....	54
Şekil 3.25. β-Bourbonen'in kütle spektrumu (m/z) .....	55
Şekil 3.26. α-Selinen'in kütle spektrumu (m/z).....	55
Şekil 3.27. β-Karyofilen'in kütle spektrumu (m/z).....	56
Şekil 3.28. Germakren D'nin kütle spektrumu (m/z) .....	56
Şekil 3.29. α-Karyofilen'in kütle spektrumu (m/z).....	57
Şekil 3.30. β-Kubeben'in kütle spektrumu (m/z) .....	57
Şekil 3.31. tau-Gurjunene'in kütle spektrumu (m/z).....	58
Şekil 3.32. δ-Kadinen'in kütle spektrumu (m/z) .....	58
Şekil 3.33. Spathulenol'ün kütle spektrumu (m/z) .....	59
Şekil 3.34. Karyofilen oksit'in kütle spektrumu (m/z) .....	59
Şekil 3.35. tau-Kadinol'ün kütle spektrumu (m/z) .....	60
Şekil 3.36. tau-Muurolol'ün kütle spektrumu (m/z).....	60
Şekil 3.37. Fenil propanol'ün kütle spektrumu (m/z).....	61
Şekil 3.38. Estragol'ün kütle spektrumu (m/z) .....	61
Şekil 3.39. Sinnamil alkol'ün kütle spektrumu (m/z).....	62
Şekil 3.40. Sinnamik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z).....	62
Şekil 3.41. Azaleik asit dimetil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	63
Şekil 3.42. Miristik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	63
Şekil 3.43. Stearik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z).....	64
Şekil 3.44. Palmitik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	64
Şekil 3.45. 9,15-Oktadekadienoik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	65
Şekil 3.46. Oleik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	65
Şekil 3.47. Araşidik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z) .....	66
Şekil 3.48. Heptakosanol'ün kütle spektrumu (m/z) .....	66
Şekil 3.49. <i>Origanum sipyleum</i> 'un aseton ekstresinin HPLC-DAD spektrumu .....	67
Şekil 3.50. <i>Origanum sipyleum</i> 'un metanol ekstresinin HPLC-DAD spektrumu.....	67
Şekil 3.51. <i>O. sipyleum</i> uçucu yağ ve hekzan ekstresinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları.....	72

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	:	Asetilkolin
AChE	:	Asetilkolinesteraz
AcI	:	Asetilkolin iyodür
BuI	:	Bütirilkolin iyodür
L-DOPA	:	3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin
BChE	:	Bütirilkolinesteraz
BHA	:	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	:	Bütillenmiş hidroksi toluen
DTNB	:	5,5'-Ditiyobis (2-nitro-benzoik asit)
DPPH	:	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit
FCR	:	Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi
DCM	:	Diklorometan
HPLC-DAD	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-diyot dizi sedektörü
GC	:	Gaz kromatografisi
GC/MS	:	Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
FID	:	Alev iyonlaşma dedektörü
<i>O.sipyleum</i>	:	<i>Origanum sipyleum</i>

# 1. GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkiler; gıda, ilaç, kozmetik ve baharat gibi birçok kullanım amaçları olan ve insanlık tarihinin başlangıcından itibaren benzeri amaçlarla kullanıla gelmiştir. Bitkilerin insanlık tarihinin ilk zamanlarından bu yana, geleneksel olarak tedavide kullanılmış olmasından dolayı, bilim insanlarının çeşitli hastalıkların tedavisi için araştırma çalışmalarına bitkiler konu olmuştur. Bitkilerle tedavi konusunda ilk kayıtlara M.Ö. 5000'lerde Mezopotamya uygarlığında rastlanmış olup, 250 bitkisel drogun tedavide kullanıldığı tespit edilmiştir (Demirezer, 2010). Kimya biliminin 18. yüzyıldan sonra gelişmesi, bitkilerle tedavi yöntemleri yerine saf bileşik, sentetik veya yarı sentetik ilaç hammaddelerinin kullanımını ön plana çıkarmıştır. Modern ilaçların istenmeyen yan etkilere sahip olması son yıllarda doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tercih edilmesine sebep olmuştur (Baytop, 1984).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre geleneksel tıp; fiziksel ve ruhsal hastalıklardan korunma, bunlara tanı koyma, iyileştirme veya tedavi etmenin yanında sağlıklı yaşam standardının arttırılmasında kullanılan, farklı kültürlere özgü teori, inanç ve tecrübeler dayalı izahı yapılabilen veya yapılamayan bilgi, beceri ve uygulamaların bütünü olarak tanımlamaktadır (Anonim, 2017). Gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde bitkilerle tedavi; geleneksel tedavi, tamamlayıcı tedavi, doğal tedavi gibi farklı yaklaşımlarla çeşitli hastalıkları tedavisinde uygulanmaktadır. Günümüzde de bitkiler, ilaç hammaddesi veya yardımcı maddesi olarak kullanılmaktadır. Dünya üzerinde 500.000 civarında bitki türünün olduğu tahmin edilmekte olup bunların yaklaşık %10'u hem insanlar hem de hayvanlar tarafından yiyecek olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalara göre, Dünyanın sahip olduğu bitkisel kaynağın çok daha büyük bir kısmının tıbbi amaçlar için kullanılması mümkündür (Moerman, 1996). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yaklaşık 4 milyar insanın sağlık sorunlarını öncelikle bitkisel droglarla gidermeye çalıştıklarını bildirmektedir. Söz konusu bu sayı dünya nüfusunun %80'ine tekabül etmektedir. Buna ilaveten, gelişmiş ülkelerde reçeteli ilaçların yaklaşık %25'ini bitkisel kökenli etken maddeler oluşturmaktadır (Farnsworth, 1990). Günümüzde, eczanelerde pazarlanan ilaçların % 50'sinden fazlasının doğal ürün kökenli olması, bu durumun günümüzde de etkin bir şekilde devam ettiğini göstermektedir. (Babaoğlu, 2002). Tıbbi ve aromatik bitkilerden sadece tedavi amaçlı kullanılmasının yanı sıra baharat,

eczacılık, gıda, parfümeri-kozmetik, insektisit ve bitkisel boya olarak da faydalınılmaktadır. Ülkemizde 1000'den fazla bitki türü bu amaçlar için kullanıldığı bilimektedir (Gürbüz vd., 2011).

Türkiye coğrafi konumu, iklim ve bitki çeşitliliği sayesinde biyoçeşitlilik bakımında dünyanın en zengin ülkelerinden birisi olup, bu zenginlik beraberinde endemik bitkilerin çeşitliliğini de getirmektedir (Baytop, 1999). Ülkemizde 12000 civarında farklı bitki türü varken, Avrupa Kıtası'nda ise bu rakam 13000 adettir. Bu bitkilerin 346 türünün ülkemizde ticareti yapılırken, 112 tür ise ihraç edilmektedir. İhracı yapılan bu türlerin 24'ü de endemik bitki olduğu bilinmektedir (Özhatay vd., 1997; Yaylı vd., 2005). Gelişmiş ülkelerdeki bitkisel ilaç, gıda ve katkı maddeleri, kozmetik ve parfümeri sanayilerinde kullanılan birçok bitkinin ülkemizde doğal olarak yetişmesi veya endemik olarak floramızda bulunması, ülkemizin bu konudaki önemini daha da arttırmaktadır. Ülkemizde tıbbi ve aromatik bitkiler çoğunlukla Ege, Akdeniz, Marmara, Doğu Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nden toplanmaktadır (Bayram vd., 2010). Dünya üzerinde yetişen çiçekli bitkinin etken madde bakımından çok azının araştırılmış olduğu göz önüne alınırsa, ülkemizde çalışılmayı bekleyen birçok bitkinin olduğunu söyleyebiliriz (Baytop, 1984; İlisulu, 1992).

Türkiye Diğer bitki türlerinde olduğu gibi, *Lamiaceae* familyası türleri bakımından oldukça zengin olup, bu familyanın ülkemizde 49 cins ve 629 türü doğal olarak yayılış göstermektedir. Bunun yanısıra, ülkemizde *Lamiaceae* familyasının 360 endemik taksonu bulunmaktadır. Bunlardan ülkemiz için önemli cinsler; *Salvia*, *Sideritis*, *Origanum*, *Lamium*, *Thymus*, *Mentha*, *Marrubium*'dur. Türkiye'de "kekik" olarak tanımlanan *Lamiaceae* familyasına ait pek çok aromatik bitki türü bulunmasına rağmen, özellikle uçucu yağında karvakrol ve timol taşıyan türler "kekik" olarak kabul edilmektedir. Bu türler arasında *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* ve *Coridothymus* cinsleri ülkemiz florasındaki yayılışı, halk arasındaki kullanımları ve ülkemiz ekonomisine sağladığı katma değeri bakımından büyük öneme sahiptir (Baydar, 2007). Bu cinsler içerisinde en önemlilerinden birisi de *Origanum* olup, bu cinsin ülkemizde 23 türü ve 27 taksonu doğal olarak yetişmektedir. *Origanum* cinsin dünyada 41 türü ve 52 taksonu bulunmaktadır (Oflaz vd., 2002; Davis, 1982; Güner vd., 2000). *Origanum* türleri ülkemizde çoğunlukla Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yayılış göstermektedir. Türkiye'de bulunan *Origanum* türlerinin 16 tanesi endemiktir (Davis, 1982; Gürbüz vd., 2011; Anonim, 2011). Ülkemizde, özellikle *O. minutiflorum*, *O. onites* ve *O. vulgare* ssp. *vulgare* türlerinin ticari önemi yüksek olup ihracaatı yapılmaktadır (Acıbuca ve Budak, 2018).

Türkiye ve Yunanistan *Origanum* cinsinin en yaygın şekilde yayıldığı bölgeler olduğundan, bu türler üzerine yapılan bilimsel araştırmaların çoğu, Türkiye ve Yunanistan'daki bilim insanları tarafından yapılmıştır. Bu güne kadar, *Origanum* türlerinin uçucu yağlarının kimyasal içerikleri ve bazı biyolojik aktiviteleri araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bunun yanı sıra son zamanlarda bu cinse ait bazı türlerden elde edilen ekstraların kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri üzerine de bilim insanlarının ilgisinin arttığı görülmektedir (Tepe vd., 2016; Abdel-Massih vd., 2010; El Babılı vd., 2011; Kaurinovic, vd., 2011; Spiridon vd., 2011; Oflaz vd., 2002; Dündar, vd., 2008; Erdoğan vd., 2011; Çoşgun vd., 2008; Azizi vd., 2009; Azcan vd., 2004; Lemhandrı vd., 2004; Başer,2002; Kürşad vd., 2001; Bejaoui vd., 2013).

## 1.1. Kaynak Özetleri

### 1.1.1. Botanik bilgiler

#### 1.1.1.1. *Lamiaceae (Labiatae) familyası*

*Lamiaceae* familyası Kuzey ve Güney yarım kürenin ılıman ve sıcak bölgelerinde, çoğunluğu Akdeniz havzasında yetişen, 3200 tür ve 220 kadar cinse sahiptir. Ülkemizde ise 46 cinsi, 758 taksası ve 275 türü doğal olarak yayılış göstermektedir (Oflaz vd., 2002; Davis, 1982; Güner vd., 2000; Sadıkoğlu, 2008; Sarı vd., 2002; Başer vd., 1994).

Türkiye'de "kekik" olarak bilinen ve bu amaçla kullanılan *Lamiaceae* familyasından pek çok aromatik bitki türü bulunmaktadır. Ancak timol/karvakrol tipi uçucu yağ içeren türler "kekik" olarak kabul edilmektedir. Karvakrol ve timol içeriği kekikte fiyatı belirleyen parametrelerdir. Bu türler arasında özellikle *Thymus* (57 takson), *Origanum* (31 takson), *Satureja* (14 takson), *Thymbra* (4 takson) ve *Coridothymus* (1 takson) cinsleri hem yayılış olarak hem de ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır (Tekin, 2013; Baytop, 1984; Sarı vd., 2002; Başer vd., 1994; Başer, 2002).

*Lamiaceae* familyası bitkileri halk arasında daha çok tıbbi amaçla kullanımı dışında süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır. Bu familyaya ait bazı türler ihraç edilmektedir (Baytop, 1999; Başer vd., 1994; Sarı vd., 2002).

### 1.1.1.2. *Origanum cinsi*

Doğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren *Origanum* cinsinin Türkiye’de 24 türe bağlı 33 takson yetişmekte olup ve bunlardan 21’i sadece ülkemize endemiktir. Endemizm oranı ise %66,7’dir (Davis, 1982; Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Gürbüz vd., 2011; Anonim, 2011; Sadıkoğlu, 2005).

*Origanum* cinsine ait çok sayıda tür, taşıdığı uçucu ve aromatik yağlar ve benzeri sekonder metabolitler nedeniyle çeşitli alanlarda ekonomik öneme sahip bitkilerdir. Ayrıca, solunum sistemi uyarıcısı, yara ve gastrit ülser tedavisi, karın ağrısı, soğuk algınlığı, antiromatizmal etki, baş ağrısı, kanser ve tümör tedavisi gibi birçok tıbbi özellikleri nedeni ile ilgi duyulan bitkilerdir (Baytop, 1999; Başer vd., 1994; Socorro vd., 1998; Başer, 2002; Tabata vd., 1988; Boydag 1996; Tekin 2013).

*Origanum* cinsinin türlerinde yapılan çalışmalar genellikle uçucu yağ üzerinden kimyasal bileşenleri bulmaya yöneliktir ve uçucu yağ bileşenlerinde genellikle karvakrol, timol ve  $\gamma$ - terpinen majör bileşiklerdir (Bernath; 1996, Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd. 1998; Başer, 2002; Başer vd., 1992; Başer vd., 1994; Çakır, 2011)

### 1.1.1.3. *Origanum sipyleum L.*

Türkiye’de doğal olarak yetişen *Origanum* türlerinden Batı Anadolu endemiği olarak tanımlanan, yayılışının Konya’ya kadar olabildiği belirtilen *Origanum sipyleum L.*’dur. Yerel isimleri “Mercanköşk”, “güvey otu”, “tahtacı otu”, “bayır çayı” olup “spil kekiği” olarak da bilinmektedir (Tanker vd., 1998). Bu bitkiye spil kekiği denmesinin sebebi Manisa iline bağlı Spil Dağı’nda ilk olarak tanımlanmasındandır (Davis vd., 1988).

*O. sipyleum L.* 80 cm’ye kadar boylanabilen yarı çalı, bazal kısımları tüylü, diğer kısımları tüsüz, gövde başına 35 cm olabilen 26 dal çifti barındıran bir toprak üstü morfolojiye sahiptir (Davis vd., 1988).

Bitkinin yaşam süresi uygun iklim koşulları altında 3-4 yıldır ve yetiştiği dönemler Nisan-Mayıs ile Ekim ayları arasındadır. Vejetatif kısımları geleneksel olarak gıda katkı maddesi, baharat ve bitki çayı olarak kullanılmaktadır (Özçelik, 2000; Özkan vd., 2007). Diğer *Origanum* türlerinde olduğu gibi, *O. sipyleum*’dan elde edilen çeşitli ekstraktların ve uçucu yağların içeriğinde bulunan etken maddelerin antifungal ve antibakteriyel etkileri sebebi ile tıbbi öneme de sahiptir (Loizzo vd., 2009; Paster vd.,

1993; Tümen vd., 1995; Zheng vd., 2009; Özkan vd., 2010; Vokou vd., 1993; Nakiboğlu vd., 2007; Özkan vd., 2007).

### 1.1.2. *Origanum sipyleum* L. üzerine yapılan çalışmalar

Literatür incelendiğinde; *Origanum sipyleum* türünün uçucu yağları ve bitkinin antimikrobiyal etkileri başta olmak üzere çeşitli biyolojik etkileri üzerine araştırmalar yapıldığı anlaşılmaktadır. Ülkemizde yetişen *O. sipyleum*'un uçucu yağı üzerine ilk araştırmada, bitkinin toprak üstü %0,1-1,7 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağda 48 bileşen belirlenmiş olup, bunlardan  $\gamma$ -terpinen (%10,80-26,60), p-simen (%3,76-36,60), timol metileter (%19,90), karvakrol metileter (iz düzeyde % 0,41-10,20), timol (%0,23-7,30) ve karvakrol (%0,82-12,20) majör bileşenler olarak belirlenmiştir (Başer vd., 1992). Başer (2002), çeşitli bölgelerde yetişen *O. sipyleum*'un uçucu yağının ana bileşenleri üzerine yaptığı çalışmada örneklerin dördünde p-simen (% 28-40), dördünde  $\gamma$ -terpinen (% 23-34), ikisinde  $\beta$ -karyofilen (% 17-22), birinde mirsen (% 37), birinde timol metileter (% 20) majör bileşen olduğu tespit etmiştir. Ayrıca 12 örnekte timol iz düzeyi ile %16'ya varan oranlarda bulunduğu, karvakrolün ise yine 12 örnekte %1 ile %12 oranında değiştiği tespit etmiştir (Başer, 2002).

*Origanum sipyleum* L.'nin farklı popülasyonlarında genetik varyasyonun moleküler düzeyde tespit edilmesi için yapılan bir çalışmada 9 farklı popülasyon 10 RAPD primeri ile taranmış ve elde edilen 84 lokustan 78'inin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Coğrafik mesafe olarak birbirine yakın olan popülasyonların genetik benzerlik açısından birbirlerine yakın oldukları gözlenmiştir. Genetik ilişki dendogramının 3 ana kola ayrıldığı ve her bir ana kolun bir fitocoğrafik bölgeyi temsil ettiği saptanmıştır (Kalender, 2006).

*Origanum* türleri uçucu yağlarının, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, diaporetik, karminativ, antispazmodik ve analjezik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir (Şahin vd., 2004; Faleiro vd., 2005; Souza vd., 2007; Saraç vd., 2009; Coelho da Costa vd., 2009; Tommasi vd., 2009). *Origanum* uçucu yağlarının antimikrobiyal potansiyeli özel bir öneme sahiptir. Son yıllarda, çok sayıda araştırma, birkaç *Origanum* türünden uçucu yağların çeşitli bakteri suşları paneline karşı etkinliğini ortaya koyan çalışmalar yapmışlardır (Dadalıoğlu ve Evrendilek, 2004; Baydar vd., 2004; Vardar-Ünlü vd., 2007; Bouhdid vd., 2008; Falco vd., 2013). Uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesinin majör bileşik olan karvakroldan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Başer, 2008)

Vaziran vd. (2015), tarafından İran'da doğal olarak yetişen *Origanum vulgare subsp. vulgare* uçucu yağın kimyasal bileşeni ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Bu çalışmada bitkinin uçucu yağında; timol (% 37,13),  $\gamma$ -terpinen (% 9,67), karvakrol (% 9,57), karvakrol metil eter (6.88), cis-albisabolen (% 6,80), ökaliptol (% 6,80) ve p-simen (% 3,58) ana bileşen olarak belirlenmiştir. Bitkinin uçucu yağı, çok güçlü radikal giderimine (DPPH yönteminde IC50 = 2,5 ug / mL) sahip olduğu rapor edilmiştir. Türkiyede yetişen *Origanum vulgare ssp. Hirtum* uçucu yağının kimyasal bileşimleri ve antimikrobiyal aktiviteleri Özkan vd. (2017) tarafından araştırılmıştır. Buna göre uçucu yağda, Karvakrol (% 63,97), p-simen (% 12,63) ve linalol (% 3,67), ana bileşen olarak rapor edilmiştir. Ayrıca, uçucu yağın gıda endüstrisinde zararlı mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür.

*Origanum sipyleum L.*'nin organik asit içeriği yönünden yapılan bir çalışmada bitkinin gövde, yaprak ve çiçekleri diğer kısımlardan ayrılarak kurutulup toz haline getirilmiştir. Serbest ve kombine organik asitleri ekstrakte etmek için ayrı ayrı sulu infüzyon, alkali hidroliz ve asit hidrolizi yöntemleri ile üç farklı ekstre hazırlanmıştır. Her bir ekstre sırasıyla petrol eteri, kloroform, dietil eter ve etil asetat ile fraksiyonlandırılıp, bir total organik asit ekstresi elde edilmiştir. Bu dört farklı çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen ekstratlardan organik asitler preparatif ince tabaka kromatografisiyle teşhis edilmiş ve sonuçta, *Origanum sipyleum L.*'nin gövde, yaprak ve çiçeklerinden elde edilen doku ekstratlarında p-kumarik asit, vanilik asit, p-hidroksi benzoik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinamik asitin varlığı tespit edilmiştir (Ergün, 1996).

Anadolu'da doğal olarak yayılış gösteren *Origanum syriacum L.*'nin topraküstü kısmından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşenlerinde  $\gamma$ -terpinen (% 26,7), timol (% 26,6) ve karvakrol (% 22,9) ana bileşen olduğu belirmiştir. Uçucu yağ, fumigasyon yöntemi kullanılarak yetişkin *Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera: Curculionidae)* ve *Rhyzopertha dominica (F.) (Coleoptera: Bostrychidae)* 'ye karşı böcek öldürücü aktivite si de araştırılmıştır. *O. syriacum* uçucu yağının *R. dominica* erişkinleri üzerinde, kayda değer düzeyde fumigant etkisini belirlenmiştir. Yapılan araştırmada, *O. syriacum*'un uçucu yağının doğal bir böcek ilacı olma potansiyeli olduğu rapor edilmiştir (Karan vd., 2018).

*Origanum sipyleum L.* ve *Sideritis sipylea Boiss* ile antioksidan kapasitesi karşılaştırılmak istenen bir çalışmada su, etanol, metanol, aseton gibi farklı çözücülerle ekstratlardan hazırlanmıştır. *Sideritis sipylea* ve *Origanum sipyleum L.*'nin en yüksek toplam fenolik içeriği metanol ve aseton ekstratlarında sırasıyla  $0,089 \pm 0,007$

ve  $0,156 \pm 0,014$  l g gallik asit / 1 g ekstre olarak tespit edilmiştir. Hidroksil radikal temizleme de ise en iyi IC<sub>50</sub> değerleri *Sideritis sipylea* metanol ekstresi 1,1 l g/ ml ve *Origanum sipyleum L.* aseton ekstresi 3,6 l g / ml olarak belirlenmiştir. DPPH için ise IC<sub>50</sub> değeri *Sideritis sipylea* metanol ekstresi 0,05 mg / ml ve *Origanum sipyleum L.*'in etanol ekstresi 0,09 mg/ml olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak *Sideritis sipylea* ile *Origanum sipyleum L.* karşılaştırıldığında genellikle antioksidan kapasite açısından *Origanum sipyleum L.* daha aktif bitki olduğu tespit edilmiştir (Nakiboğlu vd., 2007)

*Origanum sipyleum L.*'nin *in vitro* mikroçoğaltımı ve mikrobiterde uçucu yağ içeriğinin araştırılması üzerine yapılan bir çalışmada fidelerden elde edilen eksplantlar kullanılarak bir mikroçoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Doğal ve mikro çoğaltılmış *O.sipyleum L.* su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların analizi GC/MS vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. On sekiz bileşen karakterize edilmiş ve doğal bitkilerin ana bileşeninin  $\alpha$ -kadinol (%23,41), mikro çoğaltılmış bitkilerin ana bileşeninin timol (%48,55) ve  $\alpha$ -kadinol (%11,46) ve doğal bitkilerin çiçeklerinin ana bileşeninin germacrene-D olduğu belirlenmiş (Çakır, 2011).

Türkiye'ye endemik bir tür olan *Origanum sipyleum L.* (Lamiaceae) 'nin doğal yetişen ve mikro-çoğaltılmış formlarının uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri ve antimikrobiyal aktiviteleri Akçam-Oluk vd. (2013), tarafından karşılaştırıldı. Doğal yetişen bu türün uçucu yağında  $\alpha$ -cadinol (% 23,41) ve germakren D (% 20,13) ana bileşen olarak bulunurken, kültüre alınmış türde thropol (% 48,55) ve  $\alpha$ -kadinol (% 11,46) ana bileşenler olduğu belirlenmiştir. Doğal olarak yetişen *O. sipyleum*'un uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin mikro-çoğaltılmış bitkinin uçucu yağına kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Akçam-Oluk vd., 2013).

*Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Benth) Bornm ve *Origanum sipyleum L.*'nin uçucu yağ oranları ve bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada uçucu yağ oranları *S. libanotica subsp. linearis*'de % 0,18 ve *O. sipyleum L.*'de ise % 0,16 olarak bulunmuştur. Gaz kromatografisi sonuçlarına göre en etkili bileşenler *S. libanotica subsp. linearis*'de  $\alpha$ -bisabolol (%30,85),  $\beta$ -fellandiren (%25,29) ve germakren D (%8,68); *O. sipyleum L.*'de  $\gamma$ -terpinen (%45,46), *p*-simen (%24,29) ve karyofilen (%9,74) olarak tespit edilmiştir (Erbaş ve Fakir, 2012).

Denizli bölgesinde doğal olarak yetişen *O. sipyleum*'un bazı ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ve fenolik bileşikleri araştırılmıştır. Bitkiden elde edilen etanol ekstresinin fenolik bileşenleri araştırılmış olup, ekstrede kafeik asit, epikateşin ve 2,5-dihidroksibenzoik bulunduğu rapor edilmiştir (Kaska, 2018).

Anadolu'da yetişen *Origanum majorana*, *O. onites*, *O. hypericifolium*, and *O. sipyleum* türlerinin uçucu yağ bileşimi, toplam fenolik içeriği, antioksidan ve antibiyofilm aktiviteleri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Bu türlerin uçucu yağlarında p-simen, linalool ve timol ana bileşen olduğu, bitkilerde toplam fenolik bileşik miktarının 3,81-47,54 mg GAE /g ekstraktı arasında değiştiği rapor edilmiştir. Buna ilaveten bu türlerin radikal giderim aktivitesinin de yüksek olduğu, 50 mg / ml'de *O. majorana* uçucu yağına göre *M. luteus* NRRL-B 1013'e göre maksimum antibiyofilm etkinliği % 92,24 olduğu raporda belirtilmiştir (Semiz vd., 2018).

Yapılan bir başka çalışmada *Origanum sipyleum*'un metanol ekstresinde fenolik bileşen, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi ve antimikrobiyal aktivite araştırılmıştır. 100 g *Origanum sipyleum*'da sırasıyla, apigenin (6,81±1,95 mg), kafeik asit (3,94±1,65 mg), karvakrol (6,78±1,53 mg), hesperidin (6,71±1,01 mg), naringenin (4,95±3,30 mg), rosmarinik asit (870,22±82,66 mg), rutin (19,47±1,77 mg) ve vitexin (1017,33±93,06 mg) ana fenolik bileşik olduğu belirlenmiştir (Özkan vd., 2007).

### 1.1.3. Uçucu Yağlar

Uçucu yağ; oda sıcaklığında sıvı olan, kuvvetli bir kokuya sahip, genellikle renksiz veya açık sarı renkte olan, bitkinin karakteristik kokusunu ve lezzetini veren, çok sayıda bileşikten oluşan, su ile sürüklenebilen yağimsı karışımlardır. Uçucu yağdaki bu karışımlar; oksijenli terpenoid türevleri, benzoid yapıdaki bileşenler, azot veya kükürt içeren ve genel olarak terpenlerdir (Duru, 1993; Adams, 2004; Bayrak, 2006; Çalikoğlu vd., 2006; Evren ve Tekgüler 2011; Yaylı, 2013; Kaya ve Ergönül 2015). Uçucu yağlar 'Eterik yağlar' ya da "Aromatik yağlar" yaygın adıyla bilinmekte olup oda koşullarında sıvı halde bulunur ve kolayca kristalleşebilirler. Uçucu yağlar keskin kokuludur ve su buharı ile sürüklenebilirler (Duru, 1993; Ceylan, 1996; Tel, 2010). Uçucu yağlar bitkilerin farklı droglarında bulunabilirler. *Pinus* türleri ve bazı *Umbelliferae* türlerinde bitkinin hemen hemen her drogunda bulunmaktadır. Gül'ün taç yapraklarında bulunan uçucu yağ karanfil de ise çiçek tomurcuğunda bulunmaktadır (Tanker vd., 1990). Turunç, rezene ve yaban kerevizi gibi bitkilerde birden fazla drogta uçucu yağ bulunmaktadır (Akgül, 1993). Uçucu yağları sabit yağlardan ayıran en önemli özellik, uçucu yağlar su buharı ile sürüklenip süzgeç kağıdında leke bırakmazlarken, sabit yağlar ise su buharı ile sürüklenmez ve süzgeç kağıdında leke bırakırlar (Tanker vd., 1990; Duru, 1993).

Uçucu yağların kimyasal içeriğinde çok farklı bileşenler bulunmaktadır. Bu nedenle, biyolojik aktiviteleri bakımından da farklılık göstermektedir. Taşıdıkları etken maddenin özelliğine bağlı olarak değişiklik gösteren pek çok uçucu yağın, antimikrobiyal, antioksidan ve insektisidal aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Duru, 1993, Bağcı ve Dığrak, 1997; Tel, 2010). Uçucu yağ taşıyan drogların bir kısmı, halk arasında tedavi amaçlı çeşitli hastalıklara karşı kullanılırken bir kısmı ise eczacılıkta ham drog olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1997; Adams, 1989). Günümüzde, uçucu yağların büyük bir kısmı parfümeride kullanılırken, büyük bir kısmı da gıda endüstrisinde aroma verici olarak kullanılmaktadır (Tanker, 1990).

Uçucu yağların bitkilerde biyolojik bir olaya katılmadığı ancak, yaralanma gibi durumlarda bitkiyi dış etkilere karşı koruduğu, bazı böceklere karşı cezbedici özelliği gösterirken bazılarında karşı da kovucu özellik gösterdiği bu nedenle tozlaşmaya da katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Tyler vd., 1988; Ewans, 1989).

Tüm uçucu yağlar depolama boyunca, uzun süre hava, ışık ve ısıya maruz kaldıklarında çoğunlukla oksidasyona, polimerizasyona ve hidrolizasyona uğrarlar. Uçucu yağlar azot gazı altında, serin ve karanlık koşullarda saklanmalıdır (Kaya ve Ergönül, 2015; Yaman ve Kuleşan, 2016).

#### *1.1.3.1. Uçucu yağların elde edilmesi*

Bitkilerin kök gövde, yaprak, meyve, kabuk ve çiçek kısımlarından; bitkinin uçucu yağ miktarına, cinsine bağlı olarak farklı yöntemlerle uçucu yağlar elde edilmektedir (Bayrak, 2006; Torođlu ve Çenet, 2006; Coelho vd., 2012; Kaya ve Ergönül, 2015). Bu yöntemler kısaca klasik ve gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri olmak üzere iki ana başlık altında aşağıda verilmektedir (Bayrak, 2006; Torođlu ve Çenet, 2006; Başer, 2010; Yaylı, 2013; Kaya ve Ergönül, 2015; Yaman ve Kuleşan, 2016).

##### ❖ Klasik Yöntemler

- ⊗ Destilasyon Yöntemi
- ⊗ Ekstraksiyon Yöntemi
- ⊗ Tüketme Yöntemi

##### ❖ Modern Yöntemler

- ⊗ Basınçla Ekstraksiyon
- ⊗ Mikrodalga Destekli Solvent Ekstraksiyonu

☼ Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

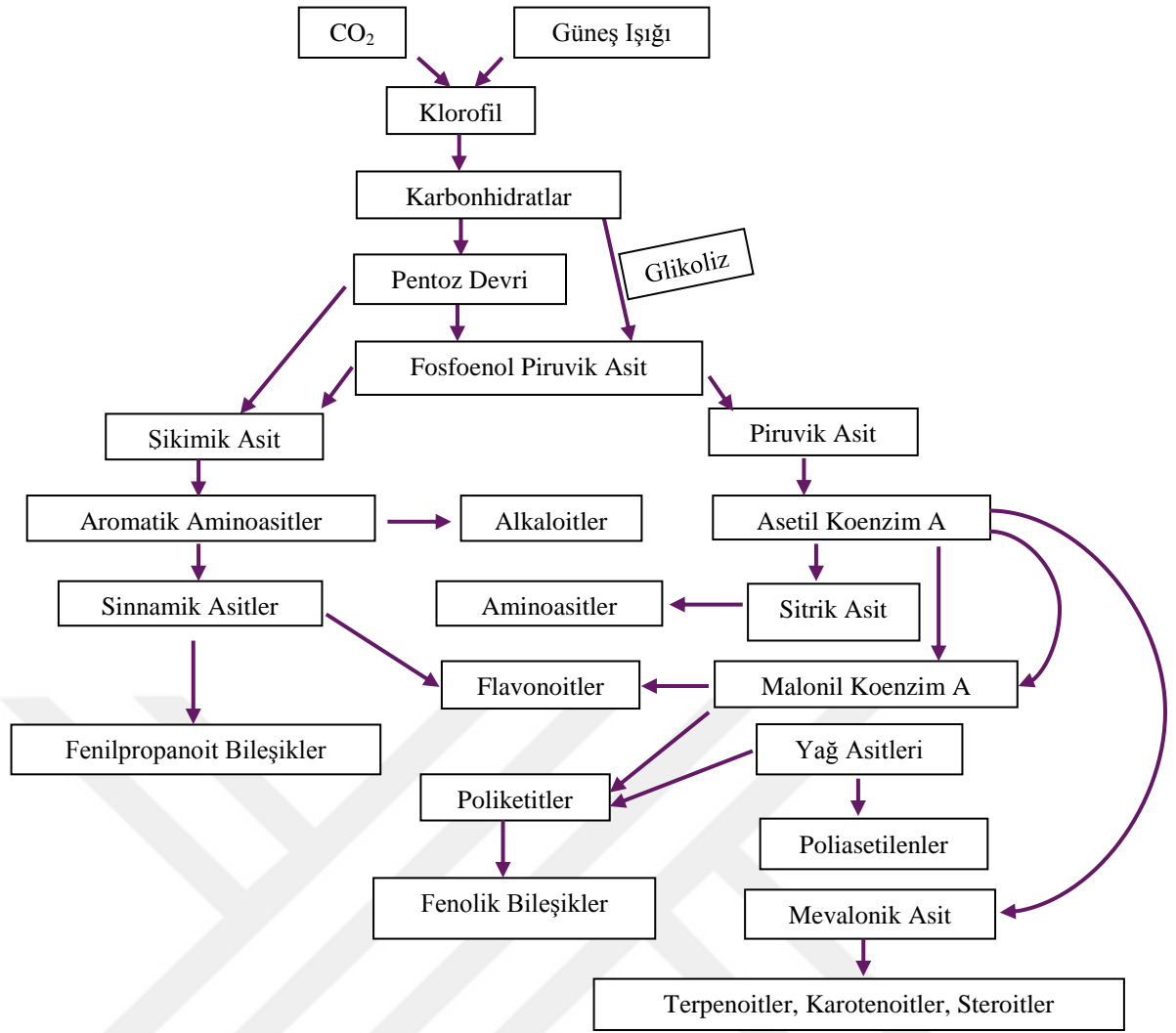
☼ Ultrason Destekli Ekstraksiyon

#### **1.1.4. Sekonder metabolitler**

Bitkilerde kimyasal bileşenler genellikle, primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılmaktadır. Sekonder metabolitler, primer metabolitlerden biyosentetik yolla üretilmektedir (Oskay ve Oskay 2009).

