



***MARRUBIUM PARVIFLORUM* SUBSP. *OLIGODON* BİTKİSİ ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Şeyma BAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Şeyma BAŞ

09/02/2021

MARRUBIUM PARVIFLORUM SUBSP. OLIGODON BİTKİSİ ÜZERİNDE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR
 (Yüksek Lisans Tezi)

Şeyma BAŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
 SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
 Şubat 2021

ÖZET

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold (Lamiaceae), Türkiye'ye endemik aromatik bir bitki olup, Doğu Anadolu'da “Dağ çayı” yerel ismi ile bilinmektedir ve infüzyonu geleneksel olarak antipiretik etkisi nedeniyle soğuk algınlığına karşı kullanılmaktadır. Bu çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ GC ve GC/MS sistemleri ile analiz edilmiştir. Uçucu yağın % 94,8'ini oluşturan altmış altı bileşen tanımlanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri bisiklogermakren (%21,3), ardından germakren D (%7,2), β -karyofillen (%6,6) ve karyofillen oksit (%5,2) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin uçucu yağının antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik aktivitesi ilk kez araştırılmıştır. Sonuçlarımıza göre, uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'e karşı sırasıyla 20,9 mm ve 15,8 mm zon çapında ve 3,9 mg/mL ve 7,8 mg/mL MİK konsantrasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca uçucu yağın antibiyofilm aktivitesi *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı sırasıyla % 89,0 ve %84,4 ile yüksek inhibisyon göstermiştir. Bunun yanı sıra, uçucu yağın sitotoksik aktivitesi A549 (insan akciğer kanseri) ve BEAS2B (insan normal akciğer) hücre hatlarına karşı 1-1000 μ g/mL konsantrasyonda MTT testi ile araştırılmıştır. Uçucu yağın A549 ve BEAS2B hücre hatları üzerindeki hücre canlılığı 1000 μ g/mL konsantrasyonda sırasıyla % 41,3 ve %5,3 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağı, potansiyel etkili antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik ajanları keşfetmek için önemli bir kaynak olabilir.

Bilim Kodu : 1017
 Anahtar Kelimeler : *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*, uçucu yağ, GC/MS antibiyofilm aktivite, antimikrobiyal aktivite, sitotoksik aktivite
 Sayfa Adedi : 53
 Danışman : Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

PHARMACOGNOSIC INVESTIGATION ON *MARRUBIUM PARVIFLORUM* SUBSP.*OLIGODON*

(M. Sc. Thesis)

Şeyma BAŞ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

February 2021

ABSTRACT

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold (Lamiaceae), an endemic aromatic plant to Turkey, is locally known as “Dağ çayı” in the East Anatolia and traditionally used against colds for antipyretic effect by infusion. In this study, the essential oil of the aerial parts of the plant, obtained by hydrodistillation, was analyzed by GC and GC/MS systems. Sixty-six components were identified, representing 94,8% of the total essential oil. The major constituents of essential oil were determined as bicyclogermacrene (21,3%), followed by germacrene D (7,2 %), β -caryophyllene (6,6%) and caryophyllene oxide (5,2%). In addition, antimicrobial, antibiofilm and cytotoxic activity of the essential oil of the plant was investigated for the first time. According to the our results, antimicrobial activity of the essential oil was determined against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* 20,9 mm and 15,8 mm of zone diameter, as well as 3,9 mg/mL and 7,8 mg/mL of MIC concentration, respectively. Besides, antibiofilm effect of the essential oil showed high inhibition against *E. coli* and *S. aureus* with 89,0% and 84,4%, respectively. Moreover, the cytotoxic activity of essential oil was investigated by MTT assay against A549 (human lung cancer), and BEAS2B (human normal lung) cell lines at a concentration range of 1-1000 μ g/mL. The cell viability of the essential oil on the cell lines A549, and BEAS2B was detected as 41,3% and 5,3%, respectively at a concentration of 1000 μ g/mL. As a conclusion, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* essential oil can be prominent source to discover potential antimicrobial, antibiofilm, and cytotoxic agents.

Science Code : 1017

Key Words : *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*, essential oil, GC/MS antibiofilm activity, antimicrobial activity, cytotoxic activity

Page Number : 53

Supervisor : Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında teşvikleri, yardımları ve desteğiyle yanımda olan tecrübe ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bitkisel materyalimin toplanmasındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. Esra KÖNGÜL ŞAFAK ve teşhisindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Hayri DUMAN'a,

Uçucu yağ analiz çalışmaları için laboratuvar imkanlarından faydalandığım Prof. Dr. Betül DEMİRCİ'ye,

Antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivite çalışmaları için laboratuvar imkanlarını sunan Prof. Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU'na ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Kübra ERKAN TÜRKMEN'e,

Sitotoksik aktivite çalışmaları için desteğini aldığım Doç. Dr. Esra EMERCE'ye çok teşekkür ederim.

Maddi manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
HARİTALARIN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası	3
2.1.2. <i>Marrubium</i> L. cinsi	4
2.1.3. <i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C.A.Mey..	4
2.2. <i>Marrubium parviflorum</i> Üzerinde Yapılan Çalışmalar	8
2.2.1. Fitokimyasal çalışmalar	8
2.2.2. Etnobotanik çalışmalar	11
2.2.3. Biyolojik aktivite çalışmaları.....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Gereç.....	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Uçucu yağın elde edilmesi.....	18
3.2.2. Uçucu yağın gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ile analizi	19

	Sayfa
3.2.3. Sitotoksik aktivite tayini.....	20
3.2.4. Antimikrobiyal aktivite tayini.....	22
3.2.5. Antibiyofilm aktivite tayini	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. Uçucu Yağın Verimi.....	25
4.2. Uçucu Yağın Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile Analiz Sonuçları.....	25
4.3. Sitotoksik Aktivite Sonuçları	28
4.4. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	31
4.5. Antibiyofilm Aktivite Sonuçları.....	32
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> uçucu yağının kimyasal bileşimi...	26
Çizelge 4.2. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> 'dan elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu konsantrasyona bağlı % hücre canlılığı sonuçları.....	29
Çizelge 4.3. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> uçucu yağına ait disk difüzyon sonuçları (500 mg/mL).....	31
Çizelge 4.4. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> uçucu yağına ait broth mikrodilüsyon yöntemi sonuçları	32
Çizelge 4.5. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> uçucu yağına ait antibiyofilm aktivite sonuçları	32
Çizelge 5.1. Farklı orijinlerden toplanan <i>Marrubium parviflorum</i> uçucu yağlarının analiz çalışmaları	34
Çizelge 5.2. <i>M. parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> türüne ait antimikrobiyal aktivite çalışmaları	37
Çizelge 5.3. <i>Marrubium</i> cinsine ait antibiyofilm aktivite çalışmaları	39
Çizelge 5.4. <i>Marrubium</i> türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> 'dan izole edilen terpenik bileşikler	9
Şekil 2.2. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> 'dan izole edilen anatonin'in kimyasal yapısı	10
Şekil 2.3. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> 'dan izole edilen apigenin-7-O-glukozit'in kimyasal yapısı	10
Şekil 4.1. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> uçucu yağının GC/MS kromatogramı	28
Şekil 4.2. <i>Marrubium parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> 'dan elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi	30
Şekil 4.3. Pozitif kontrol olarak kullanılan doksorubisin'in BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi	30

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C.A.Mey. subsp. <i>oligodon</i> (Boiss.) Seybold genel görünüş (A), çiçekli dal uçları (B). Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu 6	6
Resim 2.2. <i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C.A.Mey. subsp. <i>oligodon</i> (Boiss.) Seybold bitkisinin habitatı. Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu 7	7
Resim 3.1. <i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C.A.Mey. subsp. <i>oligodon</i> (Boiss.) Seybold Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu 17	17
Resim 3.2. Uçucu yağın elde edilmesinde kullanılan Clevenger apareyi (A) ve distilasyon işlemi sonunda elde edilen uçucu yağ (B)..... 18	18

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 2.1. <i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C.A.Mey. subsp. <i>oligodon</i> (Boiss.) Seybold'un ülkemizdeki yayılışı	7



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

°C	Santigrad derece
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
eV	Elektronvolt
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m/z	Kütle/yük oranı
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklamalar

A375	İnsan melanoma kanser hücreleri
A549	İnsan akciğer epitel karsinom hücre hattı
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
B16	Murin melanoma hücreleri
BEAS-2B	Sağlıklı insan bronşiyal epitel hücreleri
BHA	Butil hidroksi anisol
BHT	Butil hidroksi toluen
BJ	İnsan cilt fibroblastları
BSR	Hamster böbrek adenokarsinoma hücreleri
DMSO	Dimetilsülfoksit

Kısaltmalar	Açıklamalar
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FID	Flame ionization detector (Alev iyonizasyon dedektörü)
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
GC	Gas chromatography (Gaz kromatografisi)
GC/MS	Gas chromatography/Mass spectrometry (Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi)
HeLa	İnsan servikal kanser hücreleri
IC₅₀	%50 inhibisyon gösteren doz
IUCN	Uluslararası Doğa Koruma Birliği
Jeko-1	Non-Hodgkin lenfoma hücreleri
Jurkat	Akut T-lösemi hücreleri
Kp	<i>Klebsiella pneumonia</i>
L6	Rat iskelet miyoblast hücreleri
LC	Düşük riskli
LN229	Glioblastoma hücreleri
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MS	Mass spectrometry (Kütle spektrometrisi)
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NIH3T3	Normal embriyonik fibroblast hücreleri
OD	Optik dansite
PC-3	Prostat adenokarsinom hücreleri
RD	Embriyonal rabdomiyosarkoma
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>
subsp	alt tür
ssp	alt tür
SW480	Kolorektal adenokarsinom hücreleri
SW620	Kolorektal kanser hücreleri
T98G	Glioblastoma multiforme hücreleri
U251	Glioma hücreleri
U2OS	Osteosarkoma hücreleri
U87	Glioblastoma multiforme hücreleri
Vero	Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücreleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemiz bitki çeşitliliği ve endemik bitki türlerinin sayısı bakımından öne çıkan zengin bir floraya sahiptir. Türkiye florasının zenginliğinin ortaya çıkmasında iklim çeşitliği, jeomorfolojik özellikler, toprak çeşitliliği, ayrıca konum olarak üç farklı fitocoğrafik bölgede (Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan) yer alması başlıca sebeplerdir [1, 2].

Marrubium L. cinsi genel olarak İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinde yayılış göstermektedir. Bu cinse ait bitkiler tek veya çok yıllık otsu yapıdadır. *Marrubium* cinsine ait toplam takson sayısı tüm dünyada 40 civarında olup, Türkiye’de bulunan 27 taksonun 17’si endemiktir [3, 4].

Marrubium cinsine ait bitkiler çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bulunmuştur. Birçok araştırma ile antispazmodik, antinosiseptif, vazorelaksan, antihipertansif, antikanser, antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antihiperglisemik, sedatif ve kolagog etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Labdan tipi diterpenler, feniletanoit glikozitler, flavonoidler, seskiterpenler, fenilpropanoitler *Marrubium* türlerinde en fazla rastlanan bileşik gruplarından [5-14].

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold (Lamiaceae) Türkiye’ye endemik çok yıllık otsu yapıda bir bitki olup, Orta ve Doğu Anadolu’da yayılış göstermektedir [15]. Bitki “çayotu”, “çöl çayı” ve “dağ çayı” ve “şabla” gibi yöresel isimlerle bilinmekte ve halk arasında soğuk algınlığında ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır [16, 17]. *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisine ait fitokimyasal bileşenlerle ilgili veriler ve kapsamlı literatür çalışmaları sınırlıdır [18-21].

Tez çalışması kapsamında Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu bölgesinden toplanan endemik *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kompozisyonu, aynı şartlarda uygulanan eş zamanlı Gaz kromatografisi (GC) ve Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GC/MS) analizleri ile belirlenmiştir. Ayrıca, uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak, antibiyofilm aktivitesi mikropilak biyofilm testi kullanılarak ve sitotoksik etkileri A549 insan akciğer

epitel karsinoma hücre hattı ve BEAS-2B sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattına karşı incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde, çalışma materyalimizi oluşturan *Marrubium parviflorum* ssp. *oligodon* bitkisi botanik özellikleri ile “Botanik Bilgiler” başlığı altında tanıtılmıştır. Bitki üzerinde bugüne kadar yapılan çalışmaları kapsayan teorik bilgiler “*Marrubium parviflorum* Üzerinde Yapılan Çalışmalar” ana başlığı altında yer alan “Fitokimyasal çalışmalar”, “Etnobotanik çalışmalar” ve “Biyolojik aktivite çalışmaları” olmak üzere üç alt bölümde incelenmiştir.

