

**BAZI ORIGANUM TÜRLERİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR**

Ecz. Esen SEZEN KARAOĞLAN

Eczacılık-Farmakognozi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN**

Doktora Tezi

2011

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI

BAZI *ORIGANUM* TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

Esen SEZEN KARAOĞLAN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 07.09.2011

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 30.09.2011

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Maksut COŞKUN

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hasan SEÇEN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Zühal GÜVENALP

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. İsmail CEYLAN

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN

Doktora Tezi
ERZURUM 2011

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
RESİMLER DİZİNİ	XIII
SPEKTRUMLAR DİZİNİ	XIV
TEŞEKKÜR	XVI
ÖZET	XVII
SUMMARY	XVIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	4
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Botanik Bilgiler	6
2.1.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyası	6
2.1.2. <i>Origanum</i> Cinsi	7
2.1.2.1. <i>O. micranthum</i> Vogel	8
2.1.2.2. <i>O. minutiflorum</i> O. Schwarz & P.H. Davis	8
2.1.2.3. <i>O. rotundifolium</i> Boiss.	9
2.1.3. <i>Origanum</i> Türlerinin Yayılışı	9
2.2. <i>Origanum</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	12
2.2.1. Flavonoitler	12
2.2.1.1. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan flavon bileşikleri ve heterozitleri	12

	<u>Sayfa no</u>
2.2.1.1.1. Apigenin, apigenin türevi ve heterozitleri bulunan <i>Origanum</i> türleri	12
2.2.1.1.2. Luteolin, luteolin türevi ve heterozitleri bulunan <i>Origanum</i> türleri	13
2.2.1.1.3. Genkvanin içeren <i>Origanum</i> türleri	14
2.2.1.1.4. Sirsimaritin içeren <i>Origanum</i> türleri	14
2.2.1.1.5. Timusin içeren <i>Origanum</i> türleri	15
2.2.1.1.6. Visenin-2 içeren <i>Origanum</i> türleri	15
2.2.1.1.7. Timonin içeren <i>Origanum</i> türleri	16
2.2.1.1.8. Orientin içeren <i>Origanum</i> türleri	16
2.2.1.1.9. İzorientin içeren <i>Origanum</i> türleri	17
2.2.1.1.10. Viteksin içeren <i>Origanum</i> türleri	17
2.2.1.1.11. İzoviteksin içeren <i>Origanum</i> türleri	18
2.2.1.1.12. Salvigenin içeren <i>Origanum</i> türleri	18
2.2.1.1.13. Akasetin ve heterozitlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	19
2.2.1.1.14. Diosmetin ve heterozitlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	19
2.2.1.1.15. Hesperidin içeren <i>Origanum</i> türleri	20
2.2.1.2. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan bazı flavonol bileşikleri	21
2.2.1.2.1. Kersetin, kersetin türevi ve heterozitleri içeren <i>Origanum</i> türleri	21
2.2.1.2.2. Kemferol ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	22
2.2.1.2.3. Rutin içeren <i>Origanum</i> türleri	22
2.2.1.2.4. Astragalin içeren <i>Origanum</i> türleri	23
2.2.1.2.5. Mirsetin içeren <i>Origanum</i> türleri	23
2.2.1.3. <i>Origanum</i> türünde bulunan bazı dihidroflavonol bileşikleri	24

	<u>Sayfa no</u>
2.2.1.3.1. Dihidrokersetin içeren <i>Origanum</i> türleri	24
2.2.1.3.2. Dihidrokemferol içeren <i>Origanum</i> türleri	24
2.2.1.3.3. Naringin içeren <i>Origanum</i> türleri	25
2.2.1.4. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan flavanon bileşikleri	26
2.2.1.4.1. Eriodiktiyol ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	26
2.2.1.4.2. Naringenin içeren <i>Origanum</i> türleri	26
2.2.1.5. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan bazı biflavon bileşikleri	27
2.2.1.6. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan antosiyanidin bileşikleri	27
2.2.2. Fenolik Bileşikler	28
2.2.2.1. <i>Origanum</i> türlerinde bulunan fenolik asitler	28
2.2.2.1.1. Ferulik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	28
2.2.2.1.2. Sinnamik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	28
2.2.2.1.3. Hidroksisinnamik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	29
2.2.2.1.4. Kafeik asit ve kafeik asit türevi içeren <i>Origanum</i> türleri	29
2.2.2.1.5. Klorojenik asit ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	30
2.2.2.1.6. Kafeik asit esteri içeren <i>Origanum</i> türleri	31
2.2.2.1.7. <i>o</i> -Kumarik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	32
2.2.2.1.8. <i>p</i> -Hidroksibenzoik asit ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	32
2.2.2.1.9. Protokateşik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	33
2.2.2.1.10. Vanilik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	33
2.2.2.1.11. İzovanilik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	34
2.2.2.1.12. Rosmarinik asit ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	34

	<u>Sayfa no</u>
2.2.2.1.13. Litospermik asit ve türevlerini içeren <i>Origanum</i> türleri	35
2.2.2.1.14. Salvianolik asit A ve Salvianolik asit C içeren <i>Origanum</i> türleri	37
2.2.2.1.15. Siringik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	38
2.2.2.1.16. Gallik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	38
2.2.3. Triterpenik Bileşikler	39
2.2.3.1. Ursolik asit ve ursolik asit türevi içeren <i>Origanum</i> türleri	39
2.2.3.2. Oleanolik asit ve oleanolik asit türevi içeren <i>Origanum</i> türleri	40
2.2.3.3. β -amirin içeren <i>Origanum</i> türleri	41
2.2.3.4. Betulin içeren <i>Origanum</i> türleri	41
2.2.3.5. Betulinik asit içeren <i>Origanum</i> türleri	42
2.2.3.6. Lupeol ve türevini içeren <i>Origanum</i> türleri	42
2.2.4. Dihydrobenzodioksan Türevi Bileşikler	43
2.2.4.1. Origalignanol içeren <i>Origanum</i> türleri	43
2.2.5. Uçucu Yağlar	44
2.2.6. Monoterpen Heterozitleri	50
2.2.7. Diğerleri	51
2.3. <i>Origanum</i> Türlerinin Kullanılışı, Biyolojik Aktiviteleri, Klinik ve Toksisite Çalışmaları	52
2.3.1. Antibakteriyal Aktivite	52
2.3.2. Antiviral Aktivite	56
2.3.3. Antiparaziter Aktivite	56
2.3.4. Antifungal Aktivite	57
2.3.5. Antioksidan Aktivite	59

	<u>Sayfa no</u>
2.3.6. Antienflamatuvar Aktivite	64
2.3.7. Antiplatelet Etki	64
2.3.8. İnsektisidal Etki	65
2.3.9. Sitotoksik, Antikanserojen, Antimutajen, Antiproliferatif Etkiler	66
2.3.10. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz İnhibisyonu	67
2.3.11. Diyabet Üzerindeki Etkileri	68
2.3.12. Safra ve Karaciğer Üzerindeki Etkileri	68
2.3.13. Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri	69
2.3.14. Deri Pigmentasyonu Üzerindeki Etkiler	69
2.3.15. Diğer Aktivite Çalışmaları	69
2.3.16. Klinik Çalışmalar	70
2.3.17. Akut ve Uzun Dönem Doz Toksisite Çalışmaları	70
2.3.18. Patent Çalışmaları	71
3. MATERYAL VE METOD	73
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	73
3.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler	73
3.1.1.1. Bitki Materyali	73
3.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler	73
3.1.1.2.a. Katı Kimyasal Maddeler	73
3.1.1.2.b. Solvanlar	73
3.1.1.2.c. Revelatörler	73
3.1.1.2.d. Adsorbanlar	74

	<u>Sayfa no</u>
3.1.1.2.e. Solvan sistemleri	75
3.1.1.2.f. Aletler	76
3.1.1.3. Kromatografik Yöntemler	77
3.1.1.3.a. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	77
3.1.1.3.b. Açık Kolon Kromatografisi (KK)	77
3.1.2. Ekstraksiyon	79
3.1.3. İzolasyon Çalışmaları	80
3.1.3.1. <i>Origanum micranthum</i> üzerinde izolasyon çalışmaları	80
3.1.3.1.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	80
3.1.3.1.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	80
3.1.3.1.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	80
3.1.3.2. <i>Origanum minutiflorum</i> üzerinde izolasyon çalışmaları	82
3.1.3.2.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	82
3.1.3.2.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	82
3.1.3.2.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	83
3.1.3.3. <i>Origanum rotundifolium</i> üzerinde izolasyon çalışmaları	85
3.1.3.3.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	85
3.1.3.3.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	85
3.1.3.3.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	85
3.2. Beyin Korteks Hücre Kültüründe Nöroprotektif Etkinin Araştırılması	87
3.2.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler	87
3.2.1.1. Deney Hayvanları	87

	<u>Sayfa no</u>
3.2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	87
3.2.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	88
3.2.1.4. Nöron Kültürü Hazırlama	89
3.2.1.5. Bitki Ekstreleri ve Saf Maddelerin Uygulanması	91
3.2.1.6. MTT Analizi	92
4. BULGULAR	93
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	93
4.1.1. <i>O. micranthum</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	93
4.1.1.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü	93
4.1.1.1.1. 1-Tetradekanol (Miristol Alkol, Miristik Alkol)	93
4.1.1.2. Triterpenik Yapılar	99
4.1.1.2.1. Ursolik Asit	99
4.1.1.2.2. Oleanolik Asit	102
4.1.1.3. Fenolik Bileşikler	109
4.1.1.3.1. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit	109
4.1.1.3.2. Rosmarinik Asit	121
4.1.1.3.3. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu)	127
4.1.2. <i>O. minutiflorum</i> 'un Fitokimyasal Çalışmalarına Ait Bulgular	134
4.1.2.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü	134
4.1.2.1.1. 1-Tetradekanol (Miristol Alkol, Miristik Alkol)	134
4.1.2.2. Fenolik Asitler	134
4.1.2.2.1. Rosmarinik Asit	134

	<u>Sayfa no</u>
4.1.2.3. Flavonoitler	135
4.1.2.3.1. Apigenin	135
4.1.2.3.2. Visenin-2	140
4.1.3. <i>O. rotundifolium</i> 'un Fitokimyasal Çalışmalarına Ait Bulgular	148
4.1.3.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü	148
4.1.3.1.1. 1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol)	148
4.1.3.2. Fenolik Bileşenler	148
4.1.3.2.1. Rosmarinik Asit	148
4.1.3.2.2. Litospermik Asit	149
4.2. Korteks Hücre Kültüründe Nöroprotektif Etki Çalışmasının Sonuçları	159
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	161
6. KAYNAKLAR	169

SİMGELER VE KISALTMALAR

AEF	: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
bd	: Broad dublet
CD ₃ OD	: Dötero Metanol
CH ₃	: Metil
CHCl ₃	: Kloroform
¹³ C-NMR	: ¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
CO ₂	: Karbondioksit
COOH	: Karboksilik asit
COSY	: Correlation Spectroscopy
cm	: Santimetre
CH ₃ O	: Metoksi
d	: Dublet
dd	: Dublet dublet
DEPT	: Distortionless Enhanced by Polarization Transfer
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EtOAc	: Etil asetat
g	: Gram
HBSS	: Hank's Blanced Salt Solution
¹ H-NMR	: ¹ H-Nükleer Manyetik Rezonans
H ₂ O	: Su
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
HETCOR	: Heteronuclear Correlation Spectroscopy

HMBC	: Heteronuclear Multi Bond Coherence
Hz	: Hertz
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
<i>J</i>	: Etkileşme Sabiti
KK	: Kolon Kromatografisi
m	: Multiplet
MA	: Moleküler Ağırlık
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
SFK	: Sefadeks Kolon Kromatografisi
SK	: Silika jel Kolon Kromatografisi
t	: Triplet
TF-İTK	: Ters faz İnce Tabaka Kromatografisi
TF-SK	: Ters faz silika jel Kolon Kromatografisi
UV	: Ultraviole
µg	: Mikrogram

TABLolar DİZİNİ

- Tablo 1:** Türkiye’de yetişen *Origanum* türleri
- Tablo 2:** Yeryüzünde yetişen *Origanum* taksonları
- Tablo 3:** Uçuçu yağ içeren *Origanum* türleri
- Tablo 4:** *Origanum* türlerinde bulunan başlıca uçucu bileşenlerin şekilleri
- Tablo 5:** *Origanum* türlerinin veya içinde *Origanum* türlerinin de bulunduğu bitki karışımlarının patent çalışmaları
- Tablo 6:** Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar
- Tablo 7:** Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri
- Tablo 8:** 1- Tetradekanol (**OM1**)’ün ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 9:** 1- Tetradekanol (**OM1**)’ün ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 10:** Ursolik asit (**OM2A**)’nin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 11:** Ursolik asit (**OM2A**)’nin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 12:** Oleanolik asit (**OM2B**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 13:** Oleanolik asit (**OM2B**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 14:** 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit (**OM3**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 15:** 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit (**OM3**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 16:** Rosmarinik asit (**OM4**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 17:** Rosmarinik asit (**OM4**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 18:** Danshensu (**OM5**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 19:** Danshensu (**OM5**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 20:** Apigenin (**OMF3**) ^1H -NMR Spektral Değerleri

- Tablo 21:** Apigenin (**OMF3**) ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 22:** Visenin-2 (**OMF4**)'nin ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 23:** Visenin-2 (**OMF4**)'nin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 24:** Litospermik asit (**OR3**)'in ^1H -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 25:** Litosospermik asit (**OR3**) ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
- Tablo 26:** *O. micranthum* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi
- Tablo 27:** *O. minutiflorum* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi
- Tablo 28:** *O. rotundifolium* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi
- Tablo 29:** Apigenin'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi
- Tablo 30:** Rosmarinik asit'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi
- Tablo 31:** 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: *Origanum micranthum* üzerinde izolasyon çalışmaları

Şekil 2: *Origanum minutiflorum* üzerinde izolasyon çalışmaları

Şekil 3: *Origanum rotundifolium* üzerinde izolasyon çalışmaları

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: *Origanum micranthum*

Resim 2: *Origanum micranthum*

Resim 3: *Origanum minutiflorum*

Resim 4: *Origanum minutiflorum*

Resim 5: *Origanum rotundifolium*

Resim 6: Mikroskopta nöron görünümü

Resim 7: Korteks hücre kültüründe kullanılan flask resmi

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 1:	1-Tetradekanol ^1H -NMR Spektrumu	
Spektrum 2:	1-Tetradekanol ^{13}C -NMR Spektrumu	
Spektrum 3:	1-Tetradekanol Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu	
Spektrum 4:	Ursolik asit ve Oleanolik asit <i>karişımının</i> ^1H -NMR Spektrumu	
Spektrum 5:	Ursolik asit ve Oleanolik asit <i>karişımının</i> ^{13}C -NMR Spektrumu	
Spektrum 6:	Ursolik asit ve Oleanolik asit <i>karişımının</i> ^{13}C -NMR Spektrumu	
Spektrum 7:	Ursolik asit ve Oleanolik asit <i>karişımının</i> ^{13}C -NMR Spektrumu	
Spektrum 8:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Spektrumu	^1H -NMR
Spektrum 9:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Spektrumu	^1H -NMR
Spektrum10:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Spektrumu	^{13}C -NMR
Spektrum 11:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit DEPT Spektrumu	
Spektrum 12:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit COSY Spektrumu	
Spektrum 13:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit HMBC Spektrumu	
Spektrum 14:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Spektrumu	HETCOR
Spektrum 15:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Spektrumu	HETCOR
Spektrum 16:	4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit Pozitif iyon ESI- Kütle m/z Spektrumu	
Spektrum 17:	Rosmarinik asit ^1H -NMR Spektrumu	
Spektrum 18:	Rosmarinik asit ^1H -NMR Spektrumu	
Spektrum 19:	Rosmarinik asit ^{13}C -NMR Spektrumu	

Spektrum 20:	3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 21:	3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 22:	3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 23:	3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu
Spektrum 24:	Apigenin ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 25:	Apigenin ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 26:	Visenin-2 ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 27:	Visenin-2 ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 28:	Visenin-2 ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 29:	Visenin-2 Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu
Spektrum 30:	Litospermik asit ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 31:	Litospermik asit ^1H -NMR Spektrumu
Spektrum 32:	Litospermik asit ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 33:	Litospermik asit ^{13}C -NMR Spektrumu
Spektrum 34:	Litospermik asit HETCOR Spektrumu
Spektrum 35:	Litospermik asit HETCOR Spektrumu
Spektrum 36:	Litospermik asit Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında benden bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ufuk Özgen'e;

Bitki teşhisinde bize yardımcı olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Maksut Coşkun ve Prof. Dr. Mehmet Koyuncu'ya, izole edilen bileşiklerin NMR spektrumlarının alınmasını sağlayan Doç. Dr. Cavit Kazaz'a, alınan spektrumların yorumlanmasında bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. İhsan Çalış'a, Korteks Hücre Kültürü Çalışmasındaki destek ve emeklerinden dolayı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet Hacımüftüoğlu ve araştırma görevlisi Damla Çetin'e, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim üyesi Abdulgani Tatar'a,

Ders aşamasındaki yardımlarından dolayı Anabilim Dalımız öğretim üyesi Doç. Dr. Zuhale Güvenalp'e, laboratuvar arkadaşım Araş. Gör. Hilal Özbek'e, Araş. Gör. Handan Sevindik'e, Araş. Gör. Eylem Kına'ya;

Çalışmalarım esnasında benden desteklerini esirgemeyen sevgili babam Lütfi Sezen, annem Esma Sezen, eşim Mehmet Fatih Karaoğlu, ablam Işık Sezen, ağabeyim Hakan Sezen'e ve bana destek olan ismini burada sayamayacağım herkese sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

BAZI ORIGANUM TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ÇALIŞMALAR

Origanum cinsi Labiatae familyasına ait bir cins olup, Türkiye’de 22 *Origanum* türüne ait 32 takson yetişmektedir. Bunlardan 21 taksonu Türkiye için endemiktir. *Origanum* türleri ülkemizde "kekik, mercankösk, merzengüş" olarak bilinmektedir. *Origanum* cinsinin timol ve karvakrol taşıyan türleri baharat olarak kullanılır. *Origanum* türlerinin antibakteriyal, antifungal, antiviral, antioksidan, antienflamatuar, antiplatelet, antikanserojen, sitotoksik, antidiyabetik, asetilkolinesteraz ve bütilkolinesteraz inhibitörü, gastrointestinal sistem, safra, karaciğer üzerinde koruyucu ve insektisidal gibi birçok etkisinin olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada, Kozan (Adana)’ın yüksek yaylarında yetişen ve halk arasında çayı halinde kullanılan endemik bir tür olan *O. micranthum*, Antalya’nın bazı yörelerinde yetişen ve yurtdışına ihraç edilen endemik bir tür olan *O. minutiflorum* ve Yusufeli (Artvin)’nden toplanan *O. rotundifolium* türlerinin kloroform, etil asetat ve su ekstraktları kromatografik yöntemlerle çalışılmış ve *O. micranthum* ekstresinden 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol, bir triterpen yapısında bir bileşik karışımı [ursolik asit ve oleanolik asit karışımı] ve 3 fenolik bileşik [4(3,4-dihidroksibenzoiloksümetil)fenil- β -D-glukopiranozit, rosmarinik asit ve 3-(3,4-dihidroksifenil)-2-hidroksipropionik asit (Danshensu); *O. minutiflorum* ekstresinden 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol, bir fenolik bileşen rosmarinik asit, iki flavon yapısında bileşik apigenin, visenin-2, *O. rotundifolium* ekstresinden 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol, 2 fenolik bileşen rosmarinik asit ve litospermik asit izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve 2D-NMR yöntemleri ile tayin edilmiştir.

O. micranthum, *O. rotundifolium* ve *O. minutiflorum* metanol ekstraktları ile apigenin, rosmarinik asit ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksümetil)fenil- β -D-glukopiranozit 100, 50, 25, 10, 5 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarda korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkilerinin bulunup bulunmadığı incelenmiştir. *O. micranthum* metanol ekstresi 100, 50, 25 $\mu\text{g/ml}$ dozlarda; apigenin 25 $\mu\text{g/ml}$ dozda, rosmarinik asit 50 $\mu\text{g/ml}$ dozda anlamlı derecede etkili bulunmuştur. *O. rotundifolium*, *O. minutiflorum* metanol ekstraktları ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksümetil)fenil- β -D-glukopiranozit’in hiçbir dozu anlamlı bir etki göstermemiştir.

Anahtar kelimeler: *Origanum micranthum* Vogel, *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Origanum rotundifolium* Boiss., Labiatae, flavonoid, triterpen, fenolik bileşik, doymuş yağ alkolü, nöroprotektif etki, korteks hücre kültürü.

SUMMARY

PHARMACOGNOSIC STUDIES ON SOME *ORIGANUM* SPECIES

Origanum genus belonging to Labiatae family is represented by about 22 species and 32 taxa in Turkey. 21 taxa of them are endemic in Turkish flora. *Origanum* species are known as "kekik, mercanköşk, merzengüş". It has been shown antioxidant, antiinflammatory, antifungal, antibacterial, antidiabetic, gastroprotective, hepatoprotective, and insecticidal effect on *Origanum* species.

In this study, it has been studied on three *Origanum* species: *O. micranthum* grows in high plato of Kozan (Adana) and it has been used as a herbal tea in Kozan. *O. minutiflorum* grows in Antalya and it has been exported. *O. rotundifolium* has been collected from Yusufeli (Artvin). It has been prepared methanolic extract from these three *Origanum* species. Chloroform, ethyl acetate, and water extracts have been partitioned from methanolic extract. Using several chromatographically studies, 1-tetradecanol, ursolic acid, oleanolic acid, rosmarinic acid, 4(3,4-dihydroxybenzoiloxymethyl)phenyl- β -D-glucopyranoside, and 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-hydroxypropionic acid (Danshensu) have been isolated from *O. micranthum*; 1-tetradecanol, apigenin, vicenin-2 and rosmarinic acid from *O. minutiflorum*; 1-tetradecanol, rosmarinic acid and lithospermic acid from *O. rotundifolium*.

In this study, the neuroprotective effect on cortex cell culture of apigenin, rosmarinic acid, 4(3,4-dihydroxybenzoiloxymethyl)phenyl- β -D-glucopyranoside, and methanolic extracts of *O. micranthum*, *O. rotundifolium* and *O. minutiflorum* has been investigated at 100, 50, 25, 10, 5 μ g/ml concentrations. It has been found to be effective the methanolic extract of *O. micranthum* at 100, 50, 25 μ g/ml concentrations; apigenin at 25 μ g/ml concentration, rosmarinic acid at 50 μ g/ml concentration.

Key words: *Origanum micranthum* Vogel, *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Origanum rotundifolium* Boiss., Labiatae, flavonoid, triterpene, phenolic compound, saturated fatty alcohol, neuroprotective effect, cortex cell culture.



Resim 1. *Origanum micranthum*



Resim 2. *Origanum micranthum*



Resim 3. *Origanum minutiflorum*



Resim 4. *Origanum minutiflorum*



Resim 5. *Origanum rotundifolium*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski zamanlardan bu yana ilaç olarak kullanılan doğal maddelerin çoğu bitkisel kökenli kaynaklardan elde edilmektedir. Kimya biliminin 18. yüzyıldan sonra gelişmesi bitkilerle tedavi yöntemleri yerine saf, 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 olmuştur¹.

Labiatae (= Lamiaceae) familyası aromatik, tek veya çok yıllık; otsu veya yarı çalı bitkilerden oluşan, yeryüzünde 200 cins ve 3300 türü bulunan bir familyadır². *Origanum* cinsi Labiatae familyasına ait bir cins olup, Türkiye’de 22 *Origanum* türüne ait 32 takson yetişmektedir. Bunlardan 21 taksonu Türkiye için endemiktir³.

Labiatae bitkileri genel olarak uçucu yağ, fenolik bileşikler (flavonoit, fenolik asit, asetofenon bileşikleri), diterpen ve triterpenlerin yanı sıra saponin, polifenol, tanen, iridoit, kinon, furanoit, siklitol, kumarin, birkaç piridin ve pirolidin alkaloidi gibi bileşikler taşıır². Labiatae familyasına ait *Origanum*, *Thymus*, *Coridothymus*, *Thymbra*, *Satureja* ve *Lippia* cinsleri ülkemizde kekik olarak bilinmektedir ve uçucu yağları monoterpenik fenol olan karvakrol ve timol bakımından zengindir⁴.

Mercanköşk, merzengüş olarak da bilinen *Origanum* cinsinin timol ve karvakrol taşıyan türleri baharat olarak kullanılır⁵.

Origanum türlerinin antibakteriyal, antifungal, antiviral, antioksidan, antienflamatuar, antiplatelet, antikanserojen, sitotoksik, antidiyabetik, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz inhibitörü, insektisidal, gastrointestinal sistem, safra, karaciğer üzerinde koruyucu gibi etkilerinin olduğunu yapılan literatür çalışmaları göstermiştir. Yapılan çalışmalar deri pigmentasyonunun kontrolünde olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, kozmetik sanayide deri beyazlaştırıcı olarak kullanılabileceği önerilmiştir. Yüksek antioksidan ve antimikrobiyal etkisinin bulunması gıda ve ilaç sanayide *Origanum* türlerinin kullanılmasının yararlı olabileceği görüşünü ortaya atmıştır. Alternatif tıpta yaygın olarak kullanılmakta olup, içinde *Origanum* türlerinin yalnız veya başka bitkilerle karışım şeklinde bulunduğu patent almış preperatlar kayıtlıdır.

Kekik ülkemizin önemli ihracat ürünlerinden biridir. Kekik ihracatının en az % 90’ını *Origanum* türleri oluşturmaktadır. Bunlar arasında doğadan en çok toplanan, tarımı ve ihracatı yapılan tür *O. onites* (İzmir kekiği)’dir. İhracat edilen diğer *Origanum* türleri ise *O.*

vulgare subsp. *hirtum*, *O. minutiflorum*, *O. syriacum* var. *bevanii*, *O. majorana* ve *O. acutidens*'dir³.

Yükseklisans çalışmamızda, *O. acutidens*'in toprak üstü kısmında saflaştırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, 1 triterpen yapısında bileşik karışımı (ursolik asit ve oleanolik asit karışımı), 2 fenolik bileşik (rosmarinik asit, litospermik asit), 1 flavon yapısında bileşik (visenin-2), 1 monoterpen heteroziti karışımı (betulalbusit-A ve 8-OH-linaloil glukozit) izole edilmiştir.

Beynin temel hücresi olan ve tüm zihinsel faaliyetlerden sorumlu olan hücrelere nöron adı verilir. Beyin, herhangi bir hasarlanmada geri dönüşümün hemen hemen olanaksız olduğu bir bölgedir. Nöroproteksiyon ya da diğer bir deyişle nöron koruyucu etki, nöronal hasarın bir kısmını geri döndüren ya da daha ileri hasarlanmaların oluşmasını önleyen ajanların uygulanması demektir. Bu ajanlar küçük moleküller olup kan-beyin bariyerini geçerek beyin iç kısmına ulaşabilirler. Nöroprotektif etkinin araştırılması günümüzde nörobilimin üzerinde en kapsamlı olarak durduğu alanlardan biridir⁶.

Beynin belirli bölgelerindeki, ortak özelliklere sahip nöron hücrelerinin ölümü sonucu, nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer, Parkinson, Huntington, Friedrich Ataksisi, Epilepsi, Amyotrofik Lateral Skleroz vb.) ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıklara karşı kullanılan ilaçların çoğu güçlü etkinliğe sahipken, aynı zamanda ciddi yan etkilere de sahiptir. Bu yüzden kimyasal terapötik ilaçlar yerine daha az yan etkiye sahip doğal kaynaklı ajanlar tercih edilebilir.

Bu çalışmada, Kozan (Adana)'ın yüksek yaylarında yetişen ve halk arasında çayı halinde kullanılan endemik bir tür olan *O. micranthum*, Antalya'nın bazı yörelerinde yetişen ve yurtdışına ihraç edilen endemik bir tür olan *O. minutiflorum* ve Yusufeli (Artvin)'nden toplanan *O. rotundifolium* çalışma konuları olarak seçilmiştir. Halk arasında kullanılan ve ekonomik önemi olan bu türler üzerinde fitokimyasal çalışma yapılması ve bu türlerin metanollü ekstraktları ve saflaştırılan bazı maddelerin nöroprotektif etkilerinin korteks hücre kültürleri üzerinde incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Otsu bitkiler veya çalılar, genellikle salgı tüyleri taşır ve aromatik bitkilerdir. Gövdeler dört köşeli veya değildir. Yapraklar stipulasız, basit, bazen pennat, daima karşılıklıdır. Çiçek durumu üst yapraklar veya braktelerin koltuklarında ortaya çıkan simoz durumunda ve genellikle vertisillastrumdur. Vertisillastrumlar spika, baş, rasemoz veya simoz oluşturabilir. Ginodioik bitkilerde çiçekler erdişi veya erkek kısırdır. Brakteler belirgin şekilde yapraklardan farklıdır veya yapraklara benzemektedir. Brakteoller bulunabilir veya yoktur. Kaliks genellikle üstte 3 dişli veya altta 2 dişli olmak üzere 5-lobludur ya da kaliks aktinomorftur. Damarlar 5-20 tanedir. Korolla gamopetal, zigomorftur; genellikle üst dudak 2-loblu falkat, düz veya az çok konkavdır; alt dudak 3 lobludur. Nadiren üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5-lobludur veya bir üst ve 4 alt loblu veya korolla aktinomorftur. Stamenler korollayla adnattır, 4 tane ve didinamdır veya 2 tanedir ve staminotlar genellikle bulunmaktadır, anter tekaları 2 veya 1 hücrelidir, paralel veya birbirinden uzaklaşan şekildedir; nadiren (*Salvia* türlerinde olduğu gibi) uzamış konnektifler ile ayrılır. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 ovüllü, 4 lobludur. Stilus ginobazik; nadiren değildir, yukarıda kısa bifiddir. Meyva 4 (nadiren daha az) kuru (çok nadir taze) fındıkçıktan oluşur. Isıtıldığında müsilaajlı veya değildir.

Familya, Akdeniz bölgesinde ve Türkiye’de yerli, dünya üzerinde kültürü yapılan ve yemeklerde baharat olarak kullanılan birçok bitkiyi içerir⁷.

2.1.2. *Origanum* Cinsi

Yarıçalımsı veya otsu, tüylü veya tüysüz (genellikle donuk mavimsi yeşil renkte) çok yıllık bitkilerdir. Gövdeler yükselici veya dik, genellikle dallanmış ve birkaç tanedir. Yapraklar hemen hemen sapsız veya az çok saplıdır; eliptik, ovat, kordat veya suborbikular şekildedir; kenarları düz veya az çok dişlidir; uç kısmı obtus veya akuminattır. Vertisillastrumlar 2 veya birkaç çiçeklidir; genellikle yalancı korimbus veya bir panikula şeklinde bulunan az çok yoğun, spika benzeri, çiçek durumları halinde kümeleşmiştir. Brakteler şekil ve büyüklük bakımından yapraklardan daima farklıdır; genellikle imbrikattır, kaliksin 1/2 veya 1/3'ü uzunluğundadır; ya zarımsı ve kısmen morumsu kırmızı ya da sarımsı yeşildir veya yapı ve renk bakımından yapraklara benzer. Çiçekler hermafrodit veya ginodioiktir. Kaliks çeşitlilik gösterir, hemen hemen aktinomorf ve 5 dişli veya zigomorf 1-2 dudaklıdır, 13 veya 10 damarlıdır; boğaz kısmı genellikle tüy halkası taşır. Korolla morumsu kırmızı pembe veya beyaz, az çok eşit 2 dudaklıdır; korolla tüpü bazen kese şeklinde veya düzdür; üst dudak emarginat veya kısa biçimde bilabiattır; alt dudak 3 lobludur. Stamenler 4 adet, alt çifti daha uzun; korollanın içinde veya dışarı uzamıştır, üst dudağın altından yükselir, dik veya birbirinden uzaklaşan şekildedir. Filamentler hemen hemen eş değildir; tekalar birbirinden uzaktır⁷.

Origanum (mercanköşk, merzengüş) cinsinde çiçekler, sık ve imbrikat dizilişli braktelerin koltuğundadır; kaliks 2 dudaklı ya da 5 dişli; korolla 2 dudaklıdır. Stamen 4 tane olup, birbirinden uzaklaşmıştır. Timol ve karvakrol taşıyan türler baharat olarak çok kullanılır⁵.

2.1.2.1. *O. micranthum* Vogel

Boyu 35 cm'ye kadar uzanan, hemen hemen çalimsı, tomentoz tüylüdür. Dallar 13 cm'ye kadar uzanan boyda ve her gövdede 10 çifttir. Yapraklar saplıdan hemen hemen sapsıza kadar değişen şekilde (yaprak sapı 5 mm'ye kadar uzunlukta); yuvarlağımsı, ovattan eliptiğe kadar değişen şekilde; 2-14 x 1.5-12 mm boyutlarında, hemen hemen obtustur. Spikulalar yaklaşık 3-10 x 3 mm'dir. Brakteler obovat veya eliptik, 1.5-4 x 1.5-3 mm ve hemen hemen obtusdur. Kaliks yaklaşık 2 mm'dir; üst dudak loblu veya yaklaşık 2/5'ine kadar genişçe üçgen dişlidir veya kenarları hemen hemen düzdür; alt dudak üst dudak ile hemen hemen aynı uzunluktadır ve genişçe üçgen dişlidir. Korolla pembe renklidir, 2.5-5 mm boyundadır. Temmuz ve Eylül ayları arasında çiçeklidir. Kayalık alanlarda ve yamaçlarda, yaklaşık 1500 m'de yetişir. Türkiye için endemik bir türdür⁷.

2.1.2.2. *O. minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis

Boyu 35 cm'ye kadar uzanan, hemen hemen çalimsı, kısa-yumuşak tüylüdür. Dallar 4 cm'ye kadar uzanan boyda ve her gövdede 10 çifttir. Yapraklar saplıdan hemen hemen sapsıza kadar değişen şekilde (yaprak sapı 6 mm'ye kadar uzunlukta); ovattan eliptiğe kadar değişen şekilde; 3-16 x 1-12 mm boyutlarında, hemen hemen akuttur. Spikulalar yaklaşık 2-8 x 3 mm'dir. Brakteler ovat veya eliptik, 1-3 x 0.5-1.5 mm ve hemen hemen obtusdur. Kaliks yaklaşık 2 mm'dir; üst dudak loblu veya yaklaşık 2/5'ine kadar genişçe üçgen dişlidir; alt dudak üst dudak ile hemen hemen aynı uzunluktadır ve genişçe üçgen dişlidir. Korolla beyaz renklidir, 2.5-4 mm boyundadır. Temmuz ve Ağustos ayları arasında çiçeklidir. Kayalık kireçli alanlarda ve yamaçlarda, 1500-1800 m'lerde yetişir. Türkiye için endemik bir türdür⁷.

2.1.2.3. *O. rotundifolium* Boiss.

Boyu 30 cm'ye kadar uzanan, hemen hemen çalimsı, az çok yumuşak tüylüdür. Dallar 5 cm'ye kadar uzanan boyda ve her gövdede 5 çifttir, sıklıkla çift olmayabilir. Yapraklar hemen hemen sapsızdır; kordat veya yuvarlağımsı şekilde; 6-25 x 4-20 mm boyutlarında, obtustur, hemen hemen donuk mavi yeşildir. Spikulalar bazen piramidal, 12-60 x 18-37 mm'dir. Brakteler yuvarlağımsı'dır, sıklıkla genişliği uzunluğundan fazladır, 8-25 x 7-27 mm ve obtusdur, sarımsı yeşil renktedir. Vertisillastrumlar 2-16 çiçeklidir. Kaliks 5-9 mm'dir; üst dudak genişçe ovat veya yaklaşık 2/5'ine kadar genişçe üçgen dişlidir veya kenarları hemen hemen düzdür; alt dudak üst dudağın yaklaşık 4/5'idir, hemen hemen ovat veya üçgen dişlerden oluşur. Korolla beyaz veya soluk pembe renklidir, 9-16 mm boyundadır. Üst filamentler 2 mm kadar uzunlukta, alt filamentler 10 mm kadar uzunluktadır. Haziran ve Eylül ayları arasında çiçeklidir. Kireçli ve kireçli olmayan kayalık alanlarda ve yamaçlarda, 250-1300 m'de yetişir⁷.

2.1.3. *Origanum* Türlerinin Yayılışı

Türkiye'de 22 *Origanum* türüne ait 32 takson yetişmektedir. Bunlardan 21 taksonu Türkiye için endemiktir. Dünyada bilinen 52 *Origanum* taksonunun % 60'ı Türkiye'de yayılış göstermektedir. Türkiye'de yetişen türler Tablo 1'de ve yeryüzünde yetişen kayıtlı türler Tablo 2'de verilmiştir³:

Tablo 1. Türkiye'de yetişen *Origanum* türleri

1	<i>O. boissieri</i> letswaart (E)
2	<i>O. saccatum</i> Davis (E)
3	<i>O. solymicum</i> Davis (E)
4	<i>O. hypericifolium</i> Schwartz et Davis (E)
5	<i>O. sipyleum</i> L. (E)
6	<i>O. acutidens</i> (Hand.- Mazz) letswaart (E)
7	<i>O. bargyli</i> Mouterde
8	<i>O. brevidens</i> (Bornm.) Dinsmore (E)
9	<i>O. haussknechtii</i> Boiss. (E)
10	<i>O. leptocladum</i> Boiss. (E)
11	<i>O. rotundifolium</i> Boiss.
12	<i>O. munzurense</i> Kit Tan et Sorger (E)
13	<i>O. husnucan-baseri</i> H. Duman, Z. Aytaç et A. Duran (E)
14	<i>O. amanum</i> Post (E)
15	<i>O. bilgeri</i> Davis (E)
16	<i>O. micranthum</i> Vogel (E)
17	<i>O. minutiflorum</i> Schwartz et Davis (E)
18	<i>O. majorana</i> L.
19	<i>O. onites</i> L.
20	<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i> letswaart
21	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i>
22	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>gracile</i> letswaart
23	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> letswaart
24	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>viride</i> Hayek
25	<i>O. laevigatum</i> Boiss. (E)
	Hibritler
26	<i>O. x dolichosiphon</i> P.H. Davis [<i>O. amanum</i> Post x <i>O. laevigatum</i> Boiss.] (E)
27	<i>O. x intermedium</i> P.H. Davis [<i>O. sipyleum</i> L. x <i>O. onites</i> L.] (E)
28	<i>O. x symeonis</i> Mouterde [<i>O. syriacum</i> L. x <i>O. laevigatum</i> Boiss.] (E)
29	<i>O. x intercedens</i> Rech. fil. [<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> letswaart x <i>O. onites</i> L.]
30	<i>O. x vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> letswaart x <i>O. micranthum</i> Vogel (E)
31	<i>O. x adanense</i> Baser et Duman [<i>O. laevigatum</i> Boiss. x <i>O. bargyli</i> Mouterde] (E)
32	<i>O. x majoricum</i> [<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>virens</i> letswaart x <i>O. majorana</i> L.]
	(E): Endemik tür

Tablo 2. Yeryüzünde yetişen *Origanum* taksonları

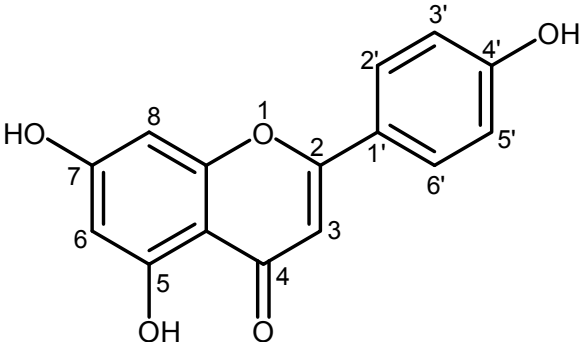
1	<i>O. boissieri</i> letswaart
2	<i>O. calcaratum</i> Jussieu
3	<i>O. cordifolium</i> Vogel
4	<i>O. dictamnus</i> L.
5	<i>O. saccatum</i> Davis
6	<i>O. solymicum</i> Davis
7	<i>O. symes</i> Carlström
8	<i>O. akhdarensense</i> letswaart et Boulos
9	<i>O. cyrenaicum</i> Beguinot et Vaccari
10	<i>O. hypericifolium</i> Schwartz et Davis
11	<i>O. libanoticum</i> Boissier
12	<i>O. pampaninii</i> letswaart
13	<i>O. scabrum</i> Boissier et Heldreich
14	<i>O. sipyleum</i> L.
15	<i>O. vetteri</i> Briquet et Barbey
16	<i>O. acutidens</i> letswaart
17	<i>O. bargyli</i> Mouterde
18	<i>O. brevidens</i> Dinsmore
19	<i>O. haussknechtii</i> Boissier
20	<i>O. husnucan-baseri</i> H. Duman, Z. Aytaç et A. Duran
21	<i>O. leptocladum</i> Boissier
22	<i>O. rotundifolium</i> Boissier
23	<i>O. amanum</i> Post
24	<i>O. bilgeri</i> Davis
25	<i>O. micranthum</i> Vogel
26	<i>O. microphyllum</i> Vogel
27	<i>O. minutiflorum</i> Schwartz et Davis
28	<i>O. majorana</i> L.
29	<i>O. onites</i> L.
30	<i>O. syriacum</i> L.
31	<i>O. syriacum</i> var. <i>syriacum</i>
32	<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i> letswaart
33	<i>O. syriacum</i> var. <i>sinaicum</i> letswaart
34	<i>O. dayi</i> Post
35	<i>O. isthmicum</i> Danin
36	<i>O. jordanicum</i> Danin and Künne
37	<i>O. petraeum</i> Danin
38	<i>O. punonense</i> Danin
39	<i>O. ramonense</i> Danin
40	<i>O. elongatum</i> Emberger ex Maire
41	<i>O. floribundum</i> Munby
42	<i>O. grosii</i> Pau et Font Quer ex letswaart
43	<i>O. vulgare</i> L.
44	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i>
45	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>glandulosum</i> letswaart
46	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>gracile</i> letswaart
47	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> letswaart
48	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>virens</i> letswaart
49	<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>viride</i> Hayek
50	<i>O. compactum</i> Benth
51	<i>O. ehrenbergii</i> Boissier
52	<i>O. laevigatum</i> Boissier

2.2. *Origanum* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

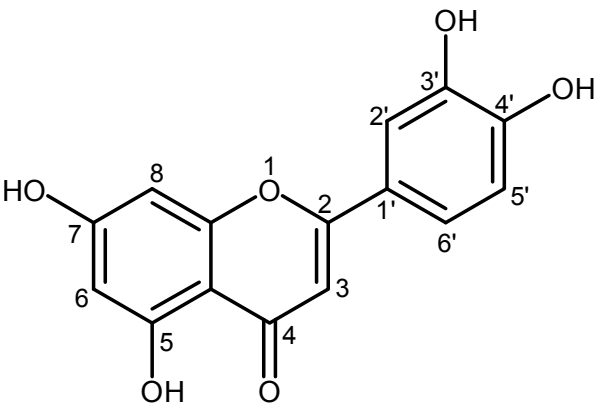
2.2.1. Flavonoitler

2.2.1.1. *Origanum* türlerinde bulunan flavon bileşikleri ve heterozitleri

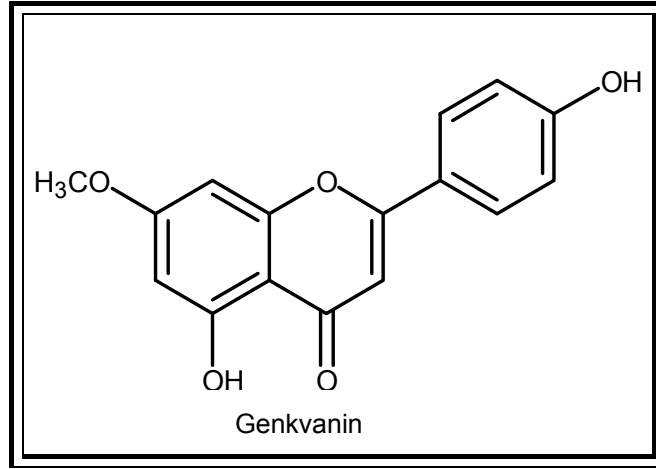
2.2.1.1.1. Apigenin, apigenin türevi ve heterozitleri bulunan *Origanum* türleri

 Apigenin	
Apigenin	<i>O. x majoricum</i> ^{8,9} , <i>O. infloescences</i> ¹⁰ , <i>O. dictamnus</i> ¹¹⁻¹³ , <i>O. maru</i> ¹⁴ , <i>O. heracleoticum</i> ¹⁵ , <i>O. vulgare</i> ¹⁶⁻²³ , <i>O. minutiflorum</i> ¹⁷ , <i>O. onites</i> ¹⁷ , <i>O. syriacum</i> ^{17,24} , <i>O. majorana</i> ^{25,26} , <i>O. sipyleum</i> ²⁷ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸
Apigenin 7-O-glukozit	<i>O. dictamnus</i> ²⁹ , <i>O. vulgare</i> ²² , <i>O. syriacum</i> ²⁴
Apigenin 7- β -D-glukozit	<i>O. majorana</i> ¹⁸
Apigenin 4'-metil eter	<i>O. dubium</i> ³⁰
Apigenin 7-O- β -D-glukuronit	<i>O. vulgare</i> ³¹
Apigenin 7-O- β -D-(6"-metil) glukuronit	<i>O. vulgare</i> ³¹
6-Hidroksi apigenin	<i>O. majorana</i> ³²
6-Hidroksi apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit	<i>O. majorana</i> ³²
6-Hidroksi apigenin-7-O-(6-O-feruloil)- β -D-glukopiranozit	<i>O. majorana</i> ³²
Apigenin-7-metileter-6-C-glukozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴

2.2.1.1.2. Luteolin, luteolin türevi ve heterozitleri bulunan *Origanum* türleri

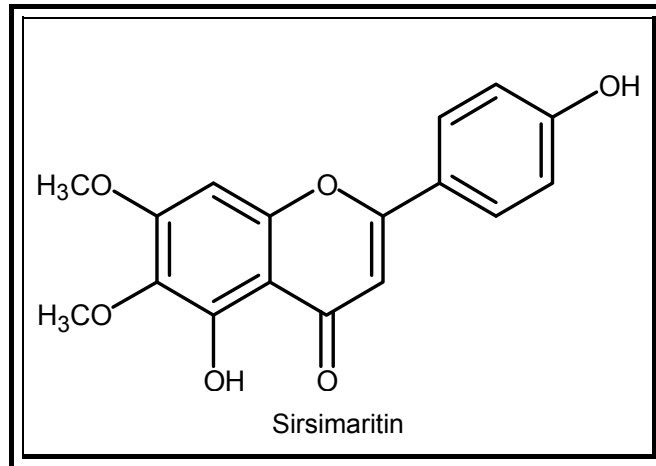
 Luteolin	
Luteolin	<i>O. dictamnus</i> ¹¹ , <i>O. maru</i> ¹⁴ , <i>O. vulgare</i> ^{16,18, 20-22, 31,33} , <i>O. majorana</i> ²⁵⁻²⁶ , <i>O. x majoricum</i> ⁹ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸ , <i>O. syriacum</i> ²⁴ , <i>O. minutiflorum</i> ³⁴
Luteolin 7-O-glukozit	<i>O. dictamnus</i> ²⁹ , <i>O. vulgare</i> ^{17,22} , <i>O. minutiflorum</i> ¹⁷ , <i>O. syriacum</i> ³⁵
Luteolin 7-O-β-D-glukopiranozit	<i>O. vulgare</i> ³¹
Luteolin 7-O-β-D-ksilopiranozit	<i>O. vulgare</i> ³¹
Luteolin 7-O-β-D-glukuronit	<i>O. vulgare</i> ³¹
Luteolin 7-O-glukuronit	<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ³⁶
Luteolin 7-β-D-diglukozit	<i>O. majorana</i> ¹⁸
3'-Metoksi luteolin	<i>O. x majoricum</i> ⁹ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸
6-hidroksiluteolin-7-O-β-D-glukopiranozit	<i>O. majorana</i> ³²
6-hidroksiluteolin-7-O-(6-O-feruloil)-β-D-glukopiranozit	<i>O. majorana</i> ³²
Luteolin 7-O-α-L-ramnozit-4'-O-β-D-glukozit	<i>O. vulgare</i> ²²
Luteolin-6-C-glukozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴
Luteolin-3'-metileter-6-glukozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴
Luteolin 7,4'-dimetileter-6-C-glukozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴

2.2.1.1.3. Genkvanin içeren *Origanum* türleri



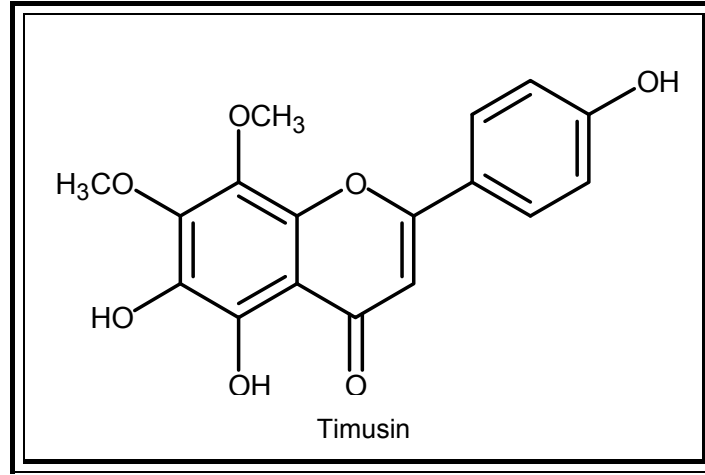
*O. x intercedens*³⁷ genkvanin içermektedir.

2.2.1.1.4. Sirsimaritin içeren *Origanum* türleri



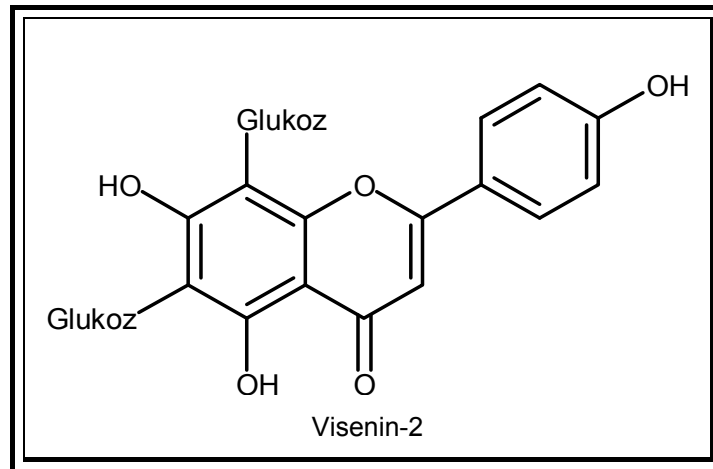
*O. x intercedens*³⁷, *O. vulgare*²² sirsimaritin içermektedir.

2.2.1.1.5. Timusin içeren *Origanum* türleri



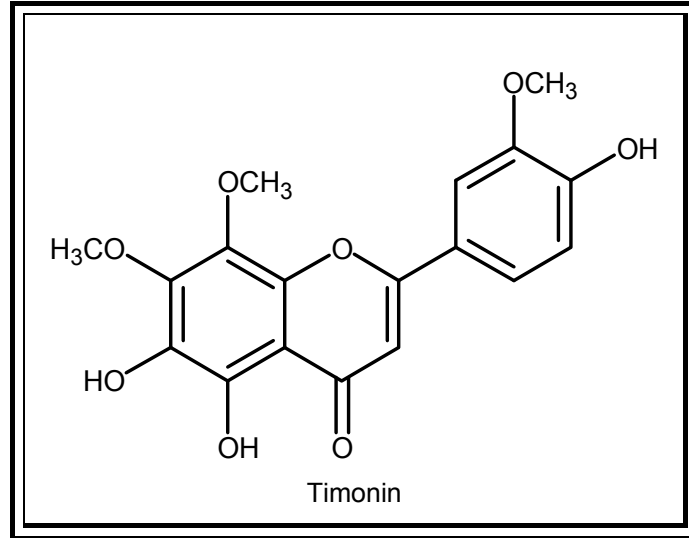
*O. x intercedens*³⁷ timusin içermektedir.

2.2.1.1.6. Visenin-2 içeren *Origanum* türleri



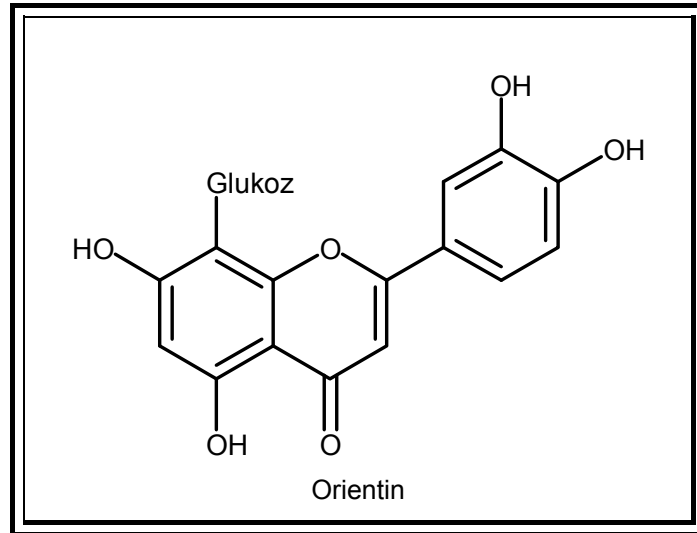
*O. dictamnus*²⁹, *O. vulgare* subsp. *hirtum*^{28,36}, *O. acutidens*³⁸ visenin-2 içermektedir.

2.2.1.1.7. Timonin içeren *Origanum* türleri



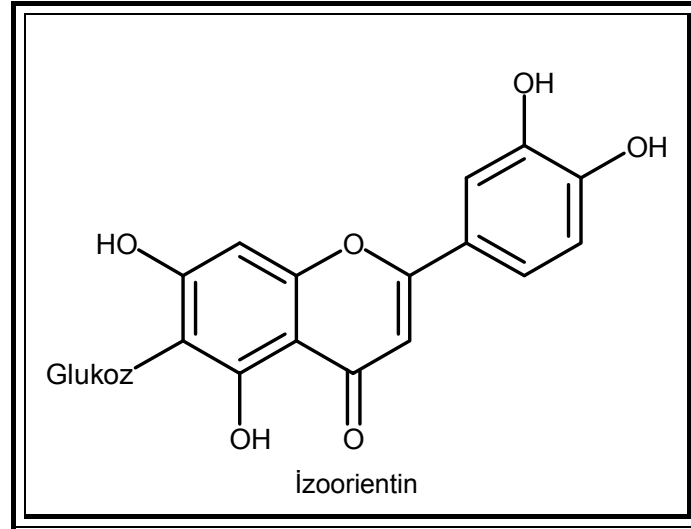
*O. x intercedens*³⁷ timonin içermektedir.

2.2.1.1.8. Orientin içeren *Origanum* türleri



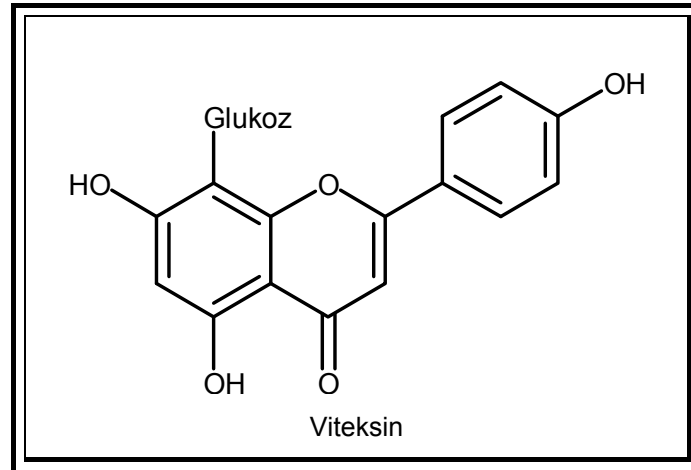
*O. dictamnus*²⁹ orientin içermektedir.

2.2.1.1.9. İzorientin içeren *Origanum* türleri



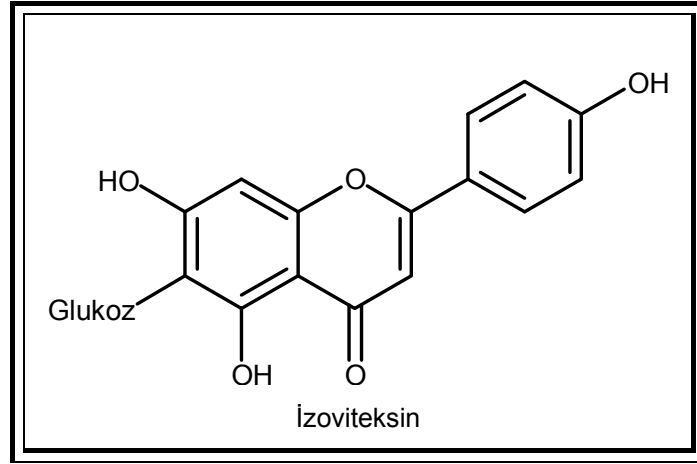
*O. dictamnus*²⁹ izorientin içermektedir.

2.2.1.1.10. Viteksin içeren *Origanum* türleri



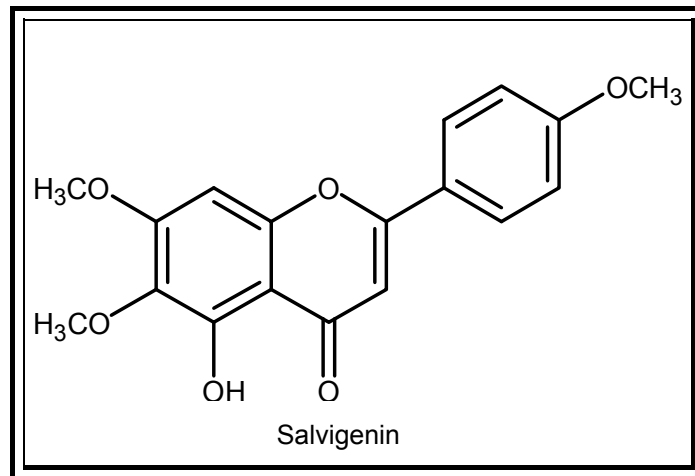
*O. maru*¹⁴, *O. dictamnus*²⁹, *O. vulgare*³³ ve *O. sipyleum*²⁷ viteksin içermektedir.

2.2.1.1.11. İzoviteksin içeren *Origanum* türleri



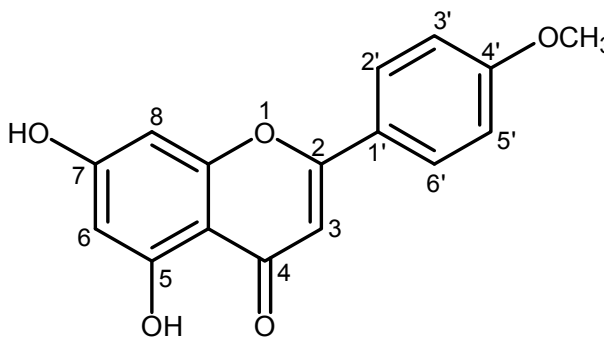
*O. dictamnus*²⁹ ve *O. vulgare*³³ izoviteksin içermektedir.

