

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	IV
Resimler	V
Tablolar	VI
Kısaltmalar	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2. 1. Botanik bilgiler	7
2. 1. 1. Labiatae (Lamiaceae) familyası	7
2. 1. 2. <i>Melissa</i> cinsi	7
2. 1. 3. <i>Melissa officinalis</i>	8
2. 2. Fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları	9
2. 2. 1. Fitokimyasal çalışmalar	9
2. 2. 1. 1. Uçucu bileşikler	9
2. 2. 1. 2. Fenolik bileşikler	11
2. 2. 1. 3. Triterpenik asitler	13
2. 2. 2. Biyoaktivite çalışmaları	13
2. 2. 2. 1. Anksiyolitik ve Sedatif etki	13
2. 2. 2. 2. Demans ve alzheimer üzerine etkisi	15
2. 2. 2. 3. Antioksidan aktivite	18
2. 2. 2. 4. Spazmolitik ve antiülser aktivite	21
2. 2. 2. 5. Antümör aktivite	23
2. 2. 2. 6. Antiviral aktivite	23
2. 2. 2. 7. Antimikrobiyal aktivite	25
2. 2. 2. 8. İnsektisit aktivite	26
2. 2. 2. 9. İmmün sistem üzerine etkisi	26
2. 2. 2. 10. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi	26
2. 3. <i>Melissae folium</i> 'un kullanılışı	29

2. 4. Damar endotel tabakasının fonksiyonu	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM	38
3. 1. Bitkisel materyal	38
3. 2. Kimyasal maddeler	38
3. 3. Deney hayvanları	39
3. 4. Ekstre hazırlanışı	39
3. 5. İzole organ banyosu deneyleri	39
3. 6. Rozmarinik asit miktar tayini	41
3. 6. 1. HPLC şartları	41
3. 7. Total fenolik bileşik miktar tayini	42
3. 8. İstatistiksel analiz	42
4. BULGULAR	43
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	52
7. ÖZET	54
8. ABSTRACT	56
9. KAYNAKLAR	58
10. ÖZGEÇMİŞ	70
11. TEŞEKKÜR	71

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Endoten kökenli nitrik oksit sentezi ve etki mekanizması	32
Şekil 2: Hiperhomosisteineminin koroner ve periferik dolaşımdaki ateroskleroz ve aterotromboz için değiştirilebilir bir risk faktörü olarak kabul edilmesi	33
Şekil 3: Endojen oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge	34
Şekil 4: Kardiyovasküler hastalığın mekanizmasında NO ile reaktif oksijen radikalleri arasında olduğu düşünülen etkileşimler	36
Şekil 5: Risk faktörleri, endotel, disfonksiyonu, aterogenez ve kardiyovasküler olayların ilerlemesi arasında öne sürülmüş ilişkiler	37
Şekil 6: MOO'nin fenilefrin ile kontrakte endotelli ve endotelsiz izole torasik halkalarında gösterdiği gevşeme grafiği (%), kontrole göre, $p<0.05$ $n=8$	43
Şekil 7: MOO'nin ortama NO inhibitörü (L-NAME), EDHF inhibitörü (Glibenklamid) ve Prostaglandin inhibitörü (İndometazin) eklendikten sonra izole torasik aort halkalarında gösterdiği gevşeme grafiği (%), kontrole göre, $p<0.05$ $n=8$	44
Şekil 8: MOO ekstreminin 0.001-1 mg/ml doz aralığında Endotelli, Endotelsiz ve Glibenklamid, İndometazin ve L-NAME ile muamele edilmiş izole aort halkalarındaki gevşeme grafiği (%), kontrole göre, $p<0.05$ $n=8$	45
Şekil 9: Rozmarinik asidin endotelli torasik aort halkalarındaki gevşeme grafiği (%), ($p<0.05$, $n=4$)	46

RESİMLER

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: <i>Melissa officinalis</i> subspecies <i>officinalis</i>	6
Resim 2. Melissae folium	29

T A B L O L A R

Sayfa No

Tablo 1: MOO ekstresinin 0.001-1 mg/ml doz aralığında
Endotelli, Endotelsiz ve Glibenklamid, İndometazin
ve L-NAME ile muamele edilmiş izole aort halkalarındaki
% gevşeme tablosu.

45

KISALTMALAR

ADAS-cog subskalası	Alzheimer Hastalığı Değerlendirme Skalasının kognitif subskalası
ACE	Anjiyotensin konverting enzim
ALP	Alkelen fosfataz
ALT	Alanin transaminaz
AST	Aspartat transaminaz
Ang II	Anjiyotensin II
BH ₄	Tetrahidrobiyopterin
CMAI)	Cohen–Mansfield Ajitasyon Skalası
CDR	Klinik Demans Puanlaması
DCM	Demans Bakım Haritası
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDHF	Endotel derived hiperpolarizing factor
EDNO	Endotel kaynaklı nitrik oksit
ENOS	Endotelyal nitrik oksit sentezi
FAD	Flavin adenin dinükleotid
GABA	Gama amino butirik asit
GC-MS	Gaz kromatografisi - kütle spektrometresi
cGMP	Siklik guanidin mono fostat
HDL	Yüksek densiteli lipoprotein
HIV-1	Human immuno deficiency virus
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
RS-HPLC	Ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HSV1	Herpes simplex virus 1
HSV2	Herpes simplex virus 2
İBS	İrritabl barsak sendromu
L-NAME	N ^ω -nitro-L-arjinin
LC-MS	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi
LDL	Düşük densiteli lipoprotein
MCP- 1	Monoksit kemotaktik protein -1;

MOO	<i>Melissa officinalis</i> subspecies <i>officinalis</i>
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	Nitrik oksit
PG E2	Prostaglandin
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
SOD	Süperoksit dismutaz
t-PA	Doku plazminojen aktivitar�
VCAM -1	Vasküler hücre adezyon molekülü -1

1. GİRİŞ

Melissa officinalis bitkisi İngilizce: Melissa, Balm, Sweet balm, Lemon balm, Cure-all; Almanca: Melisse, Zitronenkraut, Zitronenmelisse; Fransızca: Mélisse; Türkçe: Melisa, oğulotu, kovan otu, limon nanesi gibi isimlerle bilinmektedir¹⁻³ Biz, bazı yörelerde Arı otu denildiğine de rastladık. En sık kullanılan Oğulotu ismindeki **oğul** erkek çocuk anlamında değil, kovani bırakıp giden arı topluluğu anlamında kullanılmaktadır. Özellikle Trakya ve Batı Anadolu bölgesinde oğulotunun daha çok arıcılıkla uğraşan veya aile büyükleri arıcılık yapmış olan kişiler tarafından tanınmaktadır. Özellikle arıcılık yapanlar, oğulotunu oğul verme döneminde kullanmak üzere bahçelerinin bir köşesinde yetiştirdiklerini, oğul arı ve topluluğunu ancak oğulotunun kokusuyla yakalayabildiklerini ve bu şekilde kaçıp gitmelerini önlediklerini açıklamışlardır. Bitkinin Latince karşılığı *Melissa* da Yunanca -arı- demek olup Türkçe karşılıkları ile birebir örtüşmektedir⁴

Özellikle İstanbul ve çevresinde, drog alım satımı yapılan piyasada, oğulotu ve melisa farklı birer bitki olarak kabul edilmekte ve *Lippia triphylla* bitkisi “hakiki melisa otu” ismiyle satılmaktadır. Bu karışıklığın sebebi *Lippia triphylla* (Limon otu) yapraklarının morfolojik olarak oğulotu yapraklarına benzememesine rağmen uçucu yağının içerdiği sitral nedeniyle kuvvetli limon kokusunda olmasıdır^{1,5}

Tabip İbn-i Şerif 1425’de yazdığı Yadigar isimli tıp kitabında “oğulotu Arapca bandrenbuye, Farsca badrenbuye, Türkçe dadrenbu da denilen turunç kokulu bir bitkidir, yemeklere ıspanak yerine bile doğranıp yenir, ağız kokusunu giderir” demektedir.⁶ Fransız halk hekimi Maurice

Messegue "oğulotunun ne gibi harikalar yaratacağını ilk anlayan Arap hekimleri bitkinin kalp güçlendirici, iç açıcı olup tüm yaşamsal organları güçlendirmeye, nevrasteninin, iç sıkıntılarının, sinirsel baş ağrıların giderilmesine elverişli olduğunu ileri sürdüler. Rahip ve rahibeler oğulotunun yetiştirilmesini Araplardan öğrendikten sonradır ki papazlar bu konuda uzmanlaştı. Oğulotu suyu bütün dünyada ünlü bir ilaç olarak tanındı" demektedir.⁷

17. yüzyıl İngiliz hekimi olan Nicholas Culpeper, Complete Herbal adlı kitabında oğulotundan bahsederken, Arap hekimler bu bitkinin faydalarını göklere çıkarırken Yunanlılar bahse değer bulmamıştır ifadesini kullanmaktadır. Yine aynı eserinde, İbn-i Sina'nın "oğulotu sindirimi kolaylaştırır, beyindeki tıkanıklıkları açar, kalp ve damarlardaki kanı ve ruhu melankolinin sebep olduğu yan etkilerden temizler fakat bu etkisini vücuttaki diğer organlarda gösteremez" dediğini belirtmiştir⁸. Babulka da oğulotu ile ilgili makalesinde, İbn-i Sina'nın oğulotunu kardiyotonik olarak önerdiğini Paraselsus'un da etkili bir kardiyotropik bitki olarak belirttiğini yazmıştır⁹.