İlk kez 19. yüzyılda bitkilerden bazı yapı ve fonksiyonları belirlenen sekonder metabolitlerden günümüzde fenolik bileşikler, alkaloidler ve terpenoidler en çok ilgi duyulan bileşiklerdir (Oskay ve Oskay 2009). Biyosentez yolu ile sekonder metabolitlerin oluşumu Şekil 1.1’de gösterilmektedir.



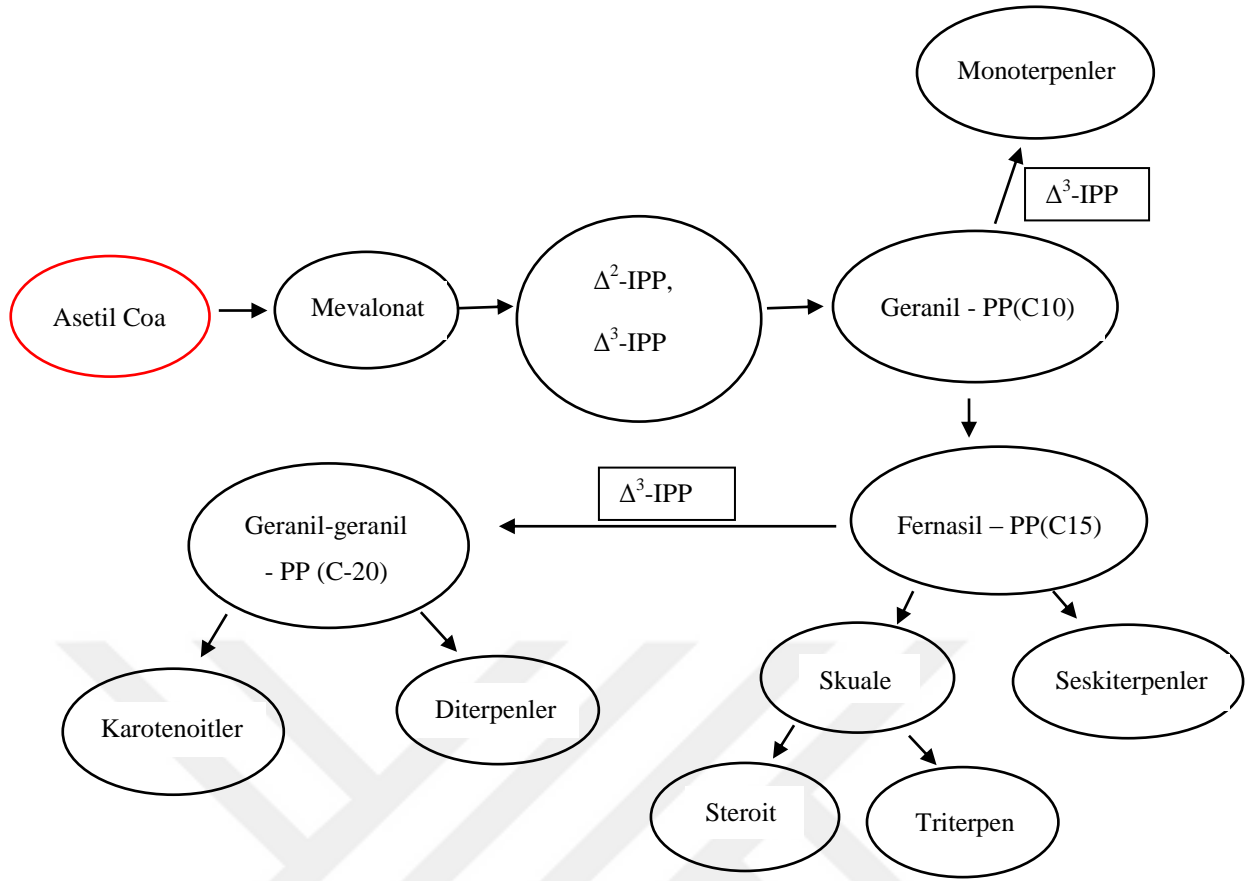


**Şekil 1.1. Sekonder metabolitlerin oluşumu**

*Origanum* türleri üzerine yapılan bilimsel çalışmalarda, sekonder bileşikler olarak, çoğunluğu terpen türevleri olmak üzere, fenolik bileşikler ve flavonitler elde edilmiştir (Bernath, 1996; Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd., 1998; Çakır, 2011; Ergün, 1996).

#### 1.1.4.1. Terpenler

Terpenler yaygın olarak doğada bulunan geniş bir doğal bileşik sınıfıdır (Thomson, 1993). Terpenler hidrokarbon içeren terpenler olduğu kadar, oksijen içeren terpenler de çok yaygındır. Oksijen taşıyan terpenler terpenoitler olarak da adlandırılırlar. Bugün yaklaşık 20.000'den fazla terpen yapısı bilinmektedir (Topçu, 2001; Çulhaoğlu, 2011).



Şekil 1.2. Terpenlerin biyosentezi

#### 1.1.4.2. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bir aromatik halkada bir ya da daha fazla hidroksil grubu içeren ve bitkilerden elde edilen bileşiklerdir. Flavonoidler yapısı aydınlatılmış binlerce fenolik bileşiğin arasında en geniş grubu oluşturmaktadır (Harborne, 1988)

#### 1.1.5. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler oksidasyona uğrayabilir ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşturabilirler (Papas, 1996). Bu durum yaygın olarak “oksidatif stres” şeklinde ifade edilir ve bunun baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir (Aruoma ve Cuppet, 1997). 1970’lerde oksidasyon ürünlerinin bir dizi antioksidan savunma mekanizması

tarafından bertaraf edildiği gerçeği ortaya konmuştur. (Zaruelo ve Crespo, 2002; Tel, 2010; Küçükaydın, 2014).

Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidanları önemli kılmaktadır. Hücrelere zarar veren bu reaktif oksijen ve azot türleri antioksidanlar tarafından etkin bir şekilde indirgenerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüşürler (Cao and Prior, 1999; Tel, 2010; Küçükaydın, 2014).

Oksidatif stresin, hücresel hasara ve ölüme yol açan enzimler, lipitler ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle, oksidatif stres, kanser ve diyabet gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir role sahiptir. (Ratnam vd., 2006, Deveci vd., 2018)

Antioksidanlar; vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi, gıdalardan da alınabilmektedir. (Rice-Evans vd., 1997). Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoidlerdir (Larson, 1988; Hudson, 1990; Tel, 2010; Küçükaydın, 2014).

Antioksidanlar, birincil antioksidanlar ve ikincil antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar.

#### *1.1.5.1. Birincil antioksidanlar*

Birincil, tip 1 veya zincir kırıcı antioksidanlar, başlangıç adımını geciktiren veya engelleyen veya oto-oksidasyonun yayılma aşamasını kesen serbest radikal alıcılardır. Oto-oksidasyonun başlatılması, bir lipit (alkil) radikali ( $R\bullet$ ) oluşturmak için bir  $\alpha$ -metilenik hidrojen molekülünün doymamış bir lipitten soyutlandığında ortaya çıkar (Reaksiyon 1) (Reische vd., 2002).



Bu yüksek reaktif lipid radikali bir peroksi radikali ( $ROO\bullet$ ) oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girer (Reaksiyon 2).



Yayıma sırasında, peroksi radikalleri bir hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipid radikali oluşturmak için lipid ile reaksiyona girer (Reaksiyon 3). Bu lipid radikali daha sonra başka bir peroksi radikali üretmek için oksijenle reaksiyona girer, bu da

döngüsel, kendiliğinden katalizlenen bir oksidatif mekanizmaya neden olur (Reaksiyon 4).



Hidroperoksitler kararsızdır ve yayılma reaksiyonlarını daha da hızlandıran radikaller üretmek için bozulabilir (Reaksiyon 5 ve 6).



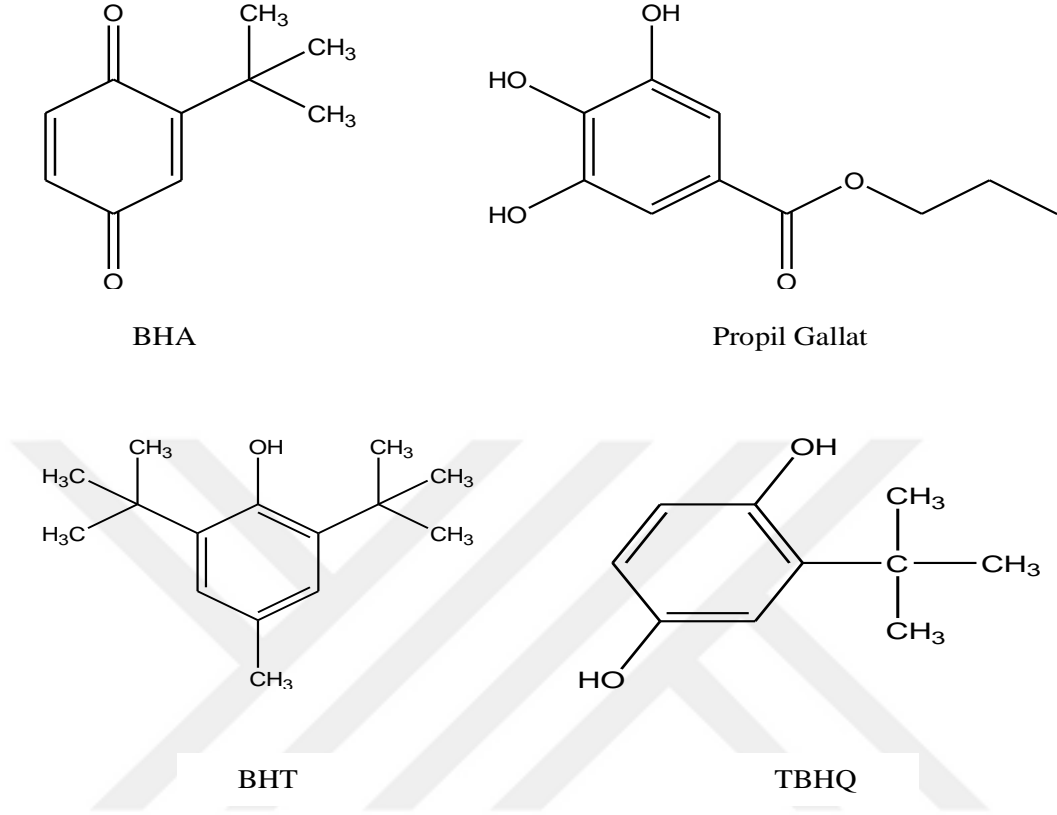
Birincil antioksidanlar, lipit ve peroksi radikalleri ile reaksiyona girer ve onları daha stabil, radikal olmayan ürünlere dönüştürür. Birincil antioksidanlar, hidrojen atomlarını lipit radikallerine bağlar ve daha da kararlı olan ve otooksidasyonu daha da kolaylaştırmak için daha az hazır olan lipit türevleri ve antioksidan radikallerini (A•) üretir. Hidrojen donörleri olarak primer antioksidanlar, peroksi radikalleri için lipitlerden daha fazla afiniteye sahiptir (Reaksiyon 4). Bu nedenle, yayılma sırasında oluşan peroksi ve oksidatif serbest radikalleri (Reaksiyon 2 ve 4) ve dallanma (Reaksiyon 5 ve 6) otooksidasyon basamakları birincil antioksidanlar tarafından atılır (Reaksiyon 7 ve 8). Antioksidanlar da doğrudan lipit radikalleri ile etkileşime girebilir (Reaksiyon 9).



Otooksidasyonun başlamasından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin üretildiği bir indüksiyon dönemi olmalıdır. Bu nedenle, birincil antioksidanlar, çevrimsel yayılma aşamaları gerçekleşmediğinde, oksidasyonun indüksiyon ve başlatma aşamaları sırasında eklendiklerinde en etkilidir. Zaten önemli miktarlarda peroksit içeren yağlara antioksidanların eklenmesi, hızlı bir şekilde antioksidan fonksiyon kaybına yol açacaktır. Radikal süpürmenin yanı sıra, birincil antioksidanlar hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilir. Bununla birlikte, birincil antioksidanların ana antioksidasyon mekanizması radikal süpürücüdür (Reische vd., 2002; Tel, 2010; Küçükaydın, 2014).

Gıdalarda en çok kullanılan birincil antioksidanlar sentetik bileşiklerdir. Önemli primer fenolik antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer butil hidrokinon

(TBHQ) verilebilir. Bununla birlikte, birkaç doğal besin bileşeni de birincil antioksidanlar olarak işlev görür ve genellikle gıdalara eklenir. Tokoferoller en yaygın kullanılan doğal birincil antioksidanlardır (Reische vd., 2002; Tel, 2010; Deveci vd., 2018).



Şekil 1.3. Birincil Antioksidanlar

#### 1.1.5.2. İkincil antioksidanlar

İkincil, koruyucu veya tip 2, antioksidanlar çeşitli olası mekanizmalarla hareket eder. Bu antioksidanlar, çeşitli farklı eylemlerle oksidasyon hızını yavaşlatırlar, ancak serbest radikalleri daha stabil ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar, pro-oksidadant metalleri şelatlayabilir ve bunları deaktive edebilir, hidrojeni primer antioksidanlara yenileyebilir, hidroperoksitleri radikal olmayan türlere dağıtabilir, singlet oksijeni deaktive edebilir, ultraviyole radyasyonu emebilir veya oksijen süpürücü olarak işlev görebilir. Bu antioksidanlar sıklıkla sinerjistler olarak anılırlar, çünkü tip-1 antioksidanların antioksidan aktivitesini teşvik ederler. Sitrik asit, askorbik

asit, askorbil palmitat, lesitin ve tartarik asit, sinerjistlerin iyi örnekleridir (Tel, 2010; Küçükaydın, 2014; Reische vd., 2002).

### **1.1.6. Asetil- ve bütirilkolinesteraz enzimleri**

Alman Doktor Alois Alzheimer'dan adını alan Alzheimer hastalığı beyinde, milyonlarca sinir hücresi arasından karmaşık mesajları taşıyan kimyasalların seviyesinin azalması ve sinir hücrelerinin yok olması ve hafıza yetilerinin kaybolması sonucu meydana gelir (Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001; Alpaslan, 2013; Tel vd., 2015; Küçükaydın, 2014 ).

Günümüzde, Alzheimer hastalığı 65 yaşının üzerindeki nüfusun yaklaşık %10'unu ve 85 yaşın üzerindeki nüfusun %50'sini etkilemektedir Alzheimer hastalığında ilk ve en belirgin özelliği, son olaylar için hafıza kaybıdır, ardından genel kavrama ve motor becerilerde ilerleyen bir düşüş olmasıdır. (Hartman, 2009).

Bu hastalığın nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen, hastalık asetilkolin (ACh) seviyesinin azalması ile ilişkilendirilmektedir (Grossberg, 2003; Nordberg ve Svensson, 1998; Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001). Kolin asetiltransferaz enzimi asetilkolinin (ACh) hafızadaki uyarıcı etkisi ve sentezinden sorumludur ve belirgin bir azalmaya neden olmasıyla bu hastalığın kolinerjik olduğunun düşünülmesine yol açmıştır (Tel vd., 2012; Tel vd., 2015). Alzheimer hastalarında asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörlerinin kullanılması onaylanmış tek tedavi yöntemidir. Asetilkolini parçalayan bir enzim olan AChE'nin aynı zamanda amiloid  $\beta$ -peptid oluşumunu da hızlandırdığı gözlenmiştir. Asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu bu nedenden dolayı Alzheimer hastalığına karşı en yaygın kullanılan tedavi şeklidir (Orhan vd., 2007). AChE'nin Alzheimer hastalığında üstlendiği bu çift rol yeni AChE inhibitörlerini araştırmayı, günümüzde uygulanan tedavilerin mevcut yan etkilerinden dolayı daha da gerekli hale getirmektedir.

### **1.1.7. Üreaz enzimi**

Ürenin amonyak ve karbondioksite hidrolizini katalizleyen üreaz enziminin bakteriyel kaynaklı olarak en yaygın bilinenleri; Klebsiella aerogenes üreazı, Bacillus pasteurii üreazı, Helicobacter pylori üreazıdır. (Demiray ve Yılmaz, 2007). Kanslerle sonuçlanabilen gastrit, intestinal metaplazi ve gastrik asit sekresyonundaki bozuklukların H. Pylori ile ilişkili olduğu ve üreaz enziminin de önemli rolü

bulunmaktadır. Üreaz enzimi aracılığı ile midede lokal pH artışına neden olmaktadır. Bu pH artışı gastrit ve ülserin artışına sebep olmakla birlikte mide mukozasındaki oksidatif zarara yol açtığı da yapılan araştırmalarda belirlenmiştir (Levi vd., 1989; Ruiz vd., 1996; Arı, 2006). Üreaz üreten bakterilerin sebep olduğu bu enfeksiyonların tedavisi için kabul edilen tedavi yöntemi üreaz enzim inhibisyonudur ve kronik mide rahatsızlığının tedavisinde son yıllarda yoğun ilgi gören yöntemdir (Özer vd., 2004; Demiray ve Yılmaz, 2007; Dinç, 2009).

### **1.1.8. Tirozinaz enzimi**

Polifenol oksidaz enzimlerinin önemli bir üyesi olan Tirozinaz (EC.1.14.18.1); funguslarda, yüksek bitkilerde ve hayvanlarda bulunan ve bakır içeren bir enzimdir. Bitkiler, bakteriler ve memeliler de olmak üzere çok sayıda canlı grubunda bulunan bu enzim moleküler oksijeni kullanarak monofenollerin o-difenollere hidroksilasyonunu; odifenollerinde o-kinonlara oksidasyonunu katalizler (Vamos-Vigyazo, 1981; Sökmen ve Yılmazoğlu, 2018).

Tirozinaz enzimi yaygın olarak fenolik bileşiklerin zehirli etkilerinin giderilmesinde, patojen, GDO ve tarım ilaçlar kalıntılarının tespitinde kullanılmaktadır. Bunun dışında bitkilerde, hayvanlarda ve diğer organizmalarda melanin sentezinin esmerleşme reaksiyonlarında da tirozinaz enzimi görev alır (Selinheimo, 2008; Aytar ve Bakır 2008; Xue vd., 2008; Franssen vd., 2013; Polatoğlu, 2016).

## **1.2. Çalışmanın Amacı**

Türkiye'de "kekik" yada "adaçayı" olarak tanımlanan ve baharat yada çay olarak tüketilen *Lamiaceae* familyasında pek çok aromatik bitki türü bulunmaktadır. Ancak özellikle timol/karvakrol tipi uçucu yağ içeren türler "kekik" olarak kabul edilmektedir. Bu türler arasında özellikle *Thymus* (57 takson), *Origanum* (31 takson), *Satureja* (14 takson), *Thymbra* (4 takson) ve *Coridothymus* (1 takson) cinsleri hem yayılış olarak hem de ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır (Özçelik, 2000; Özkan vd., 2007; Baytop, 1999; Tekin, 2013; Baytop, 1984; Sarı vd., 2002; Başer vd., 1994; Başer, 2002).

*Origanum* cinsi doğu Akdeniz bölgesinde yayılış göstermektedir. Türkiye’de 24 türe bağlı 33 takson *Origanum* bitkisi yetişmekte olup ve bunlardan 21’i sadece ülkemize endemiktir. Endemizm oranı ise %66,7 ’dir (Sadıkoğlu, 2005; Tekin, 2013).

*Origanum* türleri ağrı kesici (analjezik), antioksidan, antispazmik, antiviral, antibakteriyal, gaz giderici, kalbi uyarıcı, terletici, sindirimi kolaylaştırıcı, idrar artırıcı, adet söktürücü, fungusidal, balgam söktürücü, müshil, sakinleştirici, midevi, tonik, yara iyileştirici etkilere sahiptir (Başer vd., 1992; Başer vd., 1994; Başer, 2002; Baytop, 1999; Tekin, 2013; Loizzo vd., 2009). *Origanum* günlük hayatımızda önemli bir rol oynamakta ve özel tadından dolayı birçok yiyeceklerde baharat olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *Origanum*’lardan elde edilen kekik suyu astım ve kronik bronşit gibi hastalıklarda, zayıflamada, yüksek tansiyonda, şeker hastalığında, parazit dökmede ve kan dolaşımını uyarmada kullanılmaktadır (Bernath; 1996; Kitiki, 1996; Sarı vd., 2002).

*Origanum* cinsine ait türlerin kimyasal bileşenleri ile ilgili olarak yapılan çalışmaların çoğu uçucu yağ bileşenleri karvakol, timol,  $\gamma$ -terpinen gibi bileşiklere yöneliktir (Bernath; 1996, Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd. 1998). Ayrıca güzel görünümünden dolayı *Origanum* türlerinin peyzaj amaçlı plantasyonlarda kullanılabilmektedir (Kokkini, 1996).

Bu tez çalışmasında, daha önce üzerinde kayda değer bir araştırma yapılmamış ve Anadolu’da endemik olarak yayılış gösteren *Origanum sipyleum*’un uçucu yağının kimyasal analizi, bitkinin çeşitli çözücülerle elde edilecek ekstralarının ve uçucu yağın antioksidan, antikolinesteraz, üreaz ve triozinaz enzim inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesi en temel amaçtır. Ayrıca, *O. sipyleum*’un fenolik bileşenlerinin HPLC ile belirlenmesi çalışmanın bir diğer amacıdır. Bugüne kadar *Origanum sipyleum*’un botaniksel özellikleri, ekolojik olarak doğal yetiştirme koşulları, uçucu yağının kimyasal bileşenleri üzerine 1992 yılından bu zaman kadar çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Başer vd., 1992; Başer, 2002; Erbaş ve Fakir, 2012; Çakır, 2011; Karan vd., 2018; Kaska, 2018; Semiz vd., 2018). Ancak uçucu yağın ve özellikle bitkinin ekstralarının asetil-, bütirilkolinesteraz, üreaz ve triozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri ilk defa bu tez çalışmasıyla araştırılacaktır.

## 2. MALZEME VE YÖNTEM

### 2.1. Bitki Materyali

Tez çalışmasının materyalini oluşturan *Origanum sipyleum L.* Muğla'nın Yatağan ilçesi Kafaca Köyü civarından çiçeklenme döneminde (20 Temmuz 2017), tarafımızca toplandı. Bitki, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Hasan Yıldırım tarafından teşhis edildi. Bitkinin bir örneği Muğla sıtkı koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Doğal Ürünler Araştırma Laboratuvarında saklanmaktadır.

### 2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

#### 2.2.1. Kimyasal maddeler

Kullanılan kimyasallar Sigma ve Merck firmalarından temin edildi. Bunlar;  $\beta$ -karoten, linoleik asit, 5,5'-ditiyobis(2-nitro-benzoik asit) (DTNB), asetilkolin iyodür (AcI), bütirilkolin iyodür (BuI), elektrik balığından asetilkolinesteraz [AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425,84 U/mg], at serumundan bütirilkolinesteraz [BChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg],  $\alpha$ - tokoferol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA), Tween-40 [polioksietilen sorbitan monopalmitat], sodyum karbonat, alüminyum nitrat, potasyum asetat, sodyum dihidrojen fosfat, hekzan, aseton, metanol ve kullanılan tüm çözücülerdir. Kullanılan diğer kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır.

#### 2.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

##### 2.2.2.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti

- ☼ 0,1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartıldı ve 100 mL'lik balon jodede etil alkol ile çözülüp 100 ml'ye tamamlandı.

#### 2.2.2.2. *ABTS<sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi yönteminde kullanılan çözelti*

- ⊗ 7 M ABTS<sup>+</sup> çözeltisinin hazırlanması: 19,2 g ABTS tartılıp 5 ml'lik balon joje de saf su ile çözülüp balon jojenin hacmi tamamlandı. Üzerine 3,3 mg K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ilave edildip karıştırıldı. Oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletildi.

#### 2.2.2.3. *β-Karoten renk açılımı yönteminde kullanılan çözelti*

- ⊗ β-Karoten reaktifinin hazırlanması: 0,2 mg β-karoten tartılıp 1 mL kloroform ile çözülüp bir balona aktarıldı. 200 mg Tween-40 ve 20 µL lineloik asitten ilave edildi ve sonra karıştırıldı. Döner buharlaştırıcı ile kloroform çektilirdi ve sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edilip kuvvetlice çalkalandı.

#### 2.2.2.4. *CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yönteminde kullanılan çözeltiler*

- ⊗ 10 mM'lık Cu (II) çözeltisinin hazırlanması: 0,1705 g CuCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O tartılıp 100 ml'lik balon jodede saf su ile çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı.
- ⊗ 1 M pH=7 Amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 7,708 g NH<sub>4</sub>Ac tartılıp 100 ml'lik balon jodede saf suda çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı
- ⊗ 7,5 mM neocuprin çözeltisinin hazırlanması: 0,039 g neocuprin tartılıp 25 ml'lik balon jodede bir miktar etanolde çözüldü ve 25 ml'ye tamamlandı.

#### 2.2.2.5. *Antikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler*

- ⊗ Fosfat tamponu için çözeltilerin hazırlanması: 8,89 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O tartıldı ve 500 ml'lik balon joje de bir miktar saf su ile çözüldü. 500 mL'ye saf su ile tamamlandı. 1,56 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 100 mL'lik balon jorejeye konuldu. Bir miktar saf su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlandı.
- ⊗ pH=8 tamponu hazırlanması: Hazırlanan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'den 94,7 mL ve NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>'den de 5,3 ml alındı ve 200 mL'ye seyreltildi. pH metre ile pH kontrol edildi
- ⊗ pH=7 tamponu hazırlanması: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>'den 39 mL, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'den de 61 mL alındı ve 200 mL ye seyreltildi. Tampon çözeltinin pH'ı pK metre ile kontrol edildi.

- ⊗ DTNB çözeltisinin hazırlanması: 16 mg DTNB tartılıp hazırlanan pH=7 tamponu ile çözüldü. 7,5 mg NaHCO<sub>3</sub> tartılıp 1 ml pH=7 tamponuyla çözüldükten sonra DTNB ile karıştırıldı ve 4 mL'ye pH=7 tamponuyla seyreltildi.
- ⊗ AcI (Asetilkolin iyodür) hazırlanması: 16 mg AcI tartılıp 4 mL saf suda çözüldü.
- ⊗ BuI (Bütirikolin iyodür) hazırlanması: 4 mg BuI tartılıp ve 4 mL saf suda çözüldü.

#### 2.2.2.6. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- ⊗ pH=8.2 tamponu hazırlanması: 0,1560 gram NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tartıldı. 100 ml'lik balon jöje de önce bir miktar saf su ile çözüldü ve 100 ml'lik hacim tamamlandı. 0,1780 gram Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tartılıp, 100 ml'lik balon jöjeye konuldu. Saf su ile bir miktar çözüldü ve hacim tamamlandı. Tampon için 96 ml Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi ve 4 ml NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisinden alınıp hacmi 200 ml'ye seyreltildi.
- ⊗ Fenol reaktifinin hazırlanması: %1'lik fenol reaktifi hazırlamak için 0,8 gram fenolden tartıldı ve 10 ml'lik balon jöjede suda çözüldü ve hacmi tamamlandı. %0,005'lik sodyum nitropurissit hazırlamak için de 5 mg sodyum nitropurissit tartıldı ve 10 ml suda çözüldü. 5 birim fenol reaktifi, 4 birim sodyum nitropurissit çözeltisi olmak üzere karışım hazırlandı.
- ⊗ Alkali reaktifin hazırlanması: Sodyum hidroksit çözeltisi için, 0,285 gram sodyum hidroksit 10 ml'lik alon jöjede suda çözüldü ve balon jöje hacmi tamamlandı. %0,1 sodyum hipoklorit çözeltisi için, %10'luk sodyum hipokloritten 0,10 ml alındı 10 ml suda çözüldü. Karışım 1 birim sodyum hidroksit, 1 birim sodyum hipoklorit çözeltisi ile hazırlanır.
- ⊗ Üre'nin hazırlanması: 0,25 gram üre 25 ml'lik balon jöje de pH=8.2 tamponu ile çözüldü ve balon jöjenin hacmi tamamlandı.
- ⊗ Üreaz enzim çözeltisinin hazırlanması: 1 mg üreaz enzimi, 1 ml pH=8.2 tamponu ile çözüldükten sonra 50 µl şeklinde 20 eşit parçaya ayrıldı. Kullanım sırasında 2,5 ml pH=8.2 tamponu ile çözüldü.

#### 2.2.2.7. Tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi yönteminde kullanılan çözeltiler

- ⊗ pH=6.8 tampon çözeltisinin hazırlanması: Antikolinesteraz enzim aktivitesinde fosfat tamponu için hazırlanan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisinden 49 ml ve NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

çözeltisinden 51 ml alındı. Hacmi 200 ml'ye seyreltildi. Çözelti tekrar yarıya seyreltildi ve 50 mM'lık çözelti hazırlandı.

⊗ Tirozinaz enzim çözeltisinin hazırlanması: 1 mg tirozinaz enzimi tartıldı ve 250 µL 50 mM'lık pH=6,8 fosfat tamponuyla çözüldü. 50 µl'lik halinde eppendorf tüplere ayrıldı. Kullanım sırasında alkol için 50 µl 2 ml tamponda, su için 50 µl 3 ml tamponda çözüldü.

⊗ L-DOPA'nın hazırlanması: 8,4 mg DOPA tartıldı ve 5 ml saf suyla çözüldü.

### 2.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- ⊗ Döner buharlaştırıcı (Heidolph)
- ⊗ Gaz kromatografisi (GC) cihazı (Shimadzu GC-17 AAF, V3, 230V LV)
- ⊗ Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi cihazı (GC/MS) (Varian 2100)
- ⊗ Clevenger aparatı (Amerikan Farmokopisine Göre)
- ⊗ Otomatik pipetler (2-20 µL, 10-100µL, 20-200µL, 100-1000µL, 1-5mL)
- ⊗ Azot ve oksijen tüpleri
- ⊗ UV-visible Spektrofotometre (DR-2800)
- ⊗ 96-kuyucuklu mikropate okuyucu (SpectraMax PC340, Molecular Devices, USA).
- ⊗ Liyofilizatör

### 2.4. Ekstrelerin Hazırlanması

*Origanum sipyleum L.* bitkisi oda koşullarında kurutuldu. Kuruyan bitki budama makası ile parçalandı ve bitkinin sığabileceği büyüklükte cam balona aktarıldı. Üzerine yaklaşık olarak bitkinin kuru kütlelerinin 3 katı kadar hekzan ilave edildi. Bir gün süreyle ekstraksiyonu yapılan bitki süzüldü. Döner buharlaştırıcı ile hekzan uzaklaştırıldı. Bitkinin üzerine tekrar hekzan ilave edildi ve bir gün daha ekstraksiyon yapıldı bu işleme 4 kez tekrarlandıktan sonra çözücü ve bitki ayrıldı. Her seferde ayrılan hekzan kısmındaki çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve hekzan ekstresi birleştirildi. Bitkisel kalıntı, aynı ekstraksiyon balonunda sırasıyla diklorometan, aseton, metanol ve sıcak su ile ekstraksiyonları yapıldı. Diklorometan ve aseton gibi apolar çözücüler döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Polar çözücüler ise liyofilizatör ile uzaklaştırıldı ve ilgili çözücülerin ekstreleri elde edildi. Böylece,

*Origanum sipyleum L.* toprak üstü kısımlarından oda şartlarında sırasıyla hekzan, diklorometan, aseton, metanol ve su ekstraktları hazırlandı.

## 2.5. Uçucu Yağın Eldesi ve Analizi

### 2.5.1. Uçucu yağın eldesi

Gölgede kurutulan *Origanum sipyleum L.* toprak üstü kısmı parçalanarak 4000 ml'lik balona bitkiyi örtecek kadar saf su ile birlikte konuldu ve Clevenger tipi hidrodestilasyon aparatı kullanılarak, ortalama üç saat kaynatıldı. Elde edilen uçucu yağ ayırma hunisiyle ayrıldı ve sodyum sülfat ile kurutuldu. Uçucu yağ, analiz edilinceye kadar +4°C'de soğutucuda saklandı.

### 2.5.2. Gaz kromatografi (GC) analizi

*Origanum sipyleum L.*'den elde ettiğimiz uçucu yağ bileşenleri Shimadzu GC-17A gaz kromatografisi cihazı kullanılarak analiz edildi. Uçucu yağ bileşenleri kantitatif olarak gaz kromatogramı kullanılarak GC Solution programı ile hesaplandı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak ve Alıkonma İndeks (RI) değerleri hesaplandı. GC analiz şartları Çizelge 2.1'de verilmektedir.

Çizelge 2. 1. GC analiz şartları

Kolon	: DB-1 kapiler kolon (0,25id x 30 m)
Dedektör	: FID
Taşıyıcı gaz	: He
Yakıcı gazlar	: Yüksek saflıkta (%99,999) kuru hava ve hidrojen
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Kolon sıcaklığı	: Fırın sıcaklığı 60°C de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 280°C ye 4°C/dk hızla çıkarıldı ve 280°C'de 15 dakika bekletildi
Dedektör sıcaklığı	: 280°C

---

Split oranı : 1:50

Enjeksiyon miktarı : 0,2µl

---

### 2.5.3. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi

*Origanum sipyleum L.*'nin uçucu yağ bileşenlerinin karakterizasyonu için VARIAN 2100 GC-MS cihazı kullanıldı. Bileşenlerin aydınlatılmasında NIST 2010 kütüphane verileri ve “Eight Peak Index of Mass Spectra”, “Monoterpenes” ve “Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy” adlı spektrofotometre atlasları kullanıldı. Ayrıca bileşenlerin alıkonulma süreleri göz önüne alınarak RI değerleri hesaplandı. Buna ilave olarak aynı şartlarda standart maddeler kolonda yürütüldü ve alıkonulma zamanları ile uçucu yağ bileşenleri karşılaştırıldı. GC-MS analiz şartları Çizelge 2.2’de yer almaktadır.

Çizelge 2.2. GC-MS analiz şartları

---

Kolon	: DB-1 kapiler kolon (30 m x 0,25mm, 0,25µm)
Taşıyıcı gaz	: He
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250 <sup>0</sup> C
Kolon sıcaklığı	: Fırın sıcaklığı 60 <sup>0</sup> C de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 280 <sup>0</sup> C ye 4 <sup>0</sup> C/dk hızla çıkarıldı ve 280 <sup>0</sup> C’de 15 dakika bekletildi
Split oranı	: 1:50
İyon kaynağı sıcaklığı	: 150 <sup>0</sup> C
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: 28-450 m/z
Scan aralığı	: 0,01
Enjeksiyon miktarı	: 0,2µl

---

## 2.6. Türevlendirilmiş Hekzan Ekstresinin GC-MS Analizi

*Origanum sipyleum L.* bitkisinin hekzan ekstresinin karakterizasyonu için VARIAN 2100 GC-MS cihazı kullanıldı. Bu amaçla, hekzan ekstresi uçucu türevlerine dönüştürülerek Çizelge 2.3'te verilen koşullarda GC-MS analizleri yapıldı. Her bir bileşenin kütle spektrumları alındıktan sonra, bileşenlerin yapıları NIST 2005 kütüphane verileri kullanılarak yapıldı. GC-MS analiz şartları Çizelge 2.3'te verilmektedir.