2.2.1.1.12. Salvigenin içeren *Origanum* türleri

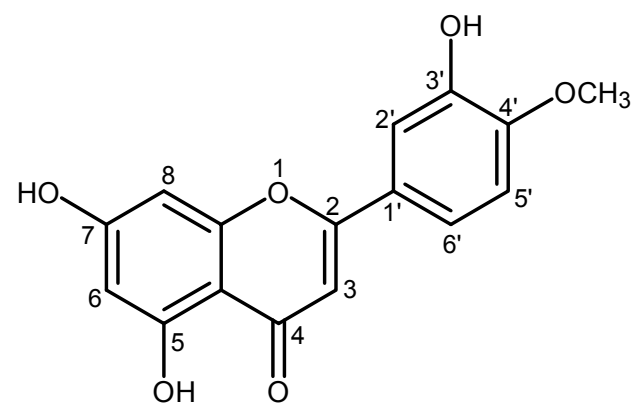


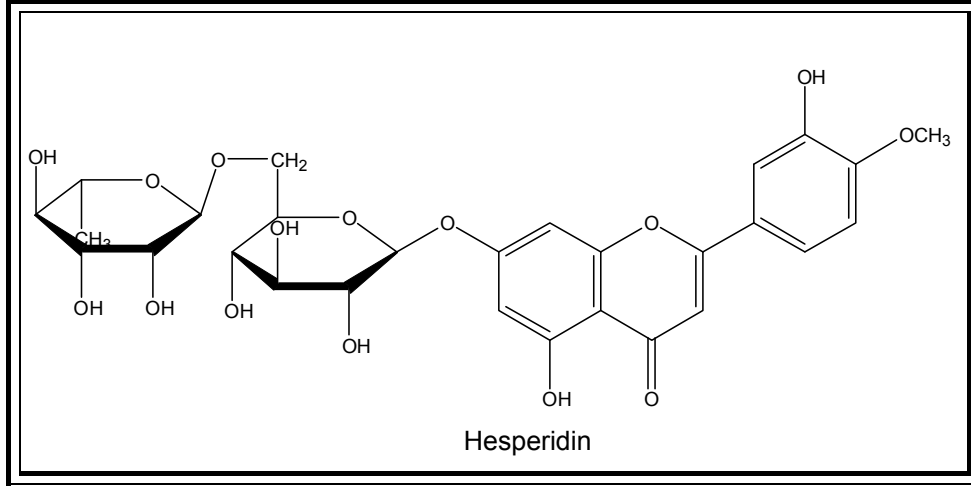
*O. vulgare*²² salvigenin içermektedir.

2.2.1.1.13. Akasetin ve heterozitlerini içeren *Origanum* türleri

 Akasetin	
Akasetin	<i>O. onites</i> ³⁹
Akasetin-7-O-(2''-O- α -L-ramnopiranosil-6''-O- β -D-glukopiranosil)- β -D-glukopiranozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴
Akasetin-7-O-glukozit, akasetin-7-O-rutinozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴

2.2.1.1.14. Diosmetin ve heterozitlerini içeren *Origanum* türleri

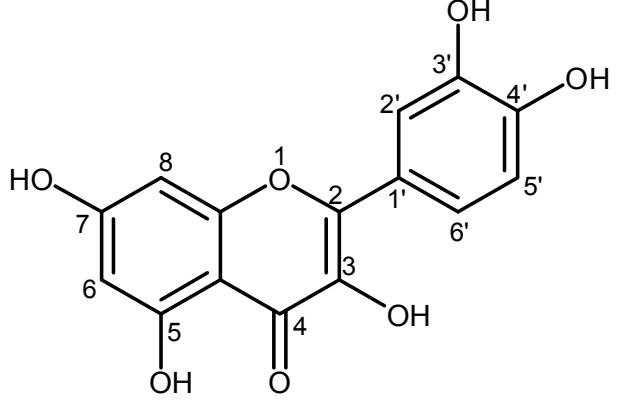
 Diosmetin	
Diosmetin	<i>O. vulgare</i> ^{18,20,22} , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸
Diosmetin 7- β -D-glukuronit	<i>O. majorana</i> ¹⁸
Diosmetin-7-O-glukozit	<i>O. syriacum</i> ²⁴

2.2.1.15. Hesperidin içeren *Origanum* türleri

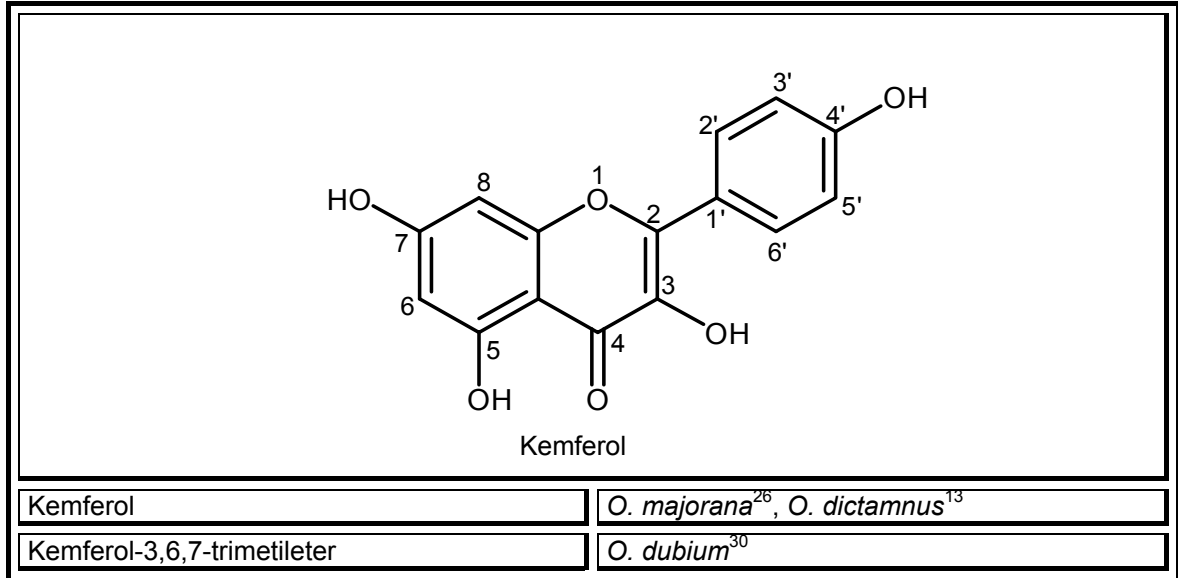
*O. sipyleum*²⁷ hesperidin içermektedir.

2.2.1.2. *Origanum* türlerinde bulunan bazı flavonol bileşikleri

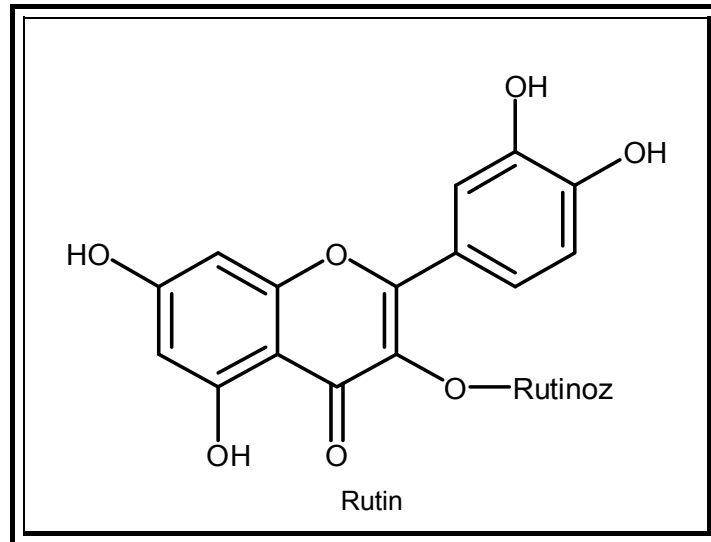
2.2.1.2.1. Kersetin, kersetin türevi ve heterozitleri içeren *Origanum* türleri

 Kersetin	
Kersetin	<i>O. inflorescences</i> ¹⁰ , <i>O. dictamnus</i> ^{11, 13} , <i>O. vulgare</i> ^{16, 23, 33, 40} , <i>O. majorana</i> ²⁵ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸
Kersetin-3,6-dimetileter	<i>O. dubium</i> ³⁰
Kersetin-3,6,7-trimetileter	<i>O. dubium</i> ³⁰
Kersetin 3-O-β-D-glukozit-4'-O-α-L-ramnozit	<i>O. vulgare</i> ²²
Kersetin 3-galaktozit	<i>O. vulgare</i> ³³

2.2.1.2.2. Kemferol ve türevlerini içeren *Origanum* türleri

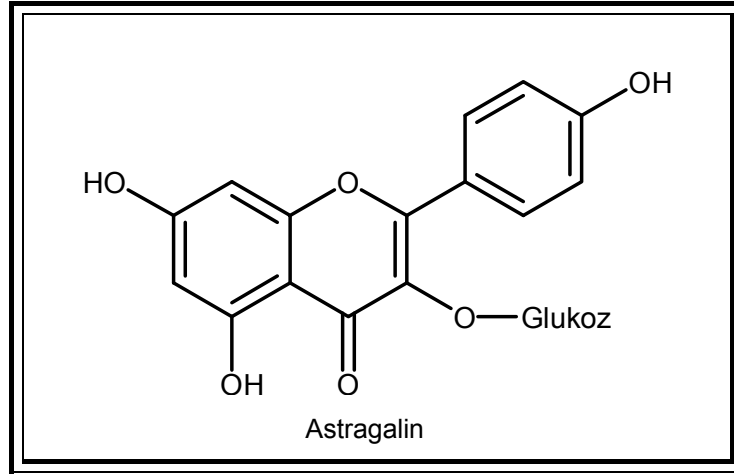


2.2.1.2.3. Rutin içeren *Origanum* türleri



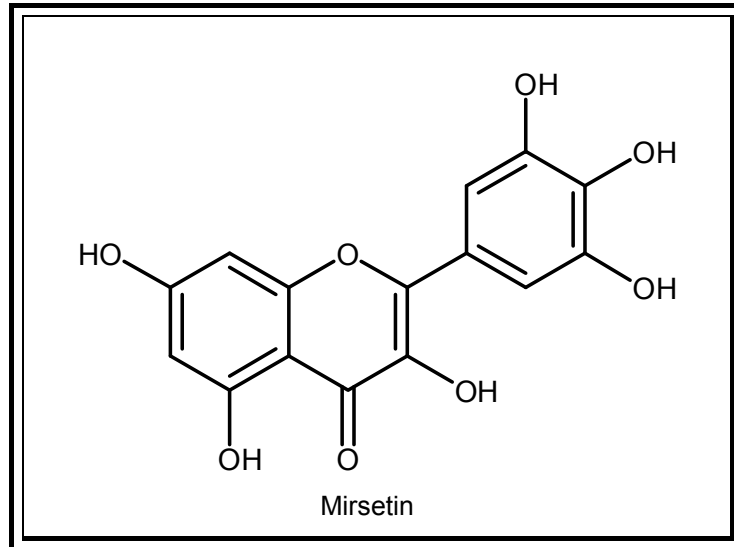
*O. majorana*²⁵, *O. vulgare*³³, *O. x majoricum*⁹ ve *O. sipyleum*²⁷ rutin içermektedir.

2.2.1.2.4. Astragalin içeren *Origanum* türleri



*O. vulgare*³³ astragalin içermektedir.

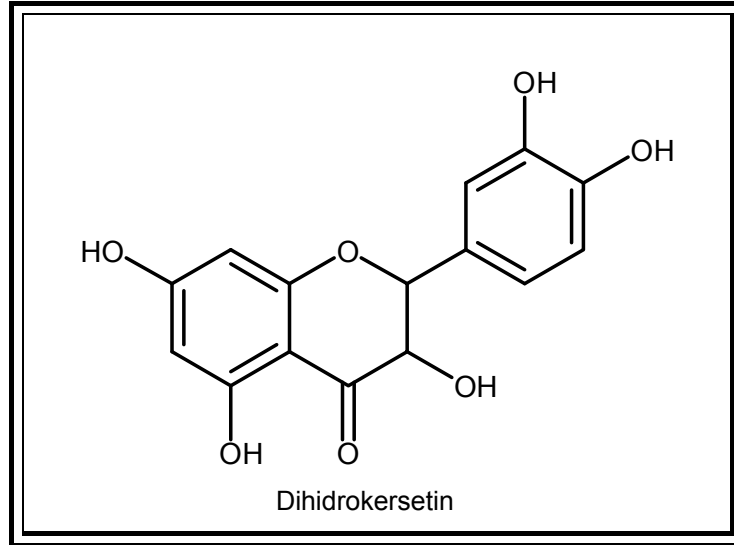
2.2.1.2.5. Mirsetin içeren *Origanum* türleri



*O. vulgare*²³ mirsetin içermektedir.

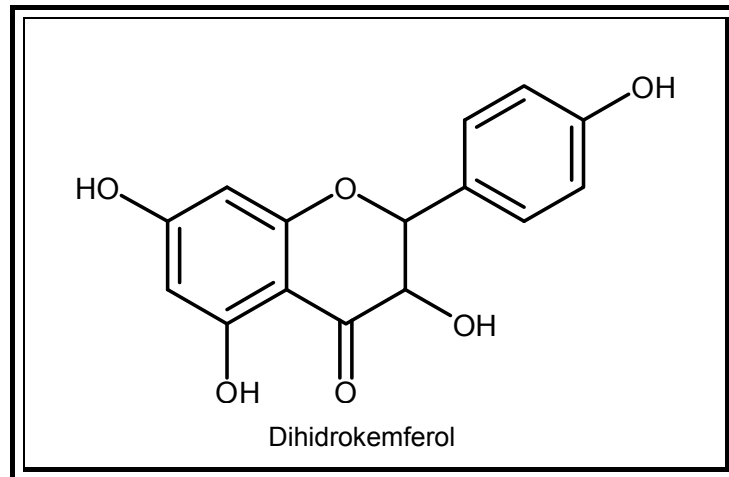
2.2.1.3. *Origanum* türünde bulunan bazı dihidroflavonol bileşikleri

2.2.1.3.1. Dihidrokersetin içeren *Origanum* türleri



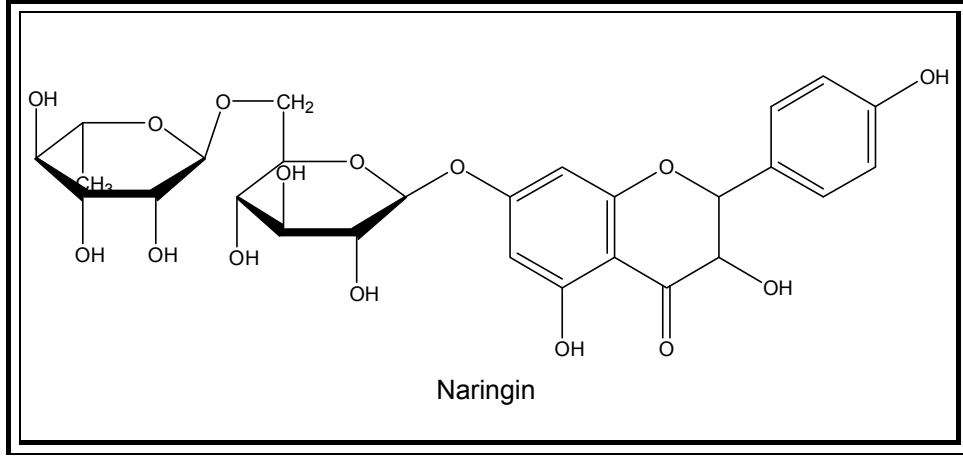
*O. heracleoticum*¹⁵ ve *O. dictamnus*¹³ dihidrokersetin içermektedir.

2.2.1.3.2. Dihidrokemferol içeren *Origanum* türleri



*O. heracleoticum*¹⁵ ve *O. compactum*⁴¹ dihidrokemferol içermektedir.

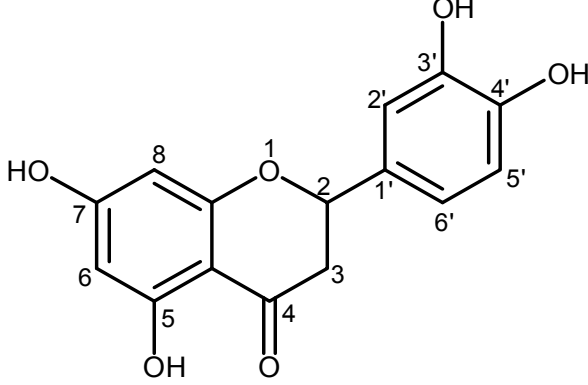
2.2.1.3.3. Naringin içeren *Origanum* türleri



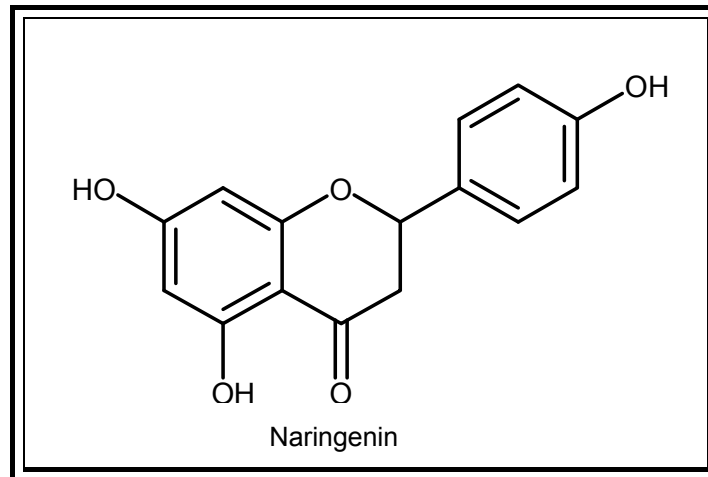
*O. x majoricum*⁹, *O. syriacum*¹⁷ ve *O. vulgare*^{21,33} naringin içermektedir.

2.2.1.4. *Origanum* türlerinde bulunan flavanon bileşikleri

2.2.1.4.1. Eriodiktiyol ve türevlerini içeren *Origanum* türleri

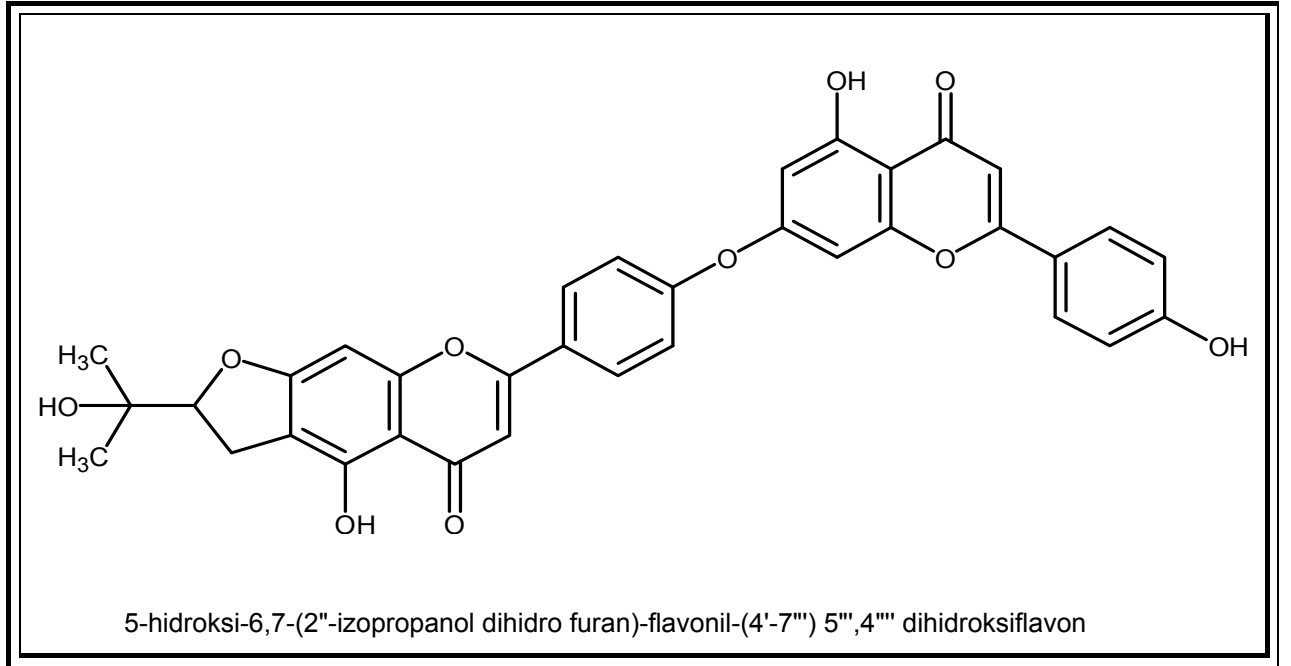
 Eriodiktiyol	
Eriodiktiyol	<i>O. dictamnus</i> ^{11,13} , <i>O. heracleoticum</i> ¹⁵ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ²⁸ , <i>O. vulgare</i> ³³ , <i>O. minutiflorum</i> ³⁴
Eriodiktiyol 7-glikozit	<i>O. dictamnus</i> ²⁹
Eriodiktiyol 6,8-di-C-glukozit	<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ³⁶

2.2.1.4.2. Naringenin içeren *Origanum* türleri



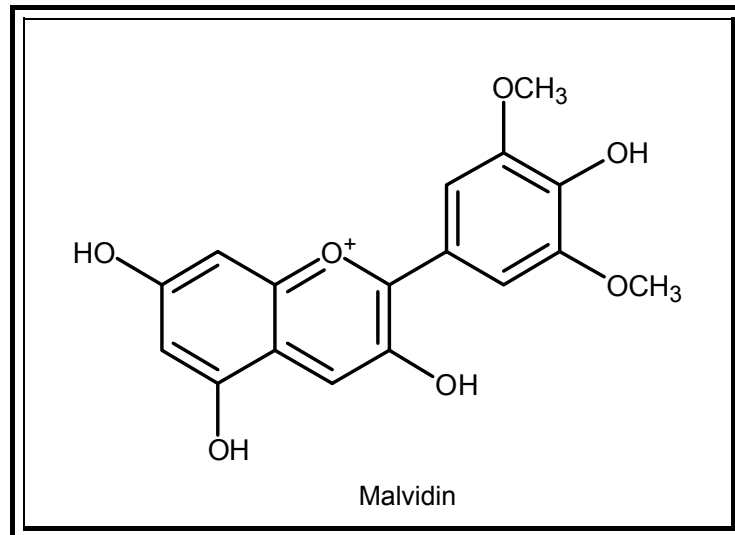
*O. dictamnus*¹³, *O. sipyleum*²⁷ ve *O. vulgare*³³ naringenin içermektedir.

2.2.1.5. *Origanum* türlerinde bulunan bazı biflavon bileşikleri



*O. syriacum*⁴² 5 hidroksi-6,7-(2''-izopropanol dihidro furan)-flavonil-(4'-7''') 5''',4'''' dihidroksiflavon içermektedir.

2.2.1.6. *Origanum* türlerinde bulunan antosiyanidin bileşikleri

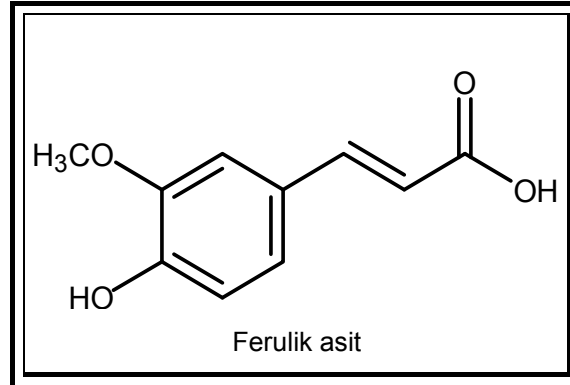


*O. inflorescences*¹⁰ malvidin içermektedir.

2.2.2. Fenolik Bileşikler

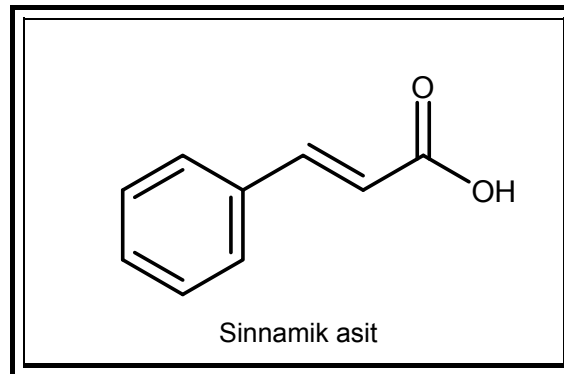
2.2.2.1. *Origanum* türlerinde bulunan fenolik asitler

2.2.2.1.1. Ferulik asit içeren *Origanum* türleri



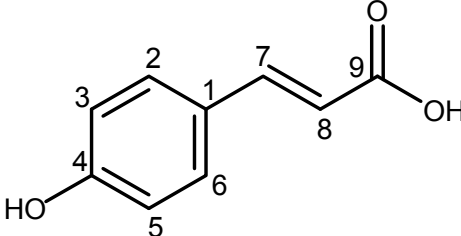
O. vulgare ve *O. onites*⁴³ ferulik asit içerirler.

2.2.2.1.2. Sinnamik asit içeren *Origanum* türleri

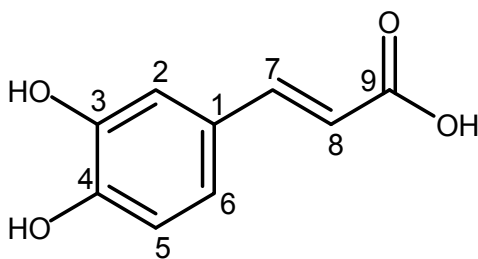


*O. majorana*²⁵ ve *O. vulgare*⁴⁴ sinnamik asit içermektedir.

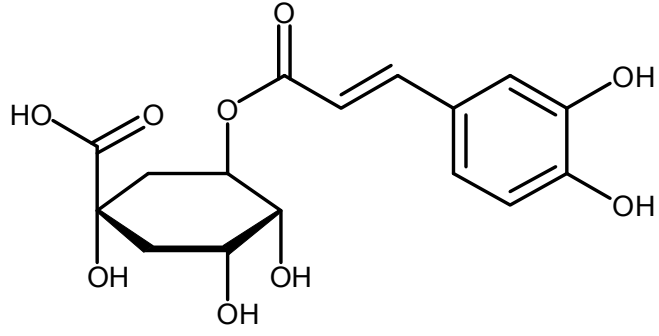
2.2.2.1.3. Hidroksisinnamik asit içeren *Origanum* türleri

 Hidroksisinnamik asit	
Hidroksisinnamik asit	<i>O. onites</i> ⁴⁵ , <i>O. onites</i> ⁴⁶ , <i>O. tythanthum</i> ⁴⁶ ve <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ⁴⁶ , <i>O. dictamnus</i> ⁴⁷ , <i>O. majorana</i> ⁴⁷
Trans-2-hidroksisinnamik asit	<i>O. majorana</i> ²⁵

2.2.2.1.4. Kafeik asit ve kafeik asit türevi içeren *Origanum* türleri

 Kafeik asit	
Kafeik asit	<i>O. x majoricum</i> ⁸ , <i>O. inflorescences</i> ¹⁰ , <i>O. minutiflorum</i> ¹⁷ , <i>O. syriacum</i> ¹⁷ , <i>O. intercedens</i> ²¹ , <i>O. sipyleum</i> ²⁷ , <i>O. onites</i> ^{17, 43, 46} , <i>O. vulgare</i> ^{17, 33, 40, 43, 44, 48-50} , <i>O. dictamnus</i> ^{13, 47} , <i>O. majorana</i> ⁴⁷ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ^{28, 51}
6-hidroksi kafeik asit	<i>O. onites</i> , <i>O. prismaticum</i> , <i>O. sipyleum</i> , <i>O. tyttanthum</i> , <i>O. virens</i> , <i>O. vulgaris</i> ⁵²

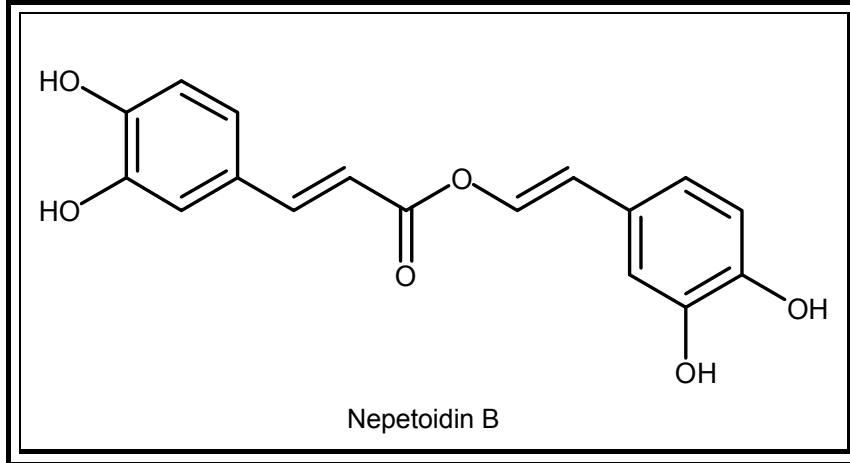
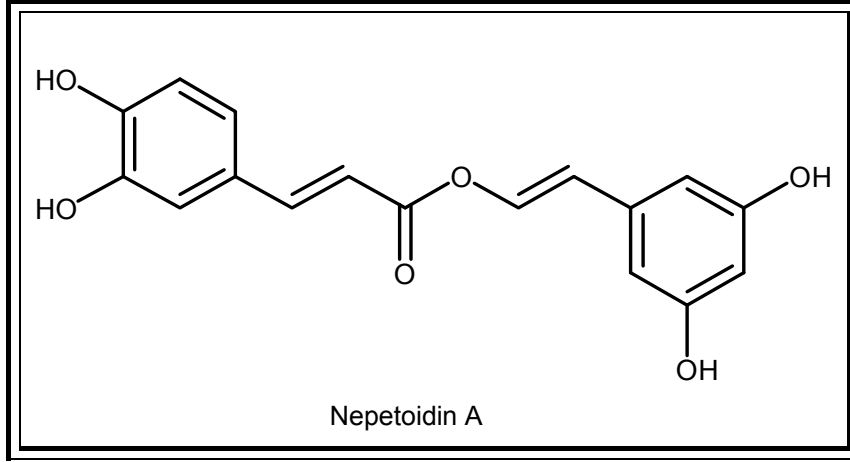
2.2.2.1.5. Klorojenik asit ve türevlerini içeren *Origanum* türleri



Klorojenik asit

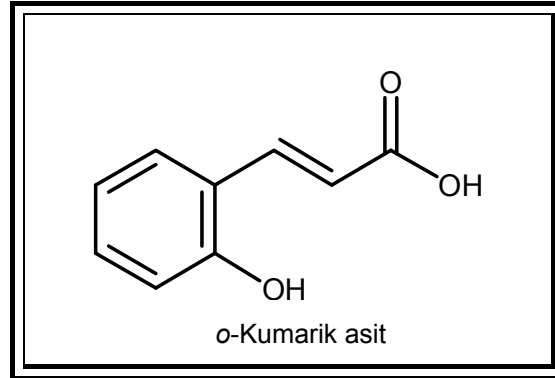
Klorojenik asit	<i>O. vulgare</i> ^{33, 44}
<i>cis</i> - Klorojenik asit ve <i>trans</i> -Klorojenik asit	<i>O. inflorescences</i> ¹⁰

2.2.2.1.6. Kafeik asit esteri içeren *Origanum* türleri



O. syriacum ve *O. vulgare*⁵³ nepetoidin A ve nepetoidin B içermektedir.

2.2.2.1.7. o-Kumarik asit içeren *Origanum* türleri

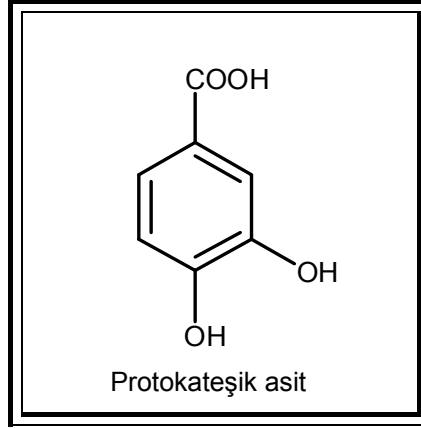


*O. vulgare*⁴³ o-kumarik asit içermektedir.

2.2.2.1.8. p-Hidroksibenzoik asit ve türevlerini içeren *Origanum* türleri

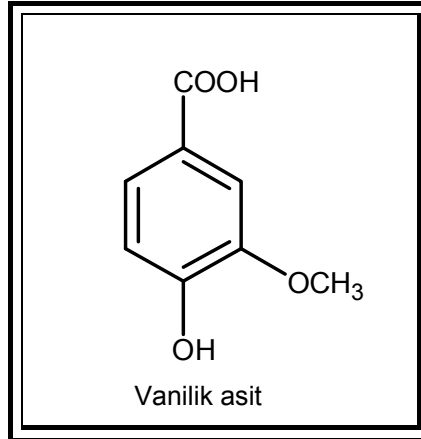
p-Hidroksibenzoik asit	
p-Hidroksibenzoik asit	<i>O. vulgare</i> ^{43, 44} , <i>O. onites</i> ⁴³
p-Hidroksibenzaldehit	<i>O. vulgare</i> ⁵⁴

2.2.2.1.9. Protokateşik asit içeren *Origanum* türleri



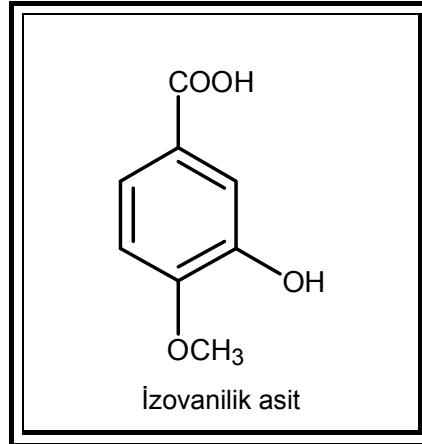
O. vulgare^{40, 44, 48, 49} protokateşik asit içermektedir.

2.2.2.1.10. Vanilik asit içeren *Origanum* türleri



*O. majorana*²⁵, *O. vulgare*^{40, 43, 44} ve *O. onites*⁴³ vanilik asit içermektedir.

2.2.2.1.11. İzovanilik asit içeren *Origanum* türleri

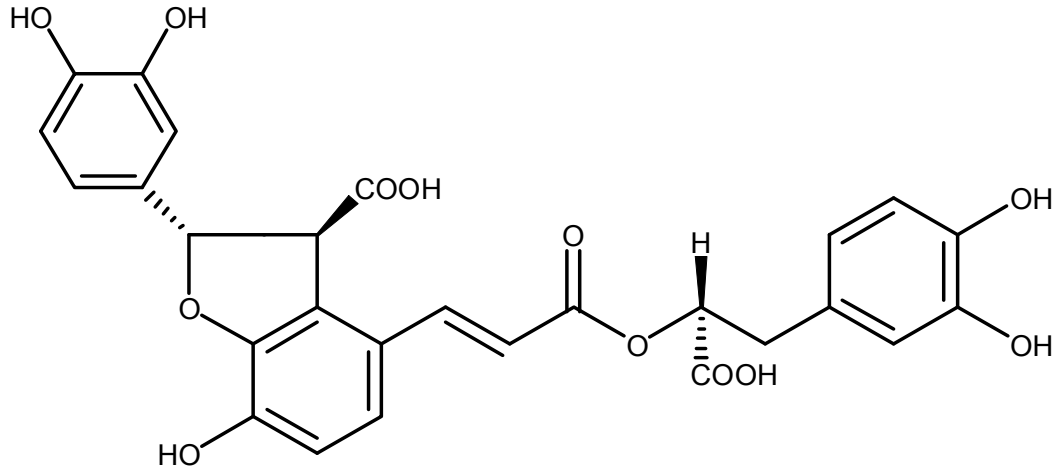
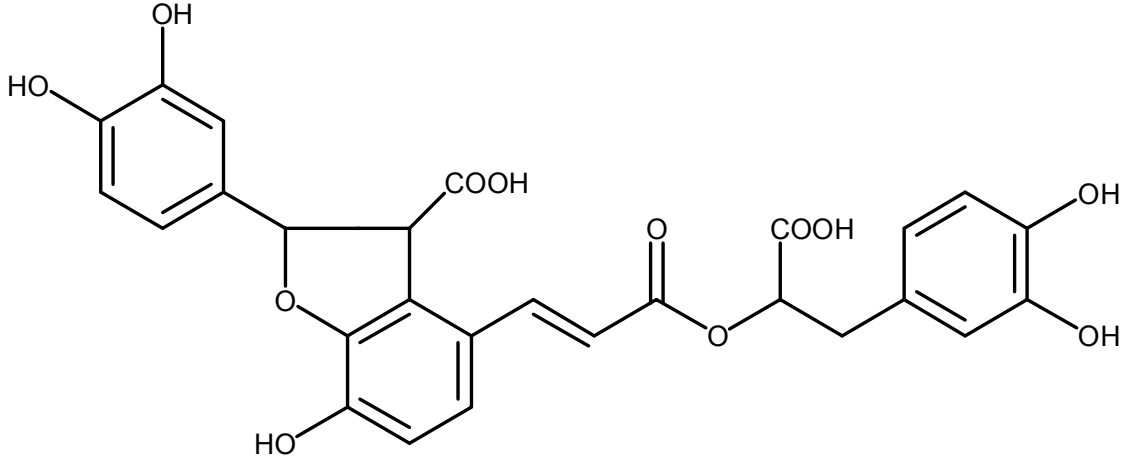


*O. vulgare*⁴⁰ izovanilik asit içermektedir.

2.2.2.1.12. Rosmarinik asit ve türevlerini içeren *Origanum* türleri

Rosmarinik asit	
Rosmarinik asit	<i>O. x majoricum</i> ⁸ , <i>O. syriacum</i> ¹⁷ , <i>O. minutiflorum</i> ^{17, 34} , <i>O. acutidens</i> ³⁸ , <i>O. tyttanthum</i> ⁴⁵ , <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ^{28, 36, 45, 51} , <i>O. intercedens</i> ⁴⁶ , <i>O. dictamnus</i> ^{12,13, 47} , <i>O. majorana</i> ^{25, 47} , <i>O. onites</i> ^{17, 39, 45, 46, 52} , <i>O. vulgare</i> ^{17, 33, 40, 48-50} , <i>O. prismaticum</i> ⁵² , <i>O. sipyleum</i> ^{27, 52} , <i>O. tyttanthum</i> ⁵² , <i>O. virens</i> ⁵² , <i>O. vulgaris</i> ⁵² , <i>O. heracleoticum</i> ⁵⁵ , <i>O. x applii</i> ⁵⁶
6-Hidroksi rosmarinik asit	<i>O. sipyleum</i> ⁵² , <i>O. tyttanthum</i> ⁵²
Rosmarinik asit Me esteri	<i>O. dictamnus</i> ¹³

2.2.2.1.13. Litospermik asit ve türevlerini içeren *Origanum* türleri

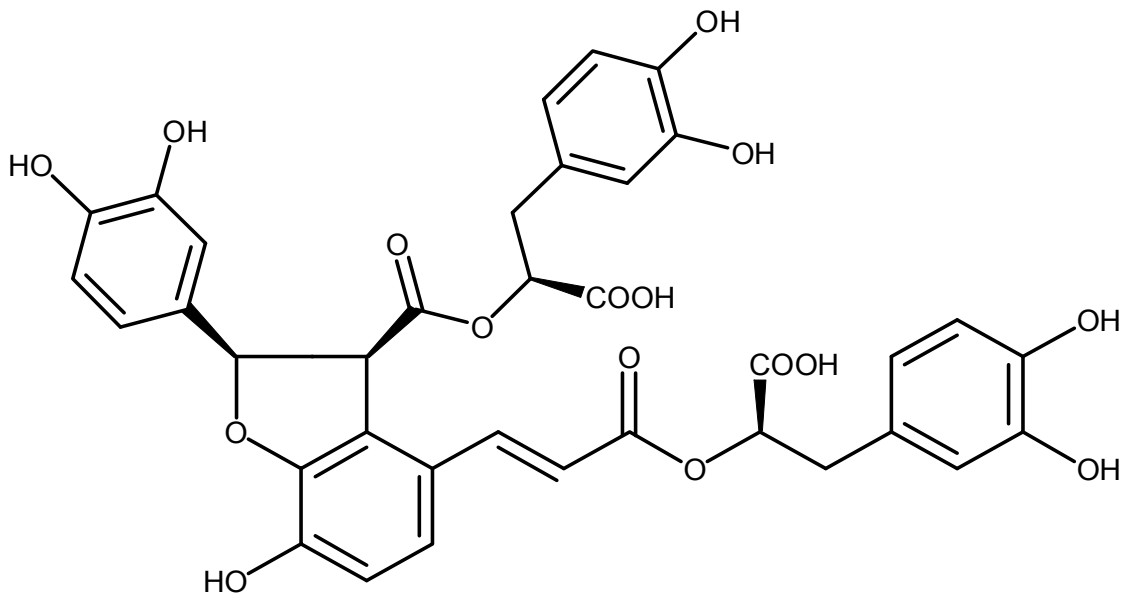


Litospermik asit

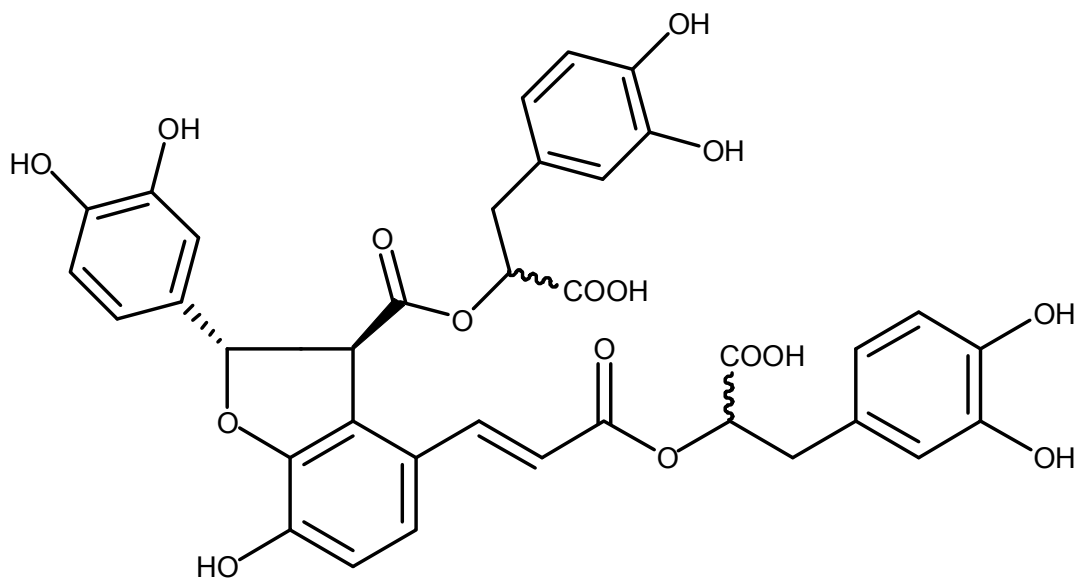
*O. vulgare*³¹, *O. acutidens*³⁸

10- epi- Litospermik asit

O. vulgare subsp. *hirtum*²⁸



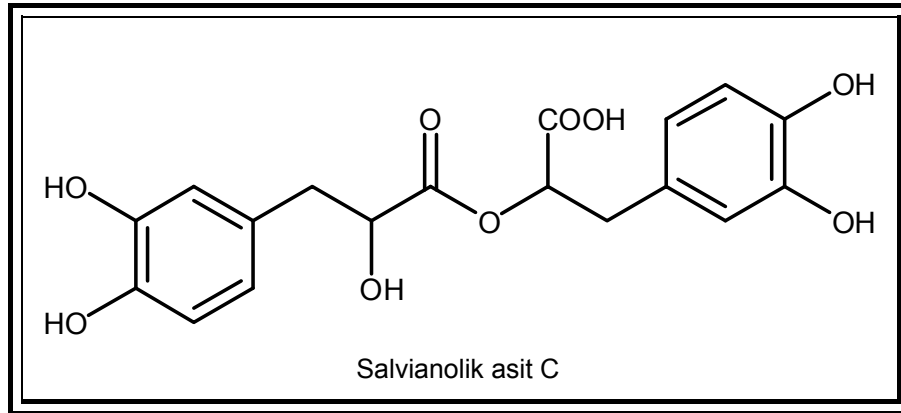
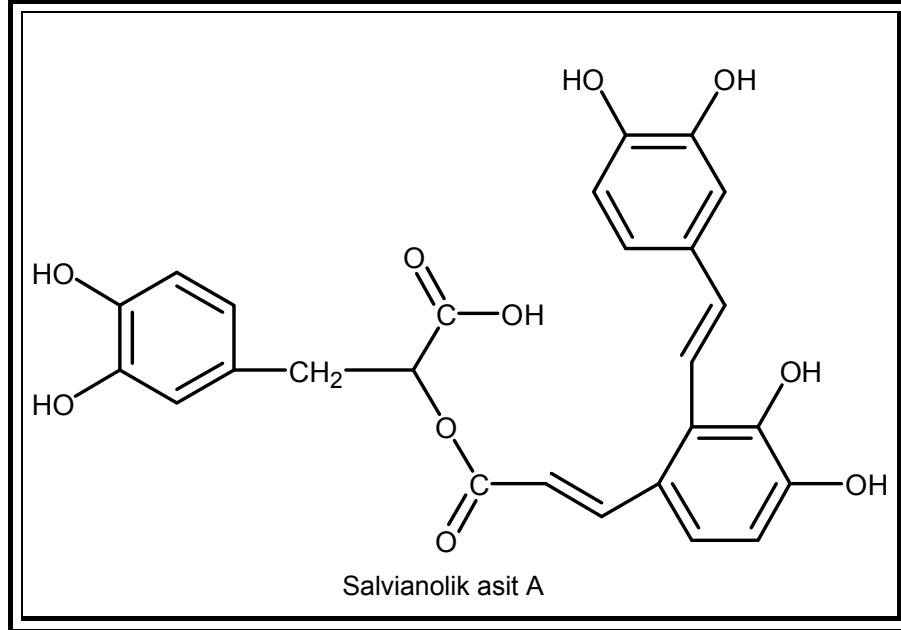
Litospermik asit B

*epi*- Litospermik asit B

Litospermik asit B

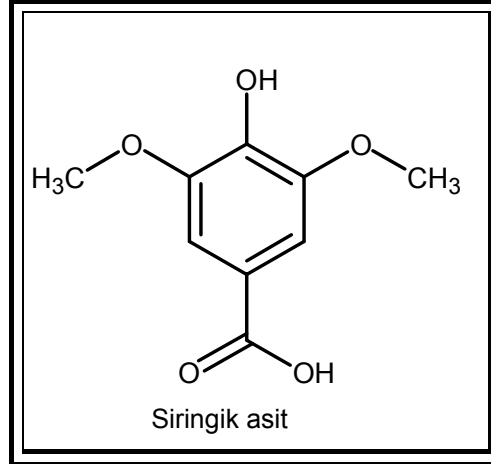
O. vulgare subsp. *hirtum*^{28, 36, 51}, *O. vulgare*⁵⁰*epi*- Litospermik asit B*O. vulgare* subsp. *hirtum*^{28, 36}

2.2.2.1.14. Salvianolik asit A ve Salvianolik asit C içeren *Origanum* türleri



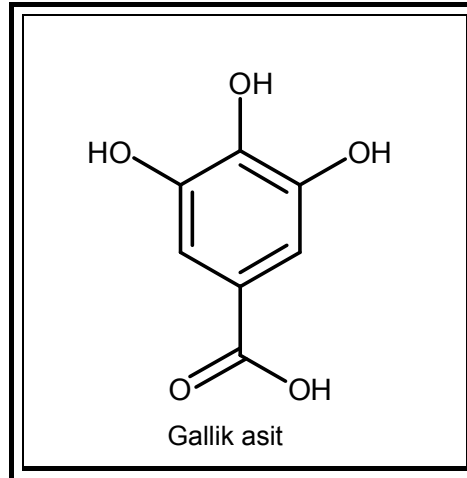
*O. vulgare*³¹ salvianolik A ve salvianolik asit C içermektedir.

2.2.2.1.15. Siringik asit içeren *Origanum* türleri



*O. vulgare*⁴⁴ siringik asit içermektedir.

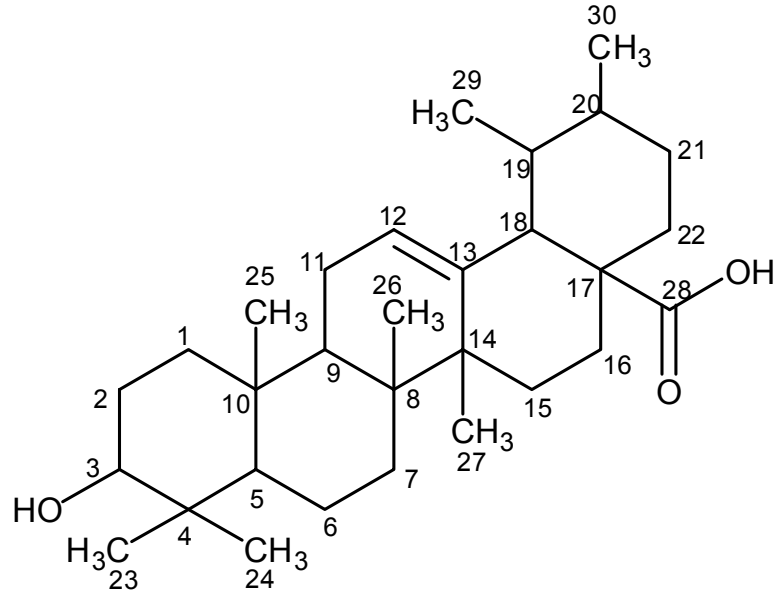
2.2.2.1.16. Gallik asit içeren *Origanum* türleri



*O. majorana*²⁵ gallik asit içermektedir.

2.2.3. Triterpenik Bileşikler

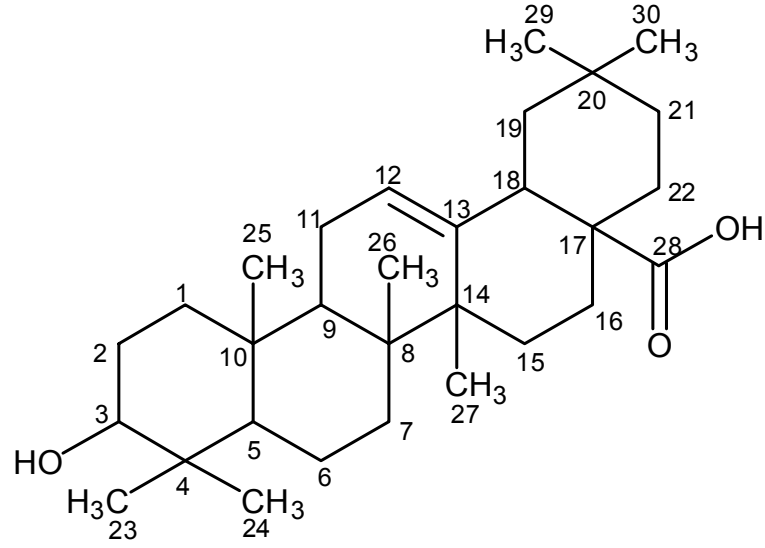
2.2.3.1. Ursolik asit ve ursolik asit türevi içeren *Origanum* türleri



Ursolik asit

Ursolik asit	<i>O. maru</i> ¹⁴ , <i>O. acutidens</i> ³⁸ , <i>O. compactum</i> ⁴¹ , <i>O. vulgare</i> ⁵⁴ , <i>O. dictamnus</i> ⁵⁷ , <i>O. majorana</i> ^{58,59}
21- α -hidroksiursolik asit	<i>O. compactum</i> ⁴¹

2.2.3.2. Oleanolik asit ve oleanolik asit türevi içeren *Origanum* türleri



Oleanolik asit

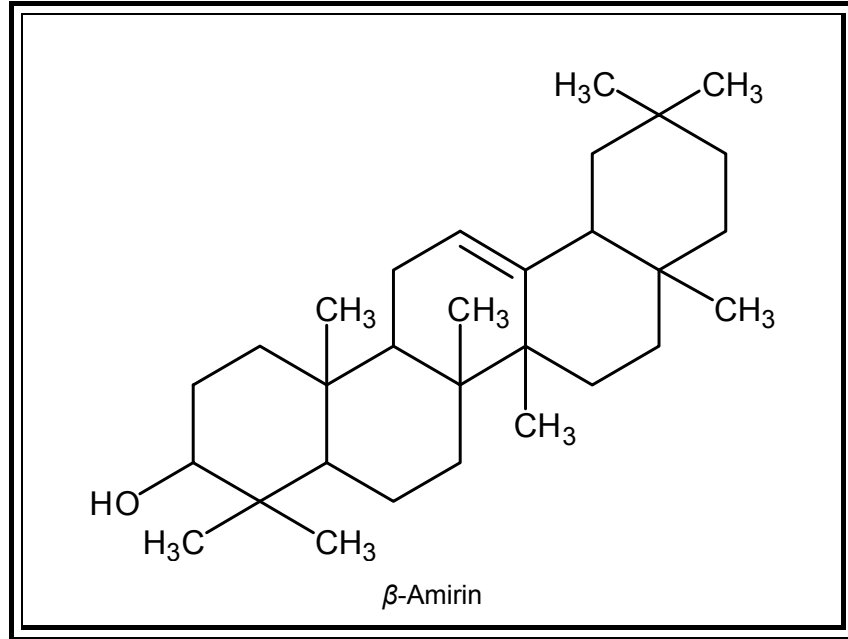
Oleanolik asit

*O. acutidens*³⁸, *O. compactum*⁴¹, *O. vulgare*⁵⁴, *O. dictamnus*⁵⁷,
*O. syriacum*⁶⁰

21- α -hidroksi oleanolik asit

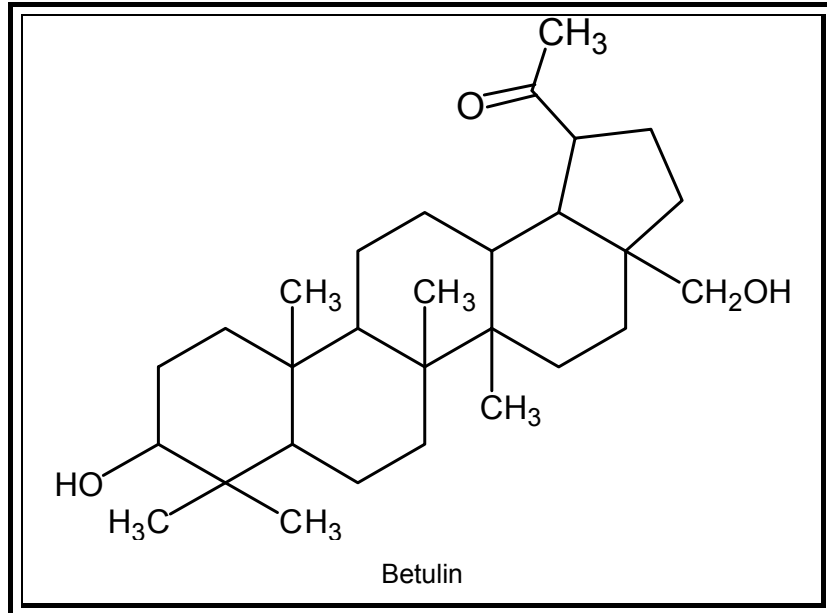
*O. compactum*⁴¹

2.2.3.3. β -Amirin içeren *Origanum* türleri



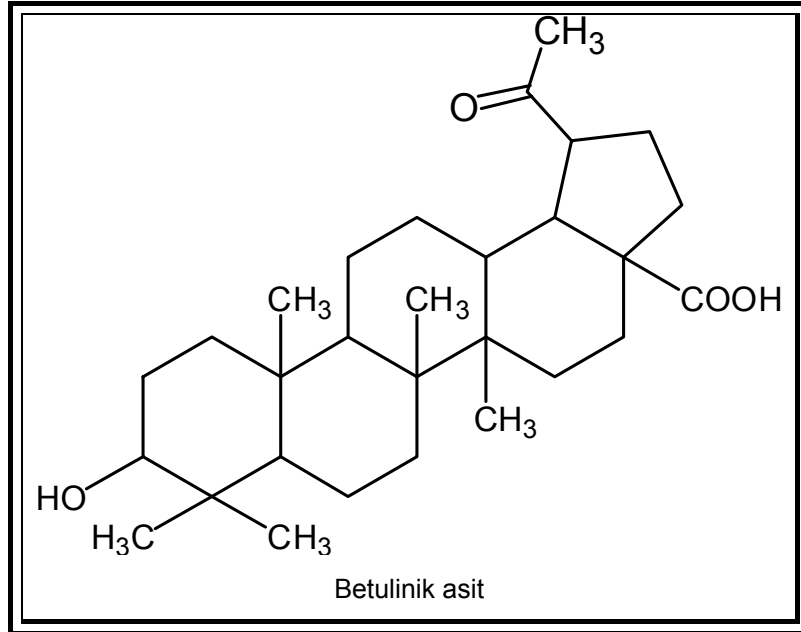
*O. compactum*⁴¹ β -amirin içermektedir.

2.2.3.4. Betulin içeren *Origanum* türleri



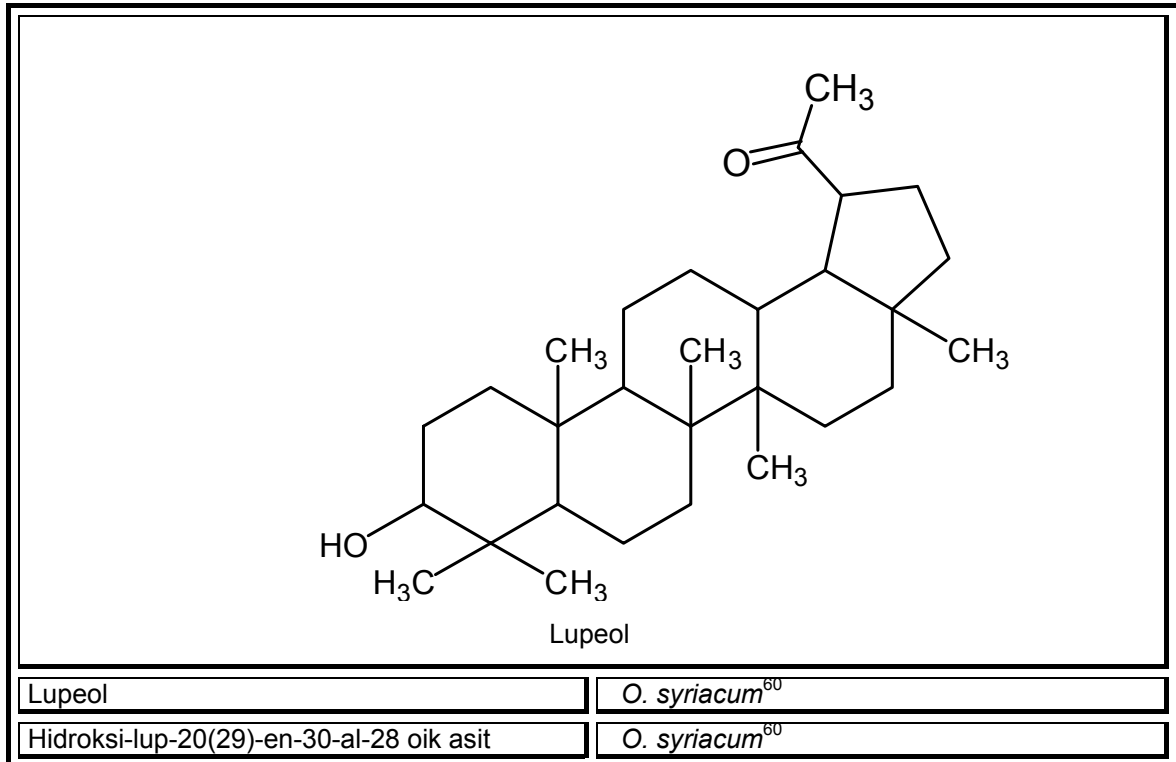
*O. compactum*⁴¹ betulin içermektedir.