Nörolojik rahatsızlıklarda geleneksel kullanımı olan belli başlı Lübnan bitkileriyle yapılan bir çalışmada, oğulotunun o bölgede halk arasında migren ve mide rahatsızlıklarına karşı ve hafızayı kuvvetlendirmek için kullanılışı dışında kalbi kuvvetlendirici olarak da kullanıldığı açıklanmaktadır¹⁰. Ürdün'de yapılan bir çalışmada halk arasında en çok kullanılan 20 tıbbi bitkiden biri olan oğulotunun bu bölgede kalp ferahlatıcısı manasına gelen mifrahātül kalb ismiyle de anıldığı ifade edilmektedir¹¹. Bulgaristan tıbbi bitkileri arasında ön sıralarda yer alan oğulotu bu ülkede de geleneksel olarak antispazmodik ve sedatif olduğu kadar hipotansif amaçla da kullanılmaktadır¹².

Göçmenlerin özellikle de Bulgaristan göçmenlerinin yoğun olarak yaşadığı Trakya'da köylüler arasında kalbe ve tansiyona iyi gelir tarzında geleneksel kullanımına dair ifadeler de rastlanmaktadır. Kanaatime göre Bulgaristan ve Türkiye'nin bazı yörelerindeki geleneksel kullanımın bu anlamda örtüşmesi benzer kaynaklara dayanmaktadır.

Tüm bu geleneksel kullanıma ait bilgilere rağmen oğulotunun kardiyak aktivitesine ait literatür bilgisi oldukça kısıtlıdır. Bu konuda, çalışmamızın başlangıcında literatüre girmemiş olup daha sonraları yayımlanan ve oğulotunun antihiperlipidemik etkisini ortaya koyan iki çalışma^{13,14} ile MO sulu ekstrelerinin izole sıçan kalbindeki etkilerinin araştırıldığı 1 çalışma vardır¹⁵.

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nin açtığı Fitoterapi kursunda kardiyovasküler hastalıklarda kullanılan droglar konulu derste oğulotunun adının geçmemesi ve oğulotu monograflarında kalp hastalıklarında kullanıldığına dair bir bilginin bulunması beni oğulotu ve kalp hastalıkları konusu üzerinde bir araştırma yapılması gerektiği düşüncesine sevk eden ilk kıvılcım olmuştur. Sonraları hem poliklinikte karşılaştığım bazı hastalarımın hem de kır gezilerinde karşılaştığım köylülerden işittiğim kalbe ve tansiyona iyi gelir benzeri geleneksel kullanımına dair ifadeler bu düşüncemi pekiştirdi. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Fitoterapi programı yüksek lisans derslerinde de bitkinin kardiyovasküler sistem üzerine etkisi ile ilgili bilgi bulunmaması nedeniyle tez çalışmamı bu konuda yapmaya karar verdim.

Antihipertansif ve kardiyoprotektif olarak değişik kültürlerde geleneksel kullanımı olan birçok bitkisel ekstre organ banyosu tekniği ile çalışılmış ve etkili bulunmuştur¹⁶⁻²⁷. Biz de çalışmamızda aynı tekniği

kullanarak *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* (MOO) bitkisinin kardiyovasküler sistem üzerine etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Tezimi kaleme alırken rahmetli Vahdettin amcadan bahsetmemek olmazdı. Tıbbi bitkilerin geleneksel kullanımı konusunda oldukça deneyimli, bir dönem milletvekiliği de yapmış emekli kütüphaneci olan Vahdettin amca beni oğulotu ile ilk tanıştıran kişidir. Kendisiyle sıkça çıktığımız doğa yürüyüşlerinden birinde yanılmıyorsam Büyükderbent taraflarında bir noktada durdu; uzanıp yerden kopardığı bir yaprağı bana uzattı ve 'kokla' dedi. Ardından da ekledi. 'Korkma ısırmaz' Gerçekten de ilk bakışta ısırgana benzettiğim yaprağın elimi dalayacağından çekinmiştim. Yavaşça aldım, parmaklarımla ovaladım ve kokladım. Enfes limon kokusu burun deliklerimden beynime hücum ettiğinde oğulotuna olan tabiri caizse aşkım da başlamış oldu. Nedir bu dedim. Limon otu mu?" Hayır diye cevapladı. "Oğulotu. Limon kokusuyla tanınır ve bu kokusuyla arıları cezbeder. Yaprakları ilk bakışta kalbi andıran bu bitki kalp dostu olarak bilinir, kalp rahatsızlıklarında ve uykusuzlukta kullanılır.'Kokuların hatıraları canlandığı söylenir; oğulotunun limon kokusu da her zaman bu kıymetli büyüğümüzü hayırla yad etmeme vesile olmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

“*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis* Bitkisinin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisi” isimli çalışmamızla ilgili teorik bilgiler, botanik bilgiler, *Melissa officinalis* üzerinde yapılmış olan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları, *Melissae folium*’un kullanılışı ve damar entotel tabakasının fonksiyonu olmak üzere dört bölümde toplanmıştır.

Botanik bilgiler kısmında bitkinin ait olduğu familya, cins ve tür özellikleri verilmiştir. *Melissa officinalis* üzerinde yapılmış olan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları bölümünde, bitki üzerinde bugüne kadar yapılan araştırmaların sonuçları, üçüncü bölümde *Melissae folium*’un kullanılışı, dördüncü bölümde ise damar entotel tabakasının fonksiyonu hakkında bilgiler verilmiştir.



Resim 1: *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*

2. 1. Botanik bilgiler

Melissa L. cinsi Spermatophyta bölümünün Angiospermae altbölümü, Dicotyledonae sınıfı, Lamiales takımı, Labiales (Lamiaceae) familyası içerisinde yer almaktadır.

2. 1. 1. Labiales (Lamiaceae) familyası

Bu familya bitkileri otsu veya çalı formunda olup daha çok Akdeniz havzasında yayılış göstermektedir. Gövde 4 köşelidir. Yapraklar çoğunlukla basit, bazen parçalı, dekusat dizilişlidir. Çiçekler her nodusta verticillastrum durumunda, zigomorf ve bilabiattır. Uçucu yağ taşıyan Labiales tipi (sapı tek, başı 8 hücreli ve pul şeklinde) salgı tüyleri vardır. Çiçekler hermafrodit, kaliks 5 loblu, kalıcı, bazen bilabiattır. Korolla bilabiattır, üst dudak bazen eksiktir. Stamen 4 tane, çoğu zaman didinamdır, bazen 2 stamen bulunur. Ovaryum 2 karpelli, 4 gözlü ve üst durumludur, her gözde 1 ovül bulunur, stilus ginobaziktir. Meyva 4 nukstan meydana gelen bir şizokarptır. Eczacılık ve parfümeride yararlanılan bitkileri nedeniyle önemli bir familyadır ⁵

2. 1. 2. *Melissa* cinsi

Çok yıllık otsu bitkilerdir. Verticillastrumlar az ya da çok çiçekli. Kaliks tubular-kampanulat, iki dudaklı, üst dudak yassı ve 3 kısa dişli (Türkiye'deki türlerde orta diş genellikle kısa sivri uç şeklinde), alt dudak iki dişlidir. Korolla tübü ortasına kadar kavisli olup iki dudaklıdır. Üst dudak düz veya başlık şeklini andırır biçimde, emarginat, alt dudak 3 lobludur. Stamen 4 tane, filamentler birbirine yaklaşmıştır. Meyvalar düzdür²⁸.

Türkiye'de bir *Melissa* türü doğal olarak yetişmektedir ²⁸.