Çizelge 2.3. Hekzan ekstresi silil türevleri için GC-MS analiz şartları

Kolon	: DB-1 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, 0.25µm)
Taşıyıcı gaz	: He
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250 <sup>0</sup> C
Kolon sıcaklığı	: Fırın sıcaklığı 100 <sup>0</sup> C de 5 dakika bekletildi. 280 <sup>0</sup> C' ye 3 <sup>0</sup> C/dk hızla çıkarıldı ve 280 <sup>0</sup> C'de 15 dakika bekletildi.
Split oranı	: 1:50
İyon kaynağı sıcaklığı	: 150 <sup>0</sup> C
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: 28-450 m/z
Scan aralığı	: 0.01
Enjeksiyon miktarı	: 0.2µl

## 2.7. Aseton ve Metanol Ekstrelerinin Fenolik Bileşen Tayini

Aseton ve metanol ekstrelerinden 8'er mg tartıldı ve 1 ml metanolde çözüldü. 0,45 µL'lik filtreden geçirildikten sonra, HPLC-DAD sisteminde referans maddeler kullanılarak analiz edildi. Çalışmada C18 ters faz kolon (4 µm, 150 mm x 4,0 mm i.d) ve % 0,1' lik CH<sub>3</sub>COOH-Metanol mobil faz sistemindeki gradient programı kullanılarak yapıldı. Dedektör SPD-M20A DAD dedektördür. 254 nm dalga boyunda 20 µL örnek hacmi ile çalışıldı. Hazırlanan bu çözelti 0,20µm filtrelerden geçirilerek Shimadzu 20 AT series High Performance Liquid Chromatograph HPLC-DAD cihazı ile analiz edildi (Barros vd., 2009; Tel-Çayan vd., 2015). HPLC'de aşağıda verilen

koşullarda, fumarik asit, gallik asit, *trans*-akonitik asit, p-benzokinon, pirokatekol, 3,4-dihidroksi benzoik asit (protokateşik asit), 2-fenil etanol, 4-hidroksibenzoik asit, katekin hidrat, metil 1,4-benzokinon, 6,7-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, kafeik asit, vanilin, 2,4-dihidroksi benzoik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, ferrulik asit, kumarin, *trans*-2-hidroksisinnamik asit, rutin hidrat, elajik asit, *trans*-sinnamik asit, naringenin, kersetin, rosmarinik asit, kirisin standartları metanolde çözülerek referans madde olarak hazırlandı. Üzerine çalıştığımız her iki ekstrenin fenolik içerikleri hazırlanan bu standartlarla karşılaştırmak suretiyle belirlendi. HPLC-DAD sistemindeki analiz şartları Çizelge 2.4' te verilmektedir.

**Çizelge 2.4. HPLC-DAD cihazının analiz şartları**

<b>HPLC-DAD Cihaz Parametreleri</b>				
Kolon	C18 kolon (4 µm, 150 mm x 4,0 mm i.d)			
Mobil Faz A	%0,1'lik CH <sub>3</sub> COOH içeren H <sub>2</sub> O			
Mobil Faz B	%0,1'lik CH <sub>3</sub> COOH içeren MeOH			
Kolon Fırın Sıcaklığı	35°C			
Dedektör	SPD-M20A DAD dedektör			
Dedektör Dalga Boyu	254 nm			
Enjeksiyon Hacmi	20 µL			
Analiz süresi	85 dakika			
Gradient Program	Zaman (dak)	Akış (mL/dak)	% Solvent A	% Solvent B
	0,01	0,01	0,01	0,01
	98,00	98,00	98,00	98,00
	2,000	2,000	2,000	2,000
	3,00	3,00	3,00	3,00
	98,00	98,00	98,00	98,00
	2,000	2,000	2,000	2,000
	6,00	6,00	6,00	6,00
	95,00	95,00	95,00	95,00
	5,000	5,000	5,000	5,000
	8,00	8,00	8,00	8,00
	94,00	94,00	94,00	94,00
	6,000	6,000	6,000	6,000

12,0	12,0	12,0	12,0
90,00	90,00	90,00	90,00
10,00	10,00	10,00	10,00
13,0	13,0	13,0	13,0
90,00	90,00	90,00	90,00
10,00	10,00	10,00	10,00

---

Referans madde olarak kullandığımız fenolik bileşiklerin ve organik asitlerin her birinin ayrı ayrı C18 kolonda alıkonma zamanları belirlendi. Daha sonra 16 adet referans maddenin son konsantrasyonları 1 mg/g olacak şekilde karıştırıldı. Referans maddelerin 9 noktalı (0 mg/g, 0,00782 mg/g, 0,01563 mg/g, 0,03125 mg/g, 0,0625 mg/g, 0,125 mg/g, 0,25 mg/g, 0,5 mg/g ve 1 mg/g'lık konsantrasyonlarda) kalibrasyon eğrileri çizildi ve hesaplamalar bu eğri üzerinden yapıldı.

## **2.8. Antioksidan Aktivite Yöntemleri**

*Origanum sipyleum L.*'nin antioksidan aktiviteleri dört ayrı yöntemle belirlendi. Bunlar; DPPH serbest radikal giderimi, ABTS<sup>+</sup> katyonu radikal giderimi,  $\beta$ -Karoten renk açılım ve CUPRAC yöntemleridir.

Tüm aktivite testleri mikrolpaka okuyucuda 96 kuyucuklu mikrolplaklarda gerçekleştirildi. Antioksidan aktivite testleri için ekstreler 4000 ppm konsantrasyonunda olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltilerden seyreltme işlemi yapılarak 4 farklı konsantrasyon (500, 1000, 2000 ve 4000 ppm) hazırlandı ve aktiviteleri test edildi.

### **2.8.1. $\beta$ -Karoten renk açılımı yöntemi**

Üzerine çalıştığımız ekstre ve uçucu yağın toplam antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi ile belirlendi (Miller, 1971; Öztürk vd., 2007). 0,5 mg  $\beta$ -karoten tartıldı ve üzerine 200 ml Tween, 25 ml Linoleik asit ve 1 ml kloroform konuldu. Kloroform tamamen uçarıya kadar döner buharlaştırıcıda çektilirdi. Kloroformun tamamen gittiğinden emin olunduktan sonra üzerine 50 ml oksijene doyurulmuş su konuldu. Aktivite ölçümü yaparken 40  $\mu$ l örnekler alınıp üzerlerine 160  $\mu$ l  $\beta$ -karoten

çözültüsü konuldu. 470 nm’de ilk okuması yapıldı. Daha sonra 45°C’lik etüvde bekletildi. 2 saat boyunca (renk kaybolana kadar) her 30 dk da bir okuması yapıldı.

B-karoten için hesaplamalar aşağıdaki gibidir:

$$\otimes \text{ Renk açılım hızı; } R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t}$$

a: başlangıç absorbansı

b:t dakika inkübasyondan sonraki absorbans

t: 45 °C’deki inkübasyon süresi (dakika)

$$\text{Antioksidan Aktivite; } \beta\text{-Karoten (\%)} = \frac{R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}}{R_{\text{kontrol}}} \times 100$$

### 2.8.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi

Çalışmamıza konu olan ekstre ve uçucu yağın serbest radikal giderim aktivitesi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) kullanılarak belirlendi. 40 µl örneğe hazırlanan 0,4 mM %0,0016’lık DPPH radikalinden 160 µl konuldu ve 30 dk karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm’de absorbansı ölçüldü. Aşağıdaki formülde verildiği üzere hesaplama yapıldı. (Cuendet vd., 1997; Kirby ve Schmidt, 1997).

$$\text{DPPH serbest radikali giderimi (\%)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

A: Absorbans

### 2.8.3. ABTS<sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi yöntemi

Bu çalışmada yapılan diğer radikal giderim yöntemi 2,2-Azino-bis (3-etilbenzothiazollin-6 sülfonik asit) (ABTS<sup>+</sup>) katyonu radikal giderim aktivitesidir. ABTS radikali hazırlamak için 19,2 mg ABTS 5 ml suda çözüldü. Üzerine 3,3 mg K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ilave edildi ve folyo ile sarılıp 1 gün bekletildi. ABTS hazırlandıktan sonra 40 µl örneğe 160 µl ABTS radikalinden konuldu. 10 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra 734 nm’de okuması yapıldı. (Re vd., 1989)

$$\text{ABTS katyon radikali giderim aktivitesi (\%)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

A: Absorbans

#### 2.8.4. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi

Yapılan bir diğer aktivite yöntemi bakır (II) iyonunun indirgeme yöntemidir (Apak vd., 2004). Örneklerden 40'ar µl alındı ve üzerlerine sırasıyla 60µl amonyum asetat tamponu (1M pH 7.0), 50µl neokuprin (7,49 mM) ve 50µl Cu(II)(10 mM) ilave edildi. 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra 450 nm'de absorbansı ölçüldü.

#### 2.9. Antikolinesteraz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi

*Origanum sipyleum L.* bitkisinin ekstrelerinde asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktiveleri araştırıldı (Ellman vd., 1961). Bunun için bu örneklerden konsantrasyonları 1000 ppm olacak şekilde hazırlandı ve seyreltme işlemi yapılarak 4 farklı konsantrasyonda inhibisyon aktivitelerine bakıldı. Enzim olarak asetilkolinesteraz ile bütirilkolinesteraz ve bu enzimlerin substratları olarak da asetilkolin iyodür ile bütirilkolin iyodür kullanıldı. Sarı renkli DTNB (5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic)) aktivite ölçümü için kullanıldı. Pozitif kontrol olarak da Galantamin kullanıldı.

Kontrol olarak ekstrelerin, fraksiyonların ve saf maddelerin çözündüğü çözücüler kullanıldı.

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

A: Absorbans

##### 2.9.1. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

10 µl örneğe sırasıyla 130 µl 0,1M pH 8 tamponu ve 20µl AChE konuldu. 412nm'de ilk okuması yapıldı ve 25<sup>0</sup>C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 20µl DTNB ve 20µl AcI ilave edildi. 412 nm'de 10 dk son okuması yapıldı (Ellman vd., 1961).

### **2.9.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi**

10µl örneğe sırasıyla 130µl 0,1M pH= 8 tamponu ve 20µl BChE konuldu. 412nm'de ilk okuması yapıldı ve 25<sup>0</sup>C'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 20µl DTNB ve 20µl BuI ilave edildi. 412 nm'de 10 dk son okuması yapıldı (Ellman vd., 1961).

### **2.10. Üreaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi**

Ektreler ve uçucu yağ, önce üreaz enzimi ile etkileştirildi ve ardından substrat olarak üre ilave edildi. Reaksiyon sonunda oluşan amonyağın absorbansı ilk okumada ölçüldü. 15 dk inkübasyona bırakıldı. Oluşan amonyağın üzerine fenol ve sodyum nitro purissit içeren fenol reaktifi ile sodyum hidroksit ve sodyum hipokloröz içeren alkali reaktifi eklendi. 20 dk boyunca kinetik olarak absorbansı ölçüldü (Khan vd., 2004)

### **2.11. Tirozinaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi**

Tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi L-DOPA substratı ve dopakrom metodu ile belirlendi (Masuda vd., 2005). 40 µl örneklerin üzerine 120 µl pH= 6.8 fosfat tamponu 20µl L-DOPA çözeltisi ilave edildikten sonra 37<sup>0</sup>C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı. 475 nm'de absorbansı ölçüldü.

### 3. BULGULAR VE İRDELEME

#### 3.1. Ekstre ve Uçucu Yağ Verimleri

*Origanum sipyleum L.* bitkisinden elde edilen ekstrelerin ve uçucu yağın verimleri Çizelge 3.1’de verilmektedir. Çizelgede de görüldüğü üzere bitki uçucu yağ bakımından verimi (%2,85) yüksektir. Çözücülerle yapılan ekstraksiyonlarda metanol ile en yüksek verimle ekstre hazırlanırken diklormetana geçen madde miktarı ise en düşük düzeydedir.

Çizelge 3.1. *O sipyleum*'un ekstrelerinin ve uçucu yağın verimleri

Bitki Türü	Ekstre Türü	Verim (%)
<i>Origanum sipyleum</i>	Hekzan	1,22
	Diklorometan	0,63
	Aseton	1,36
	Metanol	10,36
	Su	1,52
	Uçucu Yağ	2,85

#### 3.2. Ekstrelerin ve Uçucu Yağın Antioksidan Aktivite Sonuçları

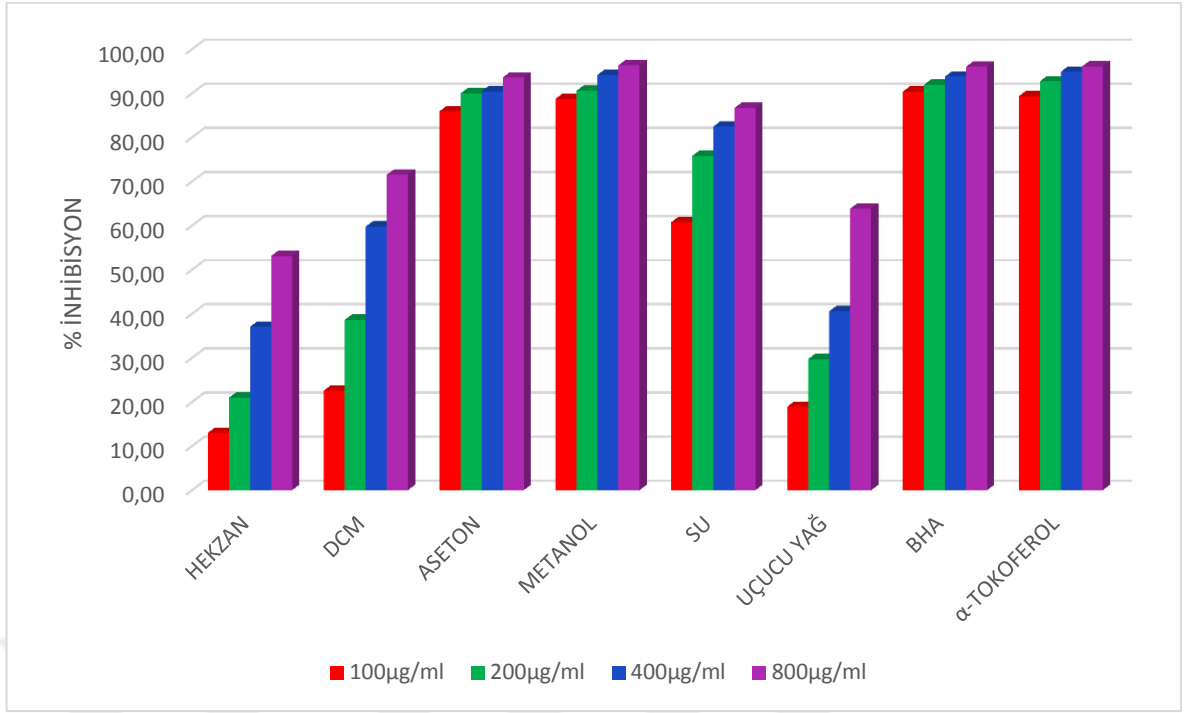
##### 3.2.1. $\beta$ -Karoten renk açılımı yöntemi sonuçları

*Origanum sipyleum L.*'nin ekstrelerinde ve uçucu yağında yapılan  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları Çizelge 3.2 ve Şekil 3.1’de verilmektedir. Dört farklı konsantrasyonda (100, 200, 400 ve 800  $\mu\text{g/ml}$ ) örneklerin aktiviteleri test edildi. Tüm örneklerde konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitelerinin de arttığı görülmektedir (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.1). Metanol ve aseton ekstresinin diğerlerinden daha yüksek aktivite gösterdiği Çizelge 3.2’de görülmektedir. 100  $\mu\text{g}$  Konsantrasyonda metanol ekstresi, üzerine çalıştığımız tüm örneklere göre en yüksek aktivite (%88,71) gösterirken, hekzan ekstresi ise aynı konsantrasyonda en düşük aktiviteye (%12,99)

sahiptir. Özellikle, 200 µg konsantrasyondaki metanol (%90,57) ekstresinin 100 µg konsantrasyondaki standartlarla karşılaştırıldığında; BHA ile (%90,39) yarışırken, α-tokoferolden daha yüksek (%89,32) inhibisyon gösterdiği görülmektedir.

**Çizelge 3.2. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların β-karoten renk açılımı yöntemi sonuçları**

		(% İnhibisyon)			
Ekstreler		100µg	200µg	400µg	800µg
	<b>Hekzan</b>	12,99±0,15	20,96±1,76	37,04±0,97	53,09±1,22
	<b>Kloroform</b>	22,57±1,00	38,62±0,33	59,78±1,01	71,54±0,84
<i>Origanum sipyleum</i>	<b>Aseton</b>	85,91±0,54	89,98±0,05	90,45±1,01	93,56±0,23
	<b>Metanol</b>	88,71±0,96	90,57±0,33	94,18±0,54	96,37±0,47
	<b>Su</b>	60,76±1,02	75,80±0,88	82,45±0,29	86,65±0,18
	<b>Uçucu Yağ</b>	18,90±0,50	29,71±1,15	40,56±1,80	63,85±1,54
<b>Standartlar</b>	<b>BHA</b>	90,39±0,37	91,91±0,38	93,79±1,16	96,01±1,18
	<b>α-Tokoferol</b>	89,32±0,54	92,70±0,69	94,88±0,55	96,04±0,58



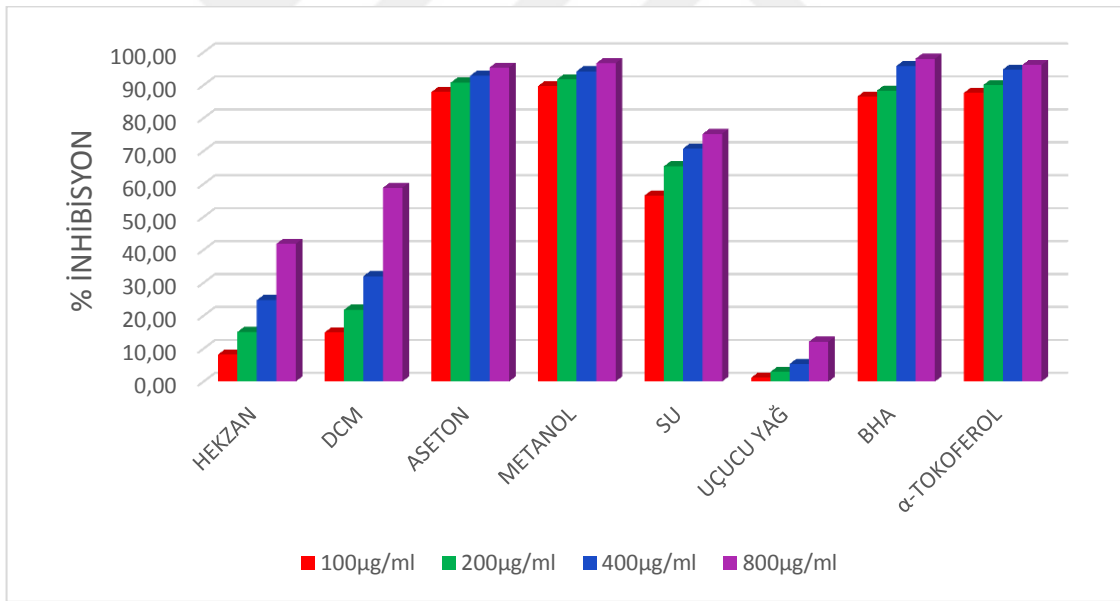
Şekil 3.1. *O. sipyleum*'un ekstralarının, uçucu yağının ve standartların  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi sonuçları

### 3.2.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları

*Origanum sipyleum L.*'nin ekstraları ve uçucu yağının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları Çizelge 3.3 ve Şekil 3.2'de verilmektedir. Dört farklı konsantrasyonda yapılan testlerde hem *Origanum sipyleum*'den elde edilen örneklerin hem de referans maddelerin konsantrasyon artışına bağlı olarak serbest radikal giderim aktivitesinin de arttığı hesaplandı. Çizelge 3.3'te verilen sonuçlara göre, 100  $\mu$ g konsantrasyonda, metanol ekstresinin (%89,74) diğer tüm örnekler ve referans maddelerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Özellikle, 100  $\mu$ g konsantrasyondaki hem metanol (%89,74) hem de aseton ekstresinin (%87,91)  $\alpha$ -tokoferol ve BHA'dan daha yüksek aktivite göstermesi heyecan verici düzeydedir. Bu iki ekstrenin radikal gideriminin 100  $\mu$ g konsantrasyondaki standartlarla karşılaştırıldığında; BHA ile (%86,58) yarışırken,  $\alpha$ -tokoferol'den daha yüksek (%87,70) inhibisyon göstermektedir. Uçucu yağın serbest radikal giderim aktivitesi (%1,15) oldukça düşüktür.

Çizelge 3.3. *O. sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

		(% İnhibisyon)			
Ekstreler		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Origanum sipyleum</i>	Hekzan	8,25±0,28	15,10±0,51	24,76±0,57	41,81±0,45
	Diklorometan	14,95±0,61	21,82±0,80	32,03±0,77	58,85±0,81
	Aseton	87,91±0,33	90,78±0,18	92,85±0,48	95,36±0,71
	Metanol	89,74±1,01	91,85±0,44	94,25±0,23	96,65±0,33
	Su	56,53±1,80	65,38±1,23	70,82±1,36	75,23±0,84
	Uçucu Yağ	1,15±0,08	2,94±0,31	5,41±0,90	12,17±1,01
Standartlar	BHA	86,58±0,02	88,36±0,29	95,79±0,15	98,05±0,08
	α-Tokoferol	87,70±0,12	90,07±0,52	94,74±0,15	96,12±0,42



Şekil 3.2. *O. sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

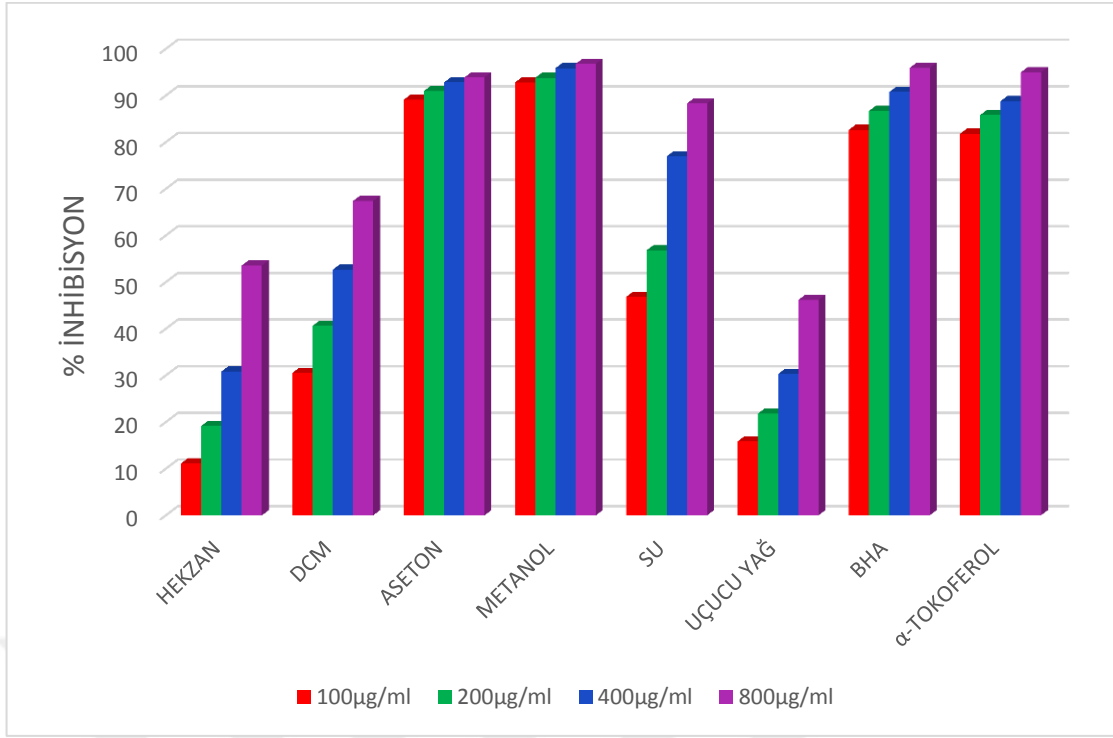
### 3.2.3. ABTS<sup>+</sup> katyonu radikal giderim aktivitesi sonuçları

*Origanum sipyleum* L.'nin uçucu yağ ve ekstrelerinin ABTS<sup>+</sup> katyonu giderim aktivitesi test sonuçları Çizelge 3.4 ve Şekil 3.3'te verilmektedir. Bu sonuçlara göre;

tüm ekstrelerde ve uçucu yağda konsantrasyona bağlı olarak inhibisyonun arttığı görülmektedir. Çizelge 3.4'te verilen sonuçlara göre, 100 µg konsantrasyonda, metanol ekstresi %92,78 inhibisyonla en yüksek aktiviteye sahipken %89,08 inhiibisyonla aseton ekstresi ikinci düzeyde aktivite göstermektedir. Aynı konsantrasyonda, satandart antioksidant olan BHA %82,63 ve  $\alpha$ -tokoferol %81,81 oranında inhibisyon gösterdiği belirlendi. Bu durum metanol ve aseton ekstresinin standartlardan daha yüksek ABTS<sup>+</sup> katyonu giderim aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.4 ve Şekil 3.3).

**Çizelge 3.4. *O. sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların ABTS<sup>+</sup> katyonu radikali giderim aktivitesi**

		(% İnhibisyon)			
Ekstreler/Fraksiyonlar		100µg	200µg	400µg	800µg
	<b>Hekzan</b>	11,14±0,19	19,17±0,78	30,85±0,33	53,56±0,90
	<b>Diklorometan</b>	30,53±0,99	40,62±1,29	52,67±1,65	67,40±1,05
<b><i>Origanum sipyleum</i></b>	<b>Aseton</b>	89,08±0,12	90,95±0,36	92,81±0,33	93,85±0,25
	<b>Metanol</b>	92,78±0,36	93,78±0,15	95,85±0,05	96,78±0,36
	<b>Su</b>	46,84±0,65	56,79±1,08	76,95±0,99	88,28±1,67
	<b>Uçucu Yağ</b>	15,83±1,61	21,79±0,73	30,28±0,53	46,15±1,04
<b>Standartlar</b>	<b>BHA</b>	82,63±0,02	86,7±0,10	90,75±0,05	95,89±0,10
	<b><math>\alpha</math>-Tokoferol</b>	81,81±0,16	85,83±0,12	88,79±0,06	94,96±0,53



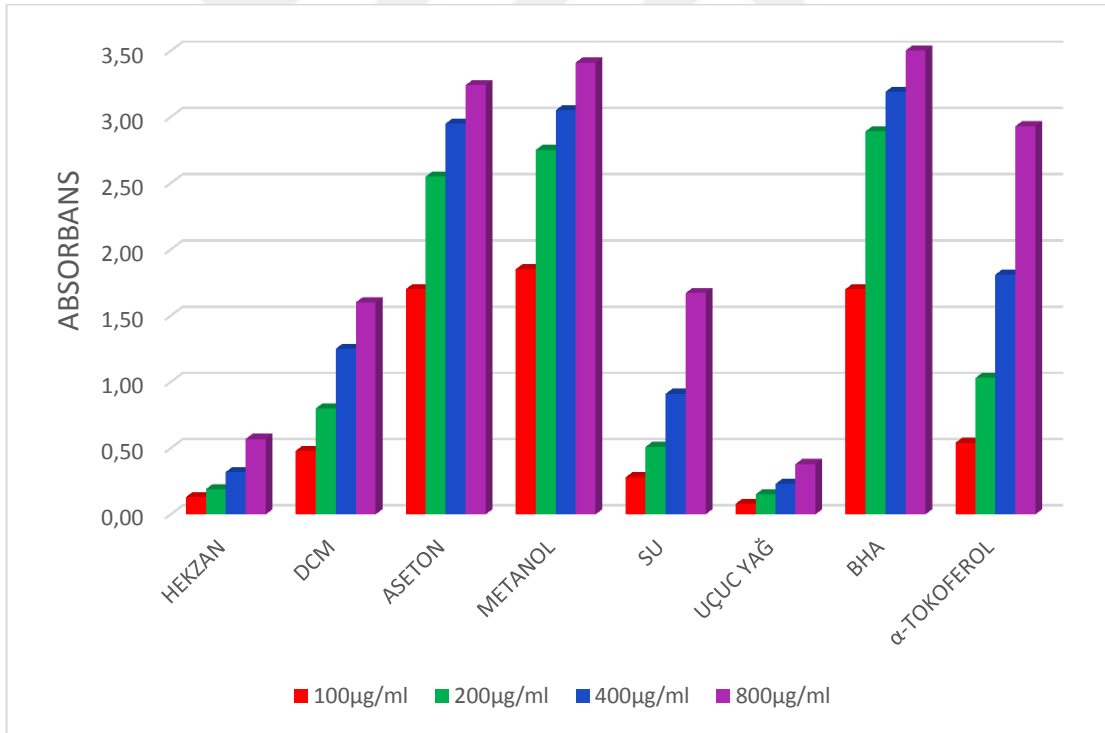
Şekil 3.3. *O. sipyleum*'un ekstralarının, uçucu yağının ve standartların ABTS<sup>+</sup> katyonu radikali giderim aktivitesi

### 3.2.4. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi

*Origanum sipyleum L.*'nin CUPRAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktive sonuçları Çizelge 3.5 ve Şekil 3.4'ye verilmektedir. Diğer testlerde de olduğu gibi, üzerine çalıştığımız örneklerin konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak aktivitelerinin de arttığı hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre; 100 µg konsantrasyonda, metanol ekstresi %1,85 absorbans ile en yüksek aktiviteye sahipken, %1,70 absorbansla aseton ekstresi ikinci düzeyde aktivite göstermektedir. Aynı konsantrasyonda, standart antioksidant olan BHA %1,70 absorbans ile aseton ekstresiyle yarışmaktadır. Bir başka referans maddesi olan α-tokoferol aynı konsantrasyonda %0,54 absorbans göstermekte olup, bu değerler karşılaştırıldığında metanol ekstresi BHA'dan daha fazla indirgeme gücüne sahip olduğu, α-tokoferol'den ise 3 kat daha fazla aktiviteye sahip olduğu hesaplandı.

Çizelge 3.5. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların CUPRAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite sonuçları

		(% Absorbans)			
Ekstreler		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Origanum sipyleum</i>	Hekzan	0,13±0,01	0,19±0,04	0,32±0,01	0,57±0,02
	Diklorometan	0,48±0,02	0,80±0,05	1,25±0,02	1,60±0,03
	Aseton	1,70±0,05	2,55±0,07	2,95±0,03	3,24±0,01
	Metanol	1,85±0,01	2,75±0,01	3,05±0,05	3,41±0,03
	Su	0,28±0,01	0,51±0,02	0,91±0,05	1,67±0,03
	Uçucu Yağ	0,08±0,01	0,15±0,01	0,23±0,04	0,38±0,05
Standartlar	BHA	1,70±0,02	2,89±0,10	3,19±0,05	3,50±0,10
	α-Tokoferol	0,54±0,16	1,03±0,12	1,81±0,06	2,93±0,53



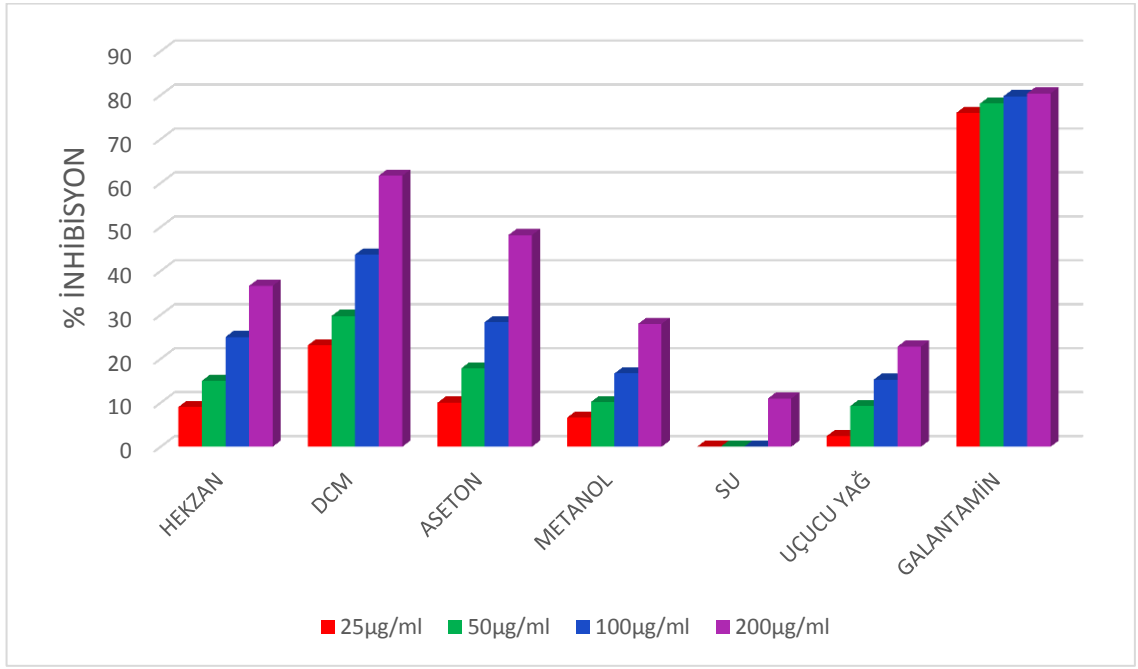
Şekil 3.4. *O. sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların CUPRAC yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite sonuçları

### 3.3. Ekstrelerin ve Uçucu Yağın Antikolinesteraz Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları

*Origanum sipyleum L.*'nin çeşitli ekstreleri ve uçucu yağının antikolinesteraz aktivitesi Ellman yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitelerini test etmek suretiyle üzerine çalıştığımız örneklerin antikolinesteraz aktiviteleri ayrı ayrı belirlendi. Asetilkolinesteraz aktivite sonuçları Çizelge 3.6 ve Şekil 3.5'te, bütirikolinesteraz aktivite sonuçları ise Çizelge 3.7 ve Şekil 3.6'da verilmektedir. Dört farklı konsantrasyonda (250, 500, 1000 ve 2000 ppm) yapılan testlerde tüm örneklerde, konsantrasyon artışına paralel olarak enzim inhibisyonları da artmaktadır. Galantaminin referans maddesi olarak kullanıldığı testlerde tüm örneklerin 4 farklı konsantrasyonda referans maddesine göre inhibisyonları karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, *O. sipyleum*'un diklorometan ekstresi diğer örneklerden daha fazla inhibisyon göstermektedir. Diklorometan ekstresi 200 µg/ml konsantrasyonda asetilkolinesteraz enzimini orta düzeyde (%61,67) inhibe etmektedir.