2.2.3.5. Betulinik asit içeren *Origanum* türleri



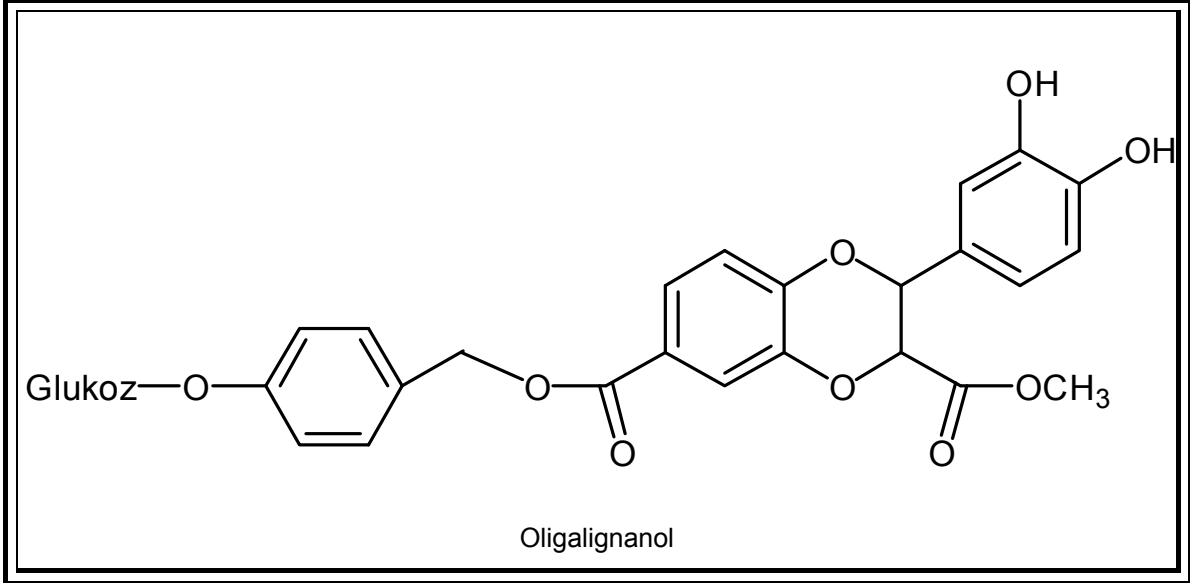
*O. compactum*⁴¹ ve *O. syriacum*⁶⁰ betulinik asit içermektedir.

2.2.3.6. Lupeol ve türevini içeren *Origanum* türleri



2.2.4. Dihidrobenezodioksan Türevi Bileşikler

2.2.4.1. Orignalignanöl içeren *Origanum* türleri



*O. vulgare*³¹ orignalignanöl içermektedir.

2.2.5. Uçucu Yağlar

Tablo 3. Uçuşu yağ içeren *Origanum* türleri

BİTKİ	ANA BİLEŞEN	KAYNAK
<i>O. acutidens</i>	Karvakrol <i>p</i> -Simen, karvakrol	61, 62 63, 64
<i>O. bargyli</i>	<i>p</i> -Simen, karvakrol <i>p</i> -Simen, borneol, α -terpineol	63, 65 66
<i>O. bastetanum</i>	γ -Terpinen, <i>p</i> -simen, β -karyofilen	67
<i>O. bilgeri</i>	Karvakrol	68
<i>O. boissieri</i>	<i>p</i> -Simen, karvakrol	65
<i>O. calcaratum</i>	<i>p</i> -Simen, terpinen, timol, karvakrol, izokaryofilen <i>p</i> -Simen, γ -terpinen, timol	69 70
<i>O. compactum</i>	Timohidrokinon Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen Timol, karvakrol Timol, öjenol Karvakrol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen	41 71 72 73 74
<i>O. cordifolium</i>	α -Terpineol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen, karvakrol	75
<i>O. dayi</i>	1,8-Sineol, α -terpineol, (E)-sabinen hidrat, (E)-sabinen hidrat asetat, terpinen-4-ol, linalil asetat 1,8-Sineol, terpinen-4-ol, α -terpineol	76 77
<i>O. dictamnus</i>	Karvakrol Karvakrol, <i>p</i> -simen <i>p</i> -Simen, timokinon, karvakrol Karvakrol, linalol Karvakrol, timol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen	78, 79 80, 81 70 74 82
<i>O. dubium</i>	Karvakrol	74, 83
<i>O. ehrenbergi</i>	Timol, <i>p</i> -simen	84
<i>O. elongatum</i>	Karvakrol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, linalol, γ -terpinen	85 86
<i>O. floribundum</i>	<i>p</i> -Simen, timol, karvakrol <i>p</i> -Simen, timol, γ -terpinen	87 88
<i>O. glandulosum</i>	Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen Karvakrol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Timol	89 90 91-95 96 97

Tablo 3 (devam). Uçuşu yağ içeren *Origanum* türleri

BİTKİ	ANA BİLEŞEN	KAYNAK
<i>O. heracleoticum</i>	Karvakrol Karvakrol, timol α -Pinen, kamfen, amil alkol, fellandren, dipenten, p -simen, linalol, kafur, bornil asetat, borneol, karvakrol Karvakrol, p -simen, α -terpinen, β -terpinen 4,5-Epoksi- p -ment-1-en	57, 98, 99 100, 101 102 103 104
<i>O. houssknechtii</i>	p -Simen, borneol	105
<i>O. hypericifolium</i>	p -Simen, timol	63
<i>O. intercedens</i>	Karvakrol p -Simen, γ -terpinen, karvakrol	46, 106 70
<i>O. laevigatum</i>	Bisiklogermakren, germakren D, β -karyofilin, mirsen	107
<i>O. leptocladum</i>	p -Simen, karvakrol, borneol p -Simen, karvakrol, timol, α -terpineol	108 63
<i>O. libanoticum</i>	Metil timol	109
<i>O. majorana</i>	Timol Terpinen-4-ol, <i>cis</i> -sabinen hidrat, <i>trans</i> -sabinen hidrat, γ -terpinen, bornil asetat, linalol Terpinen-4-ol, <i>trans</i> -sabinen hidrat, γ -terpinen, α -terpinen, timol Terpinen-4-ol, <i>trans</i> sabinen hidrat, γ -terpinen, α -terpinen, sabinen Terpinen-4-ol, linalol, γ -terpinen, α -terpinen, sabinen Terpinen-4-ol, α -terpinen, γ -terpinen, α -terpineol, <i>cis</i> sabinen hidrat, p -simen Terpinen-4-ol, γ -terpinen, <i>cis</i> -sabinen hidrat, p -simen Mirsen, terpinen-4-ol, γ -terpinen, p -simen Sabinen, <i>trans</i> -sabinen hidrat, <i>cis</i> -sabinen hidrat, <i>cis</i> -sabinan hidrat asetat, α -terpineol terpinen-4-ol, <i>trans</i> -sabinen hidrat, <i>cis</i> -sabinen hidrat Karvakrol	110 25 111 112 113 114 115 116 117 118 119
<i>O. maru</i>	Karvakrol, timol, timokinon Timol, karvakrol, p -simen, linalol, terpinen-4-ol, bornil asetat	14 120
<i>O. micranthum</i>	Linalil asetat, <i>cis</i> -sabinen hidrat, α -terpineol, linalol, terpinen-4-ol <i>cis</i> -Sabinan hidrat	121 122
<i>O. microphyllum</i>	Karvakrol, terpinen-4-ol, linalol, sabinen, α -terpinen, γ -terpinen <i>cis</i> -Sabinen hidrat, sabinen, <i>trans</i> -sabinen hidrat	123 70, 124

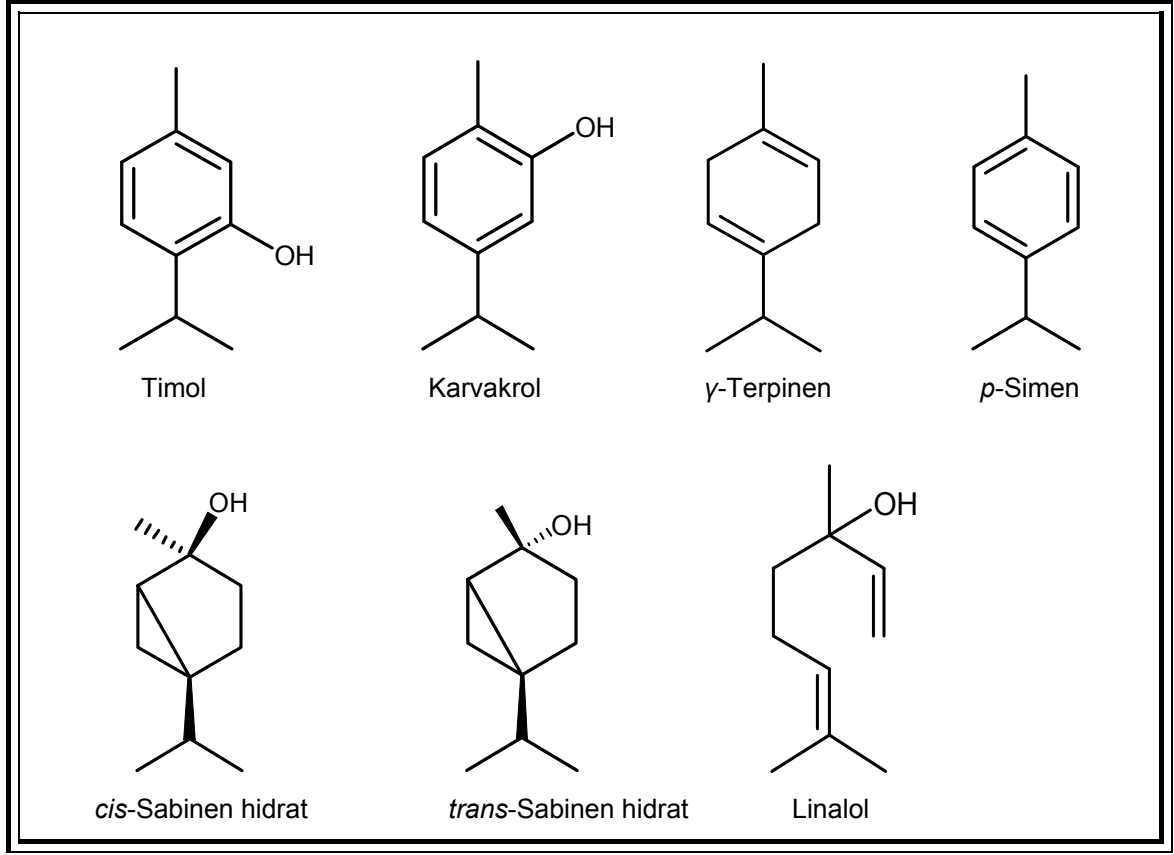
Tablo 3 (devam). Uçuşu yağ içeren *Origanum* türleri

BİTKİ	ANA BİLEŞEN	KAYNAK
<i>O. minutiflorum</i>	Karvakrol Karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Kafur, karvakrol Karvakrol, <i>p</i> -simen	34, 74, 125, 126 127, 128 129 130
<i>O. onites</i>	Karvakrol, γ -terpinen, β -bisabolen <i>p</i> -Simen, γ -terpinen, geraniol, karvakrol, β -bisabolen Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen, α -terpinen, α -pinen Borneol, terpinen-4-ol, karvakrol Sabinen, mirsen, γ -terpinen, borneol, karvakrol Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Timol, karvakrol, terpinen-4-ol, γ -terpinen Karvakrol, timol, linalol Karvakrol, linalol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen <i>p</i> -Simen, timol, karvakrol, α -pinen, kafur, borneol Karvakrol	131 70 39 132 133 134 135 136 137 138 139 46, 74, 140-143
<i>O. rotundifolium</i>	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	144
<i>O. saccatum</i>	<i>p</i> -Simen <i>p</i> -Simen, γ -terpinen, <i>p</i> -simen-8-ol, karvakrol	63, 145 146
<i>O. scabrum</i>	Karvakrol, terpinen-4-ol, linalol, sabinen, α -terpinen, γ -terpinen Karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen, karyofilen oksit, manool	123 69
<i>O. solymicum</i>	<i>p</i> -Simen <i>p</i> -Simen, timol	147 63
<i>O. syriacum</i>	Karvakrol Timol Timol, karvakrol <i>p</i> -Simen Timol, <i>p</i> -simen, α -terpinen, γ -terpinen, karvakrol	109, 148, 149 110 84, 150 151 152
<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	Karvakrol	153, 154
<i>O. syriacum</i> var. <i>sinaicum</i>	Timol, <i>cis</i> -sabinen hidrat, γ -terpinen, <i>p</i> -simen, terpinen-4-ol	155
<i>O. syriacum</i> var. <i>syriacum</i>	Timol, karvakrol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen	91
<i>O. tyttanthum</i>	Karvakrol, timol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen Timol, karvakrol	156, 157 158

BİTKİ	ANA BİLEŞEN	KAYNAK
<i>O. vulgare</i>	α -tuyen, kamfen, <i>p</i> -pinen, mirsen, Δ^3 -karen, α -fellandren, α -terpinen, γ -terpinen, osimen, karyofilen, β -bisabolen, δ -kadinen, humulen, epoksi dididroksikaryofilen, γ -murolen, kalomenen, linalil asetat, α -terpinil asetat, terpinen-4-ol, terpinen-1-ol Sabinen, β -karyofilen, germakren D, karyofilen oksit, timol, karvakrol Sabinen, β -karyofilen, germakren D, karyofilen oksit <i>p</i> -Simen Timol, 1-metil-2-(1-metiletil)benzen Timol, γ -terpinen Timol, karvakrol <i>p</i> -Simen, karvakrol, timol, γ -terpinen Timol, γ -terpinen, <i>p</i> -simen γ -Terpinen, <i>p</i> -simen, linalol, timol Karyofilen oksit, spatulenol, 4-terpineol, timol, karvakrol Karvakrol, timol, sabinen, <i>cis</i> -sabinen hidrat Karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen, β -karyofilen Elemol, sabinen, β -ödesmol, terpinen-4-ol, β -karyofilen Timol, <i>p</i> -simen, 3-oktanon <i>p</i> -Simen, γ -terpinen, terpinen-4-ol, timol, karvakrol Karvakrol, <i>trans</i> -sabinen hidrat, <i>cis</i> -piperitol, borneol, terpinen-4-ol, linalol Karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen Karvakrol, <i>p</i> -simen <i>trans</i> -Sabinen hidrat, timol, karvakrol Timol	120 159 160 161 162 163 100, 164-168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182
<i>O. vulgare ssp. glandulosum</i>	γ -Terpinen, timol, timol-metileter, karvakrol- metileter <i>p</i> -Simen, timol	87 183
<i>O. vulgare subsp. gracile</i>	Sabinen, germakren D β -Karyofilen, germakren D Karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen	184 185 63

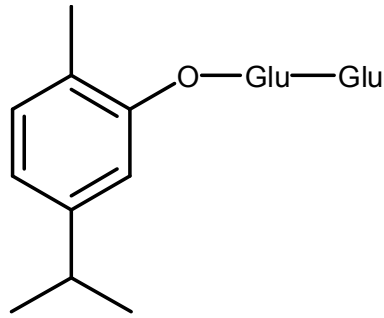
Tablo 3 (devam). Uçuşu yağ içeren *Origanum* türleri

BİTKİ	ANA BİLEŞEN	KAYNAK
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	Timol Benzil alkol, öjenol, 2-feniletanol, timol, 3-hekzen-1-ol, karvakrol, timokinon γ -Terpinen, <i>p</i> -simen, karvakrol <i>p</i> -Simen, karvakrol <i>p</i> -Simen γ -Terpinen, <i>p</i> -simen, karvakrol, mirsen, α -pinen, β -karyofilen, timol Timol, karvakrol, linalil asetat, linalol, α -terpineol Karvakrol Timol, karvakrol, <i>p</i> -simen, γ -terpinen <i>p</i> -Simen, α -tuyen, timol, karvakrol, karvakrol metil eter, γ -terpinen, α -terpinen, mirsen	186 187 188, 189 70, 74 133 36 190 185, 191, 192 193 194
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>virens</i>	Linalol, globulol, (<i>E</i>)- β -osimen, δ -elemen Sabinen, germakren D <i>p</i> -Simen, γ -terpinen, linalol, α -terpineol, timol	195 184 196
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>viride</i>	Terpinen-4-ol, germakren D <i>o</i> -Simen, linalil propanoat, linalol, β -mirsen, α -pinen, limonen	185 197
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>viridulum</i>	Timol	109
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	Terpinen-4-ol, β -karyofilen, germakren D Karyofilen, spatulenol β -Karyofilen, β -osimen, sabinen, germakren D	185 198 199, 200
<i>O. x adanense</i>	Karvakrol, bisiklogermakren	201
<i>O. x dolichosiphan</i>	Bisiklogermakren, β -karyofilin, germakren D	202
<i>O. x majoricum</i>	<i>trans</i> -Sabinen hidrat, karvakrol, sabinen, γ -terpinen, terpinen-4-ol	106
<i>O. x minoanum</i>	<i>p</i> -Simen, γ -terpinen, karvakrol Karvakrol	70 106

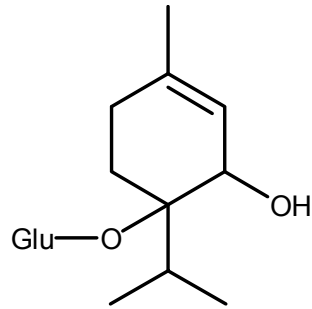
Tablo 4. *Origanum* türlerinde bulunan başlıca uçucu bileşenlerin şekilleri

2.2.6. Monoterpen Heterozitleri

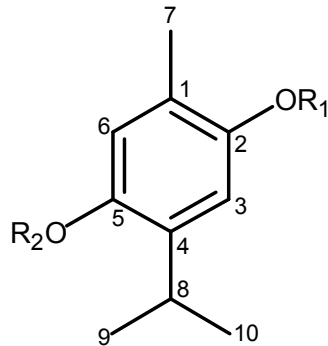
O. syriacum üç yeni monoterpen heteroziti olan timokinol 2,5-*O*- β -diglukopiranozit, karvakrol 2-*O*- β -glukopiranozil-(1-2)- β -glukopiranozit, *p*-ment-1-en-3,4-diol 4-*O*- β -glukopiranozit ile iki bilinen monoterpen heteroziti olan timokinol 2-*O*- β -glukopiranozit, timokinol 5-*O*- β -glukopiranozit elde edilmiştir²⁰³.



Karvakrol 2-*O*- β -glukopiranozil-(1-2)- β -glukopiranozit



p-Ment-1-en-3,4-diol 4-*O*- β -glukopiranozit



R_1 = Glu ve R_2 =H, Timokinol 2-*O*- β -glukopiranozit

R_1 = H ve R_2 = Glu, Timokinol 5-*O*- β -glukopiranozit

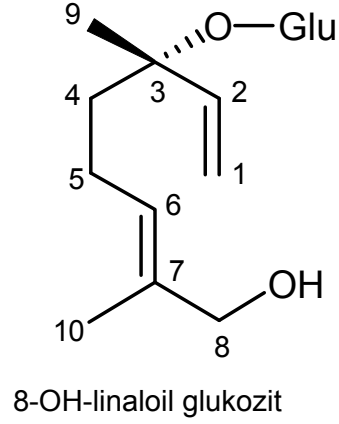
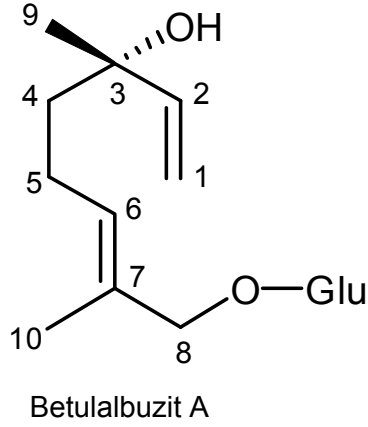
R_1 = Glu ve R_2 = Glu, Timokinol 2,5-*O*- β -diglukopiranozit

O. vulgare subsp. *hirtum* p-ment-3-en-1,2-diol 1-O- β -glukopiranozit, timokinol 2-O- β -glukopiranozit, timokinol 5-O- β -glukopiranozit, timokinol 2,5-O- β -diglukopiranozit içermektedir²⁸.

O. vulgare subsp. *hirtum* p-ment-3-en-1,2-diol 1-O- β -glukopiranozit içermektedir⁵¹.

O. dictamnus timokinol 2-O- β -glukopiranozit içermektedir¹³.

O. acutidens betulalbuzit A ve 8-OH-linaloil glukozit içermektedir³⁸.



2.2.7. Diğerleri

O. x applii arbutin⁵⁶, *O. majorana* arbutin, metil arbutin²⁰⁴, *O. vulgare* ve *O. tyttanthum* polifenol, şeker, kumarin, tanen²⁰⁵; *O. majorana* kumarin içermektedir²⁵. *O. dictamnus*²⁹ eskulin içermektedir. *O. dictamnus* nonpolar lipidler (sterol, steril esterler, serbest yağ asitleri, yağ alkoller, trigliseritler, balmumu, hidrokarbonlar), polar lipidler (mono-, di-, poligalaktozil digliseritler, sulfolipitler, serebrositler, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilgliserol, fosfatidilinositol, fosfatidilkolin)⁷⁹; *O. tyttanthum* glukolipitler, esansiyel yağ asiti, lipofilik maddeler, 15-metilheksadekanoik asiti kapsayan serbest yağ asitleri²⁰⁶ ve *O. onites* linoleik asit, palmitik asit, dokuz karbonlu hidrokarbonlar, β -sitosterol, klorofil a ve b²⁰⁷ içermektedir. *O. vulgare* subsp. *hirtum* alisiklik yapı olan 12-hidroksijasmonik asit, 12-hidroksijasmonik asit 12-O- β -glukopiranozit²⁸, 12-hidroksijasmonik asit 12-O- β -glukozit⁵¹, *O. dictamnus* 12-hidroksijasmonik asit, 12-hidroksijasmonik asit 12-O- β -D-glukozit¹³ içermektedir.

O. vulgare β -sitosterol, daukosterol, heksakozen, heksakozanol, 1,4-benzenediol, 1,2-benzenediol, p-hidroksibenzaldehit, timokinol (4-metil-5-izopropil-1,2-benzenediol, dihidrodehidrodikoniferil alkol, (-)-siringarezinol içermektedir⁵⁴.

2.3. *Origanum* Türlerinin Kullanılışı, Biyolojik Aktiviteleri, Klinik ve Toksisite Çalışmaları

2.3.1. Antibakteriyal Aktivite

O. dictamnus'un *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus hominis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dışındakilere antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir⁷⁸.

O. dictamnus'un yaprakları ve dal uçlarından elde edilen uçucu yağın, üç Gram-pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 10907), *Micrococcus flavus* (ATCC 10240) ve üç Gram-negatif bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (klinik izolat), *Escheria coli* (ATCC 35218) üzerinde antibakteriyal aktivitesi test edilmiş, dal uçlarından elde edilen yağın aktivitesi daha yüksek bulunmuştur⁸⁰.

O. dictamnus ekstresinin *Acinobacter hemolyticus*, *Empedobacter brevis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal etkisi vardır¹³.

O. minutiflorum'un uçucu yağının bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus faecalis* ATCC 19433, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922) karşı yüksek antibakteriyal aktivitesi gözlenmiştir¹²⁵.

O. minutiflorum uçucu yağının, antimikrobiyal aktivitesi siprofloksasin-dirençli 21 çeşit *Campylobacter* sp. (12 *C. jejuni*, 5 *C. lari*, 4 *C. coli*)'ye karşı broth mikrodilüsyon ve agar well-difüzyon metodlarıyla *in vitro* olarak çalışılmıştır ve hepsine karşı yüksek aktivite (MIC değeri 7,8-800 µ/ml) gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda *O. minutiflorum* uçucu yağının *Campylobacteriosis* gibi gıda kaynaklı hastalıklara karşı doğal koruyucu olabileceği savunulmuştur¹³⁰.

O. minutiflorum uçucu yağı, yiyecek kaynaklı bir patojen olan *Echerichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal aktivite göstermiştir²⁰⁸.

Yapılan bir çalışmada, agar well difüzyon ve mikrodilüsyon broth metoduyla incelendiğinde, *O. minutiflorum* *n*-hekzan ekstresinin *Shigella sonnei* (RSKK 878)'e karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği bulunmuş ve yiyecek endüstrisi için doğal bir kaynak olabileceği savunulmuştur²⁰⁹.

O. scabrum uçucu yağının, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermis* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 227853), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 227853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterileri üzerine, *O. microphyllum* uçucu yağının *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermis* (ATCC 25923), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Escherichia coli* (ATCC 25922) üzerine antibakteriyal etkisi bulunduğu gösterilmiştir¹²³.

O. scabrum ve *O. calcaratum* uçucu yağının Gram-pozitif *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* ve Gram-negatif *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antibakteriyal etkisi gösterilmiştir⁶⁹.

O. onites uçucu yağının, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) üzerinde antibakteriyal etkisi gözlenmiştir¹⁴⁰.

O. compactum uçucu yağının ana bileşenleri olan timol ve öjenolün, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* üzerinde hücre lizisi yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir⁷³.

O. compactum, *O. heracleoticum*, *O. majorana* uçucu yağlarının, et kaynaklı *Pseudomonas putida* üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivitesi gözlenmiştir²¹⁰.

O. compactum uçucu yağının *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde bakteriosidal aktivitesi bulunduğu gösterilmiştir²¹¹.

O. onites ve *O. minutiflorum*'un uçucu yağlarının, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* üzerinde antibakteriyal aktivitesi gözlenmiştir¹²⁶.

O. onites, *O. vulgare* subsp. *hirtum* uçucu yağlarının, *Stenotrophomonas maltophilia* üzerinde antimikrobiyal etkisi bulunmaktadır²¹².

O. onites metanol ekstresi, *Salmonella typhimurium* (CCM583), *Enterobacter aerogenes* (CIP6069), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) üzerinde oldukça aktif bulunmuştur²⁶⁷. *O. onites* metanol ekstresinin *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC 25177) üzerinde antimikobakteriyal etkisi gösterilmiştir²¹³.

O. onites, *O. vulgare* subsp. *hirtum* uçucu yağlarının, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Pseudomonas fluorescens* MU 87 hariç Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış, her iki bitki de *Stenotrophomonas maltophilia* MU 64, *S. maltophilia* MU 99 ve *Chryseomonas luteola* MU 65'e karşı

yüksek aktivite göstermiştir. Maksimum antimikrobiyal aktiviteyi *O. onites* göstermiştir²¹⁴.

O. majorana uçucu yağının biostatik aktivitesi agar difüzyon, agar dilüsyon ve broth dilüsyon yöntemiyle test edilmiş, agar dilüsyon yönteminde 5 Gram-pozitif bakteriye karşı yüksek etkili bulunmuştur. Biyosidal aktivitesi, ölüm zamanı kaydedilerek çalışılmış, *Escherichia coli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus subtilis* ve *Saccharomyces cerevisiae* 5 dakikadan az zamanda, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* 2 saat ve daha az zamanda, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus lutea*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* 6 saatten daha uzun sürede cevap vermiştir¹¹³.

O. majorana metanol ekstresinin gastrointestinal hastalıklara neden olan *Helicobacter pylori*'ye karşı tedavi edici etkisi gösterilmiştir²¹⁵.

O. glandulosum uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi, agar disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) tayini ile çalışılmıştır. Bütün mikrobiyal suşlar (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae*) belirgin farklı duyarlılığa sahip olmasına rağmen, uçucu yağa oldukça benzer derecede duyarlılık göstermişlerdir⁹⁶.

O. glandulosum uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış, en duyarlı olduğu mikroorganizmanın *Listeria monocytogenes* olduğu tayin edilmiş ve çalışmanın sonucunda uçucu yağının yiyecek ve ilaç endüstrisinde doğal koruyucu olarak kullanabileceği savunulmuştur²¹⁶.

O. glandulosum toprak üstü kısmının hidrodistilasyonla izole edilen uçucu yağının antibakteriyal aktivitesi Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı çalışılmış, *Pseudomonas* hariç diğerlerine karşı oldukça aktif bulunmuştur⁹⁷.

O. acutidens uçucu yağının 35 bakteri üzerindeki etkisi çalışılmış, 27 tanesine (%77) karşı etkili olduğu gözlenmiştir⁶¹.

O. acutidens'in disk difüzyon yöntemiyle toprak üstü kısmı ve korollaların antibakteriyal aktivitesi çalışılmıştır. Toprak üstü kısmının uçucu yağının antibakteriyal aktivitesi sırasıyla *Proteus vulgaris* > *Salmonella typhimurium* > *Enterobacter cloacae* > *Klebsiella pneumoniae* > *Escherichia coli* > *Serratia marcescens* > *Pseudomonas aeruginosa*, korollaların ise *Salmonella typhimurium* > *Proteus vulgaris* > *Enterobacter cloacae* > *Escherichia coli* > *Klebsiella pneumoniae* > *Serratia marcescens* > *Pseudomonas aeruginosa* olarak tespit edilmiştir⁶⁴.

O. vulgare ekstresi, agar difüzyon yöntemi ile *Helicobacter pylori*'ye karşı antimikrobiyal olarak test edilmiştir. Fenolik asitlerin, *H. pylori*'nin gelişmesini engellemede rol aldığı gözlenmiştir²¹⁷.

O. vulgare uçucu yağının antimikrobiyal etkisi broth microdilüsyon yöntemiyle çalışılmış *Escherichia coli*'ye karşı aktif bulunmuş (MIC $\geq$ 2% hacim/hacim) ayrıca *Salmonella enteritidis*, *Salmonella essen*, *Salmonella choleraesuis* ve *Salmonella typhimurium* üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivitesi gözlenmiştir (MIC $\leq$ 1% hacim/hacim)²¹⁸.

O. vulgare uçucu yağının antibakteriyal aktivitesi disk difüzyon ve broth dilüsyon metodlarıyla çalışılmış *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili bulunmuştur¹⁷⁸.

O. vulgare uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* üzerinde antibakteriyal aktivitesi vardır²¹⁹.

Yapılan bir çalışmada, *O. vulgare* subsp. *vulgare* uçucu yağı ve metanol ekstresinin antibakteriyal aktivitesi gözlenmiştir. Sonuç olarak yiyecek ve/veya farmasötik endüstride doğal koruyucu madde olarak kullanılabileceği önerilmiştir¹⁹⁸.

O. vulgare uçucu yağının Gram-pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*, Gram-negatif bakteri olan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Salmonella* sp.'ye karşı etkili olduğu gözlenmiştir¹⁸⁰.

O. vulgare subsp. *virens* uçucu yağının en çok *Mycobacterium smegmatis* olmak üzere birçok bakteriyi inhibe ettiği gözlenmiştir²²⁰.

O. vulgare subsp. *hirtum* uçucu yağı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı agar difüzyon yöntemiyle çalışılmış oldukça etkili bulunmuştur¹⁸⁶.

O. vulgare uçucu yağının yiyeceklerdeki patojen bakterilerin özellikle *Staphylococcus aureus*'un büyümesini ve yaşamasını inhibe ettiği gözlenmiştir¹⁷⁷.

O. vulgare uçucu yağının *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* gibi yiyecek kaynaklı bakterilere karşı etkili olduğu gösterilmiştir²²¹.

O. vulgare uçucu yağının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* karşı antimikrobiyal aktivitesi vardır ve besin kaynaklı bakterilerin kontrolünde alternatif olabileceği savunulmuştur²²².

O. vulgare uçucu yağının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antibakteriyal aktivitesi gözlenmiştir²²³.

O. vulgare infüzyon, dekoksiyon ve uçucu yağının Gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyal aktivitesi çalışılmış, infüzyon ve uçucu yağ *Staphylococcus*

saprophyticus, *S. aureus*, *Micrococcus roseus*, *M. kristinae*, *M. nishinomiyaensis*, *M. lylae*, *M. luteus*, *M. sedentarius*, *M. varians*, *Bacillus megaterium*, *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. circulans*, *B. brevis*, *B. coagulans*, *B. pumilus*, *B. laterosporus*, *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. subtilis*, *B. firmus*, *B. cereus* ve *B. licheniformis*'e karşı aktif bulunmuştur. Tüm test bakterileri *Origanum* dekoksasyonuna karşı direnç göstermiştir²²⁴.

O. vulgare uçucu yağının, *Staphylococcus aureus*'un enterotoksin üretimi, membran geçirgenliği ve yüzey karakterleri üzerindeki etkisi incelenmiş, yiyecek endüstrisinde *S. aureus*'un büyümesinde ve enterotoksin sentezinin bastırılmasında, kullanımına başvurulabileceği belirtilmiştir²²⁵.

O. kopetdaghensis uçucu yağı, *Streptococcus* sp. ve *Proteus vulgaris* üzerinde bakteriyostatik aktivite göstermiştir²²⁶.

O. saccatum uçucu yağının antimikrobiyal özellikleri agar difüzyon yöntemiyle çalışılmış, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde aktif bulunmuştur¹⁴⁶.

O. sipyleum ekstresinin antibakteriyal aktivitesi agar difüzyon metodu kullanılarak 15 çeşit bakteri üzerinde çalışılmış *Yersinia enterocolitica* hariç hepsine karşı etkili bulunmuştur²⁷.

Timol ve karvakrolün dizanteri bakterileri ve enterite neden olan bazı bakteriler üzerindeki in vitro antibakteriyal etkisi çalışılmış, oldukça güçlü bakteriyostatik ve bakteriosidal etki göstermiştir²²⁷.

2.3.2. Antiviral Aktivite

O. acutidens metanol ekstresi HIV-1'in üretimini inhibe etmiştir, kallus kültürleri zayıf antiherpetik etki göstermiştir⁶¹.

2.3.3. Antiparaziter Aktivite

O. virens uçucu yağının in vitro anti-giardial aktiviteye ve protozoan *Giardia lamblia*'nın neden olduğu parazitik hastalıkların tedavi potansiyeline sahip olduğu gözlenmiştir²²⁸.

2.3.4. Antifungal Aktivite

O. minutiflorum'un uçucu yağının *Candida albicans* KUEN 977, *Candida tropicalis* CBS94 üzerine kuvvetli antifungal aktivitesi gözlenmiştir¹²⁵.

O. scabrum ve *O. microphyllum*'un *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis glabrata* üzerinde antifungal aktivitesi olduğu gözlenmiştir¹²³.

O. onites'in antifungal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. İçerdiği karvakrol yüksek oranda antifungal aktivite göstermiştir. Karvakrol funguslardaki α ve β glukonazlar kadar, kitin sintaz/kitinaz gibi bazı hücre duvarı enzimlerine zarar vererek etki eder¹⁴¹.

O. vulgare, *O. dictamnus* ve *O. majorana* uçucu yağları düşük konsantrasyonda (250–400 $\mu\text{g/mL}$) *Penicillium digitatum*'un büyümesini ve üretimini tamamen inhibe etmiştir²²⁹.

O. onites uçucu yağının antifungal aktivitesi çalışılmış, en çok *Aspergillus alternata* ikinci olarak da *Penicillium roqueforti*'ye karşı etkili bulunmuştur¹³⁹.

O. acutidens uçucu yağının antifungal ve antikandidal aktivitesi disk-difüzyon, microwell dilüsyon, MIC agar dilüsyon yöntemleriyle çalışılmış 18 mantardan 12'sine (%67) ve *Candida albicans*'a karşı aktif bulunmuştur⁶¹.

O. glandulosum uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi agar disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) tayini ile çalışılmıştır. *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* uçucu yağa duyarlılık göstermişlerdir⁹⁶.

O. majorana metanol ekstresinin antifungal aktivitesi çalışılmış, *Aspergillus niger*'in büyümesine karşı yüksek toksisite gösterdiği tayin edilmiştir²³⁰.

O. syriacum var. *bevanii* uçucu yağının *Sclerotinia sclerotiorum*'e karşı antifungal aktivitesi gözlenmiştir²³¹.

O. syriacum uçucu yağının hamster vajinasındaki *Candida albicans*'ı tamamen ortadan kaldırdığı gözlenmiştir²³².

O. vulgare uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve broth dilüsyon metodlarıyla çalışılmış *Candida albicans* ve *Aspergillus niger*'e karşı etkili bulunmuştur¹⁷⁸.

O. vulgare uçucu yağının ana bileşenleri olan timol ve karvakrolün çeşitli patojen *Candida* türlerine karşı antifungal etkisi incelenmiş, uçucu yağdan saflaştırılmış timolün *Candida albicans* üzerinde en etkili bileşen olduğu gözlenmiştir²³³.

O. vulgare uçucu yağının antiyeast aktivitesi test edilmiş, *Candida albicans* ve *Candida krusei* inhibitör etki göstermiştir²³⁴.

O. vulgare uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve broth dilüsyon metodlarıyla çalışılmış *Candida albicans* ve *Aspergillus niger*'e karşı etkili bulunmuştur¹⁷⁸.

O. vulgare uçucu yağının ve uçucu yağ bileşiminde bulunan karvakrolün *Candida albicans* üzerinde antifungal aktivitesi vardır²³⁵.

O. vulgare subsp. *vulgare*'nin uçucu yağı ve metanol ekstresi antifungal aktivite göstermiştir. Çalışmanın sonucunda yiyecek ve/veya farmasötik endüstride doğal koruyucu madde olarak kullanılabilecekleri savunulmuştur¹⁹⁸.

O. vulgare uçucu yağı mantar infeksiyonlarında kullanılan Nistatin ile beraber kullanıldığında *Candida* türlerine karşı sinerjik etkilidir²³⁶.

O. vulgare uçucu yağının bir maya olan *Candida albicans*'a karşı etkili olduğu gözlenmiştir¹⁸⁰.

O. vulgare subsp. *hirtum* ve *O. minutiflorum* metanol ekstrelerinin *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *Fusarium proliferatum*'a karşı antifungal etki gösterdiği bulunmuştur²³⁷.

O. vulgare uçucu yağının *Sporothrix schenckii*'e karşı antifungal aktivitesi gözlenmiştir¹⁶⁷.

2.3.5. Antioksidan Aktivite

O. compactum'un uçucu yağı gaz kromatografisi ile incelenmiştir. Uçucu yağın antioksidan aktivitesi, 6 aylık dönemde zeytinyağının asit değeri ve peroksit değerinin tayini ile gerçekleştirilmiştir ve antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir⁵⁷.

Kuzeydoğu Cezayir'de 4 farklı bölgede bulunan *O. glandulosum*'dan elde edilen uçucu yağların antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Yağların antioksidan kapasiteleri modifiye reaktif tiyobarbitürik asit ile ölçülmüş, yumurta sarısı, 2-2'-azobis-(2-amidinopropan)dihidroklorit varlığında substrat olarak kullanılmıştır. Aktiviteler α - tokoferol ve 2,6-ditertbütıl-4-Me fenol (BHT, bütılhidroksitoluen) ile karşılaştırılmıştır. Yağların dördünün de düşük konsantrasyonda yüksek antioksidan aktivitesi bulunduğu gözlenmiştir⁸⁹.

O. glandulosum'un antioksidan aktivitesi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) metoduyla çalışılmıştır. *O. glandulosum* uçucu yağının iyi bir antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiştir⁹⁶.

O. vulgare subsp. *glandulosum* uçucu yağının total fenol değeri Folin-Ciocalteu metoduyla test edilmiş, DPPH radikal süpürücü yöntem ile antioksidan etkinliği gözlenmiştir¹⁸³.

O. onites ve *O. intercedens* ekstresinin, Krosin ve Ransimat testleriyle antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir⁴⁶.

O. onites aseton ve metanol ekstresinin total fenol miktarı, rosmarinik asit içeriği, serbest-radikal süpürücü aktivitesi ve demir indirgeme özelliği çalışılmış, oldukça yüksek antioksidan aktivite göstermiştir²³⁸. Yapılan diğer bir çalışmada *O. onites*'in antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir³⁹.

O. onites uçucu yağı, β -karoten ağartma testine göre yüksek antioksidan aktivite göstermiştir²¹².

Yapılan bir çalışmada *O. onites* (EC_{50} = 45 μ g/ml), *O. onites* (EC_{50} = 24 μ g /ml), *O. tyttanthum* (EC_{50} = 19 μ g/ml), *O. vulgare* subsp. *hirtum*'da (EC_{50} = 21 μ g/ml) antioksidan aktivite göstermiştir⁴.

Sığır albumin ve fruktozdan oluşan *in vitro* sistem kullanılarak, içinde *O. officinalis*'in de bulunduğu 25 bitkinin protein glikasyon inhibisyon aktivitesi incelenmiştir. Glikasyon inhibisyon aktivitesi ile bitkilerdeki antioksidatif kuvvet arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bu bitkilerin pozitif glikasyon inhibisyonu ve antioksidatif aktivitesinin yaşlanma ve diyabetteki komplikasyonlar üzerinde rolü olabileceği ileri sürülmüştür¹⁶.

O. acutidens uçucu yağının antioksidatif kapasitesi DPPH ve β -karoten/linoleik asit yöntemiyle bütildihidroksitoluen (BHT) ile kıyaslanarak çalışılmış, uçucu yağın yüksek karvakrol (%72 h/h) içermesinden dolayı yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite gözlenmiştir. Metanol ekstresi de içerdiği fenolik asit, polifenol ve flavonoidlerden dolayı antioksidatif aktivite göstermiştir⁶¹.

O. syriacum, *O. minutiflorum*, *O. onites*'in su ekstraktlarının antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiş ve bu etki polar fenolik bileşiklerin varlığına bağlanmıştır²³⁹.

İçinde *O. vulgare*, *O. onites*, *O. minutiflorum* ve *O. syriacum*'un da bulunduğu 8 bitki ekstresi HPLC-DPPH metoduyla çalışılmıştır. Ekstrelerdeki radikal süpürücü etki ile beraber benzoik asit ve hidroksisinnamik asit türevleri, flavonoidler, diterpenlerin retensiyon zamanları ve UV spektrum verileri alınmıştır. Bütün ekstraktlarda rosmarinik asit başlıca bileşen olarak tespit edilmiş ve dominant radikal süpürücülerden biri olarak tayin edilmiştir¹⁷.

O. vulgare'nin de aralarında bulunduğu 5 bitkinin total fenolik içeriği Folin-Ciocalteu metoduyla çalışılmıştır. Flavonlar ve flavanoller HPLC ile tayin edilmiştir ve antioksidatif aktiviteleri araştırılmıştır. Antioksidatif aktivite 98 °C'de ayçiçeği yağında peroksit değerinin ölçümüyle ve β -karoten ve linoleik asidin bulunduğu sulu bir emülsiyon sistemi içindeki örneğin absorbanı ölçülerek çalışılmıştır. Sadece mirsetin ayçiçeği yağının oksidasyonunu inhibe etmiştir. Tüm diğer flavon ve flavanoller pro-oksidatif aktivite göstermiştir. Emülsiyon sisteminde sadece apigenin pro-oksidatif aktivite gösterirken öteki flavon, flavanol ve bitki ekstraktları β -karotenin oksidasyonunu inhibe etmiştir²³.

O. vulgare'den elde edilen salvianolik asit A, salvianolik asit C, apigenin 7-O- β -(6''-metil)glukuronit güçlü DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir. EC₅₀ değerleri sırasıyla 7.2 $\pm$ 0.4, 9.6 $\pm$ 0.9 ve 9.5 $\pm$ 0.7 μ M'dır ve sıçan hepatositlerini 100 μ M'da CCl₄ hasarından korumuştur³¹.

O. vulgare ekstresi demir indirgeme aktivitesi göstermesine rağmen bu değer askorbik asitin yaklaşık beşte biridir²⁴⁰.

O. vulgare subsp. *hirtum* içerisindeki başlıca timokinon olmak üzere 14 aglikon teşhis edilmiş ve 60 °C'de, yağda peroksit tayini yapılarak antioksidan etkileri araştırılmıştır ve iyi bir doğal antioksidan olan α -tokoferol ile karşılaştırılmıştır. Timokinon ve diğer glikozidal uçucuların güçlü antioksidan olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak *Origanum* glukozidik ekstresinin doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir¹⁸⁷.

Origanum vulgare subsp. *hirtum* (64.71±1.05 µmol TE/g taze ağırlık) ve *Origanum x majoricum* (71.64±1.25 µmol TE/g taze ağırlık) ekstreleri yüksek antioksidan aktivite göstermiştir⁸.

O. vulgare kuru yaprak ekstresinin DPPH süpürücü aktivitesi gözlenmiştir²⁴¹.

O. vulgare yapraklarının sulu ve metanollü ekstresi önce serbest radikallerin nötralizasyonu, sonra demir ile peroksidasyon katalizinin bloke edilmesi ve son olarak da lipid-radikal zincir reaksiyonlarının kesilmesi ile peroksidatif proseslerde, bütün fazların inhibisyonunda etkili olduğu kanıtlanmıştır²⁴².

O. vulgare sulu ekstresinin 1,2-dimetilhidrazin (DMH) ile oluşturulan sıçan kolon karsinogenezi antioksidan ve lipid peroksidasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. DMH (20 mg/kg) ilk dört hafta, haftada bir kez subkutan olarak uygulanmış, daha sonra kesilmiştir. *Origanum* ekstresi hergün oral olarak 20, 40 veya 60 mg/kg dozda 15 hafta boyunca sıçan gruplarına verilmiştir. Bu süre sonunda sıçanlar öldürülmüş ve kolonlar görsel ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler ve konjuge dienler gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeylerinin karaciğerde önemli oranda yüksek, halbuki kekum ve kolonda DMH ile muamele edilen hayvanlarda daha düşük olduğu gözlenmiştir. Süperoksitdismutaz, katalaz, indirgenmiş glutatyon, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz'ın düzeyleri DMH ile muamele edilen hayvanlarda azalmıştır. Ancak gıdalarına *O. vulgare* eklenmiş farelerde durum tam tersine görülmüştür. 40 mg/kg dozda eklenen *O. vulgare* ekstresinin, kolon kanserli sıçanlarda antioksidan profili ve doku lipid peroksidasyonu üzerinde modulator bir özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bu durum *O. vulgare* ekstresinin muhtemel bir antikanser özelliğe sahip olduğunun bir göstergesidir²⁴³.

O. vulgare sulu infüzyonunun β-karoten ağartma, DPPH radikal süpürücü etki ve Ransimat testleriyle güçlü antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiştir²⁴⁴.

O. vulgare subsp. *virens* polar ekstresinin yüksek radikal süpürücü etkisi vardır²⁴⁵.

Bazı bitkilerdeki bileşenlerin antioksidan aktivitesi çalışılmış, *O. vulgare*'de en etkili bileşen rosmarinik asit bulunmuştur²⁴⁶.

O. vulgare subsp. *vulgare*'nin uçucu yağının ve metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi çalışılmıştır. Antioksidan aktivite, DPPH serbest radikal süpürücü etki ve linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu yöntemleriyle çalışılmıştır. Uçucu yağ ve metanol ekstresi antioksidan aktivite göstermiştir. Yapılan bu çalışma sonunda, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinden dolayı yiyecek ve/veya farmasötik endüstride, doğal koruyucu madde olarak kullanılabileceği önerilmiştir¹⁹⁸.

10 seçilmiş bitki türünün metanol ekstresi antioksidan aktivitesi karşılaştırılmış, sonuç olarak en etkililerden biri olarak *O. vulgare* bulunmuştur²⁴⁷.

O. vulgare subsp. *virens* polar ve non-polar fraksiyonların yüksek antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiştir²²⁰.

Yapılmış bir çalışmada *O. vulgare* uçucu yağının antioksidan aktivitesi olduğu kaydedilmiştir¹⁷⁴.

O. vulgare'nin 1,2-dimetilhidrazin (DMH) ile oluşturulan kolon kanserli erkek albino wistar sıçanlarda lipid peroksidasyon döngüsü (LPO) ve antioksidan durumunu düzenlemesi araştırılmıştır. Sonuç olarak, *O. vulgare*'nin LPO derecesini azaltarak ve antioksidan dereceyi artırarak kemoprevensiyon etki gösterdiği kaydedilmiştir²⁴⁸.

O. vulgare'den elde edilen rosmarinik asit metil esterinin antioksidan aktivitesi tespit edilmiş, yiyeceklere eklenmesinin yararlı olabileceği savunulmuştur²⁴⁹.

O. vulgare uçucu yağının Ransimat testine göre yüksek antioksidan aktivitesi gözlenmiştir²⁵⁰.

O. vulgare subsp. *virens*'in yüksek radikal süpürücü aktivite ve lipid peroksidasyon inhibisyonu gösterdiği kanıtlanmıştır²⁵¹.

O. majorana uçucu yağının, etanol toksisitesine uğramış erkek sıçanlar üzerindeki antioksidan etkisi incelenmiş, uçucu yağın oksidatif hasarın kontrolünde yararlı bir bitkisel tedavi olabileceği sonucuna varılmıştır²⁵².

Amiloid β protein ($A\beta$)'in neden olduğu nörotoksisite üzerinde *O. majorana*'dan izole edilen ursolik asitin etkisi PC12 hücreleri kullanılarak araştırılmıştır. İzole ursolik asit ve vitamin E ile ön muamele, reaktif oksijen türlerinin toksisitesinden P12 hücrelerini korur. Bu antioksidan maddeler $A\beta$ 'in nörotoksik etkisini inhibe etmiştir²⁵³.

Yapılan bir çalışmada, *O. majorana* uçucu yağının antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiştir¹¹¹. Yapılan başka bir çalışmada *O. majorana* ekstresi yüksek süpürücü etki göstermiştir²⁵⁴.

Yapılan bir çalışmada *O. majorana* metanol ekstresinin yüksek radikal süpürücü etkiye sahip olduğu ve *O. vulgare* metanol ekstresinin yüksek antioksidan aktivitesi olduğu gözlenmiştir²⁵⁵.

O. sipyleum ekstresinin antioksidan aktivitesi total fenol tayini, DPPH radikal süpürücü aktivite tayini ve fosfomolibden yöntemi ile çalışılmış ve aktif bulunmuştur²⁷.

O. dictamnus'un antioksidan aktivitesi DPPH metoduyla çalışılmıştır. İlk önce sırasıyla petrol eteri, di-etil eter ve etanol, ikinci olarak sırasıyla petrol eteri ve di-etil eter, en son sadece etanol ekstresi uygulamış ve en güçlü etkiye etanol (özellikle rosmarinik asit) ekstresinin sahip olduğu gözlenmiştir¹².

Yapılan bir çalışmada *O. x applii*'nin güçlü antioksidan aktivitesi olduğu ve doğal bir antioksidan kaynak olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir⁵⁶.

O. heracleoticum'un petrol eteri (P), di-Et eter (D) ve etanol (E) ekstreleri ile etanol ekstresinden fraksiyonlanan, di-Et eter (ED) ve etil asetat (EEAc) fraksiyonları DPPH süpürücü aktivite tayini ile test edilmiştir. Antioksidan aktivite sıralaması ED>E>D>EEAc>P şeklinde gözlenmiştir⁵⁵.

O. syriacum var. *bevanii* uçucu yağı yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda, yiyecek endüstrisinde *O. syriacum* var. *bevanii*'nin doğal koruyucu madde olarak kullanılabileceği önerilmiştir¹⁵⁴.

O. ehrenbergii uçucu yağı DPPH süpürücü aktivite göstermiştir. *O. syriacum* ve *O. ehrenbergii* uçucu yağları linoleik asit oksidasyonunu inhibe etmiştir⁸⁴.

Origanum türlerinin uçucu yağındaki başlıca bileşenlerden karvakrolün D-galaktozamin (D-GalN)'in neden olduğu hepatotoksisiteli ve oksidatif hasarlı erkek albinolu Wistar sıçanlar üzerindeki etkisi çalışılmış, çalışmanın sonucunda karvakrol önemli derecede bir hepatoprotektif ve antioksidan etki göstermiştir²⁵⁶.

2.3.6. Antienflamatuvar Aktivite

O. vulgare'nin antienflamatuvar etkisi stres kaynaklı gastrit ve kontakt hipersensitiviteye sahip fare modellerinde, hidrokortizon ile kıyaslanarak çalışılmıştır. *O. vulgare* ekstresinin, hidrokortizondan daha az antienflamatuvar etkili olduğu gözlenmiştir²⁴⁰.

Origanum türlerinin antienflamatuvar aktivitesi iyi bilinmektedir, fakat sorumlu olan bileşenler tayin edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada değişik *Origanum* türlerinden (*O. vulgare* subsp. *hirtum*, *O. vulgare* ve *O. syriacum*) elde edilen rosmarinik asit, oleanolik asit ve ursolik asitin antienflamatuvar aktiviteleri indometazin ile karşılaştırılmış ve her biri güçlü aktivite göstermiştir²⁵⁷.

O. vulgare uçucu yağının antienflamatuvar etkisi araştırılmış, pro-enflamatuvar TNF- α , IL-1 β , IL-6 sitokin sentezinde azalma, anti-enflamatuvar sitokin IL-10 üretiminde artışa neden olmuştur ve ateroskleroziste antienflamatuvar etkisinden dolayı kullanılabileceği önerilmiştir¹⁸¹.

O. ehrenbergii uçucu yağı monositik makrofaj hücre hattındaki NO üretimini inhibe etmiştir⁸⁴.

2.3.7. Antiplatelet Etki

Fenolik bileşenlerce zengin *O. vulgare*'nin de içinde bulunduğu bazı bitkilerin domuz ve sıçan plazmasındaki antiplatelet aktivitesi ve pıhtılaşma inhibisyonu incelenmiş, *Origanum* yağının yüksek antiplatelet aktivite gösterdiği gözlenmiştir²⁵⁸.

Platelet hiperaktivitesi, damar duvarında platelet adhezyonuyla sonuçlanarak, trombozis ve kardiyovasküler hastalıklardaki artışın en önemli sorumlularından biridir. Yapılan bir çalışmada insan plateletleri hazırlanmış ve 50-200 $\mu\text{g/ml}$ bitki yaprak tozuna eşdeğer test örnekleri 60 dakika inkübe edilmiştir. Plateletler daha sonra trombin (0.25 U/ml) ile aktive edilmiş ve laminin kaplı plaklara adhezyonu araştırılmıştır. *O. majorana*'nın metanol ekstresi 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda laminin kaplı kuyucuklara plateletlerin adhezyonunu %40 inhibe etmiştir. Ekstrenin, geleneksel tıpta, kardiyovasküler hastalıklar ve trombozisin tedavisinde kullanılabileceği kararlaştırılmıştır²⁵⁹.

Yapılan bir çalışmada karvakrolün antiplatelet etkiye sahip olduğu gösterilmiştir²⁶⁰.

2.3.8. İnsektisidal Etki

O. vulgare subsp. *hirtum*'un içerdği karvakrol ve timol'ün *Drosophila* türleri üzerindeki insektisidal ve genotoksik aktivitesi test edilmiştir ve karvakrol'ün timolden daha toksik olduğu bulunmuştur¹⁸⁸.

O. vulgare uçucu yağının bir parazit olan *Trypanosoma cruzi* üzerinde (insan iç organlarında, lenf ve kalp kasında çoğalabilen hayvanlardan geçen tahtakurusu) tripanosidal aktivitesi vardır²⁶¹.

Yapılan bir çalışmada *O. majorana* uçucu yağının potansiyel fumigant ve *Blattella germanica*'nın kontrolünde kullanılabileceği tanımlanmıştır²⁶².

O. majorana ve *O. vulgare* uçucu yağı *Spodoptera littoralis* larvalarına karşı fumigasyon ve topikal uygulama ile insektisidal etki göstermiştir²⁶³.

O. majorana'nın metanol ekstresinin insektisidal aktivitesi çalışılmış, *Spodoptera littoralis* larvalarına karşı yüksek toksisite göstermiştir²⁶⁴.

O. majorana uçucu yağı *Ephestia kuehniella zeller* ve *Plodia interpunctella*'nın yumurtalarına karşı mortaliteye sahiptir²⁶⁵.

O. onites uçucu yağının ve bileşenlerinden timol ve karvakrolün, çam güvesi olan *Thaumetopoea wilkinsoni*'nin kontrolünde alternatif bir insektisit olarak kullanılabileceği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir¹³⁵.

O. onites ve *O. minutiflorum* uçucu yağlarının sivrisinek olan *Culex pipiens* larvalarına karşı insektisidal aktivitesi gözlenmiştir. Bu aktivite bu uçucu yağların başlıca bileşeni olan karvakrole bağlanmıştır²⁶⁶.

O. onites'in bir çam güvesi olan, insan ve hayvanlarda güçlü alerjik reaksiyonlara neden olan *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams üzerine toksisitesi bulunmaktadır²⁶⁷.

O. onites uçucu yağının *Rhipicephalus turanicus*'a karşı potansiyel bir akarisidal etkisi olduğu bulunmuştur²⁶⁸.

O. onites uçucu yağı *Ephestia kuehniella* ve *Plodia interpunctella*'a karşı yüksek insektisidal etki göstermiştir¹⁴².

O. onites uçucu yağının *Tetranychus cinnabarinus*'a karşı akarisidal aktivitesi tayin edilmiştir²⁶⁹.

O. minutiflorum uçucu yağının *Rhipicephalus turanicus*'a karşı akarisidal etkisi bulunmaktadır²⁷⁰.

O. glandulosum uçucu yağının *Rhizopertha dominica* üzerinde önemli insektisidal aktivitesi gözlenmiştir⁹⁵.

O. acutidens uçucu yağının *Sitophilus granarius* ve *Ephestia kuehniella* larvalarına karşı insektisidal aktivitesi gözlenmiştir²⁷¹.

O. acutidens uçucu yağının insektisit aktivitesi çalışılmış, *Phestia kuehniella*, *Lasioderma serricorne*, *Sitophilus granarius*'un kontrolünde potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir²⁷².

2.3.9. Sitotoksik, Antikanserojen, Antimutajen, Antiproliferatif Etkiler

O. syriacum metanol ekstresinin MTT tayini ile insan servikal adenokarsinoma Hela hücrelerine karşı sitotoksitesisi tayin edilmiştir²⁴.

O. majorana'dan elde edilen arbutinin sıçan hepatoma hücreleri üzerinde güçlü sitotoksik etkisi olduğu gözlenmiştir²⁰⁴.

O. onites uçucu yağından fraksiyonel distilasyon tekniği ile elde edilen karvakrol'ün (0,1 mg.kg⁻¹ i.p.) sıçanlarda DMBA ile oluşturulan pulmoner tümörigenez üzerinde kuvvetli bir inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur³⁵.

O. vulgare'den elde edilen galangin ve kersetin'in diyet karsinojeni olan 3-amino-1-metil-5H-pirido(4,3-b) indol (Trp-P-2)' ye karşı antimutajen olduğu gözlenmiştir²⁷³.

Bazı *O. dictamnus* ekstreleri ve *O. dictamnus*'tan izole edilmiş ursolik asitin, P388 (murin lösemi) hücreleri ve insan bronşiyal epidermoit kanser NSCLC-N6 (küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücreleri) hücre dizisi üzerindeki aktivitesi *in vitro* test edilmiştir. Hem diklorometan ekstresi, hem de ursolik asit sitotoksik aktivite göstermiştir. Ursolik asit *in vivo* olarak da P388 hücrelerine karşı 50 mg/kg dozda çok önemli olmayan bir antilösemik aktivite göstermiştir²⁷⁴.

Yapılan bir çalışmada, karvakrolün antikarsinojenik, antiproliferatif özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir²⁶⁰.

O. majorana ekstresinin Jurkat lösemi hücre dizisi üzerinde apoptotik ve anti-proliferatif aktivitesi çalışılmıştır. Hücre canlılığı, bitki ekstresinin konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. *O. majorana* ekstresinin anti-proliferatif etkisinin doza bağlı olarak arttığı gözlenmiştir²⁵⁴.

O. vulgare etanol ekstresinin insan kolon adenokarsinoma Caco2 hücrelerine karşı proapoptotik etki gösterdiği ve sitotoksik aktiviteden sorumlu olabileceği gözlenmiştir²⁷⁵.

O. syriacum etanol ekstresinin, insan meme adenokarsinoma (MCF) hücrelerine karşı antiproliferatif aktivitesi tespit edilmiştir¹⁴⁹.

O. syriacum üzerinde yapılan bir çalışmada, bileşenlerinden timokinonun antikanserojen olduğu konusunda umut verici olduğu gözlenmiştir¹⁵⁰.

O. compactum'un MCF-7 insan göğüs kanseri hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi çalışılmıştır. En çok etil asetat ekstresinin güçlü hücre proliferasyon inhibisyonu gösterdiği gözlenmiştir²⁷⁶.

2.3.10. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz İnhibisyonu

O. majorana'dan elde edilen ursolik asitin Alzheimer hastalığında güçlü asetilkolinesteraz inhibisyonu yaptığı gözlenmiştir⁵⁸.

Bazı bitkilerin Alzheimer, epilepsi gibi nörolojik hastalıklar ve depresyonda etkisi asetilkolinesteraz inhibisyonu, GABA(A)-benzodiazepin bölgesindeki afinitesi ve serotonin transporter testleriyle çalışılmış, *O. syriacum* etil asetat ekstresi zayıf bir asetilkolinesteraz inhibisyonu göstermiştir²⁷⁷.

O. ehrenbergii uçucu yağı Elman metodu ile çalışılmış, güçlü asetilkolinesteraz ve butilkolinesteraz inhibisyonu göstermiştir⁸⁴.

O. onites, *O. vulgare*, *O. minutiflorum* ve *O. majorana* uçucu yağlarının ve bileşenlerinin asetilkolinesteraz ve bütilkolinesteraz inhibitör aktivitesi Elisa mikropate-okuyucu kullanılarak, spektrofotometrik Elman metoduyla çalışılmıştır. Hemen hemen tüm uçucu yağlar, her iki enzime de yüksek inhibitör etki göstermiştir. Ancak, bileşenler aynı oranda etki göstermemiştir²⁷⁸.