2. 1. 3. *Melissa officinalis*

28-95 cm veya daha uzun, dik, dallanmış, tüylü, çok yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar 18-95 X 12-75 mm, genişçe ovat, romboidal veya eliptik, kuneat-kordat, akut veya obtus, tabanı hariç derin krenat, uzun veya kısa ince tüylerle kaplı veya yarı çıplaktır. Vertisillastrumlar 4-12 çiçekli. Brakteoller yaprak biçiminde, dar ya da geniş ovat, 3–10 X 1,2-7 mm. Kaliks 6-10 mm, kısa salgı tüyü veya uzun örtü tüyleri taşır, üst dudak 2-3 dişli, ortadaki diş çoğu kez kısa sivri uç şeklinde veya yoktur, alt dudağın dişleri dar triangular-lanseolattır. Korolla (8-)9-14(-16) mm, beyazımsı açık sarı bazen açık leylak rengi²⁸.

Bitki Haziran-Eylül aylarında çiçeklidir. Deniz seviyesinden 1800 m ye kadar, orman açıklıkları, çalılıklar, makilikler, dere kenarları, boş araziler ve yol kenarlarında yetişmektedir²⁸.

Melissa officinalis'in Türkiye'de aşağıdaki anahtar yardımıyla birbirinden ayrılan 3 alttürü bulunmaktadır²⁸.

1. Gövdede uzun tüyler yok, çok kısa, ince salgı tüyleriyle kaplı, yapraklar tabanda kuneat, kaliksin üst dudağının orta dişi genişçe triangular

subspecies *officinalis*

1. Gövde çıplaktır ya da belirgin uzun tüyler vardır, yapraklar tabanda trunkat ya da subkordat, kaliksin üst dudağının orta dişi belirgin ya da kısa sivri uç şeklinde

2. Gövde ve yapraklar sık, uzun zayıf ya da sert-kısa tüylerle kaplıdır, az sayıda salgı tüyü vardır, kaliksin üst dudağının orta dişi kısa sivri uç şeklinde ya da yoktur

subspecies *altissima*

2. Gövde ve yapraklar sık, uzun zayıf ya da sert-kısa tüylerle kaplıdır, az sayıda salgı tüyü vardır, kaliksin üst dudağının orta dişi oldukça belirgin ve triangular

subspecies *inodora*

Bu üç alttürden yalnız subsp. *officinalis* limon kokulu olup tedavide kullanılmaktadır. Diğer 2 alttür kokusuz ya da fena kokulu oldukları için tedavi alanında kullanılmamaktadır¹.

Bizim üzerinde çalışma yaptığımız *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* bitkisi Güney Avrupa, Kafkasya, Kuzey İran ve Kuzey Irak da doğal olarak yetişmekte ve birçok ülkede de kültürü yapılmaktadır ve o yörelerde naturalize olmuştur. Türkiye’de de İstanbul, Bilecik, Bursa, Bolu, Ankara, Amasya, Samsun, Kütahya, Muğla, Tunceli ve Malatya yörelerinde yayılış göstermektedir²⁸.

2. 2. Fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları

2. 2. 1. Fitokimyasal çalışmalar

2. 2. 1. 1. Uçucu bileşikler

MO yapraklarındaki uçucu yağ miktarı bitkinin yetiştiği toprak ve iklim, yaprağın ilk ya da ikinci kesim olması gibi değişik faktörlere bağlı olarak % 0.02-0.3 arasında değişmektedir. Eğer özel şartlarda ve uygun bir iklimde kültürü yapılırsa uçucu yağ oranı %0,8 e kadar yükselmektedir³.

Carnat ve arkadaşları, MOO’in kurutulmuş yapraklarından hazırlanan infuzyonun aromatik içeriğini, kurutulmuş yaprakların infuzyon

hazırlanmadan önceki ve sonraki içeriği ile karşılaştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada kurutulmuş yaprakların % 0,32 oranında uçucu yağ içerdiğini göstermişlerdir. Uçucu yağın % 48'ini sitral (neral+geranial), % 40'ını sitronellal ve % 2'sini de β -karyofillen oluşturmaktadır. Aldehitler (%90) yönünden zengin olan infüzyon uçucu yağında sitral (%74) miktarı yüksek olup sitronellal %16 oranındadır. İnfüzyondan sonra yapraklardaki uçucu yağda sitral miktarı (%36) azalmıştır, sitronellal ise %43 oranındadır²⁹. Bu çalışmada tespit edilen ve %87'si aldehit, %3'ü hidrokarbon, %1'i oksit, %0,5'i ester ve %0,3'ü keton yapısında olan 14 adet uçucu yağ bileşen sayısı²⁹ bazı çalışmalarda 72'ye kadar çıkmaktadır³⁰.

Schultze ve arkadaşları ise MO uçucu yağının GC-MS analizi neticesinde 14 tane teşhis edilemeyen bileşik ile birlikte 72 bileşik bulunduğunu açıklamışlardır. Sitronellal %36 ile ana bileşen olup sitral (neral+geranial) % 12 civarında kalmaktadır³⁰.

Mulkens ve Kapetanidis, MO yapraklarından elde edilen uçucu yağ numunelerinin GC-MS analizi neticesinde 44 bileşen tayin etmişlerdir³¹.

Enjalbert ve arkadaşları da major bileşik olan sitral (neral ve geranial)'in Temmuz ayında toplanan bitkinin uçucu yağında %69, Ekim ayında toplanan da ise % 60.5 oranında olduğunu açıklamışlardır³².

Basta ve arkadaşları Yunanistan'da yetişen MO yapraklarından elde ettikleri uçucu yağın GC-MS analizini yapmışlar karyofillen oksit, (*E*)-karyofillen, sabinen ve β -pinen'in major bileşik olduğunu ancak sitral ve sitronellal bulunmadığını açıklamışlardır³³.

Mimica-Dukic ve arkadaşları MO uçucu yağının GC-MS analizinde major bileşik olan geranial (%23.4), neral (%16.5) ve sitronellal (%13.7)'in yanı sıra 40 bileşik saptamışlardır³⁴.

De Sousa ve arkadaşları MO uçucu yağının GC-MS analizinde major bileşik olan geranial (%47.32) ve neral (%39.28) dışında 8 bileşik saptamışlardır³⁵.

Baerheim Svendsen ve Merckx MO yapraklarında bulunan glukozitleri hidroliz etmişler ve GC-MS yöntemi ile *cis*-hekzen-1-ol, 1-hekzanol, okten-3-ol, 3-oktanol, benzil alkol, β -feniletıl alkol, nerol, geraniol, sitronellol ve öjenol gibi uçucu bileşiklerı aglikon olarak belirlemişlerdir³⁶.

Mulkens ve arkadaşları MO yapraklarından aglikonu nerol, geraniol, nerik asit, geranik asit, öjenol, benzil alkol ve β -feniletıl alkol olan 7 glukozit izole etmişlerdir³⁷.

Mulkens ve Kapetanidis ise yaptıkları çalışmada, daha önce geranik asit, nerol, geraniol, feniletıl alkol ve benzil alkol glikozitleri ile karışım halinde elde edilebilmiş olan öjenilglikozidi ilk defa saf olarak MO yapraklarından elde etmişlerdir³⁸.

2. 2. 1. 2. Fenolik bileşikler

Carnat ve arkadaşları, MOO nın kurutulmuş yapraklarından hazırlanan infuzyonun polifenolik içeriğini, kurutulmuş yaprakların infuzyon hazırlanmadan önceki ve sonraki içeriği ile karşılaştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada kurutulmuş yaprakların % 11.8 oranında polifenolik bileşikler (% 11.3'ü hidroksisinnamik asit türevleri ve

% 0,5'i flavonoit) içerdığını göstermişlerdir. Hidroksisinnamik asit türevleri arasında rozmarinik asit % 4,1 oranı ile ilk sırayı almıştır²⁹.

Mulkens ve Kapetanidis MO yapraklarını flavonoit yönünden çalıştıklarında luteolol-7-O-glukozit, apigenin-7-O-glukozit, izokersitrin ve ramnositrin izole etmişlerdir³⁹

Heitz ve arkadaşları MOO yapraklarından luteolol 3'-glukuronit'i major flavonoit olarak izole etmişlerdir⁴⁰.

Herodez ve arkadaşları HPLC analizi ile MO yapraklarının etanollü ektresinde, antioksidan olarak bilinen karnosik asit (fenolik asit)'in varlığını saptamışlardır⁴¹.

Karasova ve arkadaşları HPLC analizi neticesinde MO de gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik asit ve siringik asit bulunduğunu açıklamışlardır^{42,43}.