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası

Genellikle salgı tüyleri taşıyan, aromatik, otsu bitkiler veya çalılar. Gövde genellikle 4 köşeli. Yapraklar stipulasız, basit, bileşik (pinnat), karşılıklı veya dairesel dizilişli. Çiçek durumları genellikle braktelerin veya üst yaprakların koltuğunda, tek veya çok sayıda, veya her nodusta vertisillastrum durumunda. Çiçekler zigomorf, hermafrodit, veya ginodioik bitkilerde erkek çiçek verimsiz (dişi fonksiyonlu). Brakteler yapraklardan belirgin şekilde farklı veya yapraklara benzer (floral yapraklar); brakteoller var veya yok. Kaliks kalıcı, genellikle üst dişler 3, alt dişler 2 olmak üzere 5 loblu, bazen bilabiat. Korolla gamopetal, zigomorf ve bilabiat (genellikle üst dudak belirsiz 2 loblu, alt dudak 3 loblu; nadiren üst dudak körelmiş, alt dudak 5 loblu, veya 1 üst ve 4 alt loblu, veya korolla aktinomorf). Stamenler 2 veya 4, korollaya bağlı, genellikle didinam. Pistil 1, ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 gözlü, her göz bir ovüllü. Stilus genellikle ginobazik. Meyve 4 (nadiren daha az) kuru (çok nadir olarak etli) nutlet [22, 23].

Başlıca Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde yayılış gösteren Lamiaceae familyası, yeryüzünde yaklaşık olarak 7000 tür ve 250 cinsten fazla üyeye sahip çok önemli bir familyadır [24]. Türkiye’de ise bu familya 48 cins ve 782 takson (603 tür, 179 alt tür ve varyete) ile temsil edilmektedir. Bu verilere göre Lamiaceae familyası Türkiye’de takson sayısına göre üçüncü, tür sayısına göre ise dördüncü en büyük familyadır. Familyanın 346 taksonu (271 tür, 75 alt tür ve varyete) endemiktir ve endemizm oranı yaklaşık olarak %44’tür [4].

Biyolojik etkileri nedeniyle Lamiaceae familyasına ait çok sayıda bitki, tıbbi amaçlarla kullanılmakta, taşıdıkları uçucu yağlar nedeniyle de yemeklere tat ve lezzet verici olarak yaygın biçimde yararlanılmaktadır. Uçucu yağlar, epidermada yer alan 8 hücreli baş ve tek saptan oluşan pul şeklindeki salgı tüylerinde (Lamiaceae tipi salgı tüyü) bulunmaktadır [23, 25].

2.1.2. *Marrubium* L. cinsi

Tek veya çok yıllık otsu bitkiler. Yapraklar dişli, gövdede olduğu gibi yoğun tüylü, yaprak tabanda nadiren kordat. Vertisillat çiçekler floral yapraklarla desteklenmiş, her çiçek genellikle 1 dış ve 2 iç brakteollü. Kaliks dar, ters konik, 10 damarlı, 5, 10 ya da 30 dişli; kaliks tübü dışı yoğun tüylü, kaliks ağzı içte uzun tüylü. Korolla beyaz, sarımsı veya morun çeşitli tonlarında, 2 dudaklı; üst dudak düz, iki parçalı; alt dudak 3 loblu; tüp kaliks içerisinde, içi tüylü veya tüysüz. Stamenler 4, paralel, alt çift daha uzun, tümü korolla tüpü içinde; anter teka birbirinden ayrılmış. Nutletler pürüzsüz, tepesi kesik veya yuvarlak [15].

Marrubium cinsine ait toplam takson sayısı tüm dünyada yaklaşık 40 civarındır. Türkiye’de 27 taksonun 17 taksonu endemik (endemizm oranı: %63), 21 türün ise 11’i endemiktir (endemizm oranı: %52). Bu cinse ait üyeler genel olarak İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgeleri ile nadiren Amerika ve Avustralya’da bulunmaktadır [3, 4].

2.1.3. *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey.

Dik, dallanmış gövdeye sahip, çok yıllık. Gövde 20-70 cm, yıldız şeklinde (stellat) tüylü, genellikle altta yoğun ve beyaz, üstte daha seyrek ve kahverengimsi-yeşil. Bazal yapraklar çok küçük, yoğun beyaz tüylü; gövde yaprakları saplı, eliptik, dar eliptik veya oblanseolat, krenat-serrat, yoğun yıldız tüylü ve altta beyazımsı, üst yüzey daha yeşil. Vertisillastrum birkaç çiçekli; brakteoller kaliks tüpünden kısa. Kaliks tüpü 3,5-5 mm, yıldız şeklinde tüylü; 5-15 dişli veya nadiren daha fazla, eşitden bir derece eşit olmayana kadar, düz veya kavisli ve çengelli, genişçe açılmış, (1,5-) 2-3,5 mm, yıldız tüylü. Korolla beyaz, dışı yoğun yıldız tüylü, üst dudak içi daha az tüylü [15].

1. Kaliks 5 (-8) dişli, 5’den fazla ise dişler eşit değilsubsp. ***oligodon***

1. Kaliks 10-15 veya daha fazla dişli, dişler $\pm$ eşitsubsp. ***parviflorum***

Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) kitabında, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin Türkçe adı “küllü bozotu”, *M. parviflorum* subsp. *parviflorum* bitkisinin Türkçe adı “bozotu” olarak geçmektedir [26].

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold’un sistematikteki yeri (TÜBİVES veri tabanı)

- Alem: Plantae
- Alt alem: Tracheobionta
- Bölüm: Magnoliophyta
- Sınıf: Magnoliopsida
- Alt sınıf: Asteridae
- Takım: Lamiales
- Familya: Lamiaceae
- Cins: *Marrubium* L.
- Tür: *Marrubium parviflorum* Fisch. & Mey.
- Alt tür: *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold



A



B

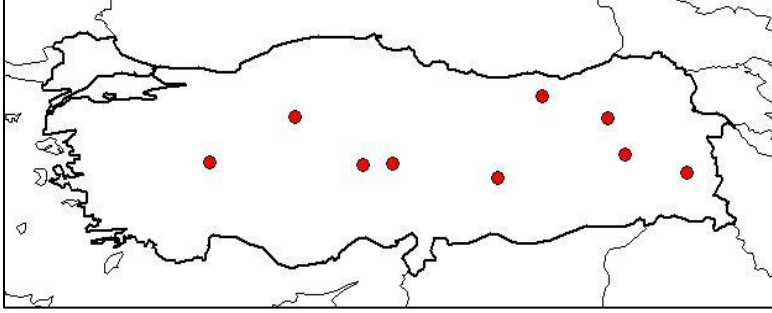
Resim 2.1. *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold genel görünüş (A), çiçekli dal uçları (B). Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu (Fotoğraf: Esra Köngül Şafak)

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold'un yayılış ve habitatı

Çok yıllık otsu bir bitki olan *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*, 850-2350 m'ler arasında, yamaçlarda ve bozkırlarda yetişmektedir. Türkiye'ye endemik bir bitkidir. İran-Turan elementidir. Ülkemizde Afyonkarahisar, Eskişehir, Ankara, Erzurum, Erzincan, Gümüşhane, Kayseri, Malatya, Muş, Nevşehir, Van illerinde doğal olarak yetişmektedir [15, 27-28]. Bitkinin TÜBİVES veri tabanına göre yayılışı Harita 2.1'de verilmiştir [28].

Endemik bitkilerin tehlike kategorilerinin incelendiği Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı ve yapılan bilimsel çalışmalardan yararlanılarak, endemik bir bitki olan *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'un tehdit kategorisi belirlenmiştir [2]. Van ve Hakkâri illerinde nadir ve endemik olarak bulunan bitkilerin IUCN tehdit kategorilerinin incelendiği bir çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* türü, LC (düşük riskli) kategorisinde değerlendirilmiştir [29]. Afyonkarahisar ili Kumalar Dağı'nda yapılan bir floristik çalışma ile Erzincan ili İliç ve Kemah ilçeleri jips florasının incelendiği diğer bir

çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* LC tehlike kategorisinde tespit edilmiştir [27, 30].



Harita 2.1. *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold'un ülkemizdeki yayılışı [28]



Resim 2.2. *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold bitkisinin habitatı. Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu (Fotoğraf: Esra Köngül şafak)

2.2. *Marrubium parviflorum* Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.2.1. Fitokimyasal çalışmalar

M. parviflorum üzerinde yapılmış olan fitokimyasal çalışmaların çoğunlukla bitkinin uçucu yağ bileşiminin aydınlatılması üzerine olduğu görülmüştür. Bitkiden ayrıca diterpen, triterpen, sterol ve flavonoid yapısında bileşikler izole edilmiştir. Fitokimyasal çalışmalara ait bulgular, çalışılan bileşik gruplarına göre sınıflandırılarak aşağıda verilmiştir.

Uçucu yağlar

Bal, Kaban, Kırmıner ve Başer'in (1999) yaptığı bir çalışmada, Nevşehir'den toplanan *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin uçucu yağ bileşimi incelenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları kurutularak Clevenger aparatı ile 3 saat boyunca su distilasyonuna tabi tutulmuştur. Süre sonunda %0,01 verimle uçucu yağ elde edilmiş ve bu uçucu yağın GC/MS ile analizi yapılmıştır. Yapılan analiz sonuçlarına göre, toplam bileşiklerin %91'ini oluşturan 139 bileşik tespit edilmiştir. Majör bileşikler olarak hekzadekanoik asit (%15,4), germakren D (%11,1), β -karyofillen (%10,0) ve (E)- β -farnesen (%7,3) tanımlanmıştır [19].

Bir çalışmada Afyonkarahisar'dan toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen materyal Clevenger aparatı kullanılarak 5 saat su distilasyonuna tabi tutulmuştur. % 0,012 verimle elde edilen uçucu yağ GC/MS analiz yöntemleri ile incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, uçucu yağın %88,14'ünü oluşturan oksijenli seskiterpenler (%37,14), seskiterpen hidrokarbonlar (%23,98), oksijenli monoterpenler (%22,01) ve diğer bileşenler (%5,01) saptanmıştır. Tespit edilen 31 farklı kimyasal bileşik arasında; (Z,Z)-farnesil aseton (%19,28), karyofillen oksit (%15,85) ve pulegon (%7,15) majör bileşikler olarak belirlenmiştir [20].

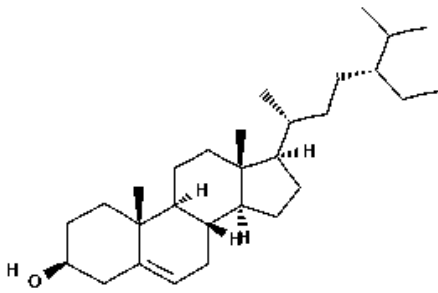
Bingöl'den toplanan *Marrubium parviflorum* subsp. *parviflorum* bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi sonucu toplam yağın %87,1'ini oluşturan 27 farklı bileşik saptanmıştır. Majör bileşikler olarak ise β -karyofillen (%20,3), germakren D (%18,8), bisiklogermakren (%10,2) ve spatulenol (%7,3) tespit edilmiştir [21].

İran’da yapılan bir çalışmada, Doğu Azerbaycan eyaletinden toplanan *M. parviflorum* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarına Clevenger apareyi kullanılarak 2 saat su distilasyonu uygulanmıştır. GC/MS analizleri sonucunda elde edilen uçucu yağın %83’ünü oluşturan 20 farklı kimyasal bileşik tespit edilmiştir. Oleik asit (%11,8), α -pinen (%10,2) ve germakren D (%9,8) majör bileşikler olarak saptanmıştır [31].

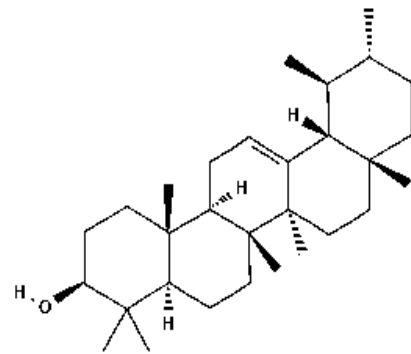
İran’da yapılan başka bir çalışmada ise *M. parviflorum* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından kurutularak elde edilen materyal, Clevenger apareyi kullanılarak 3 saat su distilasyonuna tabi tutulmuştur. Bu işlem sonucunda keskin kokulu açık sarı renkli %0,08 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağın GC ve GC/MS analizleri sonucunda toplam uçucu yağın %96,8’ini oluşturan 51 farklı kimyasal bileşen tespit edilmiştir. Bu uçucu yağın majör bileşenleri ise bisiklogermakren (%26,3), germakren D (%21,5) ve β -karyofillen (%15,6) olarak saptanmıştır [32].

Terpenik ve steroidal bileşikler

M. parviflorum subsp. *oligodon* bitkisinin kimyasal yapısı üzerine yapılan bir araştırmada, bitkiden β -sitosterol ve α -amirin (Şekil 2.1) izole edilerek yapıları spektral tekniklerle aydınlatılmıştır [18].