Çizelge 3.6. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları

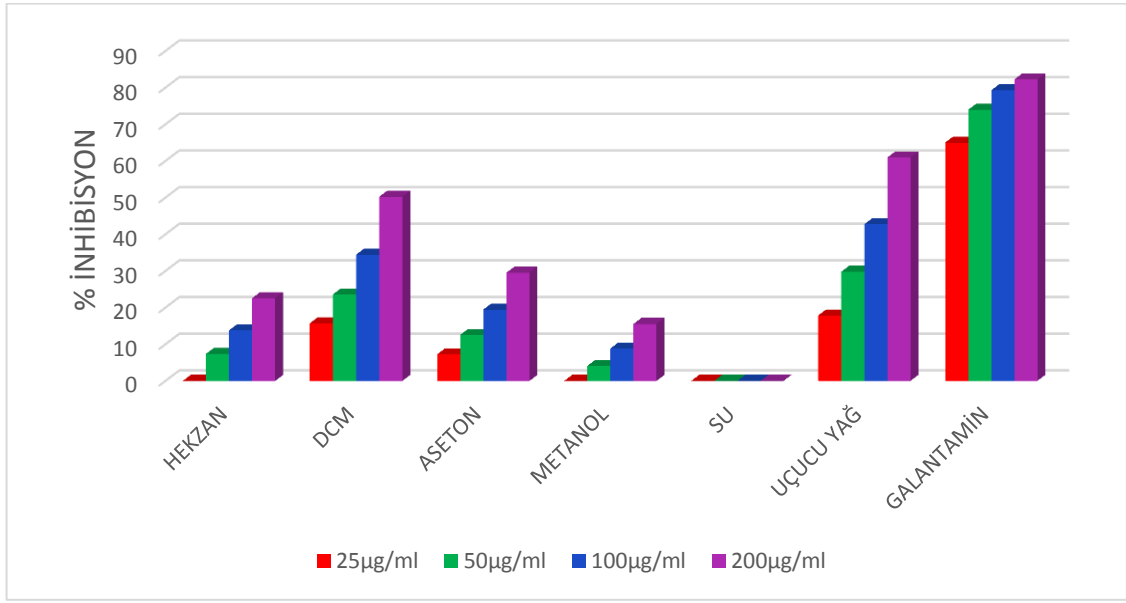
		(% İnhibisyon)			
Ekstreler		25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml
	<b>Hekzan</b>	9,04±1,01	15,01±0,47	24,97±0,79	36,61±0,63
	<b>Diklorometan</b>	23,12±0,61	29,76±0,55	43,74±1,45	61,67±1,02
<i>Origanum sipyleum</i>	<b>Aseton</b>	10,05±0,30	17,84±0,12	28,38±0,91	48,17±1,18
	<b>Metanol</b>	6,67±0,32	10,18±0,41	16,68±0,47	27,96±0,31
	<b>Su</b>	-	-	-	10,95±0,05
	<b>Uçucu Yağ</b>	2,41±0,82	9,26±1,15	15,28±1,34	22,78±1,79
<b>Standart</b>	<b>Galantamin</b>	75,99±0,05	78,08±0,47	78,76±0,08	80,41±0,05



Şekil 3.5. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları

Çizelge 3.7. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları

		(% İnhibisyon)			
Ekstreler		25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml
	<b>Hekzan</b>	-	7,36±0,40	13,79±0,28	22,57±0,18
	<b>Diklorometan</b>	15,74±0,33	23,62±0,80	34,45±1,03	50,25±0,75
<i>Origanum sipyleum</i>	<b>Aseton</b>	7,23±0,14	12,54±0,72	19,45±0,78	29,51±0,95
	<b>Metanol</b>	-	4,08±0,25	8,85±0,36	15,54±0,71
	<b>Su</b>	-	-	-	-
	<b>Uçucu Yağ</b>	17,84±1,08	29,77±1,75	42,73±1,05	60,95±1,39
<b>Standart</b>	<b>Galantamin</b>	64,99±0,05	73,96±0,08	79,27±0,17	82,23±0,15



**Şekil 3.6. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları**

*Origanum sipyleum*'un ekstreleri ve uçucu yağının bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemi ile belirlendi. Çizelge 3.7 ve Şekil 3.6'da verilen sonuçlara göre, üzerine çalıştığımız örneklerin bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (250, 500, 1000 ve 2000 ppm) referans maddesi (galantamin) ile karşılaştırmak suretiyle test edildi. Örneklerin konsantrasyon artışlarına paralel olarak enzim inhibisyonları da artmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, *O. sipyleum*'un uçucu yağı diğer ekstrelerden çok daha yüksek bütirikolinesteraz enzim inhibisyonu (%60,95) gösterirken diklorometan ekstresi ikinci düzeyde (%50,25) aktivite göstermektedir. 200 µg/ml Konsantrasyonda uçucu yağın gösterdiği aktivite (%60,95), referans maddesi olarak kullanılan galantaminin 25 µg/ml konsantrasyonunda gösterdiği (%64,99) aktiviteye yakındır.

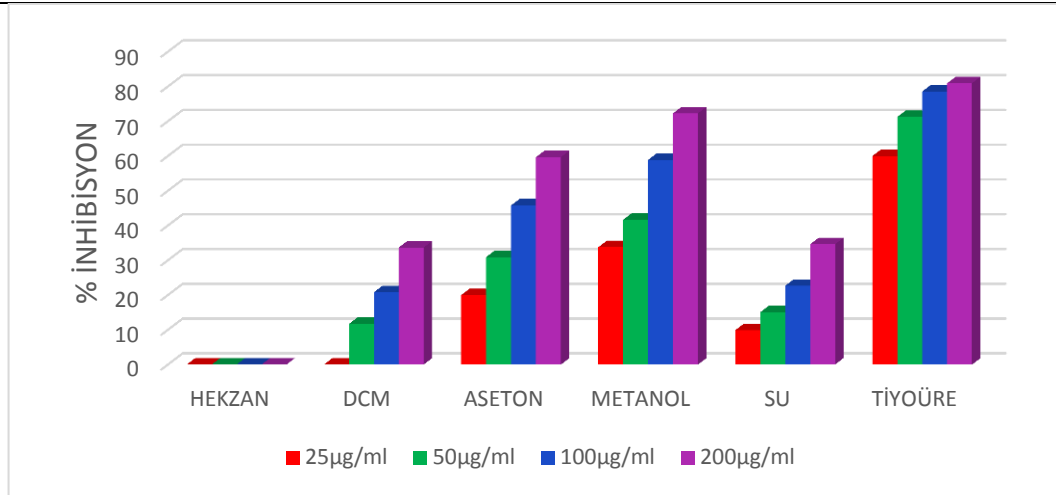
### 3.4. Ekstrelerin Üreaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları

*Origanum sipyleum L.* ekstrelerin üreaz enzim inhibisyon aktiviteleri sonuçları Çizelge 3.8 ve Şekil 3.7'de verilmektedir. Yapılan testlerde elde edilen sonuçlara göre, metanol ekstresi üreaz enzimi inhibisyonu bakımından en yüksek aktivite gösterirken, hekzan ekstresi hiçbir konsantrasyonunda aktivite göstermemektedir. Metanol ekstresi 200 µg/ml konsantrasyonda %72,29 oranında inhibisyon gösterirken, bu aktivite

sonucuyla, 50 µg/ml konsantrasyondaki referans maddesinin (tiyöüre) gösterdiği aktiviteyle (%71,26) yarışmaktadır.

**Çizelge 3.8. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları**

		(% İnhibisyon)			
Ekstreler		25µg	50µg	100µg	200µg
	<b>Hekzan</b>	-	-	-	-
	<b>Diklorometan</b>	-	11,68±0,15	20,78±1,04	33,69±0,19
<b><i>Origanum sipyleum</i></b>	<b>Aseton</b>	19,98±0,13	30,91±0,19	45,78±0,16	59,67±0,99
	<b>Metanol</b>	33,78±1,50	41,69±1,20	58,91±0,33	72,29±0,17
	<b>Su</b>	991±0,17	15,07±0,91	22,67±1,03	34,61±0,90
<b>Standart</b>	<b>Tiyöüre</b>	60,01±0,04	71,26±0,03	78,57±0,08	80,93±0,04



**Şekil 3.7. *O.sipyleum*'un ekstrelerinin, uçucu yağının ve standartların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları**

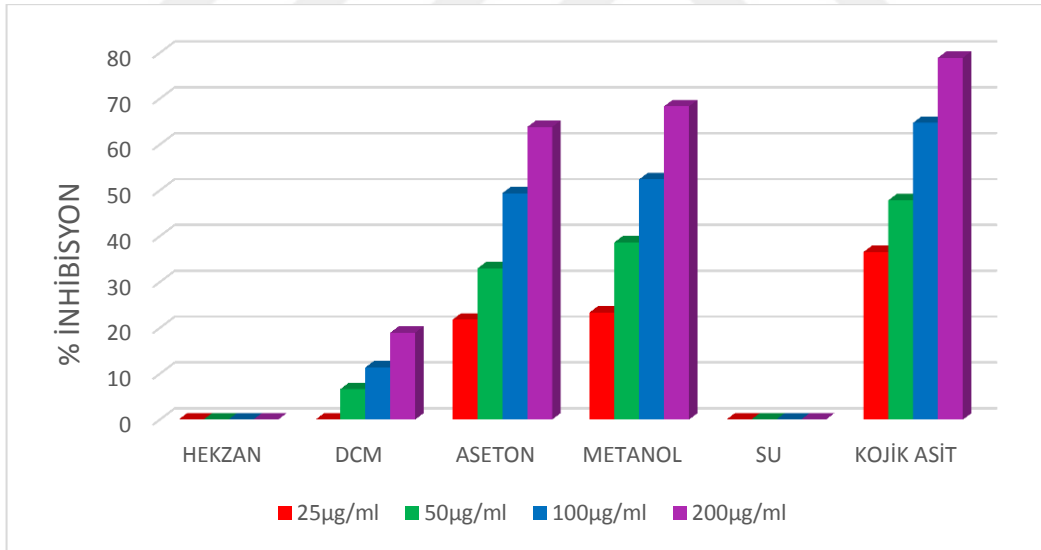
### 3.5. Ekstrelerin Tirozinaz Enzim İnhibisyon Aktivitesi Sonuçları

*Origanum sipyleum*'un ekstrelerinin tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi Çizelge 3.9. ve Şekil 3.8.'de verilmektedir. Dört farklı konsantrasyonda (1000, 2000, 4000 ve 8000 ppm) yapılan testlerde hekzan ve su ekstreleri hiçbir konsantrasyonda aktivite

göstermemesine karşın, metanol ekstresinin ise (%68,32) en yüksek tirozinaz enzim inhibisyonu göstermektedir.

Çizelge 3.9. *O.sipyleum*'un ekstralarının ve standartların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları

		(% inhibisyon)			
Ekstreler		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Origanum sipyleum</i>	Hekzan	-	-	-	-
	Diklormetan	-	6,65±0,11	11,36±0,38	18,95±1,30
	Aseton	21,78±0,94	32,95±1,28	49,36±0,33	63,79±1,41
	Metanol	23,34±0,61	38,65±0,75	52,40±1,24	68,32±0,96
	Su	-	-	-	-
Standart	Kojik Asit	36,52±0,04	47,81±0,07	64,73±0,05	78,93±0,01



Şekil 3.8. *O.sipyleum*'un ekstralarının ve standartların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları

### 3.6. Uçucu Yağın ve Hekzan Ekstresinin Gaz Kromatografisi – Kütle Spektroskopisi Sonuçları

Kesim 2.5 ve 2.6’da belirtilen koşullarda gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC/MS) sistemleriyle çalışmalarla *O. sipyleum* uçucu yağı ve apolar bileşenleri taşıyan hekzan ekstresinin kimyasal bileşimleri analiz edildi. Uçucu yağın bileşenleri Çizelge 3.10, hekzan ekstresinin ise Çizelge 3.11’de verilmektedir. GC ve GC/MS sisteminde yapılan analizlerde, *O. sipyleum* uçucu yağında tespit edilen 26 bileşen ve hekzan ekstresinde tespit edilen 13 bileşenin tamamı kütle analizleri, alıkonma indeks değerleri ve referans maddelerle karşılaştırmak suretiyle yapıları aydınlatıldı. Buna göre, *O. sipyleum* uçucu yağında  $\beta$ -karyofilen (%22,15),  $\gamma$ -terpinen (%18,15),  $\beta$ -kubeben (%17,02) ve  $p$ -simen (%4,86) majör bileşenler olarak belirlendi. Majör bileşenlere ait kütle spektrumları Şekil 3.13, Şekil 3.14, Şekil 3.27 ve Şekil 3.30’da verilmektedir. Apolar bileşenleri taşıyan hekzan ekstresinde ise palmitik asit (%48,20), heptakosanol (%9,10), *cis*-oleik asit (%8,90) ve sinamik asit (%8,65) majör bileşenler olarak tespit belirlendi. Bu bileşenlere ait kütle spektrumları Şekil 3.40, Şekil 3.44, Şekil 3.48 ve Şekil 3.46’da verilmektedir. Elde edilen sonuçlar literatürlerle uyum içindedir (Erbaşa ve Fakir, 2012; Bernath, 1996; Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd. 1998).

Çizelge 3.10. *Origanum sipyleum* uçucu yağının kimyasal bileşenleri ve oranları

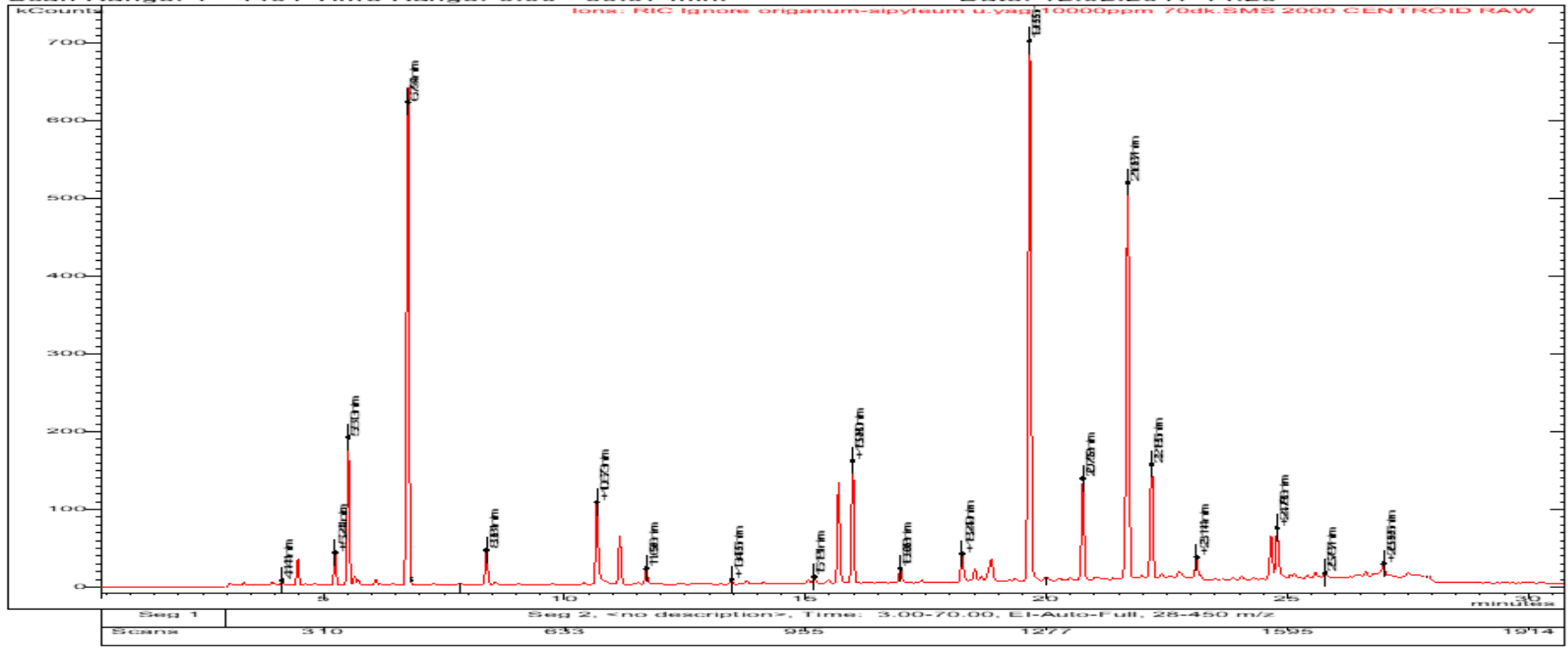
Bileşen No	Bileşenin Adı	RI	<i>O. sipyleum</i> uçucu yağ %
1	$\beta$ -Pinen	985	0,83
2	Terpineolen	1032	1,14
3	<b><i>p</i>-Simen</b>	<b>1047</b>	<b>4,86</b>
4	<b><math>\gamma</math>-Terpinen</b>	<b>1069</b>	<b>18,15</b>
5	<i>cis</i> - $\beta$ -Terpineol	1138	1,29
6	İzoborneol	1152	3,29
7	Terpinen-4-ol	1182	2,86
8	$\alpha$ -Terpineol	1184	0,62

9	<i>p</i> -Kumik aldehit	1227	0,19
10	Timol metil eter	1241	0,14
11	Karvakrol	1278	3,77
12	Timol	1283	4,30
13	$\delta$ -Elemenen	1436	0,60
14	$\alpha$ -Kopaen	1450	1,27
15	$\beta$ -Bourbonen	1455	0,62
16	$\alpha$ -Selinen	1465	1,47
<b>17</b>	<b><math>\beta</math>-Karyofilen</b>	<b>1490</b>	<b>22,15</b>
18	Germakren D	1498	0,35
19	$\alpha$ -Karyofilen	1510	4,03
<b>20</b>	<b><math>\beta</math>-Kubeben</b>	<b>1525</b>	<b>17,02</b>
21	tau-Gurjunen	1536	4,81
22	$\delta$ -Kadinen	1547	0,90
23	Spathulenol	1570	1,78
24	Karyofilen oksit	1581	2,20
25	<i>tau</i> -Kadinol	1622	0,29
26	<i>tau</i> -Muurolol	1635	1,07
<b>Monoterpen Hidrokarbonlar (MTHK) (%)</b>			<b>24,98</b>
<b>Monoterpenoidler (%)</b>			<b>16,46</b>
<b>Seskiterpen Hidrokarbonlar (STHK) (%)</b>			<b>53,22</b>
<b>Seskiterpenoidler (%)</b>			<b>5,34</b>
<b>TOPLAM</b>			<b>100,00</b>

### Chromatogram Plot

File: f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms  
Sample: Manual Sample  
Scan Range: 1 - 4491 Time Range: 0.00 - 69.97 min.

Operator: emin duru  
Date: 12.02.2017 14:29

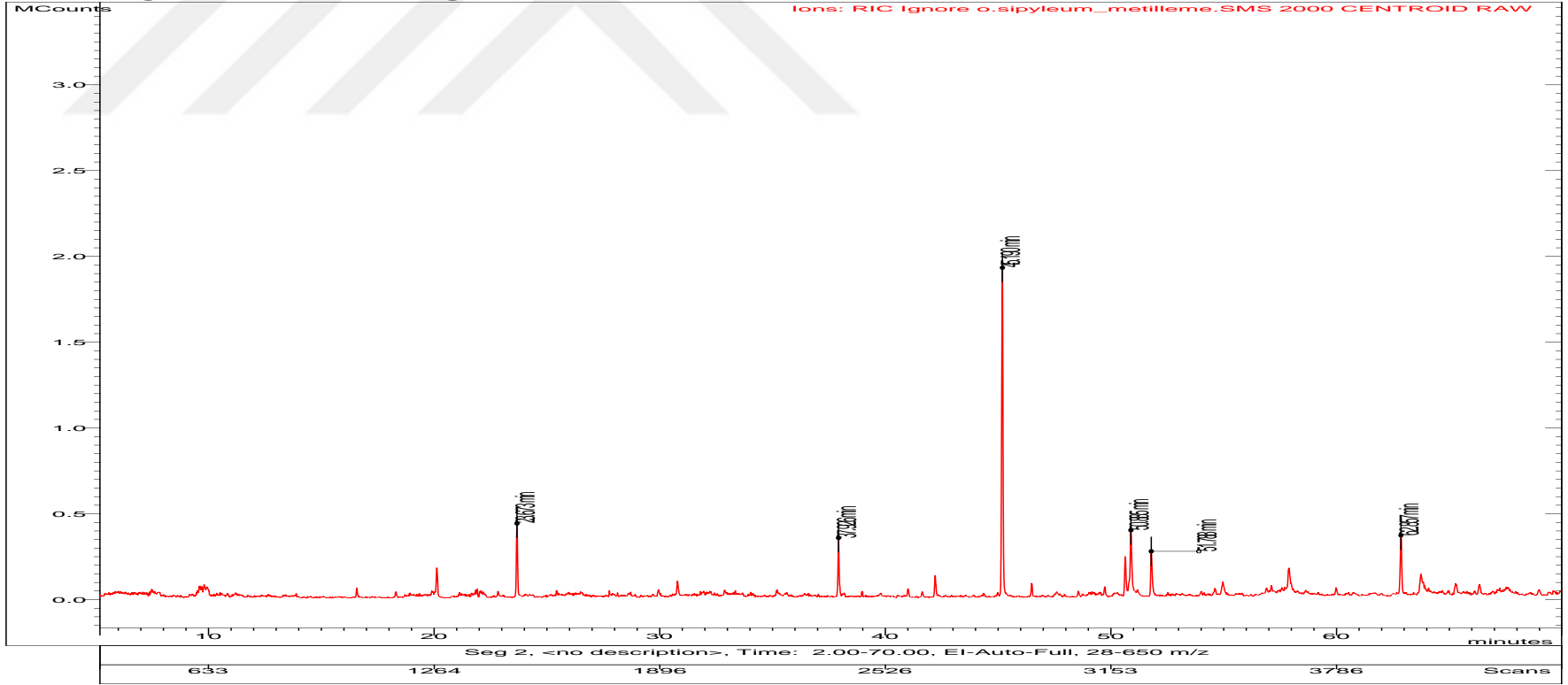


Şekil 3.9. *Origanum sipyleum* uçucu yağının GC/MS spektrumu

### Chromatogram Plot

File: c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms  
Sample: Manual Sample  
Scan Range: 1 - 4420 Time Range: 0.00 - 69.98 min.

Operator: emin duru  
Date: 9.01.2019 22:53



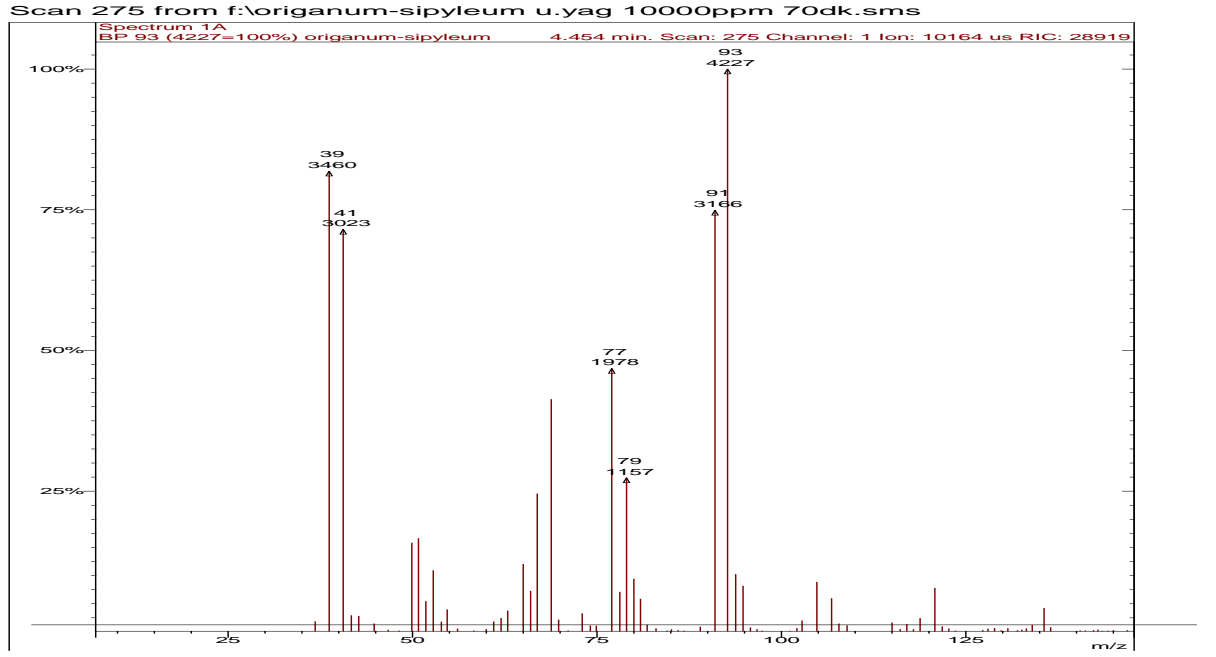
Şekil 3.10. *Origanum sipyleum* türevlendirilmiş hekzan ekstresinin GC/MS spektrumu

Çizelge 3.11. *Origanum sipyleum* hekzan eksresinin kimyasal bileşenleri ve oranları

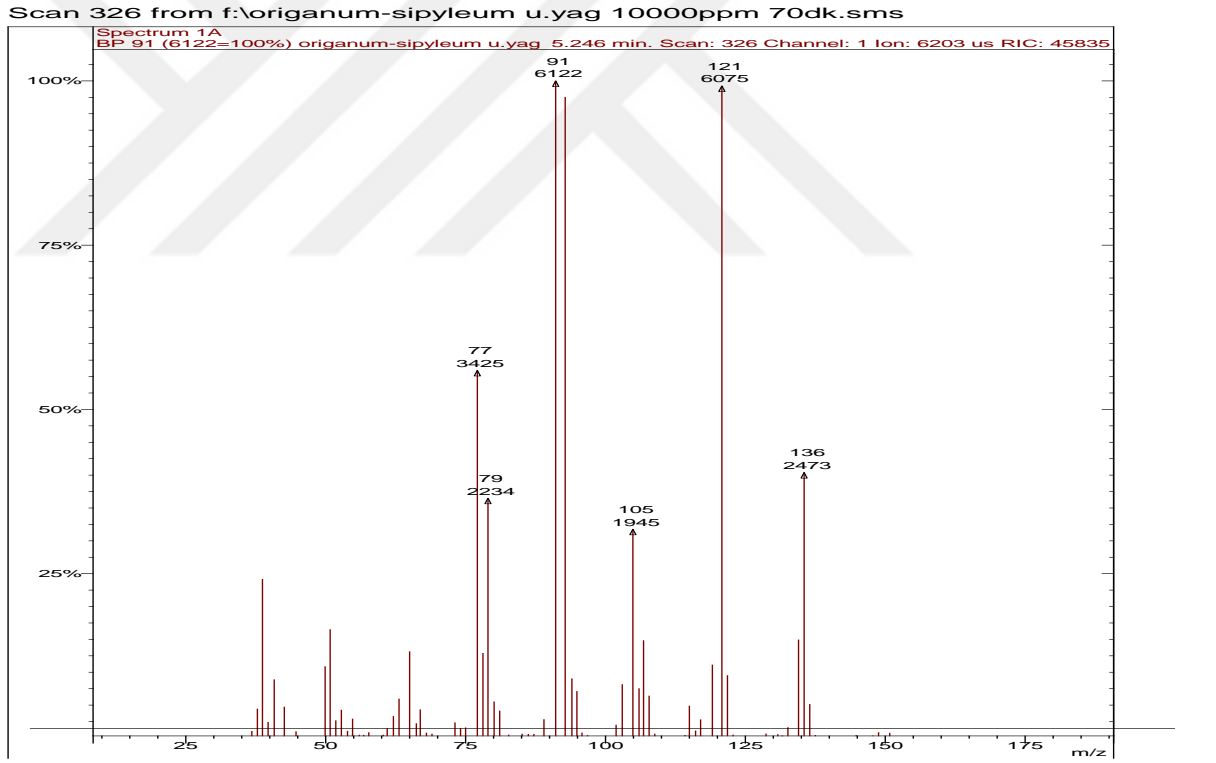
Retention İndeksi (RI)	Bileşik Adı	Oranı (%)	Teşhis Yöntemi
1205	3-fenil propanol	0,89	Co-GC, MS
1230	Estragol	0,80	Co-GC, MS
1243	Sinnamil alkol	2,69	Co-GC, MS
<b>1325</b>	<b>Sinnamik asit metil esteri</b>	<b>8,65</b>	MS
1455	Azaleik asit dimetil esteri	1,24	MS
<b>1890</b>	<b>Miristik asit metil esteri</b>	<b>7,77</b>	Co-GC, MS
<b>1895</b>	<b>Palmitik asit metil esteri</b>	<b>48,20</b>	Co-GC, MS
2140	9,15-Oktadekadienoik asit metil esteri	0,70	MS
2150	Linolelaidik asit metil esteri	3,68	Co-GC, MS
<b>2158</b>	<b>cis-Oleik asit metil esteri</b>	<b>8,90</b>	Co-GC, MS
<b>2195</b>	<b>Stearik asit metil esteri</b>	<b>7,04</b>	Co-GC, MS
2290	Araşidik asit metil esteri	0,34	Co-GC, MS
<b>2952</b>	<b>Heptakosanol</b>	<b>9,10</b>	MS
<b>TOPLAM</b>		<b>100,00</b>	

### 3.7. *Origanum sipyleum* Uçucu Yağı ve Hekzan Ekstresinin Bileşenlerinin Kütle Spektrumları

Çizelge 2.2 ve 2.3’de belirtilen GC-MS analiz şartlarıyla elde edilen *Origanum sipyleum*’un uçucu yağı ve hekzan ekstresinin bileşenlerinin kütle spektrumları Şekil 3.11’den 3.48’e kadar verilmektedir.

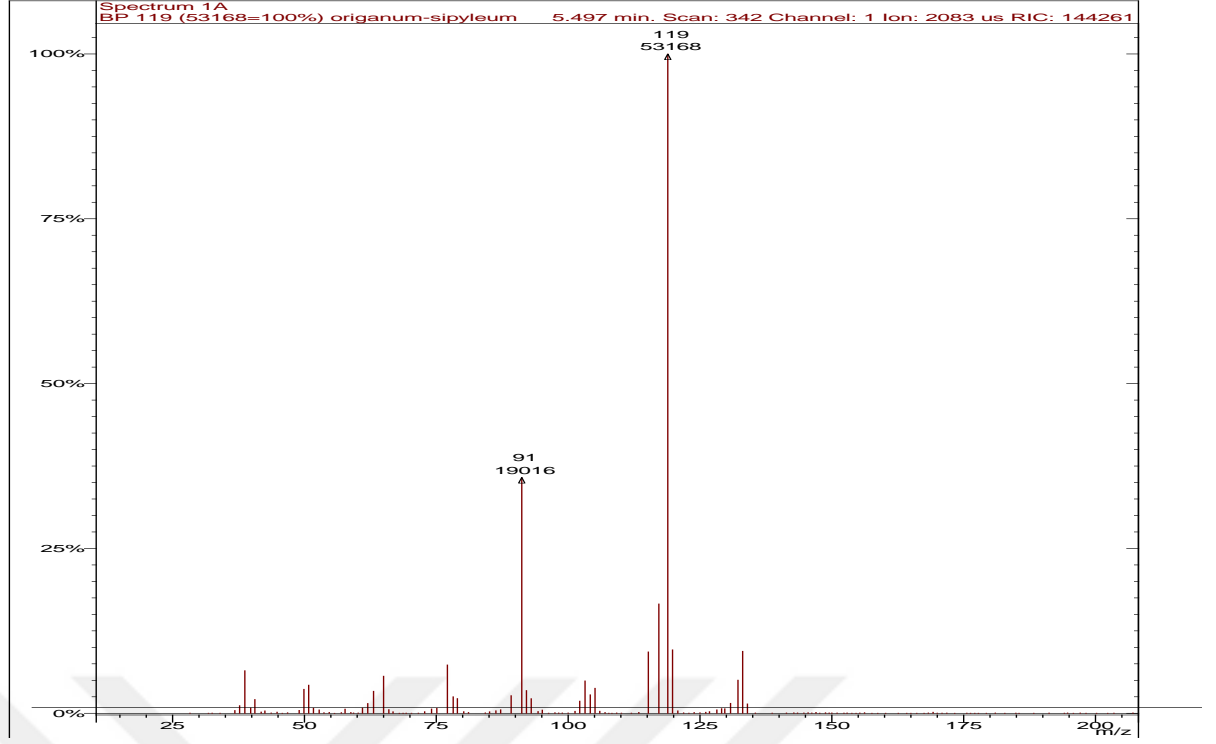


Şekil 3.11.  $\beta$ -Pinen'in kütle spektrumu (m/z)



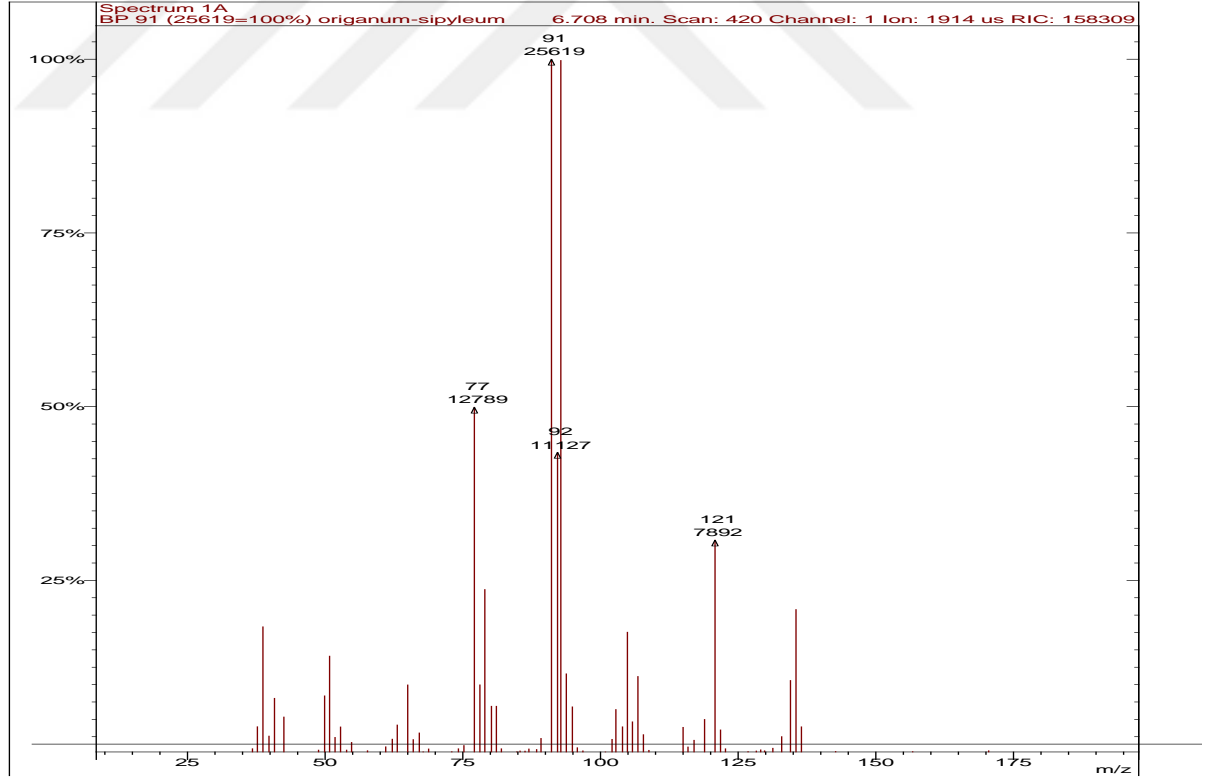
Şekil 3.12. Terpineolen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 342 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