Hohmann ve arkadaşları MO topraküstü kısımlarından % 50 lik metanol ile hazırlanan ekstrede % 12.5 total hidroksisinnamik asit ve % 0.229 total flavonoit bulunduğunu ve ekstrenin antioksidan aktivite gösteren rozmarinik asit (%2.21), kafeik asit (%0.196), luteolol (%0.027) ve luteolol 7-O-glukozit (% 0.175) içerdığını açıklamışlardır⁴⁴

Lamaison ve arkadaşları Apiaceae, Boraginaceae ve Lamiaceae familyalarına ait bitkilerde yaptıkları çalışmada; *Sanicula*, *Lycopus*, *Mentha*, *Origanum*, *Salvia* türleri ve *Melissa officinalis*'in %3'ün üzerinde rozmarinik asit ihtiva ettiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada MO'de tayin edilen total hidroksisinnamik asit % 6.8, rozmarinik asit % 4.7 oranındadır. Aynı çalışmada bitkilerin antioksidan aktiviteleri de araştırılmış ve bu aktiviteden rozmarinik asit ön planda sorumlu tutulmuştur⁴⁵.

Tagashira ve arkadaşları MO yapraklarındaki antioksidan bileşenleri tayin için yaptıkları deneyde, rozmarinik asit dahil antioksidan özellikte 6 ana bileşen izole ettiklerini ve 1,3-benzodioksol yapısındaki 2-(3',4'-dihidroksifenil)-1,3-benzodioksol-5-aldehit'in bitkiden ilk kez elde edildiğini açıklamışlardır⁴⁶.

Toth ve arkadaşları Slovakya'da yetişen MO yapraklarındaki rozmarinik asit miktarını bitkinin çiçeklenme öncesi ve sonrasında araştırmışlardır. Bu çalışmada en yüksek rozmarinik asit miktarı bitki tamamen çiçeklendiğinde (%3,91), en düşük rozmarinik asit oranı ise çiçeklenmeden hemen önce (% 3,5) tespit edilmiştir⁴⁷.

2. 2. 1. 3. Triterpenik asitler

Herodez ve arkadaşları HPLC analizi ile MO yapraklarının etanolü ektresinde, antioksidan olarak bilinen ursolik asit ve oleanolik asit (triterpen asit)'in varlığını saptamışlardır⁴¹.

2. 2. 2. Biyoaktivite çalışmaları

Melissa officinalis ile gerek *in vitro* ve *in vivo* deneysel çalışmalar gerekse klinik çalışmalar olmak üzere birçok biyoaktivite çalışması yapılmıştır.

2. 2. 2. 1. Anksiyolitik ve Sedatif etki

Farelere 3-6 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanan %30 luk etanol ile hazırlanmış ve liyofilize edilmiş MO ekstresi, hipnotik dozda pentobarbital ile oluşturulan uykunun süresini uzatmış, daha düşük dozda pentobarbital verilen farelerde ise uyku oluşturmuştur. Ekstre 400 mg/kg dozda uygulandığında asetik asit ile oluşturulan ağrıyı azaltarak periferik analjezik aktivite göstermiştir⁴⁸.

MO sulu ekstresi 25-30 g ağırlığında erkek farelere 5, 10, 25, 50 mg dozda intraperitoneal olarak uygulanmış, doza bağlı olarak anksiyolitik ve hipnotik etki göstermiştir⁴⁹

MO uçucu yağı farelere oral yolla 3.16 mg/kg ve daha yüksek dozlarda verildiğinde sedatif ve narkotik etki göstermiştir⁵⁰.

MO uçucu yağı farelerde inhalasyonla hafif trankilizan etki oluşturmuştur⁵¹.

Açık, çok merkezli bir çalışmada, dissomnia ve huzursuzluk semptomları olan 12 yaşın altındaki 918 çocukta *Melissa officinalis* yaprak ekstresi ve *Valeriana officinalis* kök ekstresi içeren bir preperat denenmiş ve hastaların % 80.9'unda dissomnia şikayetinde, % 70'inde ise huzursuzluk şikayetinde iyileşme tespit edilmiştir⁵².

Yine benzer bir çalışmada MO ve *Valeriana officinalis* kombinasyonunun minör uyku bozukluğu tedavisindeki etkisi; randomize, plasebo kontrollü, çift kör, çok merkezli bir araştırmayla, sağlıklı bireylerde araştırılmış, MO/*Valeriana officinalis* grubunun uyku kalitesinde (%33) plasebo grubunun uyku kalitesine (%9) oranla anlamlı bir üstünlük gözlenmiştir⁵³.

Başka bir randomize, çift kör, plasebo kontrollü klinik çalışmada ise, MO ve *Valeriana officinalis* kombinasyonunun anksiyolitik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 24 sağlıklı gönüllüde DISS cihazı (Defined Intensity Stress Stimulator) ile yapay stres oluşturulmuş ardından MO/*Valeriana officinalis* kombinasyonu veya plasebo verilmiş, sonuç olarak MO/*Valeriana officinalis* kombinasyonu, laboratuvar ortamında oluşturulan stresin negatif etkilerini bertaraf etmiş ve Anksiyolitik etki göstermiştir⁵⁴.

2. 2. 2. 2. Demans ve alzheimer üzerine etkisi

MO yapraklarının etanollü ekstresi serebral korteks hücre membranları homojenatında nikotinik ve muskarinik reseptörlerden nikotin ve skopolamin salınmasını sağlamıştır⁵⁵.

Lübnan'da geleneksel olarak Alzheimer ve epilepside kullanıldığı bilinen ve aralarında MO'in de bulunduğu yedi bitkinin su, etanol ve etil asetat ekstresinin asetilkolinesteraz inhibisyonu, GABA reseptörüne bağlanma afinitesi ve serotonin geri alım reseptörüne bağlanma aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada MO etanol ekstresinin, epilepsi tedavisinde yararlı bir unsur olan endojen GABA reseptör sensitivitesini arttırıcı etkisi bulunan benzodiazepin alanındaki reseptöre zayıf da olsa bağlanma afinitesi gösterdiği tespit edilmiştir¹⁰.

Kanada'da yapılan benzer bir çalışmada bu ülkede ticari olarak kullanıma sunulan tıbbi bitkilerin GABA metabolizmasına etkili primer beyin enzimlerine doğrudan etki yapıp yapmadığı araştırılmıştır. Test edilen bitki ekstrelerinin % 70'inin etkisiz ya da çok az etkili bulunduğu bu

çalışmada, GABA transaminaz (GABA-T) aktivitesini en yüksek oranda inhibe eden MO sulu ekstresi olmuştur⁵⁶.

MO uçucu yağının % 50'nin üzerinde asetilkolinesteraz inhibitörü aktivite gösterdiği açıklanmıştır⁵⁷.

MO ekstresinin en önemli bileşeni sayılan rozmarinik asitle yapılan bir çalışmada ise sıçanlarda anksiyete, hafıza ve lokomotor aktivite üzerine rozmarinik asidin etkisi ölçülmüş ve görülmüştür ki rozmarinik asit anksiyolitik etki gösterirken lokomotor aktivite göstermemiş ayrıca beyin dokusunda da DNA zedelenmesi ile neticelenebilecek toksik bir etki gözlenmemiştir⁵⁸.

Ballard ve arkadaşlarının yürüttüğü çift kör, plasebo kontrollü klinik bir deneyde MO uçucu yağının aromaterapötik bir ajan olarak demansdaki etkinliği değerlendirilmiştir. Ağır demans tanısı konmuş ve klinik olarak belirgin ajitasyon gösteren ve yaş ortalaması 78.5 olan 72 hastanın katıldığı bu çalışmada 36 hastaya % 10 oranında MO uçucu yağı içeren bir losyon tatbik edilirken diğer gruba plasebo olarak ayçiçeği yağı içeren losyon tatbik edilmiştir. Dört haftanın sonunda hastalardaki ajitasyon değişikliği Cohen–Mansfield Ajitasyon Skalası (CMAI), hayat kalitesindeki değişiklikler ise Demans Bakım Haritası (DCM) ile değerlendirilmiştir. Tedaviyi 71 hasta tamamlamış, MO uçucu yağı kullanılanların % 60 ında, plasebo grubunun ise % 14 ünde CMAI skorunda % 30 a varan azalmalar tespit edilmiştir. Bu da ortalama, MO ile tedavi olan hastalarda % 35 plasebo kullanılanlarda ise % 11 lik bir ajitasyon azalmasına denk gelmektedir. Ayrıca MO uçucu yağı kullanan hastalarda yaşam kalitesinin plasebo grubuna oranla anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir⁵⁹.