2.3.11. Diyabet Üzerindeki Etkileri

O. majorana yapraklarının metanol ekstresinden elde edilen 6-hidroksiflavonoit yapısındaki bileşiklerin (6-hidroksi apigenin, 6-hidroksi apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit, 6-hidroksi apigenin-7-O-(6-O-feruloil)- β -D-glukopiranozit, 6-hidroksiluteolin-7-O- β -D-glukopiranozit, 6-hidroksiluteolin-7-O-(6-O-feruloil)- β -D-glukopiranozit) sıçan intestinindeki α -glukozidazı inhibe ettiği gözlenmiştir³².

O. vulgare subsp. *hirtum*'un beş polar bileşeninin diyabetin sekonder komplikasyonunda poliol yolağının ilk enzimi olan aldoz redüktazı (ALR2) inhibe etme yeteneği incelenmiştir. En aktif olanı litospermik asit B bulunmuştur. Kafeik asit inaktif bulunmuştur. Diğerlerinin etkinliği sırasıyla rosmarinik asit> 12-hidroksi jasmonik asit> 12-O- β -glukopiranozit> *p*-ment-3-en-1,2 diol 1-O- β -glukopiranozit olarak sıralanmıştır²⁷⁹.

O. vulgare sulu ekstresi bazal plazma insülin konsantrasyonunu etkilemeksizin streptozotosin diyabetik sıçanlarda (STZ) anti-hiperglisemik aktivite göstermiştir²⁸⁰.

2.3.12. Safra ve Karaciğer Üzerindeki Etkileri

Kolestazis ilişkili transfer sisteminin ligand bağlama potansiyelinin azalması bazı bitkiler kullanılarak çalışılmış ve *O. vulgare* hafif bir pozitif etki göstermiştir²⁸¹.

Karvakrolün, D-galaktozaminin neden olduğu hepatotoksiteli sıçanlarda önemi derecede bir hepatoprotektif ve hipolipidemik etki gösterdiği bulunmuştur²⁸².

Yapılan diğer bir çalışmada, karvakrolün, sıçan karaciğerinde, iskemi ve reperfüzyonun neden olduğu defektlere karşı koruyucu olduğu ve karvakrolün hepatotoksik olmadığı gözlenmiştir²⁸³.

Erkek Wistar Albino sıçanlarının karaciğeri üzerinde karvakrolün etkisi incelenmiş ve karaciğer yenilenme oranını artırdığı sonucuna varılmıştır²⁸⁴.

2.3.13. Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkileri

O. majorana etanol ekstresinin antiülserojenik aktivitesi gastrik mukozalı sıçanlar üzerinde çalışılmış, 250 ve 500 mg/kg (vücut ağırlığı) dozlarda ülser, bazal gastrik sekresyonu ve asit çıkışı seviyesini azalttığı gözlenmiştir²⁸⁵.

O. onites uçucu yağının, sıçanlardaki 2,4,6-trinitrobenzensülfonik asitten kaynaklanan kolit üzerinde, intra-rektal ve intra-peritoneal uygulanmasının etkileri incelenmiştir. 0,1 veya 1 mg/kg/gün dozlarda, kolonik hasar üzerinde önemli derecede koruyucu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir²⁸⁶.

2.3.14. Deri Pigmentasyonu Üzerindeki Etkiler

O. vulgare'den elde edilen rosmarinik asit metil esterinin antimelanojenik etkisi çalışılmış, depigmentasyon özellik gösterdiği tespit edilmiş, deri pigmentasyonunun kontrolünde yararlı olabileceği önerilmiştir²⁴⁹.

O. vulgare'den izole edilmiş fenolik bir glukozit olan origanositin depigmentasyona sebep olduğu ve deri beyazlaştırıcı olarak kozmetikte kullanılmasının yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır²⁸⁷.

2.3.15. Diğer Aktivite Çalışmaları

Yapılan bir çalışmada, hafif hiperlipidemili hastalarda *O. onites* distilesinin lipit profili, antioksidan durum ve endotelial fonksiyonlarda yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir²⁸⁸.

O. onites'in su distilesinin farklı dozlarda, ratlardaki fundus, duodenum ve ileumdaki asetilkolinin neden olduğu kasılmalara karşı etkisi incelenmiştir. Doza bağlı şekilde inhibisyon gözlenmiştir. Fundusdaki inhibisyon en azdır²⁸⁹.

O. vulgare, *O. gracile* ve *O. tythanthum* üzerinde yapılan bir çalışmada zayıf allerjenik aktivite gözlenmiştir. *O. tythanthum* ve *O. vulgare* antibiyotik aktivite göstermiştir²⁹⁰.

Yapılan bir çalışmada, rosmarinik asit ve litospermik asitin akut egzersizde kreatin kinazla belirlenen kas hasarına etkisi sıçanlar üzerinde incelenmiştir. Çalışma sonunda rosmarinik asit ve litospermik asitin kas hasarını önlediği belirlenmiştir^{291,292}.

2.3.16. Klinik Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada, *O. onites* ekstresinin alımından sonra insan idrarındaki fenolik asitler izole edilmiştir. İdrarla atılan miktar, 0-24 saatte 4 kat, 24-48 saatte 2 kat artmıştır. Başlıca metabolit *p*-hidroksi benzoik asit hızlıca idrarla atılmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki, *O. onites* ekstresi bileşenleri, özellikle de metabolitleri, fenolik antioksidanların diyetle alımına katkı sağlayabilir²⁹³.

Sigara içmeyen 45 sağlıklı erkek gönüllüde, *O. vulgare* ekstresinin serum lipit ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkisi çalışılmıştır. 4 hafta boyunca mango-portakal suyu (plasebo), 300 mg/gün total fenolik bileşik içeren uçucu yağı uzaklaştırılmış, *O. vulgare* su ekstreli mango-portakal suyu veya 600 mg/gün total fenolik bileşik içeren uçucu yağı uzaklaştırılmış *O. vulgare* su ekstreli mango-portakal suyu verilmiştir. Plasebo grup ile karşılaştırıldığında idrardaki fenolik gruplar yüksek konsantrasyonda belirgin şekilde arttığı halde güvenlik parametreleri, serum lipit veya lipit peroksidasyon parametrelerinde herhangi bir değişim olmamıştır²⁹⁴.

2.3.17. Akut ve Uzun Dönem Doz Toksisite Çalışmaları

O. majorana uçucu yağının akut ve uzun dönem güvenlik çalışmaları fareler ve sıçanlar üzerinde çalışılmıştır. İlaç tek doz olarak oral yoldan verilmiş, semptomlar ve mortalite 14 gün gözlemlenmiştir. Kronik toksisite, üretkenlik ve mutajenite çalışmaları değerlendirilmiştir. Farelerde LD₅₀ 1.203 g/kg ve sıçanlarda LD₅₀ 1.666 g/kg değerleri uçucu yağın iyi tolere edildiğini göstermiş, 40 mg/kg'a kadar tekrarlanan oral dozların fare ve sıçanlarda etkisiz olduğu gösterilmiştir. 2 ve 3 ay sonra glukoz, kolesterol, trigliserit ve total lipit değerlerinde azalma gözlenmiştir. Yüksek dozların hamile sıçanlarda teratojenik potansiyeli kanıtlanmamıştır. Test edilen hiçbir doz mutajenik etki göstermemiştir. Fertilitede azalma, teratojenik ve mutajenik veri bulunmaması *O. majorana* uçucu yağının geniş güvenlik sınırına sahip olduğunu doğrulamaktadır²⁹⁵.

2.3.18. Patent Çalışmaları

Origanum türlerinin veya içinde *Origanum* türlerinin de bulunduğu bitki karışımlarının patent çalışmaları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. *Origanum* türlerinin veya içinde *Origanum* türlerinin de bulunduğu bitki karışımlarının patent çalışmaları

Tür	Etki	Kaynak
<i>O. vulgare</i>	Deri parlatıcı	296
	Antidiyabetik	297-300
	İnsektisit	301, 302
	Anti-selülit	303
	Antibakteriyal	304-308
	Antiviral	304, 306
	Saç koruma preperatı	309
	Cilt koruyucu	310, 311
	Antioksidan	312
	Antiaging	307, 312, 313
	Antifungal	305, 306
	Pestisit	314
	Diş koruma	315
	Temizlik ajanı	316
	Antiobezite	300, 317
	Hipolipidemik	299, 307, 313, 317
	Antiakne	317
	Kozmetik	317- 320
	Endometrit	321
	Antimikrobiyal	322, 323
	Analjezik	324
	Antienflematuar	324, 307
	Solunum sistemi hastalıkları	324, 325
	Faranjit	326
	Astım	327
	Yiyecek katkısı	328
	Kan basıncını düşürücü	299, 307, 313
	Pıhtılaşma tedavisi	329
	Frenopati	330
	Epilepsi	330
	Karaciğer koruyucu	307
	Demans	307
	Bağışıklık güçlendirici	307
	Konstipasyon	307, 313
	Yorgunluk	307, 313
	Hafıza güçlendirici	307, 313

Tablo 5 (devam)

Tür	Etki	Kaynak
<i>O. vulgaris</i>	Hepatit B tedavisi Litolitik Antienflematuar Analjezik Antibakteriyal Karaciğer hastalıkları Safra hastalıkları	331 332 332 332 332 333 333
<i>O. majorana</i>	Trankilizan Antidepresan Cilt koruyucu Solunum sistemi hastalıkları Antimikrobiyal Deri parlatici Antiaging Skapulohumeral periartrit Uyku kalitesini artırıcı Hipertansiyon Yoga egzersizleri Yağ yakıcı Gut Kardiovasküler hastalıklar	334, 335 336 337 338 339 340 340, 341 342 343 344 335 345 346 346
<i>O. masticina</i>	İnsektisit	347
<i>O. heracleoticum</i>	Cilt koruyucu	337

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

3.1.1.1. Bitki Materyali

O. micranthum, Adana Kozan'dan Ağustos 2009'da, yaklaşık 1300 m yükseklikten toplanmıştır. Bitki örnekleri Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (AEF 25873).

O. minutiflorum, Antalya İnan Tarım'dan alınmıştır. Antalya, Serik ilçesi, Etler Yaylası'ndan, Eylül 2010' da, yaklaşık 1800 m yükseklikten toplanmıştır (AEF 25949).

O. rotundifolium, Artvin'in Yusufeli ilçesinde Barhal bölgesi civarında, Çoruh nehri kıyısından, Haziran 2010'da, 560-620 m yükseklikten toplanmıştır (AEF 25947).

3.1.1.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler

3.1.1.2.a. Katı Kimyasal Maddeler

Vanilin (Fluka)

3.1.1.2.b. Solvanlar

Etil asetat, formik asit, asetik asit, bütanol, metanol, sülfirik asit, toluen (Riedel-de Haën), n-hekzan, kloroform (Merck), distile su.

3.1.1.2.c. Revelatörler

Vanilin/H₂SO₄: Vanilin'in derişik sülfirik asit'teki % 1'lik çözeltisi.

Püskürtmeden sonra 110 °C'de birkaç dakika ısıtılır.

3.1.1.2.d. Adsorbanlar

Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar

Yöntem	Adsorban
İTK	. Normal faz silika jel (Hazır alüminyum plak, Kiesegel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, 20x20 cm, Merck 5554) . Ters faz silika jel (Hazır alüminyum plak, RP-18 F₂₅₄, 20x20 cm, Merck 5559)
KK	. Normal faz silika jel (Kiesegel 60, 0.040-0.063-0.2 mm, Merck 7734) . Sephadex LH-20, Sigma-Aldrich, LH-20-100) . Ters faz silika jel (LiChroprep RP-18, 25-40 µm, Merck 9303)

3.1.1.2.e. Solvan sistemleri

Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi	Yöntem
CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (90:10:1)	İTK, SK
CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (80:20:2)	İTK, SK
CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (70:30:3)	İTK, SK
CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (65:35:5)	İTK, SK
CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (50:50:5)	İTK, SK
H ₂ O: MeOH (9:1)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (8:2)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (7:3)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (6:4)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (1:1)	SFK, TF-SK, TF-İTK
H ₂ O: MeOH (4:6)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (3:7)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (2:8)	TF-SK
H ₂ O: MeOH (1:9)	TF-SK
H ₂ O	TF-SK, TF-İTK
Toluen: Etil asetat: Formik asit (5:4:1)	İTK
n-Hekzan: EtOAc (9:1)	SK
n-Hekzan: EtOAc (8:2)	SK, İTK
n-Hekzan: EtOAc (7:3)	SK
n-Hekzan: EtOAc (6:4)	SK
n-Hekzan: EtOAc (1:1)	İTK, SK
n-Hekzan	SK
MeOH	SFK, TF-İTK
Etil asetat: Metanol: Su (7:2:1)	SK, İTK
Etil asetat: Metanol: Su (6:3:1)	İTK
Etil asetat: Metanol: Su (5:4:1)	İTK
Etil asetat: Bütanol: Formik asit: Su (5:3:1:1)	İTK
Etil asetat: Asetik asit: Formik asit: Su (100:11:11:27)	İTK

İTK: Silika jel ince tabaka kromatografisi

SK: Silika jel kolon kromatografisi

SFK: Sefadeks kolon kromatografisi

TF-SK: Ters faz silika jel kolon kromatografisi

TF-İTK: Ters faz silika jel ince tabaka kromatografisi

3.1.1.2.f. Aletler

Rotavapor	: Heidolph WB Laborota 4000
UV Lambası	: Mineralight UVGL-58
Vakum Pompası	: Millipore Model No: WP6122050
Ultrasonik Banyo	: Bandelin Sonorex RK 255 H
Terazi	: Presica XB 620M
Mantolu Isıtıcı	: Barnstead Electrothermal EM5000/C
Etüv	: Memmert Typ : UM 500
Hassas Terazi	: Scaltec SBA 31
Kolon	: Isolab Germany
NMR Spektrometresi	: Varian Mercury plus 400 MHz (^1H -NMR), 100 MHz (^{13}C -NMR)

3.1.1.3. Kromatografik Yöntemler

3.1.1.3.a. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İzolasyon çalışmalarının izlenmesinde normal faz ve ters faz silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Tatbikler pastör pipeti yardımıyla plağın alt ucunun 1,5 cm yukarısından ve 0.6 cm aralıklarla yapılmıştır. İTK'da kullanılan solvan sistemleri Tablo 7'de verilmiştir. Sigma kromatografi tankına (29 x 27 x 10 cm veya 14 x 12 x 10 cm) konulan plaklar oda sıcaklığında 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenmiştir.

Lekeler UV_{254} / UV_{366} nm dalga boyunda UV lambası altında ve/veya tayin edilen bileşiğe karakteristik revelatör kullanılarak belirlenmiştir.

3.1.1.3.b. Açık Kolon Kromatografisi (KK)

Çalışmalarımızda adsorban olarak normal faz silika jel, ters faz silika jel ve sefadeks kullanılmış olan açık kolon kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar ön fraksiyonlama işleminde 50'şer ml, saflaştırma aşamalarında ise 5-10 ml toplanmış ve kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı R_f değerine sahip maddeleri içeren fraksiyonlar birleştirilerek kuruluğa kadar uçurulmuştur.

Kolon hazırlanması:

- Normal faz silika jel kromatografisi (SK)

İstenilen miktarda tartılan silika jel, yeterli miktarda solvan sistemi ile süspanse hale getirilmiş ve bu karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona aktarılmıştır. Kolondan yeterli miktarda solvan sistemi (Tablo 7) geçirilerek, adsorbanın yerleşmesi sağlanmış ve adsorban üzerinde 2-3 mm solvan kalıncaya kadar beklenerek, kolon numune tatbiğine hazır hale getirilmiştir.

- Sefadeks kolon kromatografisi (SKF)

10-50 g sefadeks, yeterli miktar metanol ile karıştırılmıştır. Dolgu materyali, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona doldurulmuş ve iyice yerleşene kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Solvan adsorbanın üzerinde 1-2 mm kalıncaya kadar akıtılmış ve metanolde çözülen numune tatbik edilmiştir.

- Ters faz silika jel kolon kromatografisi (TF-SK)

10-50 g ters faz silika jel ile, yeterli miktar metanol ile karıştırılmıştır. Dolgu materyali, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona doldurulmuş ve iyice yerleşene kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Solvan adsorbanın üzerinde 1-2 mm kalıncaya kadar akıtılmış kolondaki adsorbanın yüzeyi düzeldikten sonra metanolde çözülen numune tatbik edilmiştir.

Numune tatbiki:

Çözücü yardımıyla veya kuru tatbik yöntemi ile numune tatbiği yapılmıştır.

Çözücü yardımı ile tatbik: Numune yeterli miktarda solvan/solvan sistemi içinde ve gerekiyorsa ultrasonik banyoda çözülerek, pastör pipeti yardımı ile kolona tatbik edilmiştir. Adsorbanın yüzeyini bozmadan yavaşça solvan ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

Kuru tatbik: Silika jel kolona numune tatbiği için bu yöntemden faydalanılmıştır. Numune en iyi çözündüğü çözücü ile çözülmüş ve kolon hazırlamada kullanılan adsorban ve numune miktarı da göz önünde tutularak yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve kuruması sağlandıktan sonra, kuru haldeyken tatbik için hazırlanmış kolona aktarılmış ve solvan sistemi ilave edilerek elüsyona başlanmıştır.

3.1.2. Ekstraksiyon

410 g *O. micranthum* bitkisi kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre, rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 26.7 g kloroform, 12.7 g etil asetat ve 58 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır.

550 g *O. minutiflorum* bitkisi kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 40.2 g kloroform, 7.8 g etil asetat ve 32 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır.

400 g *O. rotundifolium* bitkisi kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 18.3 g kloroform, 4 g etil asetat ve 31 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır.

3.1.3. İzolasyon Çalışmaları

3.1.3.1. *Origanum micranthum* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.1.3.1.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

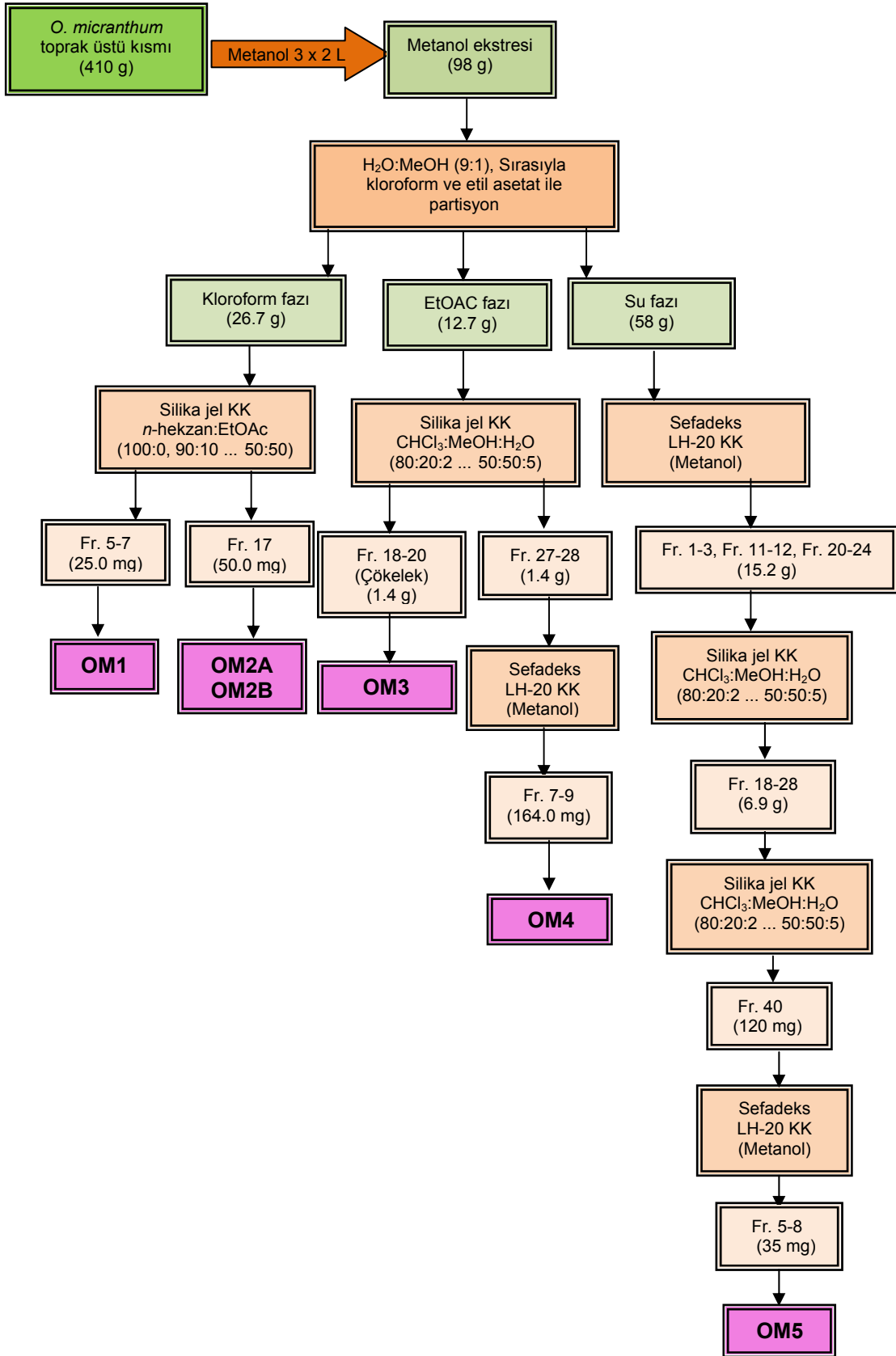
26.7 g kloroform ekstresi 4.5x35 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon *n*-hekzan:EtOAc (100:0) solvan sistemi ile başlatılıp, etil asetatın artan oranlarında (100:10, 90:10,, 50:50) sürdürülmüştür. 5-7 fraksiyonda beyaz çökelek halinde temiz olarak elde edilen bileşik **OM1**, 17. fraksiyonda saf olarak elde edilen madde **OM2A-OM2B** olarak adlandırılmıştır.

3.1.3.1.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

12.7 g etil asetat ekstresi 3,5x40 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl_3 :MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl_3 :MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. 18-20. fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OM3**). 27, 28. fraksiyonlar 2,5x40 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolonuna tatbik edilip, sürüklenme işlemi metanolle yapılmıştır. 7-9. fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OM4**).

3.1.3.1.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

58 g su ekstresi 3,5x40 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır. Alınan fraksiyonlar İTK ile incelenmiş, 1-3, 11-12, 20-24. fraksiyonlar birleştirilip, 3x50 boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl_3 :MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl_3 :MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. İTK sonucuna göre 18-28. fraksiyonlar birleştirilip, 2,5x40 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl_3 :MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl_3 :MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. 40. fraksiyon 2,5x25 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır. 5-8. fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OM5**).



Şekil 1: *O. micranthum* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.1.3.2. *Origanum minutiflorum* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.1.3.2.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

40.2 g kloroform ekstresi 4.5x35 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon *n*-hekzan:EtOAc (100:0) solvan sistemi ile başlatılıp, etil asetatın artan oranlarında (100:10, 90:10,, 50:50) sürdürülmüştür. 7-8 fraksiyon beyaz çökelek halinde temiz olarak elde edilmiştir (**OMF1**).

3.1.3.2.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

7.8 g etil asetat ekstresi 3,5x35 cm boyutundaki ters faz kolona tatbik edilmiş, elüsyona H₂O:MeOH (90:10) sistemiyle başlanmış, H₂O:MeOH (80:20,, 0:100) fraksiyonlar toplanmış İTK sonucu birbirine benzer olan 5-8. ve 12-13. fraksiyonlar birleştirilmiştir.

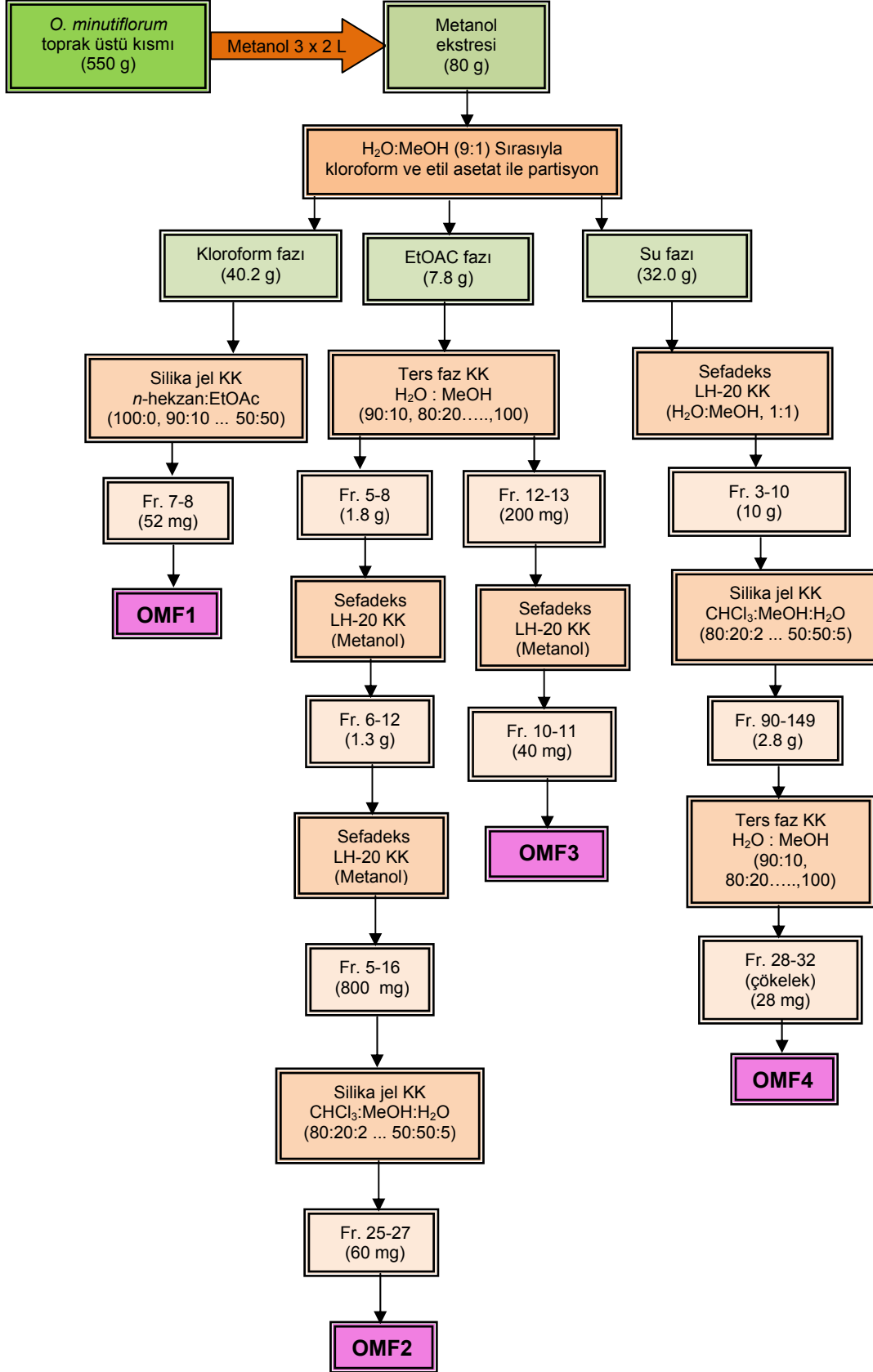
5-8. fraksiyonlar 2,5x25 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır. Toplanan fraksiyonlardan 6-12. İTK sonucunda birleştirilip 2,5x25 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır. Bunun sonucu elde edilen 5-16. fraksiyonlar 2,5x40 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. 25-27. fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OMF2**).

12-13. fraksiyonlar 2,5x25 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır, 10-11. Fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OMF3**).

3.1.3.2.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

31.9 g su ekstresi 5x40 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon $H_2O:MeOH$ (1:1) ile yapılmıştır. Alınan fraksiyonlar İTK ile incelenmiş, 3-10. fraksiyonlar birleştirilip, 3x50 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon $CHCl_3:MeOH:H_2O$ (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, $CHCl_3:MeOH:H_2O$ (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. İTK sonucuna göre 12-89 ve 90-149. fraksiyonlar birleştirilmiştir.

90-149. fraksiyonlar 3,5x35 cm boyutundaki ters faz kolona tatbik edilmiş, elüsyona $H_2O:MeOH$ (90:10) sistemiyle başlanmış $H_2O:MeOH$ (80:20,.....,100) sistemleriyle devam edilmiştir. 28-32. fraksiyonlarda oluşan sarı çökelek süzgeç kağıdından süzülüp, su ile yıkanarak saf olarak elde edilmiştir (**OMF4**).



Şekil 2. *O. minutiflorum* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.1.3.3. *Origanum rotundifolium* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.1.3.3.1. Kloroform ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

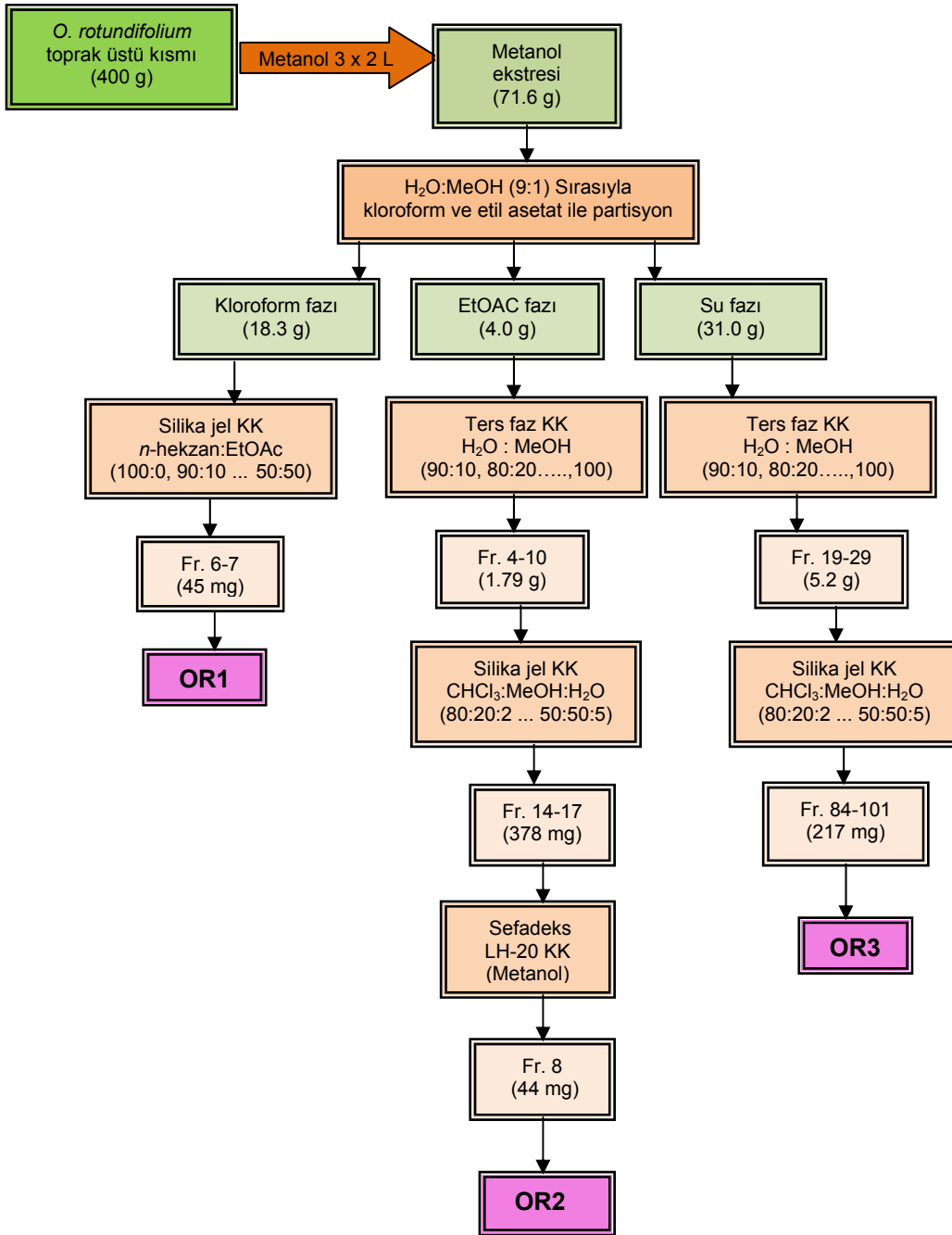
40.2 g kloroform ekstresi 4.5x35 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon *n*-hekzan:EtOAc (100:0) solvan sistemi ile başlatılıp, etil asetatın artan oranlarında (100:10, 90:10,, 50:50) sürdürülmüştür. 6-7 fraksiyon beyaz çökelek halinde temiz olarak elde edilmiştir (**OR1**).

3.1.3.3.2. Etil asetat ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

4 g etil asetat ekstresi 3,5x35 cm boyutundaki ters faz kolona tatbik edilerek elüsyona H₂O:MeOH (90:10) sistemiyle başlanıp H₂O:MeOH (80:20,.....,100) fraksiyonlar toplanmıştır. İTK sonucu birbirine benzer olan 4-10. fraksiyonlar birleştirilerek, 2,5x40 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. 14-17. fraksiyonlar 2,5x25 cm boyutundaki Sefadex LH-20 kolona tatbik edilmiştir, elüsyon metanolle yapılmıştır. 8. fraksiyon saf olarak elde edilmiştir (**OR2**).

3.1.3.3.3. Su ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

31 g su ekstresi 3,5x35 cm boyutundaki ters faz kolona tatbik edilerek elüsyona H₂O:MeOH (90:10) sistemiyle başlanıp H₂O:MeOH (80:20,.....,100) fraksiyonlar toplanmıştır. İTK sonucu birbirine benzer olan 9-29. fraksiyonlar birleştirilerek, 2,5x40 cm boyutundaki silika jel kolona kuru olarak tatbik edilmiştir. Elüsyon CHCl₃:MeOH:H₂O (80:20:2) solvan sistemi ile başlatılıp, CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3, 50:50:5) solvan sistemleriyle sürdürülmüştür. 84-101. fraksiyonlar saf olarak elde edilmiştir (**OR3**).



Şekil 3. *O. rotundifolium* üzerinde izolasyon çalışmaları

3.2. Beyin Korteks Hücre Kültüründe Nöroprotektif Etkinin Araştırılması

3.2.1. Kullanılan Materyal, Alet ve Yöntemler

3.2.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen, yeni doğan (en fazla 3 günlük) Sprague Dawley cinsi toplam 9 adet (3 tekrar) deney hayvanı kullanıldı. Hayvanlar etik kurallara uygun dekapite edildi ve elde edilen nöronlar hücre kültürü ortamında yaşatıldı. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu "Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Etik Kurulu" tarafından verilen 29.07.2011 tarihli ve B.30.2.ATA.0.22.02.02/719 sayılı yazı ile "Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)" tarafından verilen 05.08.2011 tarihli ve 51 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

3.2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

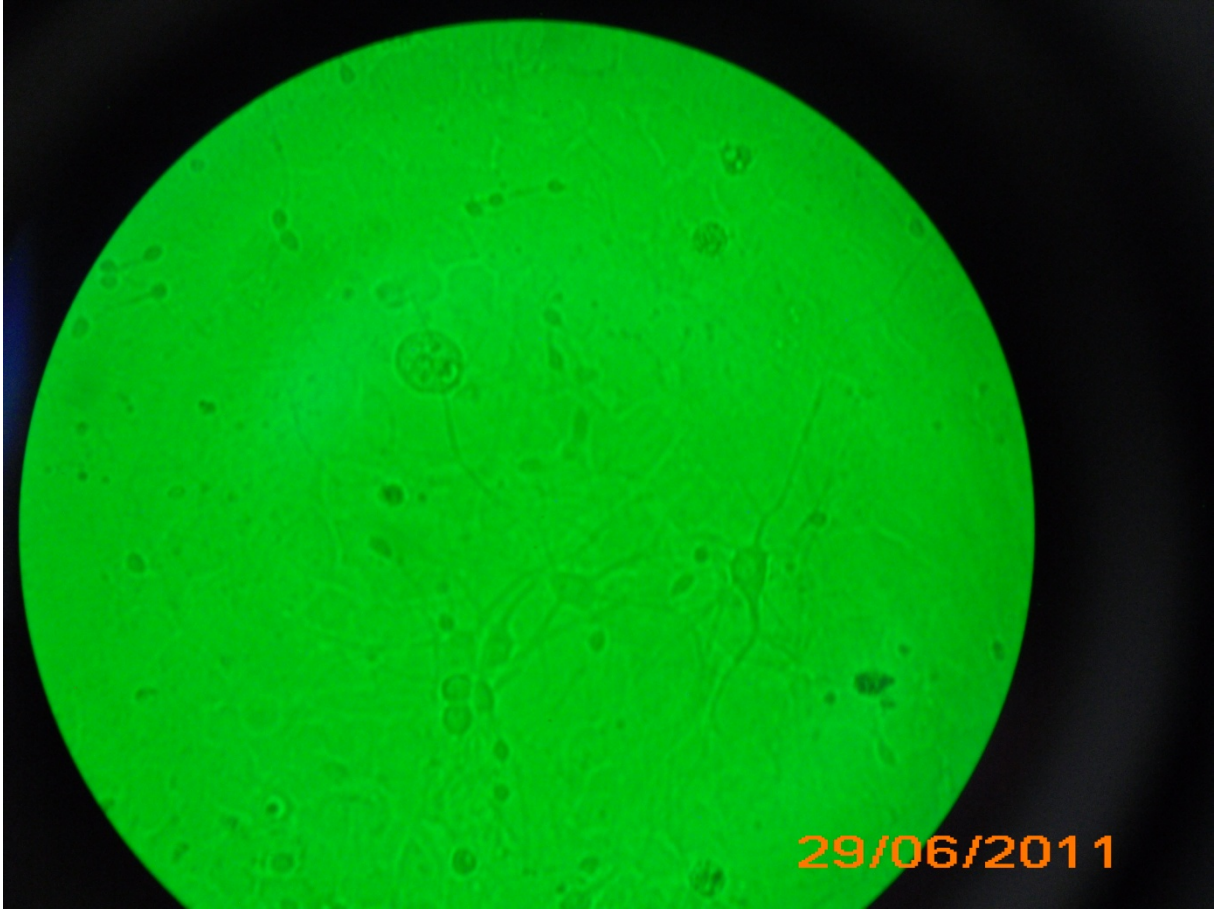
100 ml Trypsin EDTA-C (Multicell)
 100 ml Fetal Calf Serum (PAN Biotech)
 DNAaz tip 1 (120 µ/ml, Sigma, St Louis, USA)
 Neuronal base medium
 100 ml Penicilin (PAN Biotech)
 B27 (GIBCO®B-27®Supplement)
 Hank's Blanced Salt Solution (HBSS) (Sigma)
 MTT reaktifi

3.2.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

- CO₂ Incubator (NAPCO 6500 IR)
- mQuant spectrophotometer
- Buzdolabı
- Invert mikroskop (Olympus CKX41)
- Elektronik terazi (prescisa 460 M)
- Santrifüj
- 24 kuyucuklu plate, hücre kültür plağı (Costar)
- 12 ml hücre kültür tüpü (Granier Bio-one CELLSTAR)
- 5 ml steril enjektör
- Otomatik pipetler 100-1000 µL (Labtips)
- 20 numaralı bistüri
- Makas
- Beyin kaşığı
- Steril gazlı bez
- Steril petri

3.2.1.4. Nöron Kültürü Hazırlama

9 adet yeni doğmuş (24 saati doldurmamış) sıçan yavrusun alınmıştır (3 tekrar). Batikonla yıkandıktan sonra steril ortamda dekapite edilmiştir. Baş kısmında; önce derisi ve kafatası kaldırılıp, ince beyin zarını da ayırdıktan sonra beyinden korteks kısmı dikkatlice ayrılıp alınmıştır. İçinde HBSS solüsyonu bulunan tüplere korteks kısımları koyulmuştur. Beyinler steril petri kabına konulup ve 20 numaralı steril bisturi ile doğranarak makro parçalama yapılmıştır. Parçaladığımız beyin parçalarının üzerine 1,5 ml HBSS ile tripsin eklenmiştir (1/4 oranında). Tripsinin mikro parçalama yapabilmesi için 35 dakika etüvde beklenmiştir. Tripsinin parçalayıcı etkisini durdurmak amacıyla DNAaz tip 1'in bulunduğu kabın içine, tripsin ile muamele edilen korteksler eklenmiştir. DNAaz tip 1 bulunduğu kabın içine %10 oranında Fetal Calf Serum eklenerek, DNAaz tip 1 parçalamayı durdurarak tripsini dokulardan ayırması için 10 dakika beklenmiştir. Bu sıvının üzerine 6 ml HBSS eklenip ve 800 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Dibe çöken beyinlerin üzerindeki HBSS dökülerek ve 10 ml nöronal base medium ilave edilmiştir. Üzerine nörobazal medium suplementi olan B27, 1/5 oranında ve 1/1000 oranında penisilin eklenmiştir. 24'lük flaskların her odasına 200 μ l ilave edilerek ve 37 °C'de, %5 CO₂ içeren etüve bırakılmıştır. Mikroskop altında dallanma gösterecek kadar beklenmiştir.



Resim 6. Mikroskopta nöron görünümü

3.2.1.5. Bitki Ekstreleri ve Saf Maddelerin Uygulanması

O. micranthum, *O. rotundifolium*, *O. minutiflorum* metanol ekstraktları, apigenin, rosmarinik asit ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit, DMSO'da çözölerek, 100, 50, 25, 10, 5 μ g/ml konsantrasyonlarda, 1 gün arayla 2 kez uygulanmıştır.



Resim 7. Korteks hücre kültüründe kullanılan flask resmi

3.2.1.6. MTT Analizi

İlk olarak Mosmann tarafından tanımlanan daha sonra Alley ve arkadaşları tarafından geliştirilen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemi hücre canlılığının belirlenmesi için sıkça kullanılan pratik bir yöntemdir. MTT, hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriye bağlı süksinat dehidrogenaz reaksiyonu suda çözünmeyen formazana indirgenen bir maddedir. Formazan hücre zarını geçemediğinden hücre içinde toplanır. DMSO, isopropanol veya diğer uygun bir çözücü ilavesi ile ürün çözülüp, serbest kalır ve kolorimetrik olarak tespit edilebilir hale gelir. Çözünen materyalin optik dansitesi, çözünmüş olan formazanın miktarının verdiği absorbansa göre spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği mitokondrinin sağlamlığı ve metabolik aktivitesinin tanımlanmasını sağlar. Bu da hücre canlılığının ölçüsü olarak alınır. Spektrofotometrik olarak ölçülen değer, yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilir. Bu yöntem daha çok hızlı çoğalan ve mitokondriyal aktivitesi yüksek olan hücre dizileri için uygundur.

İşlem aşağıdaki sırada gerçekleştirilmektedir:

1. Hücreler 24'lük bir plate'e muamele edilecek madde ile birlikte ve muamele edilecek maddeden yoksun olarak ekildi. Hücrelerin CO₂ etüvünde 37 °C'de 24-48 saat süre ile kültürü yapıldı.
2. Hücre bir bölmeye pipet aracılığı ile 10'ar µl MTT karışımı eklendi.
3. Dairesel karıştırıcıda bir dakika hafifçe karıştırıldı.
4. Hücreler CO₂ etüvünde 3-4 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hücrelerde oluşan formazan bölmelerin dibinde koyu kristaller halinde görüldü.
5. Kültür medium hücre tabakasını dağıtmadan dikkatli bir şekilde her bir bölmeden aspire edildi.
6. Her bölmeye 100 µl distal solüsyon eklendi. Bu solüsyon formazan kristallerini çözdü ve mor renkte bir solüsyon oluşturdu.
7. Her bir numunenin absorbansı 570 nm'de microplate okuyucu kullanılarak ölçüldü.

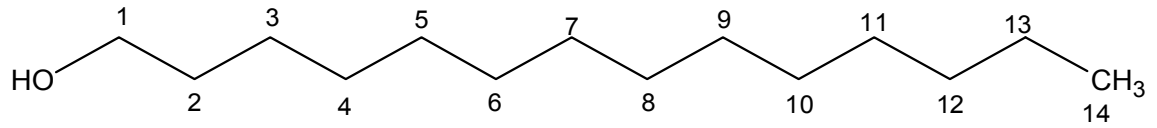
4. BULGULAR

4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1. *O. micranthum* Üzerinde Gerçekleştirilen Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü

4.1.1.1.1. 1- Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol)



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): Spektrum 1, Tablo 8

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): Spektrum 2, Tablo 9

Pozitif iyon ESI-Kütle m/z: 236 [M+Na-H]⁺ Spektrum 3

259 [M+2Na-H]⁺ Spektrum 3

Tablo 8. 1- Tetradekanol (**OM1**)'ün ^1H -NMR Spektral Değerleri

H	δ_{H} (ppm)
H-1	3.66 (2H, t, $J= 6.6$ Hz)
H-2-13	1.28-1.60 (24H)
H-14	0.90 (3H, t, $J= 6.8$ Hz)

Tablo 9. 1- Tetradekanol (**OM1**)'ün ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

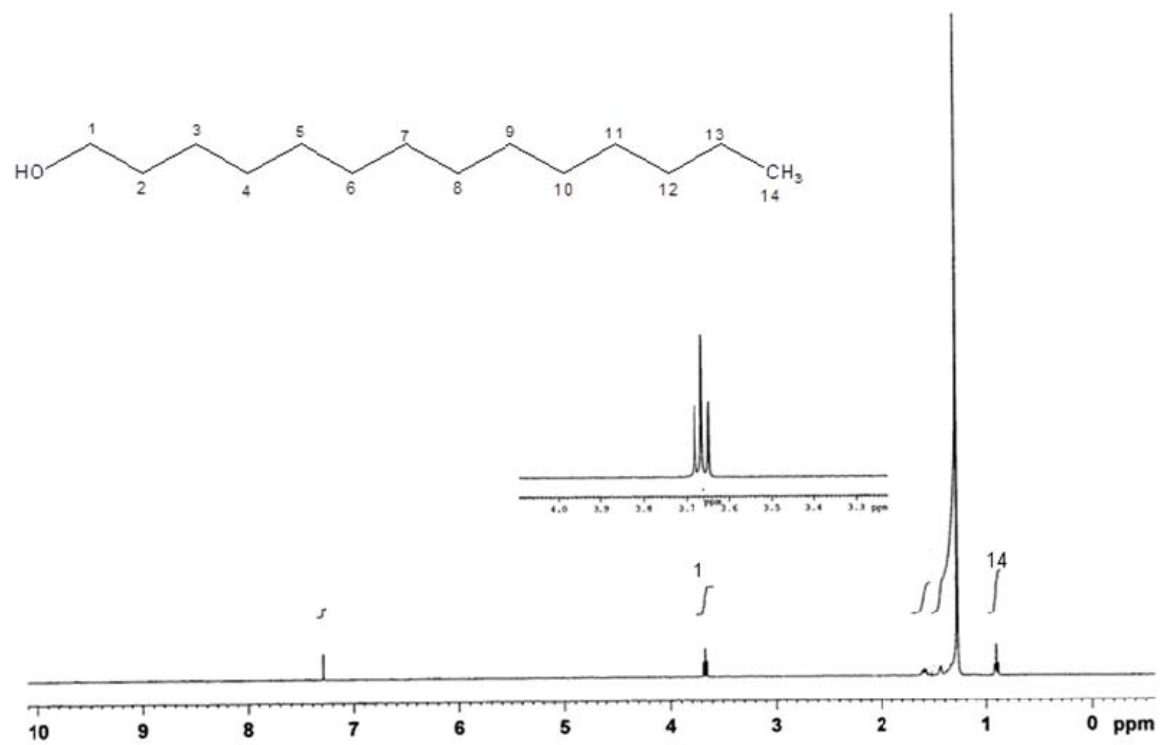
C/H	δ_{C} (ppm)
1	63.1
2-13	22.7, 25.7, 29.4, 29.4, 29.6, 29.7, 29.7, 31.9, 32.82
14	14.1

1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol)

OM1 bileşiğinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında ve UV₃₆₆ nm'lerde renksizdir, UV₂₅₄ nm 'de gri-siyah leke şeklinde, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca gri renk vermiştir. n-Hekzan:EtOAc (8:2) solvan sisteminde R_f değeri 0.91 olarak bulunmuştur.

OM1 ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_H = 0.90$ (3H, t, $J = 6.8$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal metil protonuna aittir. $\delta_H = 3.66$ (2H, t, $J = 6.6$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal primer alkol grubuna aittir. $\delta_H = 1.28-1.60$ (24H) ppm'de gözlenen sinyaller düz zincirli yapıya ait metilen gruplarını göstermektedir. Metilen gruplarına ait toplam proton sayısı integrasyondan hesap edilerek saptanmıştır.

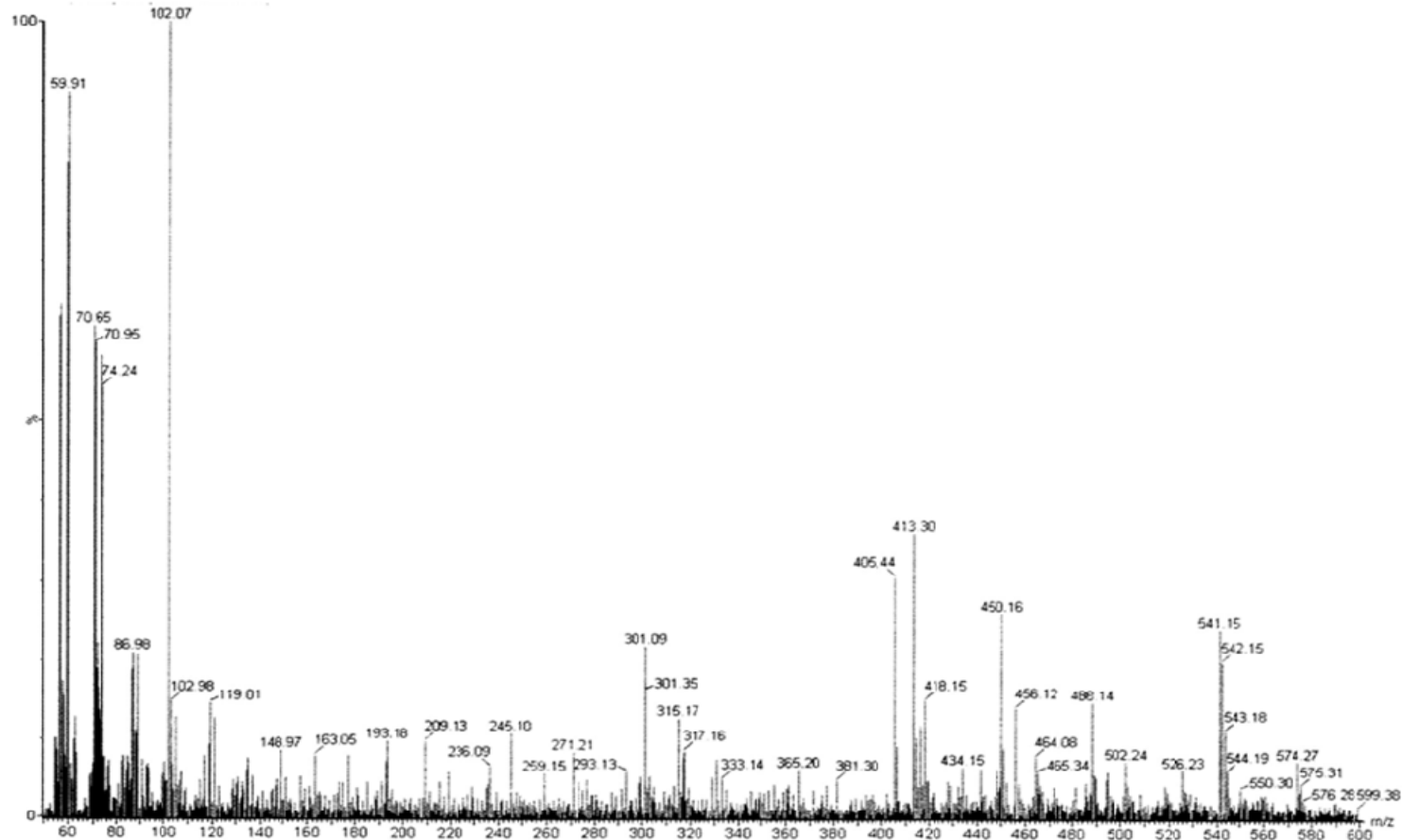
¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_C = 63.1$ (C-1, CH₂OH), 14.1 (C-14, CH₃) ve 22.7, 25.7, 29.4, 29.4, 29.6, 29.7, 29.7, 31.9, 32.82 (C-2-13, metilen sinyalleri) ppm'de gözlenen sinyaller bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda önerilen yapıyı desteklemektedir. Bulgular, maddenin düz zincirli doymuş yağ alkolü yapısındaki 1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol) (**OM1**) yapısını desteklemektedir. Yapı kütle spektrumu ile doğrulanmıştır.



Spektrum 1. 1-tetradekanol ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



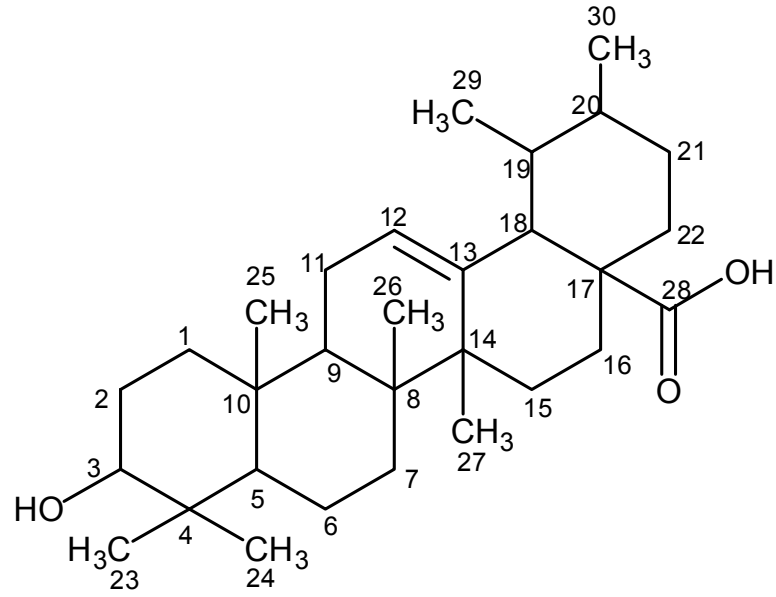
Spektrum 2. 1-tetradekanol ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)



Spektrum 3. 1-tetradekanol ¹Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

4.1.1.2. Triterpenik Yapılar

4.1.1.2.1. Ursolik Asit



$C_{30}H_{48}O_3$ (M.A. 456)

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): Spektrum 4, Tablo 10

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): Spektrum 5, 6, 7, Tablo 11

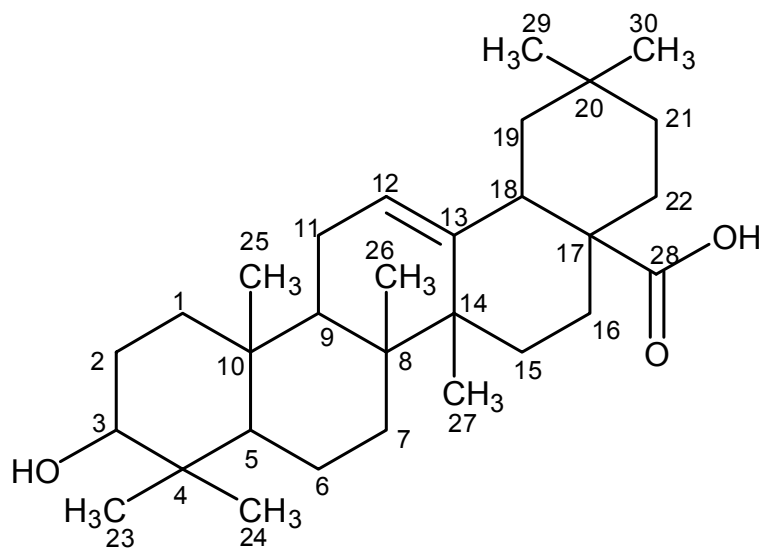
Tablo 10. Ursolik asit (**OM2A**)'nin ¹H-NMR Spektral Değerleri

H	δ_H (ppm)
H-3	3.14 (1H, m)
H-12	5.23 (1H, m)
H-18	2.20 (1H, d, J= 11.7 Hz)
Me	1.18 (3H)
Me	0.96 (3H)
Me	0.95 (3H)
Me	0.94 (3H)
Me	0.88 (3H)
Me	0.81 (3H)
Me	0.78 (3H)
	2.08-1.28 (24H, m)

Tablo 11. Ursolik asit (**OM2A**)'nin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_c (ppm)
1	38.3 t
2	26.7 t
3	78.5 d
4	38.7 s
5	55.6 d
6	18.3 t
7	33.1 t
8	39.6 s
9	Sinyal örtüşmesi
10	36.9 s
11	23.2 t
12	125.7 d
13	138.5 s
14	42.1 s
15	28.0 t
16	24.1 t
17	Sinyal örtüşmesi
18	53.2 d
19	39.2 d
20	39.2 d
21	30.6 t
22	36.9 t
23	27.6 q
24	14.8 q
25	15.2 q
26	16.5 q
27	22.9 q
28	180.5 s
29	16.6 q
30	20.4 q

4.1.1.2.2. Oleanolik Asit



C₃₀H₄₈O₃ (M.A. 456)

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 4, Tablo 12

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 5, 6, 7 Tablo 13

Tablo 12. Oleanolik asit (**OM2B**) bileşiğinin ¹H-NMR Spektral Değerleri

H	δ_H (ppm)
H-3	3.14 (1H, m)
H-12	5.23 (1H, m)
H-18	2.84 (1H, dd, $J= 13.8$ Hz, $J= 4.2$ Hz)
Me	1.16 (3H, s)
Me	0.97 (3H, s)
Me	0.94 (3H, s)
Me	0.90(3H, s)
Me	0.84 (3H, s)
Me	0.78 (2x3H, s)
	2.08-1.28 (24H, m)

Tablo 13. Oleanolik asit (**OM2B**) bileşiğinin ¹³C-NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_C (ppm)
1	38.7 t
2	26.7 t
3	78.5 d
4	38.8 s
5	55.6 d
6	18.3 t
7	32.6 t
8	39.4 s
9	Sinyal örtüşmesi
10	37.0 s
11	22.8 t
12	122.5 d
13	144.0 s
14	41.7 s
15	27.5 t
16	22.9 t
17	46.5 s
18	41.6 d
19	46.1 d
20	30.4 d
21	33.7 t
22	32.4 t
23	27.7 q
24	14.7 q
25	15.1 q
26	16.5 q
27	25.2 q
28	180.5 s
29	32.8 q
30	23.3 q

Ursolik Asit
Oleanolik Asit

OM2A ve **OM2B** bileşiklerinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm'lerde renksizdir, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe-mor renk vermiştir. Toluen:EtOAc:Formik Asit (5:4:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.61 olarak bulunmuştur.