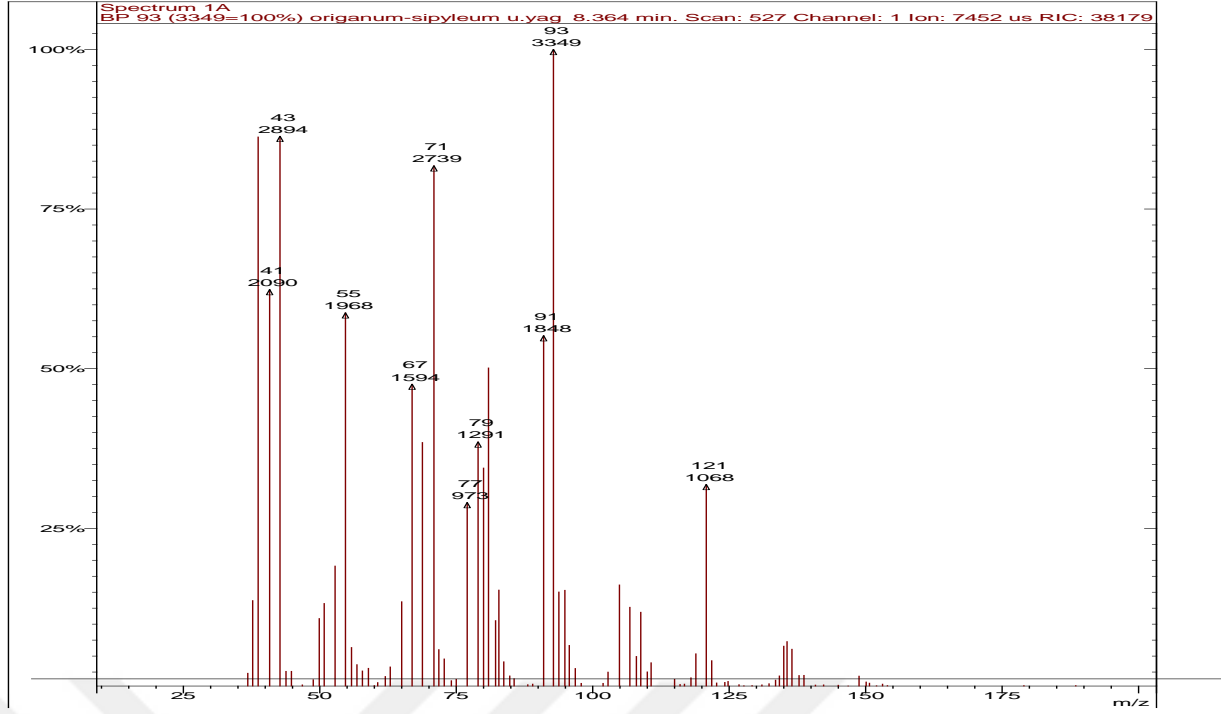
Şekil 3.13. *p*-Simen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 420 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



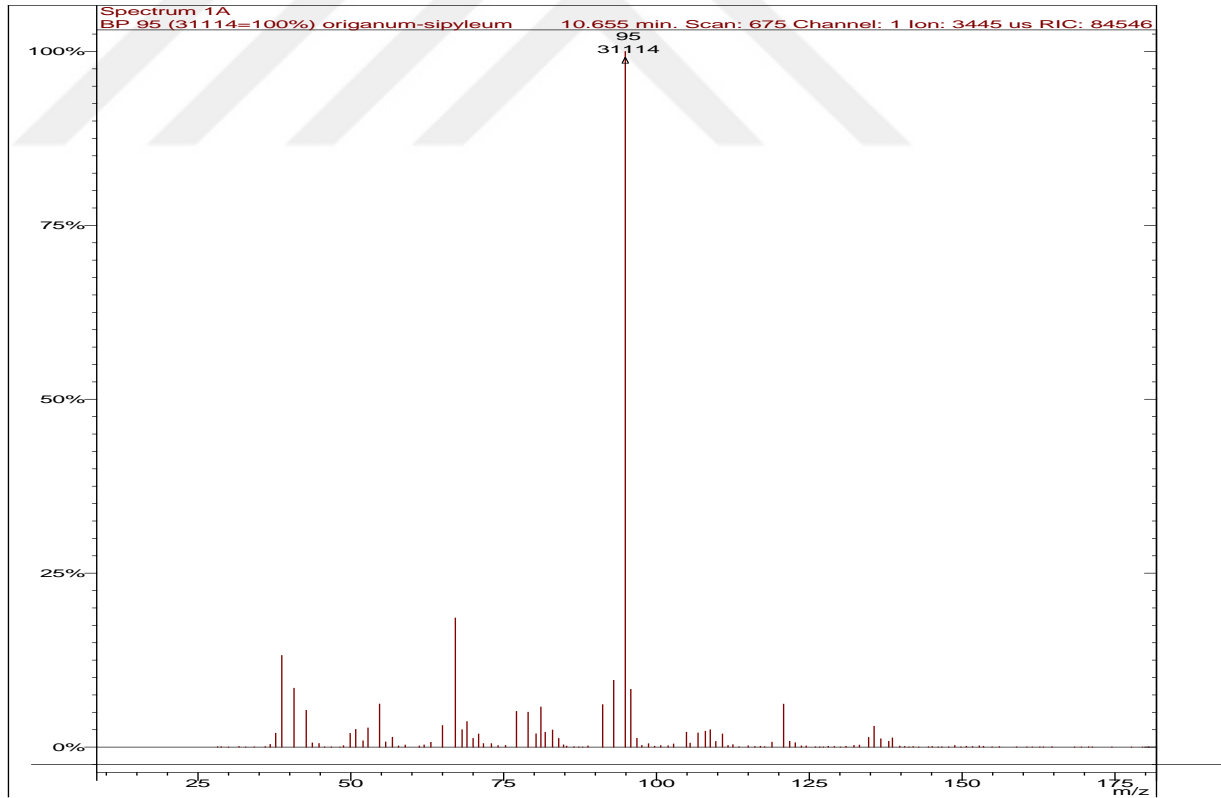
Şekil 3.14.  $\gamma$ -Terpinen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 527 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



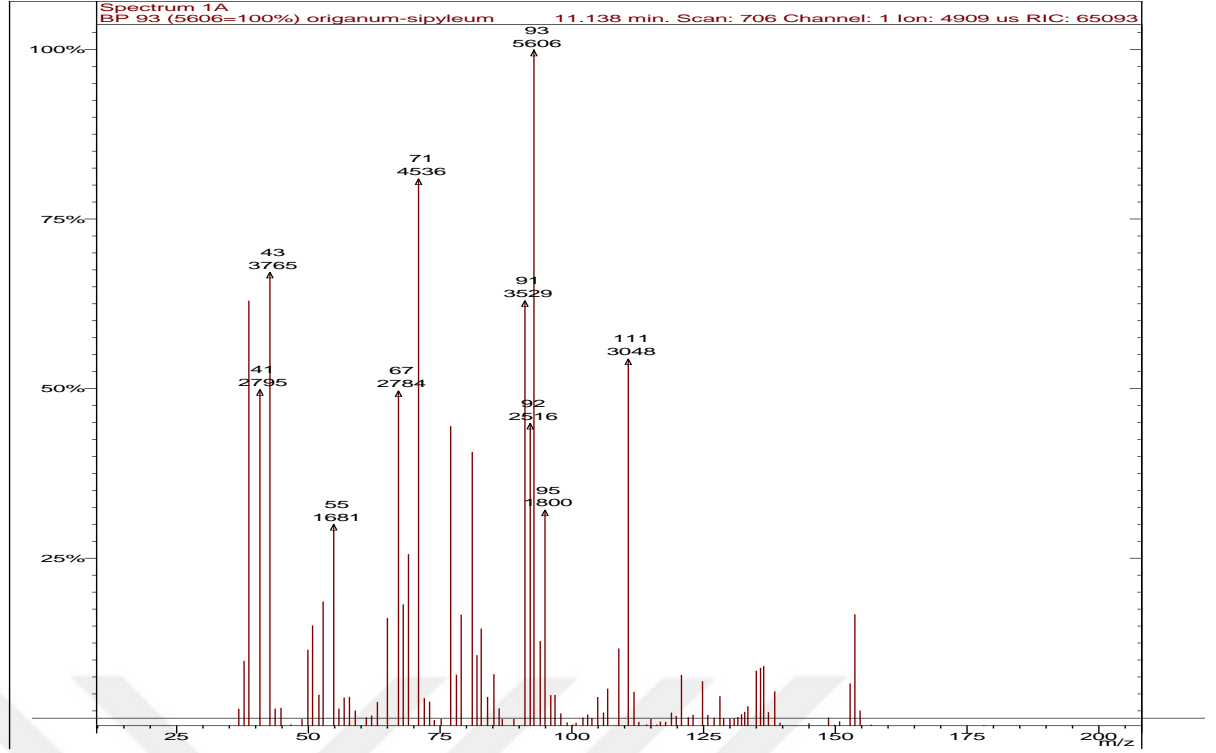
Şekil 3.15. *cis*- $\beta$ -Terpineol'un kütle spektrumu (m/z)

Scan 675 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



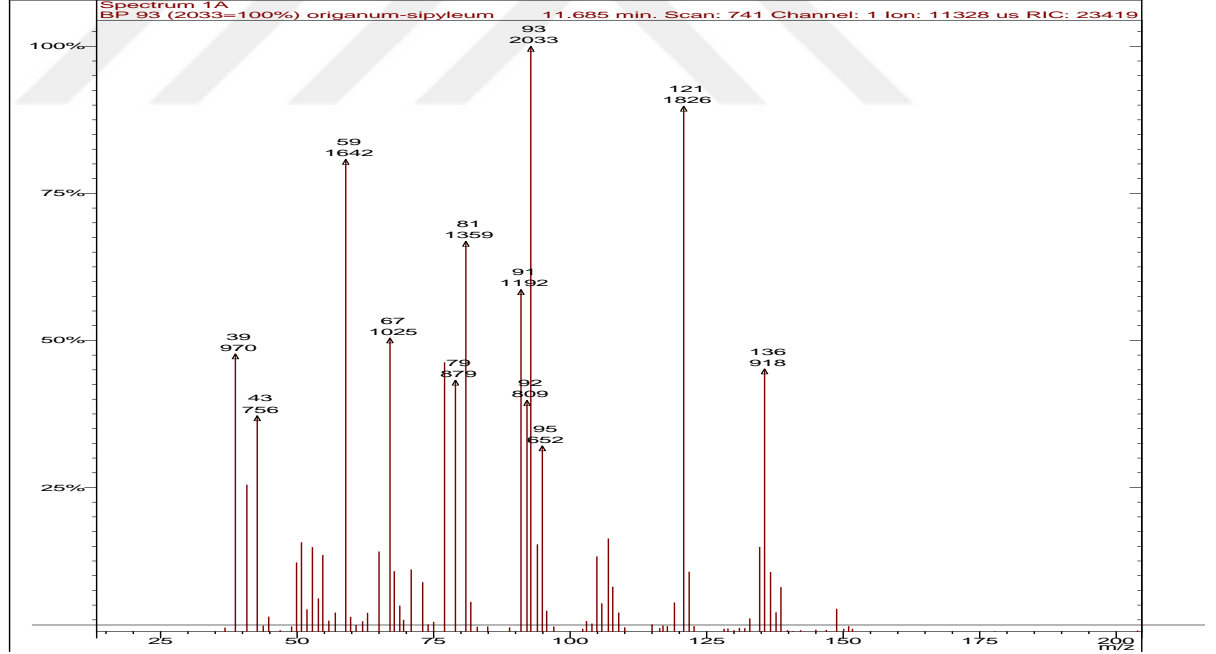
Şekil 3.16. İzoborneol'un kütle spektrumu (m/z)

Scan 706 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



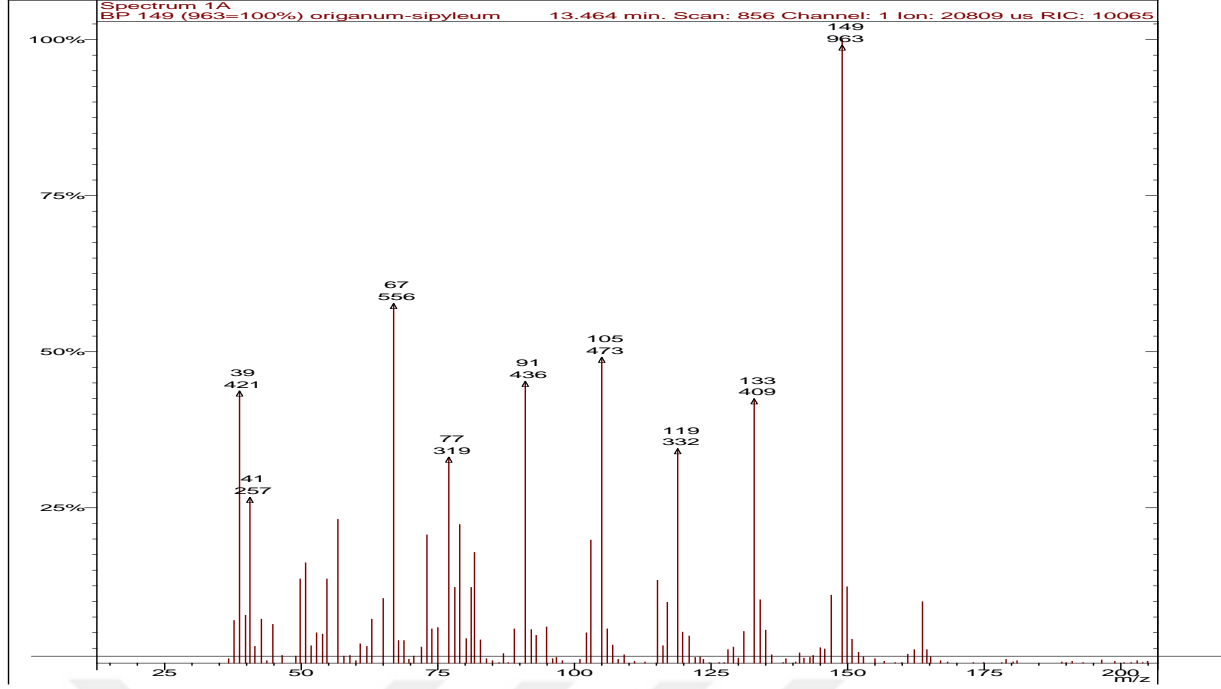
Şekil 3.17. Terpinen-4-ol'un kütle spektrumu (m/z)

Scan 741 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



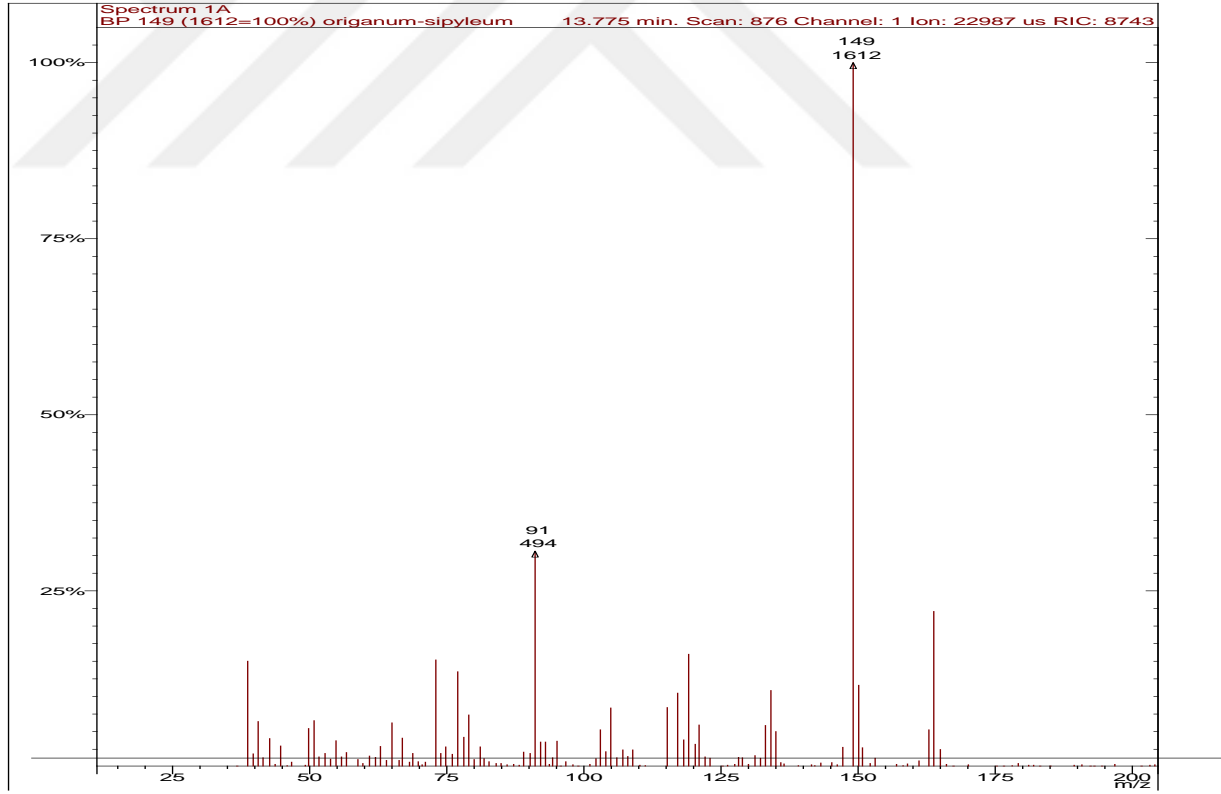
Şekil 3.18.  $\alpha$ -Terpinenol'un kütle spektrumu (m/z)

Scan 856 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



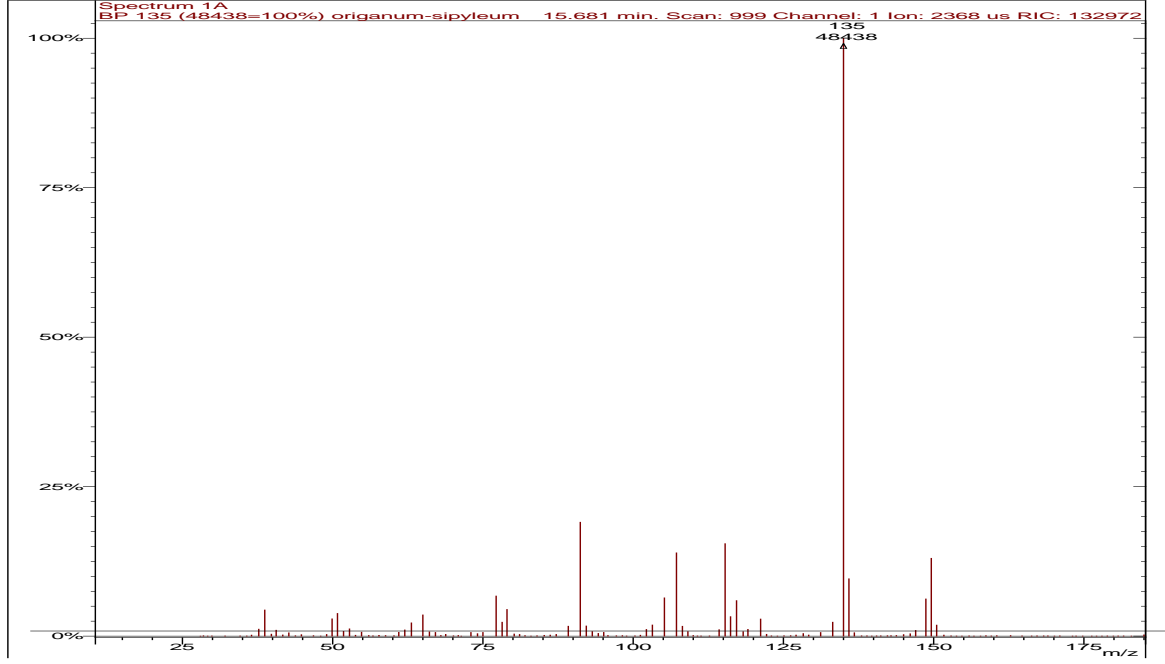
Şekil 3.19. *p*-Kumik aldehit'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 876 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



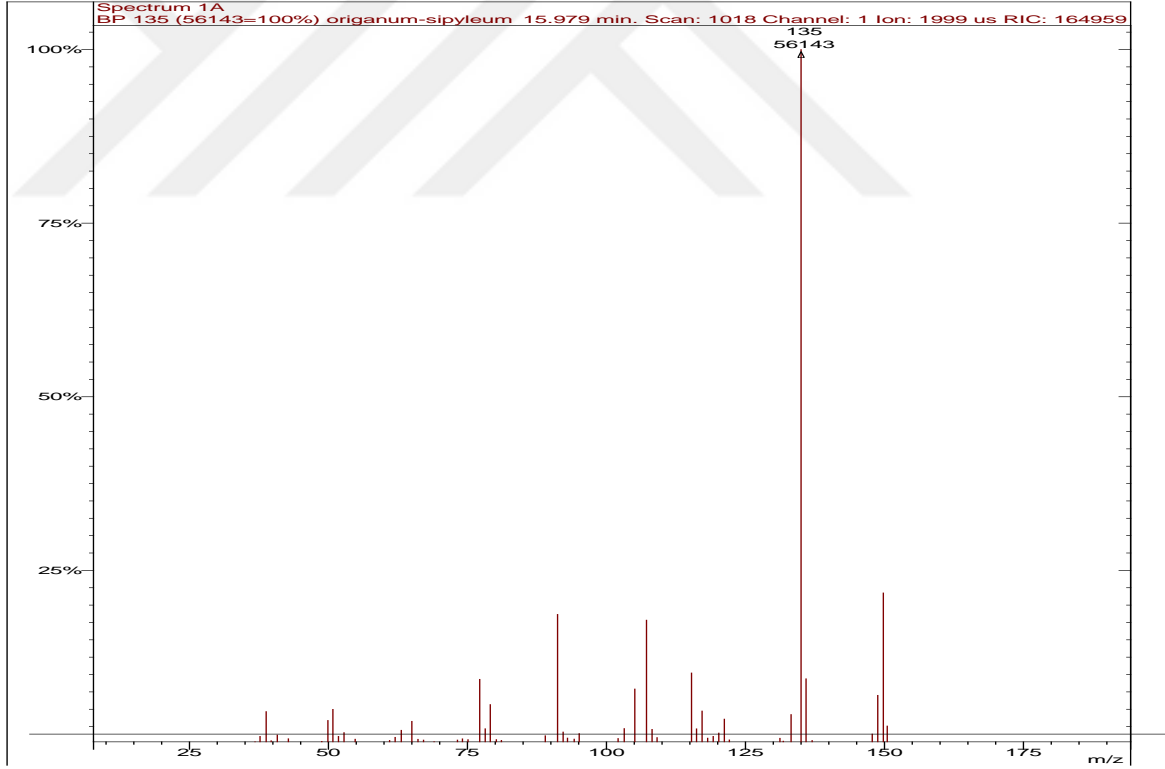
Şekil 3.20. Timol metil eter'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 999 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



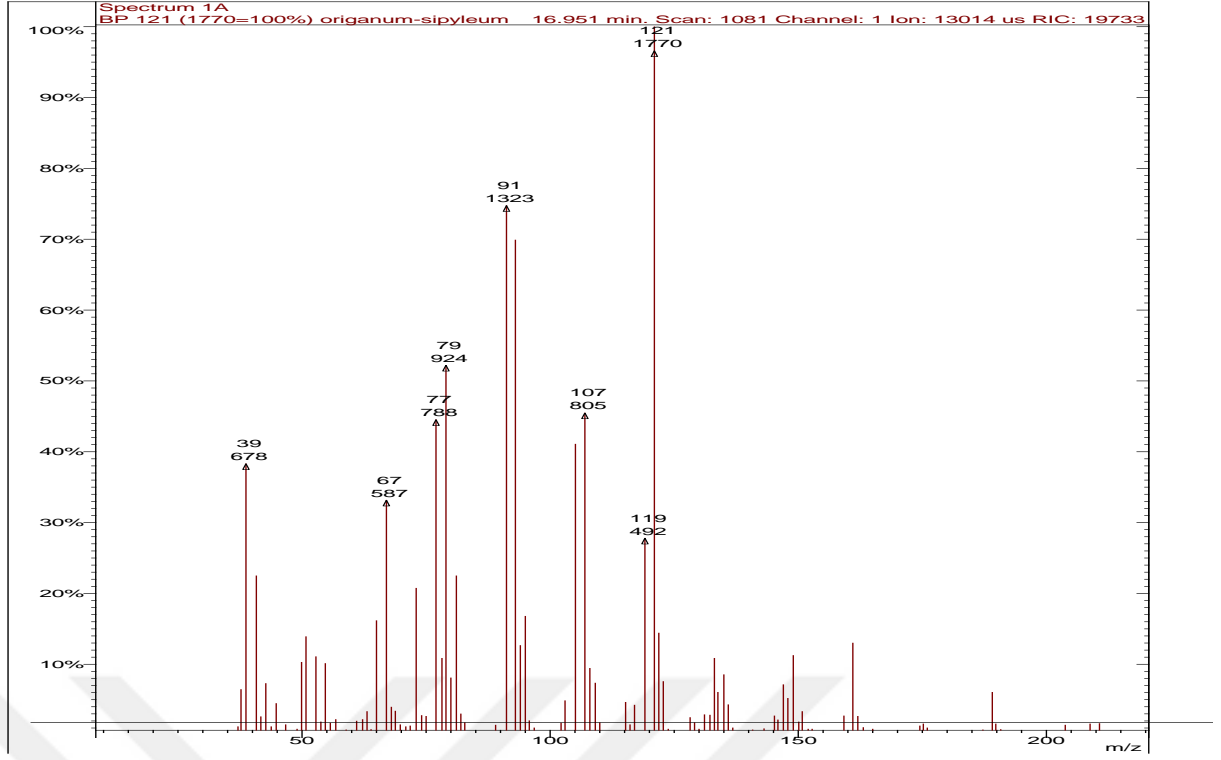
Şekil 3.21. Karvakrol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1018 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



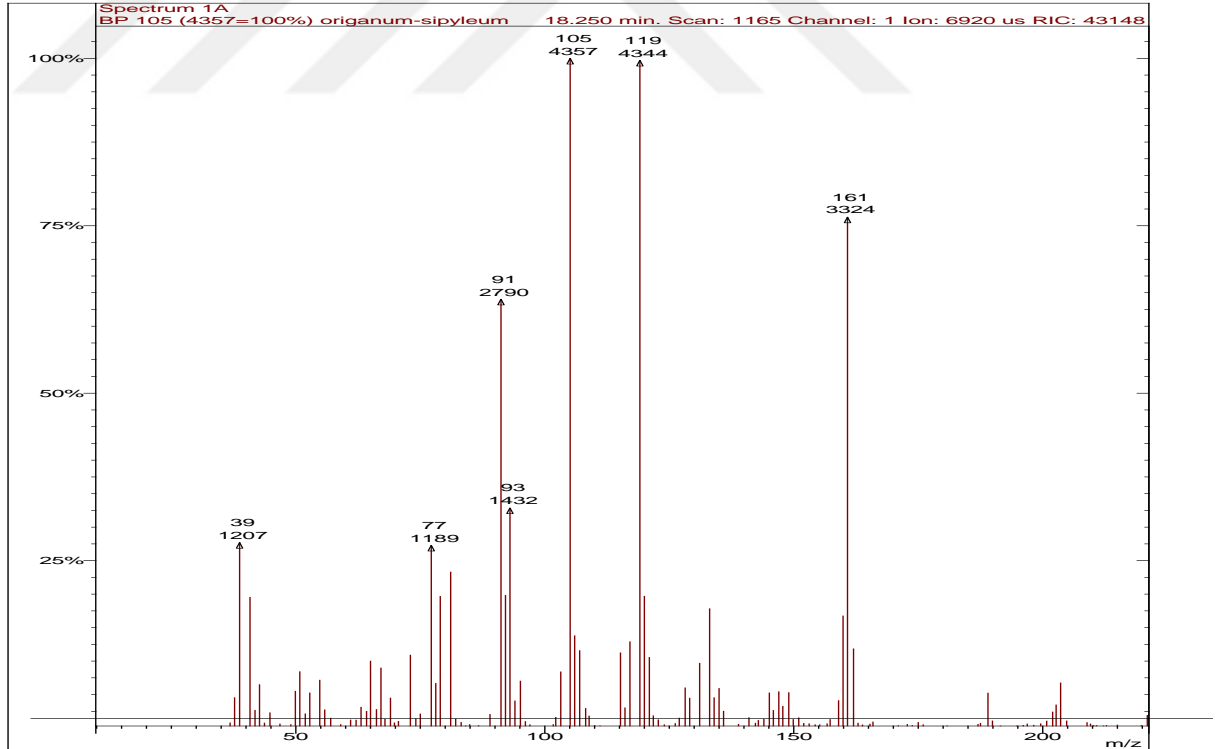
Şekil 3.22. Timol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1081 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



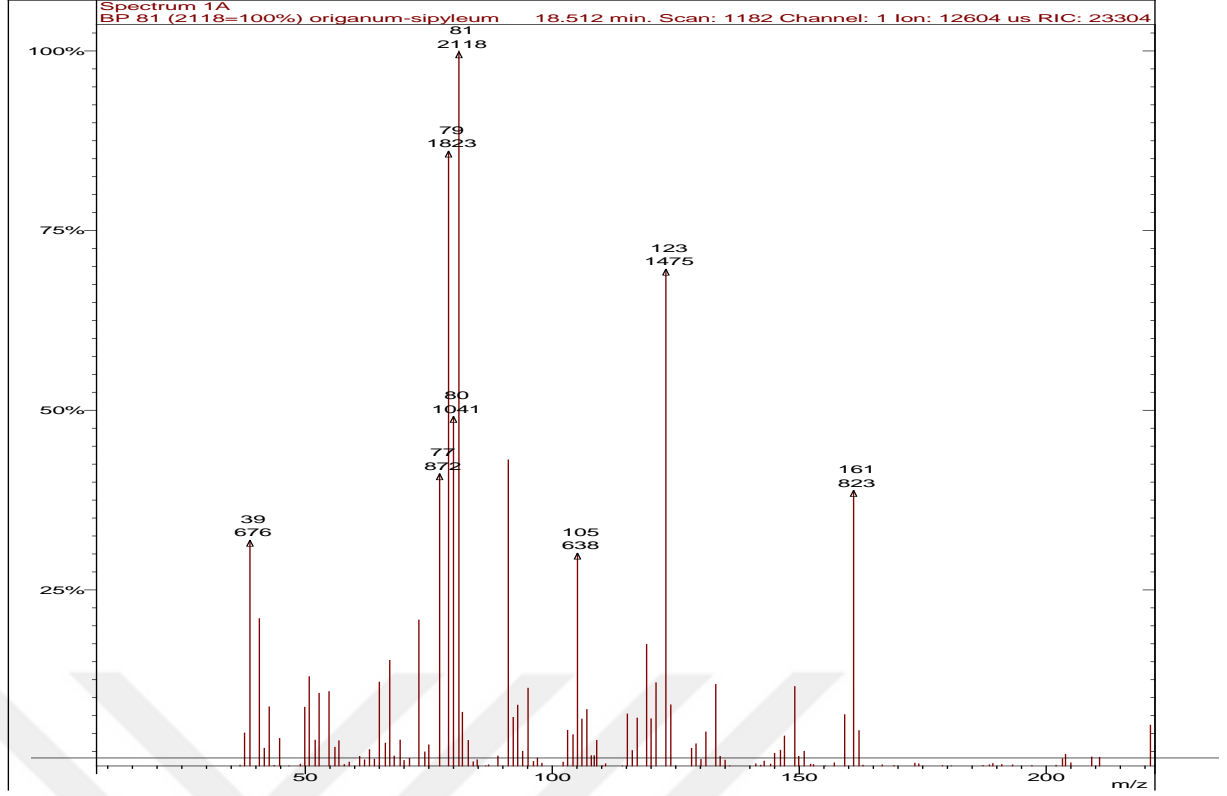
Şekil 3.23.  $\delta$ -Elemen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1165 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



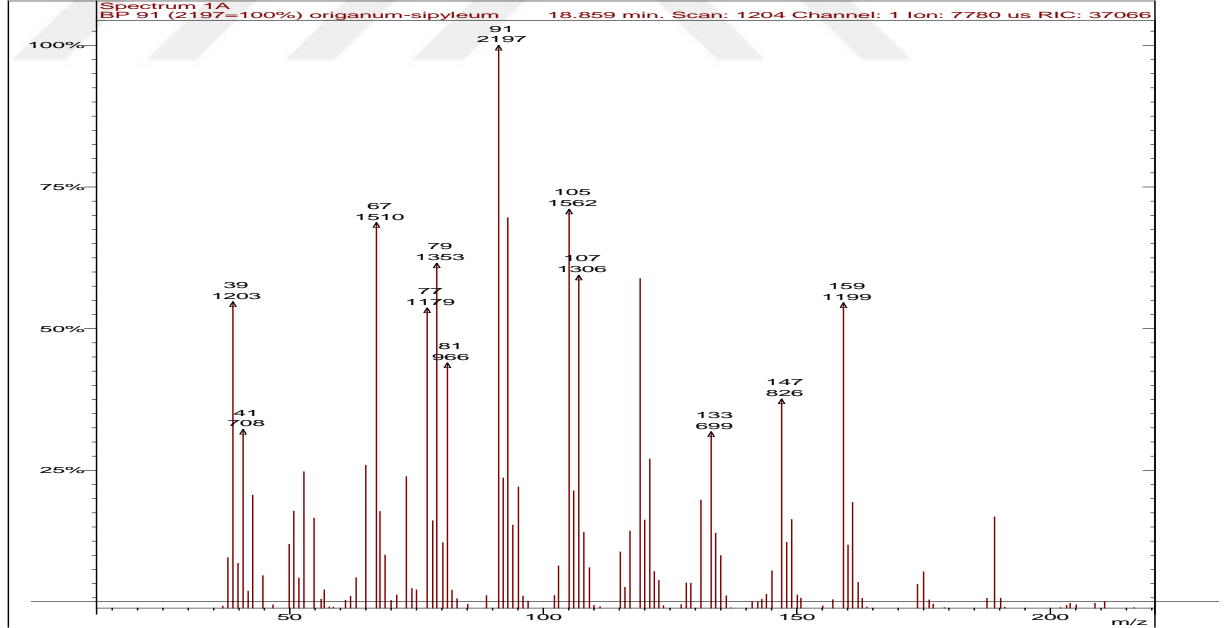
Şekil 3.24.  $\alpha$ -Kopaen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1182 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