Yine benzer bir çift kör, randomize, plasebo kontrollü klinik çalışmada ise MO ekstresi hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalarının tedavisinde denenmiş; 65 ile 80 yaş arasındaki 18 kadın ve 24 erkek hasta ile yapılan çalışmada 4 ay süreyle 21 hastaya MO ekstresi verilirken 21 hastaya da plasebo verilmiştir. Bu sürenin sonunda Alzheimer Hastalığı Değerlendirme Skalasının kognitif subskalası (ADAS-cog) ve Klinik Demans Puanlaması (CDR) ile hastaların kognitif fonksiyonlarındaki inisyal skorlara oranla değişimi ortaya konmuştur. Netice olarak MO ekstresinin plaseboya oranla kognitif fonksiyonda anlamlı bir iyileşme sağladığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada MO ve plasebo gruplarında yan etki görülme sıklığı eşit bulunurken, bir yan etki olarak değerlendirilen ajitasyona MO ekstresi verilenlerde daha az rastlanıldığı da belirtilmiştir⁶⁰.

Bir diğer randomize, çift kör, plasebo kontrollü klinik çalışmada; MO ekstresinin sağlıklı bireyler üzerinde gösterdiği kognitif performans ve ruhsal durum değişiklikleri gözlenmiştir. Bu amaçla yaş ortalaması 19.2 olan 20 sağlıklı gönüllüye, her dozdan sonra 7 gün ara verilerek, 300, 600, 900 mg dozda standardize MO yaprak ekstresi veya plasebo tek dozda verilmiştir. Katılımcıların tedavi öncesi ve 1.; 2,5.; 4. ve 6. saatlerde kognitif performansları değerlendirilmiş aynı zamanda oksipital korteks dokusundaki nikotinik ve muskarinik reseptörlerden nikotin ve skopolamin salınımının in vitro IC₅₀ konsantrasyonları ölçülmüştür. Elde edilen skorlar ışığında 600 mg MO ekstresi verilmesini takiben dikkati yoğunlaştırmada belirgin bir iyileşme, ikincil hafıza ve işlevsel hafıza faktörlerinde doz ve zaman bağımlı düzeltilmeler tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmayla MO'nin hem ruhsal durumu hem de kognitif performansı yükseltebileceği kanaatine varılmıştır⁶¹. Aynı araştırmacılar 20 sağlıklı gönüllüye, her dozdan sonra 7 gün ara vererek, 600, 1000 ve 1600 mg MO yaprak tozu içeren kapsül veya plaseboyu tek dozda vermiştir. Katılımcıların tedavi öncesi ve 1.; 3. ve 6. saatlerde kognitif performansları değerlendirilmiş aynı zamanda serebral korteks dokusundaki nikotinik ve muskarinik

reseptörlerden nikotin ve skopolamin salınımının in vitro IC₅₀ konsantrasyonları ölçülmüştür. 1600 mg dozdan sonra hafıza performansında artma görülmüştür. MO bu dozda ya da daha yüksek dozlarda ruhsal durumu ve kognitif performansı yükseltebildiği ve bu nedenle Alzheimer hastalığının tedavisinde destek olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır⁶².

2. 2. 2. 3. Antioksidan aktivite

MO, *Mentha piperita* ve *Origanum vulgare* taze ve kuru yapraklarının antioksidan aktivite açısından değerlendirildiği bir çalışmada, her 3 bitkinin de serbest radikal süpürücü etkisi yüksek bulunmuştur. Ancak kurutulmuş MO yapraklarının linoleik asit peroksidasyonunu inhibe edici etkisinin taze yapraklarınkine oranla belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir⁶³.

Başka bir çalışmada, MO'in hekzan, etil asetat ve etanol ekstraktlarının ayçiçeği yağındaki antioksidan aktivitesi diğer Lamiceae familyası bitkilerinininki ile karşılaştırılmıştır. *Ocimum basilicum* ve *Origanum vulgare*'nin ayçiçeği yağının oksidasyon stabilitesini arttırmadığı, MO etanollü ekstresinin ise ayçiçeği yağının otooksidasyonunu geciktirici etkisinin *Saturea hartensis* ve *Mentha piperita* ekstraktlarından sonra geldiği gözlenmiştir⁶⁴.

Ayrıca Lamaison ve arkadaşları yaptıkları antioksidan aktivite çalışmaları neticesinde aktiviteden MO'de bulunan rozmarinik asitin sorumlu olduğunu açıklamışlardır^{45,65}.

Tagashira ve arkadaşları MO yapraklarında antioksidan özellikteki bileşenleri tayin için yaptıkları çalışmada, Lamaison ve

arkadaşlarının çalışmalarında MO'in antioksidan özelliğinin yalnızca rozmarinik asit içeriğine bağlandığını ve ekstrenin diğer antioksidatif bileşenlerinin detaylı incelenmediğini tenkit ederek kendi çalışmalarında rozmarinik asit dahil biri ilk kez olmak üzere, antioksidan özellikte 6 ana bileşen izole ettiklerini ve ilk kez izole edilen 1,3-benzodioksol yapısındaki 2-(3',4'-dihidroksifenil)- 1,3-benzodioksol-5-aldehit'in en gl antioksidan etkiyi gösterdiğini ifade etmiřlerdir⁴⁶.

Hohmann ve arkadaşları MO topraküstü kısımlarından % 50 lik metanol ile hazırlanan ekstrenin antioksidan aktivite gösterdiğini ve bu ekstrede antioksidan aktivite gösteren rozmarinik asit, kafeik asit, luteolol ve luteolol 7-O-glukozit bulunduğunu aıklamıřlardır⁴⁴.

Marongiu ve arkadaşları da yaptıkları çalışma neticesinde MOO'in antioksidan aktivite gösterdiğini aıklamıřlardır⁶⁶

İngiliz tıbbi bitkilerinin antioksidan aktivitelerini kıyaslamak amacıyla yapılan bir çalışmada MO, kayda değer antioksidan özellik gstermiřtir⁶⁷. Türkiye'de yapılan benzer bir çalışmada ise, Reşat Apak ve arkadaşları, çay hazırlayarak kullanılmak amacıyla satılan bitkiler ve hazır poşet çaylar üzerinde yaptıkları çalışmada MO'in *Anagallis arvensis*, *Ocimum basilicum* ve *Camellia sinensis*'ten sonra en fazla antioksidan aktivite gösteren bitki olduğunu aıklamıřlardır⁶⁸.

Bulgaristan'da fitoterapide kullanılan 21 bitkinin sulu ekstresi antioksidan aktivite yönünden araştırılmış ve MO ekstresinin siyah ve yeşil ayınki ile mukayese edilebilecek kadar yüksek antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıřtır¹².

Dokuz farklı tıbbi bitkinin etanol ekstrelerinden hazırlanan ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında kullanılan bir fitoterapötik olan

Iberogast'ın antioksidan kapasitesini ölçmek için yapılan bir çalışmada, MO ekstresi karışımında yer alan diğer bitki ekstralarının hepsinden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir⁶⁹.

DPPH testinde MO dekoksasyonu % 96, etanolü ekstresi % 76, uçucu yağı % 8, β -karoten-linoleik asit testinde ise dekoksasyonu % 46, uçucu yağı % 52 oranında antioksidan aktivite göstermiş etanolü ekstrenin β -karoten-linoleik asit testindeki aktivitesi ise belirlenememiştir⁵⁷.

Total fenolik bileşik içeriği ve antioksidan kapasitesi yönünden incelenen 70 tıbbi bitki infüzyonu arasında en iyi netice MO yapraklarından hazırlanan infüzyon ile alınmıştır. MO infüzyonunun kırmızı şarap ve çay ile kıyaslanabilecek derecede yüksek antioksidan kapasitesi ile önemli bir fenolik bileşik kaynağı olabileceği belirtilmiştir⁷⁰.

On sekiz Lamiceae familyası bitkisinden farklı polaritede çözücülerle hazırlanmış olan seksen sekiz ekstre antioksidan aktivite yönünden incelenmiş, en yüksek antioksidan aktivite MO ve *Lycopus europaeus*'un polar ekstralarında görülmüştür⁷¹.

Brezilya'da nörolojik hastalıklarda kullanılan üç bitkinin (MO, *Matricaria recutita*, *Cymbopogon citratus*) serebral lipid peroksidasyonuna karşı gösterdiği antioksidan kapasitesinin test edildiği araştırmada MO sulu ekstresinin en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiş olduğu ve patogenezinde oksidatif stresin yer aldığı değişik nörolojik hastalıkların önlenmesinde faydalı olabileceği ifade edilmiştir⁷².

MO'in petrol eteri, kloroform, etil asetat, n-butanol ve su ile hazırlanan ekstraları antioksidan aktiviteleri yönünden araştırılmış ve en yüksek aktivite n-butanol ekstresinde görülmüştür⁷³.

MO uçucu yağının da doza bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdiği açıklanmıştır ³⁴.