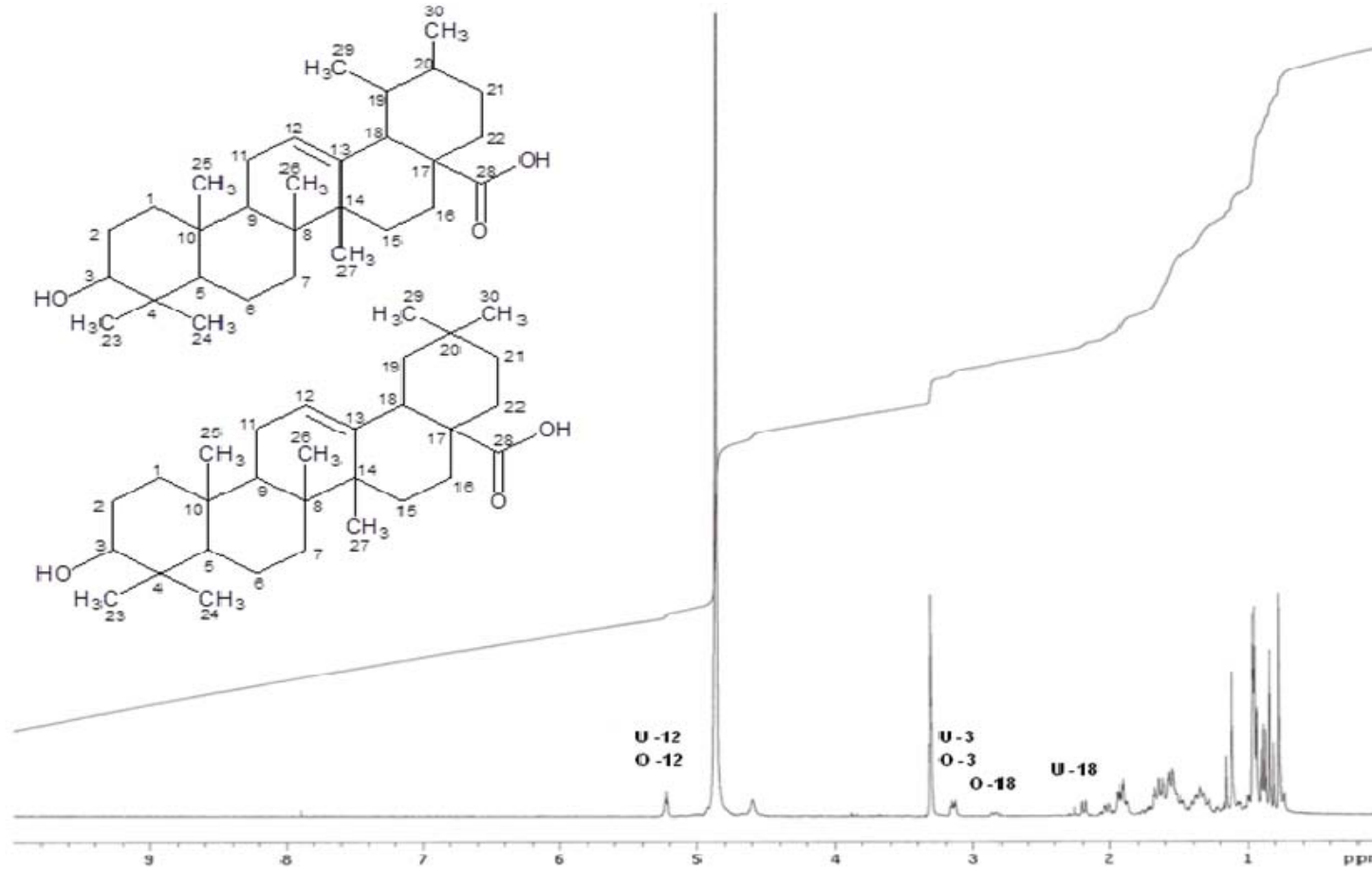
OM2A ve **OM2B** bileşiklerinin bulunduğu fraksiyonun ¹³C-NMR spektrumuna bakıldığında görülen 51 rezonans ve İTK'daki davranışı triterpen iskeletinde bir karışım olduğunu düşündürmüştür.

¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_C = 180.5$ ppm'de gözlenen sinyal bir karboksil karbonuna aittir. Triterpenik yapıda $\Delta^{12(13)}$ fonksiyonun varlığı $\delta_C = 125.7$ (CH; C-12) ve $\delta_C = 138.5$ (C; C-13) ile $\delta_C = 122.5$ (CH; C-12) ve $\delta_C = 144.0$ (C; C-13) ppm'lerdeki karbon rezonansları ile saptanmıştır. Oleofinik proton H-12 ise $\delta_H = 5.23$ (1H, m) ppm'de gözlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla, urs-12-en ve olean-12-en tipi triterpenik iskelet için karakteristiktir^{348,349}. $\delta_C = 55.6$ ppm'de gözlenen sinyal her iki bileşiğin 5 numaralı karbonuna ait olduğu gözlenmiştir. Bileşiklerin 9 numaralı karbonlarına ait olan sinyalleri ile **OM2A**'nın 17. karbonların ait sinyal çözücü sinyalleri ile örtüşmüştür. **OM2A** bileşiğinin 18 numaralı karbonu $\delta_C = 53.2$ ppm'de, **OM2B** bileşiğinin 18 numaralı karbonu $\delta_C = 41.6$ ppm'de rezonans olmuştur.

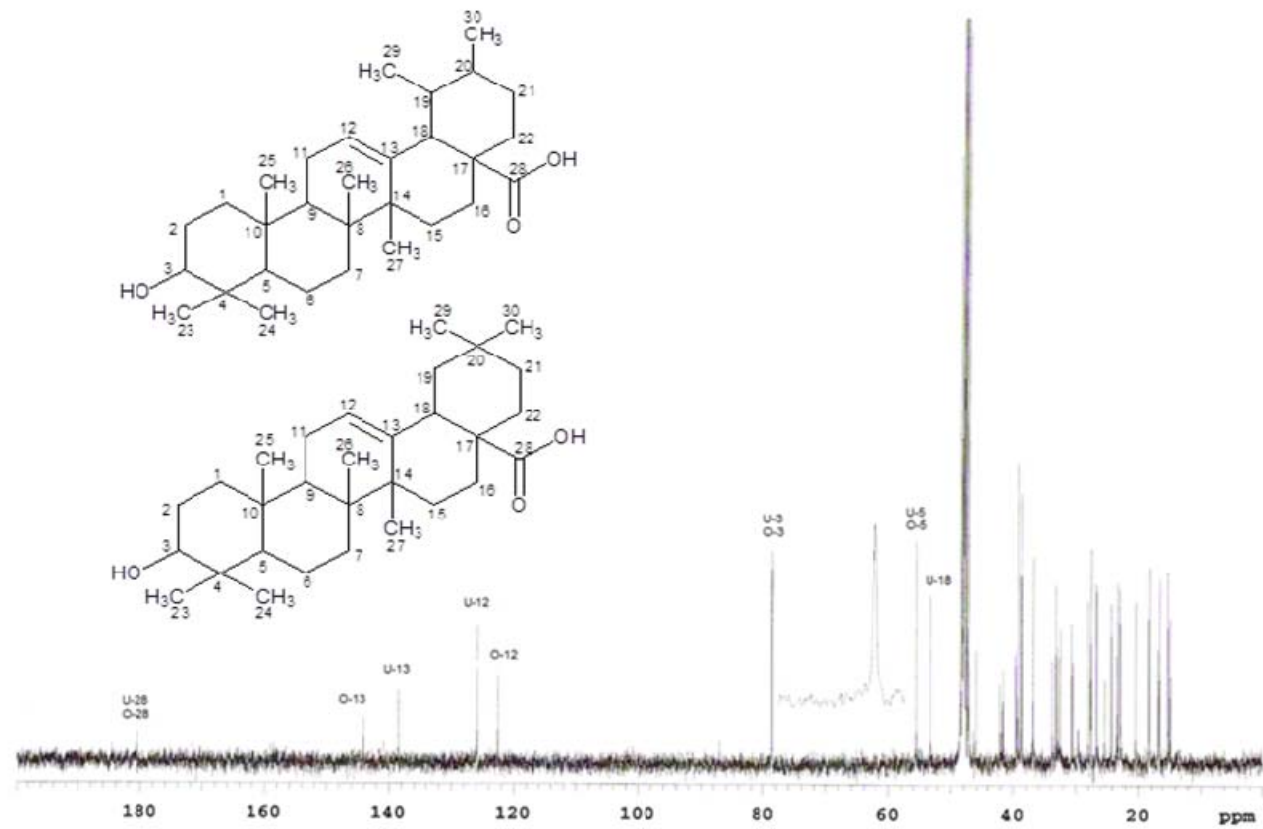
¹H-NMR spektrumunda $\delta_H = 2.20$ (d) **OM2A** bileşiğinin C(18) protonuna, $\delta_H = 2.84$ (dd) **OM2B** bileşiğinin C(18) protonuna aittir. $\delta_H = 0.78-1.18$ ppm'lerde gözlenen sinyallerin **OM2A** ve **OM2B**'nin metil protonlarına ait olduğu literatür bilgilerine dayanarak belirlenmiştir.

$\delta_H = 3.14$ ppm ve $\delta_C = 78.5$ ppm'lerde görülen rezonanslar her iki bileşiğin 3 numaralı karbon atomunda bir sekonder hidroksil grubunun varlığını göstermektedir³⁵⁰.

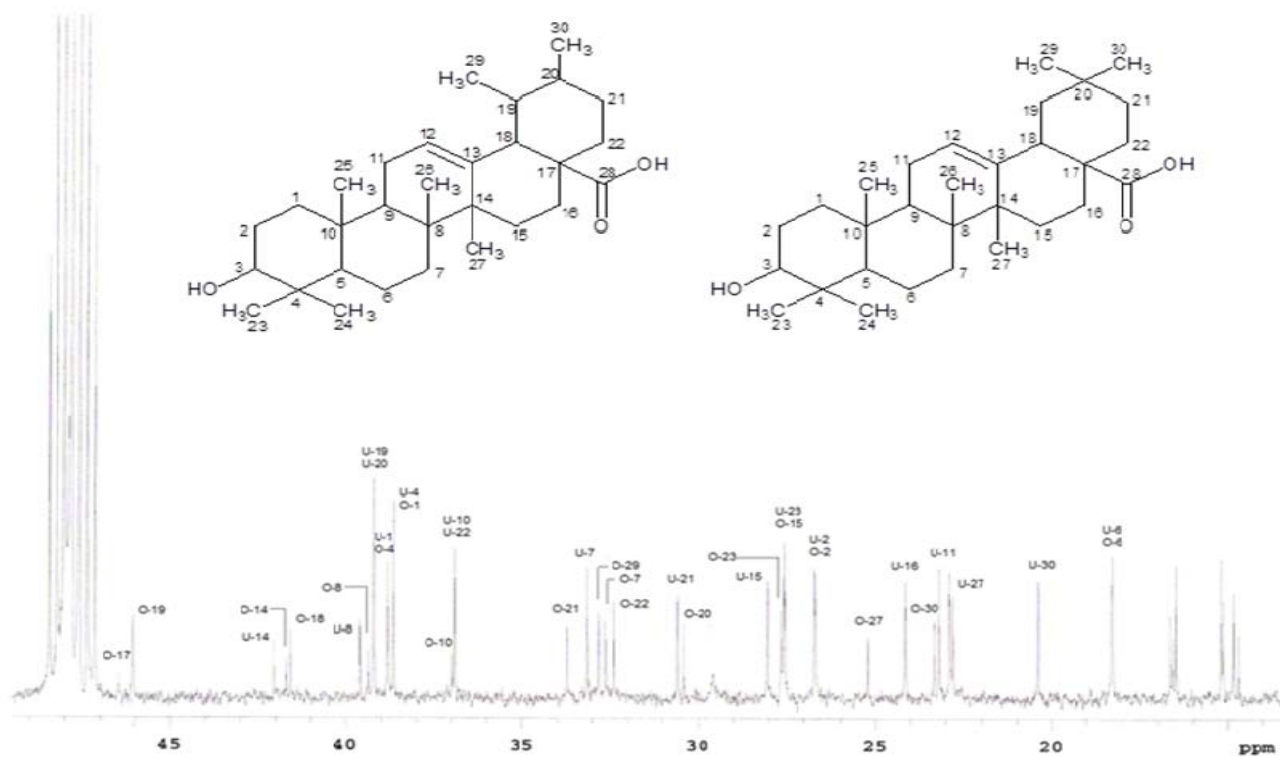
Spektroskopik bulgular ursolik asit ve oleanolik asit ile uygunluk göstermektedir. Bu nedenle **OM2A** ve **OM2B** karışımının ursolik asit (**OM2A**) ve oleanolik asit (**OM2B**) maddelerinin bir karışımı olduğu sonucuna varılmıştır³⁵¹⁻³⁵⁴.



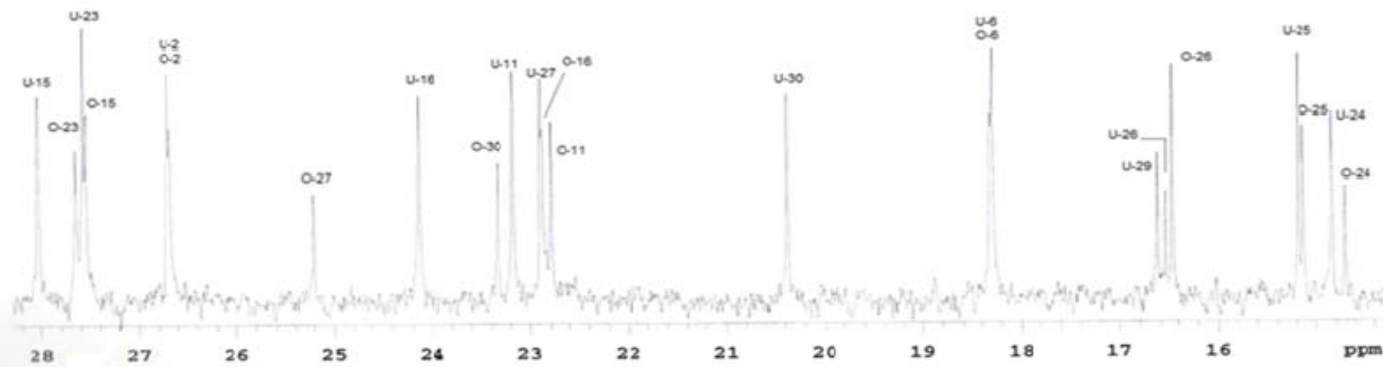
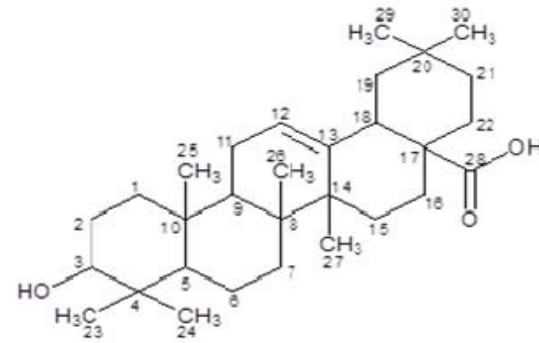
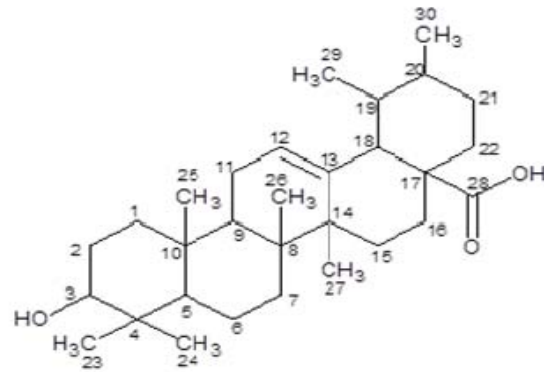
Spektrum 4. Ursolik asit ve Oleanolik asit karışımının $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 5. Ursolik asit ve Oleanolik asit karışımının ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



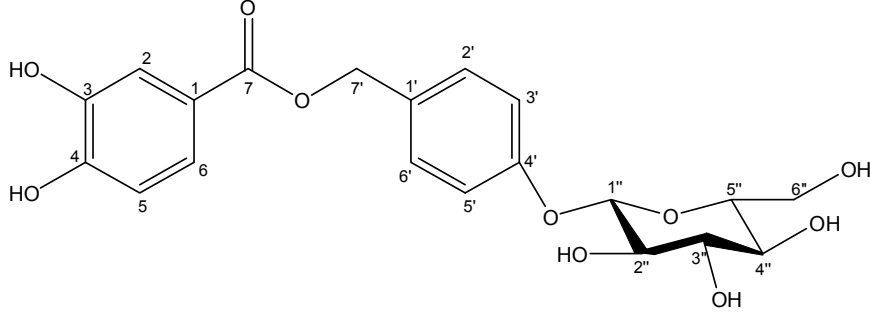
Spektrum 6. Ursolik asit ve Oleanolik asit karışımının ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Spektrum 7. Ursolik asit ve Oleanolik asit karışımının ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)

4.1.1.3. Fenolik Bileşikler

4.1.1.3.1. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit



C₂₀H₂₂O₁₀ (M.A. 422)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): Spektrum 8, 9, Tablo 14

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): Spektrum 10, Tablo 15

DEPT: Spektrum 11

COSY: Spektrum 12

HMBC: Spektrum 13

HETCOR: Spektrum 14, 15

Pozitif iyon ESI-Kütle m/z: 445 [M+Na]⁺ Spektrum 16

Tablo 14. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit (**OM3**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri

H	δ_{H} (ppm)
H-2	7.34 (1H, d, $J= 2.2$ Hz)
H-5	6.78 (1H, d, $J= 8.4$ Hz)
H-6	7.30 (1H, dd, $J= 8.4$ Hz, $J= 2.2$ Hz)
H-2', 6'	7.35 (2H, A_2B_2 sistemi, d, $J= 8.4$ Hz)
H-3', 5'	7.02 (2H, A_2B_2 sistemi, d, $J= 8.4$ Hz)
H-7'	5.17 (2H, s)
H-1"	4.86 (1H, d, $J= 7.3$ Hz)
H-2", 3", 4", 5", 6"b	3.11-3.33 (5H, m)
H-6"a	3.67 (1H, d, $J= 11.0$ Hz)

Tablo 15. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit (**OM3**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

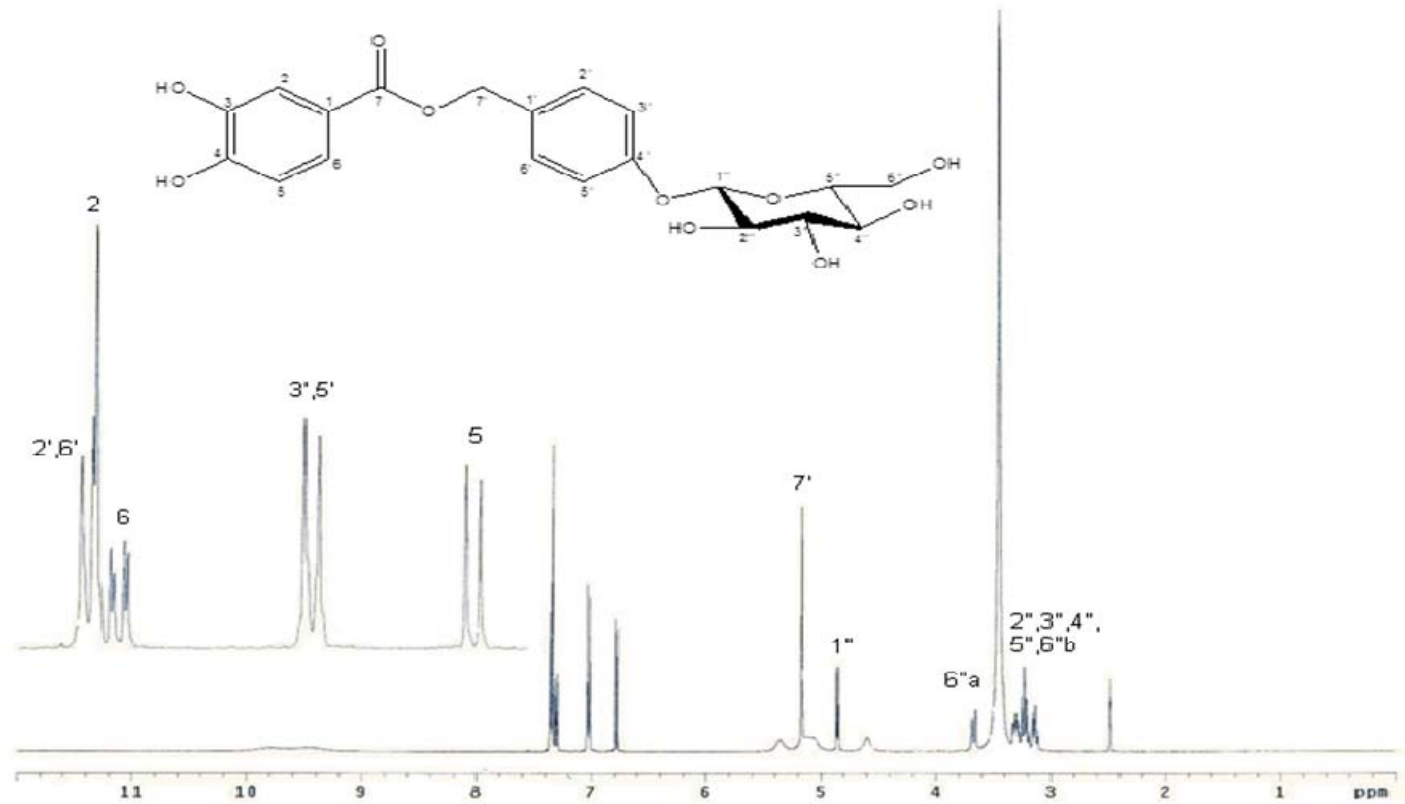
C/H	δ_{C} (ppm)
1	121.2
2	116.9
3	145.7
4	151.2
5	116.1
6	122.6
7	166.2
1'	130.4
2'	130.3
3'	116.9
4'	157.9
5'	116.9
6'	130.3
7'	66.1
1"	101.0
2"	73.9
3"	77.7
4"	70.4
5"	77.3
6"	61.4

4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit

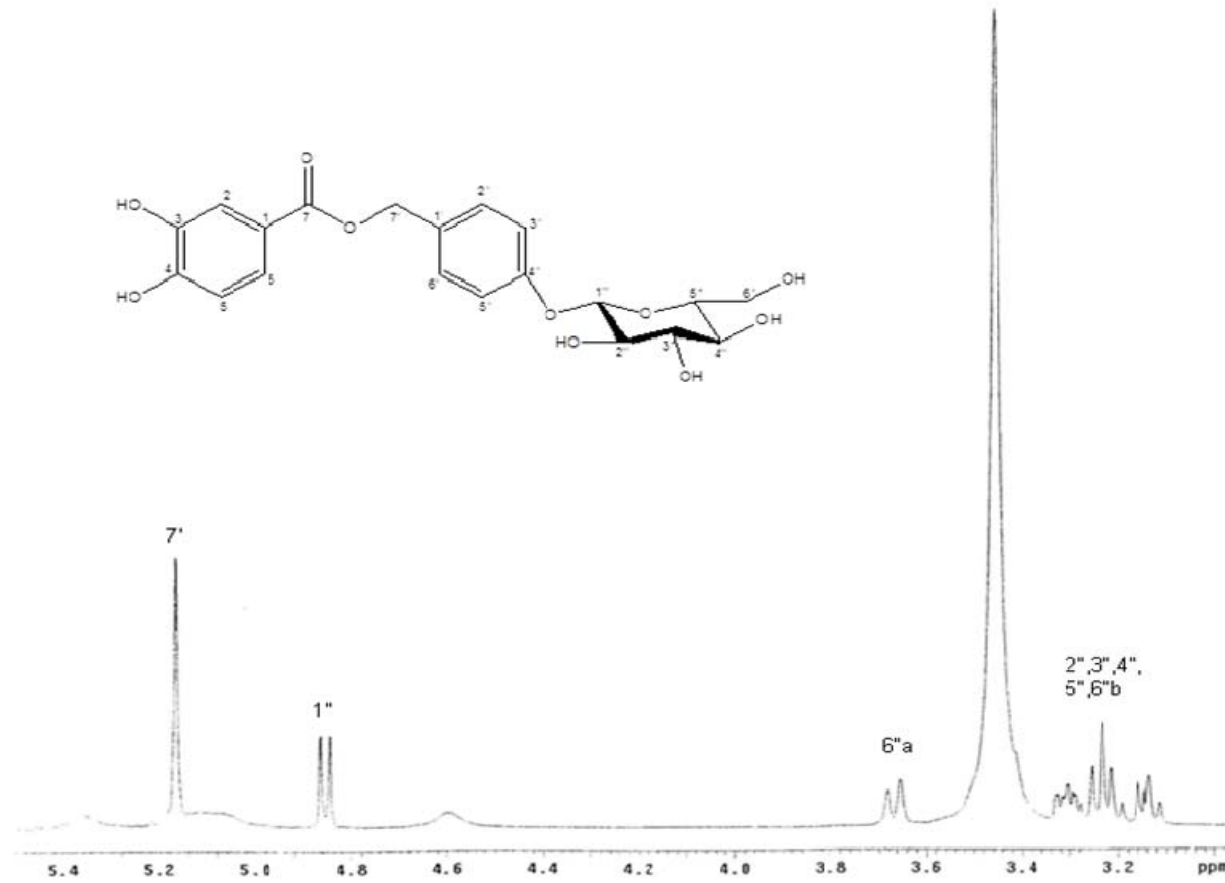
OM3 bileşiği beyaz çökelek olup, İTK analizlerinde, UV_{254} nm'de koyu renkli ve UV_{366} nm'de renksiz, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca sarı-kahve renk vermiştir. $CHCl_3:MeOH:H_2O$ (70:30:3) solvan sisteminde R_f değeri 0.44 olarak bulunmuştur.

$\delta_H = 7.02$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ve $\delta_H = 7.35$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm'de A_2B_2 sisteminin protonları gözlenmektedir. Bu sinyaller, molekülde bulunan 1,4-disüstitüe benzen yapısını desteklemektedir. Diğer aromatik halkanın proton sinyalleri $\delta_H = 6.78$ (1H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm, $\delta_H = 7.34$ (1H, d, $J = 2.2$) ppm ve $\delta_H = 7.30$ (1H, dd, $J = 8.4$, $J = 2.2$ Hz) ppm'de gözlenmektedir. $\delta_H = 5.17$ (2H, s) ppm'de gözlenen sinyal asetoksi grubu taşıyan bir benzilik metileni işaret etmektedir. $\delta_H = 4.86$ (1H, d, $J = 7.3$ Hz) ppm'de glukozun anomerik proton sinyali gözlenmektedir. $\delta_H = 3.11-3.33$ (5H, m) ppm'de ve $\delta_H = 3.67$ (1H, d, $J = 11.0$ Hz) ppm'de glukozun diğer proton sinyalleri gözlenmektedir.

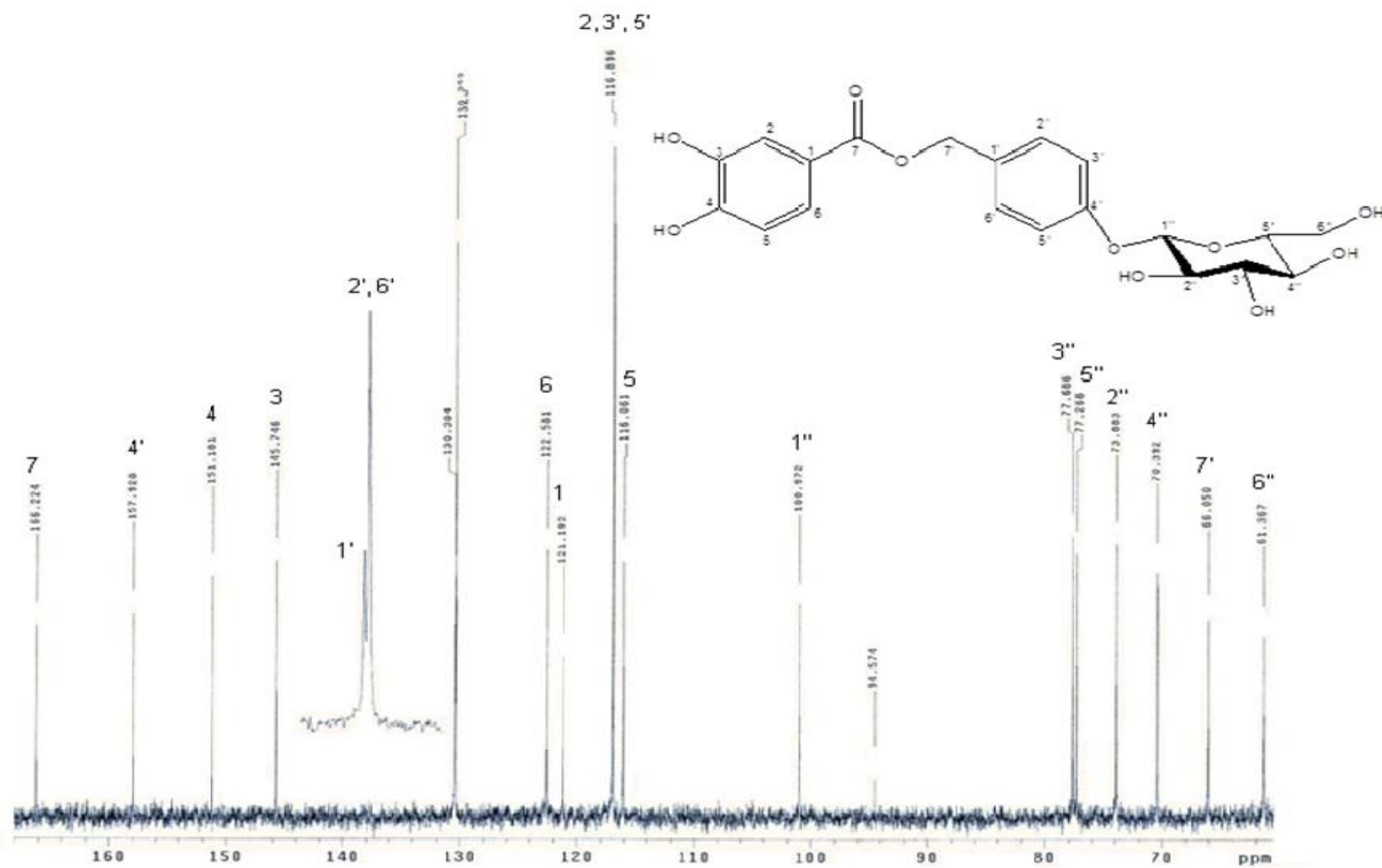
$\delta_C = 101.0$, 77.7, 77.3, 73.9, 70.4 ve 61.4 ppm'de glukopiranozil kısmının karakteristik sinyalleri gözlenmektedir. Bir metilen ($\delta_C = 66.1$ ppm), bir ester ($\delta_C = 166.2$ ppm), beş adet süstitüe aromatik karbon ($\delta_C = 157.9$, 151.2 145.7, 130.4 ve 121.2 ppm) ve yedi adet protonlanmış karbon ($\delta_C = 130.3$ (2C), 122.6, 116.9 (3C) ve 116.1 ppm) molekülün aglikon kısmına atfedilebilir³⁵⁵.



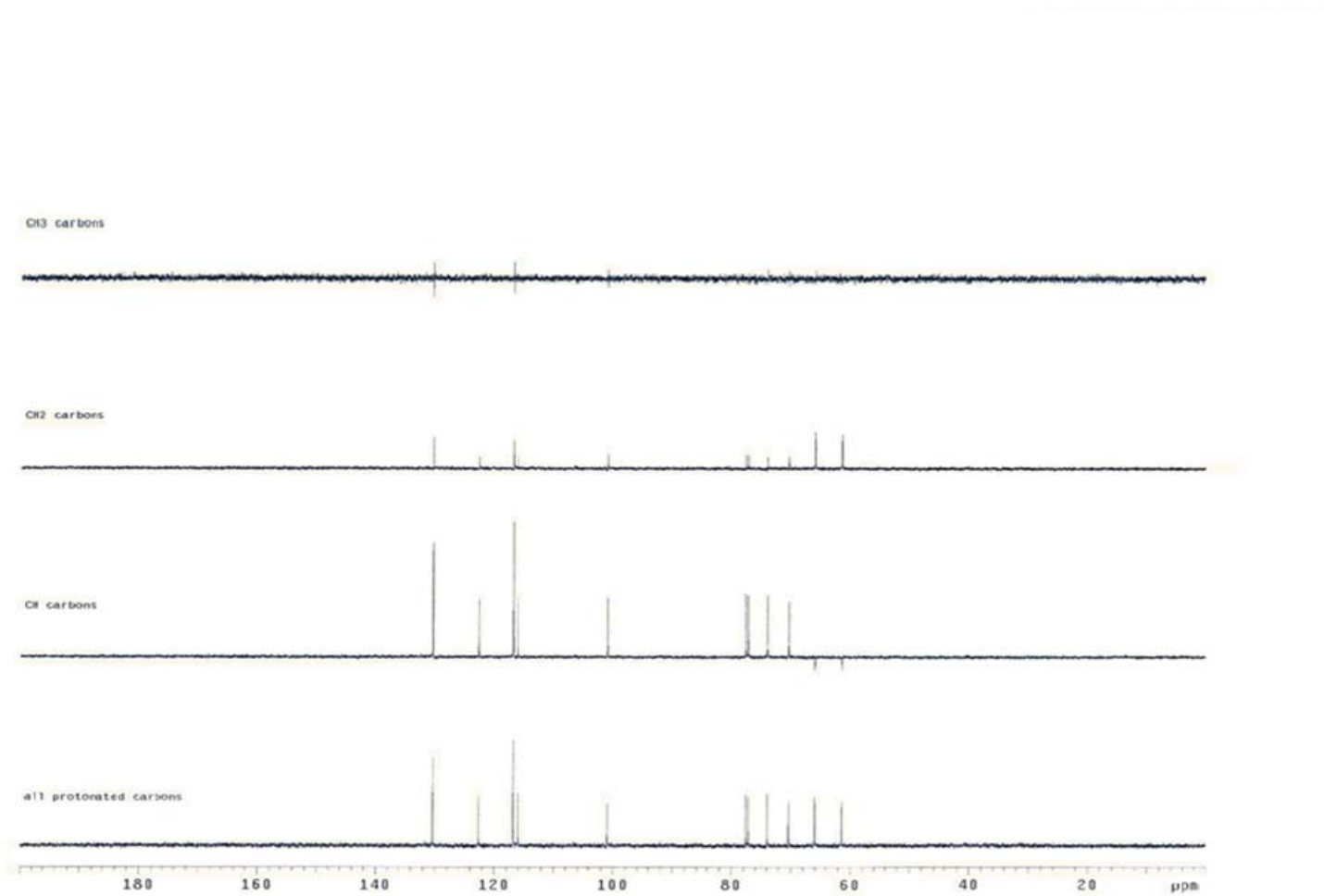
Spektrum 8. 4-(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit ^1H -NMR Spektrumu ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz)



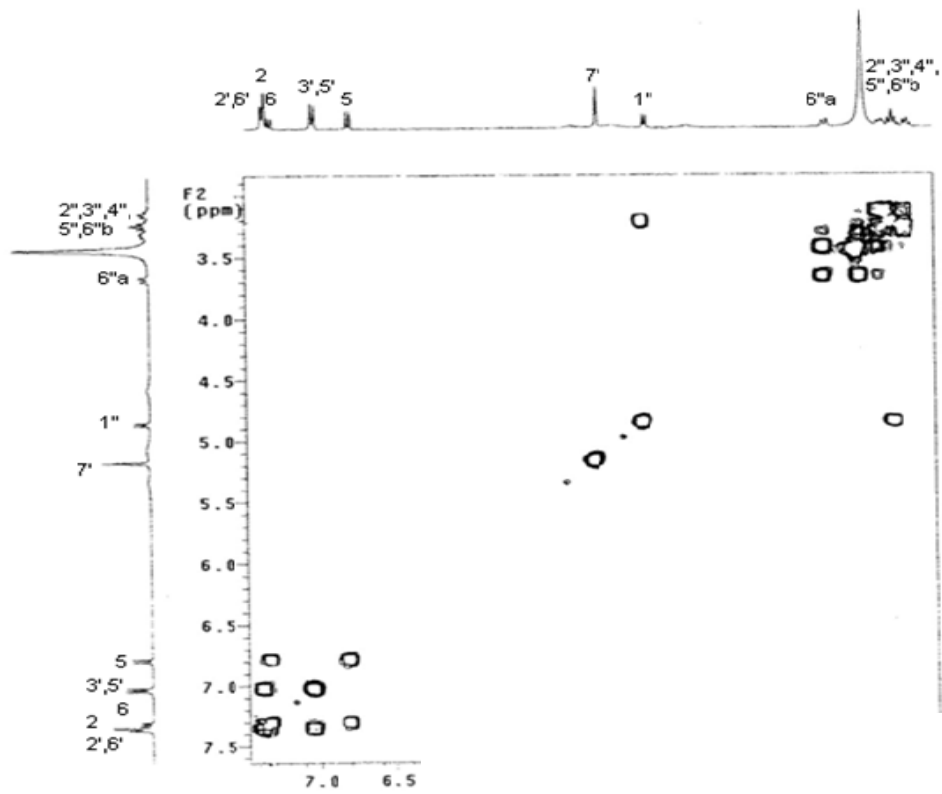
Spektrum 9. 4-(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6 , 400 MHz)



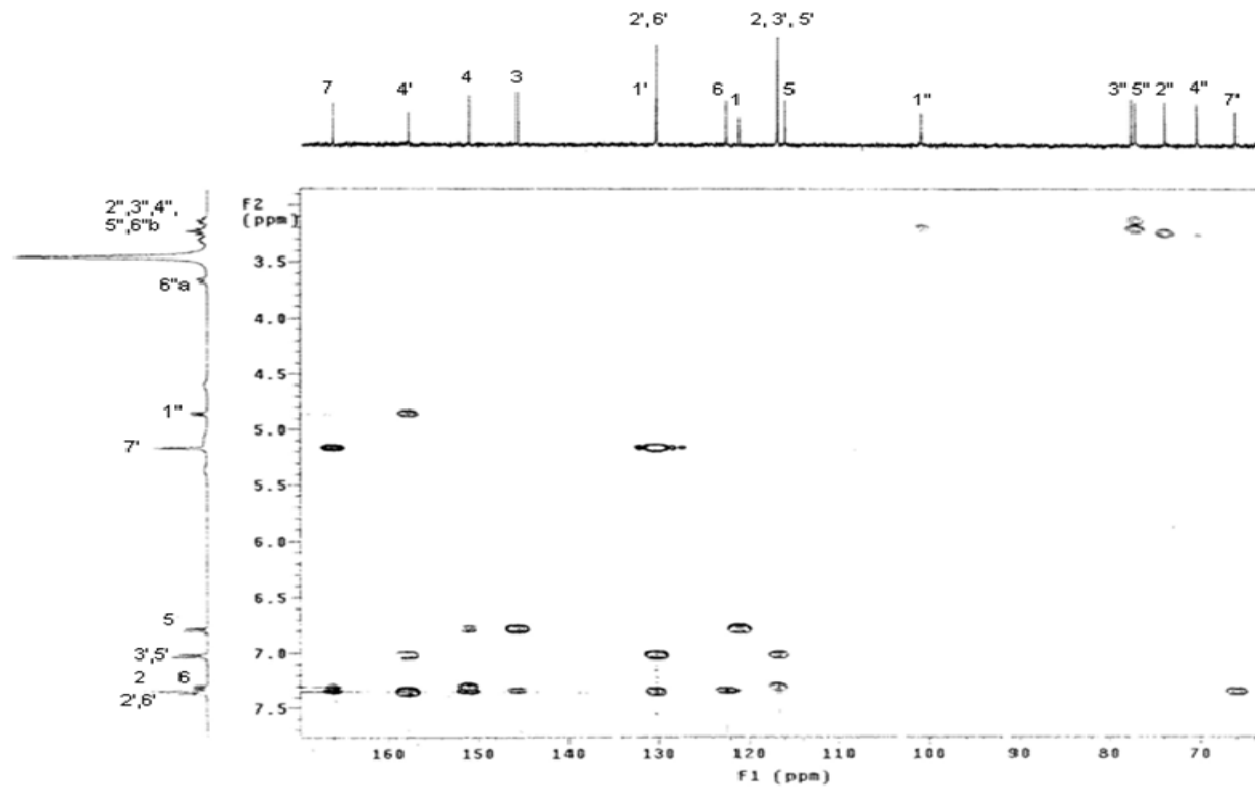
Spektrum 10. 4-(3,4-dihidroksibenzoloksimetil)fenil-β-D-glukopiranozit ¹³C-NMR Spektrumu (DMSO-d₆, 100 MHz)



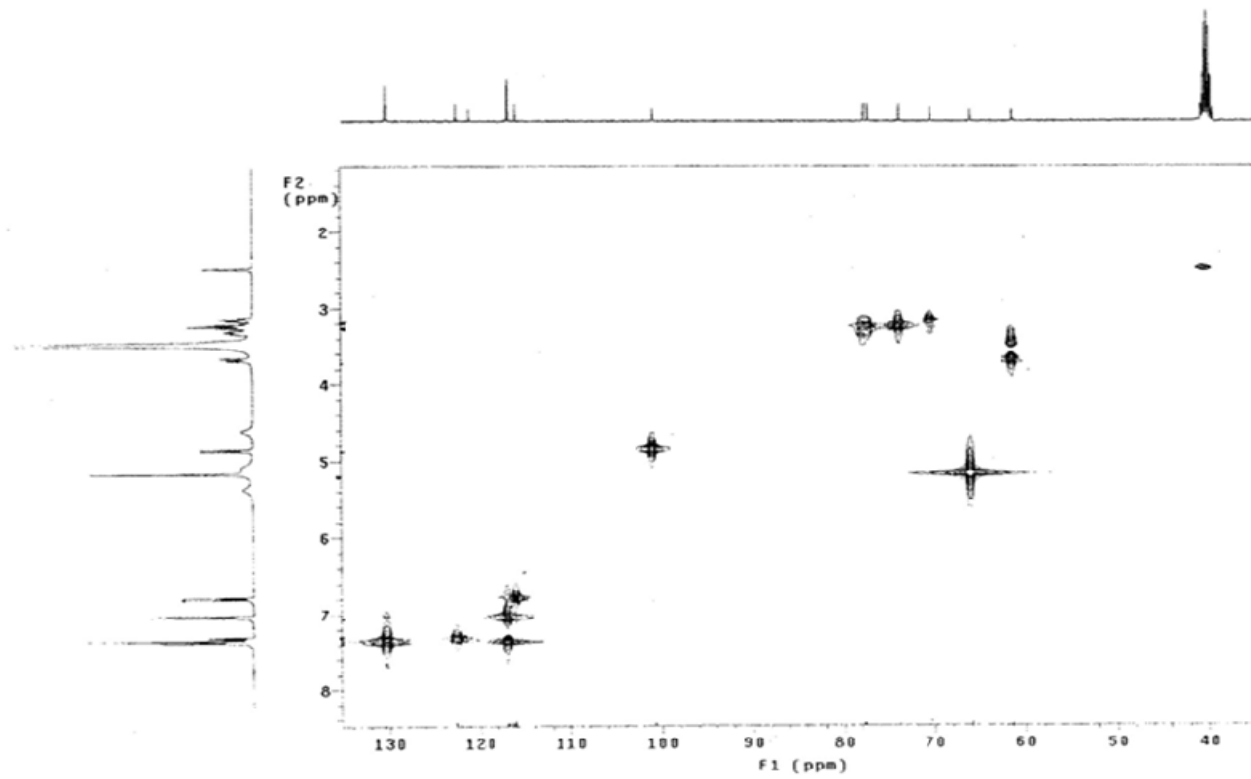
Spektrum 11.4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil-β-D-glukopiranozil DEPT Spektrumu



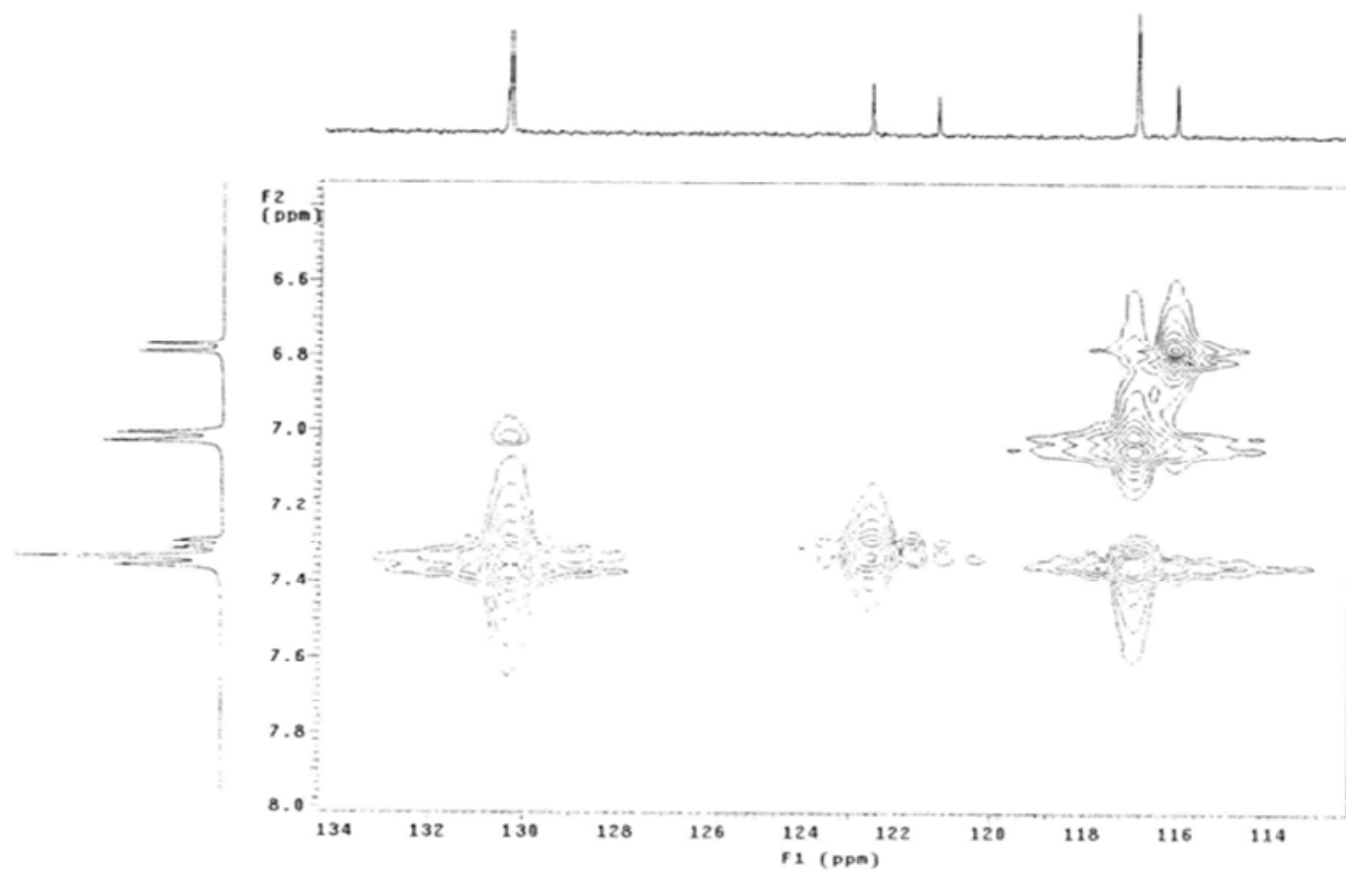
Spektrum 12. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozün COSY Spektrumu



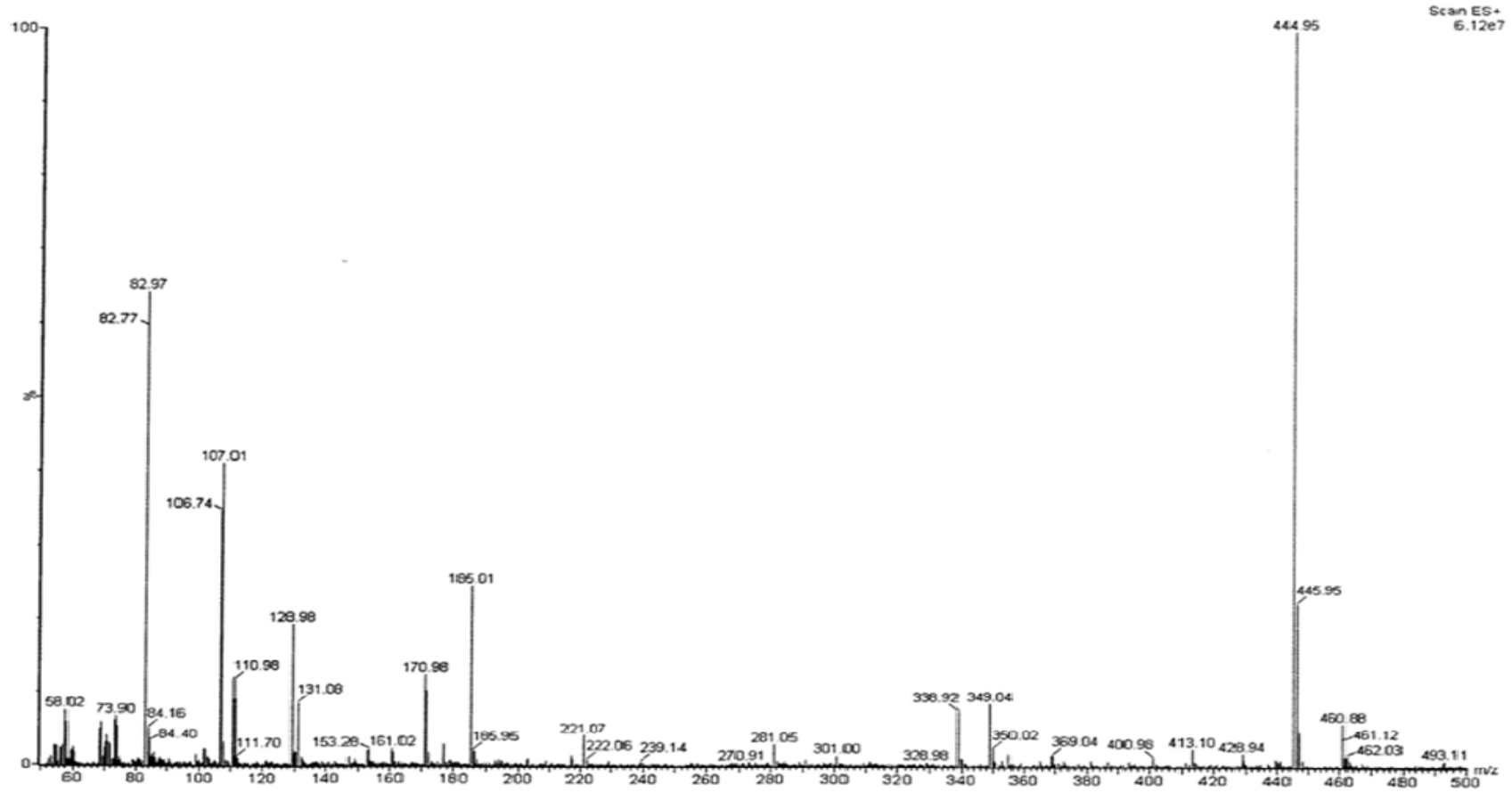
Spektrum 13. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit HMBC Spektrumu



Spektrum 14. 4(3,4-dihidroksibenzoil(metil)fenil)- β -D-glukopiranoziti HETCOR Spektrumu

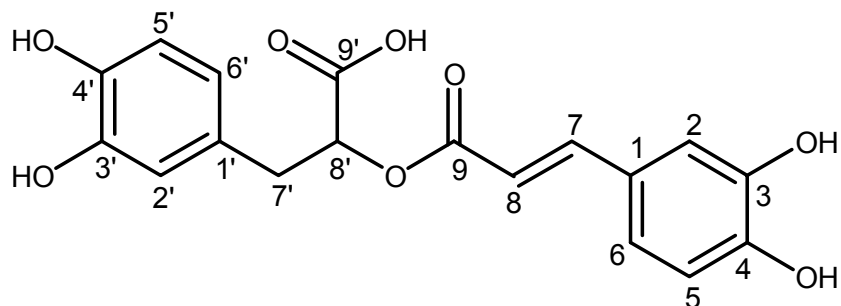


Spektrum 15. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit HETCOR Spektrumu



Spektrum 16. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil-β-D-glukopiranozit Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

4.1.1.3.2. Rosmarinik Asit



C₁₈H₁₆O₈ (M.A. 360)

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 17, 18, Tablo 16

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 19, Tablo 17

Tablo 16. Rosmarinik asit (**OM4**) bileşiğinin ^1H -NMR Spektral Değerleri

H	δ_{H} (ppm)
H-2	7.02 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)
H-5	6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz)
H-6	6.92 (1H, dd, $J = 8.3$, $J = 2.0$ Hz)
H-7	7.50 (1H, d, $J = 16.1$ Hz)
H-8	6.26 (1H, d, $J = 16.1$ Hz)
H-2'	6.74 (1H, d, $J = 2.2$ Hz)
H-5'	6.68 (1H, d, $J = 8.1$ Hz)
H-6'	6.62 (1H, dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 2.2$ Hz)
Ha-7'	3.09 (1H, AB sisteminin A kısmı, dd, $J = 14.3$ Hz, $J = 3.5$ Hz)
Hb-7'	2.94 (1H, AB sisteminin B kısmı, dd, $J = 14.3$ Hz, $J = 9.5$ Hz)
H-8'	5.10 (1H, dd, $J = 9.7$, $J = 3.4$ Hz)

Tablo 17. Rosmarinik asit (**OM4**) bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_{C} (ppm)
1	126.7
2	114.3
3	145.6
4	148.2
5	115.3
6	121.8
7	145.5
8	113.9
9	167.9
1'	129.8
2'	116.4
3'	144.7
4'	143.6
5'	115.1
6'	120.6
7'	37.5
8'	76.4
9'	176.5

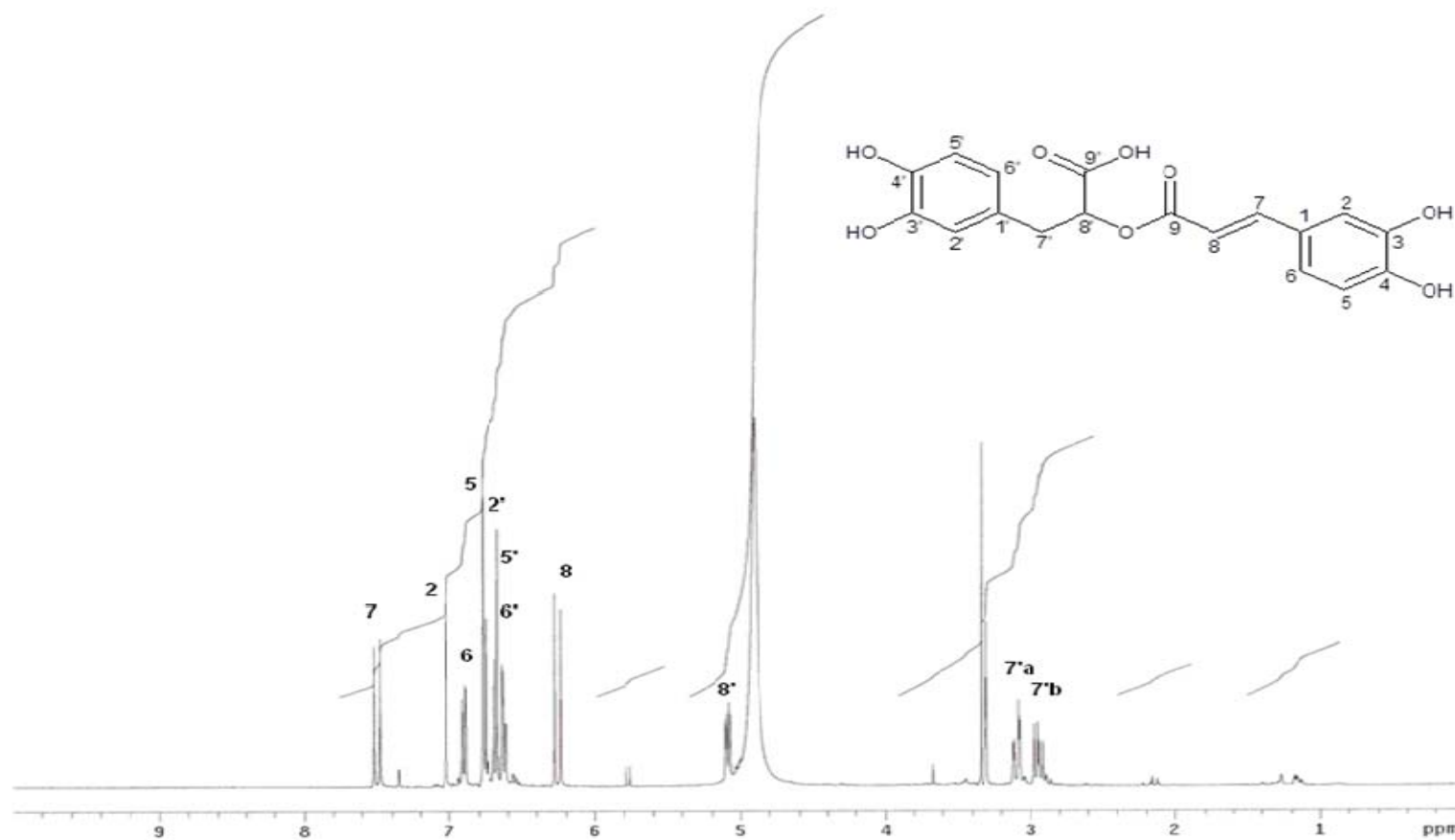
Rosmarinik Asit

OM4 bileşiği, İTK da gün ışığında gri renkte olup, reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde UV₃₆₆ nm'de mavi, vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110 °C'de koyu pembe renk vermiştir. CHCl₃:MeOH:H₂O (70:30:3) solvan sisteminde, R_f değeri 0.51 olarak bulunmuştur.

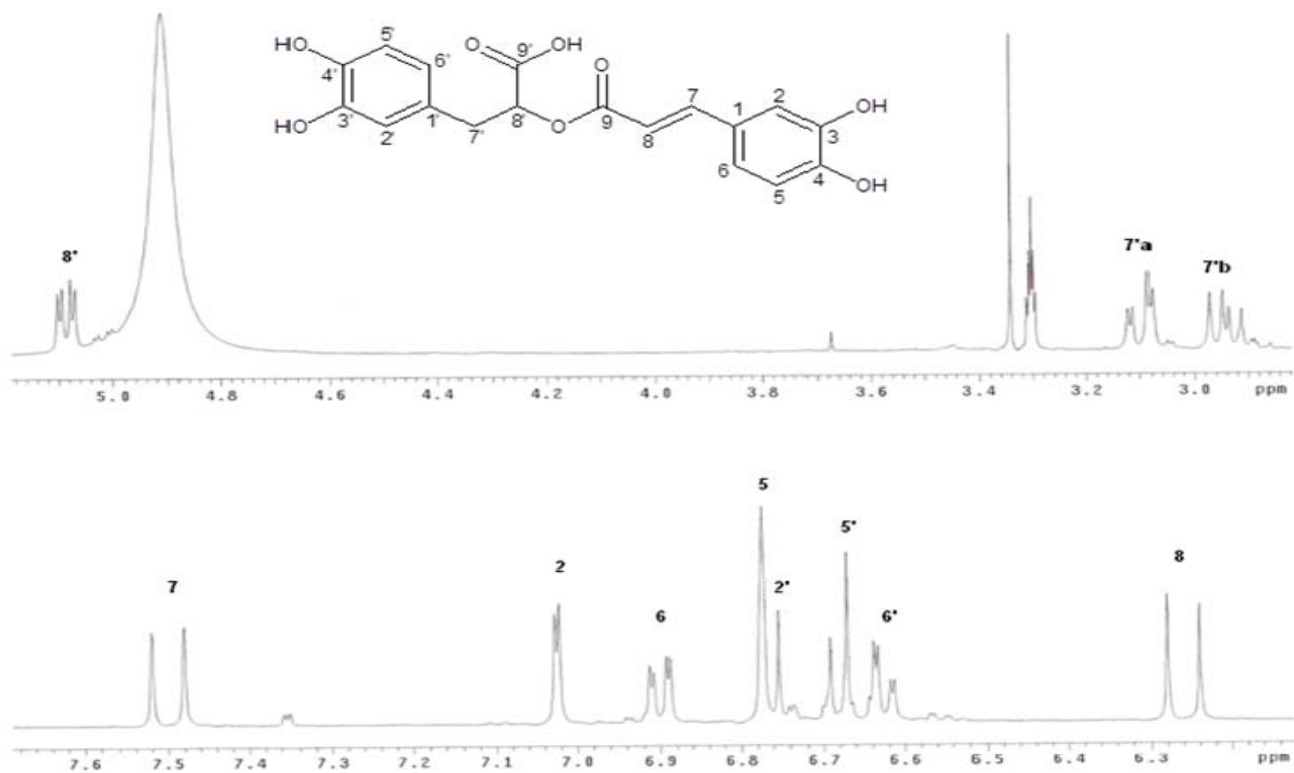
¹H-NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_H = 7.02$ (1H, d, $J = 2.2$ Hz), $\delta_H = 6.92$ (1H, dd, $J = 8.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz), $\delta_H = 6.76$ (1H, d, $J = 8.1$ Hz) ve $\delta_H = 6.74$ (1H, d, $J = 2.2$ Hz), $\delta_H = 6.68$ (1H, d, $J = 8.1$ Hz), $\delta_H = 6.62$ (1H, dd, $J = 8.1$, $J = 2.2$ Hz) ppm'de iki grup aromatik ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, 6, 5 ve H-2', 5', 6' numaralı protonlar) gözlenmiştir. $\delta_H = 7.50$ (1H, d, $J = 16.1$) ve $\delta_H = 6.26$ (1H, d, $J = 16.1$ Hz) ppm'deki kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir.