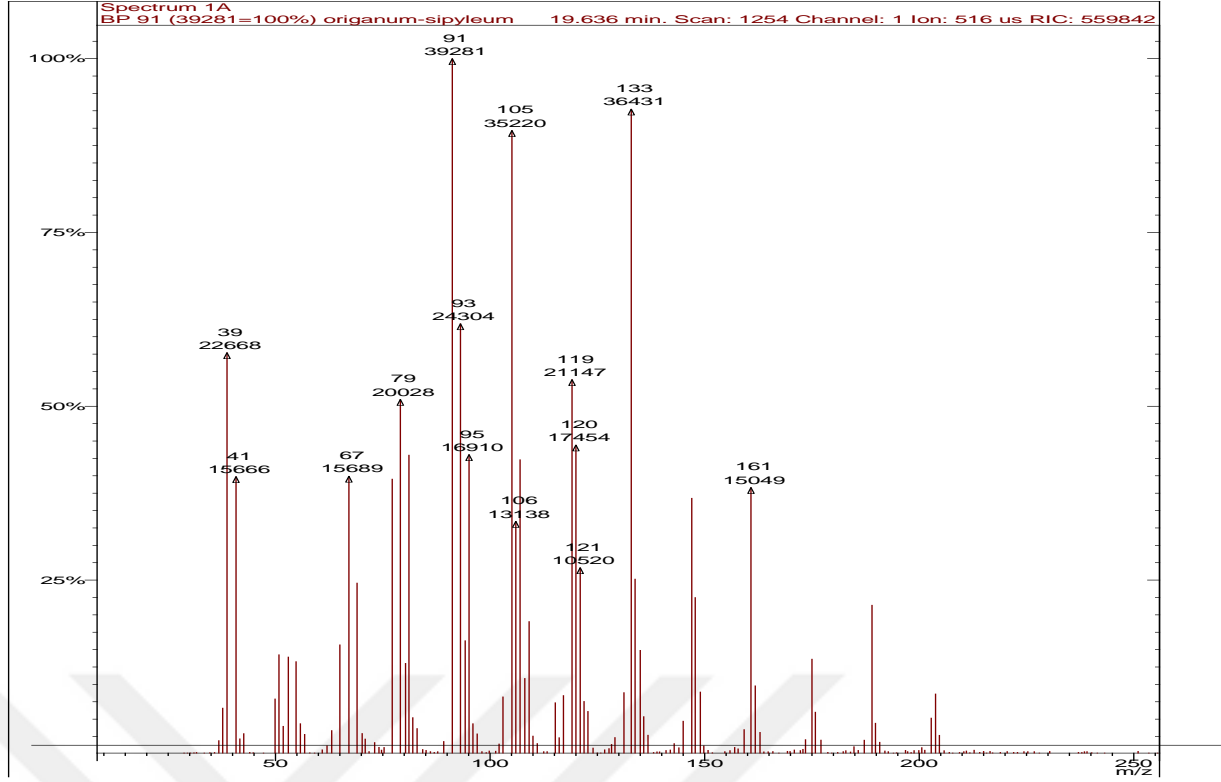
Şekil 3.25.  $\beta$ -Bourbonen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1204 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



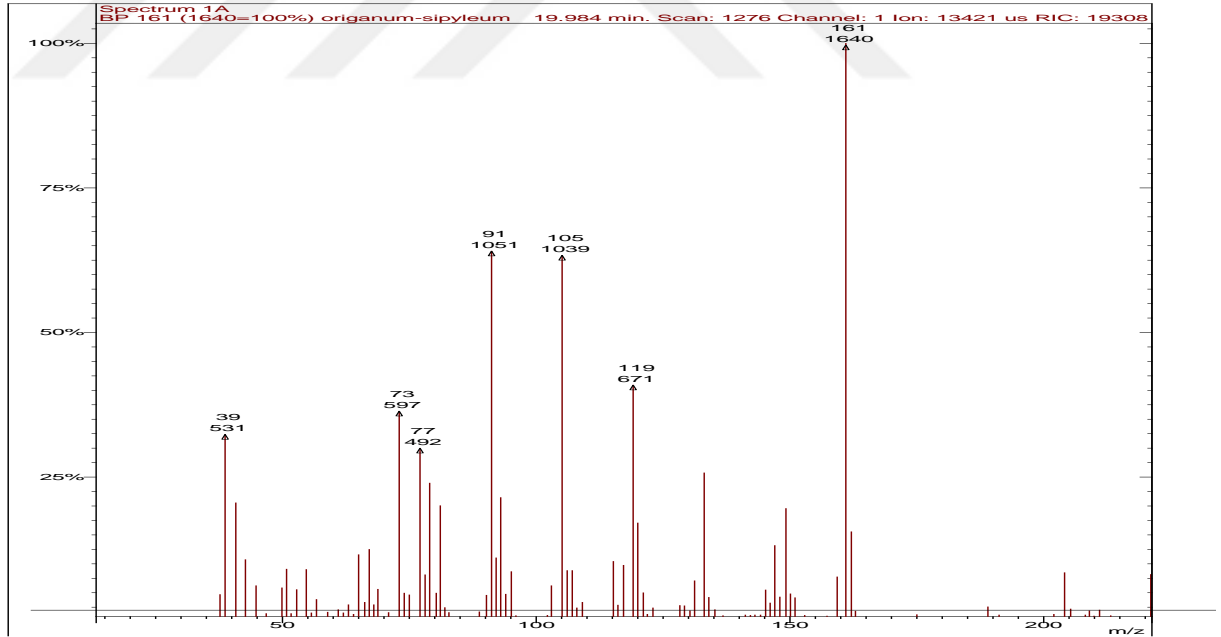
Şekil 3.26.  $\alpha$ -Selinen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1254 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



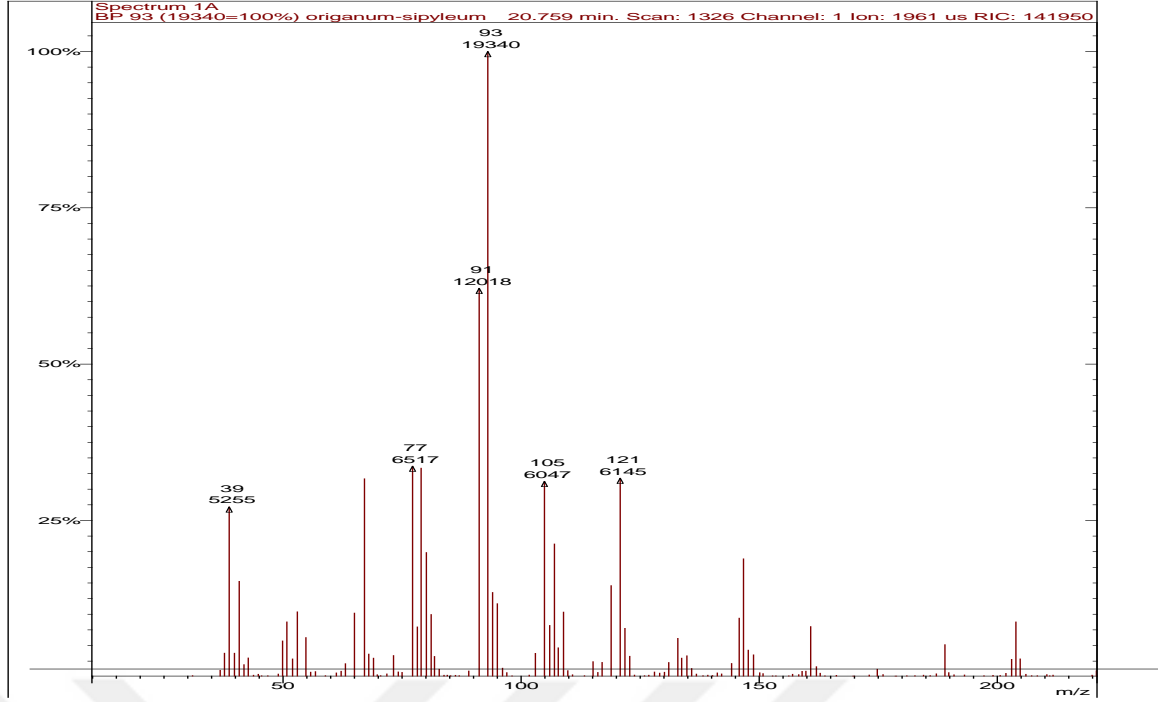
Şekil 3.27.  $\beta$ -Karyofilen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1276 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



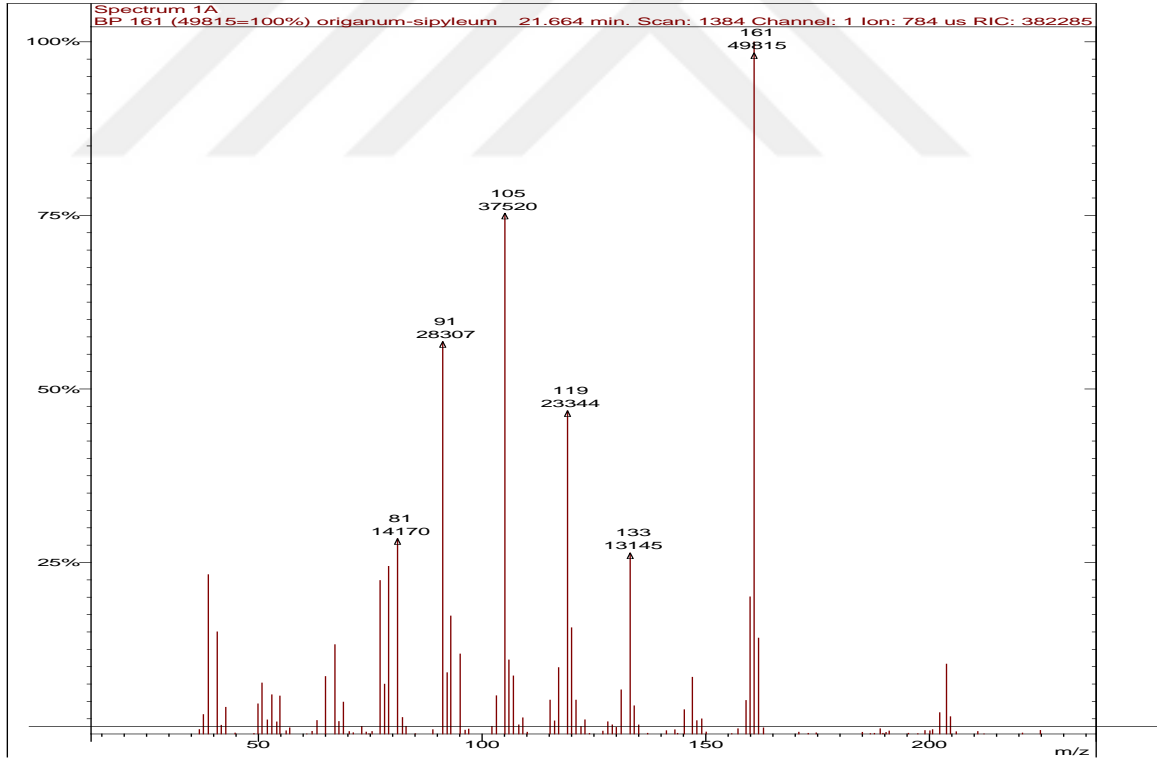
Şekil 3.28. Germakren D'nin kütle spektrumu (m/z)

Scan 1326 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



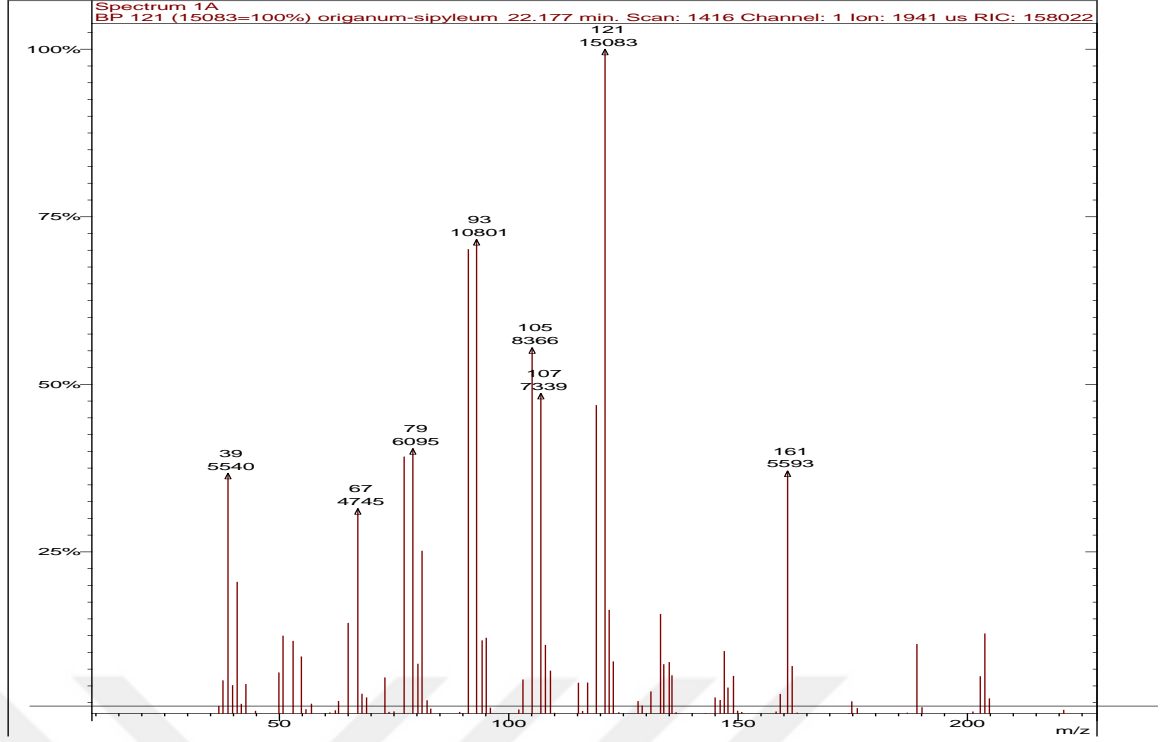
Şekil 3.29.  $\alpha$ -Karyofilen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1384 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



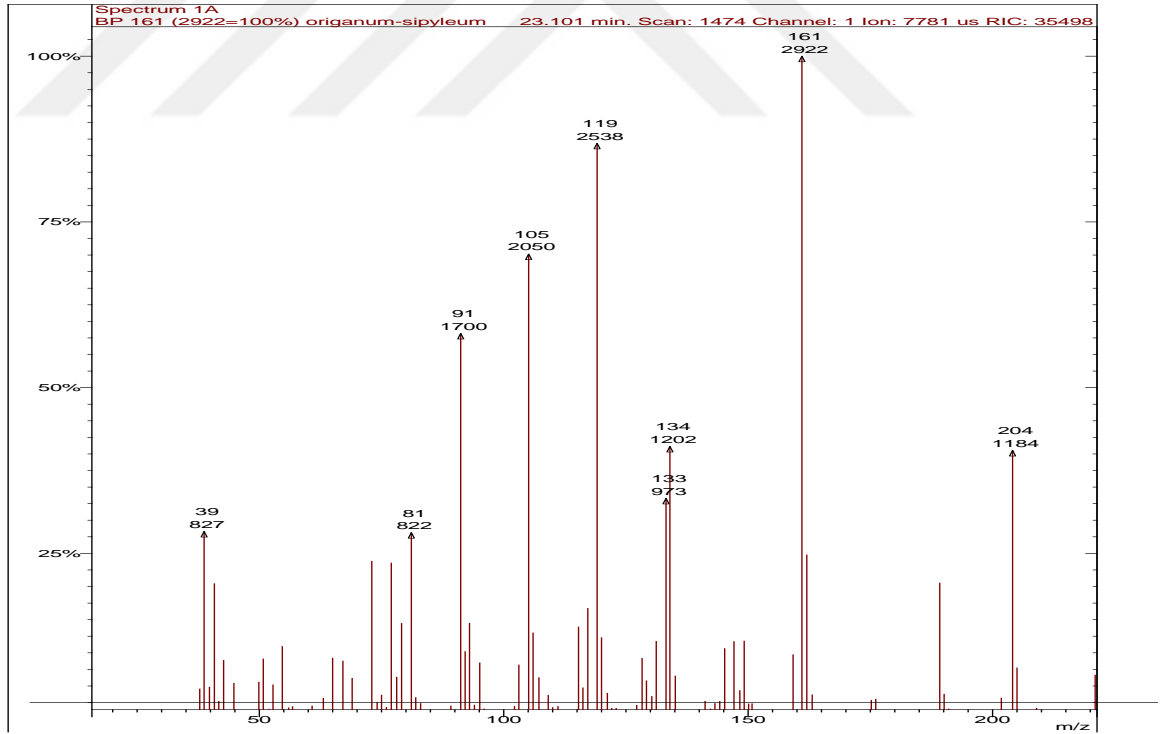
Şekil 3.30.  $\beta$ -Kubeben'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1416 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



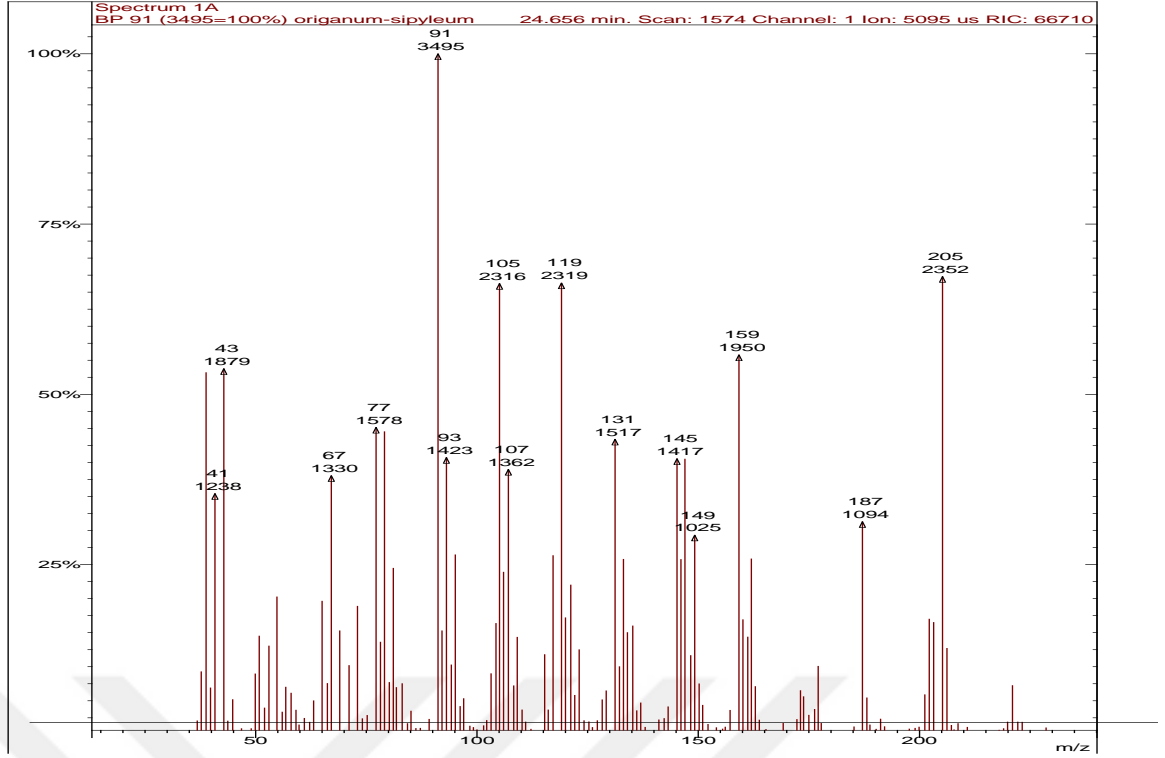
Şekil 3.31. *tau*-Gurjunene'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1474 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



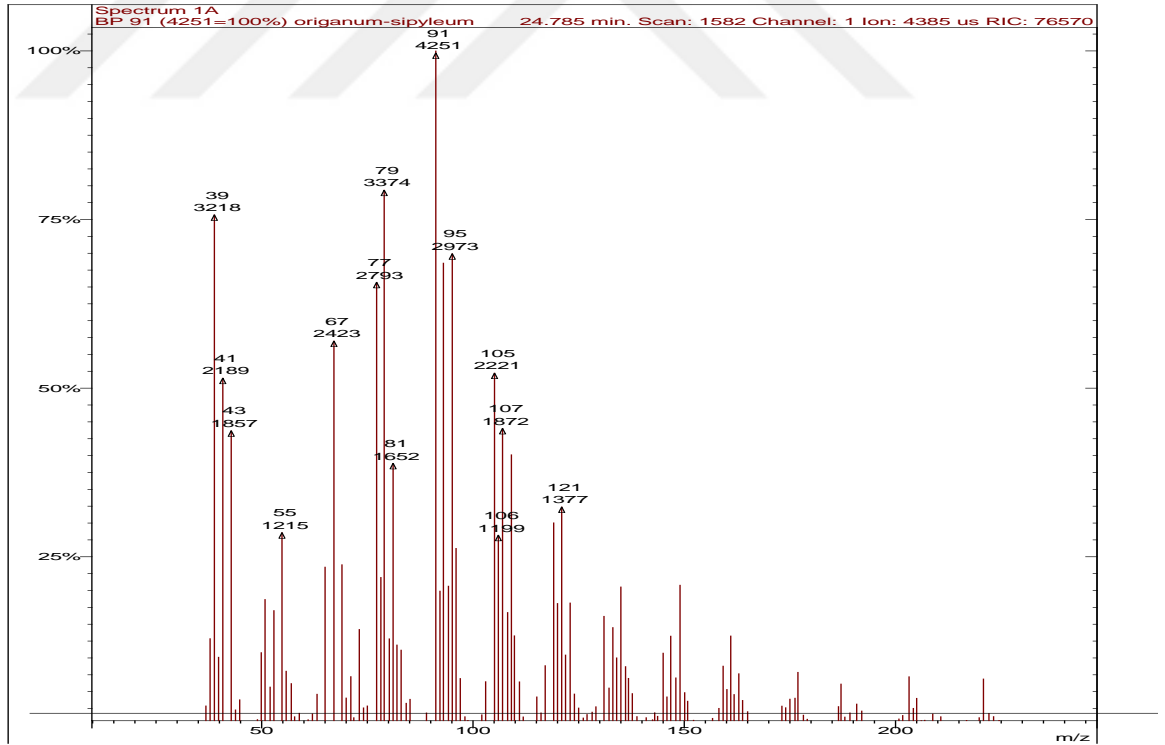
Şekil 3.32. *delta*-Kadinen'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1574 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



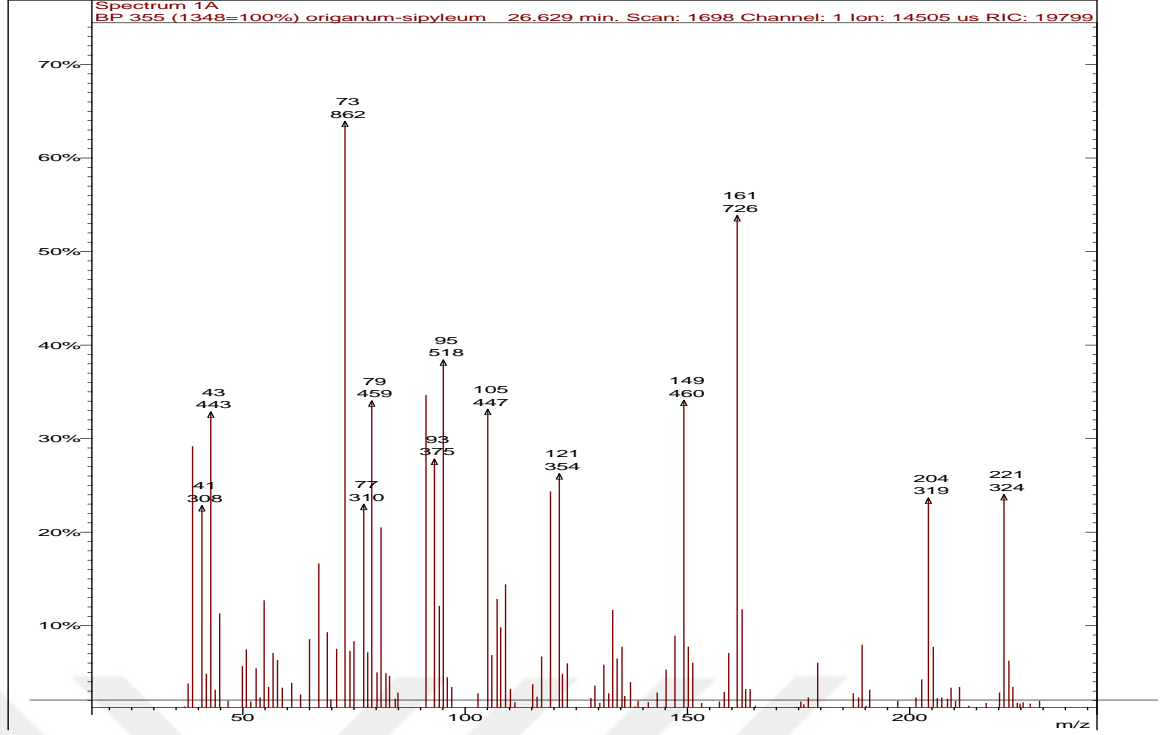
Şekil 3.33. Spathulenol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1582 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



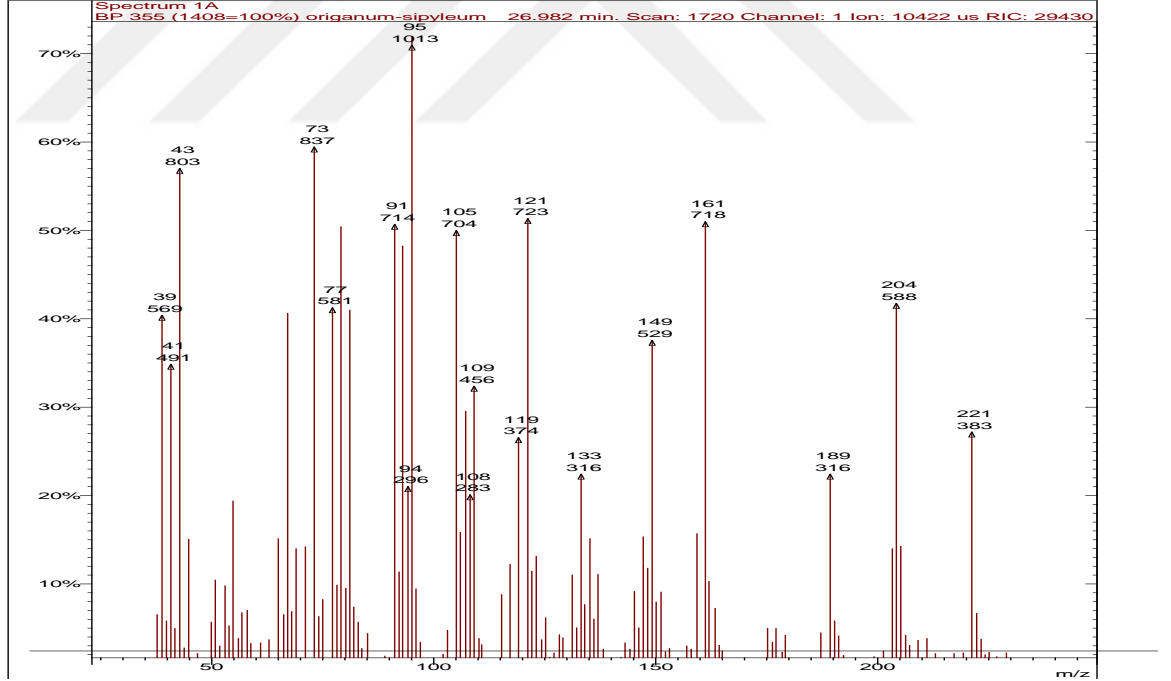
Şekil 3.34. Caryophyllen oksit'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1698 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



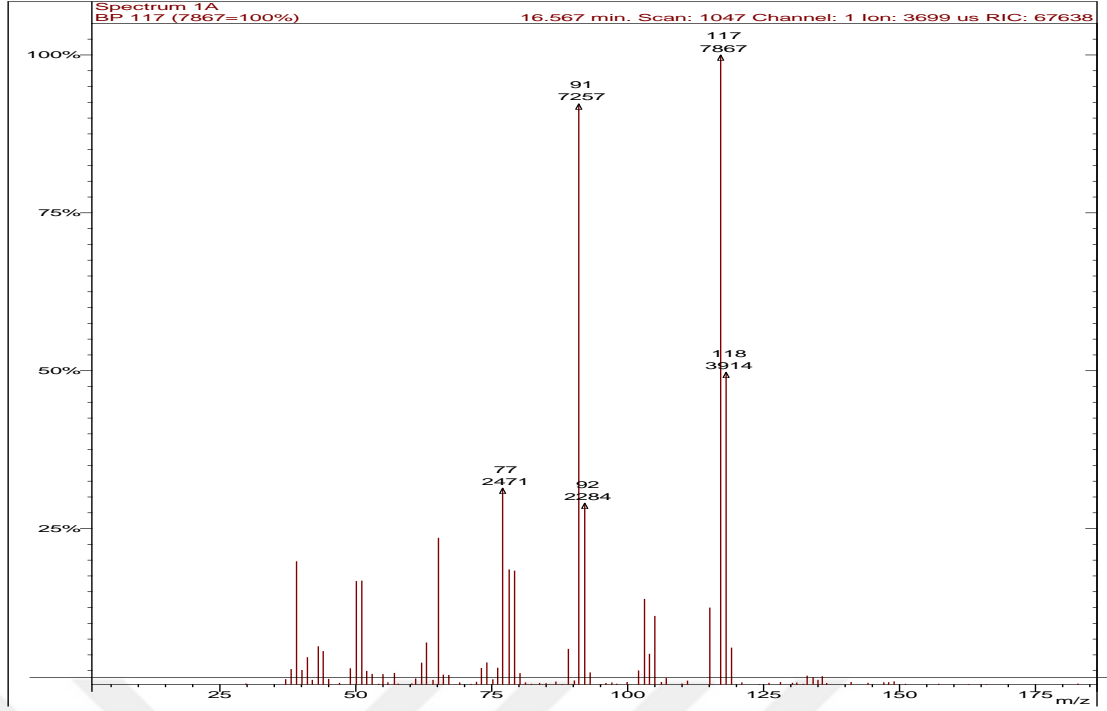
Şekil 3.35. *tau*-Kadinol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1720 from f:\origanum-sipyleum u.yag 10000ppm 70dk.sms



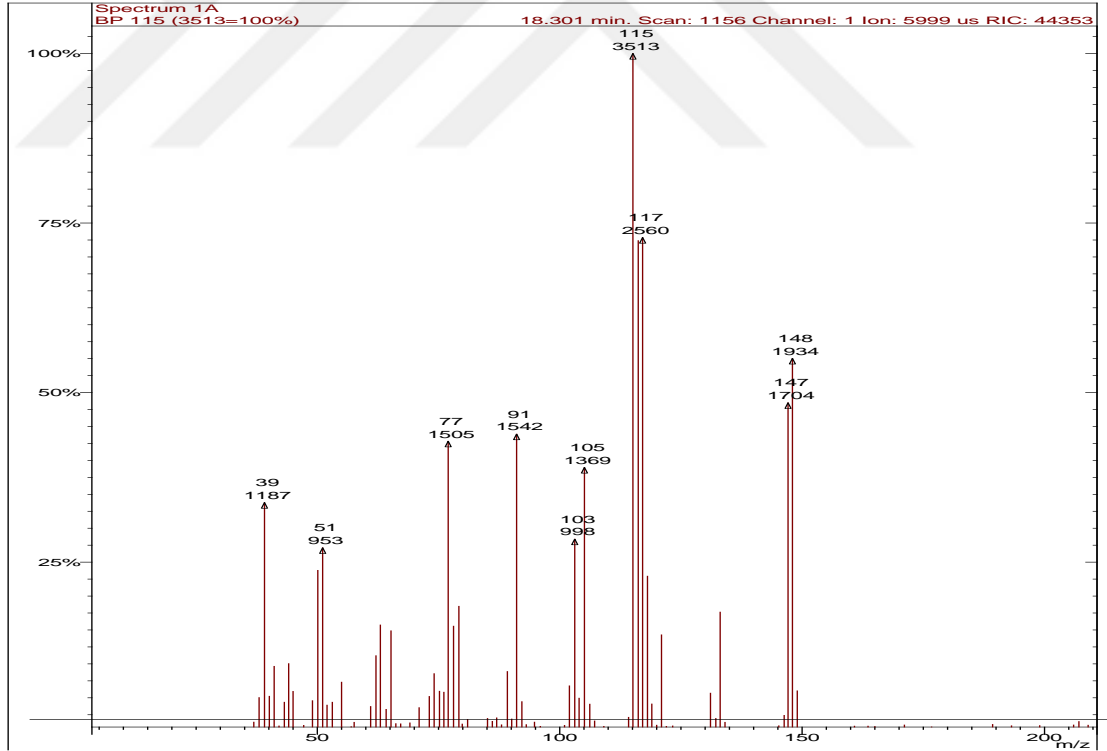
Şekil 3.36. *tau*-Muurolol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1047 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



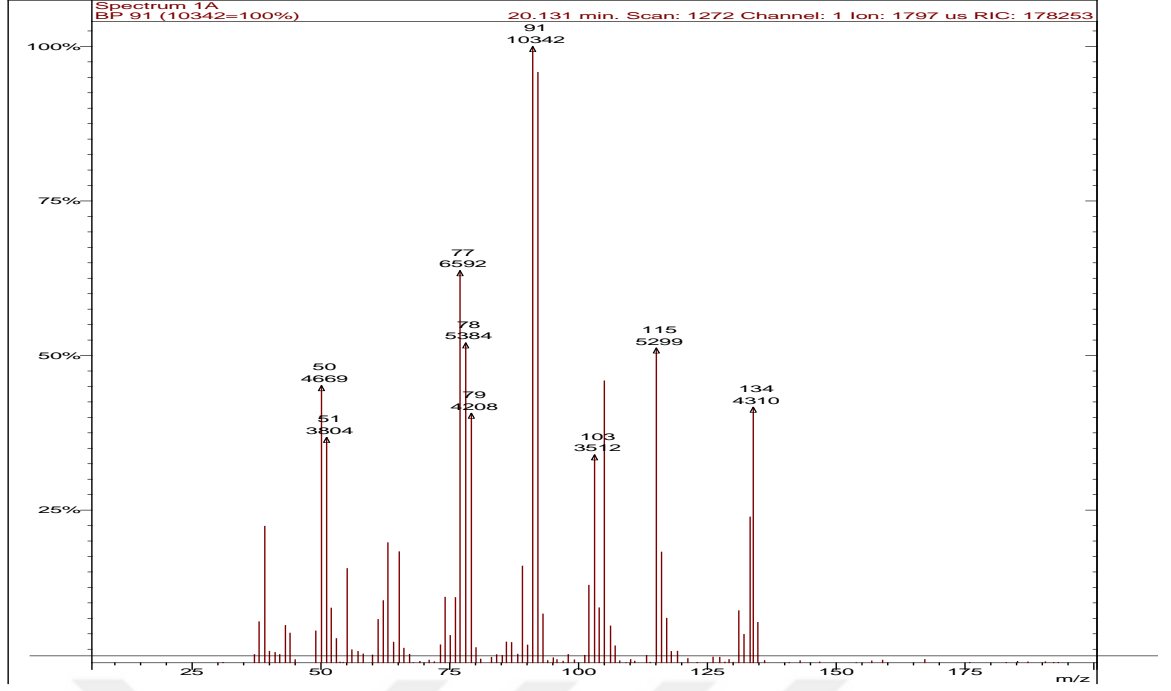
Şekil 3.37. Fenil propanol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1156 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