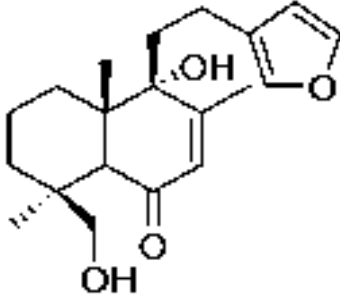
β -Sitosterol



α -Amirin

Şekil 2.1. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*’dan izole edilen terpenik bileşikler

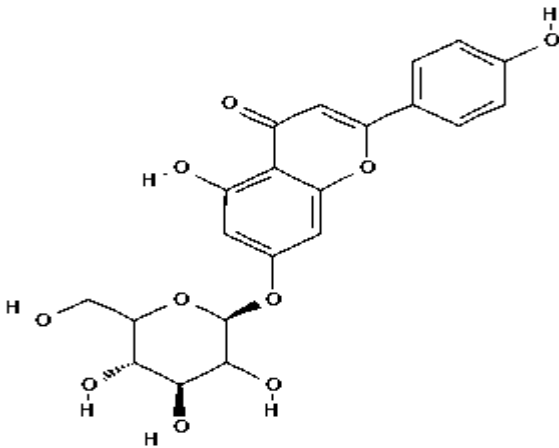
M. parviflorum subsp. *oligodon* bitkisinin kimyasal bileşimi üzerinde yapılan bir çalışmada, diterpen yapısında yeni bir bileşik izole edilerek yapısı spektral tekniklerle aydınlatılmıştır. Anatolion olarak isimlendirilen bileşik furolabdan yapısında olup, yapısında 6,19- γ -lakton halkası yerine 6-okso-19-hidroksi grubu taşımaktadır. Bileşiğin kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir (Şekil 2.2) [33, 34].



Şekil 2.2. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'dan izole edilen anatolion'un kimyasal yapısı

Flavonoitler

Eskişehir'den toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada apigenin-7-O-glukozit (Şekil 2.3) izole edilmiştir [18].



Şekil 2.3. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'dan izole edilen apigenin-7-O-glukozit'in kimyasal yapısı

Sabit yağlar

M. parviflorum subsp. *parviflorum*’un yapraklarından elde edilen lipid ekstresinin yağ asidi bileşiminin GC/MS ile incelendiği bir çalışmada, palmitik asit (%46,89), stearik asit (%28,43), linoleik asit (%11,26) ve linolenik asit (%7,28) major bileşenleri olarak bulunmuştur [21].

2.2.2. Etnobotanik çalışmalar

Iğdır ilinde yapılan etnobotanik bir çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon*’un yerel isimleri “çayotu”, “çöl çayı” ve “dağ çayı” olarak kaydedilmiştir [35].

Yapılan diğer bir etnobotanik araştırmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin Doğu Anadolu’da halk arasında “dağ çayı” adıyla bilindiği ve infüzyonunun dahilen soğuk algınlığında antipiretik amaçlı olarak kullanıldığı kaydedilmiştir [16].

Sivas ve Yozgat illerini kapsayan etnobotanik bir araştırmada, *M. parviflorum* subsp. *parviflorum* alttürünün halk arasında hemoroide karşı kullanıldığı tespit edilmiştir. Bitkinin tüm kısımlarından hazırlanan dekoksasyonunun etkilenen bölgeye tatbik edilerek kullanıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, bitkinin ayrıca bitkisel çay olarak kullanıldığı da kaydedilmiştir [36].

Nevşehir’in güney kısmında, Kapadokya bölgesinde yapılan etnobotanik bir araştırmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin bu bölgede “şabla” olarak adlandırıldığı ve toprak üstü kısımlarının *Cydonia oblonga* yaprakları ve *Thymus sipyleus* subsp. *rosulans* ile birlikte bitkisel bir karışım içerisinde çay olarak kullanıldığı tespit edilmiştir [17].

İran’da yapılan etnobotanik bir araştırmada, *M. parviflorum* bitkisinin çiçekli dallarından hazırlanan kuru ekstrenin safra kesesi taşlarını yok etmede, kanı temizlemede ve mide fonksiyonlarını düzenlemede kullanıldığı belirtilmiştir [37].

2.2.3. Biyolojik aktivite çalışmaları

Antioksidan aktivite

Gaziantep'ten toplanan *M. parviflorum* bitkisinin kurutulmuş ve toz edilmiş yapraklarından elde edilen *n*-hekzan ve metanol ekstralarının antioksidan aktivitesi 6 farklı test yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu yöntemler; β -karoten-linoleik asit, DPPH radikal süpürücü aktivite, indirgeme gücü, ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit), metal şelatlama, DNA kırıklarının tayini yöntemleridir. DNA kırıklarının tayini testinde *n*-hekzan ekstresi güçlü aktivite göstermiştir. Diğer test yöntemlerinde ise metanol ekstresinin *n*-hekzan ekstresine göre çeşitli düzeylerde yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. β -Karoten-linoleik asit metodunda butil hidroksi tolueen (BHT) ve askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bu yöntemde bitkinin metanol ekstresinin % inhibisyon değeri $67,3 \pm 2,17$ (BHT: $95,3 \pm 1,78$; askorbik asit: $94,2 \pm 2,0$) olarak bulunurken, *n*-hekzan ekstresinin inhibisyon yüzdesi belirlenememiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite test yönteminde, bitkinin metanol ekstresi için $22,72 \pm 0,11$ ve *n*-hekzan ekstresi için $0,74 \pm 0,05$ değerleri kaydedilmiştir. ABTS süpürücü aktivite yönteminde sonuçlar metanol ekstresi için $34,10 \pm 1,80$ ve *n*-hekzan ekstresi için $1,77 \pm 0,11$ olarak hesaplanmıştır. İndirgenme gücü metodunda metanol ekstresi için $46,34 \pm 2,43$ ve *n*-hekzan ekstresi için $0,16 \pm 0,01$ değerleri tespit edilmiştir. Metal şelatlama yönteminde de metanol ekstresi $11,47 \pm 0,81$ ile *n*-hekzan ekstresinden ($2,30 \pm 0,05$) daha yüksek aktivitede bulunmuştur [38].

İran'da yapılan bir çalışmada, *M. parviflorum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen petrol eteri, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol fraksiyonlarının antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü aktivite testi ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre etil asetat ve *n*-butanol fraksiyonların IC₅₀ değerleri sırasıyla $84,1 \pm 5,1$ ve $85,6 \pm 3,4$ µg/mL olarak tespit edilmiştir [39].

Sarikürkçü, Özer, Calli ve Popović-Djordjević (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın, *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstralarının antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada β -karoten-linoleik asit, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü ve indirgeyici gücün tayini yöntemleri kullanılmıştır. β -Karoten-linoleik

asit metodunda, tüm ekstrelerin ve uçucu yağın (0,4; 1,0 ve 2,0 mg/mL konsantrasyonlarında) antioksidan aktivitesi butil hidroksi anisol (BHA) ve BHT ile karşılaştırılmıştır. Bu yöntemde uçucu yağ ve ekstreler içinde en yüksek antioksidan aktiviteyi tüm konsantrasyonlarda su ekstresi göstermiştir. Su ekstresi için 0,4; 1,0 ve 2,0 mg/mL konsantrasyonlarda hesaplanan total antioksidan aktivite değerleri (%) sırasıyla $85,78 \pm 1,92$; $92,17 \pm 0,75$; $94,85 \pm 0,023$ olarak ölçülmüştür. DPPH radikal süpürücü aktivite testinde uçucu yağ ve tüm ekstreler (0,2; 0,4 ve 1,0 mg/mL konsantrasyonlarında) sentetik antioksidanlar BHA ve BHT ile karşılaştırılmıştır. *n*-Hekzan ekstresi çalışılan tüm konsantrasyonlarda en düşük DPPH radikal süpürücü aktivite gösterirken, su ekstresi çalışılan tüm konsantrasyonlarda en yüksek DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip bulunmuştur. DPPH radikal süpürücü aktivite yüzdesi (%) su ekstresi için 0,2; 0,4 ve 1,0 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla $18,59 \pm 1,15$; $47,56 \pm 1,44$ ve $78,50 \pm 0,20$ olarak kaydedilmiştir. İndirgeyici gücün tayininde ise uçucu yağ ve hazırlanan ekstrelerin (0,2; 0,4 ve 1,0 mg/mL konsantrasyonlarında) sentetik antioksidanlar BHA ve BHT'ye karşı antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. Su ekstresi 0,2 mg/mL konsantrasyonda diğer test örneklerine göre daha yüksek aktivite göstermiştir ($0,192 \pm 0,008$). Su ekstresine en yakın değer uçucu yağa ait ($0,142 \pm 0,009$) bulunmuş, en düşük değer ise *n*-hekzan ekstresinde ($0,057 \pm 0,002$) tespit edilmiştir. 1,0 mg/mL konsantrasyonda ise su ekstresi için $0,0763 \pm 0,002$ ve su ekstresine en yakın değer etil asetat ekstresine ait $0,596 \pm 0,008$ olarak kaydedilmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca bu çalışmada total fenolik miktarı ile antioksidan aktivite gücü arasında ilişki olduğu gözlenmiştir [20].

Analjezik aktivite

İran'da yapılan bir çalışmada, *M. parviflorum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu alkollü ekstrenin, farelerde formalin testi uygulanarak 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında analjezik aktivitesi araştırılmıştır. Farelere pozitif kontrol olarak morfin, negatif kontrol olarak ise serum fizyolojik intraperitoneal yolla uygulanırken, formalin ise farelerin sağ arka pençelerine subkutan olarak enjekte edilmiştir. Formalin enjeksiyonundan sonra 40 dakika boyunca 5 dakika aralıklarla pençe yalama ve ısırma süreleri kaydedilmiştir. *M. parviflorum* sulu alkollü ekstresinin 100 mg/kg dozunda farelerin pençe yalama ve ısırma sürelerini 15 ile 40 dakika arasında azalttığı, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Ağrının kronik fazında 200 mg/kg dozunda ekstrenin morfine eşdeğer önemli analjezik etki sağladığı

($p<0,05$) kaydedilmiştir. Elde edilen verilere göre, *M. parviflorum* bitkisinin enflamatuvar ağrılı hastalıklarda ağrıyı azaltabilecek bitkisel bir ürün geliştirmeye uygun olabileceği kanısına varılmıştır [40].

Antimikrobiyal aktivite

Yalçın (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin altı farklı bakteri ve bir maya türü kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Test edilen mikroorganizmalar; *Salmonella typhi* (CCM 5445), *Listeria monocytogenes* (ATCC 96040) *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Metisilin Resistant Staphylococcus aureus MRSA* (ATCC 43300), *Enterococcus faecalis* (ATCC 15753) ve *Candida albicans* (ATCC 10231) standart suşlarıdır. Etanol pozitif kontrol olarak kullanılırken, referans antibiyotik olarak bakteriler için vankomisin ve siprofloksasin, maya için ise Amfoterisin B kullanılmıştır. Bitkinin kurutulmuş gövde yapraklarından elde edilen iki farklı etanol ekstrenin üç farklı zamanda tekrar edilen mikrodilüsyon testi ile antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin yaprak ve gövde kısmı *C. albicans* (ATCC 10231) suşu üzerinde aktivite göstermemiştir. Bitkinin yaprak kısmı *S. typhi* (CCM 5445) suşu üzerinde aktivite göstermezken, gövde kısmının etkili olduğu gözlenmiştir (2048 µg/mL). *S. aureus* (ATCC 6538) ve *MRSA* (ATCC 43300) suşlarına karşı bitkinin yaprak ve gövde kısmı aynı oranda antimikrobiyal etki göstermiştir (1024 µg/mL). *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin yaprak ve gövde kısmı, test edilen mikroorganizmalar üzerinde en iyi aktiviteyi *L. monocytogenes* (ATCC 96040) suşu üzerinde göstermiştir (yaprak 64 µg/mL, gövde 128 µg/mL) [41].

13 farklı bitki türünün antibakteriyel aktivitesinin araştırıldığı başka bir çalışmada, Kastamonu bölgesinden toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin kurutulmuş ve toz edilmiş materyalinden elde edilen etanol ekstresinin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada, *Staphylococcus aureus* (Cowan I suşu), *Streptococcus agalactia* (ATCC 7077), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Salmonella gallinarum* (ATCC 9184), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) mikroorganizmaları ve referans antibiyotik olarak gentamisin kullanılmıştır. Disk difüzyon yönteminde inhibisyon zon çapı *K. pneumonia* suşuna karşı 8 mm, *S. aureus*'a karşı 12 mm olarak ölçülmüştür. Broth

makrodilüsyon yönteminde ise *K. pneumonia* suşuna ait MİK değeri 4 mg/mL, *S. aureus* suşuna karşı ise MİK değeri 1 mg/mL olarak saptanmıştır [42].





3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Marrubium parviflorum Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold (Lamiaceae) Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar Yolu, yol kenarlarından (yükseklik 1600 m) bitkinin çiçeklenme mevsiminde, 16 Temmuz 2017 tarihinde toplanmış (Resim 3.1) ve herbaryum örnekleri hazırlanarak teşhisi Prof. Dr. Hayri DUMAN tarafından yapılmıştır. Herbaryum örnekleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (GAZI, NK20) saklanmaktadır.