$\delta_H = 5.10$ (dd, $J = 9.7$, $J = 3.5$ Hz) ppm'de gözlenen sinyalin oksijen atomuna komşu olan H-8' protonu olduğu ve $\delta_H = 3.09$ (dd, $J = 14.3$, $J = 3.6$ Hz), $\delta_H = 2.94$ (dd, $J = 14.3$, $J = 9.5$ Hz) ppm'de gözlenen sinyallerin C-7' konumundaki metilene ait protonlar olduğu literatürlerle karşılaştırılarak tespit edilmiştir³⁵⁶.

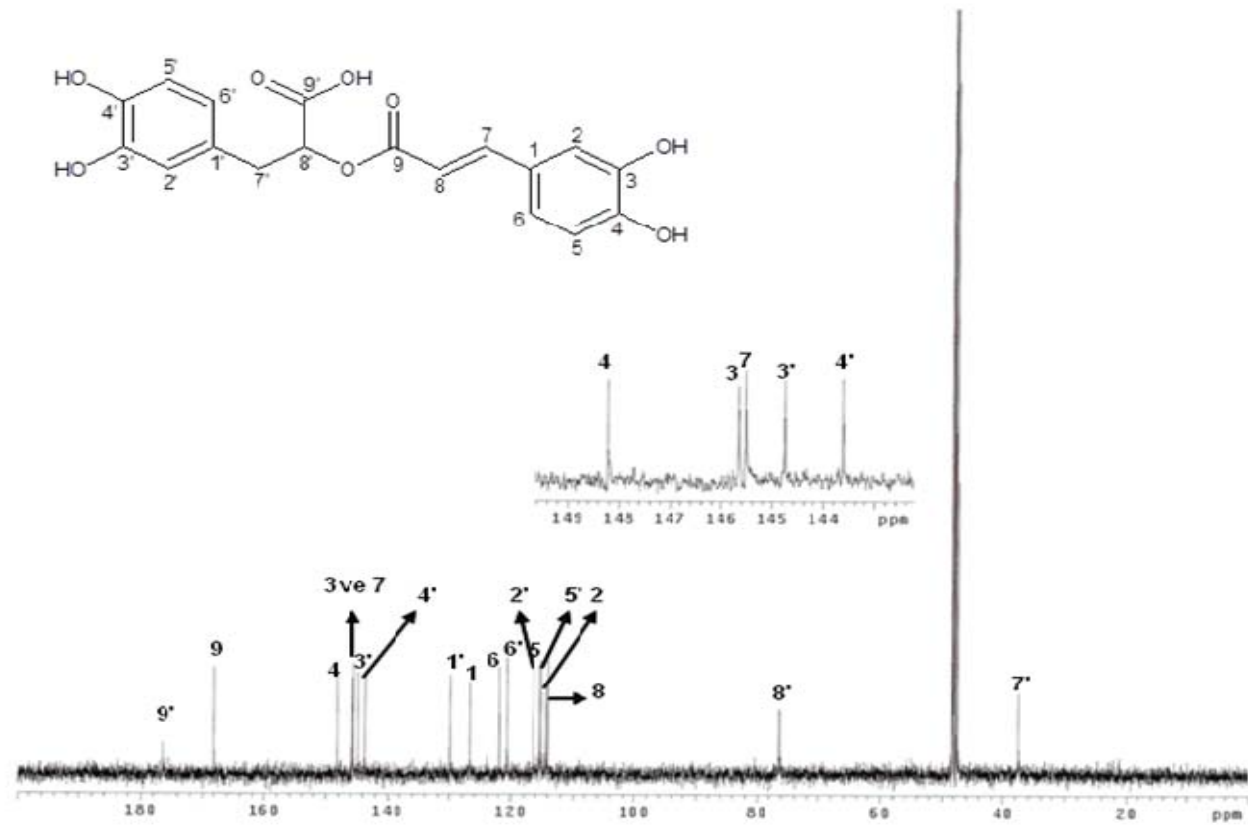
¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde iki fenil halkası üzerinde OH grupları ile sübstitüe olmuş dört tane C atomu bulunmuştur. Bu karbonlar $\delta_C = 148.2$ (C-4), 145.6 (C-3), 144.7 (C-3') ve 143.6 (C-4') ppm'de sinyaller vermiştir. İki tane karbonil karbonu $\delta_C = 176.5$ (C-9'), 167.9 (C-9) ppm'de, olefinik karbonlar $\delta_C = 145.5$ (C-7), 113.9 (C-8) ppm'de, bir tane de estere komşu karbon atomu $\delta_C = 76.4$ (C-8') ppm'de gözlenmiştir. Bulgular, literatürler ile desteklenerek maddenin rosmarinik asit (**OM4**) olduğu bulunmuştur³⁵⁷⁻³⁶⁰.



Spektrum 17. Rosmarinik asit $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) Spektrumu

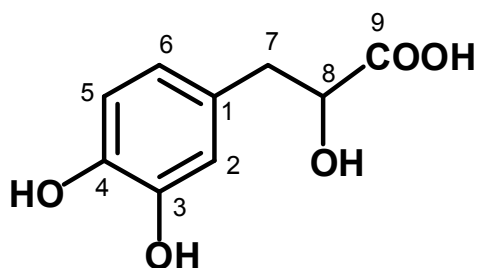


Spektrum 18. Rosmarinik asit $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) Spektrumu



Spektrum 19. Rosmarinik asit ^{13}C -NMR (CD_2OD , 100 MHz) Spektrumu

4.1.1.3.3. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu)



¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 20, 21, Tablo 18

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 22, Tablo 19

Pozitif iyon ESI-Kütle m/z: 221 [M+Na]⁺ Spektrum 23

244 [M+2Na]⁺ Spektrum 23

Tablo 18. Danshensu (**OM5**) bileşığının ¹H-NMR Spektral Değerleri

H	δ_H (ppm)
H-2	6.65 (1H, d, J = 8.1 Hz)
H-5	6.73 (1H, d, J = 1.8 Hz)
H-6	6.59 (1H, dd, J = 2.2 Hz, J = 8.1 Hz)
H-7a	2.96 (1H, dd, J = 3.5 Hz, J = 14.1 Hz)
H-7b	2.65 (1H, dd, J = 8.1 Hz, J = 13.9 Hz)
H-8	4.08 (1H, dd, J = 3.5 Hz, J = 8.3 Hz)

Tablo 19. Danshensu (**OM5**) bileşığının ¹³C-NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_C (ppm)
1	130.6
2	116.6
3	144.6
4	143.4
5	114.9
6	120.8
7	40.6
8	73.4
9	179.2

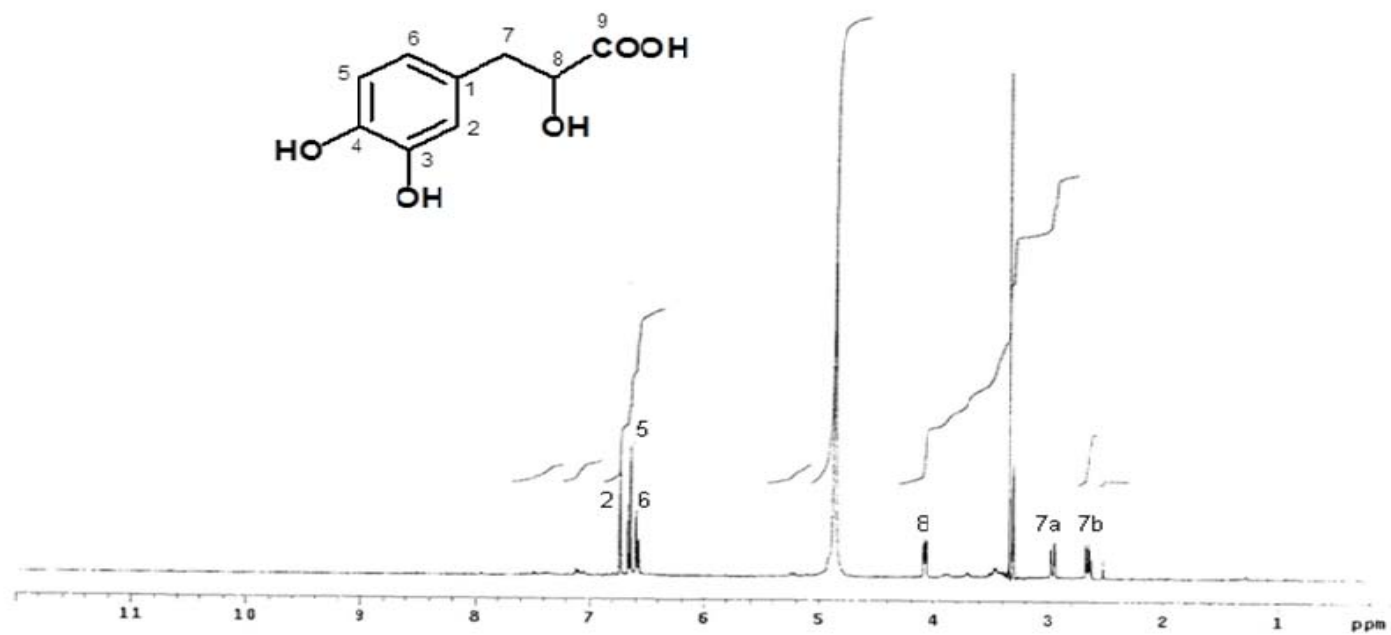
3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu)

OM5 bileşiği, İTK analizlerinde, UV_{254} nm'de koyu renkli ve UV_{366} nm'de renksiz, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe renk vermiştir. EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) solvan sisteminde, R_f değeri 0.32 olarak bulunmuştur.

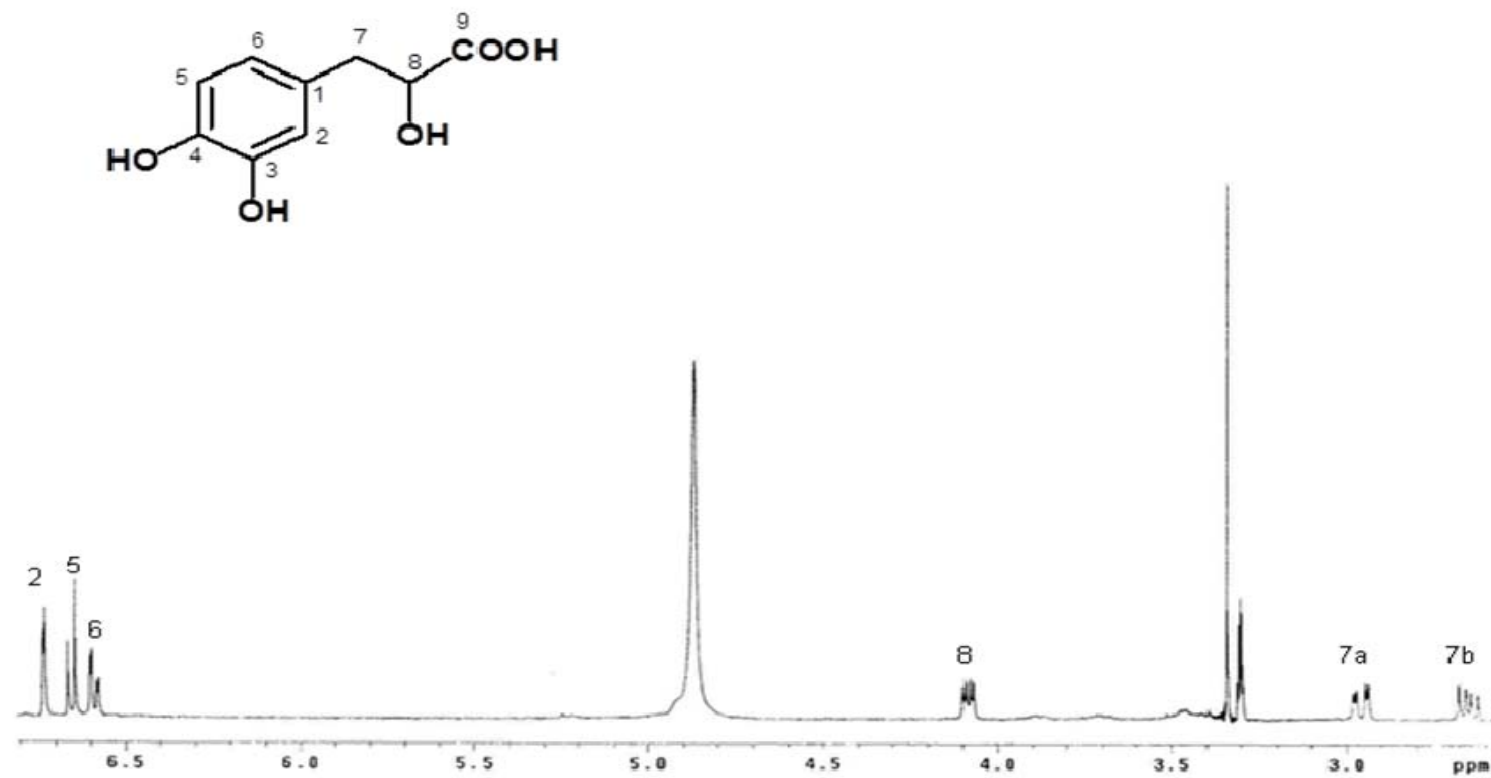
¹H-NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_H = 6.73$ (1H, d, $J = 1.8$ Hz) ppm, $\delta_H = 6.65$ (1H, d, $J = 8.1$ Hz) ppm ve $\delta_H = 6.59$ (1H, dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.1$ Hz) ppm'de gözlenen sinyaller, aromatik halkanın protonlarıdır. Bu sinyaller, molekülde bulunan 3,4-disüstitüe benzen yapısını desteklemektedir. $\delta_H = 4.08$ (1H, dd, $J = 3.5$, $J = 8.3$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal metin protonun varlığına işaret etmektedir. $\delta_H = 2.96$ (1H, dd, $J = 3.5$, $J = 14.1$ Hz) ppm ve $\delta_H = 2.65$ (1H, dd, $J = 8.1$, $J = 13.9$ Hz) ppm'de görülen sinyaller metilen protonlarının varlığı göstermektedir.

¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_C = 179.2$ ppm'de karbonil karbonu, $\delta_C = 144.6$ ve 143.4 ppm'de gözlenen sinyaller süstitüe aromatik halkanın karakteristik sinyalleri olarak değerlendirilmiştir. $\delta_C = 120.8$ ppm'de, $\delta_C = 116.6$ ppm'de ve $\delta_C = 114.9$ ppm'de gözlenen sinyaller üç adet protonlanmış karbonu işaret etmektedir. $\delta_C = 73.4$ ppm'de gözlenen sinyal metin karbonuna, $\delta_C = 40.6$ ppm'de gözlenen sinyal metilen karbonuna atfedilebilir.

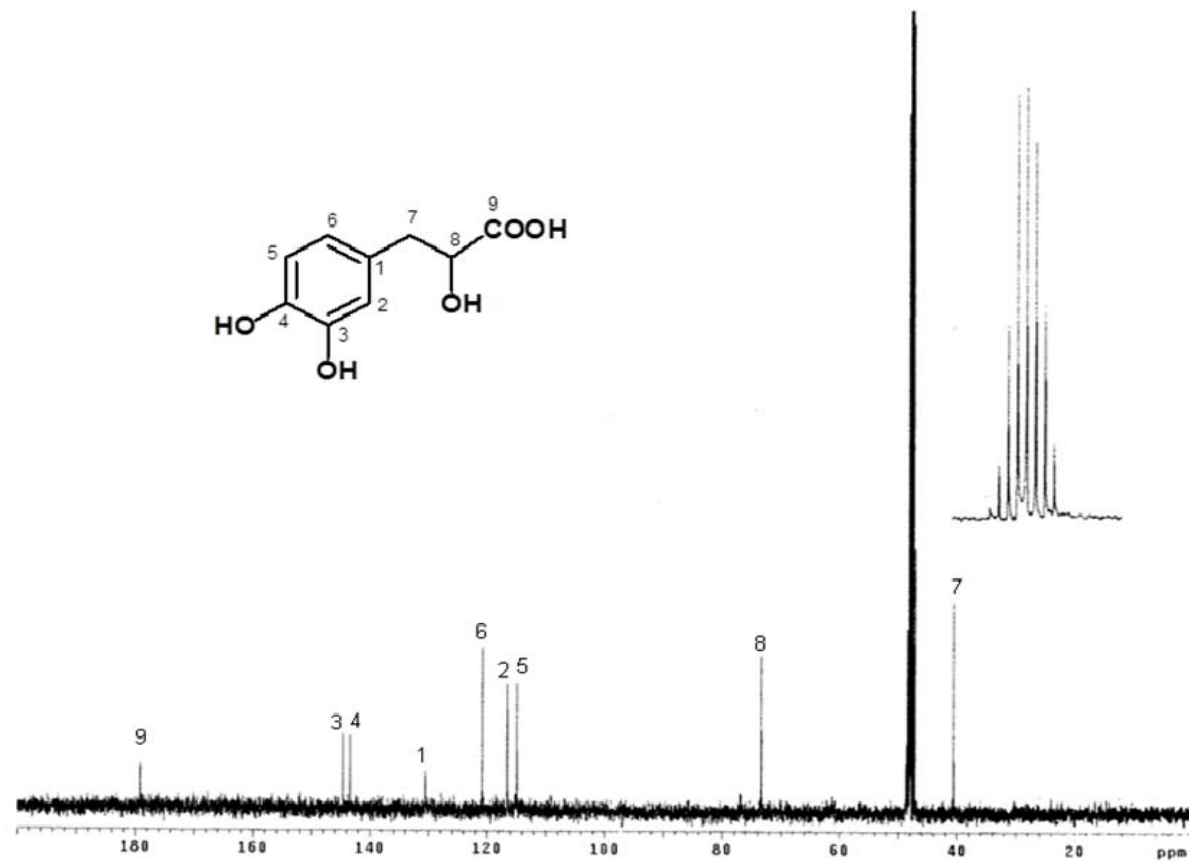
Bu spektral değerler literatürlerdeki 3-(3,4-dihidroksifenil)-2-hidroksipropionik asit için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{361,362}.



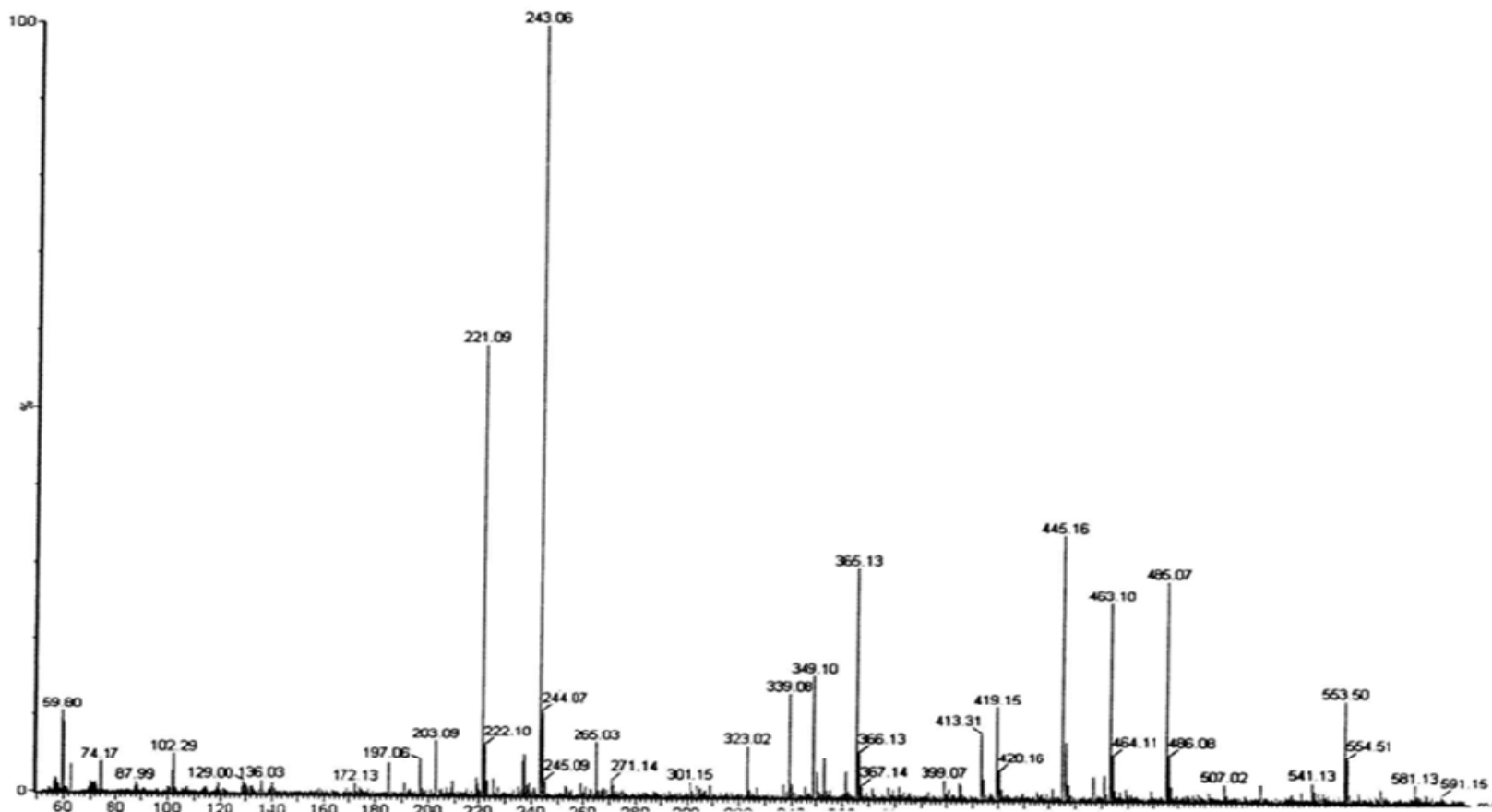
Spektrum 20. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksiipropionik Asit (Darsensu) ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 21. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 22. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Spektrum 23. 3-(3,4-Dihidroksifenil)-2-Hidroksipropionik Asit (Danshensu) Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

4.1.2. *O. minutiflorum* Üzerinde Gerçekleştirilen Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.2.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü

4.1.2.1.1. 1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol)

O. minutiflorum'un kloroform fraksiyonundan 1-tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol= **OMF1**) saf olarak elde edilmiştir. *O. micranthum*'da 1- tetradekanol yer verildiği için bu bölümde yer verilmemiştir.

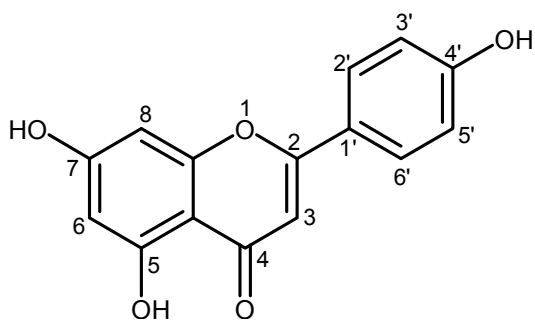
4.1.2.2. Fenolik Bileşenler

4.1.2.2.1. Rosmarinik Asit

O. minutiflorum'un etil asetat fraksiyonundan rosmarinik asit (**OMF2**) saf olarak elde edilmiştir. *O. micranthum*'da rosmarinik asite yer verildiği için bu bölümde yer verilmemiştir.

4.1.2.3. Flavonoitler

4.1.2.3.1. Apigenin



C₁₅H₁₀O₅ (M.A. 270)

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 24, Tablo 20

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 25, Tablo 21

Tablo 20. Apigenin (**OMF3**) ^1H -NMR Spektral Değerleri

H	δ_{H} (ppm)
H-3	6.59 (1H, s)
H-6	6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)
H-8	6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)
H-2' ve H-6'	7.86-7.84 (2H, AA'XX' sisteminin AA' kısmı, quasi d, $J = 9.0$ Hz)
H-3' ve H-5'	6.94-6.91 (2H, AA'XX' sisteminin XX' kısmı, quasi d, $J = 9.0$ Hz)

Tablo 21. Apigenin (**OMF3**) ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_{C} (ppm)
2	165.1
3	102.6
4	182.6
5	161.6
6	99.0
7	164.9
8	93.9
9	158.3
10	102.6
1'	122.1
2'	128.3
3'	115.8
4'	162.0
5'	115.8
6'	128.3

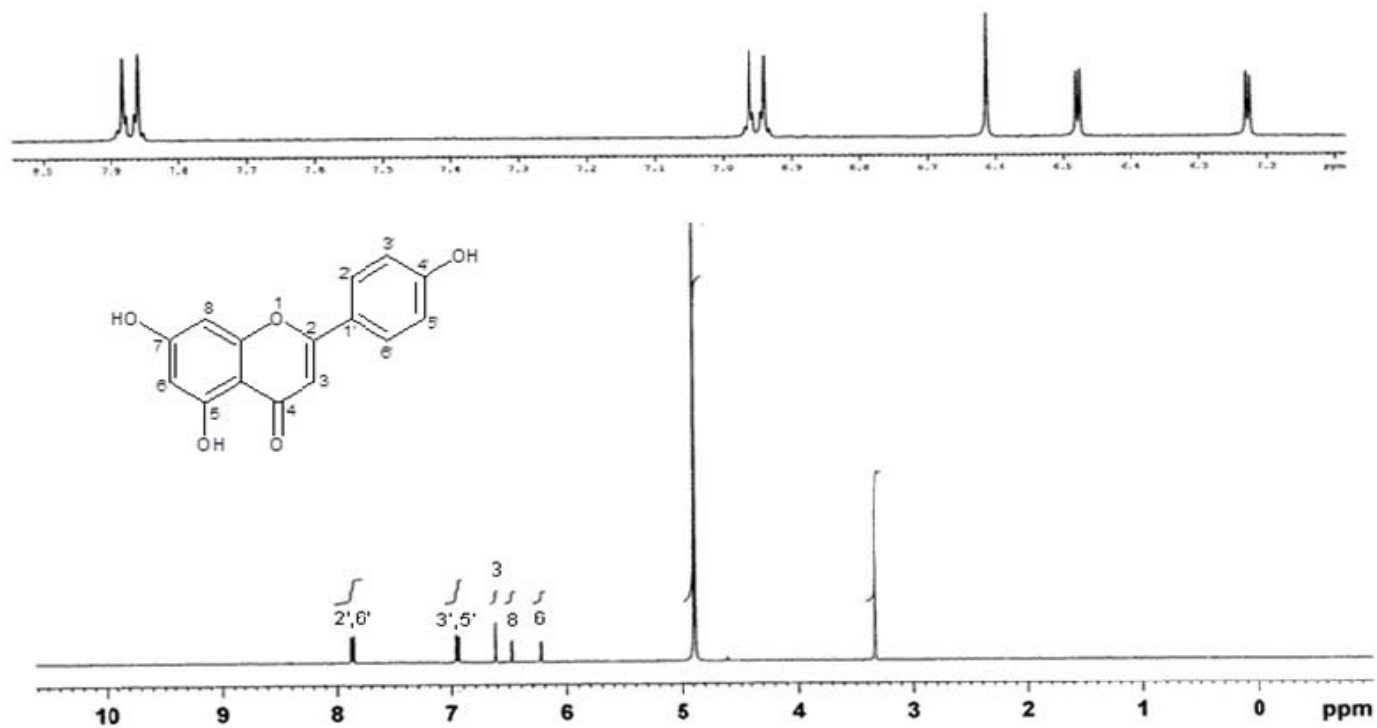
Apigenin

OMF3 bileşiğinin İTK analizinde gün ışığında sarı olan renk, amonyak buharına tutulduğunda koyulaşmakta ve koyu sarı renge dönüşmektedir. Reaktif kullanmadan önce UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini gösterir. EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.85 olarak bulunmuştur.

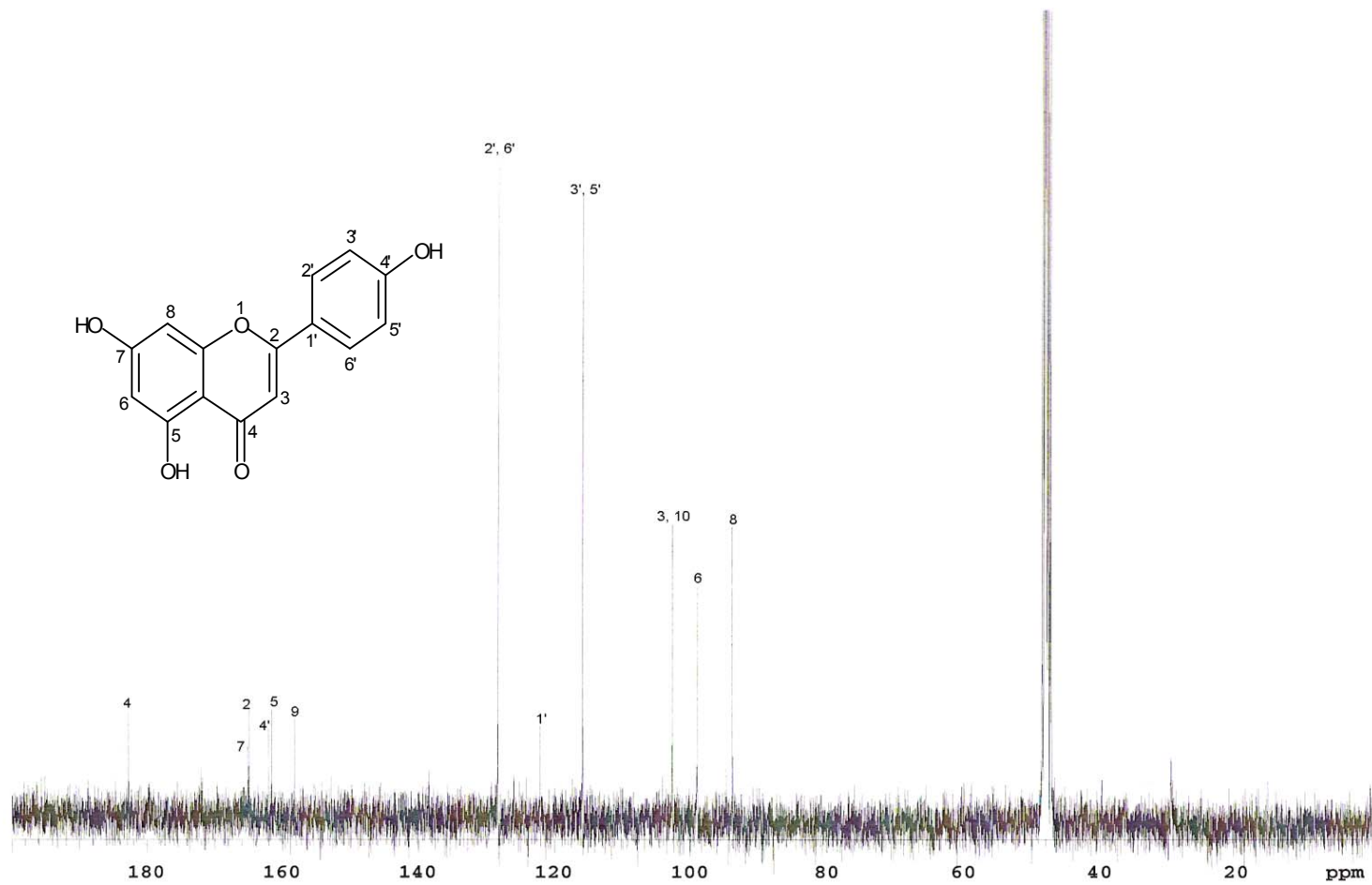
Bileşiğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında $\delta_H = 7.86-7.84$ (2H, quasi d, AA'XX' sisteminin AA' kısmı, $J = 9.0$ Hz) ppm şeklinde görülen sinyaller sırasıyla B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, 6.94-6.91 (2H, quasi d, AA'XX' sisteminin XX' kısmı, $J = 9.0$ Hz) ppm şeklinde görülen sinyaller sırasıyla B halkasının C-3' ve C-5' protonlarına, $\delta_H = 6.59$ (1H, s), 6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) ve $\delta_H = 6.20$ (1H, d, $J = 2.0$ Hz) ppm'de görülen sinyaller de sırasıyla, A halkasının C-3, C-8 ve C-6 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_H = 6.59$ ppm'de singlet olarak görülen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder.

¹³C-NMR spektrumunda 13 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_C = 128.3$ 'de görülen sinyalin C-2' ve C-6' karbonlarına, $\delta_C = 115.8$ 'de görülen sinyalin C-3' ve C-5' karbonlarına ait olduğuna literatür değerleriyle karşılaştırılarak karar verilmiştir.

Bu spektral değerler literatürlerdeki apigenin için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{363,364}.

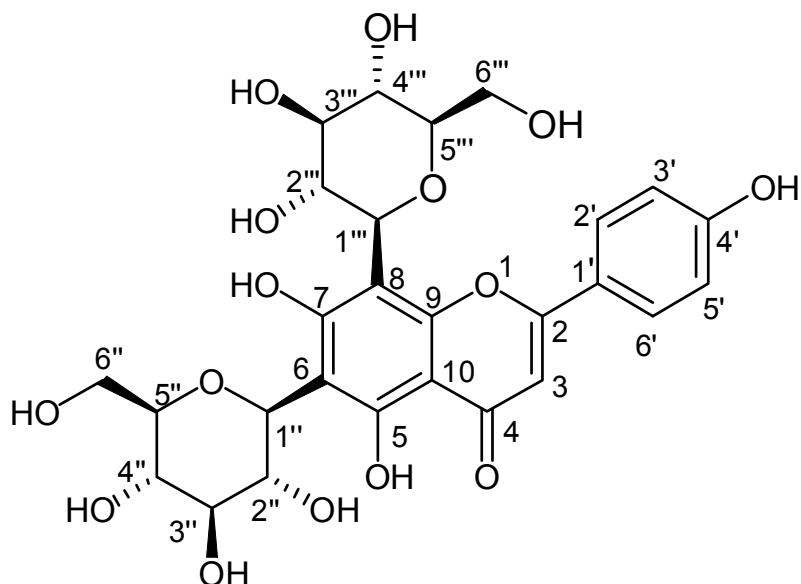


Spektrum 24. Apigenin ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 25. Apigenin ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)

4.1.2.3.2. Visenin-2



C₂₇H₃₀O₁₅ (M.A. 594)

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 26, Tablo 22

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 27, 28, Tablo 23

Pozitif iyon ESI-Kütle m/z: 617 [M+Na]⁺ Spektrum 29

Tablo 22. Visenin-2 (**OMF4**)'nin ¹H-NMR Spektral Değerleri

H	δ_H (ppm)
H-2', H-6'	8.00 (2H, d, $J= 8.4$ Hz)
H-3', H-5'	6.88 (2H, d, $J= 8.1$ Hz)
H-3	6.78 (1H, s)
H-1''	4.78 (1H, d, $J= 9.9$ Hz)
H-1'''	4.74 (1H, d, $J= 9.9$ Hz)
Glukoz protonları	3.88-3.14 (12 H)

Tablo 23. Visenin-2 (**OMF4**)'nin ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C	δ_{C} (ppm)
2	164.7
3	103.3
4	182.9
5	159.0
6	108.1
7	161.8
8	105.9
9	155.8
10	104.5
1'	122.2
2'	129.7
3'	116.5
4'	159.3
5'	116.5
6'	129.7
1''	74.0
2''	71.1
3''	78.4
4''	69.7
5''	81.5
6''	60.4
1'''	74.8
2'''	72.5
3'''	79.5
4'''	71.5
5'''	82.5
6'''	61.8

VİSENİN-2

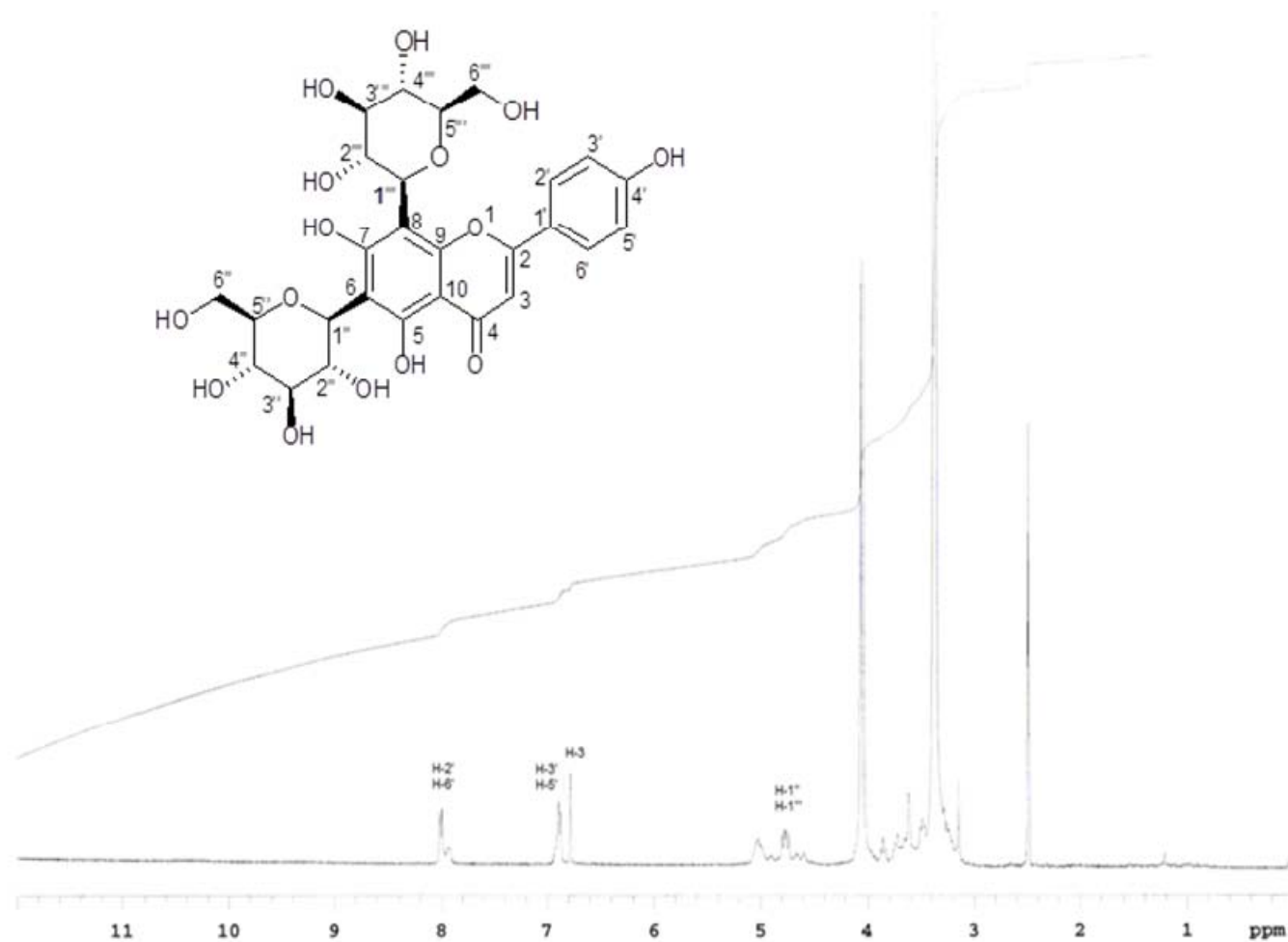
OMF4 bileşiğinin İTK analizinde gün ışığında sarı olan renk, amonyak buharına tutulduğunda koyulaşmakta ve koyu sarı renge dönüşmektedir. Reaktif kullanmadan önce UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de koyu mor, vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini gösterir. Etil asetat:Asetik asit:Formik asit:Su (100:11:11:27) solvan sisteminde R_f değeri 0.27'dir.

Bileşiğin 1H -NMR spektrumuna bakıldığında $\delta_H = 8.00$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, 6.88 (2H, d, $J = 8.1$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-3' ve C-5' protonlarına ve $\delta_H = 6.78$ (1H, s) ppm'de görülen sinyal ise A halkasının C-3 protonuna ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_H = 6.78$ ppm'de singlet olarak görülen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder. $\delta_H = 4.78$ ve 4.74 ppm'de görülen sinyaller glukoz moleküllerinin anomerik protonlarına aittir. Anomerik protonların dublete yarıldığı ve etkileşme sabitlerinin $J = 9.9$ Hz olduğu görülmüştür, buradan da glukozların β konfigürasyonda olduğuna karar verilmiştir.

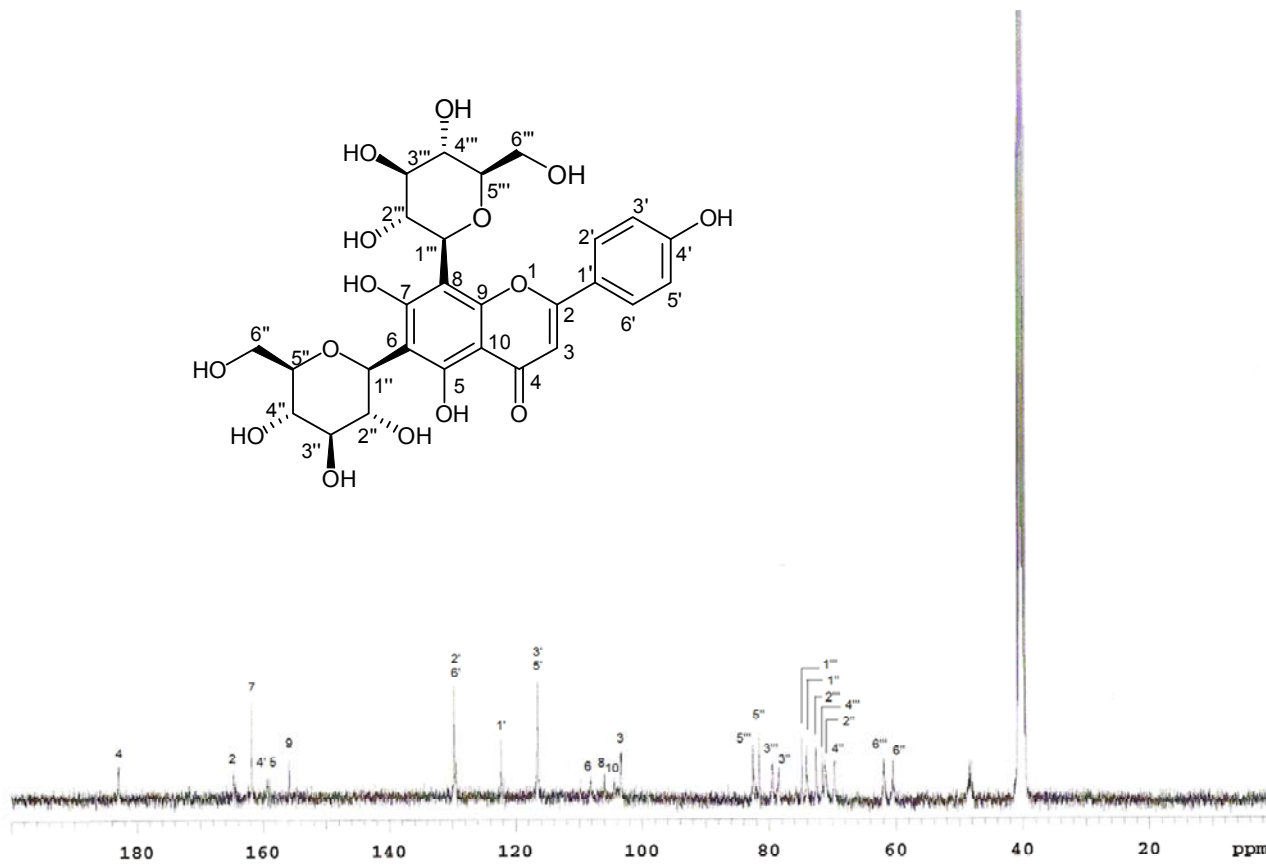
^{13}C -NMR spektrumunda 25 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_C = 129.7$ ve $\delta_C = 116.5$ ppm'de görülen sinyallerin sırasıyla, C-2' ve C-6' ile C-3' ve C-5' konumlarına ait olduğunu literatürler değerleri de desteklemektedir. $\delta_C = 60.4$ -82.5 ppm'ler arasında görülen sinyaller 2 adet glukoz molekülüne aittir. $\delta_C = 74.0$ ve 74.8 ppm'de görülen sinyallerin anomerik karbon atomuna ait olduğu literatür bilgileri ile karşılaştırılarak karar verilmiştir.

Glukoz sinyalleri dışında kalan sinyaller yapının bir flavon yapısında madde olan apigenine benzediği görülmektedir. Ancak H-6 ve H-8'e ait proton sinyallerinin 1H -NMR spektrumunda görülememesi glukoz moleküllerinin C-6 ve C-8 numaralı karbonlardan bağlandığını desteklemektedir.

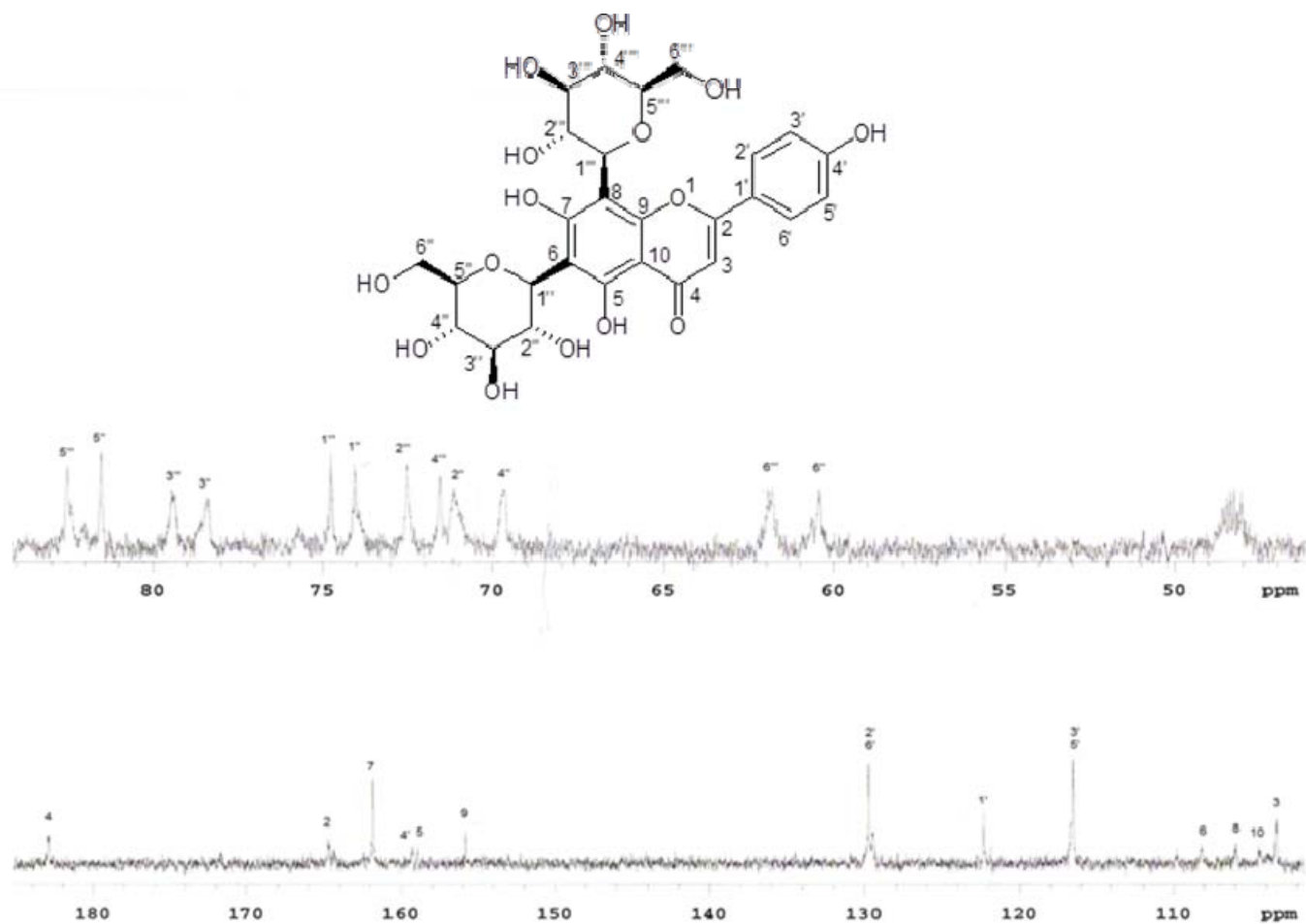
Bu spektral değerler literatürlerdeki visenin-2 için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{365,366}.



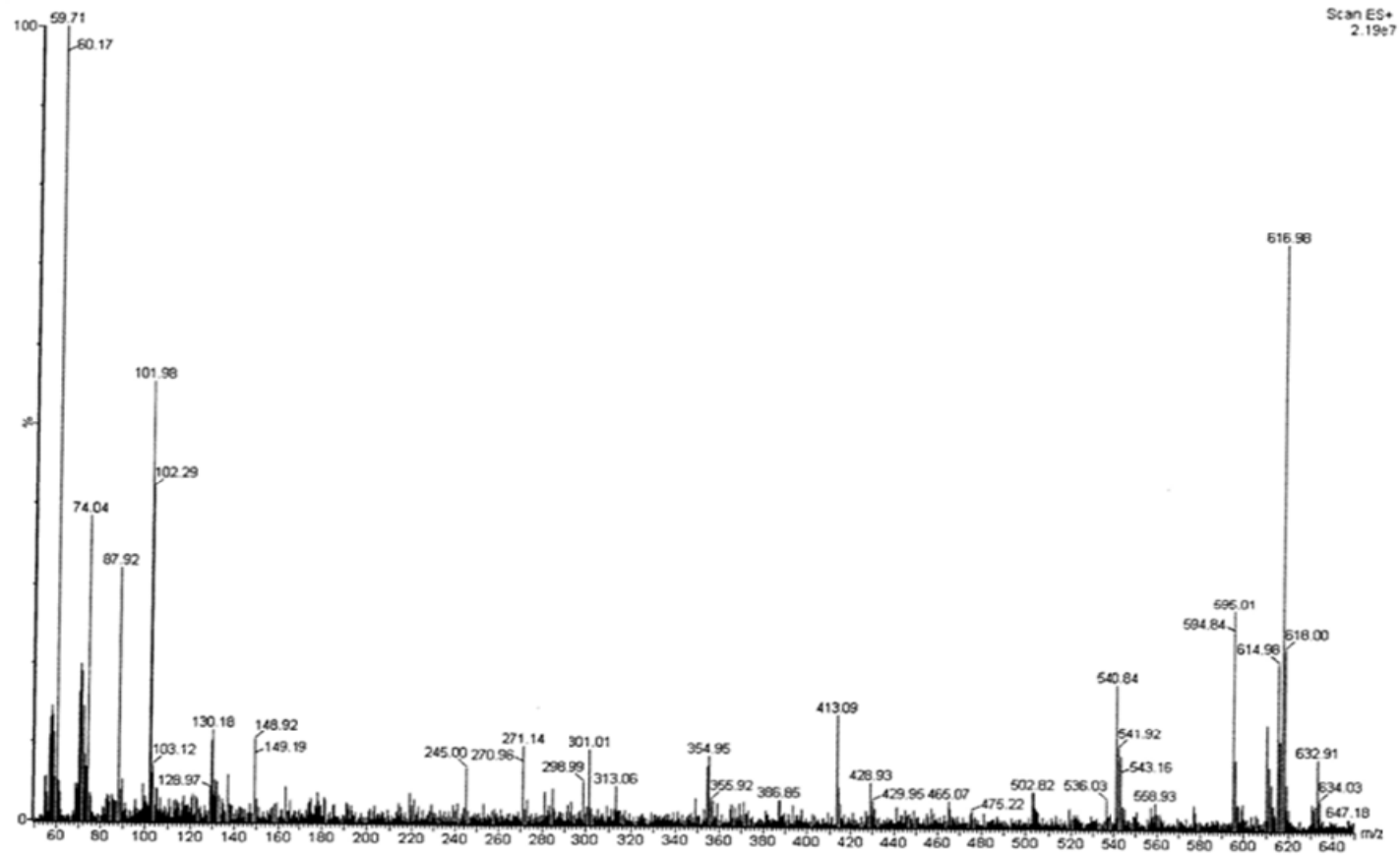
Spektrum 26. Visenin-2 ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



Spektrum 27. Visenin-2 ¹³C-NMR Spektrumu (CD₃OD, 100 MHz)



Spektrum 28. Visenin-2 ^{13}C -NMR Spektrum (CD₃OD, 100 MHz)



Spektrum 29. Visenin-2 Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

4.1.3. *O. rotundifolium* Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.3.1. Düz Zincirli Doymuş Yağ Alkolü

4.1.3.1.1. 1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol)

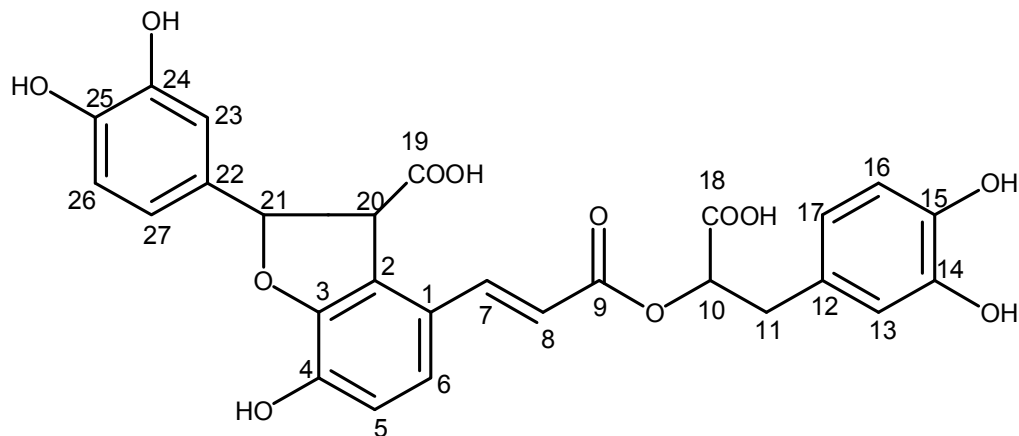
O. rotundifolium'un kloroform fraksiyonundan 1- tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol= **OR1**) saf olarak elde edilmiştir. *O. micranthum*'da 1- tetradekanol'e yer verildiği için bu bölümde yer verilmemiştir.

4.1.3.2. Fenolik Bileşenler

4.1.3.2.1. Rosmarinik Asit

O. rotundifolium'un etil asetat fraksiyonundan rosmarinik asit (**OR2**) saf olarak elde edilmiştir. *O. micranthum*'da rosmarinik asit'e yer verildiği için bu bölümde yer verilmemiştir.

4.1.3.2.2. Litospermik Asit



C₂₇H₂₂O₁₂ (M.A. 538)

¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 30, 31, Tablo 24

¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 32, 33, Tablo 25

HETCOR Spektrumu 34, 35

Pozitif iyon ESI-Kütle m/z: 561 [M+Na]⁺ Spektrum 36

Tablo 24. Litospermik asit (**OR3**)'in ^1H -NMR Spektral Değerleri

H	δ_{H} (ppm)
H-6	7.10 (1H, d, $J= 8.4$ Hz)
H-7	7.95 (1H, d, $J= 16.0$ Hz)
H-8	6.24 (1H, d, $J= 16.0$ Hz)
H-10	5.11 (1H, dd, $J= 6.2$ Hz)
Ha-11	3.07(AB sisteminin A kısmı, bd, $J= 13.0$ Hz)
Hb-11	2.94 (AB sisteminin B kısmı, dd, $J= 13.0$ Hz, $J= 9.0$ Hz)
H-13	6.87 (1H, s)
H-16	6.63 (AB sisteminin A kısmı, d, $J= 8.0$ Hz)
H-17	6.57 (AB sisteminin B kısmı, bd, $J= 8.0$ Hz)
H-20	4.26 (1H, d, $J= 6.2$ Hz)
H-21	5.87 (1H, d, $J= 6.2$ Hz)
H-23	6.85 (1H, s)
H-5, H-26 ve H-27	6.71-6.75 (3H, m, sinyal örtüşmesi)

Tablo 25. Litosospermik asit (**OR3**) ^{13}C -NMR Spektral Değerleri

C/H	δ_{C} (ppm)
1	123.6
2	129.0
3	147.5
4	145.3
5	116.6
6	119.9
7	142.7
8	116.0
9	167.8
10	75.9
11	37.3
12	129.7
13	116.5
14	145.3
15	143.5
16	115.0
17	120.6
18	176.1
19	178.7
20	59.6
21	89.1
22	133.2
23	112.8
24	144.7
25	143.5
26	115.1
27	117.5

Litospermik Asit

OR3 bileşiği, İTK'da reaktif kullanılmadan UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de mavi, vanilin/H₂SO₄ reaktif püskürttükten sonra 110 °C'de birkaç dakika içinde koyu pembe renk vermiştir. Su: Metanol (1:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.63 olarak bulunmuştur.

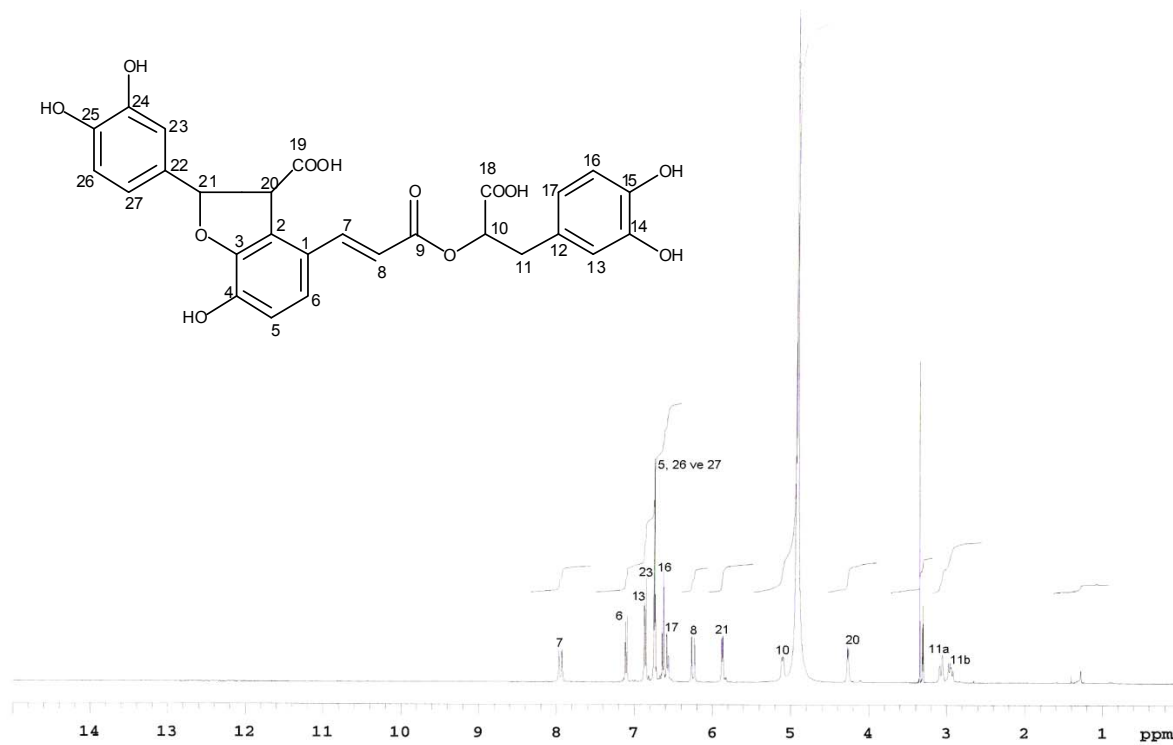
¹H-NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_H = 7.95$ (1H, d, $J = 16.0$ Hz) ve 6.24 (1H, d, $J = 16.0$ Hz) ppm'de görülen kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir. $\delta_H = 7.10$ (1H, d, $J = 8.4$), $\delta_H = 6.85$ (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.75 - 6.71 (3H, m), 6.63 (1H, AB sisteminin A kısmı, d, $J = 8.0$ Hz) ve 6.57 (1H, AB sisteminin B kısmı, bd, $J = 8.0$ Hz) ppm'de görülen kimyasal kaymalar aromatik protonların bulunduğunu göstermektedir. $\delta_H = 5.87$ (1H, d, $J = 6.2$ Hz) ve $\delta_H = 5.11$ (1H, dd, $J = 6.2$ Hz) ise metin protonlarının varlığına işaret etmektedir.