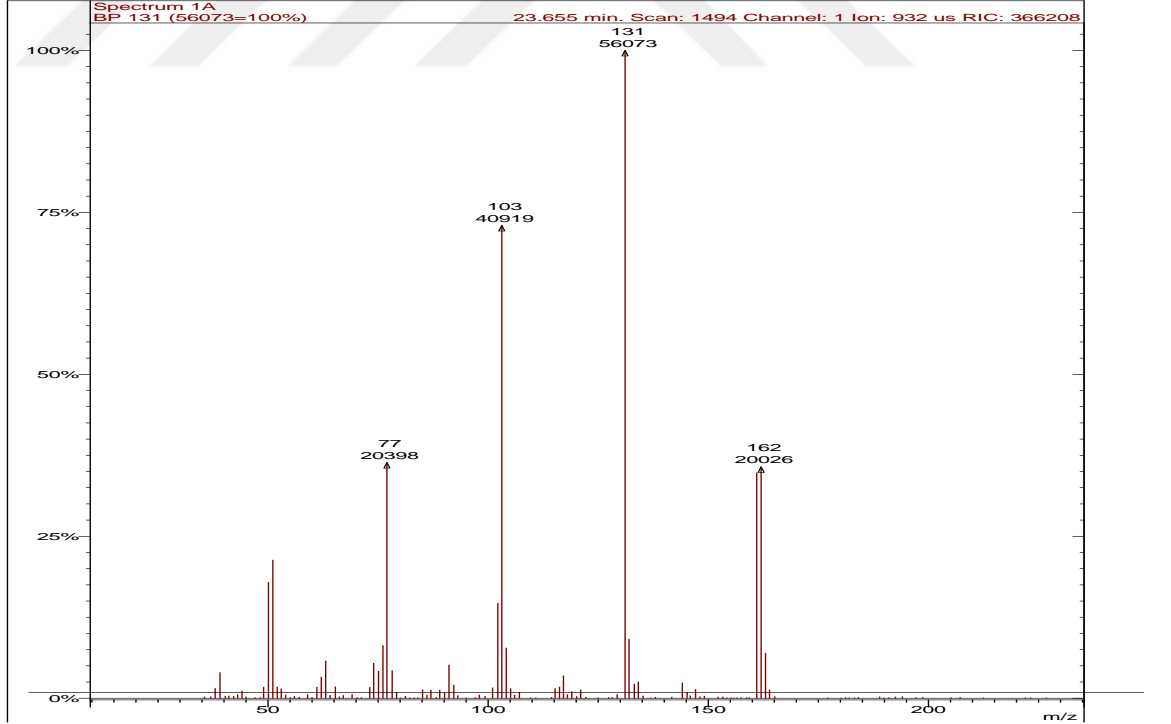
Şekil 3.38. Estragol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1272 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



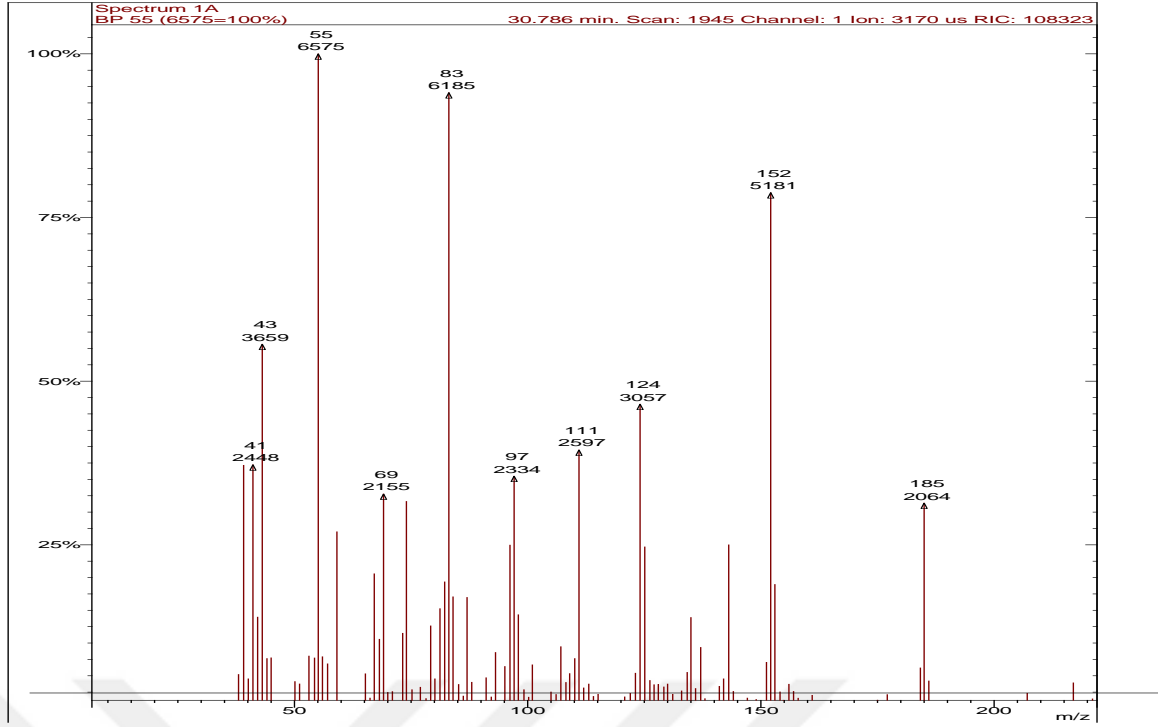
Şekil 3.39. Sınnamil alkol'ün kütle spektrumu (m/z)

Scan 1494 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



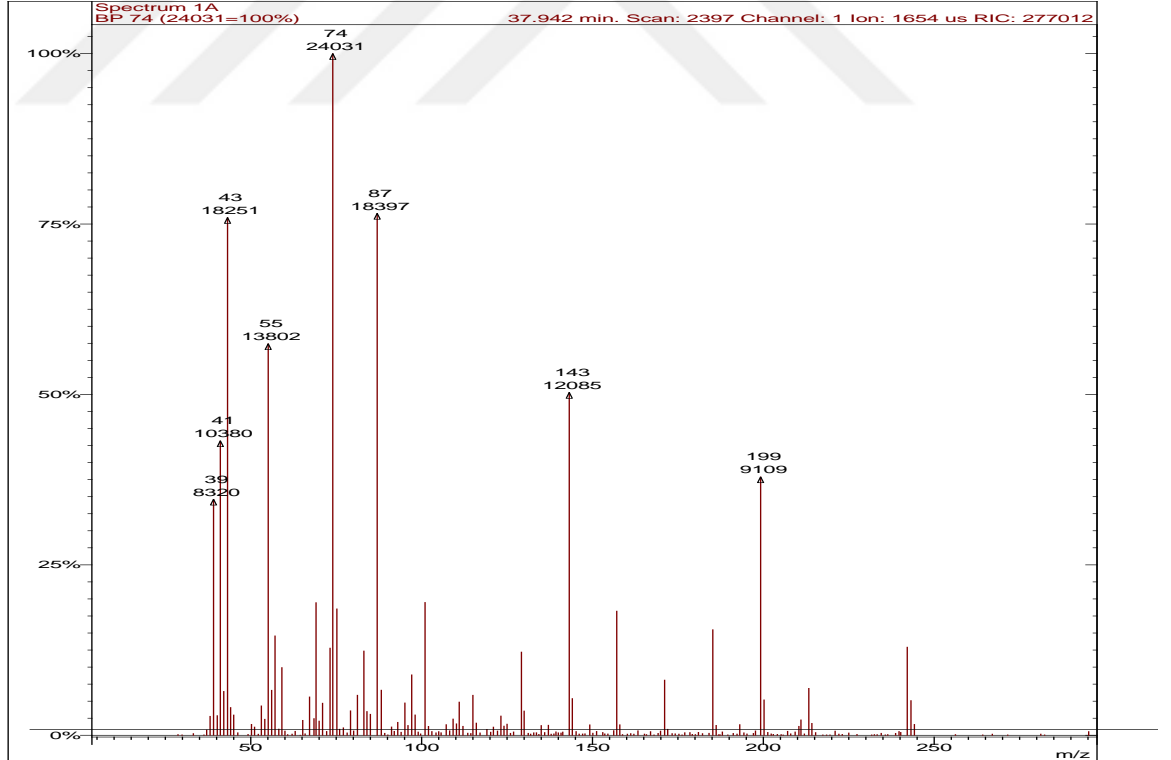
Şekil 3.40. Sınnamik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 1945 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



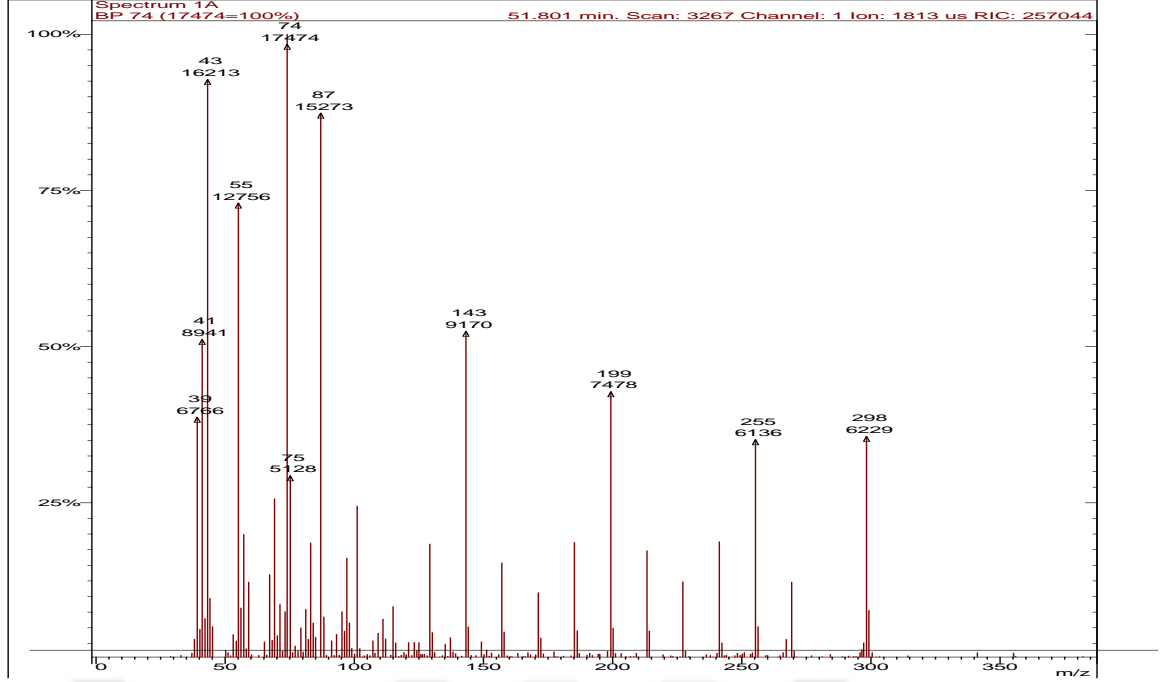
Şekil 3.41. Azaleik asit dimetil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 2397 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



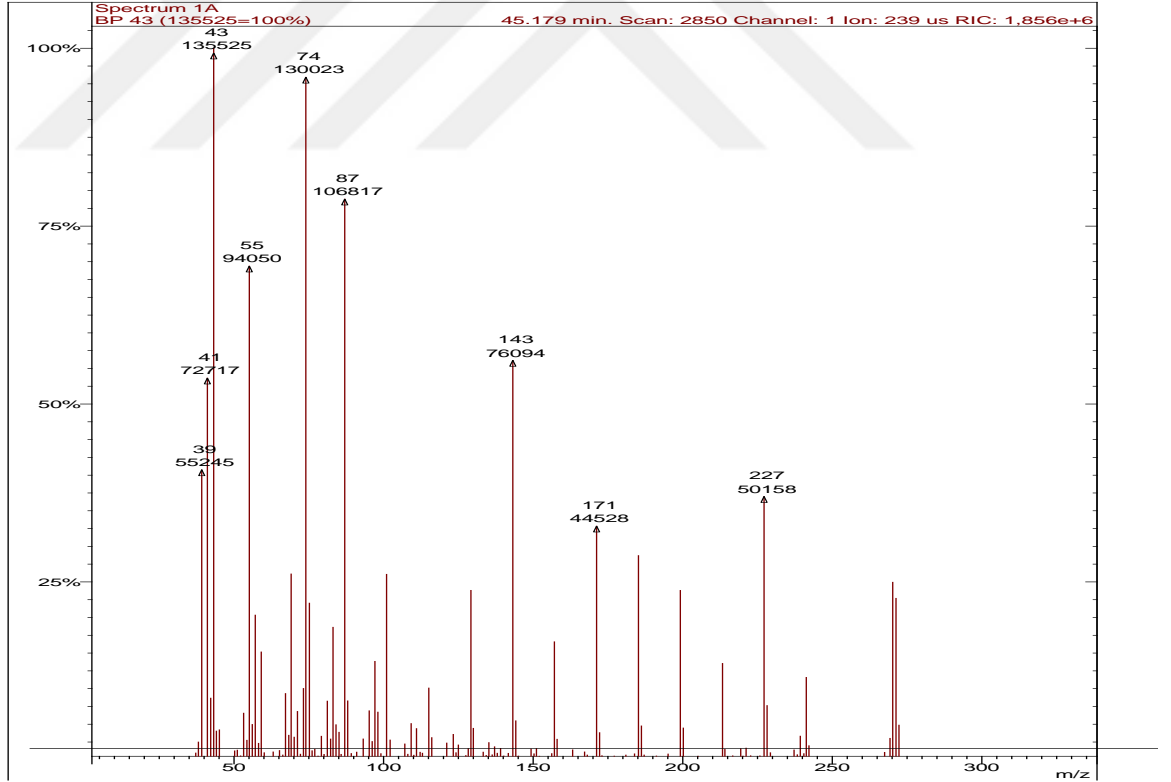
Şekil 3.42. Miristik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 3267 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



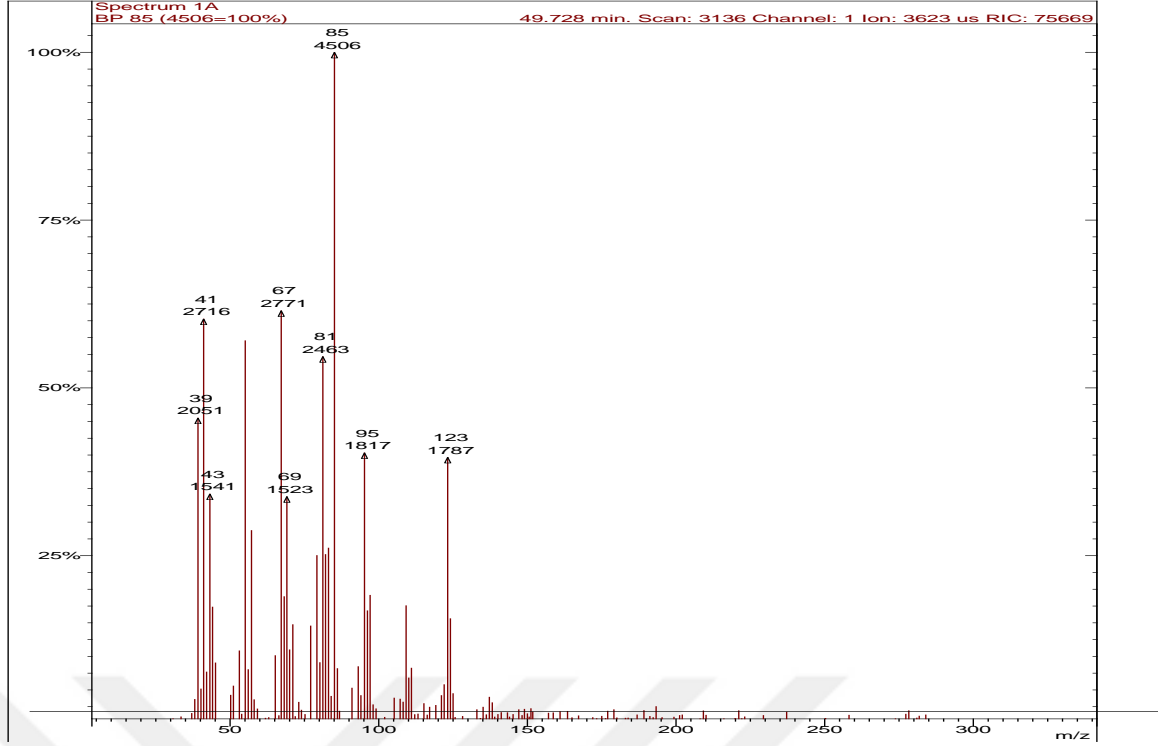
Şekil 3.43. Stearik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 2850 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



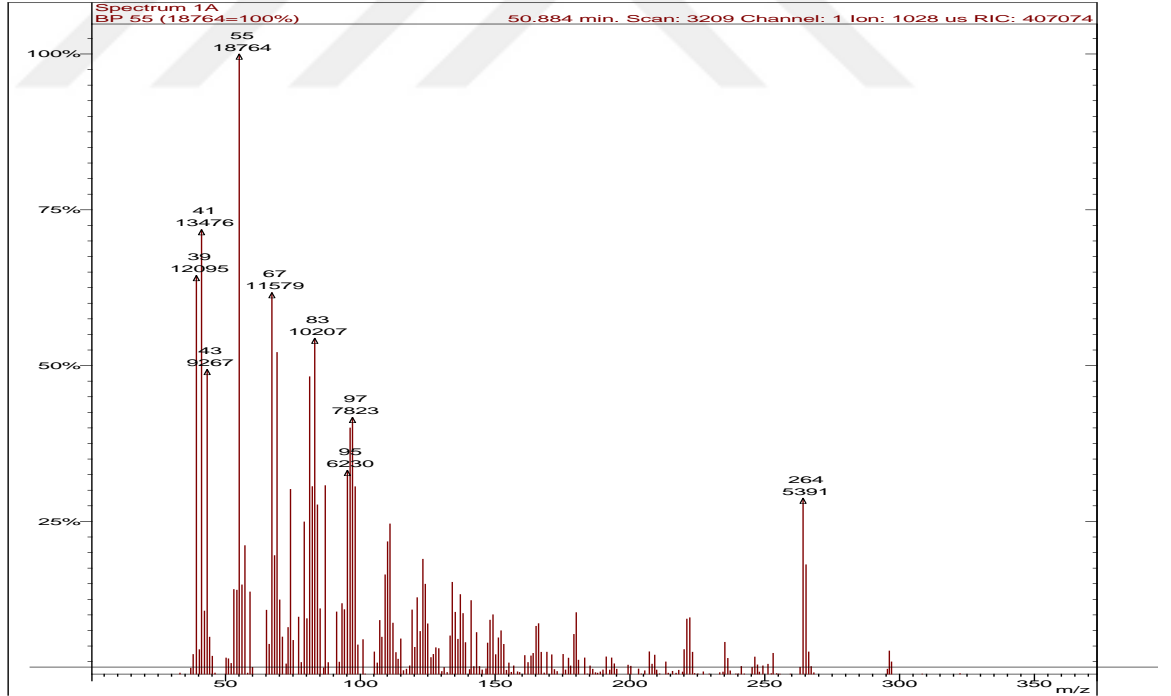
Şekil 3.44. Palmitik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 3136 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



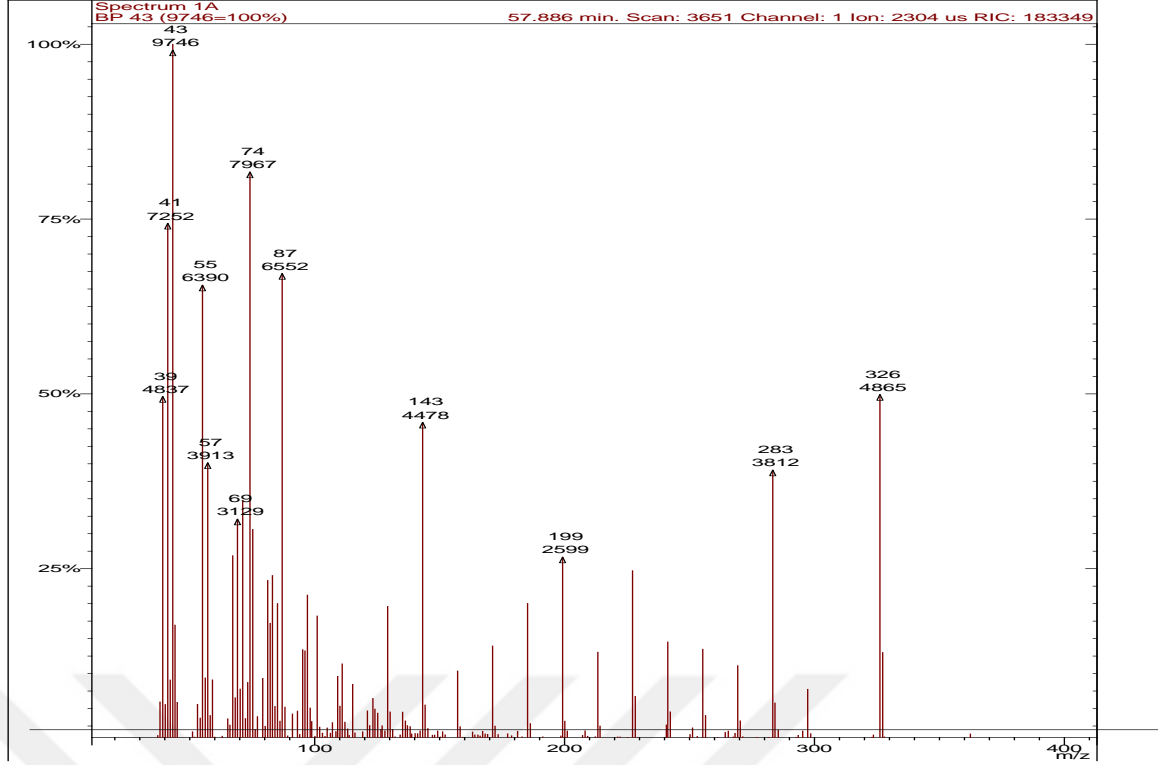
Şekil 3.45. 9,15-Oktadekadienoik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 3209 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



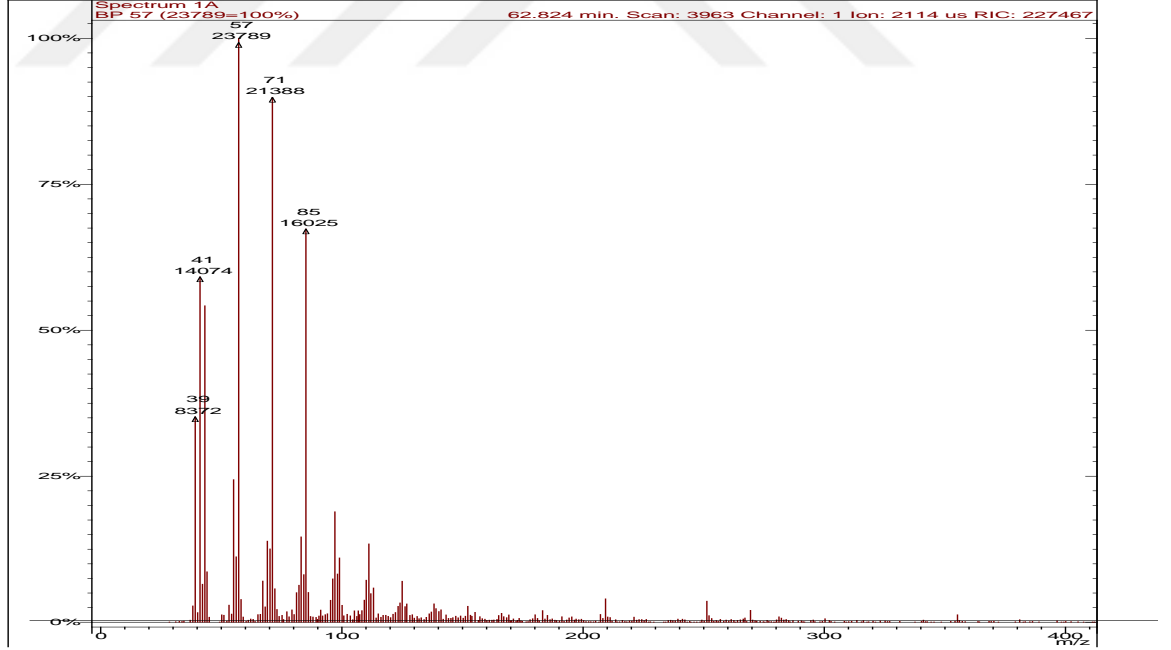
Şekil 3.46. Oleik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

Scan 3651 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



Şekil 3.47. Araşidik asit metil ester'in kütle spektrumu (m/z)

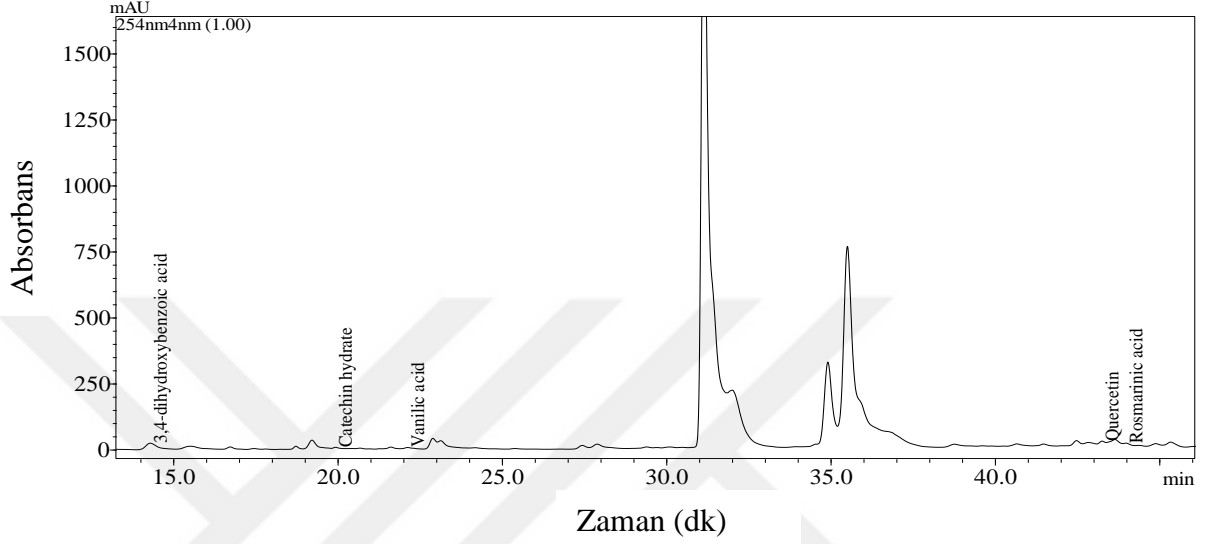
Scan 3963 from c:\users\emin\desktop\o.sipyleum\_metilleme.sms



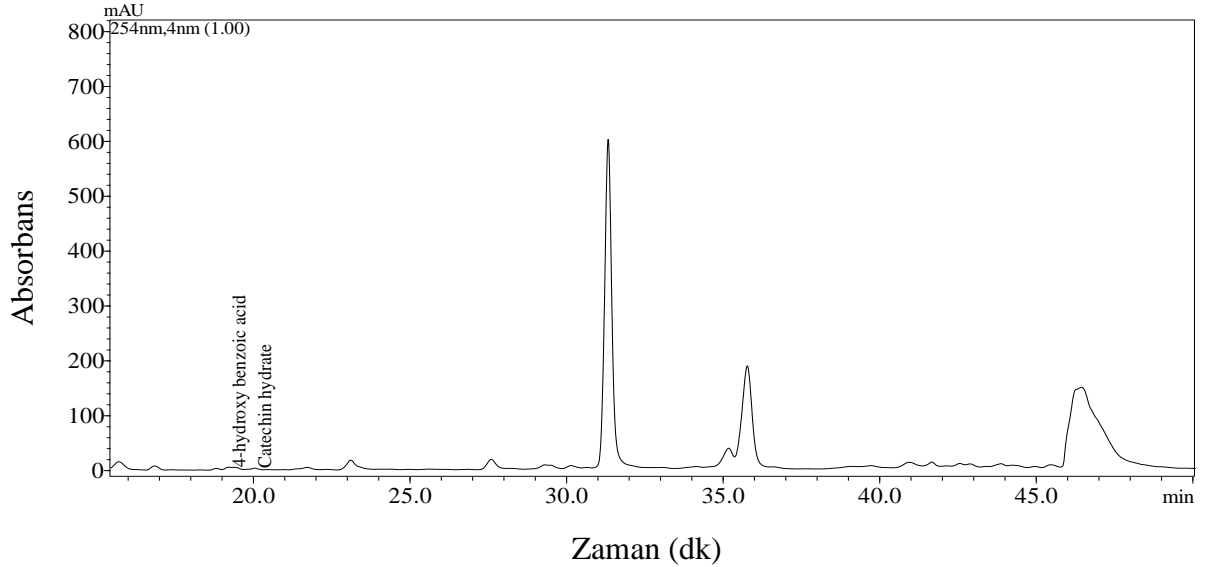
Şekil 3.48. Heptakosanol'ün kütle spektrumu (m/z)

### 3.9. *Origanum sipyleum*'un Aseton ve Metanol Ekstrelerinin Fenolik Bileşenleri

Ekstrelerin fenolik bileşenleri, HPLC-DAD sistemiyle aseton ve metanol ekstralarında belirlendi. Bu çalışmada elde edilen spektrumlar Şekil 3.49 ve 3.50'da verilmektedir. 28 Adet fenolik bileşik veya asitlerin referans maddesi olarak yapılan karşılaştırma sonucunda; aseton ekstresinde 5 fenolik bileşen tanımlanırken metanol ekstresinde ise iki bileşen tanımlandı (Çizelge 3.12.).



Şekil 3.49. *Origanum sipyleum*'un aseton ekstresinin HPLC-DAD spektrumu



Şekil 3.50. *Origanum sipyleum*'un metanol ekstresinin HPLC-DAD spektrumu

Çizelge 3.12. *Origanum sipyleum*'un aseton ve metanol ekstresinin fenolik bileşenleri

Standartlar	Aseton Ekstresi	Metanol Ekstresi
Fumarik asit		
Gallik asit		
<i>trans</i> -Akonitik asit		
p-Benzokinon		
Pirokatekol		
3,4-Dihidroksi benzoik asit (protokateşik asit)	1,06	
2-Fenil etanol		
4-Hidroksibenzoik asit		0,11
Kateşin hidrat	0,86	0,08
Metil 1,4-benzokinon		
6,7-Dihidroksibenzoik asit,		
Vanilik asit	0,20	
Kafeik asit		
Vanilin		
2,4-Dihidroksi benzoik asit		
Klorojenik asit		
p-Kumarik asit		
Ferrulik asit		
Kumarin		
<i>trans</i> -2-Hidroksisinnamik asit		
Rutin hidrat		0,12
Elajik asit		
<i>trans</i> -Sinnamik asit		

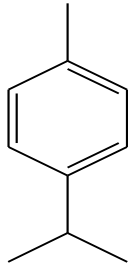
Naringenin		
Kersetin		tr
Rosmarinik asit	tr	0,86
Kirisin		



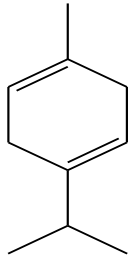
## 4.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Muğla-Yatağan arasında çiçeklenme döneminde toplanan *Origanum sipyleum* önce oda koşullarında güneş ışığının görmeyeceği yerde kurutuldu. Kurutulan bitkinin bir kısmı uçucu yağ için ayırılırken diğer kısmı da ekstreler için kullanıldı. Bitkiden hekzan, diklorometan, aseton, metanol ve su ekstreleri elde edildi. Ayrıca bitkinin topraküstü kısımlarından hidrodestilasyon yöntemiyle uçucu yağ elde edildi.

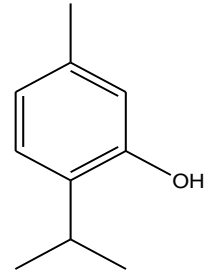
Uçucu yağ ve uçucu türeve dönüştürülen hekzan ekstresinin bileşenleri kalitatif ve kantitatif olarak GC ve GC/MS ile belirlendi. Bitkinin uçucu yağında 26 bileşik tespit edildi ve kromatografik sistemlerle yapılan analizlerde bileşiklerin tümünün yapıları aydınlatıldı. Yapılan analizlerde, *O. sipyleum* uçucu yağında  $\beta$ -karyofilen (%22,15),  $\gamma$ -terpinen (%18,15),  $\beta$ -kubeben (%17,02) ve  $\rho$ -simen (%4,86) majör bileşenler olduğu belirlendi. Ayrıca, uçucu yağda timol miktarı %4,30 iken karvakrol miktarı ise % 3,77 olduğu tespit edildi. *O. sipyleum* uçucu yağın yarısından fazlası seskiterpen hidrokarbonlardan oluşmaktadır. Bu güne kadar yapılan araştırmalarda, *Origanum* türlerinin uçucu yağlarında majör olarak bulunan bileşiklerin çoğunun Muğla'da yetişen *O. sipyleum* uçucu yağında da majör olduğu belirlendi.  $\beta$ -karyofilen,  $\gamma$ -terpinen,  $\rho$ -simen, timol, karvakrol ve germakren D üzerine çalıştığımız uçucu yağda da majör bileşenlerdendir. Elde edilen sonuçlar literatürlerle uyum içindedir (Nakiboğlu vd., 2007; Karan vd., 2018; Başer vd., 1992; Vaziran vd., 2015; Başer, 2002; Çakır, 2011; Akçam-Oluk vd., 2013; Erbaş ve Fakir, 2012; Bernath, 1996; Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd., 1998). Seskiterpen hidrokarbon olan beta-kubeben ilk defa üzerine çalıştığımız türde majör olarak bu tez çalışmasıyla belirlendi. Apolar bileşenleri taşıyan hekzan ekstresinde ise palmitik asit (%48,20), heptakosanol (%9,10), cis-oleik asit (%8,90) ve sinamik asit (%8,65) majör bileşenler olarak tespit belirlendi. Elde edilen sonuçlar literatürlerle uyum içindedir (Erbaş ve Fakir, 2012; Bernath, 1996; Alves-Pereira ve Fernandes –Ferreira, 1998; Socorro vd., 1998).