Resim 3.1. *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu (Foto: Esra Köngül Şafak)

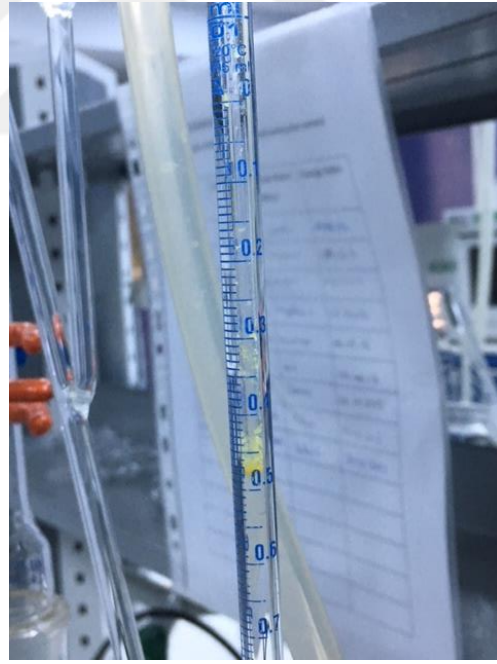
3.2. Yöntem

3.2.1. Uçucu yağın elde edilmesi

Doğal olarak yetiştiği Kayseri Pınarbaşı'ndan çiçekli dönemde toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında gölgede kurutulmuş, küçük parçalar halinde kesilerek laboratuvar ölçeğinde Clevenger apareyinde uçucu yağı elde edilmiştir (Resim 3.2). 100 g kuru drog 2 L'lik cam balona konulduktan sonra üzerine 1000 mL distile su eklenmiş ve Clevenger apareyinde 3 saat distilasyon işlemi (4 yükleme) gerçekleştirilmiştir. Sürenin sonunda apareyin soğuması beklenerek uçucu yağın apareyin ölçekli kısmında toplanması sağlanmıştır. Elde edilen uçucu yağ çok az miktarda olduğu için Clevenger apareyinden *n*-hekzan ile çözülerek alınmış ve analizleri Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC/MS) cihazlarında gerçekleştirilmiştir.



A



B

Resim 3.2. Uçucu yağın elde edilmesinde kullanılan Clevenger apareyi (A) ve distilasyon işlemi sonunda elde edilen uçucu yağ (B)

3.2.2. Uçucu yağın gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ile analizi

Elde edilen uçucu yağın kompozisyonu Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) sistemlerinin aynı şartlarda eş zamanlı analizleri ile belirlenmiştir.

GC analiz koşulları

Sistem: Agilent 6890N GC

Kolon: Innowax FSC kolon (60 m x 0,25 mm, film kalınlığı 0,25 µm)

Taşıyıcı gaz: Helyum (0,8 mL/dak.)

Sıcaklık programı: 10 dak. 60 °C’de, 4 °C/dak. artışla 220 °C’ye arttırılmış, 220°C’de 10 dak. tutulmuş, 1 °C/dk artışla 240 °C’ye çıkarılmıştır.

Dedektör: 300 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

Bileşiklerin uçucu yağ içerisindeki relatif oranları analiz ile elde edilen kromatogramdan bilgisayar yardımı ile hesaplanmıştır. GC sisteminde kolonda ayrılan uçucu bileşikler daha sonra GC/MS sisteminde her birinin kütle spektrumları alınarak tanımlanmıştır.

GC/MS koşulları

Sistem: Agilent 5975 GC-MSD

Kolon: Innowax FSC kolon (60 m x 0,25 mm, film kalınlığı 0,25 µm)

Taşıyıcı gaz: Helyum (0,8 mL/dak.)

Sıcaklık programı: 10 dak. 60 °C’de, 4 °C/dak. artışla 220 °C’ye arttırılmış, 220 °C’de 10 dak. tutulmuş, 1 °C/dak. artışla 240 °C’ye çıkarılmıştır.

Split oranı: 40:1

İyon kaynağı sıcaklığı: 250 °C

İyonizasyon enerjisi: 70eV

Kütle aralığı: 35-450 m/z

n-Alkanlar referans olarak alınarak her bir bileşiğin kolondaki relatif tutunma indisi (RRI) hesaplanmıştır. Uçucu yağ bileşenlerin analizi için “Wiley GC/MS kütüphanesi (MassFinder Software 4.0)” ve “Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılmıştır [43, 44].

3.2.3. Sitotoksik aktivite tayini

Sitotoksik aktivite tayininde, yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden birisi olan MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi kullanılmıştır [45]. Kolorimetrik bir yöntem olan MTT yönteminde, MTT canlı hücrelere absorbe olarak bu hücrelerin mitokondrilerinde reaksiyona uğrar. Tetrazolyum halkası mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek, MTT mavi-mor renkli, suda çözünmeyen formazan yapısına indirgenir. Formazan oluşumu, yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu canlı hücrelerde görülür, bu da hücre canlılığının bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Yöntem canlı hücrelerin oluşturduğu mor rengin kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

M. parviflorum subsp. *oligodon*'un elde edilen uçucu yağın sitotoksitesinin belirlenmesinde, bitkinin geleneksel tedavide soğuk algınlığı gibi solunum yollarını etkileyen rahatsızlıklarda kullanılması ve yaygın görülen bir kanser türü olması nedeniyle hedef hücreler olarak akciğer hücre hatları seçilmiştir.

Deney protokolü

Hücre kültürü

Sitotoksik aktivitenin belirlenmesinde, insan akciğer epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücresi (BEAS-2B) kullanılmıştır. Kanser hücre hatları %10 FBS, %1 L-glutamin ve %1 antibiyotik (penisilin–streptomisin) içeren DMEM besiyerinde, sağlıklı hücreler ise %20 FBS, %1 L-glutamin ve %1 antibiyotik (penisilin–streptomisin) içeren RPMI besiyerinde, T₂₅ flasklar içerisinde, 37 °C’de %5 CO₂ içeren inkübatörde çoğaltılmıştır. Hücreler deneye alınmadan önce tripan mavisini metodu kullanılarak canlı hücre sayımı yapılmıştır. Bu yöntemde, hücreler tripsinlendikten sonra santrifüj edilerek pellet 5 mL besiyeri ile resüspande edilmiştir. Resüspansiyondan 10 µL

alınarak 1:1 oranında %4'lük tripan mavisi ile karıştırılmış ve karışımdan alınan 10 µL içerisindeki canlı hücre sayımı Neubauer lamında yapılmıştır.

Test numunesinin hazırlanması

M. parviflorum subsp. *oligodon*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi için, en yüksek konsantrasyon 1000 µg/mL olacak şekilde 7 farklı konsantrasyon (1, 3, 10, 30, 100, 300 ve 1000 µg/mL) hazırlanmıştır. Uçucu yağ dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Hücrelerin zarar görmemesi için çözücü olarak kullanılan DMSO oranının %0,2 (v/v)'yi geçmemesi sağlanmıştır. Test sistemine negatif kontrol (besiyeri), çözücü kontrol (DMSO) ve pozitif kontrol (doksorubisin 0,3; 1,0; 3,0; 10,0 µg/mL) eklenmiştir. Her deney en az ikişer örnek ve 3 tekrar olacak şekilde çalışılmıştır.

MTT testi

MTT testinde, 96 kuyucuklu plakalarda her bir çukura 6000 hücre ekilmiş, %70 büyüme sağlandığında belirlenen konsantrasyonlarda uçucu yağ ve kontrollerin uygulaması yapılmıştır. Hücreler 48 saat boyunca inkübe edilmiş ve süre sonunda kuyucuklardaki besiyeri indüklenen hücrelerden uzaklaştırılmıştır. Bu aşamada hücrelerde madde uygulamasına bağlı hücre değişimleri mikroskop altında incelenerek kontrol edilmiştir. Her bir kuyucuğa 200 µL yeni besiyeri ve 1g/L konsantrasyondaki MTT çözeltisinden 50 µL eklenmiştir. Ardından hücreler 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki karışım uzaklaştırılarak, her kuyucuğa 160 µL DMSO ilave edilmiş ve oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Plakalar 5 dakika çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra ELISA okuyucuda 570 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Çözücü kontrol olarak çalışılan hücrelerin canlılığı %100 olarak alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism programından yararlanılmıştır. Hücre canlılığı değerleri % ± standart hata olarak verilmiştir. Konsantrasyonlar arasındaki % hücre canlılığı değerleri tek tönü varyans analizi ile değerlendirilmiş ve ileri analizlerde Tukey's

çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. IC₅₀ değerleri hesaplaması doğrusal olmayan regresyon ile belirlenmiştir. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.2.4. Antimikrobiyal aktivite tayini

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk diffüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır [46-49].

Deney protokolü

Test mikroorganizmaları, besiyeri ve kültür koşulları

Çalışmamızda *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 mikroorganizmaları kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar kapsamında kullanılan mikroorganizmalar Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim dalı kültür koleksiyonu laboratuvarından temin edilmiştir. Kültür için 37 °C inkübasyon sıcaklığı ve Luria Bertani (LB) agar/broth besiyerleri (Merck Co., Darmstadt, Germany) kullanılmıştır. Mikroorganizmalar %20 gliserol içeren LB broth besiyerinde -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

Disk diffüzyon metodu

M. parviflorum subsp. *oligodon*’un uçucu yağı 1:1 oranında DMSO içerisinde son konsantrasyonu 500 mg/mL olacak şekilde çözülmüştür. Örnek 0,22 µm şırınga filtreden (Minisart®, Sigma-Aldrich) geçirilerek sterilize edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 LB broth besiyerinde 24 saat boyunca 37 °C’de inkübe edilmiştir. Her bir bakteri kültüründen 100 µl (her bir bakteri kültürü için McFarland bulanıklık değeri 0,5 olacak şekilde ayarlanmıştır) alınarak LB agar üzerine yayma ekim yapılmıştır. 6 mm çapındaki steril kâğıt diskler petrilerin üzerine yerleştirilmiş ve *M. parviflorum* subsp. *oligodon*’un uçucu yağından hazırlanan ana stoktan (500 mg/mL) emdirilmiştir. %50 DMSO içeren kâğıt diskler negatif kontrol ve kloramfenikol (30 µg/mL) (Oxoid antibiotic discs, Germany) referans antibiyotik olarak kullanılmıştır. Her deney üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Tüm petriler 24 saat boyunca 37 °C’de inkübe edilmiş ve ardından zon

Çapları ölçülerek sonuçlar değerlendirilmiştir [46, 49]. Her deney üç tekrarlı olarak yrtlmştir.

Broth mikrodilüsyon metodu

M. parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının seçilen bakteri suşlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standardı (M27-A2) kullanılarak 96 kuyucuklu mikro plakalarda broth mikrodilüsyon metodu uygulanmıştır [47, 48].

Uçucu yağın stok konsantrasyonundan (500 mg/mL) 50 L alınarak eşit hacimdeki steril LB broth besiyeri ile bir seri dilüsyon (500-1,95 mg/mL konsantrasyonlarda) hazırlanmıştır. *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 kültürlerinin McFarland bulanıklık değeri 0,5'e ayarlanmıştır. Her kuyucuğa 100 L *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 kültürlerinden eklenmiştir. Mikroplaklar 24 saat boyunca 37 C'de inkübe edilmiştir. MİK değeri üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir. Her deney üç tekrarlı olarak yrtlmştir.

3.2.5. Antibiyofilm aktivite tayini

M. parviflorum subsp. *oligodon*'dan elde edilen uçucu yağın antibiyofilm aktivitesinin tayininde, 96 kuyucuklu mikroplakalarda biyofilm oluşumunun miktarının tayin edildiği standart bir kristal viyole metodu modifiye edilmiş haliyle uygulanmıştır [50, 51].

Antibiyofilm aktivitenin belirlenmesinde, biyofilm oluşturduğu bilinen ve enfeksiyon etkeni olan *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 suşları seçilmiştir. Antibiyofilm aktivite testleri sub-MİK konsantrasyonlarda gerçekleştirilmiştir.

Mikroplaka biyofilm testi

E. coli ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 kültürleri triptik soy broth (TSB) (Merck) besiyerine inokule edilmiş ve 24 saat 37 C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gece boyunca inkübe edilen kültürlerin McFarland bulanıklık değeri TSB besiyeri ile 0,5'e ayarlanmış ve son konsantrasyonları sub-MİK değerlerde olacak şekilde uçucu yağ içeren kuyucuklara

eklenmiştir. Mikroplakalar 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki süpernatant uzaklaştırılmış ve kuyucuklar serbest yüzen hücreleri uzaklaştırmak için fosfat tampon solüsyonu 1X PBS (Merck) ile yıkanmıştır. Mikroplakalar 65 °C’de kurutulduktan sonra kuyucuklara %0,1’lik kristal viyole eklenmiştir. Kristal viyole ile muamele edilen mikroplakalar 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Oluşan biyofilm yapısına tutunan boyayı ölçmek amacıyla kuyucuklara %30’luk asetik asit solüsyonu eklenmiş ve spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kontrol değeri olarak uçucu yağ içermeyen kuyucuklar değerlendirilmiştir. Her deney üç tekrarlı olarak çalışılmıştır. Biyofilm inhibisyonunu oranı yüzde olarak aşağıdaki Eş. 3.1’e göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Biyofilm İnhibisyon: } (Kontrol OD_{595} - Test OD_{595} / Kontrol OD_{595}) \times 100 \quad (3.1)$$

4. BULGULAR

4.1. Uçucu Yağın Verimi

M. parviflorum subsp. *oligodon*'un kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile eser miktarda açık sarı renkte bir uçucu yağ elde edilmiştir.