MO uçucu yağı peroksidaz enziminin aktivitesini azaltarak antioksidan aktivite göstermiştir⁷⁴.

MO uçucu yağı DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)'i redükleyerek kuvvetli antioksidan aktivite göstermiştir ³⁵.

2. 2. 2. 4. Spazmolitik ve antiülser aktivite

Sadraei ve arkadaşları MO uçucu yağının ve uçucu yağın major bileşenlerinden sitral'in sıçan ileumu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, uçucu yağın sıçan ileumunda KCl (80mM), asetilkolin (320 nM) ve 5-hidroksitriptamin (1.28 µM) ile oluşturulan kontraksiyonu doz bağımlı olarak inhibe ettiğini, sitral'in de sıçan ileumunda doz bağımlı olarak relaksasyon sağladığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar MO'in bu etkisi ile gastrointestinal sistem spazmlarının tedavisinde bitkisel ilaç olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır⁷⁵.

İrritabl barsak sendromu (İBS) hastalarında yapılan randomize bir klinik deneyde ise; MO ekstresi yanı sıra, *Mentha spicata* ve *Coriandrum sativum* ekstreleri içeren ve Carmint adı verilen bitkisel bir ilaç denenmiştir. Yaşları 18-65 arasında olan 32 İBS'li hastaya loperamide veya psyllium'un yanı sıra Carmint veya plasebo, 8 hafta süreyle verilmiş, bu süre sonunda abdominal ağrı, abdominal şişkinlik oranları karşılaştırılmıştır. Carmint verilen grubun şikayetlerinin sıklık ve şiddetinin plasebo grubuna oranla anlamlı şekilde azaldığı tesbit edilmiştir⁷⁶.

Başka bir çift kör, randomize, plasebo kontrolü klinik deneyde ise, *Matricaria recutita*, *Foeniculum vulgare* ve MO standardize ekstresi içeren bir preparatın (ColiMil) infantil kolik tedavisindeki etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla anne sütü ile beslenen ve Wessel kriterlerine göre tanı konmuş infantil kolikli 93 bebek çalışmaya alınmış; 3 günlük gözlemden sonra ikiye ayrılan grubun bir kısmı fitotörapötik ajanla tedavi edilirken diğer kısmına plasebo verilmiş 1 hafta süreyle ağlama süreleri ve yan etkiler kaydedilmiştir. ColiMil ile tedavi edilen gruptaki bebeklerin ağlama sürelerindeki azalma placebo grubundakilere göre anlamlı bulunmuş, yan etki görülmemiş ve çalışma neticesinde MO, *Matricaria recutita* ve *Foeniculum vulgare* ekstrelerinin infantil kolik tedavisinde etkili olduğu kaydedilmiştir⁷⁷.

MO'in de dahil olduğu dokuz farklı bitki ekstresinden oluşan STW 5 (Iberogast) isimli preparatın ve içerdiği ekstrelerin her birinin ayrı ayrı kobay ileumunda test edilmesi sonucunda *Chelidonium* ekstresi dışındaki ekstrelerin hepsi ve STW 5 preparatı antispasmodik aktivite göstermiştir. Bu aktivite hem histaminle indüklenen hem de spontan olarak kontrakte olan kobay ileumunda gözlenmiş ve MO ekstresiyle gözlenen aktivite de oldukça anlamlı bulunmuştur⁷⁸.

Spazmolitik aktivitesinin yanı sıra MO ekstresinin anti-ülserojenik aktivitesi de araştırılmıştır. Khayyal ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MO, *Iberis amara*, *Matricaria recutita*, *Carum carvi*, *Mentha piperita*, *Glycyrrhiza glabra*, *Angelica archangelica*, *Silybum marianum* ve *Chelidonium majus* ekstrelerini, indometazin ile gastrik ülser oluşturulmuş sıçanlarda anti-ülserojenik aktivite açısından test edilmiştir. Tüm ekstrelerin doz bağımlı anti-ülserojenik aktivite gösterdiği, asit salınımını azalttığı, müsin salgısını arttırdığı, PG E₂ sentezini arttırdığı, lökotrienleri azalttığı gözlenmiştir. Ekstrelerin anti-ülserojenik aktivitesi histolojik olarak da doğrulanmıştır. Hem tek tek hem de kombinasyon halinde benzer

aktivite gösteren ekstrelerin sitoprotektif etkisi flavonoit içeriklerine ve serbest radikal süpürücü etkilerine bağlanmıştır. Bu çalışmada MO'nin etanol ekstresi diğer 8 bitki ekstresi ile kıyaslandığında vasat seviyede bir anti-ülserojenik aktivite göstermiştir⁷⁹.

MO metanol ekstresinin *Helicobacter pylori*'ye karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği ve MIC değerinin 100 µg/mL olduğu açıklanmıştır⁸⁰.

2. 2. 2. 5. Antitümör aktivite

MO uçucu yağı insan akciğer (A549), kolon (Caco-2), meme (MCF-7) ve lösemi (HL-60, K562) hücrelerine ve fare melanoma (B16F10) hücrelerine karşı antitümör aktivite göstermiş olması nedeniyle antitümör olarak kullanılabileceği belirtilmiştir³⁵.

2. 2. 2. 6. Antiviral aktivite

Antiviral aktivite açısından incelenen bitkiler arasında olan MO'nin yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin influenza-, herpes- ve vaccine virüse karşı kuvvetli antiviral aktivite gösterdiği tespit edilmiştir⁸¹.

Yamasaki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, MO sulu ekstresinin HIV-1'e karşı antiviral aktivite gösterdiğini ve bu etkinin ekstredeki suda çözünen polar maddelerden ileri geldiğini açıklamışlardır. Ayrıca MO sulu ekstresinin Molt-4 hücrelerinden oluşan kültürdeki dev hücre formasyonunu önlediğini ve HIV-1 revers transkriptaz enzimini inhibe ettiğini eklemişlerdir⁸².

Lamiceae familyası bitkilerinin HIV-1'e karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada da MO sulu ekstresi konsantrasyon bağımlı, yüksek antiviral aktivite göstermiştir⁸³.

Alahverdiyev ve arkadaşlarının bir çalışmasında MO uçucu yağının, insan larinks epidermoid kanser hücrelerinde (HE_p-2) *Herpes simplex* tip II (HSV-2) replikasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla HSV-2 ile infekte ve infekte olmayan (kontrol) (HE_p-2) hücrelerine 25, 50, 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarındaki MO uçucu yağı tatbik edilmiş ve nontoksik bulunan 25-100 µg/ml konsantrasyondaki uçucu yağın HSV-2 replikasyonu üzerindeki etkileri değerlendirmeye alınmış, bu konsantrasyon aralığındaki MO uçucu yağının HSV-2 'ye karşı antiviral aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır⁸⁴.

MO uçucu yağının etkinliğinin araştırıldığı benzer bir çalışmada ise hem HSV-1 hem de HSV-2'e karşı doğrudan antiviral etkinlik gösteren MO uçucu yağı in vitro maymun böbrek hücrelerinde plak formasyonunu HSV-1 için % 98,8 HSV-2 içinse %97,2 oranında azaltmıştır. Çalışmanın sonucunda MO uçucu yağının herpes infeksiyonlarının topikal tedavisi için uygun olduğu açıklanmıştır⁸⁵.

Başka bir çalışmada Lamiaceae familyası bitkilerinden MO, *Mentha piperita*, *Prunella vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* ve *Thymus vulgaris*'in sulu ekstrelerinin Herpes Simplex Virüse (HSV) karşı etkinliği araştırılmıştır. Ekstrelerin HSV-1, HSV-2 ve asiklovire dirençli HSV-1 e karşı inhibitör etkileri araştırılmıştır. Tüm ekstreler yüksek antiviral aktivite göstermiş, en yüksek aktivite ise MO, *Mentha piperita* ve *Thymus vulgaris* ekstrelerinde gözlenmiştir⁸⁶.

Çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışma ile % 1 oranında MO yaprak ekstresi taşıyan standardize bir kremin *Herpes*

simplex labialis'teki etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla tekrarlayan herpes hikayesi olan 66 hasta tedaviye alınmış, 34 hastaya MO ekstresi içeren krem 32 hastaya da plasebo 5 gün süreyle günde 4 defa topikal olarak uygulanmıştır. Primer hedef olarak 2. günün sonundaki toplam şikayet skoru, yara alanının büyüklüğü ve vezikül sayısı tayin edilmiştir. Primer hedef parametreleri her iki grup arasında MO lehine anlamlı farklılıklar göstermiştir ve test edilen formülün herpes labialis tedavisinde etkin olduğu neticesine varılmıştır. Özellikle 2. günün değerlendirmeye alınmasındaki sebep herpes labialis enfeksiyonunda en yoğun şikayetlerin bu günde yaşanmasıdır. İyileşme periyodunda kısaltmaya ek olarak, MO kreminin enfeksiyonun yayılmasında ve kaşıntı, yanma, şişkinlik, batma, kızarıklık gibi tipik semptomların azalmasında da etkili olduğu grlmştir. Ayrıca MO kremi ile herpes periyotları arasındaki sürenin de uzayabileceği kanaatine varılmıřtır⁸⁷.