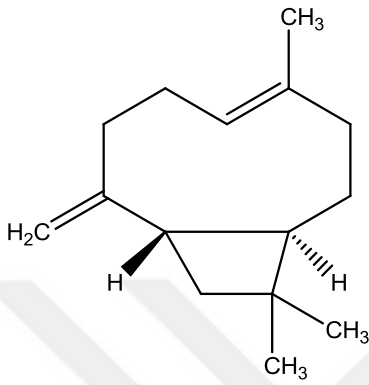
*p*-Simen



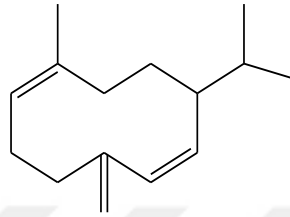
$\gamma$ -Terpinen



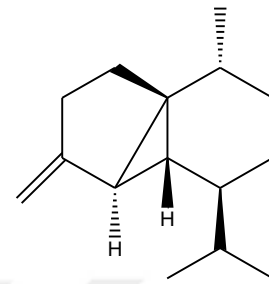
Timol



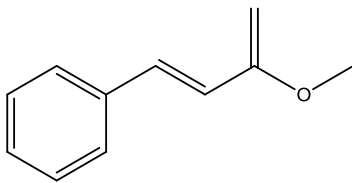
$\beta$ -Karyofilen



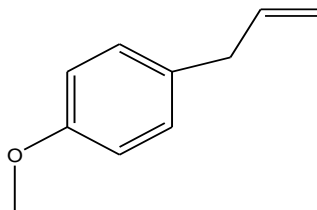
Germakren D



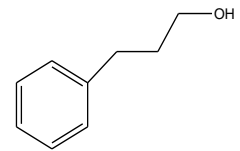
$\beta$ -Kubeben



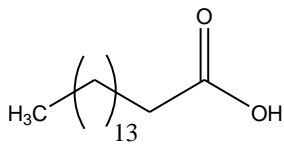
Sinnamik asit metil esteri



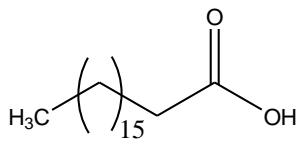
Estragol



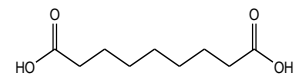
3-Fenil propanol



Palmitik asit



Stearik Asit



Azeleik asit

**Şekil 3.51. *O. sipyleum* uçucu yağ ve hekzan ekstresinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları**

*O. sipyleum* ekstrelerinin ve uçucu yağının antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi, DPPH serbest radikal giderimi, ABTS<sup>+</sup> katyonu giderimi ve CUPRAC indirgeme gücü aktivitesi ile belirlendi. Bunların yanı sıra, *O. sipyleum* ekstrelerinin ve uçucu yağının antikolinesteraz enzim inhibisyonu, üreaz enzim inhibisyonu ve tirozinaz enzim inhibisyonu aktiviteleri de ilk defa bu tez çalışmasıyla araştırıldı. Antioksidan aktivite testlerinin gerçekleştirildiği tüm yöntemlerde metanol ekstresinin en yüksek aktivite gösterdiği, aseton ekstresinin de ikinci sırada ve kayda değer aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Uçucu yağın antioksidan aktivitesinin metanol ve aseton ekstrelerine göre düşük olduğu hesaplandı. Nakipoğlu vd. (2007) *O. sipyleum*'dan elde ettiği çeşitli ekstrelerinin antioksidan aktivitelerini rapor etmişlerdir. Literatürdeki bu araştırmada elde edilen sonuçlarla bu tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlar birbirine paralellik göstermektedir. Ayrıca, Kaska (2018) ve Vaziran vd.'nin (2015) yaptığı antioksidan aktivite test sonuçları ile tez çalışmasında elde ettiğimiz antioksidan aktivite sonuçları uyum içindedir.

*O. sipyleum* aseton ve metanol ekstrelerinin fenolik bileşik içeriği 28 adet referans madde ile kontrol etmek suretiyle, HPLC\_DAD sistemi kullanılarak analiz edildi. Buna göre Aseton ekstresinde protokateşik asit, kateşin hidrat ve vanilik asitin belirlenenler içinde majör olduğu, metanol ekstresinde ise rosmarinik asit ve 4-hidroksi benzoik asitin majör olduğu, her iki ekstrede de kateşin hidratın ortak bileşen olduğu belirlendi. Bu sonuçlar bu güne kadar bu türün fenolik bileşik üzerine yapılan araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (Semiz vd., 2018; Özkan vd., 2007).

Ekstrelerin ve uçucu yağın antikolinesteraz enzim inhibisyonu aktiviteleri hem asetilkolinesteraz hem de bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitelerine karşı inhibisyonlarına göre test edildi. *O. sipyleum*'un diklorometan ekstresi diğer örneklerden daha fazla inhibisyon göstermektedir. Buna karşılık, *O. sipyleum*'un uçucu yağı diğer ekstrelerden çok daha yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu (%60,95) gösterirken, diklorometan ekstresi %50,25'lik inhibisyonla ikinci düzeyde aktivite göstermektedir. Antioksidan aktivitelerde düşük aktivite gösteren diklorometan ekstresi ve uçucu yağın antikolinesteraz aktivitesinin yüksek olması dikkat çekmektedir.

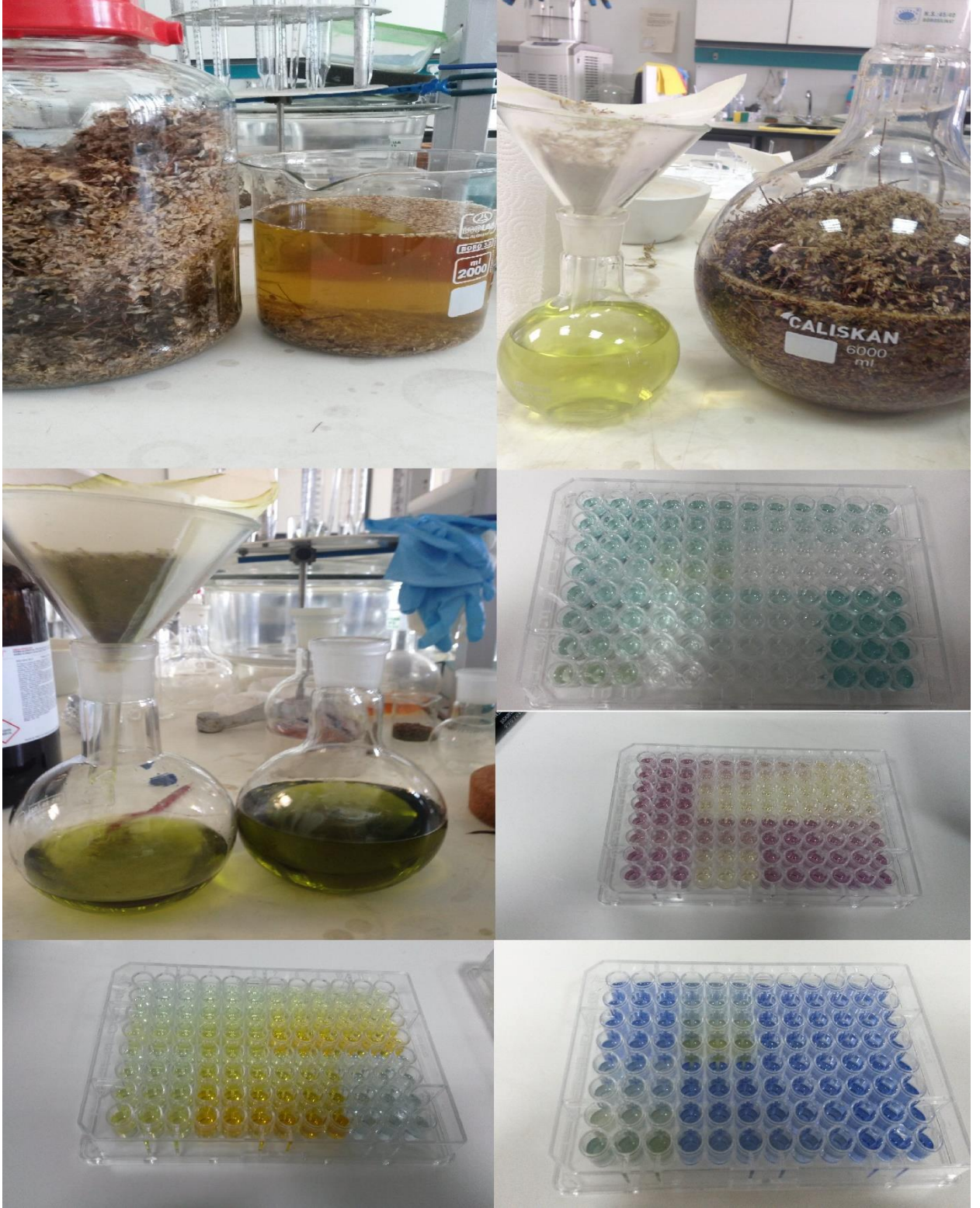
*Origanum sipyleum* L. ekstrelerinin üreaz enzim inhibisyon aktivite test sonuçları incelendiğinde; metanol ekstresi üreaz enzimi inhibisyonu bakımından en yüksek

aktivite göstermekte olup, apolar ekstrelerde aktivite belirlenemedi. 200 µg/ml Konsantrasyonda metanol ekstresi (%72,29), 50 µg/ml konsantrasyondaki tiyoüre'nin gösterdiği aktiviteyle (%71,26) yarışmaktadır. Bu yönüyle metanol ekstresi, yüksek düzeyde antioksidan aktivite göstermesinin yanı sıra, kayda değer düzeyde de üreaz enzimini inhibe etmektedir. Benzer şekilde, triozinaz enzim inhibisyonları incelendiğinde yine metanol ekstresi diğer ekstrelerden çok daha yüksek aktivite göstermektedir.

Tüm aktivite sonuçları birlikte değerlendirildiğinde metanol ve aseton ekstresinin yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu, üreaz ve triozinaz enzimine karşı da yüksek düzeyde inhibisyon gösterdiği söylenebilir. Buna karşın metanol ve aseton ekstresinin antikolinesteraz aktivitesinin düşük olduğu ancak, uçucu yağın ve diklorometan ekstresinin ise diğer ekstrelerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bu verilere göre, ileride yapılacak çalışmalarda, *Origanum sipyleum*'un aseton ve metanol ekstresinin antioksidan aktivite, üreaz veya triozinaz enzim aktivite kontrollü olarak izolasyonların yapılması yeni doğal enzim inhibitörleri veya doğal antioksidanları belirleme noktasında ülkemiz bilimimize katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

## EKLER

EK A. *Origanum sipyleum*'a ait ekstrelerin ve aktivitelelerin resimleri



## KAYNAKÇA

- Abdel-Massih, R., Abdou, E., Baydoun, E. ve Daoud, Z. (2010) Antibacterial Activity of the Extracts Obtained from Rosmarinus officinalis, Origanum majorana, and Trigonella foenumgraecum on Highly Drug-resistant Gram Negative Bacilli. J Bot, 1
- Acıbuca, V. ve Budak, D.B. (2018) *Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi*, Çukurova J. Agric. Food Sci, 33(1): 37-44
- Adams, R.P. (1989) *Identification Of Essential Oils By Ion Trap Mass Spectroscopy*, Academic Pres, New York.
- Adams, R.P. (2004) *Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy*. Allured publishing Co, Carol Stream, IL, USA, 456
- Akçam-Oluk, E., Çakır, A., Yaşa, İ., Çapanlar, S. ve Kırmızıgül, S. (2013) Comparison of the antimicrobial activity and essential oil content of wild and micropropagated *Origanum sipyleum L.*: A medicinal herb native to Turkey, *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(6): 230-233.
- Akgül, A. (1993) *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:15 Ankara.
- Alves-Pereira, I.M.S. ve Fernandes Ferreira, M. (1998) Essential oils and hydrocarbons from leaves and cali of *Origanum vulgare ssp. Virens.*, *Phytochemistry*, 48; 5, 795-799.
- Anonim, (2017) WHO, <http://who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/>  
Erişime Açılma Tarihi: 27 Şubat 2017.
- Anonim, (2011) TÜBİTAK - Türkiye Bitkileri Veri Servisi, <http://www.tubitak.gov.tr/tubives/>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erçağ, E. (2006) The CUPRAC antioxidant capacity and polyphenolics content of some herbal teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292-304
- Arı, A. (2006) *Histolojik Olarak Mide Kanseri İle Helicobacter Pylori Arasındaki İlişki*, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim Hastanesi II.Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık tezi, İstanbul.

- Aruoma, O.I. ve Cuppet, S.L. (1997) Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept. Champaign, Illinois, AOCS Press. 241.
- Aytar, B.S., Bakir, U. (2008) Preparation of cross-linked tyrosinase aggregates. *Process Biochem*, 43: 125–131
- Azcan, N., Kara, M., Demirci, B. ve Başer, K.H.C. (2004) Fatty Acids of The Seeds Of *Origanum onites* L. And *O. vulgare* L, *Lipids*, Vol. 39, No: 5.
- Azizi, A. Yan, F., Honermeier, B. ve Herbage, Y. (2009) *Essential Oil Content And Composition of Three Oregano (Origanum vulgare L.) Populations As Affected By Soil Moisture Regimes And Nitrogen Supply.*, *Industrial Crops And Products* 29, 554–561.
- Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (2002) Bitki Biyoteknolojisi, Cilt I, Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya, 374.
- Bağcı, E. ve Dığrak, M. (1996) Bazı Orman Ağaçlarının Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri, *Tr. J. Of Biology*, 20: 191-198.
- Başer, K. H. C. (2002) *The Turkish Origanum Species. In: Oregano, the Genera Origanum and Lippia (Ed. S. E. Kintzios)*, Taylor and Francis, UK. 109
- Başer, K.H.C. (2008) Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils, *Curr. Pharm. Design*, 14: 3106–3119.
- Başer, K.H.C. (2010) *Tıbbi ve Aromatik Bitkisel Ürünlerin Üretimi ve Kalite Kontrolü*, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, Eylül 2010.
- Başer, K.H.C., Özek, T. ve Kürkçüoğlu, M. (1992) Composition of The Essential Oil of *Origanum sipyleum* of Turkish Origin, *J. Ess. Oil Res.*, 4: 139-142.
- Başer, K.H.C., Özek, T., Tümen, G. ve Sezik, E. (1994) Ticari önemi olan Türk *Origanum* Türlerinin Uçucu Yağları, *TAB Bülteni*, 10: 28-30.
- Baydar, H. (2007) *Tıbbi Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilim ve Teknolojisi*, SDÜ Ziraat Fakültesi, Isparta, yayın no.51,.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. ve Karadođan, T. (2004) Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15: 169–172.
- Bayrak, A. (2006) *Gıda Aromaları*, Gıda Teknolojisi Derneği No: 32, Ankara, 497

- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S. ve Telci, D. (2010) Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, Ocak, Ankara, Bildiriler Kitabı, I: 437-456.
- Baytop, T. (1997) *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*, İkinci Baskı, T.D.K. Yay.No. 578, Ankara, 20
- Baytop, T. (1999) *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul, 226.
- Baytop, T. ve Mathew, B. (1984) *The Bulbous Plants of Turkey*, Batsford Ltd., London. 132 sayfa
- Bejaoui, A., Boulila, A. ve Boussaid, M. (2013) *Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils and Solvent Extracts of Origanum vulgare subsp. glandulosum Desf. from Tunisia*. J Med Plants Res, 7 (32): 2429
- Bernath, J. (1996) Some scientific and practical aspects of production and utilization of oregano in central Europea. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, *CIHEAM*, 76-91.
- Bouhdid, S., Skali, S.N., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Amensour, M. ve Abrini, J. (2008) Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil, *Afr. J. Biotechnol.* 7: 1563–1570.
- Boydağ, İ. (1996) *Üç Origanum Türü: Origanum majarona L., O. minutiflorum O. Schwarz and P.H. Davis ve O. onites L. Uçucu Yağlarının Fraksiyonlu Distilasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 133 s.
- Cao, G. ve Prior, R.L. (1999) In vivo antioxidant capacity: comperison of different analytical methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 1173-1181.
- Ceylan, A. (1996) *Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ Bitkileri)*, E. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No. 481.
- Coelho da Costa, A., Cavalcanti dos Santos, B.E., Santos, F.L. ve Lima, E.O. (2009) Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients. *Rev. Bras. Farmacogn*, 19: 236–241.
- Coelho, JP., Cristino, AF., Matos, PG., Rauter, AP., Nobre, BP., Mendes, RL, Barroso, CG., Mainar A, Urieta, CS., Fareleira, JMNA., Sovová, H. ve Palavra, AF. (2012) Extraction of Volatile Oil from Aromatic Plants with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling, *Molecule*, 17(9): 10550-10573.

- Coşgun, S., Girisgin, O., Kürkcüoğlu, M., Malyer, H., Girisgin, O.A., Kırmır, N. ve Başer, K.H.C. (2008) Acaricidal Efficacy of *Origanum onites* L. Essential Oil Against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae) Springer-Verlag Parasitol Resource, 103, 259–261.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. (1997) İridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv Chim Acta*, 80: 1144-1152.
- Çakır, A. (2011) *Batı Anadolu Endemiği Origanum Sipyleum L.(Kekik) Bitkisinin In Vitro Mikroçoğaltımı Ve Mikrobikilerde Uçucu Yağ İçeriğinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 54 sayfa
- Çalikoğlu, E., Kırılan, M. ve Bayrak, A. (2006) *Uçucu Yağ Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakış*, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26.
- Çulhaoğlu, B. (2011) *Salvia chrysophylla ve Salvia trichoclada Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Yarı Sentetik Türevlerinin Eldesi, Antioksidan Ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 162 sayfa
- Dadalıoğlu, I. ve Evrendilek, G.A. (2004) Chemical composition 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. *J. Agric, Food Chem.* 52: 8255–8260.
- Davis, P. H., Mill, R. R. ve Tan, K. (1988) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement)*, 10, *University Press*, Edinburgh.
- Davis, P.H. (1982) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Volume 7, *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- Demiray, E. ve Yılmaz, O. (2007) *Helicobacter Pylori İnfeksiyonunda Üreaz Enziminin Rolü ve Önemi*, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37: 112-117
- Demirezer, L.Ö. (2010) *Bitkilerin Tıpta Kullanılması Konusundaki Sorumluluklarımız*, *Bitkilerle Tedavi Sempozyumu 5-6 Haziran 2010 Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı*, s: 8788
- Deveci E., Tel-Çayan G, Duru M.E. (2018) Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*, *International Journal of Food Properties*, 21: 771–783

- Dinç, Y. (2009) *Üreaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 90 sayfa
- Duru, M. E. (1993) *Liquidambar Orientalis var. Orientalis ve Liquidambar Orientalis var. Integriloba Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağın Analizi*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 73s.
- Duru, M.E., Çakır, A. ve Harmandar, M. (2002) Composition of the volatile oils isolated from the leaves of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis* and *L. orientalis* var. *integriloba* from Turkey, *Flavour And Fragrance Journal*, 17: 95-98.
- Dündar, E., Gürlek Olgun, E., Işıksoy, S., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C. ve Bal, C. (2008) *The effects of intrarectal and intra-peritoneal application of Origanum onites L. essential oil on 2, 4, trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat*, *Experimental and Toxicologic Pathology* 59 : 399–40.
- El Babılı, F., Bouajila, J., Souchard, P. J., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Moulis, C. ve Valentin, A. (2011) *Oregano: Chemical Analysis and Evaluation of Its Antimalarial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities*, *J Food Sci*, 76, 512
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherston, R. M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, 7: 88–95.
- Erbaş, S. ve Fakir, H. (2012) Türkiye'nin Batı Akdeniz Yöresinde doğal olarak yetişen dağ çayı (*Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Benth) Bornm) ve bayır kekiği (*Origanum sipyleum* L.) türlerinin uçucu yağ oranları ve bileşenlerinin belirlenmesi, *SDU Faculty of Forestry Journal*, 13; 119-122.
- Erdoğan A. ve Özkan A. (2011) "A Comparative Evaluation Of Antioxidant And Anticancer Activity Of Essential Oil From *Origanum Onites* (Lamiaceae) And Its Two Major Phenolic Components", *Turkish Journal of Biology*, vol.35, pp.735-742,
- Ergün, H. (1996) *Origanum sipyleum* Bitkisinin Organik Asitlerinin HPLC ile Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, 40 sayfa
- Evans, W.C. (1989) *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 13th Edition, Bailliere Tindall, London, p.204.
- Evren M. ve Tekgüler B. (2011) Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri, *Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3): 28-40,

- Falco, E.D., Mancini, E., Roscigno, G., Mignola, E., Tagliatalata-Scafati, O. Ve Senatore, F. (2013) Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under Different Growth Conditions, *Molecules*. 18(12): 14948–14960.
- Faleiro, L., Miguel, G., Gomes, S., Costa, L., Venâncio, F., Teixeira, A., Figueiredo, C., Barroso, J.G. ve Pedro, L.G. (2005) Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. J. Agric, *Food Chem*. 53: 8162–8168.
- Farnsworth, N. R. (1990) The role of the ethnopharmacology in drug development. In Bioactive Compounds from Plants, *CIBA Foundation Symposium* 154., pp. 2-21 Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore; John Wiley & Sons.
- Franssen, M.C.R., Steunenbergh, P., Scott, E.L., Zuilhofac, H., Sanders, J.P.M. (2013) *Immobilised enzymes in biorenewables production*, *Chem Soc Rev* 42: 6491-6533.
- Grossberg, G, T. (2003) Cholinesterase Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease: Getting On and Staying On, *Curr Ther Res Clin Exp*. 64(4): 216–235
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K.H.C. (2000) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Supplement 2, Volume 11, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Gürbüz, B., İpek, İ. ve Ayvaz, N. (2011) Türkiye Florasındaki *Origanum* Türlerinin Yayılış Alanları ve Ticareti, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 4 (2):55-58, 2011.
- Harborne J. B. (1988) *Phytochemical Methods*, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, 42, Third Edition, Chapman&Hall, London.
- Hartman R. E. (2009) *Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology*, Micronutrients and Brain Health Enrique Cadenas and Lester Packer Helmut Sies Manfred Eggersdorfer.
- Hudson, B.J.F. (1990) *Food Antioxidants*, Elsevier Applied Science, London and New York; pp: 1-316
- İlisulu, K. (1992), *İlaç ve Baharat Bitkileri*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1256, Ankara.

- Kalender, V. (2006) *Origanum sipyleum L.'un Farklı Populasyonlarında Genetik Varyasyonun Moleküler Düzeyde Tespit Edilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon, 54 sayfa
- Karaboduk, K., Karabacak, O., Karaboduk, H. ve Tekinay, T. (2014) *Chemical Analysis And Antimicrobial Activities Of The Origanum vulgare subsp. Hirtum*, Journal of Environmental Protection and Ecology, 15, No 3A, 1283–1292
- Karan, T., Simsek,Ş., Yıldız, İ., Erenler, R. (2018) Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Origanum syriacum L.* Essential Oil Against *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*, *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(2): 87–93.
- Kaska, A. (2018) The phenolic content, antioxidant and cytotoxic activities of *Origanum sipyleum* from Turkey, *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(4): 343-352.
- Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S. ve Trivic, S. (2011) *Antioxidant Capacity of Ocimum basilicum L. and Origanum vulgare L. Extracts*, Molecules, 16: 7401
- Kaya, D. ve Ergönül, P.G. (2015) Obtaining methods of volatile oils, *GIDA-Journal of Food* 40(5), 303-310.
- Khan, K.M., Iqbal, S., Lodhi, M.A., Maharvi, G.M., Ullah, Z., Choudhary, M.I., Rahman, A.U., Perveen, S. (2004) Biscoumarin: new class of urease inhibitors; economical synthesis and activity, *Bioorg. Med. Chem.* 12: 1963-1968
- Kitiki, A. (1996) Status of Cultivation and Use of Oregano in Turkey, Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, *CIHEAM*, 122-132.
- Kokkini, S. (1996) Taxonomy, diversity and distribution of origanum species. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, *CIHEAM*, 2-12.
- Küçükaydın S. (2014) *Thymus Cariensis Üzerine Fitokimyasal Çalışmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 98 sayfa
- Kürşad, M., Emre, I., Yılmaz, O. ve Erecevit, P. (2011) 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 (4): 410
- Larson, R.A. (1988) The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry* 27: 969-978.

- Lemhandri, A., Zeggwagh, N. A., Maghrani, M., Jouad, H. ve Eddouks, M. (2004) *Antihyperglycaemic Activity of the Aqueous Extract of Origanum vulgare Growing Wild in Tafilalet Region*, J Ethnopharmacol, 92: 251
- Levi, S., Beardshail, K., Haddad, G., Playford, R., Ghosh, P. ve Çalam, J. (1989) C.Pylori and duodenal ulcers: The Gastin link, *Lancet* 1: 1167-1168.
- Loizzo, M. R., Menichini, F., Conforti, F., Tundis, R., Bonesi, M., Saab, A. M., Statti, G. A., de Cindio, B., Houghton, P. J., Menichini, F. ve Frega, N. G. (2009) Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils, *Food Chem* 117: 174–180 pp.
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y. ve Yonemori, S. (2005) Screening for tyrosinase inhibitors among extracts for seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garicinia subelliptica*. Biosci. Biotechnol, *Biochem* 69: 197-201
- Miller, H.M. (1971) A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*: 48-91.
- Nakiboglu, M., Öztürk Ürek, R., Ayar Kayali, H. ve Tarhan, L. (2007) Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey, *Food Chem* 104: 630–635.
- Nordberg, A. ve Svensson, A.L. (1998) Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease: a comparison of tolerability and pharmacology, *Drug Saf. Dec* 19(6): 465-80.
- Oflaz, S., Kürkçüoğlu, M. ve Başer, K.H.C. (2002) *Origanum onites* ve *Origanum vulgare subsp. hirtum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri. Toplantısı, Bildiriler, 29–31 Mayıs, 252–258.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yılmaz, G., Kan, Y., Konuklugil, B., Şener, B. ve Choudhary, M.I. (2007) Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species, *Food Chem* 103: 1247-1254.
- Oskay D. ve Oskay M. (2009) *Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi*, e-Journal of New World Sciences Academy, Volume: 4, Number: 2
- Özçelik, H. (2000) *Studies on protections of endemic and rare plants of Lakes region*, Bull. Pure Appl. Sci., 93 -116

- Özer, B., Serin, E., Coşar, A., Kayaselçuk, F., Gür, G., Yılmaz, U. ve Boyacıoğlu, S. (2004) *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisinde lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin ile ranitidin bizmut sitrat, lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin rejimlerinin etkinliğinin karşılaştırılması, Akademik Gastroenteroloji Dergisi, 3: 125-128
- Özhatay, N., Koyuncu M., Altay S. ve Byfield, A. (1997) Türkiye'nin doğal tıbbi bitkilerinin ticareti hakkında bir çalışma, İstanbul
- Özkan, G. (2007) *Türkiye' de Lamiaceae (Labiatae) Familyasına Ait Baharat veya Çeşni Olarak Kullanılan Bazı Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 163 sayfa
- Özkan, G., Baydar, H. ve Erbas, S. (2010) The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites L.*), *J Sci Food Agric*, 90: 205–209 pp.
- Özkan, G., Sağdıç O., Ekici L., Öztürk İ. ve Özcan M.M. (2007) Phenolic Compounds Of *Origanum sipyleum L.* Extract, And Its Antioxidant and Antibacterialactivities, *Journal of Food Lipids* 14: 157–169
- Özkan, O.E., Güney, K., Gür, M., Pattabanoğlu, E.S., Babat, E. ve Khalifa, M.M. (2017) Essential Oil of Oregano and Savory; Chemical Composition and Antimicrobial Activity, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3): 205-208.
- Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M.E. ve Topçu, G. (2007) Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem* 103: 623–630.
- Papas, A.M. (1996) Determinants of antioxidant status in humans, *Lipids* 31: 77-82
- Paster, N., Menasherov, M., Shaaya, E., Juven, B. ve Ravid, U. (1993) The use of essential oils applied as fumigants to control mycotoxigenic fungi attacking stored grain, *Hassadeh*. 74: 25 -27
- Polatoğlu, İ. (2016) *Tirozinaz Enzim Aktivitesi Üzerine Reaksiyon Parametre Etkilerinin UV Spektrofotometre ile Yerinde Analiz Edilmesi*, CBÜ Fen Bil. Dergi., 2: 319-325

- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K. ve Kumar, M. N. (2006) Role of Antioxidants in Prophylaxis and Therapy: A Pharmaceutical Perspective, *Journal of Controlled Release* 113: 189–207.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1989) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* 26: 1231–1237,.
- Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. (2002) *Antioxidation*. In, Akoh CC, Min DB, Food Lipids Chemistry, New York: Marcel Dekker Inc. pp.: 335-542
- Rice-Evans C., Miller N. ve Paganga G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science* 2(4): 152-159
- Ruiz, B., Correa, P., Fonham, ETH. ve Ramaknshnan, T. (1996) Antral atrophy, Helicobacîer Pylon, colonization and gastric pH, *Am J Clin Pathol*, 105: 96-101
- Sadıkoglu, N. (2005) *Kekik Olarak Kullanılan Türler Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 113 sayfa.
- Saraç, N., Uğur, A., Duru, M.E. ve Varol, Ö. (2009) Antimicrobial activity, antioxidant activity and chemical composition of *Origanum onites* L. and *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart from Mugla (Turkey), *Acta Hortic.* 826: 397–403.
- Sarı, A.O., Oğuz, B., Fırat, A.E., Açıkgöz, N. ve Aydın, A. (2002) *Kekik*, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, 108, İzmir, 82s.
- Selinheimo, E. (2008) *Tyrosinase and laccase as novel crosslinking tools for food biopolymers*, E publishing, Helsinki
- Semiz, G., Semiz, A. ve Mercan-Doğan, N. (2018) Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four *Origanum* species from southeastern Turkey, *International Journal of Food Properties*, 21(1): 194-204.
- Socorro, O., Terrega, I. ve Rivas, F. (1998) Essential oils from wild and micropropagated plants of *Origanum batetatum*, *Phytochemistry*, 48(18): 1347-1349.
- Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E.O. ve Trajano, V.N. (2007) Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Control.* 18: 409–413.

- Sökmen, B.B. ve Yılmazoğlu, B. (2018) *Tirozinaz Enziminin Giresun Yöresinde Yetişen Yenilebilir Kanlıca Mantarından (Lactarius salmonicolor) Saflaştırılması ve Karakterizasyonu*, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 8(2): 10-23
- Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C. A., Bodırlau, R. ve Armatu, A. (2011) *Antioxidant Capacity and Total Phenolic Contents of Oregano (Origanum vulgare), Lavender (Lavandula angustifolia) and Lemon Balm (Melissa officinalis) from Romania*, Nat Product Res, 25 (17): 1657
- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Polissiou, M. ve Ağar, G. (2004) Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* in the Eastern Anatolia Region of Turkey, *Food Control*. 15: 549–557.
- Tabata, M., Honda, G. ve Sezik, E. (1988) *A Report on Traditional Medicine and Medicinal Plants in Turkey*, Fac. Pharmceut. Sci., Kyoto University.
- Tanker, M., Tanker, N. (1990) *Farmokognozi*, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları No:65, Cilt 2, Ankara, s.269.
- Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun M. (1998) *Farmasötik Botanik*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 343 s.
- Tekin, S. B. (2013) *Bazı Origanum Türleri Ve Biyoaktif Bileşenlerinin Fonksiyonel Özelliklerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 79 s.
- Tel, G. (2010) *Salvia chionantha'nın Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla, 104s.
- Tel, G., Apaydın, M., Duru, M.E. ve Öztürk, M. (2012) Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three Tricholoma species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia, *Food Analytical Methods*, 5(3): 495–504.
- Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M.E., Rehman, M., Adhikari, A., Türkoglu, A. ve Choudhary, M.I. (2015) Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*, *Ind Crops Prod*, 76: 749-75

- Tepe, B., Çakır A. ve Tepe Sihođlu. A. (2016) Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Origanum onites* (L.): A Review, *Chem. Biodiversity*, 13: 504 – 520
- Thomson, R. H. (1993) *The Chemistry of Natural Products*, Second Edition, Cahpman& Hall, Suffolk, 106.
- Tommasi, L., Negro, C., Miceli, A. ve Mazzotta, F. (2009) Antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants grown in the Mediterranean area, *J. Essent. Oil Res.* 21: 185–189
- Topçu, G., Bodige, S.G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Watson, W.H. ve CCDC, (2001) *Private Communication*, 1078, Chambridge Crystallographic Data Centre.
- Torođlu, S. ve Çenet, M. (2006) *Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metotlar*, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2): 12-19.
- Tümen, G., Başer, K. H. C. ve Kırimer, N. (1995) *The Essential Oils of Turkish Origanum Species: A Treatise*, 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, 15-19 October, İstanbul, vol. 2, 200-210
- Tyler, V.E., Brady, L.R. ve Robers, J.E. (1981) *Pharmacognosy*, Les and Febiger, 8th Edition Philadelphia, 160-200.
- Vamos-Vigyazo, L. (1981) *Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables*, CRC Critical Reviews Food Science and Nutrition, 15: 49-127
- Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Dönmez, E. ve Vural, N. (2007) Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis, *J. Sci. Food Agric.* 87: 255–259.
- Vazirian, M., Mohammadi, M., Farzaei, M.H., Amin, G. ve Amanzadeh, Y. (2015) Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oil from Iran, *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)* 2(1): 41-46.
- Vokou, D., Kokkini, S. ve Bessiere, J.M. (1993) *Geographic variation of Greek oregano (Origanum vulgare ssp. hirtum) essential oils*. *Biochem Syst Ecol* 21: 287–295 pp.

- Xue, C.B., Luo, W.C., Ding, Q., Liu, S.Z. ve Gao, X.X. (2008) *Quantitative structure–activity relationship studies of mushroom tyrosinase inhibitors*, J Comput Aided Mol Des, 22: 299–309.
- Yaman, T. ve Kuleaşan, Ş. (2016) *Uçucu Yağ Elde Etmede Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri*, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Özel Sayı 1: 78-83
- Yaylı, N. (2013) *Uçucu Yağlar ve Tıbbi Kullanımları*, 1. İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi, Standardizasyonu Kongresi, Kimyagerler Derneği, 29-31 Mart 2013, Antalya
- Yaylı, N., Yaşar, A., Güleç, C., Usta, A., Kolaylı, S., Coşkunçelebi, K. ve Karaoğlu, Ş. (2005) Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena*, *Phytochemistry* 66: 1741–1745.
- Zarzuelo, A. ve Crespo, E. (2002) *The Medicinal and Non Medicinal Uses of Thyme. Thyme, The Genus Thymus*, 263-292.
- Zheng, Z.L., Tan, J.Y.W., Liu, H.Y., Zhou, X.H., Xiang, X. ve Wang, K.Y. (2009) *Evaluation of oregano essential oil (Origanum heracleoticum L.) on growth, antioxidant effect and resistance against Aeromonas hydrophila in channel catfish (Ictalurus punctatus)*, Aquaculture 292: 214–218

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Şilan Aydemir  
Uyruk : T.C.  
Doğum Yeri ve Tarihi : 12/10/1992  
Medeni Hali : Bekar  
Telefon : 0 506 026 23 93  
E-posta : silan\_1571@hotmail.com.tr

## Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Gaziemir Lisesi	2011
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2016
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2019

## İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2011-2018	Sosyete Bazaar- Kuşadası/Aydın	Satış Elemanı (Sezonluk)
2016-2017	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Kısmi zamanlı öğrenci
2017-2018	– Gıda Analizleri Laboratuvarı	

## Yabancı Dil(ler)

İngilizce	Seviye
Yazma	Orta
Konuşma	Orta
Anlama	Orta
Okuma	Orta