4.2. Uçucu Yağın Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile Analiz Sonuçları

M. parviflorum subsp. *oligodon*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi sistemlerinin aynı şartlarda eş zamanlı uygulanması ile analiz edilmiş ve kütüphane taramaları yardımıyla teşhis edilen bileşiklerin bağlı % değerleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, uçucu yağın %94,8'ini oluşturan 66 bileşen tanımlanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri bisiklogermakren (%21,3), ardından germakren D (%7,2), β -karyofillen (%6,6) ve karyofillen oksit (%5,2) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının kimyasal bileşimi

RRI	Bileşik adı	%
1032	α -Pinen	3,2
1093	Hekzanal	0,1
1132	Sabinen	0,1
1174	Mirsen	0,5
1176	α -Fellandren	0,1
1203	Limonen	2,4
1218	β -Fellandren	0,3
1225	(Z)-3-Hekzenal	0,1
1244	Amil furan (2-Pentil furan)	0,2
1280	<i>p</i> -Simen	0,1
1337	Geijeren	0,5
1349	1-Trideken	0,5
1393	3-Oktanöl	0,1
1400	Nonanal	0,3
1443	Dimetil tetradekan*	0,7
1452	1-Okten-3-öl	0,5
1495	Bisikloelemen	0,2
1497	α -Kopaen	1,0
1535	β -Bourbonen	1,3
1553	Linalool	0,8
1568	trans- α -bergamoten	0,2
1591	Pregeijeren	1,9
1600	β -Elemen	0,2
1612	β -Karyofillen	6,6
1628	Aromadendren	0,1
1638	β -Siklositral	tr
1668	(Z)- β -Farnesen	4,9
1669	Seskisabinen	0,6
1683	trans-Verbenöl	0,5
1687	α -Humulen	0,6

Çizelge 4.1. (devam) *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının kimyasal bileşimi

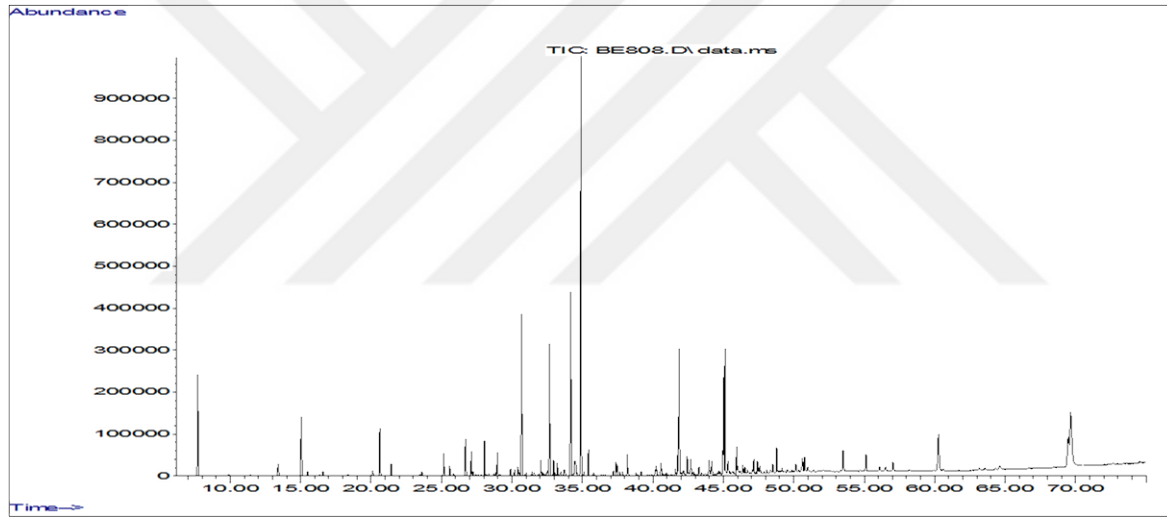
1688	Selina-4,11-dien (=4,11-Ödesmadien)	0,1
1706	α -Terpineol	0,1
1726	Germakren D	7,2
1741	β -Bisabolen	0,5
1742	β -Selinen	0,6
1751	Karvon	0,1
1755	Bisiklogermakren	21,3
1773	δ -Kadinen	1,0
1808	Nerol	tr
1827	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	0,4
1838	(<i>E</i>)- β -Damaskenon	0,9
1857	Geraniol	0,3
1868	(<i>E</i>)-Geranil aseton	0,9
1900	<i>epi</i> -Kubebol	0,1
1945	1,5-Epoksi-salvial(4)14-en	0,2
1958	(<i>E</i>)- β -İyonon	0,5
2001	İzokaryofillen oksit	0,3
2008	Karyofillen oksit	5,2
2104	Viridiflorol	0,5
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	3,5
2144	Spatulenol	4,4
2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0,8
2179	Nor-Kopaonon	0,1
2200	3,4-Dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on	0,1
2209	T-Muurolol	0,1
2232	α -Bisabolol	0,5
2247	<i>trans</i> - α -Bergamotol	0,4
2255	α -Kadinol	0,1
2289	Okso- α -Ylangen	0,3
2300	Trikozan	1,1

Çizelge 4.1. (devam) *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının kimyasal bileşimi

2384	Farnesil aseton	0,6
2500	Pentakozan	1,3
2600	Hekzakozan	3,4
2622	Fitol	0,6
2900	Nonakozan	4,4
2931	Hekzadekanoik asit	4,3
	Total	94,8

RRI: *n*-alkan serisine göre hesaplanan relatif tutunma indisleri; % : FID verisinden hesaplanmıştır;

tr: Eser miktar (< 0,1 %); * İzomer tanımlanamadı.



Şekil 4.1. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının GC/MS kromatogramı

4.3. Sitotoksik Aktivite Sonuçları

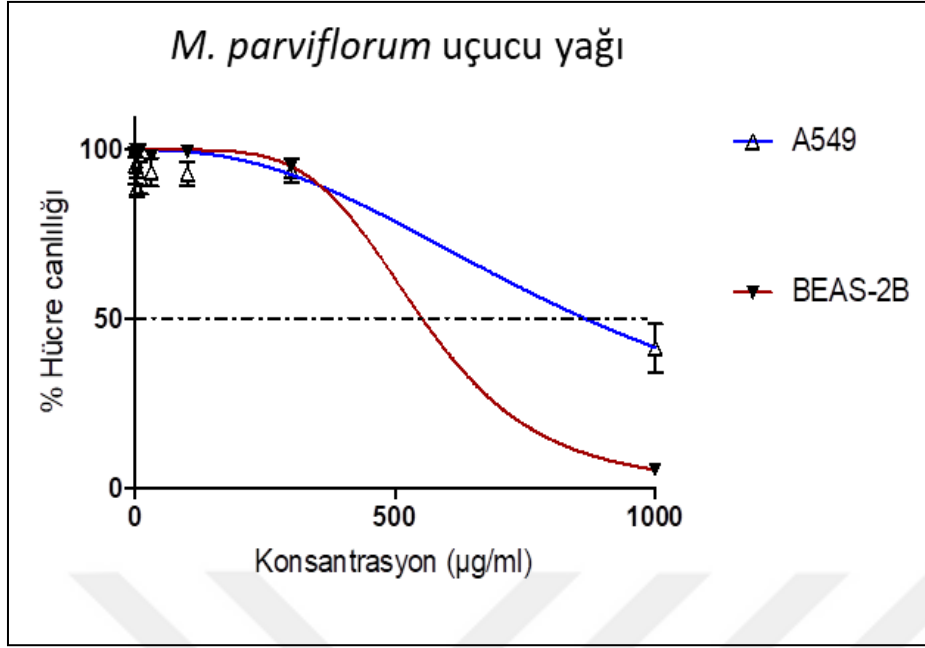
Çalışmamızda, *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'dan elde edilen uçucu yağın BEAS-2B ve A549 hücrelerine 1-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında, 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığında gözlenen değişimler Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Uçucu yağ, BEAS-2B hücresinde 1000 µg/mL konsantrasyonda hem biyolojik hem de istatistiksel olarak anlamlılık göstererek hücre canlılığını %5,36 değerine düşürmüştür ($p < 0,05$). A549 hücresine karşı ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik aktivite 1000 µg/mL konsantrasyonda %41,29 hücre canlılığı ile belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'dan elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu konsantrasyona bağlı % hücre canlılığı sonuçları

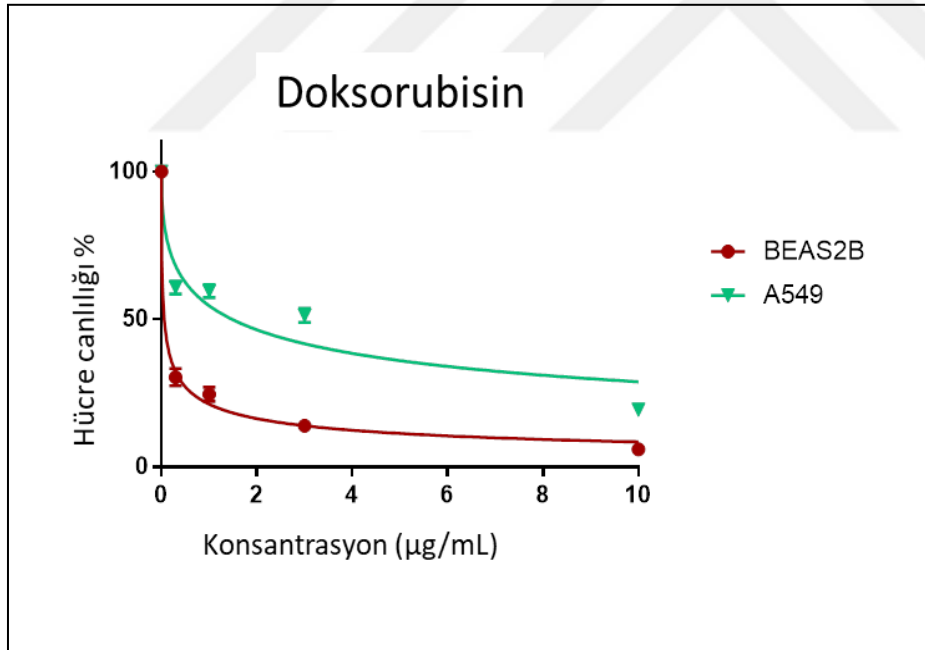
% Hücre canlılığı (ort ± standart hata)		
Kons. (µg/mL)	BEAS-2B	A549
0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
1	97,52 ± 1,86	95,33 ± 2,20
3	92,86 ± 1,93	88,86 ± 1,25
10	99,83 ± 1,25	91,49 ± 1,96
30	97,86 ± 1,10	93,24 ± 1,68
100	99,27 ± 2,09	92,84 ± 1,50
300	95,05 ± 1,11	93,77 ± 1,48
1000	5,36 ± 1,27*	41,29 ± 3,56*

*p<0,05; kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş.

Marrubium parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının sitotoksik aktivitesine ait IC₅₀ değeri, BEAS-2B hücreleri için 552,5 ± 33,2 µg/mL, A549 hücreleri için ise 866,4 ± 53,6 µg/mL olarak bulunmuştur (Şekil 4.2). Referans madde olarak kullanılan oldukça potent bir bileşik olan doksorubisin'in IC₅₀ değeri ise, BEAS-2B hücreleri için 0,06 ± 0,02 µg/mL ve A549 hücreleri için ise 1,48 ± 0,24 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*'dan elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi



Şekil 4.3. Pozitif kontrol olarak kullanılan doksorubisin'in BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi

4.4. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

M. parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşları üzerine antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, disk diffüzyon yöntemi ve MİK değerlerinin belirlendiği broth mikrodilüsyon yöntemleri uygulanmıştır.