3.07 (1H, AB sisteminin A kısmı, bd, $J = 13.0$ Hz) ve 2.94 (1H, AB sisteminin B kısmı, dd, $J = 13.0$ Hz ve $J = 9.0$ Hz) ppm'de görülen sinyaller metilen protonlarına işaret etmektedir.

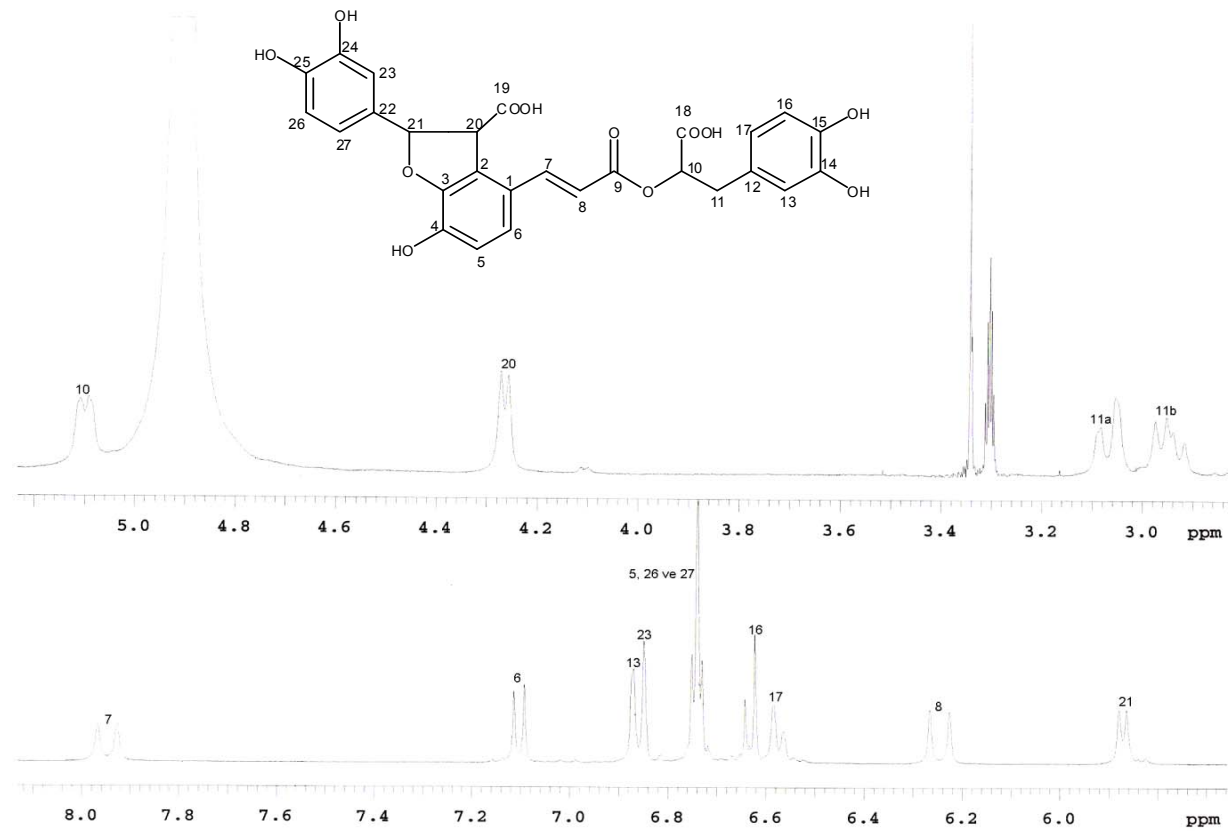
¹³C-NMR spektrumunda bileşiğin 27 karbon taşıdığı görülmektedir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_C = 178.7$, 176.1 ve 167.8 ppm'de karbonil karbonlarına özgü rezonans göstermektedir. $\delta_C = 147.5$, 145.3 , 144.7 , 143.5 ve 142.7 ppm'de görülen kimyasal kaymalar, oksijen atomuna komşu karbonlara işaret etmektedir. $\delta_C = 133.2$, 129.7 , 129.0 ve 123.6 ppm'de görülen rezonansların kuarterner karbon atomlarına ait olduğu HETCOR spektrumunda gözlenmektedir.

$\delta_C = 120.6$, 119.9 , 117.5 , 116.6 , 116.5 , 116.0 , 115.1 , 115.0 ve 112.8 ppm'de gözlenen kimyasal kaymaların aromatik yapıda yeralan –CH (metin) karbonlarına ait olduğu HETCOR spektrumunda gözlenmektedir. $\delta_C = 89.1$, 75.9 ve 59.6 ppm'de görülen sinyaller aromatik yapıda olmayan –CH karbon atomlarına ait olduğunu HETCOR spektrumu açıklamaktadır. $\delta_C = 37.3$ ppm'de bulunan kimyasal kayma –CH₂ (metilen) karbonuna ait olduğu HETCOR spektrumundan gözlenmektedir.

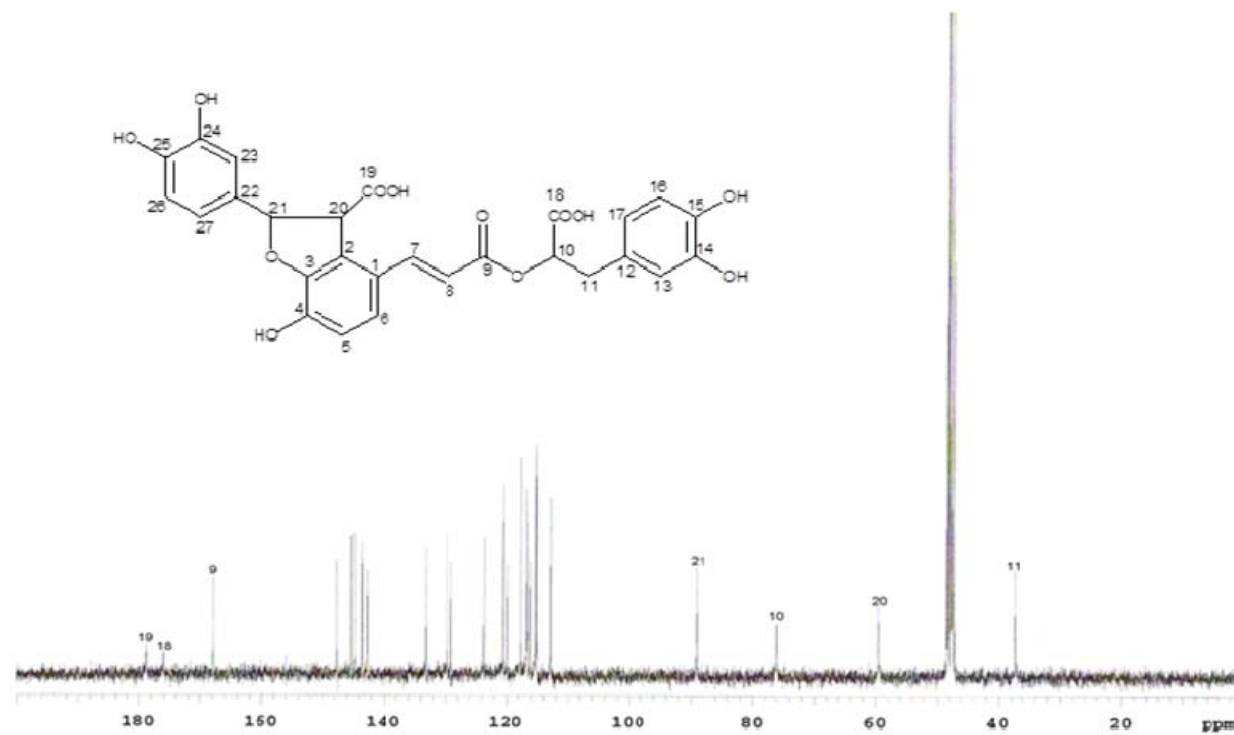
¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri literatürde litospermik asit için verilen değerlerle uyum göstermektedir^{367,368}.



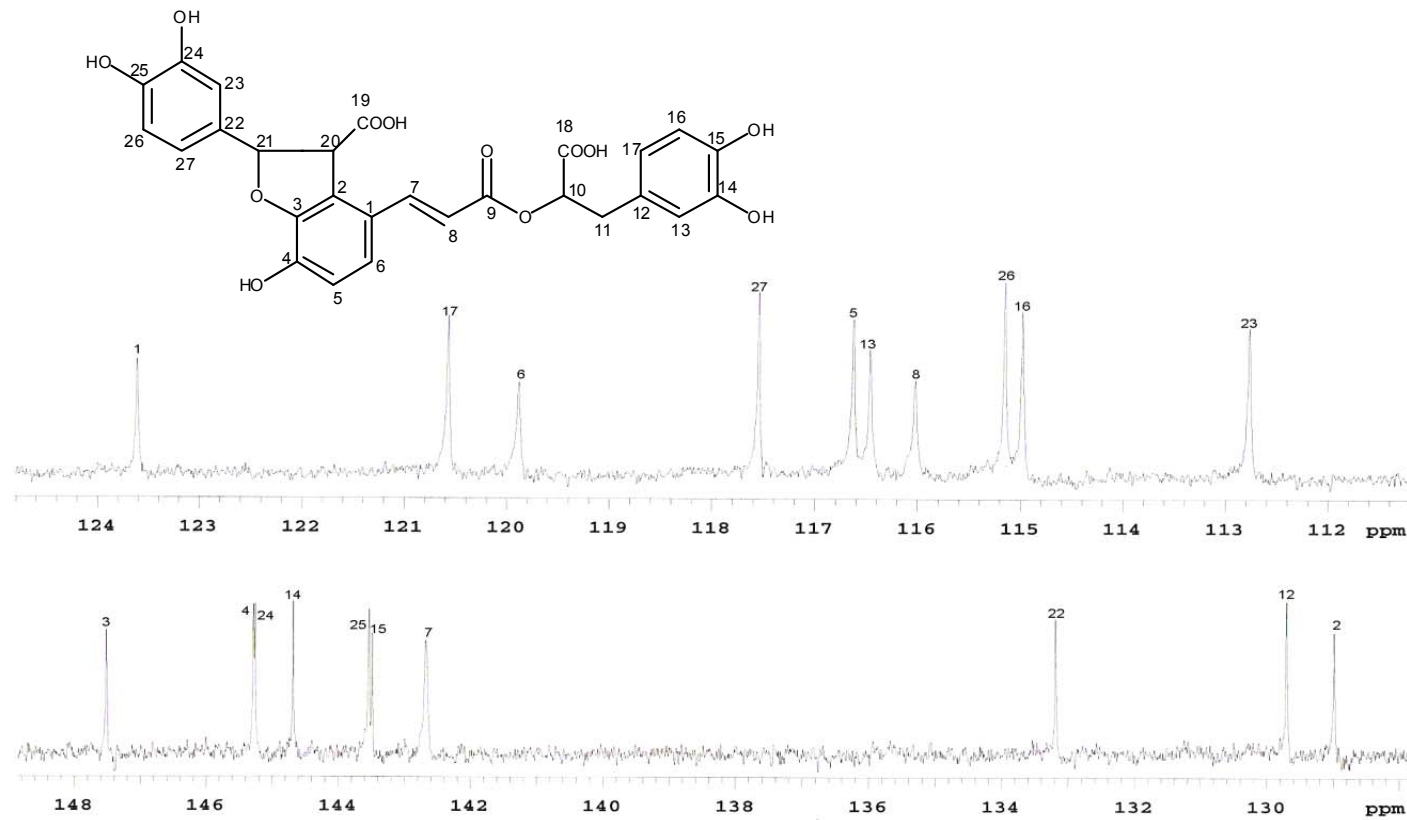
Spektrum 30. Litospemik asit ^1H -NMR Spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



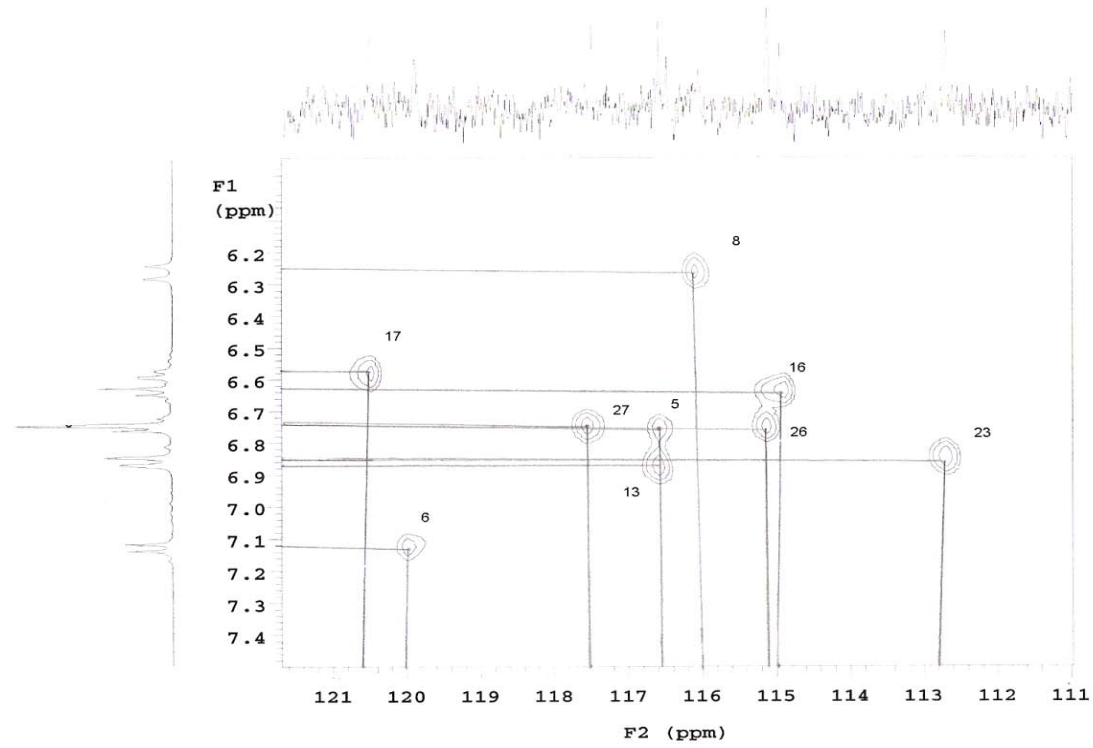
Spektrum 31. Litospermik asit ¹H-NMR Spektrumu (CD₃OD, 100 MHz)



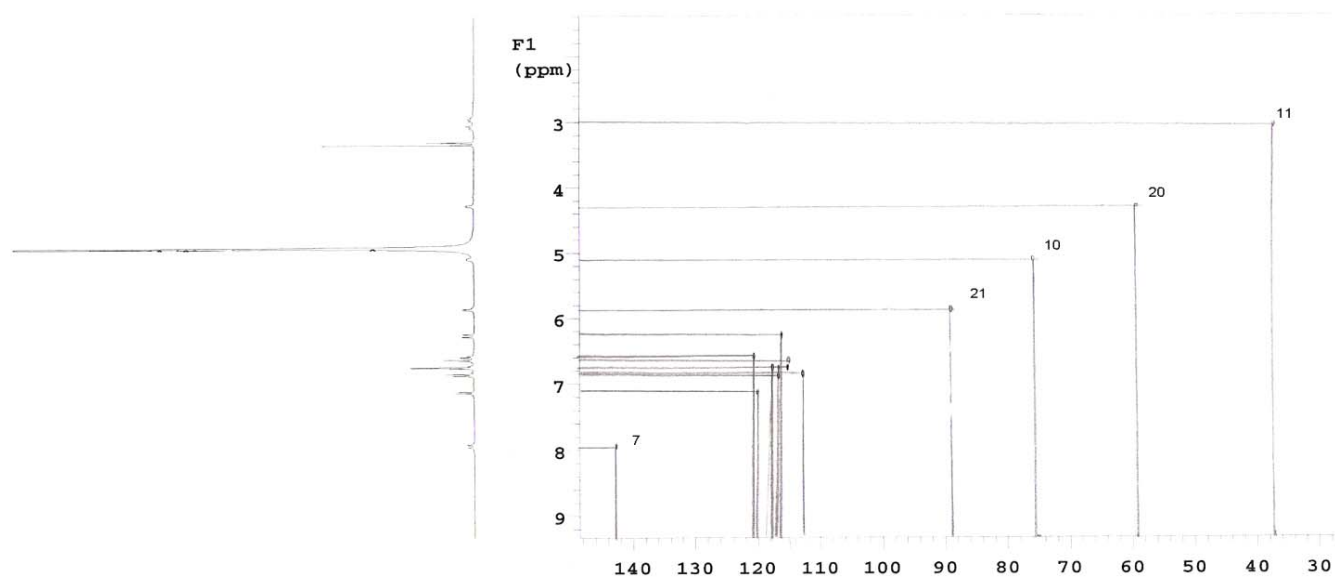
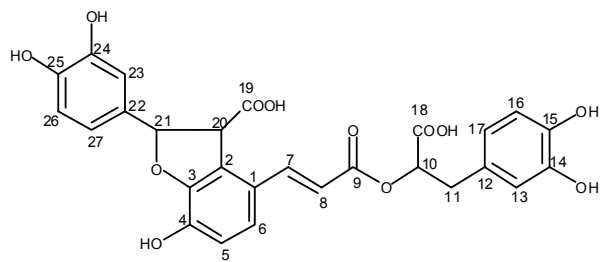
Spektrum 32. Litospermik asit ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



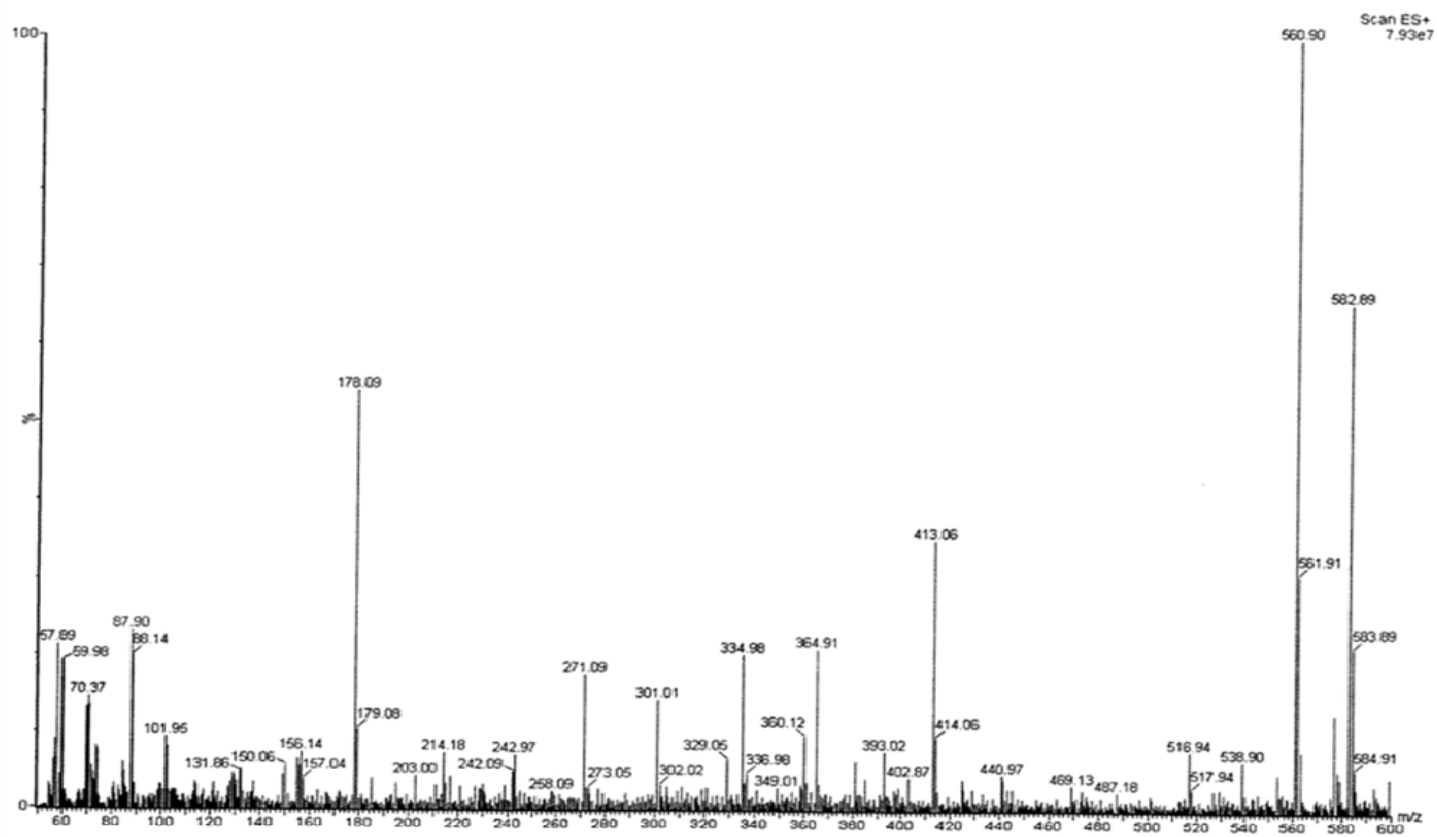
Spektrum 33. Litospemikasin ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



Spektrum 34. Litospermik asit HETCOR Spektrumu



Spektrum 35. Litospermik asit HETCOR Spektrumu



Spektrum 36. Litospermik asit Pozitif iyon ESI-Kütle m/z Spektrumu

4.2. Korteks Hücre Kültüründe Nöroprotektif Etki Çalışmasının Sonuçları

One Way Anova Testine Göre İstatiksel Değerlendirme

Tablo 26. *O. micranthum* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi

<i>O. micranthum</i>	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.24 $\pm$ 0.06	p=0.004*
50 μ g/ml	4	0.27 $\pm$ 0.08	p<0.001*
25 μ g/ml	4	0.28 $\pm$ 0.05	p<0.001*
10 μ g/ml	4	0.21 $\pm$ 0.07	p=0.057
5 μ g/ml	4	0.12 $\pm$ 0.02	p>0.05
Kontrol	4	0.14 $\pm$ 0.08	

Tablo 27. *O. minutiflorum* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi

<i>O. minutiflorum</i>	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.18 $\pm$ 0.09	p>0.05
50 μ g/ml	4	0.17 $\pm$ 0.03	p>0.05
25 μ g/ml	4	0.16 $\pm$ 0.04	p>0.05
10 μ g/ml	4	0.14 $\pm$ 0.02	p>0.05
5 μ g/ml	4	0.17 $\pm$ 0.04	p>0.05
Kontrol	4	0.21 $\pm$ 0.07	

Tablo 28. *O. rotundifolium* metanol ekstresinin beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirmesi

<i>O. rotundifolium</i>	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.18 $\pm$ 0.03	p>0.05
50 μ g/ml	4	0.15 $\pm$ 0.02	p>0.05
25 μ g/ml	4	0.16 $\pm$ 0.05	p>0.05
10 μ g/ml	4	0.14 $\pm$ 0.01	p>0.05
5 μ g/ml	4	0.16 $\pm$ 0.05	p>0.05
Kontrol	4	0.16 $\pm$ 0.02	

Tablo 29. Apigenin'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirilmesi

Apigenin	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.19 $\pm$ 0.04	p>0.05
50 μ g/ml	4	0.19 $\pm$ 0.03	p>0.05
25 μ g/ml	4	0.22 $\pm$ 0.02	p=0.019*
10 μ g/ml	4	0.19 $\pm$ 0.04	p>0.05
5 μ g/ml	4	0.15 $\pm$ 0.02	p>0.05
Kontrol	4	0.14 $\pm$ 0.02	

Tablo 30. Rosmarinik asit'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirilmesi

Rosmarinik asit	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.16 $\pm$ 0.02	p>0.05
50 μ g/ml	4	0.21 $\pm$ 0.06	p=0.025*
25 μ g/ml	4	0.17 $\pm$ 0.01	p>0.05
10 μ g/ml	4	0.17 $\pm$ 0.02	p>0.05
5 μ g/ml	4	0.15 $\pm$ 0.03	p>0.05
Kontrol	4	0.12 $\pm$ 0.01	

Tablo 31. 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit'in beyin korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkisinin istatistiksel değerlendirilmesi

4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil-O- β -D-glukopiranozit doz	N	Ortalama $\pm$ SD	p
100 μ g/ml	4	0.15 $\pm$ 0.03	p>0.05
50 μ g/ml	4	0.15 $\pm$ 0.04	p>0.05
25 μ g/ml	4	0.14 $\pm$ 0.04	p>0.05
10 μ g/ml	4	0.19 $\pm$ 0.02	p>0.05
5 μ g/ml	4	0.14 $\pm$ 0.01	p>0.05
Kontrol	4	0.14 $\pm$ 0.08	

*= p<0.05 anlamlı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Kozan (Adana)'ın yüksek yaylarında yetişen ve halk arasında çayı halinde kullanılan endemik bir tür olan *O. micranthum*, Antalya'nın bazı yörelerinde yetişen ve yurtdışına ihraç edilen endemik bir tür olan *O. minutiflorum* ve Yusufeli'nde toplanan *O. rotundifolium* çalışma konuları olarak seçilmiştir. Halk arasında kullanılan ve ekonomik önemi olan bu türler üzerinde fitokimyasal çalışma yapılması ve bu türlerin metanollü ekstraktları ve saflaştırılan bazı maddelerin nöroprotektif etkilerinin korteks hücre kültürleri üzerinde incelenmesi amaçlanmıştır.

410 g *O. micranthum* kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre, rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavaporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 26.7 g kloroform, 12.7 g etil asetat ve 58 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır. Ön temizleme ve ayırım işlemleri için çeşitli kromatografik yöntemler [açık kolon kromatografisi (silika jel, sefadeks ve ters faz silika jel)] kullanılmıştır. Yapılan çalışmada 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol (**OM1**), 1 triterpen yapısında bileşik karışımı [ursolik asit ve oleanolik asit karışımı (**OM2A** ve **OM2B**), 3 fenolik bileşik [4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit (**OM3**), rosmarinik asit (**OM4**), Danshensu (**OM5**) izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapısı [$^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve 2D-NMR (COSY, HETCOR) spektroskopisi] kullanılarak aydınlatılmıştır.

OM1 bileşiğinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında ve UV₃₆₆ nm'lerde renksizdir, UV₂₅₄ nm 'de gri-siyah leke şeklinde, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca gri renk vermiştir. n-Hekzan:EtOAc (8:2) solvan sisteminde R_f değeri 0.91 olarak bulunmuştur.

OM1 $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde, $\delta_{\text{H}} = 0.90$ (3H, t, $J = 6.8$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal metil protonuna aittir. $\delta_{\text{H}} = 3.66$ (2H, t, $J = 6.6$ Hz) ppm'de gözlenen sinyal primer alkol grubuna aittir. $\delta_{\text{H}} = 1.28-1.60$ (24H) ppm'de gözlenen sinyaller düz zincirli yapıya ait metilen gruplarını göstermektedir. Metilen gruplarına ait toplam proton sayısı integrasyondan hesap edilerek saptanmıştır.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu incelendiğinde, $\delta_{\text{C}} = 63.1$ (C-1, CH₂OH), 14.1 (C-14, CH₃) ve 22.7, 25.7, 29.4, 29.4, 29.6, 29.7, 29.7, 31.9, 32.82 (C-2-13, metilen sinyalleri) ppm'de gözlenen sinyaller bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda önerilen yapıyı desteklemektedir.

Bulgular, maddenin düz zincirli doymuş yağ alkolü yapısındaki 1-Tetradekanol (Miristil Alkol, Miristik Alkol) (**OM1**) yapısını desteklemektedir. Yapı kütle spektrumu ile doğrulanmıştır.

OM2A ve **OM2B** bileşiklerinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV_{254} ve UV_{366} nm'lerde renksizdir, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe-mor renk vermiştir. Toluen:EtOAc:Formik Asit (5:4:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.61 olarak bulunmuştur.

OM2A ve **OM2B** bileşiklerinin bulunduğu fraksiyonun ^{13}C -NMR spektrumuna bakıldığında görülen 51 rezonans ve İTK'daki davranışı triterpen iskeletinde bir karışım olduğunu düşündürmüştür.

^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_C = 180.5$ ppm'de gözlenen sinyal bir karboksil karbonuna aittir. Triterpenik yapıda $\Delta^{12(13)}$ fonksiyonun varlığı $\delta_C = 125.7$ (CH; C-12) ve $\delta_C = 138.5$ (C; C-13) ile $\delta_C = 122.5$ (CH; C-12) ve $\delta_C = 144.0$ (C; C-13) ppm'lerdeki karbon rezonansları ile saptanmıştır. Oleofinik proton H-12 ise $\delta_H = 5.23$ (1H, m) ppm'de gözlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla, urs-12-en ve olean-12-en tipi triterpenik iskelet için karakteristiktir^{348,349}. $\delta_C = 55.6$ ppm'de gözlenen sinyal her iki bileşiğin 5 numaralı karbonuna ait olduğu gözlenmiştir. Bileşiklerin 9 numaralı karbonlarına ait olan sinyalleri ile **OM2A**'nın 17. karbonların ait sinyal çözücü sinyalleri ile örtüşmüştür. **OM2A** bileşiğinin 18 numaralı karbonu $\delta_C = 53.2$ ppm'de, **OM2B** bileşiğinin 18 numaralı karbonu $\delta_C = 41.6$ ppm'de rezonans olmuştur.

1H -NMR spektrumunda $\delta_H = 2.20$ (d) **OM2A** bileşiğinin C(18) protonuna, $\delta_H = 2.84$ (dd) **OM2B** bileşiğinin C(18) protonuna aittir. $\delta_H = 0.78$ -1.18 ppm'lerde gözlenen sinyallerin **OM2A** ve **OM2B**'nin metil protonlarına ait olduğu literatür bilgilerine dayanarak belirlenmiştir.

$\delta_H = 3.14$ ppm ve $\delta_C = 78.5$ ppm'lerde görülen rezonanslar her iki bileşiğin 3 numaralı karbon atomunda bir sekonder hidroksil grubunun varlığını göstermektedir³⁵⁰.

Spektroskopik bulgular ursolik asit ve oleanolik asit ile uygunluk göstermektedir. Bu nedenle **OM2A** ve **OM2B** karışımının ursolik asit (**OM2A**) ve oleanolik asit (**OM2B**) maddelerinin bir karışımı olduğu sonucuna varılmıştır³⁵¹⁻³⁵⁴.

OM3 bileşiği beyaz çökelek olup, İTK analizlerinde, UV_{254} nm'de koyu renkli ve UV_{366} nm'de renksiz, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca sarı-kahve renk vermiştir. $CHCl_3$:MeOH:H₂O (70:30:3) solvan sisteminde R_f değeri 0.44 olarak bulunmuştur.

$\delta_H = 7.02$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ve $\delta_H = 7.35$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm'de A_2B_2 sisteminin protonları gözlenmektedir. Bu sinyaller, molekülde bulunan 1,4-disübstütüe benzen yapısını desteklemektedir. Diğer aromatik halkanın proton sinyalleri $\delta_H = 6.78$ (1H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm, $\delta_H = 7.34$ (1H, d, $J = 2.2$) ppm ve $\delta_H = 7.30$ (1H, dd, $J = 8.4$, $J = 2.2$ Hz) ppm'de gözlenmektedir. $\delta_H = 5.17$ (2H, s) ppm'de gözlenen sinyal asetoksi grubu taşıyan bir benzilik metileni işaret etmektedir. $\delta_H = 4.86$ (1H, d, $J = 7.3$ Hz) ppm'de glukozun anomerik proton sinyali gözlenmektedir. $\delta_H = 3.11$ - 3.33 (5H, m) ppm'de ve $\delta_H = 3.67$ (1H, d, $J = 11.0$ Hz) ppm'de glukozun diğer proton sinyalleri gözlenmektedir.

$\delta_C = 101.0$, 77.7 , 77.3 , 73.9 , 70.4 ve 61.4 ppm'de glukopiranozil kısmının karakteristik sinyalleri gözlenmektedir. Bir metilen ($\delta_C = 66.1$ ppm), bir ester ($\delta_C = 166.2$ ppm), beş adet sübstütüe aromatik karbon ($\delta_C = 157.9$, 151.2 , 145.7 , 130.4 ve 121.2 ppm) ve yedi adet protonlanmış karbon ($\delta_C = 130.3$ (2C), 122.6 , 116.9 (3C) ve 116.1 ppm) molekülün aglikon kısmına atfedilebilir³⁵⁵.

OM4 bileşiği, İTK da gün ışığında gri renkte olup, reaktif kullanmadan önce UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde UV_{366} nm'de mavi, vanilin/ H_2SO_4 reaktifi püskürttükten sonra $110^\circ C$ 'de koyu pembe renk vermiştir. $CHCl_3:MeOH:H_2O$ (70:30:3) solvan sisteminde, R_f değeri 0.51 olarak bulunmuştur.

1H -NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_H = 7.02$ (1H, d, $J = 2.2$ Hz), $\delta_H = 6.92$ (1H, dd, $J = 8.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz), $\delta_H = 6.76$ (1H, d, $J = 8.1$ Hz) ve $\delta_H = 6.74$ (1H, d, $J = 2.2$ Hz), $\delta_H = 6.68$ (1H, d, $J = 8.1$ Hz), $\delta_H = 6.62$ (1H, dd, $J = 8.1$, $J = 2.2$ Hz) ppm'de iki grup aromatik ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, 6, 5 ve H-2', 5', 6' numaralı protonlar) gözlenmiştir. $\delta_H = 7.50$ (1H, d, $J = 16.1$) ve $\delta_H = 6.26$ (1H, d, $J = 16.1$ Hz) ppm'deki kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir.

$\delta_H = 5.10$ (dd, $J = 9.7$, $J = 3.5$ Hz) ppm'de gözlenen sinyalin oksijen atomuna komşu olan H-8' protonu olduğu ve $\delta_H = 3.09$ (dd, $J = 14.3$, $J = 3.6$ Hz), $\delta_H = 2.94$ (dd, $J = 14.3$, $J = 9.5$ Hz) ppm'de gözlenen sinyallerin C-7' konumundaki metilene ait protonlar olduğu literatürlerle karşılaştırılarak tespit edilmiştir³⁵⁶.

^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde iki fenil halkası üzerinde OH grupları ile sübstütüe olmuş dört tane C atomu bulunmuştur. Bu karbonlar $\delta_C = 148.2$ (C-4), 145.6 (C-3), 144.7 (C-3') ve 143.6 (C-4') ppm'de sinyaller vermiştir. İki tane karbonil karbonu $\delta_C = 176.5$ (C-9'), 167.9 (C-9) ppm'de, olefinik karbonlar $\delta_C = 145.5$ (C-7), 113.9 (C-8) ppm'de, bir tane de estere komşu karbon atomu $\delta_C = 76.4$ (C-8') ppm'de gözlenmiştir. Bulgular, literatürler ile desteklenerek maddenin rosmarinik asit (**OM4**) olduğu bulunmuştur³⁵⁷⁻³⁶⁰.

OM5 bileşiği, İTK analizlerinde, UV₂₅₄ nm'de koyu renkli ve UV₃₆₆ nm'de renksiz, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe renk vermiştir. EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) solvan sisteminde, R_f değeri 0.32 olarak bulunmuştur.

¹H-NMR spektrumu incelendiğinde, δ_H = 6.73 (1H, d, J = 1.8 Hz) ppm, δ_H = 6.65 (1H, d, J = 8.1 Hz) ppm ve δ_H = 6.59 (1H, dd, J = 2.2 Hz, J = 8.1 Hz) ppm'de gözlenen sinyaller, aromatik halkanın protonlarıdır. Bu sinyaller, molekülde bulunan 3,4-disübstitüe benzen yapısını desteklemektedir. δ_H = 4.08 (1H, dd, J = 3.5, J = 8.3 Hz) ppm'de gözlenen sinyal metin protonunun varlığına işaret etmektedir. δ_H = 2.96 (1H, dd, J = 3.5, J = 14.1 Hz) ppm ve δ_H = 2.65 (1H, dd, J = 8.1, J = 13.9 Hz) ppm'de görülen sinyaller metilen protonlarının varlığı göstermektedir.

¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, δ_C = 179.2 ppm'de karbonil karbonu, δ_C = 144.6 ve 143.4 ppm'de gözlenen sinyaller sübstitüe aromatik halkanın karakteristik sinyalleri olarak değerlendirilmiştir. δ_C = 120.8 ppm'de, δ_C = 116.6 ppm'de ve δ_C = 114.9 ppm'de gözlenen sinyaller üç adet protonlanmış karbonu işaret etmektedir. δ_C = 73.4 ppm'de gözlenen sinyal metin karbonuna, δ_C = 40.6 ppm'de gözlenen sinyal metilen karbonuna atfedilebilir.

Bu spektral değerler literatürlerdeki 3-(3,4-dihidroksifenil)-2-hidroksipropionik asit için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{361,362}.

550 g *O. minutiflorum* bitkisi kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavoporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 40.2 g kloroform, 7.8 g etil asetat ve 32 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır. Ön temizleme ve ayırım işlemleri için çeşitli kromatografik yöntemler [açık kolon kromatografisi (silika jel, sefadeks ve ters faz silika jel)] kullanılmıştır. Yapılan çalışmada 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol (**OMF1**), 1 fenolik bileşik [Rosmarinik asit (**OMF2**)], 2 flavonoit [Apigenin (**OMF3**), Visenin-2 (**OMF4**)] izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapısı [¹H-NMR, ¹³C-NMR ve 2D-NMR (COSY, HETCOR) spektroskopisi] kullanılarak aydınlatılmıştır.

OMF3 bileşiğinin İTK analizinde gün ışığında sarı olan renk, amonyak buharına tutulduğunda koyulaşmakta ve koyu sarı renge dönüşmektedir. Reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, vanilin/H₂SO₄ reaktifi

püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini gösterir. EtOAc:MeOH:H₂O (7:2:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.85 olarak bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında $\delta_H = 7.86-7.84$ (2H, quasi d, AA'XX' sisteminin AA' kısmı, $J = 9.0$ Hz) ppm şeklinde görülen sinyaller sırasıyla B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, $6.94-6.91$ (2H, quasi d, AA'XX' sisteminin XX' kısmı, $J = 9.0$ Hz) ppm şeklinde görülen sinyaller sırasıyla B halkasının C-3' ve C-5' protonlarına, $\delta_H = 6.59$ (1H, s), 6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) ve $\delta_H = 6.20$ (1H, d, $J = 2.0$ Hz) ppm'de görülen sinyaller de sırasıyla, A halkasının C-3, C-8 ve C-6 protonlarına ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_H = 6.59$ ppm'de singlet olarak görülen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder.

¹³C-NMR spektrumunda 13 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_C = 128.3$ 'de görülen sinyalin C-2' ve C-6' karbonlarına, $\delta_C = 115.8$ 'de görülen sinyalin C-3' ve C-5' karbonlarına ait olduğuna literatür değerleriyle karşılaştırılarak karar verilmiştir.

Bu spektral değerler literatürlerdeki apigenin için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{363,364}.

OMF4 bileşiğinin İTK analizinde gün ışığında sarı olan renk, amonyak buharına tutulduğunda koyulaşmakta ve koyu sarı renge dönüşmektedir. Reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de sönük zon şeklinde, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürttükten sonra 110 °C'de ısıtılınca sarı olması maddenin flavonoit olabileceğini gösterir. Etil asetat:Asetik asit:Formik asit:Su (100:11:11:27) solvan sisteminde R_f değeri 0.27'dir.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumuna bakıldığında $\delta_H = 8.00$ (2H, d, $J = 8.4$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, 6.88 (2H, d, $J = 8.1$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-3' ve C-5' protonlarına ve $\delta_H = 6.78$ (1H, s) ppm'de görülen sinyal ise A halkasının C-3 protonuna ait olduğu tespit edilmiştir. $\delta_H = 6.78$ ppm'de singlet olarak görülen bu sinyal molekülümüzün flavon olduğuna işaret eder. $\delta_H = 4.78$ ve 4.74 ppm'de görülen sinyaller glukoz moleküllerinin anomerik protonlarına aittir. Anomerik protonların dublete yarıldığı ve etkileşme sabitlerinin $J = 9.9$ Hz olduğu görülmüştür, buradan da glukozların β konfigürasyonda olduğuna karar verilmiştir.

¹³C-NMR spektrumunda 25 karbon sinyali görülmektedir. $\delta_C = 129.7$ ve $\delta_C = 116.5$ ppm'de görülen sinyallerin sırasıyla, C-2' ve C-6' ile C-3' ve C-5' konumlarına ait olduğunu literatürler değerleri de desteklemektedir. $\delta_C = 60.4-82.5$ ppm'ler arasında görülen sinyaller 2 adet glukoz molekülüne aittir. $\delta_C = 74.0$ ve 74.8 ppm'de görülen sinyallerin anomerik karbon atomuna ait olduğu literatür bilgileri ile karşılaştırılarak

karar verilmiştir.

Glukoz sinyalleri dışında kalan sinyaller yapının bir flavon yapısında madde olan apigenine benzediği görülmektedir. Ancak H-6 ve H-8'e ait proton sinyallerinin ^1H -NMR spektrumunda görülememesi glukoz moleküllerinin C-6 ve C-8 numaralı karbonlardan bağlandığını desteklemektedir.

Bu spektral değerler literatürlerdeki visenin-2 için kayıtlı değerlere uygunluk göstermektedir^{365,366}.

400 g *O. rotundifolium* bitkisi kurutulup toz edildikten sonra, mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 2'şer saat 3 kez 2000'er ml metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra 300 ml su:metanol (9:1) karışımında çözülerek, sırasıyla kloroform (3x300) ve etil asetat (3x300) ile ayırma hunisinde tüketilmiş ve rotavoporda yoğunlaştırılmıştır. Ekstraksiyon sonucunda 18.3 g kloroform, 4 g etil asetat ve 31 g su ekstresi elde edilmiştir. Böylece metanol ekstresi izolasyon çalışmalarına başlanmak üzere fraksiyonlarına ayrılmıştır. Ön temizleme ve ayırım işlemleri için çeşitli kromatografik yöntemler [açık kolon kromatografisi (silika jel, sefadeks ve ters faz silika jel)] kullanılmıştır. Yapılan çalışmada 1 düz zincirli doymuş yağ alkolü olan 1-tetradekanol (**OR1**), 2 fenolik asit [Rosmarinik asit (**OR2**) ve Litospermik asit (**OR3**)] izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapısı ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve 2D-NMR (COSY, HETCOR) spektroskopisi kullanılarak aydınlatılmıştır.

OR3 bileşiği, İTK'da reaktif kullanılmadan UV_{254} nm'de sönük zon şeklinde, UV_{366} nm'de mavi, vanilin/ H_2SO_4 reaktif püskürttükten sonra 110 °C'de birkaç dakika içinde koyu pembe renk vermiştir. Su: Metanol (1:1) solvan sisteminde R_f değeri 0.63 olarak bulunmuştur.

^1H -NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 7.95$ (1H, d, $J = 16.0$ Hz) ve 6.24 (1H, d, $J = 16.0$ Hz) ppm'de görülen kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir. $\delta_{\text{H}} = 7.10$ (1H, d, $J = 8.4$), $\delta_{\text{H}} = 6.85$ (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.75 - 6.71 (3H, m), 6.63 (1H, AB sisteminin A kısmı, d, $J = 8.0$ Hz) ve 6.57 (1H, AB sisteminin B kısmı, bd, $J = 8.0$ Hz) ppm'de görülen kimyasal kaymalar aromatik protonların bulunduğunu göstermektedir. $\delta_{\text{H}} = 5.87$ (1H, d, $J = 6.2$ Hz) ve $\delta_{\text{H}} = 5.11$ (1H, dd, $J = 6.2$ Hz) ise metin protonlarının varlığına işaret etmektedir.

3.07 (1H, AB sisteminin A kısmı, bd, $J = 13.0$ Hz) ve 2.94 (1H, AB sisteminin B kısmı, dd, $J = 13.0$ Hz ve $J = 9.0$ Hz) ppm'de görülen sinyaller metilen protonlarına işaret etmektedir.

^{13}C -NMR spektrumunda bileşiğin 27 karbon taşıdığı görülmektedir. ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde $\delta_{\text{C}} = 178.7$, 176.1 ve 167.8 ppm'de karbonil karbonlarına

özgü rezonans göstermektedir. δ_C = 147.5, 145.3, 144.7, 143.5 ve 142.7 ppm'de görülen kimyasal kaymalar, oksijen atomuna komşu karbonlara işaret etmektedir. δ_C = 133.2, 129.7, 129.0 ve 123.6 ppm'de görülen rezonansların kuarternar karbon atomlarına ait olduğu HETCOR spektrumunda gözlenmektedir.

δ_C = 120.6, 119.9, 117.5, 116.6, 116.5, 116.0, 115.1, 115.0 ve 112.8 ppm'de gözlenen kimyasal kaymaların aromatik yapıda yer alan –CH (metin) karbonlarına ait olduğu HETCOR spektrumunda gözlenmektedir. δ_C = 89.1, 75.9 ve 59.6 ppm'de görülen sinyaller aromatik yapıda olmayan –CH karbon atomlarına ait olduğunu HETCOR spektrumu açıklamaktadır. δ_C = 37.3 ppm'de bulunan kimyasal kayma –CH₂ (metilen) karbonuna ait olduğu HETCOR spektrumundan gözlenmektedir.

¹H-NMR ve ¹³C-NMR değerleri literatürde litospermik asit için verilen değerlerle uyum göstermektedir^{367,368}.

Çalışmamızın biyolojik aktivite kısmında, *O. micranthum*, *O. minutiflorum*, *O. rotundifolium* metanol ekstraktları, apigenin, rosmarinik asit ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit'in nöroprotektif etkilerinin korteks hücre kültürleri üzerinde incelenmiştir.

O. micranthum, *O. rotundifolium*, *O. minutiflorum* metanol ekstraktları, apigenin, rosmarinik asit ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit, DMSO'da çözülerek, 5, 10, 25, 50, 100 μ g/ml konsantrasyonlarda, 1 gün arayla 2 kez uygulanmıştır. MTT testi uygulanmış ve her bir numunenin absorbansı 570 nm'de microplate okuyucu kullanılarak ölçülmüştür. Deney sonunda One Way Anova istatistik testi ile değerlendirilmiştir.

O. micranthum metanol ekstresinin 25, 50, 100 μ g/ml dozları, apigenin'in 25 μ g/ml'lik dozu, rosmarinik asitin 50 μ g/ml'lik dozu anlamlı derecede aktif bulunmuştur. *O. rotundifolium* metanol ekstresi, *O. minutiflorum* metanol ekstresi ve 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit'in hiçbir dozu anlamlı bir etki göstermemiştir.

O. micranthum metanol ekstresinin 5 ve 10 μ g/ml dozları anlamsızken, 25, 50, 100 μ g/ml dozlarda anlamlı etki göstermiştir. *O. micranthum* bitkisinde yüksek miktarda bulunan 4(3,4-dihidroksibenzoiloksimetil)fenil- β -D-glukopiranozit'in hiçbir dozu anlamlı bir etki göstermemiştir. Bu sonuca göre *O. micranthum*'un nöroprotektif etkisinin bu bileşikten kaynaklanmadığı, içindeki farklı bir etken maddeden kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Yine aynı bitkiden elde edilmiş olan rosmarinik asitin 50 μ g/ml'lik dozu anlamlı derecede etkili bulunmuştur, bu sonuç *O. micranthum* metanol

ekstresinin nöroprotektif etkisinin, rosmarinik asitten veya içerdği başka bir bileşikten kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

O. rotundifolium ve *O. minutiflorum* metanol ekstrelerinin uygulanan hiçbir dozu anlamlı etki göstermemiştir. İzolasyon çalışmaları sonucunda her iki bitkiden de rosmarinik asit elde edilmiştir. Eğer *O. micranthum* metanol ekstresinin nöroprotektif etkisi içerdği rosmarinik asitten kaynaklansaydı, o zaman *O. rotundifolium* ve *O. minutiflorum* metanol ekstrelerinin de aynı etkiyi göstermesi beklenirdi. Bu sonuç rosmarinik asitin sadece saf haldeyken mi nöroprotektif etkisinin olduğunu veya *O. rotundifolium* ve *O. minutiflorum* metanol ekstreleri rosmarinik asit içerdğine göre, bu ekstrelerin daha yüksek dozları anlamlı etki gösterebilir mi sorularını akla getirmektedir. Aynı şekilde *O. minutiflorum* metanol ekstresi etkisizken, ondan izole edilmiş apigeninin 25 µg/ml'lık dozu anlamlıdır.

Apigeninin 5 ve 10 µg/ml dozları etkisizken, 25 µg/ml dozda anlamlı etkiye sahip olduğu görülmüştür. 50 ve 100 µg/ml dozda etki anlamlı bulunmamıştır. Rosmarinik asit yalnızca 50 µg/ml dozda etkili bulunmuştur. Bu sonuçlardan yararlanarak her iki maddenin de nöroprotektif etki sağlaması için artan doza değil, uygun doza ihtiyaç duyulduğu söylenebilir.

Daha önceden yapılmış çalışmalar incelendiğinde danshensu ve rosmarinik asidin nöroprotektif etkileri bulunduğu bildirilmektedir^{369,370}. İncelenen türler içinde en etkili olanının *O. micranthum* metanol ekstresi olduğu gözlenmiştir. Bu etkinin rosmarinik asit ile birlikte, danshensudan da kaynaklanabileceği düşünülebilir. İzole edilen miktarın yeterli olmaması nedeniyle, danshensu korteks hücre kültüründe incelenememiştir. Ancak, daha ileride yapılacak çalışmalarda bu bileşiğin de incelenmesi planlanmaktadır.

Sonuç olarak tüm bu veriler, apigenin, rosmarinik asit ve özellikle *O. micranthum'un* korteks hücre kültüründe nöroprotektif etkili olduğunu, Alzheimer, Parkinson, Huntington, Friedrich Ataksisi, Epilepsi, Amyotrofik Lateral Skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklardan korunmada, uygun dozda kullanıldığında etkili olabileceğini göstermiştir.

Saflaştırma çalışmaları sırasında, üç türün de kloroform ekstresinden elde edilen 1-tetradekanol (miristil alkol) kozmetikte kremlerin hazırlanmasında hammadde olarak kullanılmaktadır. Oldukça yüksek miktarlarda bulunduğunu gözlediğimiz 1-tetradekanolün elde edilmesinde, bu üç türden yararlanılabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. Sanal Matbaacılık. İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, 1984: 282-283.
2. Evans WC. Trease And Evans’ Pharmacognosy, 13th ed. Oxford, The Alden Press, 1989: 217.
3. Baser KHC. The Turkish *Origanum* Species. In: Kintzios SE. Oregano; The Genera *Origanum* And *Lippia*. London and New York: Taylor & Francis, 1978: 109-126.
4. Baser KHC. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. Curr Pharm Design 2008; 14: 3106-3119.
5. Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 1998: 343.
6. Kurul S, Gulmez O. Nöroproteksiyon ve nöron koruyucu ajanlar. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak Derg 2007; 21: 119-130.
7. Davis PH. Flora Of Turkey And The East Aegean Islands. Edinburgh, UK: Edinburg University Press 1982; 7: 349-382.
8. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J Agr Food Chem 2001; 49: 5165-5170.
9. Palamino OM, Gomez SP, Carretero E, Cases A. Variation in the flavonoid content of *Origanum x majoricum* in different plant stages by HPLC. Planta Med 1997; 63: 584.
10. Rimkiene V, Penkauskiene E, Baranauskaite D, Vereskovkis V. Study of polyphenols of common *Origanum inflorescences*. Liet. TSR Aukst. Mokyklu Mokslo Darb. Med. 1981; 21: 79-83. Ref. CA: 97: 3588m, 1982.
11. Harvala C, Skaltsa H. Chemical study on *Origanum dictamnus* L. Planta Med Phytother 1986; 20: 300-304.
12. Kouri G, Tsimogiannis D, Bardouski H, Oreopoulou V. Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. Innov Food Sci Emerg 2007; 8: 155-162.
13. Chatzopoulou A, Karioti A, Gousiadou C, Lax Vivancos V, Kyriazopoulos P, Golegou S, Skaltsa H. Depsides and other polar constituents from *Origanum dictamnus* L. and their antimicrobial activity in clinical strains. J Agr Food Chem 2010; 58: 6064-6068.
14. Hirobe C, Qiao ZS, Takeya K, Itokewa H. Cytotoxic principles from *Majorana syriaca*. Nat Med 1998; 5: 74-77.

15. Bocchini P, Russo M, Galetti GC. Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass spectrometry used as a microanalytical technique for the characterization of *Origanum herecleoticum* from Calabria, Southern Italy. *Rapid Commun Mass Sp* 1998; 12: 1555-1563.
16. Kim HY, Kim K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. *J Agr Food Chem* 2003; 51: 1586-1591.
17. Kosar M, Dorman HJD, Bachmayer O, Baser KHC, Hiltunen R. An improved on-line HPLC-DPPH method for the screening of free radical scavenging compounds in water extracts of Lamiaceae plants. *Chem Nat Compd* 2003; 39: 161-166.
18. Olechnowicz-Stepien W, Lamer-Zarawska E. Study of the flavonoid fraction of some plants of the Labiatae family. *Herba Pol* 1975; 21: 347-356.
19. Peshkova VA, Mirovich VM. *Origanum vulgare* flavonoids. *Khim Prir Soedin* 1984; 4: 522.
20. Kulevanova S, Slelova M, Stefkov G, Stafilov T. Identification, isolation and determination of flavones in *Origanum vulgare* from Mecodonian flora. *J Liq Chromatogr R T* 2001; 24: 589-600.
21. Antonescu V, Sommer L, Predescu I, Barza P. Physicochemical study of flavonoids from *Origanum vulgare*. *Farmacia* 1982; 30: 201-208.
22. Hawas UW, El-Desoky SK, Kawashty SA, Sharaf M. Two new flavonoids from *Origanum vulgare*. *Nat Prod Res* 2008; 22: 1540-1543.
23. Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR. Simonic M, Knez Z. Phenols, proanthocyanidins, flavons and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem* 2005; 89: 191-198.
24. El-Desouky SK, Ibrahim LF, Kawashty SA, El-Ansari MA, Kim YS, Chong HS, Kim OK, Kim YK. Phytochemical constituents and biological activities of *Origanum syriacum*. *J Chem Sci* 2009; 64: 447-451.
25. Sellami IH, Maamouri E, Chahed I, Wannes WA, Kchouk ME, Marzouk B. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram. *Ind Crop Prod* 2009; 30: 395-402.
26. Yadav SB, Tripathi V. Flavonoids from *Origanum majorana*. *Indian Drugs* 2000; 37: 508.
27. Ozkan G, Sagdic O, Ekici L, Ozturk I, Ozcan MM. Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract and its antioxidant and antibacterial activities. *J Food Lipids* 2007; 14: 157-169.

28. Kaukaulitsa C, Karioti A, Bergonz MC, Pescitelli G, Di Bari L, Skaltsa H. Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* growing wild in Greece. J Agr Food Chem 2006; 54: 5388-5392.
29. Skaltsa H, Harvala C. Chemical study of *Origanum dictamnus* L. Part 2. Leaf glucosides. Planta Med Phytother 1987; 21: 56-62.
30. Souleles C. Flavonoids of *Origanum dubium*. Planta Med Phytother 1990; 24: 175-178.
31. Lin YL, Wang CN, Shiao YJ, Liu TY, Wang WY. Benzolignanoid and polyphenols from *Origanum vulgare*. J Chin Chem Soc 2003; 50: 1079-1083.
32. Kawabata J, Mizuhata K, Sato E, Nishioka T, Aoyama Y, Kasai T. 6 hidroksiflavonoids as α -glucosidase inhibitors from marjoram leaves. Biosci Biotech Bioch 2003; 67: 445-447.
33. Radusiene J, Ivanauskas L, Janulis V, Jakstas V. Composition and variability of phenolic compounds in *Origanum vulgare* from Lithuania. Biologia 2008; 54: 45-49.
34. Askun T, Tumen G, Satil F, Ates M. In vitro activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. Food Chem 2009; 116: 289-294.
35. Zeytinoglu M, Aydın S, Ozturk Y, Baser KHC. Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. Acta Pharma Turcica 1998; 2: 93-98.
36. Grevsen K, Frette XC, Christensen LP. Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano at different development stages during cultivation in cool temperature climate. Eur J Hortic Sci 2009; 74: 193-203.
37. Bosabalidis A, Gabrieli C, Niopas I. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. Phytochemistry 1998; 6: 1549-1553.
38. Sezen E (2006), *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Letswaart Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi (Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
39. Ozkan G, Baydar H, Erbas S. The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano. J Sci Food Agr 2010; 90: 205-209.
40. Tang Z, Zeng Y, Zhou Y, He P, Fang Y, Zang S. Determination of active ingredients of *Origanum vulgare* L. and its medicinal preparations by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Anal Lett 2006; 39: 2861-2875.

41. Bellakhdar J, Passannanti S, Paternostro MP, Pinozzi F. Constituents of *Origanum compactum*. *Planta Med* 1988; 54: 94. Ref. CA: 109: 35255h, 1988.
42. El-Desoky SK, Sharaf M. A new prenylated biflavone from *Origanum syriacum*. *Rev Lat Am Quim* 2004; 32: 21-24.
43. Gerothanassis IP, Exachou V, Lagouri V, Troganis A, Tsimidou M, Boskou D. Methodology for identification of phenolic acid in complex phenolic mixtures by high-resolution two-dimensional nuclear magnetic resonance. Application to methanolic extracts of two Oregano species. *J Agr Food Chem* 1998; 46: 4185-4192.
44. Mirovich VM, Peshkova VA, Shatokhina RK. Phenolic acids of *Origanum vulgare*. *Khim Priir Soedin* 1989; 6: 850.
45. Lamaison JL, Petitjean-Freytet C, Duke JA, Walker J. Hydroxycinnamic derivate levels and antioxidant activity in North American Lamiaceae. *Plant Med Phytother* 1993; 2: 143-148.
46. Pizzale L, Bortolomeazzi R, Vichi S, Uberagger E, Conte LS. Antioksidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. intercedens*) extracts related to their phenolic compound content. *J Sci Food Agric* 2002; 82: 1645-1651.
47. Triantaphyllou K, Blekas G, Boskou D. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *Int J Food Sci Nutr*. 2001; 52: 313-317. Ref. CA: 136: 84942w, 2002.
48. Ziakova A, Brandsteterova E. Validation of HPLC determination of phenolic acids present in some Lamiaceae family plants. *J Liq Chromatog R T* 2003; 26: 443-453.
49. Fujie A, Yoshida K, Oba K. Antioxidative phenolic acids from oregano leaves. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 2003; 50: 404-410.
50. Lattanzio V, Cardinali A, Ruta C, Fortunato IM, Lattanzio VMT, Linsalata V, Cicco N. Relationship of secondary metabolism to growth in oregano shoot cultures under nutritional stres. *Environ Exp Bot* 2009; 65: 54-62.
51. Koukoultsa C, Hadjipavlou-Litina D, Geromichalos GD, Skaltsa H. Inhibitory effect on Soybean lipoxygenase and docking studies metabolites, isolated from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*. *J Enzym Inhib Med Ch* 2007; 22: 99-104.
52. Pedersen JA. Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectoscopy. *Biochem Syst Ecol* 2000; 28: 229-253.