Mazzanti ve arkadaşları da MO'in alkoldeki ekstresini HSV-2'ye karşı etkili bulduklarını belirtmiřlerdir⁸⁸.

2. 2. 2. 7. Antimikrobiyal aktivite

Ertürk tarafından MO etanollü ekstresinin farklı 10 bitki ekstresi ile beraber in vitro antibakteriyel ve antifungal etkisi agar dilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ekstrelerin 3 gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) ve 2 gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) bakteriye; ayrıca *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* mantarlarına karşı aktiviteleri llmştir. Diğer ekstreler gibi MO ekstresi de hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel ve mantarlara karşı da antifungal aktivite gstermiřtir⁸⁹.

MO yapraklarının sulu ve metanollü ekstresi anaerop ve fakültatif aerop periodontal bakterilere karşı etkili bulunmuştur⁹⁰.

MO etanollü ekstresi *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* ve *Klebsiella pneumoniae* karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir⁹¹.

MO yaprak uçucu yağı da antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir⁹².

MO uçucu yağı 5 gram pozitif, 8 gram negatif bakteri ve 6 mantara karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir³⁵.

2. 2. 2. 8. İnsektisit aktivite

MO topraküstü kısımlarının etanollü ekstresi *Culex pipiens* isimli sivrisineğe karşı larvisidal aktivite göstermiştir⁹³.

MO metanol ekstresi ve uçucu yağı *Spodoptera littoralis*'e karşı insektisit aktivite göstermiştir^{94,95}.

2. 2. 2. 9. İmmün sistem üzerine etkisi

Drozd ve arkadaşları MO ekstresinin farelerde immün cevap üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, ekstrenin immünostimulan etkisini immün sistem üzerindeki etkisi iyi bilinen bir madde olan Levamizol'ünki ile karşılaştırmışlar ve MO sulu ekstresinin hem humoral hem de hücrel immün cevabı arttırdığı sonucuna varmışlardır⁹⁶.

2. 2. 2. 10. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi

MO monograflarında kardiyovasküler sistem üzerine etkisine dair bir bilgi bulunmamaktadır. Literatür taraması neticesinde MO'in kardiyovasküler sistem üzerine etkisi ile alakalandırılabilir 3 farklı çalışmaya rastladık. Bunlardan ilki olan çalışmada *Lippia alba*, *Cymbopogon citratus* ve MO yapraklarından hazırlanan sulu ekstraktların izole sıçan kalbinin kontraksiyon gücü ve hızı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmada üç gruba ayrılıp Langerdoff metoduna uygun olarak Locke solüsyonunda tutulmuş olan 21 erkek sıçan kalbine MO, *Lippia alba* ve *Cymbopogon citratus* sulu ekstraktları 0.038-38 mg doz aralığında tatbik edilmiş, her tatbikten sonra izole kalplerin kontraksiyon gücü ve hızları kaydedilerek ekstre verilmeden önce yapılan kontrol ölçümü ile mukayese edilmiştir. Kalp kasının kontraksiyon gücünde hiçbir ekstre ile değişiklik gözlenmezken; kalp hızında her 3 bitki ekstresi anlamlı azalmalar göstermiştir. MO ekstresi diğer 2 bitkiden farklı olarak, ekstraktların tatbikinden sonra kayıt alınan tüm sürelerde (5,15, 60 ve 300. sn) etkisini göstermiş ve sonuç olarak kalp hızını azaltmadaki aktivitesinin diğer 2 bitkiden daha anlamlı bulunduğu ifade edilmiştir¹⁵.

Diğer 2 çalışma MO'in antihiperlipidemik etkisi ile ilgilidir. Bolkent ve arkadaşları MO sulu ekstresinin hiperlipidemik sıçanların karaciğerindeki koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 40 erkek albino sıçanı çalışmaya alınmış ve 4 gruba ayrılmıştır. İlk gruba normal diyet, 2. gruba normal diyet ve MO ekstresi verilmiş, 3. gruba hiperlipidemik bir diyet uygulanmıştır. Son gruba ise 3. gruptaki hayvanların benzeri bir diyet uygulandıktan iki hafta sonra, 28 gün boyunca 2g/kg dozda MO ekstresi tatbik edilmiştir. Tüm hayvanların 42. günün sonunda kan ve karaciğer örnekleri incelenmiş; biyokimyasal olarak serum kolesterol, total lipit, alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) seviyeleri tayin edilmiştir.

Serum kolesterol ve total lipit seviyelerinin hiperlipidemik diyet uygulanan hayvanların MO ekstresi verilen gurubunda verilmeyene oranla 42. günün sonunda anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Kan glutatyon seviyesi, hiperlipidemik diyetle beslenenlerde kontrol grubuna oranla 14. günün sonunda anlamlı oranda düşerken, MO ekstresi verilenlerde ise verilmeyene oranla 42. günün sonunda belirgin bir yükselme gözlenmiştir. Serum ALT, AST ve ALP seviyeleri hiperlipidemik gurupta kontrol gurubuna oranla 42. günün sonunda oldukça yüksek bulunurken; MO ekstresi verilenlerde bu yükselme gözlenmediği gibi ALT ve AST seviyelerinde kontrol gurubuna oranla bir düşme dahi gözlenmiştir. Lipit peroksidaz seviyeleri; hiperlipidemik gurupta oldukça yüksek bulunurken, MO ekstresi verilen gurupta bu yükselmenin olmadığı gözlenmiştir. Karaciğer hücrelerinin ışık ve elektron mikroskobunda incelenmesi neticesinde hiperlipidemik diyetle beslenen hayvanların hücrelerinde küçüklü büyüklü birçok vaküol, mononükleer hücre infiltrasyonu, pienotic nukleuslar, bazı venlerde endotelin rüptüre olduğu gözlenmesine rağmen hiperlipidemik diyetle birlikte MO ekstresi verilenlerde bu tür değişiklikler ya minimal düzeyde gerçekleşmiş ya da hiç gerçekleşmemiştir. Çalışma sonucunda MO ekstresinin serum kolesterol ve lipit seviyelerini anlamlı düzeyde düşürdüğü ifade edilmiştir¹³.

Hiperlipidemik diyetle beslenmiş farelerde yapılmış bir diğer çalışmada ise, MO, *Morus alba* ve *Artemisia capillaris* bitki ekstrelerinin karışımı olan (Ob-X) test edilmiştir. Bu amaçla 12 hafta boyunca hiperlipidemik diyet verilen farelerin bir kısmı Ob-X ile desteklenmiştir. Ob-X verilen farelerin kilo alımı ve adipöz doku kitlesi kontrol gurubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca Ob-X tedavisi serum trigliserid ve serum total kolesterol seviyelerini düşürmüş, karaciğerde lipit birikimini azaltmış ve yağ asidinin beta-oksidasyonundan sorumlu enzimin (PPAR alpha) hepatik mRNA seviyesini arttırdığı gözlenmiştir. Deney sonunda elde edilen bilgiler ışığında içeriğinde MO ekstresi de bulunan

Ob-X isimli ekstre karışımının kilo alımı, adipöz doku kitlesi ve lipit metabolizması üzerine olumlu etkileri olduğu vurgulanmıştır¹⁴.

2. 3. Melissae folium'un kullanılışı



Resim 2. Melissae folium

MO bitkisinin yaprakları Latince: Melissae folium, Folia melissae, Folia melissae citratae, Folia citronellae; İngilizce: Melissa leaf, Almanca: Melissenblätter; Fransızca: Feuilles de mélisse; Türkçe: Melisa yaprağı, oğulotu yaprağı gibi isimlerle bilinmektedir^{1,3}.

Haricen: % 1 oranında liyofilize sulu ekstre içeren krem *Herpes labialis*'in semptomatik tedavisinde, ilk belirtilerde başlayıp lezyonlar iyileştikten 1-2 gün sonrasına kadar, günde 2-4 kez kullanılmaktadır^{50,97}.