Disk diffüzyon yöntemi sonuçları

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan disk diffüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3’de verilmiştir. Bulgularımıza göre, elde ettiğimiz sonuçlar referans madde kloramfenikol’e yakın değerlerde tespit edilmiş olup, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213’un *M. parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağına karşı oluşturdukları zon çapları sırasıyla 20,9 mm ve 15,8 mm olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.3. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağına ait disk difüzyon sonuçları (500 mg/mL)

Bakteri Suşları	İnhibisyon zon çapları (mm)	
	Uçucu yağ	kloramfenikol
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20,9±0,85	24,97±0,15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	15,8±0,75	20,17±0,29

Broth mikrodilüsyon metodu sonuçları

M. parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşları üzerinde MİK değerleri sırasıyla 3,9 mg/mL ve 7,8 mg/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4)

Çizelge 4.4. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağına ait broth mikrodilüsyon yöntemi sonuçları

Bakteri Suşları	Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3,9±0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	7,8±0

4.5. Antibiyofilm Aktivite Sonuçları

M. parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının antibiyofilm aktivitesi, biyofilm oluşturduğu bilinen enfeksiyon etkeni *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213 suşları üzerinde, sub-MİK konsantrasyonlarda, mikropilaka biyofilm testi uygulanarak belirlenmiştir. Antibiyofilm aktivite sonuçları yöntemde verilen yüzde biyofilm inhibisyonu formülüne göre hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 29213'un oluşturdukları biyofilmlerin inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %89,0 ve %84,4 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağına ait antibiyofilm aktivite sonuçları

Bakteri Suşları	İnhibisyon oranları (%)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	89,0±0,35
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	84,4±0,56

5. TARTIŞMA

Marrubium cinsi günümüzde halk arasında kullanımı ve modern tıptaki yeri bakımından önemli bir yere sahiptir. *Marrubium* cinsine ait birçok tür halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde, özellikle solunum yolu rahatsızlıklarında ve enflamasyonda kullanılmaktadır. Bilinen 40 türden yaklaşık 25 farklı tür, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin araştırıldığı birçok bilimsel çalışmanın konusu olmuştur. *Marrubium* cinsine ait türler içerdikleri terpenler, fenilpropanoitler ve flavonoidler nedeniyle önemli biyolojik aktivitelere sahip olmakla birlikte, potansiyel fitoterapötiklerin de önemli kaynağını oluşturmaktadır [14]. Tez çalışması kapsamında, Kayseri, Eski Pınarbaşı-Kaynar yolu bölgesinden toplanan, endemik *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kompozisyonu, antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir.

M. parviflorum subsp. *oligodon* bitkisinin kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları, Clevenger aparatında 3 s su distilasyonu işlemine tabi tutularak uçucu yağ elde edilmiş ve uçucu yağın kompozisyonu eş zamanlı GC ve GC/MS yöntemleri ile analiz edilerek belirlenmiştir. Analiz sonucuna göre, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının % 94,8'ini oluşturan 66 bileşen tanımlanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenleri bisiklogermakren (% 21,3), ardından germakren D (% 7,2), β -karyofillen (% 6,6) ve karyofillen oksit (% 5,2) olarak tespit edilmiştir. Daha az miktarlarda ise, (Z)- β -farnesen (%4,9), nonokozan (%4,4), spatulenol (%4,4) hekzadekanoik asit (%4,3), hekzahidrofarnesil aseton (%3,5), hekzakozan (%3,4), α -pinen (%3,2), limonen (%2,4) taşıdığı belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.1).

Yaptığımız literatür taramasına göre, *M. parviflorum*'un İran'da ve ülkemizde yetişen örneklerinin uçucu yağ bileşimlerinin incelendiği az sayıda çalışma Çizelge 5.1'de verilmiştir. İran kaynaklı *M. parviflorum* örneklerinin alt türleri çalışmalarda belirtilmemiştir. Khanavi, Ghasemian, Motlagh, Hadjiakhoondi ve Shafiee (2005) tarafından İran'da farklı bölgelerden toplanan *M. parviflorum* bitkisinin kurutulmuş topraküstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların, GC ve GC/MS analizleri yapılarak uçucu yağ içerikleri araştırılmıştır. *M. parviflorum* bitkisinin uçucu yağının majör bileşenler olarak bisiklogermakren (%26,3), germakren D (%21,5) ve β -karyofillen (%15,6), daha az miktarlarda ise limonen (%3,2), β -pinen (%2,4), geijeren

(%2,3), spatulenol (%2,2) ve (*E*)- β -farnesen (%2,0) içerdği tespit edilmiştir [32]. Hamedeyazdan, Zarei, Salem, Asnaashari ve Fathiazad (2017) tarafından İran'da yapılan çalışmada ise, *M. parviflorum* bitkisinin uçucu yağında ana bileşenler oleik asit (%11,8), α -pinen (%10,2) ve germakren D (%9,8) olarak belirlenirken, takiben bisiklogermakren (%5,8), fitol (%5,6), β -karyofillen (%5,3), karyofillen oksit (%5,2) ve 1-okten-3-ol (%5,1) içerdği bildirilmiştir [31]. Bu iki çalışmada germakren D majör bileşikler arasında yer alırken, iki bitkide de oldukça farklı oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. Farklı orijinlerden toplanan *Marrubium parviflorum* uçucu yağlarının analiz çalışmaları

Toplandığı yer/ yıl	Bitki materyali	Elde edilmiş metodu	Uçucu yağ verimi (%)	Ana bileşenler (%)	Kaynak
Nevşehir/1994	<i>M. parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu 3s	0,01	heksadekanoik asit (15,4) germakren D (11,1) β -karyofillen (10,0) (<i>E</i>)- β -farnesen (7,3)	[19]
İran/2001	<i>M. parviflorum</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu 3s	0,08	bisiklogermakren (26,3) germakren D (21,5) β -karyofillen (15,6)	[32]
İran/2014	<i>M. parviflorum</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu 2s	-	oleik asit (11,8) α -pinen (10,2) germakren D (9,8)	[31]
Afyon/2015	<i>M. parviflorum</i> subsp. <i>oligodon</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu 5s	0,012	(<i>Z,Z</i>)-farnesil aseton (19,28) karyofillen oksit (15,85) pulegon (7,15)	[20]
Bingöl/2016	<i>M. parviflorum</i> subsp. <i>parviflorum</i> yaprakları	-	-	β -karyofillen (20,3) germakren D (18,8) bisiklogermakren (10,2) spatulenol (7,3)	[21]

Ülkemizde Orta ve Doğu Anadolu’da yayılış gösteren ve halk arasında kullanıldığı tespit edilen endemik bitki *M. parviflorum* subsp. *oligodon*’un Afyon ve Nevşehir’den toplanan örneklerinin uçucu yağ bileşimleri bakımından incelendiği iki çalışma bulunmaktadır [19, 20]. Nevşehir’den toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri hekzadekanoik asit (%15,4), germakren D (%11,1), β -karyofillen (%10,0) ve (*E*)- β -farnesen (%7,3) olarak tespit edilmiştir [19]. Afyon’dan toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri ise (*Z,Z*)-farnesil aseton (%19,28), karyofillen oksit (%15,85) ve pulegon (%7,15) olarak belirlenmiştir [20]. Ayrıca, *M. parviflorum*’un diğer alt türü üzerinde yapılan bir çalışmada, Bingöl’den toplanan *M. parviflorum* subsp. *parviflorum* yapraklarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri β -karyofillen (%20,3), germakren D (%18,8), bisiklogermakren (%10,2) ve spatulenol (%7,3) olarak tespit edilmiştir [21].

Yapılan çalışmalar, *M. parviflorum* uçucu yağlarının bisiklogermakren, germakren D, β -karyofillen, karyofillen oksit gibi seskiterpenler bakımından zengin olduğunu, bunun yanında bazı monoterpenik bileşikler (α -pinen, pulegon gibi) ve yağ asitlerini (oleik, palmitik asit gibi) içerdiğini göstermiştir [19-21, 31-32]. Çalışmamızda, Kayseri’den topladığımız *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde ettiğimiz uçucu yağın diğer bölgelerden toplanan bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağlarla benzer seskiterpenleri içermekle birlikte farklılıklar da gösterdiği belirlenmiştir. Kayseri’den topladığımız bitki örneğinin yakın lokasyonda bulunan, Nevşehir’den toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon*’un kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ ile majör bileşenleri bakımından benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir [19]. Ayrıca, çalışmalar farklı alt tür olmakla birlikte, Bingöl’den toplanan *M. parviflorum* subsp. *parviflorum* örneğinin de çalışmamızdaki Kayseri’den toplanan ve literatürdeki Nevşehir’den toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* örneklerine uçucu yağlarının majör bileşenleri bakımından benzerlik gösterdiğini (β -karyofillen, germakren D ve bisiklogermakren) ortaya koymuştur (Bkz. Çizelge 5.1) [19,21]. Uçucu yağların bileşimindeki bu farklılıkların bitkinin genetiği, yetiştiği coğrafik koşullar ve iklim farklılıkları, yetiştiği yükseklik, bitkinin toplama zamanı, kurutma ve saklama koşulları gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bitkilerde organik asitler, fenolik bileşikler ve uçucu yağlar başlıca olmak üzere çeşitli bileşiklerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Uçucu yağların antimikrobiyal veya diğer biyolojik aktiviteleri biyoaktif uçucu bileşenlerin varlığı ile ilişkili bulunmuştur [52].

Çalışmamızda *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinden elde ettiğimiz uçucu yağ, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşlarına karşı disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak antimikrobiyal aktivite yönünden incelenmiştir. Sonuç olarak, uçucu yağın *E. coli* ve *S. aureus*'e karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu (sırasıyla zon çapları 20,9 mm ve 15,8 mm; MİK değerleri 3,9 mg/mL ve 7,8 mg/mL) belirlenmiştir.

Literatür taramasına göre, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* türüne ait antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonuçları Çizelge 5.2'de verilmiştir. Keleş, Ak, Bakırel ve Alpınar (2001) yaptığı çalışmada, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* yaprak ve çiçeklerinin etanol ekstresinin disk difüzyon yönteminde inhibisyon zon çapları *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883 için 8 mm, *Staphylococcus aureus* (Cowan I suşu) için 12 mm olarak, broth makrodilüsyon yönteminde ise MİK değerleri *S. aureus* (Cowan I suşu) için 1 mg/mL ve *K. pneumonia* için ise 4 mg/mL olarak bulunmuştur [42]. Yapılan diğer bir çalışmada ise *M. parviflorum* subsp. *oligodon* türünün yaprak ve gövdesine ait etanol ekstrelerinin mikrodilüsyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. En düşük MİK değeri *M. parviflorum* subsp. *oligodon* yaprak ekstresinin *Listeria monocytogenes* ATCC 96040 suşuna karşı (64 µg/mL), en yüksek MİK değerleri ise yaprak ve gövdesine ait etanol ekstrelerinin *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı (4096 µg/mL'dan büyük) hesaplanmıştır [41].

Çizelge 5.2. *M. parviflorum* subsp. *oligodon* türüne ait antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Materyal	Toplanılan yer/ yıl	Kullanılan mikroorganizmalar	Metod		Sonuçlar			Kaynak
Yaprak ve çiçek etanol ekstresi	Kastamonu 1999	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I suşu) <i>Streptococcus agalactia</i> (ATCC 7077) <i>Salmonella enteritidis</i> (ATCC 13076) <i>Salmonella gallinarum</i> (ATCC 9184) <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	Disk difüzyon yöntemi	İnhibisyon zonu (mm)	Kp	8		42
					Sa	12		
			Broth makrodilüsyon	Minimum İnhibitör konsantrasyon (MIK) (mg/ml)	Kp	4		
					Sa	1		
Yaprak etanol ekstresi ve gövde etanol ekstresi	Kayseri 2012	<i>Salmonella typhi</i> (CCM 5445) <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 96040) <i>Sterptococcus pneumoniae</i> (ATCC 29212) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) <i>Methiciline Resistant Staphylococcus aureus MRSA</i> (ATCC 43300) <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 15753) <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	Mikro dilüsyon	Minimum İnhibitör konsantrasyon (MIK) (µg/ml)		yaprak	gövde	41
					MRSA	1024	1024	
					<i>S. typhi</i>	4096	2048	
					<i>E.fecalis</i>	256	1024	
					<i>C. albicans</i>	>4096	>4096	
					<i>S. pneumoniae</i>	512	1024	
					<i>S. aureus</i>	1024	1024	
					<i>L. monocytogenes</i>	64	128	

Antimikrobiyal özelliklere sahip bitkiler antibiyotik kullanımıyla ilişkili güncel problemler nedeniyle birçok çalışmanın odak noktasında yer almaktadır. Bu bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve antimikrobiyal özellik gösteren çeşitli ekstraktlar, gıdalarda lezzet vermenin yanı sıra gıda endüstrisinde gıda güvenliğinde ve ilaç endüstrisinde kullanım alanı bulmaya

başlamıştır. Bu bağlamda yapılan çalışmalara bakıldığında, öncelikle antimikrobiyal etkiler üzerinde yoğunlaşıldığı görülmektedir. Ancak mevcut ilaçların hastalıkların tedavisinde gösterdikleri başarının azalması ile farklı çözüm yollarının araştırılması kaçınılmaz hale gelmiştir. Enfeksiyon gelişiminin en önemli etkenlerinden biri olan mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaları üzerine yapılan çalışmalar bunlardan biridir. Biyofilmler genellikle ıslak bir yüzey üzerinde polisakkaritler, proteinler ve çeşitli organik moleküllerden oluşan jelsi bir yapı oluşturur [53]. Biyofilm oluşumu ile hastalık etkeni mikroorganizmalar tedavide kullanılan ilaç ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirebilmektedir. Biyofilme yer alan mikroorganizmaların planktonik formlarına göre antibiyotiklere 100-1000 kat daha dirençli olduğu gözlenmiştir [54]. Biyofilm yapısının oluşumunun engellenmesi ya da yapının inhibe edilmesi, tedavide başarı oranını arttırmak amaçlı yapılan çalışmalar arasında oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda bitkilerden elde edilen uçucu yağ, ekstre ve fraksiyonların *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Listeria monocytogenes* gibi mikroorganizmalara karşı antibiyofilm aktivitesi kanıtlanmıştır [53]. Çalışmamızda, antibiyofilm aktivitenin belirlenmesinde biyofilm oluşturduğu bilinen ve enfeksiyon etkeni olan *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşları seçilmiştir. Uygulanan mikropilaka biyofilm testinde, kristal viyole ile boyama yapılmış ve 595 nm dalga boyunda optik dansite değerleri ölçülerek % biyofilm inhibisyonu hesaplanmıştır. Sonuç olarak, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının *E. coli* ve *S. aureus*'un biyofilm oluşumuna karşı yüksek inhibisyon gösterdiği (sırasıyla inhibisyon oranları %89,0 ve %84,4) belirlenmiştir. Yaptığımız literatür taraması sonucunda, *Marrubium* cinsine ait antibiyofilm aktivite çalışmalarına ait sonuçlar Çizelge 5.3'de bir araya getirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, *M. vulgare* yapraklarının etanol ekstresinin *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı %53,3 azalma ile antibiyofilm aktivite gösterdiği belirtilmiştir [55]. Chemsu ve diğerlerinin (2016) yaptığı bir çalışmada, *M. deserti* toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ ve metanol ekstresinin antibiyofilm aktivitesi mikropilaka biyofilm testi yöntemiyle araştırılmıştır. En yüksek antibiyofilm aktivite metanol ekstresi (25 mg/mL) için *Micrococcus luteus* NRRL B-4375 suşuna karşı %69,31, uçucu yağ (25 µL/mL) için ise *Candida albicans* ATCC 10239 suşuna karşı %36,62 olarak hesaplanmıştır [56]. *M. vulgare* türü üzerine yapılan bir araştırmada, etanol ekstresinin 2,5 mg/ml konsantrasyonda antibiyofilm aktivitesi *Streptococcus mutans* ATCC 25175 suşuna karşı mikropilaka biyofilm test yöntemi kullanılarak %85,60 olarak tespit edilmiştir [57].