53. Grayer RJ, Eckert MR, Veitch NC, Kite GC, Marin PD, Kokubun T, Simmonds MSJ, Paton AJ. The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry* 2003; 64: 519-528.
54. Sun L, Liu H, Fan W, Xu H, Liu Y. Chemical constituents of *Origanum vulgare*. *Zhongcaoyao* 2007; 38: 1782-1785.
55. Tsimogiannis D, Stavrakaki M, Oreopoulou V. Isolation and characterization of antioxidant components from oregano. *Inter J Food Sci Tech* 2006; 41: 39-48.
56. Ronaldo AE, Gonzalez MD. Chemical study of a water extract of Argentina commercial *Origanum*. *Journal of the Argentine Chemical Society* 2005; 93: 225-231.
57. Charai M, Faid M, Chaouch A. Essential oils from aromatic plants as natural antioxidants for olive oil. *J Essent Oil Res* 1999; 11: 517-521.
58. Chung YK, Heo HJ, Kim EK, Kim HK, Huh TL, Lim Y, Kim SK, Shin DH. Inhibitory effect of ursolic acid purified from *Origanum majorana* L. on the acetylcholinesterase. *Mol Cells* 2001; 11: 137-143.
59. Brioskam CH, Briner M, Schlumprecht L, Eberhardt KH. Determination of ursolic acid and etheral oils in Labiatae of pharmaceutical and nutrional importance. *Arch Pharm* 1952; 285-290.
60. Mahmood I, Mohammad FV, Firdous S, Ahmad VU. Pentacyclic triterpenoids from the aerial parts of *Origanum syriacum*. *Nat Prod Commun* 2007; 2: 1075-1078.
61. Sokmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, Akpulat HA, Sahin F, Sokmen A. In vitro antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agr Food Chem* 2004; 52: 3309-3312.
62. Goze I, Alim A, Cetinus SA, Cetin A, Durmus N, Atas AT, Vural N. In vitro antimicrobial, antioxidant and antispasmodic activities and the composition of the essential oil of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) letswaart. *J Med Food* 2010; 13: 705-709.
63. Figueredo G, Chalchat JC. Studies of mediterranean oregano populations IX: chemical composition of essential oil of seven species of Oregano of various origins. *J Essent Oil Res* 2006; 18: 411-415.
64. Cosge B, Turker A, Ipek A, Gurbuz B, Arslan N. Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of *Origanum acutidens*, an endemic species to Turkey. *Molecules* 2009; 14: 1702-1712.
65. Baser KHC, Duman H. Composition of the essential oils of the *Origanum boissieri* letswaart and *Origanum bargyli* Mouterde. *J Essent Oil Res* 1998; 10: 71-72.

66. Karaman S, Ilcim A, Digrak M. Antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum bargyli* Mouterde from Turkey. J Essent Oil Res 2004; 16: 517-519.
67. Perez-Galindo P, Martinez-Raya A, Francia JR, Jimenez J, Navarro C. *Origanum bastetanum* Soc. cultivated specimens: Characterization of its essential oil. J Essent Oil Res 2005; 17: 651-655.
68. Baser KHC, Tumen G, Duman H. Essential oil of *Origanum bilgeri* P.H. Davis. J Essent Oil Res 1996; 8: 217-218.
69. Demetzos C, Perdetzoglou DK, Tan K. Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss, and *Origanum scabrum* Boiss. from Greece. J Essent Oil Res 2001; 13: 460-462.
70. Skoula M, Gotsiou P, Naxakis N, Johnson CB. A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). Phytochemistry 1999; 52: 649-657.
71. Van den Broucke CO, Lemli JA. Chemical investigation of the essential oil of *Origanum compactum*. Planta Medica. 1980; 38: 264-266. Ref. CA: 92: 211852s, 1980.
72. Van den Broucke CO, Lemli JA. Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 2. antagonistic effect of thymol and carvacrol. Planta Medica. 1982; 45: 188-190. Ref. CA: 97: 156433g, 1982.
73. Rhayour K, Bouchikhi TE, Abdelrhafour SK, Remmal A. The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. J Essent Oil Res 2003; 15: 286-292.
74. Figueredo G, Cabassu P, Chalchat JC. Studies of mediterranean Oregano populations VII: Chemical composition of essential oils of carvacrol-rich Oregano of various origins. J Essent Oil Res 2006; 18: 244-249.
75. Valentini G, Arnold N, Bellomaria B, Arnold HJ. Study of the anatomy and of the essential oil of *Origanum cordifolium*, an endemic of Cyprus. J Ethnopharmacol 1991; 35: 115-122. Ref. CA: 116: 91216c, 1992.
76. Dudai N, Larkov O, Chamovitsh D, Levinsohn E, Freiman L, Ravid U. Essential oil compounds of *Origanum dayi* Post. Flavour Frag J 2003; 18: 334-337.
77. Figueredo G, Chalcat JC, Pasquier B. Studies of mediterranean Oregano populations. III: Chemical composition of essential oils of *Origanum dayi* Post from Israel. J Essent Oil Res 2006; 18: 250-252.
78. Economakis C, Demetzos C, Anastassaki T, Thalia A, Papazoglou V, Gazouli M, Laukis A, Thanos CA, Harvala C. Volatile constituents of bracts and leaves of wild and

- cultivated *Origanum dictamnus*. *Planta Medica* 1999; 65: 189-191. Ref. CA: 130: 242205r, 1999.
79. Komaitis ME, Revinthi-Moraiti K, Evangelatos G. The lipid composition of fresh *Origanum dictamnus* leaves. *Food Chem* 1988; 27: 25-32. Ref. CA: 108: 149132a, 1988.
80. Economakis C, Skaltsa H, Demetzos C, Sokovic M, Thanos CA. Effect of phosphorus concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves and bracts of *Origanum dictamnus*. *J Agr Food Chem* 2002; 50: 6276-6280.
81. Economakis C, Karioti A, Skaltsa H, Peretzoglou D, Demetzos C. Effect of solution conductivity on the volatile constituents of *Origanum dictamnus* L. in nutrient film culture *J Agr Food Chem* 2005; 53: 1656-1660.
82. Liolios CC, Gortzi O, Lalas Z, Tsaknis J, Chinou I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. And in vivo antimicrobial activity. *Food Chem* 2009; 112: 77-83.
83. Karioti A, Vrahimi- Hadjilouca T, Droushiotis D, Rancic A, Hadijipavlou-Litina D, Skaltsa H. Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Med* 2006; 72: 1330-1334.
84. Loizzo MR, Menichini F, Conforti F, Tundis R, Bonesi M, Soab AM, Statti GA, De Cindio B, Houghton PJ, Menichini F, Frega NG. Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem* 2009; 117: 174-180.
85. Velasco-Negueruela A, Perez-Alonso MJ, Burzaco A. Natural flavors of plant origin: essential oils from *Thymus raietorum* and *Origanum elongatum*. *An Bromotol* 1991; 43: 395-400. Ref. CA: 117: 211050p, 1992.
86. Figueredo G, Cabassu P, Chalchat JC, Pasquier B. Studies of mediterranean Oregano populations VI: Chemical composition of essential oils of *Origanum elongatum* Emberger at maire from Morocco. *J Essent Oil Res* 2006; 18: 278-280.
87. Houmani Z, Azzoudj S, Naxakis G, Skaula M. The essential oil composition of Algerian zaatar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2002; 45: 275-280.
88. Hazzit M, Baaliouamer A. Composition of the essential oils of the leaves and flowers of *Thymus palleseus* de Noe and *Origanum floribundum* Munby from Algeria. *J Essent Oil Res* 2009; 21: 267-270.

89. Ruberto G, Barata MT, Sari M, Kaabeche M. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour Frag J 2002; 17: 251-254.
90. Belhattab R, Larous L, Figueiredo AC, Santos PAG, Barroso JG, Pedro LG. *Origanum glandulosum* Desf. grown wild in Algaria: essential oil composition and glycosidic bound volatiles. Flavour Frag J 2005; 20: 209-212.
91. Berrehal D, Boudiar T, Hichem L, Khalfallah A, Kabouche A, Al-Freihat A, Ghannadi A, Sajjadi E, Mehrabani M, Safai-Ghomi J, Kabouche Z. Comparative composition of four essential oils of Oregano used in Algerian and Jordanian folk medicine. Nat Prod Commun 2010; 5: 957-960
92. Naima S, Fatiha B, Chahrazed B. Analytic study of the essential oil of *Origanum glandulosum* from Algeria. J Essent Oil Bear PI 2007; 10: 145-150.
93. Bendahou M, Musselli A, Grignan-Dubois M, Benyoucef M, Desrabert J, Bernardini A, Costa J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. Food Chem 2008; 106: 132-139.
94. Mechergui K, Coelho JAP, Serra MC, Ben LS, Bouckhchina S, Khouja ML. Determination of phenolic compounds and chemical composition of essential oils of *Origanum glandulosum* Desf. of Tunisia. Journal of Medicinal Plants and Natural Products 2009; 1: 14-20.
95. Khalfi Q, Sahraoui N, Bentahar F, Boutekedjiret C. Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulasum* essential oil from Algeria. J Sci Food Agr 2008; 88: 1562-1566.
96. Sari M, Biondi DM, Kaabeche M, Mandalari G, D'arrigo M, Bisignano G, Saija A, Daquino C, Ruberto G. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essetial oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour Frag J 2006; 21: 890-898.
97. Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid DE. Composition and antimicrobial activity of the essential oils contained in Algerian *Origanum glandulosum*. Phytotherapy 2008; 6: 153-159.
98. Staikov V, Zolotovitch G, Kalaidziev I. Culture of *Origanum heracleoticum* in Bulgaria essential oil. Rastenievud. Nauki 1968; 5: 39-47. Ref. CA: 69: 80100v, 1968.
99. Kruma Z, Kreicbergs V, Adams A. Volatile compounds in oils aromatized with spices grown in Latvia. Chemine Technologija 2006; 4: 74-79.

100. Mazulin GV. Investigation of composition of essential oils from thymol containing species of genera *Origanum* L. Farmatsevtichli Zuhurnal 2003; 2: 84-88.
101. Zheng ZL, Tan JYW, Liu HY, Zhou XH, Xiang X, Wang KY. Evaluation of oregano essential oil on growth antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. Aquaculture 2009; 292: 214-218.
102. Staikov V, Zolotovitch G, Kalaidzhiev I. *Origanum heracleoticum*. Soap Perfüm Cosmet 1968; 41: 327-330. Ref. CA: 69: 38699x, 1968.
103. Pavlovic S, Sevarda AL, Kuznjecova GA, Zivanovic P, Jancic R, Vujcic S. Morphological variability, anatomy and etheric oil of the plant species *Origanum heracleoticum* L. (Lamiaceae). Acta Biologica et Medica 1987; 12: 31-37. Ref. CA: 108: 91688t, 1988.
104. Lawrence BM, Terhune SJ, Hogg JW. Essential oils and their constituents of *Origanum heracleoticum*. Phytochemistry 1974; 13: 1012-1013. Ref. CA: 81: 47433f, 1974.
105. Baser KHC, Kurkcuoglu M, Tuman G. Composition of the essential oil of *Origanum haussknechtii* Boiss. J Essent Oil Res 1998; 10: 227-228. Ref. CA: 123: 306256b, 1998.
106. Figueiredo G, Chalchat JC, Pasquier B. Studies of mediterranean oregano populations IV- Chemical composition of essential oils of hybrids *Origanum x majoricum* cambessedes from France, *Origanum x intercedens* rechinger and *Origanum x minoanum* Davis from Turkey and Crete. J Essent Oil Res 2005; 17: 296-300.
107. Tucker AO, Maciarelo, Michael J. The essential oil of *Origanum laevigatum* Boiss. J Essent Oil Res. 1992; 4: 419-420. Ref. CA: 118: 143492c, 1993.
108. Baser KHC, Ermin N, Ozek T, Demircakmak B, Tumen G, Duman H. Essential oils of *Thymbra sintenisii* Bornm. et Aznav. subsp. *isaurica* P.H. Davis and *Origanum leptocladum* Boiss. J Essent Oil Res 1996; 8: 675-676. Ref. CA: 126: 72589s, 1997.
109. Arnold N, Bellomaria B, Valentini G. Composition of the essential oil of three different species of *Origanum* in the eastern Mediterranean. J Essent Oil Res 2000; 12: 192-196. Ref. CA: 132: 325808g, 2000.
110. Hilan C, Sfeir R, Jawish D, Aitour S. Essential oil of some Lebanese medicinal plant of Lamiaceae family. Lebanase Science Journal 2006; 7: 13-22.
111. Schmidt E, Bail S, Buschbauer G, Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Jirovetz L. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of the essential oil of *Origanum majorana* L. from Albania. Nat Prod Commun 2008; 3: 1051-1056.

112. Jirovetz L, Bail S, Buschbauer G, Denkova Z, Slavchev A, Stoyanova A, Schmidt E. Chemical composition, antimicrobial activities and olfactory evaluations of an essential marjoram oil from Albania as well as some target compounds. *Ernaehrung* 2008; 32: 97-210.
113. El-Nakeb MA, Fathy SMF, Salama OMA. GC/MS analysis, biostatic activities and biocidal dynamics of the essential oil of *Origanum majorana* cultivated in Egypt. *J Pharm Sci* 2006; 20: 150- 156.
114. Baranauskiene R, Veskutonis PR, Demyttenaere JCR. Sensory and instrumental evaluation of sweet marjoram. *Flavour Frag J* 2005; 20: 492-500.
115. Vera RR, Chane MJ. Chemical composition of the essential oil of marjoram from Revnion Island. *Food Chem* 1999; 66: 143-145. Ref. CA:131: 115554z, 1999.
116. Novak J, Pank F, Langbehn J, Bluthner VD, Vender C, Niekerk L, Jughans W, Franz C. Determination of growing location of marjoram samples by comparison of essential oil profiles. *Flavour Frag J* 2004; 19: 263-267.
117. Novak J, Lukas B, Franz CM. The essential oil composition of wild growing sweet marjoram from Cyprus-three chemotypes. *J Essent Oil Res* 2008; 20: 339-341.
118. Baatour O, Kaddour R, Aidi WW, Lachaal M, Marzouk B. Salt effects on the growth, mineral nutrition, essential oil yield and composition of marjoram. *Acta Physiol Plant* 2010; 32: 45-51.
119. Baser KHC, Kirimer N, Tumen G. Composition of the essential oil of *Origanum majorana* L. from Turkey. *J Essent Oil Res* 1993; 5: 577-579.
120. Brieskom CH, Brunner H. Terpenoids of various *Origanum* oils. *Planta Med* 1967; 96-101.
121. Baser KHC, Ozek T, Kurkcuglu M, Tumen G. Essential oil of *Origanum micranthum* Vogel. *J Essent Oil Res* 1996; 8: 203-204. Ref. CA: 124: 337877b, 1996.
122. Gogus F, Ozel MZ, Lewis AC. Superheated water extraction of essential oil of *Origanum micranthum*. *J Chromatogr Sci* 2005; 43: 87-91.
123. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. *J Agr Food Chem* 2001; 49: 4168-4170.
124. Gotsiou P, Naxakis G, Skaula M. Diversity in the composition of monoterpenoids of *Origanum microphyllum* (Labiatae). *Biochem Syst Ecol* 2002; 30: 865-879.
125. Sarer E, Pancali S, Yildiz S. Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O.Schwarz et P.H. Davis. *Ankara Üniversitesi Derg* 1996; 25: 29-38. Ref. CA: 126: 334185e, 1997.

126. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control 2004; 15: 169-172.
127. Vardar-Unlu G, Unlu M, Donmez E, Vural N. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis. J Food Agric 2007; 87: 255-259.
128. Ozkum D, Kurkcuoglu M, Baser KHC, Tipirdimaz R. Essential oils from wild and micropropagated plants of *Origanum minutiflorum* O. Schwarz et Davis. J Essent Oil Res 2010; 22: 135-137.
129. Baydar H, Altindal D, Karadogan T. Effects of volatile oils on sprout growth in potato. Suleyman Demirel Universitesi Fen Bilimleri Enstitusu Dergisi 2009; 13: 137-141.
130. Aslim B, Yucel N. In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* ssp. Food Chem 2008; 107: 602-606.
131. Ruberta G, Biondi D, Meli R, Plattelli M. Volatile flavor components of Sicilian *Origanum onites* L. Flavour Frag J 1993; 8: 197-200. Ref. CA: 120: 190038k, 1994.
132. Ozel MZ, Kaymaz H. Superheated water extraction steam distillation and soxhlet extractions of essential oils of *Origanum onites*. Anal Bioanal Chem 2004; 379: 1127-1133.
133. Kokkini S, Karousou R, Hanlidou E, Lanaras T. Essential oil composition of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* and *Origanum onites*: A tool for their distinction. J Essent Oil Res 2004; 16: 334-338.
134. Demirci F, Paper DH, Franz G, Baser KHC. Investigation of the *Origanum onites* L. essential oil using the chorioallantoic membrane assay. J Agr Food Chem 2004; 52: 251-254.
135. Cetin H, Erler F, Yanikoglu A. A comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. Pest Manag Sci 2007; 63: 830-833.
136. Kizil S, Ipek A, Arslan N, Khawar KM. Effect of developing stages on some agronomical characteristics and essential oil composition of oregano. New Zeal J Crop Hort 2008; 36: 71-76.
137. Copur G, Arslan M, Duru M, Baylan M, Canogullari S, Aksan E. Use of oregano essential oil as hatching egg disinfectant. Afr J Biotechnol 2010; 9: 2531-2538.

138. Toncer O, Karaman S, Kizil S, Diraz E. Changes in essential oil composition of oregano due to diurnal variations at different development stages. Not Bot Horti Agrobi 2009; 37: 177-181.
139. Korukluoglu M, Gurbuz O, Sahan Y, Yigit A, Kacar O, Rouseff R. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum onites* L. essential oils and extracts. J Food Safety 2009; 29: 144-161.
140. Aridogan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Ozbasar D, Mumcu E. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Arch Pharm Res 2002; 25: 860-864.
141. Sokovic M, Tzakou O, Pitarokili D, Couladis M. Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. Nahrung 2002; 46: 317-320.
142. Ayvaz A, Sagdic O, Karaborklu S, Ozturk I. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored product insects. J Insect Sci 2010; 10: 21.
143. Yaldiz G, Sekeroglu N, Ozguven M, Kirpik M. Seasonal and diurnal variability of essential oil and its components in *Origanum onites* L. grown in the ecological conditions of Cukurova. Grasas Aceitas 2005; 56: 254-258.
144. Baser KHC, Ozek T, Tumen G. Essential oil of *Origanum rotundifolium* Boiss. Journal of Essential Oil Research. 1995; 7: 95-96. Ref. CA: 122: 235231c, 1995.
145. Tumen G, Baser KHC, Kirimer N, Ozek T. Essential oil of *Origanum saccatum* P. H. Davis. J Essent Oil Res 1995; 7: 175-176. Ref. CA: 123: 5556d, 1995.
146. Ozcan MM, Chalchat JC. Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum saccatum* L. J Food Safety 2009; 29: 617-628.
147. Tumen G, Ermin N, Ozek T, Baser KHC. Essential oil of *Origanum solymicum* P. H. Davis. J Essent Oil Res 1994; 6: 503-504. Ref. CA: 122: 76548t, 1995.
148. Galambosi B, Hethelyi EB, Szoke E. Crop yield and essential oil content of the syrian marjoram, Za'atar in South Finland. Kozmetika 2009; 58: 21-26.
149. Al-Kalaldeh JZ, Abu-Dahab R, Afifi FU. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. Nutr Res 2010; 30: 271-278.
150. Lukas B, Schmiderer C, Franz C, Novak J. Composition of essential oil compounds from different Syrian populations of *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae). J Agr Food Chem 2009; 57: 1362-1365.

151. Dudai N, Putyevaky E, Ravid U, Palevitch D, Halevy AH. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as affected by environmental conditions and flowering. *Physiol Plantarum* 1992; 84: 453-459. Ref. CA: 116: 252159d, 1992.
152. Toncer O, Karaman S, Diraz E. An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. *J Med Plants Res* 2010; 4: 1059-1064.
153. Tumen G, Baser KHC, The essential oil of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart. *J Essential Oil Res.* 1993; 5: 315-316. Ref. CA: 119: 91297s, 1993.
154. Tepe B, Daferera D, Sökmen M, Polissiou M, Sökmen A. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L. var. *bevanii*. *J Sci Food Agr* 2004; 80: 1389-1396.
155. Baser KHC, Kurkcuoğlu M, Demirci B, Ozek T. The essential oil of *Origanum syriacum* L. var. *sinacum* (Boiss) Ietswaart. *Flavour Frag J* 2003; 18: 98-99.
156. Baser KHC, Demircakmak B, Nuriddinov KR, Nigmatullaev AM, Aripov KN. Composition of the essential oil of *Origanum tyttanthum* Gontsch. from Uzbekistan. *J Essent Oil Res* 1987; 9: 611-612. Ref. CA: 127: 305369h, 1997.
157. Dzumayev KK, Tkachenka KG, Zenkevich IG, Tsibulskaya IA. Essential oil of *Origanum tyttanthum* Gontsch. produced from plants grown in southern Uzbekistan. *J Essent Oil Res* 1999; 11: 593-598. Ref. CA: 132: 212482c, 2000.
158. Zenkevich IG, Kosman VM, Tkachenko KG. Some features of quantitative HPLC analysis of components of essential oils. *Rastit Resur* 1999; 35: 128-137. Ref. CA: 132: 127442v, 2000.
159. Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene AB. Chemical composition of essential oils of *Origanum vulgare* L. growing in Lithuania. *Biologija* 2004; 4: 44-49.
160. Mockute D, Judzentiene A, Bernotiene G. Volatile constituents of cultivated *Origanum vulgare* L. inflorescences and leaves. *Chemica* 2004; 15: 33-37.
161. Fang Y, Liu Y, Determination of p-cymene in essential oil of *Origanum vulgare* by HPLC. *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi* 2006; 26: 428-430.
162. Pu H, Wang Y, Zhang J, Wang Y, Wang G, Lin Z. Analysis of composition of *Origanum vulgare* L. volatile oil with GC-MS method. *Ziran Kexueban* 2007; 21: 115-118.
163. Crocoll C, Asbach J, Novak J, Gershenzan J, Degenhardt J. Terpene synthases of *Oregano* and their roles in the partway and regulation of terpene biosynthesis. *Plant Mol Biol* 2010; 73: 587-603.

164. Hu H, Zheng S, Song Z, Huang B, Shen X. GC-MS-DC analysis of the chemical components of *Origanum vulgare* L. extracted by petroleum ether. *Ziran Kexueban* 2004; 40: 43-45.
165. Radusiene J, Judzintiene A, Peculyte D, Janulis V. Chemical composition of essential oil and antimicrobial activity of *Origanum vulgare*. *Biologia* 2005; 4: 53-58.
166. Tian H, Li P, Lai D. Analysis on the volatile oil in *Origanum vulgare*. *Zhongyaocai* 2006; 29: 920-921.
167. Cleff MB, Meinerz ARM, Schuch LFD, Rodrigues MRA, Meireles MCA, Mello JRB. In vitro activity of the essential oil of *Origanum vulgare* against *Sporothrix schenckii*. *Arq Bras Med Vet Zoo* 2008; 60: 513-516.
168. Hu H, Zheng X, Hu H, Zhang Y. Studies on chemical constituent of volatile oil from leaves and stems of *Origanum vulgare* L. *Ziran Kexueban* 2005; 25: 269-272.
169. Prieto JM, Iacopini P, Cioni P, Chericoni S. In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chem* 2007; 104: 889-895.
170. Faleiro L, Miguel G, Gomes S, Costa L, Venancio F, Teixeira A, Figueiredo AC, Barosso JG, Pedro LG. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. and *Origanum vulgare* L. *J Agr Food Chem* 2005; 53: 8162-8168.
171. D' Auria M, Giacomo M, Rosanna R, Racioppi R. Composition of volatile fractions from *Thymus*, *Origanum*, *Lavandula* and *Acinos* species. *J Essent Oil Bear PI* 2005; 8: 36-51.
172. Mirovich VM, Konenkina TA, Fedoseeva GM, Golovnykh NN. Research of qualitative structure of essential oil *Origanum vulgare* L. growing in East Siberia. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya* 2008; 2: 61-64.
173. Lukas B, Schmiderer C, Mitterregger U, Franz C, Novak J. Essential oil compounds of *Origanum vulgare* L. from Corsica. *Nat Prod Commun* 2008; 3: 1127-1131.
174. Stoilova I, Bail S, Buchbauer G, Krastanov A, Stoyanova A, Schmidt E, Jirovetz L. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of an essential oil of *Origanum vulgare* L. from Bosnia. *Nat Prod Commun* 2008; 3: 1043-1046.
175. Saeedi M, Morteza-Semnani K. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Origanum vulgare* L. *International Journal of Biology and Biotechnology* 2007; 4: 259-265.

176. Kumar N, Shukla R, Yadav A, Bagchi GD. Essential oil constituents of *Origanum vulgare* collected from a high altitude of Himachal Pradesh. Indian Perfumer 2007; 51: 31-33.
177. Carneiro de Barros J, Lucia da Conceicao M, Gomes Neto NJ, Vieira de Costa AC, Siqueira JP, Basilio ID, Leite de Souza E. Interference of *Origanum vulgare* L. essential oil on the grown and some physiological characteristic of *Staphylococcus auerus* strains isolated from foods. Food Sci Technol 2009; 42: 1139-1143.
178. Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibanez E, Senorans FJ, Reglero G. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: Determination of optimal extraction parameters. J Food Protect 2006; 69: 369-375.
179. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez JA. Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region. Acta Chim Slov 2007; 54: 921-926.
180. Hoefrl M, Buchbauer G, Jirovetz L, Schmidt E, Stoyanova A, Denkava Z, Slavchev A, Geissler M. Correlation of antimicrobial activities of various essential oils and their main aromatic volatile constituents. J Essent Oil Res 2009; 21: 459-463.
181. Ocana-Fuentes A, Arranz-Gutierrez E, Senorans FJ, Reglero G. Supercritical fluid extraction of oregano essentials oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. Food Chem Toxicol 2010; 48: 1568-1575.
182. Zhang Z, Zhao Y, Yang X, Lu Y. Analysis of components in fatty acid and volatile oil from *Origanum vulgare* L. by GC/MS. Yiyao Daobao 2009; 28: 549-552.
183. Mechergui K, Coelho JA, Serra MC, Lamine SB, Boukhchina S, Khauja ML. Essential oil of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* letswaart from Tunisia: Chemical composition and antioxidant activity. J Sci Food Agr 2010; 90: 1745-1749.
184. Chalchat JC, Pasquier B. Chemical studies of *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (Koch) letswaart and *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* letswaart. J Essent Oil Res 1999; 11: 143-144. Ref. CA: 132: 291016e, 2000.
185. Sezik E, Tumen G, Kirimer N, Ozek T, Baser KHC. Essential oil composition of *O. vulgare* subsp. of Anatolian Origin. J Essent Oil Res 1993; 5: 425-431.
186. Tommasi L, Negro C, Miceli A, Mazzotta F. Antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants grown in the Mediterranean area. J Essent Oil Res 2009; 21: 185-189.
187. Milos M, Mastelic J, Jerkovic I. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano. Food Chem 2000; 71: 79-83.

188. Karpouhtsis I, Pardali E, Feggou E, Kokkini S, Scouras ZG, Mavragani-Tsipidou P. Insecticidal and Genotoxic Activities of Oregano Essential Oils. *J Agr Food Chem* 1998; 46: 1111-1115.
189. Veres K, Varga E, Schelz Z, Molnar J, Bernath J, Mathe I. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of four lines of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* letswaart grown in Hungary. *Nat Prod Commun* 2007; 2: 1155-1158.
190. De Martino L, De Feo V, Formisano C, Mignola E, Senatore F. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* letswaart growing wild in Campania. *Molecules* 2009; 14: 2735-2746.
191. Baser KHC, Ozek T, Kurkcuoglu M, Tumen G. The essential oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish origin. *J Essent Oil Res* 1994; 6: 31-36. Ref. CA: 121: 104050z, 1994.
192. Konakchiev A, Genova E, Couladis M. Chemical composition of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letswaart in Bulgaria. *Dokl Bolg Akad Nauk* 2004; 57: 49-52.
193. Jerkovic I, Mastelic J, Milos M. The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* grown wild in Croatia. *Int J Food Sci Tech* 2001; 36: 649-654.
194. Price SE, Musrush GW. Analysis of the mass spectral fragmentation patterns of essential oil components from oregano. *Journal of Undergraduate Chemistry Research* 2003; 2: 79-82.
195. Alves P, Isabel MS, Fernandes FM. Essential oils and hydrocarbons from leaves and calli of *Origanum vulgare* subsp. *virens*. *Phytochemistry* 1998; 48: 795-799. Ref. CA: 129: 166056e, 1998.
196. Gaspar F, Leeke G. Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (Hoffm. Et Link) letswaart: content, composition and distribution within the bracts. *J Essent Oil Res* 2004; 16: 82-84.
197. Baocy Y, Saadia Z, Ozcan MM. Aroma profile of *Origanum vulgare* L. subsp. *viride* Hayek, *Satureja hortensis* L. and *Thymbra sintonisii* Bornm. & Aznav. subsp. *isaurica* P.H. Davis used as condiment and herbal tea in Turkey. *J Essent Oil Bear Pl* 2005; 8: 304-311.
198. Sahin F, Gulluce M, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M, Agar G, Ozer H. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Origanum*

vulgare ssp. *vulgare* in Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control 2004; 15: 549-557.

199. Radusiene J, Peculyte D, Janulis V. Variability and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oils. Acta Horti 2006; 723: 393-398.

200. Radusiene J, Stankeviciene D, Venskutonis R. Morphological and chemical variation of *Origanum vulgare* L. from Lithuania. Acta Horti 2005; 675: 197-203.

201. Baser KHC, Duman H, Aytac Z. Composition of the essential oil of *Origanum x adanense* Baser et Duman. J Essent Oil Res 2000; 12: 475-477.

202. Tabanca N, Demirci F, Ozek T, Tumen G, Baser KHC. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum x dolichosiphon* P.H. Davis. Chem Nat Compd 2001; 37: 238-241.

203. Kamel MS, Assaf MH, Hasanean HA, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K. Monoterpen glucosides from *Origanum syriacum*. Phytochemistry 2001; 58: 1149-1152.

204. Assaf MH, Ali AA, Makboul MA, Beck JP, Anton R. Preliminary study of phenolic glycosides from *Origanum majorana*; quantitative estimation of arbutin; cytotoxic activity of hydroquinone. Planta Med 1987; 53: 343-345.

205. Kurbanov MK. Chemical characteristics of *Origanum tyttanthum* Gontsch. Dokl Akad Nauk Tadzh 1985; 28: 105-107. Ref. CA: 103:157413e, 1985.

206. Asibekova DT, Glushenkova AI, Azcan N, Ozek T, Baser KHC. Lipids of *Origanum tyttanthum*. Chem Nat Compd 2000; 36: 124-127.

207. Azcan N, Kara M, Asilbekova DT, Ozek T, Baser KHC. Lipid and essential oil of *Origanum onites*. Chem Nat Compd 2000; 36: 132-136.

208. Dadalioglu I, Evrendilek GA. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano, Bay Laurel, Spanish Lavender and Fennel on common food borne pathogens. J Agr Food Chem 2004; 52: 8255-8260.

209. Oke F, Aslim B. Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis. Food Chem Toxicol 2010; 48: 1728-1733.

210. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Sci 2006; 73: 236-244.

211. Mayaud L, Carricajo A, Zhiri A, Aubert G. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Lett Appl Microbiol 2008; 47: 167-173.

212. Sarac N, Ugur A, Duru ME, Varol O. Antimicrobial activity, antioxidant activity and chemical composition of *Origanum onites* L. and *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letswaart from Mugla (Turkey). *Acta Hort* 2009; 826: 397-403.
213. Askun T, Tumen G, Satil F, Ates M. Characterization of the phenolic composition and antimicrobial activities of Turkish medicinal plants. *Pharm Biol* 2009; 47: 563-571.
214. Sarac N, Ugur A. Antimicrobial activities of the essential oils of *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L. subspecies *hirtum* (Link) letswaart, *Satureja thymbra* L., and *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal. Growing Wild in Turkey. *J Med Food* 2008; 11: 568-573.
215. Mahady GB, Pendland SL, Stoia A, Hamill FA, Fabricant D, Dietz BM, Chadwick LR. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytother Res* 2005; 19: 988-991.
- 216- Sahraoui N, Helal A, Boutekedjiret C, Bentahar F, Bessiere JM. Antimicrobial activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 2007; 1: 83-90.
217. Chun SS, Vatter DA, Lin YT, Shetty K. Phenolic antioxidants from clonal oregano with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochem* 2005; 40, 809-816.
218. Penalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, Romero R, Perea A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS* 2005; 113: 1-6.
219. Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G. Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils. *J Agr Food Chem* 2006; 54: 1822-1828.
220. Castilho PC, Weinhold TS, Gouveia SC, Savluchinske-Feio S, Pereira PT, Rodrigues AI, Venancio F. Chemical composition and bioactivity of essential oils and extracts from oregano from Madeira Island, Portugal. *Acta Hort* 2009; 826: 213-219.
221. Nedorostova L, Kloucek P, Kokoska L, Stolcova M, Pulkrabek J. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control* 2008; 20: 157-160.
222. Pereira AA, Cardoso MG, Ronaldo de Abreu L, Ramalho de Moraes A, Guimaraes LGL, Salgado APSP. Chemical characterization and inhibitory effect of essential oils on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Cienc Agrotec* 2008; 32: 887-893.

223. Kaloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martino M, Abou L, Vergnes MF. Study of six essential oils: chemical composition and antibacterial activity. *Phytother* 2008; 6: 160-164.
224. Saeed S, Tariq P. Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare* Linn.) against gram positive bacteria. *Pakistan J Pharm Sci* 2009; 22: 421-424.
225. Leite de Souza E, Carneiro de Barros J, Vasconcelos de Oliveira CEV, Lucia da Conceicao M. Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol* 2010; 137: 308-311.
226. Karryev MO. Pruduction of medicinal preparations from some species of essential-oil-bearing plants of the Turkmenian flora. *Postep Dziedzinie Leku Rosl.* 1970, 149-152. Ref. CA: 78: 140368m, 1973.
227. Liao F, Yang Z, Huang Q, Xu H, Xu K. In vitro antibacterial effects of thymol and carvacrol on dysentery bacteria and common bacteria causing enteritis. *Yiyao Daobao* 2005; 24: 868-870.
228. Machado M, Dinis AM, Salgueiro L, Cavaleiro C, Custodio JBA, Sousa M. Anti-Giardia activity of phenolic-rich essential oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*, and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence, and ultrastructure. *Parasitol Res* 2010; 106: 1205-1215.
229. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J Agr Food Chem* 2000; 48: 2576-2581.
230. Leeja L, Thoppil JE. Antimicrobial activity of methanol extract of *Origanum majorana* L. *J Environ Biol* 2007; 28: 145-146.
231. Soyulu S, Yigitbas H, Soyulu EM, Kurt S. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *J Appl Microbiol* 2007; 103: 1021-1030.
232. Kassaify Z, Gerges DD, Jaber LS, Hamadeh SK, Saliba NA, Talhouk SN, Barbour EK. Bioactivity of *Origanum syriacum* essential oil against *Candida albicans*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2008; 14: 185-199.
233. Jirovetz L, Wlcek K, Buchbauer G, Gochev V, Girova T, Stoyanova A, Schmidt E. Antifungal activity of various Lamiaceae essential oils rich in thymol and carvacrol against clinical isolates of pathogenic *Candida* species. *International Journal of Essential Oil Therapeutic* 2007; 1: 153-157.

234. Sauza EL, Stamford TLM, Lima EO Triyano VN. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeast. Food Control 2006; 18: 409-413.
235. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcioni L, Cioni PL, Morelli I. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. Mycopathologia 2005; 159: 339-345.
236. Rosato A, Vitali C, Piarulli M, Mazzotta M, Argentieri MP, Mallamaci R. In vitro synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some *Candida* species. Phytomedicine 2009; 16: 972-975.
237. Askun T, Tumen G, Satil F, Kilic T. Effects of some Lamiaceae species methanol extracts on potential mycotoxin producer fungi. Pharm Biol 2008; 46: 688-694.
238. Lagouri V, Nisteropoulou E. Antioxidant properties of *O. onites*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* species grown in Greece and their total phenol and rosmarinic acid content. J Food Lipids 2009; 16: 484-498.
239. Dorman HJD, Bachmayer O, Kosar M, Hiltunen R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. J Agr Food Chem 2004; 52: 762-770.
240. Yoshino K, Higashi N, Koga K. Antioksidant and Antiinflammatory activites of oregano extract. J Health Sci 2006; 52: 169-173.
241. Matsuura H, Chiji H, Asakawa C, Amano M, Yoshihara T, Mizutani J. DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano. Biosci Biotechn Bioch 2003; 67: 2311-2316.
242. Cervato G, Carabelli M, Gervasio S, Cittera A, Cazzola R, Cestaro B. Antioxidant properties of oregano leaf extracts. J Food Biochem 2000; 24: 453-465.
243. Srihari T, Sengottuvelan M, Nalini N. Dose-dependent effect of oregano on lipid peroxidation and antioxidant status in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. J Pharm Pharmacol 2008; 60: 787-794.
244. Kulisic T, Dragovic UV, Milos M. Antioxidant activity of aqueous tea infusion prepared from oregano, thyme and wild thyme. Food Technol Biotech 2006; 44: 485-492.
245. Lopez V, Akerreta S, Casanova E, Garcia-Mina JM, Caverro RY, Calvo MI. In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts. Plant Food Hum Nutr 2007; 62: 151-155.

246. Raudonis R, Jakstas V, Burdulis D, Benetis R, Janulis V. Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method. *Medicina* 2009; 45: 382-394.
247. Marcincak S, Popelka P, Soltysova L. Polyphenols and antioxidative capacity of extracts from selected Slovakian plant. *Med Vet* 2008; 7: 9-14.
248. Srihari T, Selvam JP, Aranganathan S, Ramakrishna DS, Nalini N. Escalation of circulatory antioxidants by oregano (*Origanum vulgare* L.) during 1,2-dimethylhydrazine induced experimental colon carcinogenesis. *Journal of Cell and Tissue Research* 2008; 8: 1405-1410.
249. Ding HY, Chou TH, Liang CH. Antioxidant and antimelanogenic properties of rosmarinic acid methyl ester from *Origanum vulgare*. *Food Chem* 2010; 123: 254-262.
250. Viuda-Martos M, Navajas YR, Zapata ES, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez JA. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Frag J* 2010; 25: 13-19.
251. Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, Ferreira I. Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: Vitamins and phenolics. *Food Sci Technol* 2010; 43: 544-550.
252. El-Ashmawy IM, Saleh A, Salama OM. Effects of marjoram volatile oil and grape seed extract on ethanol toxicity in male rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2007; 101: 320-327.
253. Heo HJ, Cho HY, Hong B, Kim HK, Heo TR, Kim EK, Kim SK, Kim CJ, Shin DH. Ursolic acid of *Origanum majorana* L. reduces A β induced oxidative injury. *Mol Cells* 2002; 13, 5-11.
254. Abdel-Massih RM, Fares R, Bazzi S, El-Chami N. The apoptotic and anti-proliferative activity of *Origanum majorana* extracts on human leukemic cell line. *Baydoun Leukemia Research* 2010; 34: 1052-1056.
255. Muchuweti M, Kativu E, Mupure CH, Chidewe C, Ndhala AR, Benhura MAN. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology* 2007; 2: 414-420.
256. Aristatile B, Al-Numair KS, Veeramani C, Pugalendi KV. Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *Fund Clin Pharmacol* 2009; 23: 757-765.
257. Motamed SM, Naghibi F. Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chem* 2009; 119: 1637-1642.

258. Tognolini M, Barocelli E, Ballabeni V, Bruni R, Bianchi A, Chiavarini M, Impicciatore M. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sci* 2006; 78: 1419-1432.
259. Yazdanparast R, Shahriyari L. Comparative effects of *Artemisia dracunculoides*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion. *Vasc Pharmacol* 2008; 48: 32-37.
260. Karkabounas S, Kostoula OK, Daskalou T, Veltsistas P, Karamouzis M, Zelovitis I, Metsios A, Lekkas P, Evangelou AM, Kotsis N, Skoufos I. Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol. *Exp Oncol* 2006; 28: 121-125.
261. Santoro GF, das Gracas CM, Guimaraes LGL, Salgado APSP, Menna-Barreto RFS, Soares MJ. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res* 2007; 100: 783-790.
262. Jang YS, Yang YC, Choi DS, Ahn YJ. Vapor phase toxicity of marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J Agr Food Chem* 2005; 53: 7892-7898.
263. Pavela R. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 2005; 76: 691-696.
264. Pavela R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia* 2004; 75: 745-749.
265. Ayvaz A, Karaborklu S, Sagdic O. Fumigant toxicity of five essential oils against the eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller and *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Asian J Chem* 2009; 21: 596-604.
266. Cetin H, Yanikoglu A. A study of the larvicidal activity of *Origanum* species from southwest Turkey. *J Vector Ecol* 2006; 31: 118-122.
267. Cetin H, Erler F, Yanikoglu A. Toxicity of essential oils extracted from *Origanum onites* L. and *Citrus aurantium* L. against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Toms. *Folia Biol* 2006; 54: 153-157.
268. Coskun S, Giriskin O, Kurkcuoglu M, Malyer H, Giriskin AO, Kirimer N, Baser KHC. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus*. *Parasitol Res* 2008; 103: 259-261.
269. Sertkaya E, Kaya K, Soyulu S. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisdu.) (Acarina: Tetranychidae). *Ind Crop Prod* 2009; 31: 107-112.

270. Cetin H, Cilek JE, Aydin L, Yanikoglu A. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol 2009; 160: 359-361.
271. Yildirim E, Kesdek M, Aslan I, Calmasur O, Sahin F. The effects of essential oils from eight plant species on two pests of stored product insects. Fresen Environ Bull 2005; 14: 23-27.
272. Caglar O, Calmasur O, Aslan I, Kaya O. Insecticidal effect of essential oil of *Origanum acutidens* against several stored product pests. Fresen Environ Bull 2007; 16: 1395-1400.
273. Kanazawa K, Kawasaki H, Samejima K, Ashida H, Danno GI. Specific desmutagens in oregano against a dietary carcinogen, Trp-P-2, are galangin and quercetin. J Agr Food Chem 1995; 43: 404-409.
274. Chinou I, Liolios C, Moreau D, Roussakis C. Cytotoxic activity of *Origanum dictamnus*. Fitoterapia 2007; 78: 342-344.
275. Savini I, Arnone R, Catani MV, Avigliano L. *Origanum vulgare* induces apoptosis in human colon cancer Caco2 Cells. Nutr Cancer 2009; 61: 381-389.
276. Chaouki W, Leger DY, Eljastimi J, Beneytout JL, Hmamouchi M. Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *Origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. Pharm Biol 2010; 48: 269-274.
277. Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. J Ethnopharmacol 2005; 97: 145-149.
278. Orhan I, Kartal M, Kan Y, Sener B. Activity of essential oils and individual components against acetyl- and butyrylcholinesterase. J Biosciences 2008; 63: 547-553.
279. Koukoulitsa C, Zika C, Geromichalos GD, Demopoulos VJ, Skaltsa H. Evaluation of aldose reductase inhibition and docking studies of some secondary metabolites, isolated from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*. Bioorg Med Chem 2006; 14: 1653-1659.
280. Lemhadri A, Zeggwagh NA, Maghrani M, Jouad H, Eddouks M. Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilatet region. J Ethnopharmacol 2004; 92: 251-256.
281. Korik EO, Naumova MV, Naidun SN, Reshetnikov VN, Yurin VM, Semak IV. Reduction of ligand binding potential of cholestasis-related transport systems by extracts from seeds of *Silybum marianum*, *Aconogon weyrichii*, *Lophanthus virescens*, and *Origanum vulgare*. Khimiya, Biologiya, Geografiya 2004; 1: 26-31.

282. Aristatile B, Al-Numair KS, Veeramani C, Pugalendi KV. Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine-induced hepatotoxic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 2009; 20: 15-27.
283. Canbek M, Uyanoglu M, Bayramoglu G, Senturk H, Erkasap N, Koken T, Uslu S, Demirustu C, Aral E, Baser KHC. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. *Phytomedicine* 2008; 15: 447-452.
284. Uyanoglu M, Canbek M, Aral E, Baser KHC. Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Phytomedicine* 2008; 15: 226-229.
285. Al-Howiriny T, Alsheikh A, Alqasoumi S, Al-Yahya M, El Tahir K, Rafatullah S. Protective effect of *Origanum majorana* L. 'Marjoram' on various models of gastric mucosal injury in rats. *Am J Chinese Med* 2009; 37: 531-545.
286. Dundar E, Olgun EG, Isiksoy S, Kurkcuglu M, Baser KHC, Bal C. The effects of intra-rectal and intra-peritoneal application of *Origanum onites* L. essential oil on 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat. *Exp Toxicol Pathol* 2008; 59: 399-408.
287. Liang CH, Chou TH, Ding HY. Inhibition of melanogenesis by a novel origanoside from *Origanum vulgare*. *J Dermatol Sci* 2010; 57: 170-177.
288. Ozdemir B, Ekbul A, Topal NB, Sarandol E, Sag S, Baser KHC, Cordan J, Gullulu S, Tuncel E, Baran I, Aydinlar A. Effects of *Origanum onites* on endothelial function and serum biochemical markers in hyperlipidemic patients. *J Int Med Res* 2008; 36: 1326-1334.
289. Aydin S, Seker E. Effect of an aqueous distillate of *Origanum onites* L. on isolated rat fundus, duodenum and ileum: evidence for the role of oxygenated monoterpenes. *Pharmazie* 2005; 60: 147-150.
- 290- Tkachenko KG, Kazarinova NV, Muzychenko LM, Shurgaya AM, Pavlova OV, Safonova NG. Antibiotic properties of essential oils of some plants. *Rastit Resur* 1999; 35: 11-24. Ref. CA: 133: 63573z, 2000.
- 291- Coknaz H, Ozturk H, Ozgen U, Bugdayci G, Sezen Karaoglan E, Fırat T. Die feststellung der rosmarinic säuren wirkung durch kreatin kinase bei muscelschäden an ratten die bei akutem training vorkommen. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2011; 62: 190.
- 292- Coknaz H, Ozturk H, Ozgen U, Bugdayci G, Sezen Karaoglan E, Imamoglu O. Die feststellung der lithospermic säuren wirkung durch kreatin kinase bei muscelschäden an ratten die wegen akutes training vorkommen. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2011; 62: 262.

293. Nurmi A, Nurmi T, Mursu J, Hiltunen R, Voutilainen S. Ingestion of oregano extract increases excretion of urinary phenolic metabolites in humans. J Agr Food Chem 2006; 54: 6916-6923.
294. Nurmi A, Mursu J, Nurmi T, Nyyssönen K, Alfthan G, Hiltunen R, Kaikkonen J, Salonen JT, Voutilainen S. Consumption of juice fortified with oregano extract markedly increases excretion of phenolic acids but lacks short- and long-term effects on lipid peroxidation in healthy nonsmoking men. J Agr Food Chem 2006; 54: 5790-5796.
295. El-Ashmawy IM, Saleh A, Salama OM. Acute and long-term safety evaluation of *Origanum majorana* essential oil. J Pharm Sci 2007; 21: 29-35.
296. Rao G, Mukhopadhyay T, Radhakrishnan N (2010), Improved cosmetic skin lightening composition. IN 2007CH01727. Indian Pat. Appl.
297. Yamagishi T, Funaki M, Matsuura H, Ishihara T, Kanazawa T, Miyazaki H (2006), Dihydroxybenzoate derivatives from *Origanum vulgare* extracts α -glucosidase, Hypoglycemics and health foods. JP 2006008555. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.
298. Cunha WR, Lucarini R, Silvino MJ, Silva MLAE, Silva FAA, Celotto AC, Martins CHG (2009). Rosmarinic acid from *Origanum vulgare* for treatment of diabetes. WO 2009155676. PCT Int. Appl.
299. Chen Y, Cui X, Cui T (2008). Bioactive food containing jade with effect in reducing blood sugar, blood pressure and blood lipid. CN 101248871. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
300. Kokubo T, Nakanishi K, Yoshida A (2010), Dipeptidylpeptidase IV inhibitors containing plant extracts, and production thereof. JP 2010006748. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.
301. Ahn YJ, Kim EH, Kim HG, Kim SI, Lee EH, Lii GS (2003), Plant oils and compounds having insecticidal properties. KR2003033722. Repub. Korean Kongkae Taeho kongbo.
302. Shen T, Tian Y, Zheng S, Yang Z, Li Z (2010). Method for manufacturing natural plant composition for preventing and treating plant diseases and insect pests. CN 101731288 Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
303. Maftai EA, Lonescu E, Sauciuo A, Visian T (2006), Anti-cellulite and adipose tissue-reducing cosmetic composition. RO121004. Rom.
304. Yang Y (2005), Edible antiviral, bactericidal, purifying and cleaning liquor. CN1631236. Faming Zhuanli shenqing Gongkai shuomingshu.

305. LKS, Jeong IH, Kim SI, Ahn YJ, Kim HC (2005), Anti-bacterial and anti-fungal composition containing environment-friendly essential oils that does not induce side effects. KR 2005071981. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
306. Yang Y (2005), Antiviral, antifungal and antibacterial washing liquid. CN 168735. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
307. Gao J, Mou S, Lei J, Xu X, Li B, Sun Y (2010), Method for manufacturing nutritious tea of traditional chinese medicine. CN 101703125. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
308. Wille, JJ (2008). Antibacterial botanical extract for skin care. US 20080003190. U.S. Pat. Appl. Publ.
309. Craig AHL, Galley E, Long SP, Pykett MA (2001), Hair care compositions containing free radical scavengers. WO2001006997. PCT int. Appl.
310. Pykett MA, Craig AH, Galley E, Smith C (2001), Skin care composition against free radicals. WO 2001017495. PCT int. Appl.
311. Kim HY, Ju YJ, Cho JH, Kim JH, Jung IU (2007), Cosmetic composition containing traditional chinese medicine extracts for removing free radicals and alleviating skin stimulation. KR 2007095657. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
312. Peng T (2007), Method for manufacturing antioxidant health tea from *Gynostemma pentaphyllum*. CN 1919026. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
313. Gao J, Mou S, Lei J, Xu X, Li B, Sun Y (2010), Method for manufacturing nutritious tea of traditional chinese medicine. CN 101703124. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
314. Ahn YJ, Kim SII, Lee JH, Park HM (2004), Composition of pesticide from plant extracts and compounds to control fowl red mites effectively. KR 2004099574. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
315. Worrell CL, Trivedi HM, Panaligan K, Xu T (2006). Oregano dental care compositions. US 20060140884. U.S. Pat. Appl. Publ.
316. Yang Y (2005), Antiviral/antibacterial cleansing agent. CN 1624099. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
317. Naganami O, Shibata H, Takahashi R, Kimura M (2005), Lipase inhibitors containing specific plants or their extracts, their uses as lipid absorption inhibitors, antiobesity agents, hypolipemics, and antiacne agents, and cosmetics containing them. JP 2005008572. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.

318. Wang Q (2009), Cosmetic cleansing compositions containing extracts of Chinese medicine *Origanum*. CN 101496781. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
319. Castellano FG (2008), Pharmaceutical formulation for therapeutic or cosmetic topical use containing liquid extract from oregano. IT 1348417. Ital.
320. Sun Y (2007), Method for preparing traditional chinese medicine with whitening and speckle-removal effects. CN 101081286. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
321. Colceru MS, Niculescu M, Pintilie G, Rvu LP, Ni S, Seitan G, Mih IV, Dobrovolschi D, Grigor M (2004), Process for preparing a bioactive product meant for treating endometritis in cattle. RO 118996. Rom.
322. D'amelio F, Mirhom Y (2004), Process and composition for inhibiting growth of microorganisms. WO 2004076680. PCT Int. Appl.
323. Yoon GS, Cho JY, Kim UJ, Ju YU, Yoo YU (2008), Method for preparing plant extracts with antimicrobial activities by supercritical fluid extraction. KR 2008020169. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
324. Arollado EC (2007), Erna's oil. PH 1200600130. Philipp. Pat. Appl.
325. Yao L, Wang Y, Wang W, Wu Y, Chen X (2010), Method for constructing flavor-smelling region of fragrant plants for improving respiratory tract disease. CN 101622935. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
326. Wang Y (2009), Traditional chinese medicine decoction for treating acute pharyngitis. CN 101584785. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
327. Cao B, Zhou G, Yu S, Rui G, Wang H (2009), Traditional chinese medicinal composition containing *Alstonia* and *Origanum* and *Verbascum* for treating swine asthma. CN 101433621. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
328. Wei R (2008), Environment-friendly feed additive. CN 101268807. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
329. Alieva A, Kiseleva, T, Nazarenko M, Nazarenko NA (2010) Cryoprotectant medicinal plant mixture for the prevention and treatment of congelation. DE 102008062426. Ger. Offen.
330. Tuoheti T (2010), Traditional chinese medicine composition for steam therapy of phrenopathy and epilepsy. CN 101745050. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
331. Xu G, Dong Y (2008), Chinese medicinal tincture containing manis and Eupolyphage and others for treating hepatitis B. CN 101190324. Faming Zhuanli shenqing Gongkai shuomingshu.

332. Ou B, Ye Z (2006), Chinese medicinal composition with litholytic, anti-inflammatory, analgesic and antibacterial effects, and its preparation method. CN 1714860. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
333. Gordeev MV, Voronkov YP, Ivanov AA, Farkhutdinov RG (2005), A medicinal composition for preventing and treating liver and gallbladder diseases due to chronic poisoning in industry and daily life. RU 2256463. Russ.
334. Chu R (2008), Aromatic essential oil with mind tranquilizing and sleep improving effects. CN101152296. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
335. Chu R (2008), Aromatic essential oil with mind tranquilizing and sleep improving effects. CN10045727. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
336. Yasue M, Nadaoka I (2006), Antidepressant comprising plant or extract thereof such as *Rubus idaeus* L. (RASBERRY) of Rosaceae, *Origanum majorana* of Marjoram or *Embllica officinalis* Gaertn (AMLA) of Euphorbiaceae. JP 2006213608. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.
337. Klyushnik TP, Korneeva RV, Kryuchkova MM, Korneeva EA (2005) A preparation capable of promoting and activating skin cellular respiration. RU 2262919. Russ.
338. Jendrucko ML, Jendrucko PJ (2005), Aromatherapy delivery system for person or an animal's olfactory and respiratory systems. US 20050207982. U.S. Pat. Appl. Publ.
339. Stringer JW, Peter A (2005), Antimicrobial composition containing essential oils. WO 2005087244. PCT Int. Appl.
340. Yamaguchi R (2004), Tyrosinase inhibitors, melanin formation inhibitors, fibroblast-proliferating agents, estrogenic agents, and skin-lightening and antiaging cosmetics. JP 2004083476. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.
341. Suetsugu K, Tsuji K (2008), Acrolein adduct formation inhibitors containing plant extracts and their use for antiaging cosmetics, foods, and beverages. JP 2008024601. Jpn. Kokai Tokkyo Koho.
342. Liu M (2009), Traditional Chinese medicinal composition for treating scapulohumeral periarthritis and the formulation thereof. CN 101461848. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
343. Wang W, Ren X, Qi G, Sheng X, Yao L, Wang Y (2009), Fragrance-smelling region for improving sleeping quality. CN 101438658. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.
344. Yao L, Wang Y, Wang W, Wu Y, Chen X (2009), Method for constructing perfume-enjoying zone with aromatic plants. CN 101379927. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu.

345. Bashir R, Thomas M, Clement K (2010), Pumpkin and rose hips weight loss composition. WO 2010054470. PCT Int. Appl.
346. Yamamoto N, Watanabe I, Suzuki A, Hashizume K (2010), Xanthine oxidase inhibitor and uric acid production inhibitor containing specified plant extract. WO 2010005004. PCT Int. Appl.
347. Yi CG, Kim SI, Lee KS, Jeong IH, Ahn YJ (2006), Compositions for controlling pests in facilities without harmful effects to domestic animals and human comprising plant extracts as effective components. KR 2006100743. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo.
348. Baykal T, Panayir T, Taşdemir D, Sticher O, Calis I. Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. Phytochemistry 1998; 48: 867-873.
349. Miyakoshi M, Isoda S, Sato H, Hirai Y, Shoji J, Ida Y. 3 α -hydroxy-oleanene type triterpene glycosyl esters from leaves of *Acanthopanax spinosus*. Phytochemistry 1997; 46: 1255-1259.
350. Jiang ZH, Zhou RH, Masuda K, Ageta H. A rearranged ursane triterpenoid from *Rhoiptelea chiliantha*. Phytochemistry 1995; 40: 219-224.
351. Lin CN, Chung MI, Gan KH, Chiang JR. Xanthones from formosan Gentianaceous plants. Phytochemistry 1987; 26: 2381-2384.
352. Junges MJ, Fernandes JB, Vieria PC, Fernandes MF, Filho ER, Frühauf M, Baranano AG. Triterpenous ursanicos e oleanicos do caule de Eugenia Florida DC. Revista de Pesquisa E Pos-Graduação 2000; 1: 13-20.
353. Tundis R, Deguin B, Menichini F, Tillequin F. Iridoids from *Putoria calabrica*. Biochem Syst Ecol 2002; 30: 689-691.
354. Maillard M, Adewunmi CO, Hostettmann K. A triterpene glycoside from the fruits of *Tetrapleura tetraptera*. Phytochemistry 1992; 31: 1321-1323.
355. Nakatani N, Kikuzaki H. A New Antioxidative Glucoside Isolated From Origano (*Origanum vulgare* L.). Agric Biol Chem 1987; 51: 2727-2732.
356. Woo ER, Piao MS. Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus*. Arch Pharm Res 2004; 27: 173-176.
357. Dapkevicius A, Van Beek TA, Lelyveld GP, Van Veldhuizen A, Groot AD, Linssen JPH, Venskutonis R. Isolation and structure elucidation of radical scavengers from *Thymus vulgaris* leaves. J Nat Prod 2002; 65: 892-896.
358. Cai XF, Lee IS, Shen G, Dat NT, Lee JJ, Kim YH. Triterpenoids from *Acanthopanax koreanum* root and their inhibitory activities on NFAT transcriton. Arch Pharm Res 2004; 27: 825-828.

359. Chiang YM, Chang JY, Kuo CC, Chang CY, Kuo YH. Cytotoxic triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa*. *Phytochemistry* 2005; 66: 495-501.
360. Junges MJ, Fernandes JB, Vieira PC, Fernandes MDFGS, Filho ER, Frühauf M, Barañano AG. Triterpenos ursânicos e oleanânicos isolados do caule de *Eugenia florida* DC. *Revista de Pesquisa e Pós-Graduação* 2000; 01: 13-30.
361. Dai H, Xiao C, Liu H, Hao F, Tang H. Combined NMR and LC-DAD-MS analysis reveals comprehensive metabonomic variations for three phenotypic cultivars of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *J Proteome Res* 2010; 9: 1565-1578.
362. Kelly CJ, Harruff RC, Carmack M. The polyphenolic acids of *Lithospermum ruderae*. II. carbon-13 nuclear magnetic resonance of lithospermic and rosmarinic acids. *J Org Chem* 1976; 41: 449-455.
363. Wawer I, Zielinska A. ¹³C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magn Reson Chem* 2001; 39: 374-380.
364. Boyong L, Robinson DH, Birt FD. Evaluation of properties of apigenin and [G-³H] apigenin and analytic method development. *J Pharm Sci* 1997; 86 721-725.
365. Xie C, Veitch NC, Houghton PJ, Simmonds MSJ. Flavone C-glycosides from *Viola yedoensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2003; 51: 1204-1207.
366. Hussein SAM, Barakat HH, Nawar MAM, Willuhn G. Flavonoids from *Ephedra aphylla*. *Phytochemistry* 1997; 45: 1529-1532.
367. Kelley CJ, Mahajan JR, Brooks LC, Neubert LA, Breneman WR, Carmack M. Polyphenolics acids of *Lithospermum ruderae* (Boraginaceae). I. isolation and structure determination of lithospermic acid. *J Org Chem* 1975; 40: 1804-1815.
368. Kelley CJ, Harruff RC, Carmack M. Polyphenolics acids of *Lithospermum ruderae* II. carbon-13 nuclear magnetic resonance of lithospermic and rosmarinic acids. *J Org Chem* 1976; 41: 449-455.
369. Zhou Y, Li W, Xu L, Chen L. In *Salvia miltiorrhiza*, phenolic acids possess protective properties against amyloid β -induced cytotoxicity, and tanshinones act as acetylcholinesterase inhibitors. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2011; 31: 443-452.
370. Fallarini S, Miglio G, Paoletti T, Minassi A, Amoruso A, Bardelli C, Brunelleschi S. Clovamide and rosmarinic acid induce neuroprotective effects in *in vitro* models of neuronal death.