Çizelge 5.3. *Marrubium* cinsine ait antibiyofilm aktivite çalışmaları

Bitki ve bitki materyali	Mikroorganizma	Yöntem	% İnhibisyon	Kaynak
<i>M. vulgare</i> yaprakları etanol ekstresi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kristal viyole	53,3	55
<i>M. deserti</i> toprak üstü kısımları uçucu yağı	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Mikroplaka biyofilm	19,21	56
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P		4,96	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> MU 30		29,81	
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		27,98	
	<i>Bacillus cereus</i> RSKK 863		26,66	
	<i>Micrococcus luteus</i> NRRL B-4375		23,75	
	<i>Streptococcus mutans</i> CNCTC8/77		20,36	
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10239		36,62	
<i>M. deserti</i> toprak üstü kısımları metanol ekstresi	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Mikroplaka biyofilm	28,90	57
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P		27,25	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> MU 30		56,28	
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		7,57	
	<i>Bacillus cereus</i> RSKK 863		49,66	
	<i>Micrococcus luteus</i> NRRL B-4375		69,31	
	<i>Streptococcus mutans</i> CNCTC 8/77		29,27	
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10239		34,32	
<i>M. vulgare</i> etanol ekstresi	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Mikroplaka biyofilm	85,60	57

Çalışmamızda, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın insan epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattına (BEAS-2B) karşı sitotoksik aktiviteleri MTT test yöntemiyle % canlılık ve IC₅₀ değerleri ölçülerek araştırılmıştır. Sonuç olarak, uçucu yağın A549 kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik aktivite (hücre canlılığı 1000 µg/mL konsantrasyonda % 41,29 ve IC₅₀ değeri: 866,4 µg/mL) gösterdiği tespit edilmiştir. *Marrubium* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları Çizelge 5.4’de toplanmıştır. Literatür araştırmamıza genel olarak baktığımızda, *Marrubium* cinsine ait çeşitli türlerden hazırlanan farklı ekstratlar ve fraksiyonların sitotoksik aktivitesinin farklı kanser hücre hatlarına karşı incelendiği görülmektedir. *Marrubium* cinsinin sitotoksik aktivite bakımından en fazla çalışılan türü *M. vulgare* olarak görülmektedir (Bkz. Çizelge 5.4). Zarai ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmada, *M. vulgare* uçucu yağının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi incelenmiş, IC₅₀ değeri 0,258 µg/mL ve hücre canlılığı %0,31 olarak bulunarak yüksek sitotoksik aktivite tespit edilmiştir [58]. *M. cylleneum* kurutulmuş toprak üstü kısımlarından izole edilen ptilin adlı bileşiğin periferik kan lenfositlerine karşı sitotoksik etkisinin incelendiği çalışmada, hücre canlılığı %21±25 olarak bulunmuştur [59]. *M. cylleneum* metanol ekstresinden elde edilen çeşitli fraksiyonların A375 (insan melanoma) ve BJ (Normal insan cilt fibroblast) hücre hatları üzerinde yapılan araştırmada ise, A375 hücre hattına karşı nonhidrolize fenolik asit fraksiyonunun IC₅₀ değeri 142,03 µg/mL olarak hesaplanmıştır [60]. Başka bir araştırmada ise, *M. astracanicum* subsp. *macrodon* kurutulmuş toprak üstü kısımlarından elde edilen çeşitli ekstratların L6 (Rat iskelet miyoblast) hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiş ve *n*-hekzan ekstresinin IC₅₀ değeri 88,3 µg/mL olarak tespit edilmiştir [61].

Çizelge 5.4. *Marrubium* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları

Test	Bitki Kısım	Test materyali	Hücre hattı	IC ₅₀	% Canlılık	Kaynak
MTT	<i>M. vulgare</i> kurutulmuş toprak üstü kısımlar	Hekzan ekstresi	RD(Embriyonal rabdomiyosarkoma)	23,67±2,20	-	62
		Diklorometan ekstresi		-	-	
		Metanol ekstresi		-	-	
		Hekzan ekstresi	BSR(Hamster böbrek adenokarsinoma)	128,8±7,73	-	
		Diklorometan ekstresi		26,42±2,7	-	
		Metanol ekstresi		97,8±5	-	
		Hekzan ekstresi	Vero(Maymun böbrek kanser hücre hattı)	30,12±3	-	
		Diklorometan ekstresi		50±3,68	-	
		Metanol ekstresi		145±8,2	-	
Tripan mavisi	<i>M. cylleneum</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Piloin bileşiği	Periferik kan lenfositleri	-	%21±2,5	59
MTT	<i>M. vulgare</i> taze toprak üstü kısımları	Uçucu yağ	HeLa (Servikal kanser)	0,258 µg/mL	%00,31 (1000 µg/mL uçucu yağda)	58
Luminesens tayini (Alamar mavisi)	<i>M. astracanicum</i> subsp. <i>macrodon</i> kurutulmuş toprak üstü kısımları	Metanol ekstresi	L6 (Rat iskelet miyoblast)	>90 µg/mL		61
		n-Hekzan ekstresi		88,3 µg/mL		
		Kloroform ekstresi		>90 µg/mL		
		Su ekstresi		>90 µg/mL		

Çizelge 5.4. (devam) *Marrubium* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları

Luminesens tayini	<i>M. vulgare</i> toprak üstü kısımları	Metanol ekstresinin diklorometan fr.	LN229 (Glioblastoma)	>50 µg/mL	>%50	63
			T98G (Glioblastoma multiforme)	>50 µg/mL	>%50	
			U87MG (Glioblastoma)	>50 µg/mL	>%40	
			Jurkat (Akut T-lösemi hücresi)	11,54±2,83 µg/mL	< %6	
			Jeko-1 (Non-Hodgkin lenfoma)	6,04±2,77 µg/mL	< %6	
			SW620 (Kolorektal adenokarsinom)	10,58±4,37 µg/mL	%33,11	
			SW480 (Kolorektal adenokarsinom)	-	>%60	
			PC-3 (Prostat adenokarsinom)	>50 µg/mL	>%40	
			U2OS (Osteosarkoma)	>50 µg/mL	>%40	
			NIH/3T3 (Normal embriyonik fibroblast hücresi)	-	-	
Luminesens tayini	<i>M. vulgare</i> toprak üstü kısımları	Metanol ekstresi	U87 (Glioblastoma multiforme)	270,3 µM	%69,9	64
			LN229 (Glioblastoma multiforme)	343,9 µM	%71	
			T98G (Glioblastoma multiforme)	336,6 µM	-	
Kristal viyole ve MTT	<i>M. vulgare</i> toprak üstü kısımları	Etanol ekstresi	B16 (Murin melanoma)	~120 µg/mL	-	65
			U251 Glioma	~120 µg/mL	-	
MTT	<i>M. vulgare</i> tüm bitki	Metanol ekstresi	Vero (Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücresi)	90 µg/mL	-	66
		Hekzan fr.		50 µg/mL	-	
		Kloroform fr.		140 µg/mL	-	
		Etil asetat fr.		-	-	
		<i>n</i> -butanol fr.		-	-	

Çizelge 5.4. (devam) *Marrubium* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları

MTT	<i>M. vulgare</i> çiçekli tüm bitki	MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	A375 melanoma)	(insan	74,16 µg/mL	-	60
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr.			-	-	
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr.			-	-	
		MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	BJ (Normal insan cilt fibroblast)	-	-		
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr		-	-		
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr		-	-		
MTT	<i>M. cylleneum</i> çiçekli tüm bitki	MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	A375 melanoma)	(insan	142,03µg/mL	-	60
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr.			-	-	
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr.			-	-	
		MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	BJ (Normal insan cilt fibroblast)	-	%68,2±11, 5		
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr		-	-		
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr.		-	-		

Çizelge 5.4. (devam) *Marrubium* türleri üzerinde yapılan sitotoksik aktivite araştırmaları

MTT	<i>M. friwaldskyanum</i> çiçekli tüm bitki	MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	A375 melanoma) (insan	75,49µg/mL	-	60
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr.		-	-	
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr.		-	-	
		MeOH ekstresinin nonhidrolize fenolik asit fr.	BJ (Normal insan cilt fibroblast	-	77,5±8,16	
		MeOH ekstresinin asidik hidroliz fr		-	-	
		MeOH ekstresinin alkali hidroliz fr.		-	-	

Sonuç olarak baktığımızda; tez çalışmamız ülkemizde endemik olarak yetişen, Kayseri bölgesinden toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin incelendiği ve bu uçucu yağın antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik aktivitelerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisinin kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kompozisyonu eş zamanlı GC ve GC/MS yöntemleri ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, uçucu yağın ana bileşenleri bisiklogermakren (%21,3), ardından germakren D (%7,2), β -karyofillen (%6,6) ve karyofillen oksit (%5,2) olarak tespit edilmiştir. Daha az miktarlarda ise, (Z)- β -farnesen (%4,9), nonokozan (%4,4), spatulenol (%4,4) hegzadekanoik asit (%4,3), hegzahidrofarnesil aseton (%3,5), hegzakozan (%3,4), α -pinen (%3,2) ve limonen (%2,4) taşıdığı belirlenmiştir.

M. parviflorum subsp. *oligodon* bitkisinden elde ettiğimiz uçucu yağın disk difüzyon yönteminde inhibisyon zon çapları, *E. coli* ATCC 25922 için 20,9 mm ve *S. aureus* ATCC 29213 için 15,8 mm olarak ölçülmüştür. Broth mikrodilüsyon yöntemi sonuçlarına göre ise MİK değerleri *E. coli* ATCC 25922 için 3,9 mg/mL ve *S. aureus* ATCC 29213 için ise 7,80 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda elde ettiğimiz uçucu yağın, *E. coli* ATCC 25922 için %89,0 ve *S. aureus* ATCC 29213 %84,4 biyofilm inhibisyon oranları tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz biyofilm inhibisyon oranlarına göre *M. parviflorum* subsp. *oligodon* uçucu yağının yüksek antibiyofilm aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

M. parviflorum subsp. *oligodon* uçucu yağının 1000 μ g/mL konsantrasyonda % hücre canlılığı BEAS-2B hücreleri için 5,36 ve A549 hücre hattı için ise %41,29 olarak ölçülmüştür. Uçucu yağın IC₅₀ değerleri BEAS-2B ve A549 hücre hattına karşı sırasıyla 552,5 μ g/mL ve 866,4 μ g/mL olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamız, Kayseri'den toplanan *M. parviflorum* subsp. *oligodon*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlendiği kapsamlı bir çalışma olup, antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik aktivitelerinin incelendiği ilk çalışmadır.

Sonuçlarımıza göre, *M. parviflorum* subsp. *oligodon* bitkisi potansiyel etkili antimikrobiyal, antibiyofilm ve sitotoksik bileşenleri keşfetmek için önemli bir kaynak olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma, ülkemizde endemik olarak yayılım gösteren ve halk

arasında kullanımı bulunan *M. parviflorum* subsp. *oligodon*'un tıbbi bitki olarak potansiyelinin ortaya konmasında önemli bir rapor niteliğindedir.



KAYNAKLAR

1. Avcı, M. (2005). Çeşitlilik ve endemizm açısından Türkiye'nin bitki örtüsü. *Coğrafya Dergisi*, 13, 27-55
2. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Pteridophyta and Spermatophyta)*, 1-246, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, ISBN: 975-93611-0-8, Barışcan Ofset Ankara.
3. Aytaç, Z., Akgül, G. and Ekici, M. (2012). A new species of *Marrubium* (Lamiaceae) from Central Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 36, 443-449.
4. Celep, F. and Dirmenci, T. (2017). Systematic and biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Naturel Volatiles & Essential Oils*, 4 (4), 14-27.
5. Rigano, D., Aviello, G., Bruno, M., Formisano, C., Rosselli, S., Capasso, R., Senatore, F., Izzo, A.A. and Borrelli, F. (2009). Antispasmodic effects and structure-activity relationships of labdane diterpenoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Journal of Natural Products*, 72(8), 1477–1481.
6. De Jesus, R.A.P., Cechinel-Filho, V., Oliveria, A.E. and Schlemper, V. (1999). Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*, 7(2), 111-115.
7. El Bardai, S., Morel, N., Wibo, M., Fabre, N., Llabres, G., Lyoussi, B. and Leclercq, J.Q. (2003). The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Planta Media*, 69, 75-77.
8. Kurbatova, N.V, Muzychkina, R.A, Mukhitdinov, N.M. and Parshina, G.N. (2003). Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *M. alternides*. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(5), 501-502.
9. Mohammed, N.H. (2010). Anticancer activity of *Marrubium alysson* L. and its phenolic constituents., A.S. Awaad, J.N. Govil, V.K. Singh. (Editörler). *Drug plants*. Houston. Stadium Press LLC, s. 185–193.
10. Stankovic, M.S. (2011) Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujev Journal of Science*, 33:63-72.
11. Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M. and Bailleul, F. (2002). Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 389-392.

12. Rigano, D., Formisano, C., Basile, A., Lavitola, A., Senatore, F., Rosselli, S. and Bruno, M. (2007). Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytotherapy Research*, 21, 395–397.
13. Loizzo, M.R, Saabb, A.M, Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, G.A., de Cindio, B., Houghton, P.J. and Menichini, F. (2008). *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 109-16.
14. Meyre-Silva, C. and Cechinel-Filho, V. (2010). A review of the chemical and pharmacological aspects of the genus *Marrubium*. *Current Pharmaceutical Design*, 16(31), 3503-3518.
15. Cullen, J. (1982). *Marrubium* L. In: Davis P.H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol. 7, 165-178.
16. Altundağ, E. and Öztürk, M., (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Science*, 19, 756–777.
17. Senkardes, I. and Tuzlaci, E. (2016). Wild edible plants of southern part of Nevşehir in Turkey. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20, 34-43.
18. Bal, Y. (1989). Terpenoids and a flavone from *Marrubium parviflorum*. *Marmara Üniversitesi Eczacılık Dergisi*, 5(1), 89-91.
19. Bal, Y., Kaban, S., Kirimer, N. and Baser, K.H.C. (1999). Composition of the essential oil of *Marrubium parviflorum* Fisch. et Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold. *Journal of Essential Oil Research*, 11(3), 300-302.
20. Sarikurkcü, C., Ozer, M.S., Calli, N. and Popović-Djordjević, J. (2018). Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Marrubium parviflorum* subsp. *oligodon*. *Industrial Crops and Products*, 119, 209-213.
21. Kılıç, Ö. (2018). *Marrubium parviflorum* subsp. *parviflorum* bitkisinin yağ asidi ve uçucu yağ kompozisyonu. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6(1), 487-491.
22. Davis, P.H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol.7.
23. Baytop, A. (1996). *Farmasötik Botanik Ders Kitabı* (5. Baskı). İstanbul: İ.Ü. Basım Evi ve Film Merkezi, 3637.
24. Thorne, R.F. (1992). Classification and geography of the flowering plants. *The Botanical Review*, 58 (3), 225-348.

25. Giuliani, C. and Bini, L. M. (2008). Insight into the structure and chemistry of glandular trichomes of Labiatae, with emphasis on subfamily Lamioideae. *Plant Systematics and Evolution*, 276, 199-208.
26. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T. (Editörler). (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 1-887.
27. Çakır-Dindar, E.G. and Duman, H. (2020). İliç-Kemah (Erzincan) jips florası. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 7(1), 16-46.
28. İnternet: *Marrubium parviflorum* Fisch. et Mey. subsp. *oligodon* (Boiss.) Seybold. Web: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7627. Son Erişim Tarihi: 17.12.2020.
29. Adıgüzel, N., Bani, B. and Pınar, S.M. (2006). Rare and endemic species from Van and Hakkari provinces, East Anatolia/Turkey and their threat categories. *Plant, Fungal and Habitat Diversity Investigation and Conservation*, 229-233.
30. Akçiçek, E. and Vural, M. (2007). Kumalar dağı (Afyonkarahisar)'nın endemik ve nadir bitkileri. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(2), 78-86.
31. Hamedeyazdan, S., Zarei, M., Salem, A., Asnaashari, S. and Fathiazad, F. (2017). Essential oil of two Iranian horehound species: *Marrubium propinquum* and *Marrubium parviflorum*. *Pharmaceutical Sciences*, 23, 143-149.
32. Khanavi, M., Ghasemian, L., Motlagh, E.H., Hadjiakhoondi, A., and Shafiee, A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A Mey. and *Marrubium vulgare* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(3), 324-326.
33. Bal, Y., Kaban, S. and Nizami, S.S. (1995). Anatolione: a new diterpene from *Marrubium parviflorum oligodon*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 38, 144-145.
34. Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S. and Maggio, A. (2006). The diterpenoids of the genus *Marrubium* (Lamiaceae). *Natural Product Communications*, 1(7), 585-592.
35. Altundağ, E. and Özhatay, N. (2008-2009). Local names of some useful plants from Iğdır province (East Anatolia). *İstanbul Eczacılık Fakültesi Mecmuası*, 40, 101-116.
36. Özüdoğru, B., Akaydın, G., Erik, S. and Yeşilada E. (2011). Inferences from an ethnobotanical field expedition in the selected locations of Sivas and Yozgat provinces (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 85-98.

37. Kiasi, Y., Forouzeh, M.R., Mirdeilami, S.Z. and Niknahad-Gharmakher, H. (2020). Ethnobotanical study on the medicinal plants in khosh Yeilagh rangeland, Golestan province, Iran. Research Square (DOI: 10.21203/rs.3.rs-103978/v1).
38. Yumrutas, O. and Saygideger-Demirors, S. (2010). Determination of *in vitro* antioxidant activities of different extracts of *Marrubium parviflorum* Fish et Mey. and *Lamium amplexicaule* L. from South east of Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(20), 2164-2172.
39. Delnavazi, M.R., Yassa, N., Shakeri, A. and Rostamiasrabadi, P. (2017). *Marrubium parviflorum* Fisch. & C.A.Mey.; phytochemical constituents and antioxidant activity. *Research Journal of Pharmacognosy*, 4, 79.
40. Khanavi, M., Delnavazi, M., Nikoui, V., Ostadhadi S. and Bakhtiarian, A. (2012). Evaluation of analgesic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium parviflorum* by formalin test in mice. *Asian Journal of Plant Sciences*, 11(2), 96-99.
41. Yalçın, H. (2012). *Marrubium depauperatum* Boiss. et Ball., *Marrubium parviflorum* Fish. et Mey. ssp. *oligodon* (Boiss.) Seybold ve *Marrubium x anatolicum* Akgul & Dadandı (Lamiaceae) türlerinin morfolojik özellikleri ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir.
42. Keleş, O., Ak, S., Bakirel, T. ve Alpınar, K. (2001). Türkiye’de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel etkisinin incelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 25(4), 559-565.
43. McLafferty, F. W. and Stauffer, D.B. (1989). *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, J Wiley and Sons: New York.
44. Hochmuth, D. H. (2008). MassFinder 4.0, Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg, Germany.
45. Van Meerloo, J., Kaspers, G.J. and Cloos, J., 2011. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Cancer Cell Culture*. Humana Press, pp. 237–245.
46. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
47. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

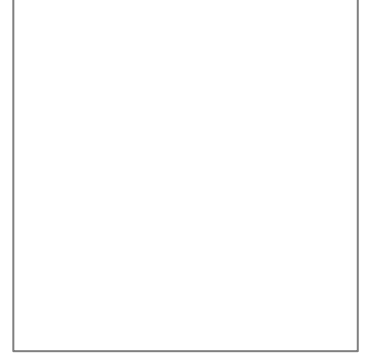
48. CLSI, Reference Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, 2nd ed., NCCLS document M27-A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2002.
49. Logoglu, E., Yilmaz, M., Katircioglu, H., Yakut, M. and Mercan, S. (2010). Synthesis and biological activity studies of furan derivatives. *Medicinal Chemistry Research* 19: 490-497.
50. Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M. and Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996-1006.
51. Erdönmez, D., Kenar, N. and Erkan Türkmen, K. (2018). Screening for anti-quorum sensing and anti-biofilm activity in *Viscum album* L. extracts and its biochemical composition, *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 19, 175-186.
52. Şengün, İ.Y. ve Öztürk, B. (2018). Bitkisel kaynaklı bazı doğal antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7(2), 256-276.
53. Bazargani, M. M. and Rohloff, J. (2016). Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms, *Food Control*, 61, 156-164.
54. Omar, A., Wright, J., Schultz, G., Burrell, R. and Nadworny, P. (2017) Microbial biofilms and chronic wounds. *Microorganisms*, 5(9), 1-15.
55. Elmanama, A.A. and Mariam, R.A. (2017). Antimicrobial, anti-biofilm, anti-quorum sensing, antifungal and synergistic effects of some medicinal plants extracts. *IUG Journal of Natural and Engineering Studies*, 25(2), 198-207.
56. Chemsas, A.E., Zellagui, A., Öztürk, M., Erol, E., Ceylan, O., Duru, M.E. and Gherraf, N. (2016). Antibiofilm formation, antioxidant and anticholinesterase activities of essential oil and methanol extract of *Marrubium deserti* de Noé. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(3), 993-1000.
57. Altın, A. and Saraç, N. (2017, 5-8 Temmuz). *The Anticariogenic and Antibiofilm Activities of Marrubium vulgare* L. The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity sempozyumunda sunuldu, Minsk, BELARUS.
58. Zarai, Z., Kadri, A., Chobba, I. B., Mansour, R. B., Bekir, A., Mejdoub, H., and Gharsallah, N. (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in Health and Disease*, 10(161), 1-8.

59. Michelis, F., Tiligada, E., Skaltsa, H., Lazari, D., Skaltsounis, A.L. and Delitheos, A. (2002). Effects of the flavonoid pilloin isolated from *Marrubium cylleneum* on mitogen-induced lymphocyte transformation. *Pharmaceutical Biology*, 40(4), 245-248.
60. Kozyra, M., Korga, A., Ostrowska, M., Humeniuk, E., Adamczuk, G., Gieroba, R., Makuch-Kocka, A., and Dudka, J. (2019). Cytotoxic activity of methanolic fractions of different *Marrubium* spp. against melanoma cells is independent of antioxidant activity and total phenolic content. *FEBS Open Bio*, 1-10.
61. Kırmızıbekmez, H., Atay, İ., Kaiser, M., Yeşilada, E. and Taşdemir, D. (2011). In vitro antiprotozoal activity of extracts of five Turkish Lamiaceae species. *Natural Product Communications*, 6(11), 1697-1700.
62. Talbaoui, A., El Hamdaoui, L., Bouyahya, A., El Moussaouiti, M. and Bakri, Y. (2020). Chemical composition, in vitro cytotoxic, and antibacterial activities of Moroccan medicinal plants *Euphorbia resinifera* and *Marrubium vulgare*, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10(6), 7343-7355.
63. Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., Fernandez de Mattos, S., Amzazi, S., and Villalonga, P. (2013). Screening of North African medicinal plant extracts for cytotoxic activity against tumor cell lines. *European Journal of Medicinal Plants*, 3(3), 310-332.
64. Okur, M.E., Karakaş, N., Karadağ, A.E., Yılmaz R. and Demirci F. (2019). In vitro cytotoxicity evaluation of *Marrubium vulgare* L. methanol extract. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(4), 711-718.
65. Paunovic, V., Kosic, M., Djordjevic, S., Zugic, A., Djalina, N., Gasic, U., Trajkovic, V. and Harhaji-Trajkovic, J. (2016). *Marrubium vulgare* ethanolic extract induces proliferation block, apoptosis, and cytoprotective autophagy in cancer cells in vitro. *Cellular and Molecular Biology*, 62(11), 108-114.
66. Fayyad, A. G. S., Ibrahim, N. and Yaakob, W. A. (2014). Phytochemical screening and antiviral activity of *Marrubium vulgare*. *Malaysian Journal of Microbiology*, 10(2), 106-111.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BAŞ, Şeyma
Uyruğu : T. C.



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Devam ediyor
Lisans	Marmara Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	2015
Lise	Akçaabat Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2020-Devam ediyor	Kocaeli Üniversitesi Hastanesi	Eczacı
2015-2017	Özel Medilife Çapa Hastanesi	Mesul Müdür Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..