Dahilen: Gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında karminatif ve spazmolitik olarak; ayrıca gerginlik, huzursuzluk, iritabilite ve uyku sorunlarında sedatif olarak daha çok infuzyon ve tentürleri halinde süre kısıtlaması olmaksızın kullanılmaktadır. İnfuzyon 2-3 g drogdan hazırlanıp

günde 2-3 kez; % 45'lik etanol ile hazırlanan tentürü ise günde 3 kez 2-6 ml kullanılmaktadır^{50,97}.

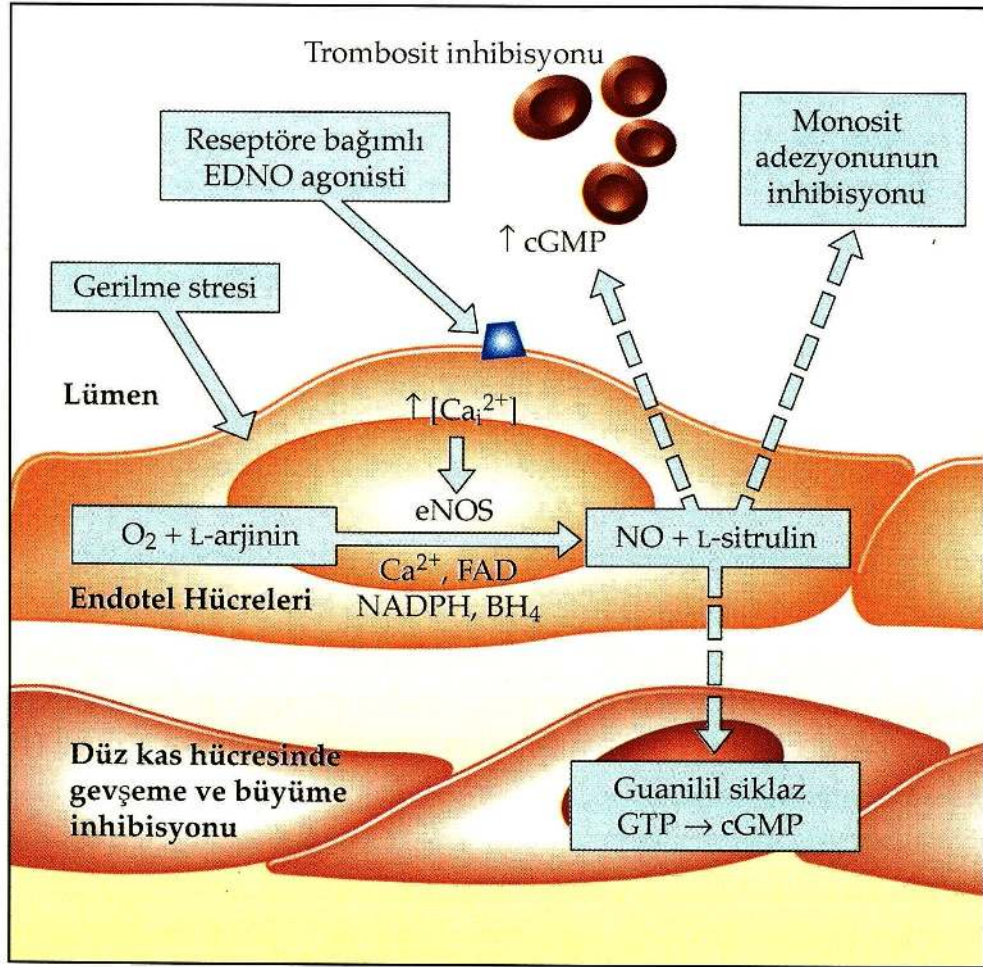
Doktor tavsiyesi olmadan hamilelik ve emzirme döneminde kullanılmamalıdır. Araç kullananlara bilinen bir yan etkisi yoktur. Herhangi bir ilaç etkileşimi ve kontrendikasyon belirtilmemiştir. Doz aşımında bildirilmiş toksik etki yoktur^{50,97}.

Melissae folium'dan hazırlanan tentürler mutajenik⁹⁷ ve genotoksik⁹⁸ etki göstermemiştir.

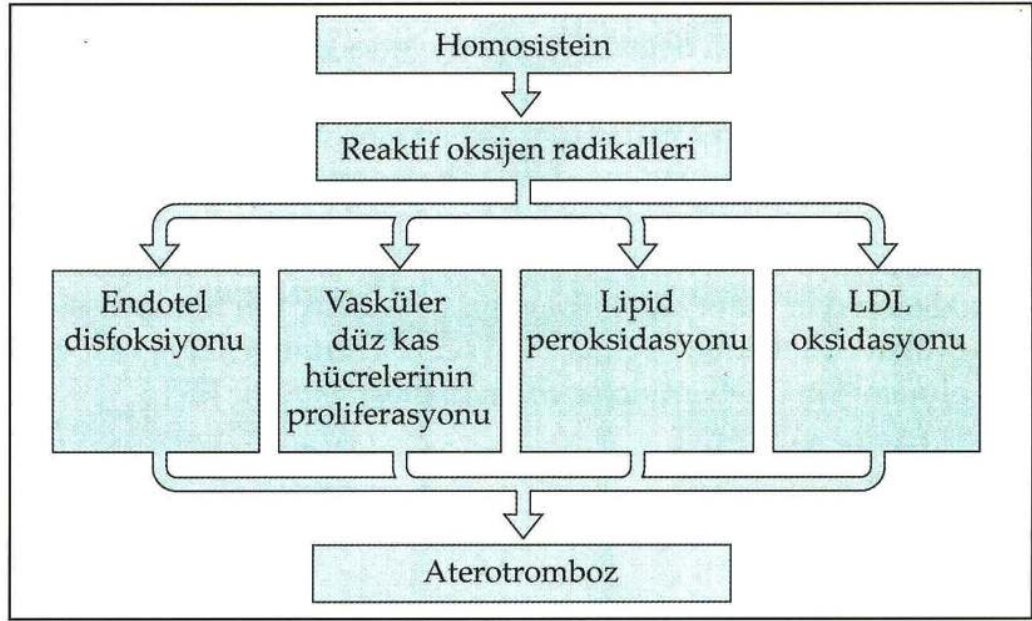
2. 4. Damar endotel tabakasının fonksiyonu

Damar duvarı ile dolaşımdaki kanın ara yüzeyinde yer alan vasküler endotel, damar sisteminin homeostatik ve fizyolojik fonksiyonlarında önemli bir rol oynamaktadır. Endotel hücreleri, biyokimyasal ve mekanik uyarılara cevap olarak, vasküler tonusu, inflamasyonu, trombozu ve vasküler büyümeyi ayarlayan çeşitli faktörler açığa çıkarırlar. Endotel kaynaklı vazoaaktif medyatörlerin dinamik dengesi ile belirlenen vasküler tonusun kontrolü, normal endotelin kritik bir homeostatik fonksiyonunu teşkil etmektedir. Dilatasyona yol açan maddeler arasında; prostasiklin, bradikinin, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) ve daha önemli olarak nitrik oksit (NO) bulunmaktadır. Nitrik oksit, düzenli bir şekilde regüle edilen nitrik oksit sentazların (NOS) aktivitesi ile amino asit L-arjinin'in, L-sitrüline çevrilmesi esnasında sentezlenmektedir. Nitrik oksit bazal vasküler tonusun idame ettirilmesinden kısmen sorumlu olup, çözünebilir guanilil siklaz aktivasyonu ile vasküler düz kas üzerine kuvvetli bir gevşeme yaparak intrasellüler cGMP de artışa yol açmaktadır. NO aynı zamanda, trombosit agregasyonunun, lökosit adhezyonunun, monosit kemotaksisinin ve düz

kas hücre çoğalmasının inhibisyonu ile ek bazı antiaterojenik fonksiyonlara destek sağlamaktadır. Koroner risk faktörleri ya da ateroskleroza olan kişilerde NO biyoaktivitesinde azalma ve NO ile ilişkili vazomotor fonksiyonda bozulma görülmektedir. Endotelin bir diğer önemli fonksiyonu da tromborezistansın devam ettirilmesidir. İntakt endotel, kan elemanlarına mekanik bir bariyer vazifesi yapmakta ve trombosit adhezyonu ve agregasyonunu başlatan von Willebrand faktörü (vWF), fibronektin ve kollajen gibi subendotel matriks bileşenleri ile bu elemanların etkileşime girmesini engellemektedir. Bazal koşullar altında endotel, lokal trombozu inhibe eden trombomodulin, heparin sülfat ve doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) gibi antikoagülan ve fibrinolitik faktörler ile NO ve prostasiklin gibi antitrombosit medyatörlerin oluşturulması yolu ile tromboz ve fibrinoliz arasında homeostatik bir denge sağlamaktadır.

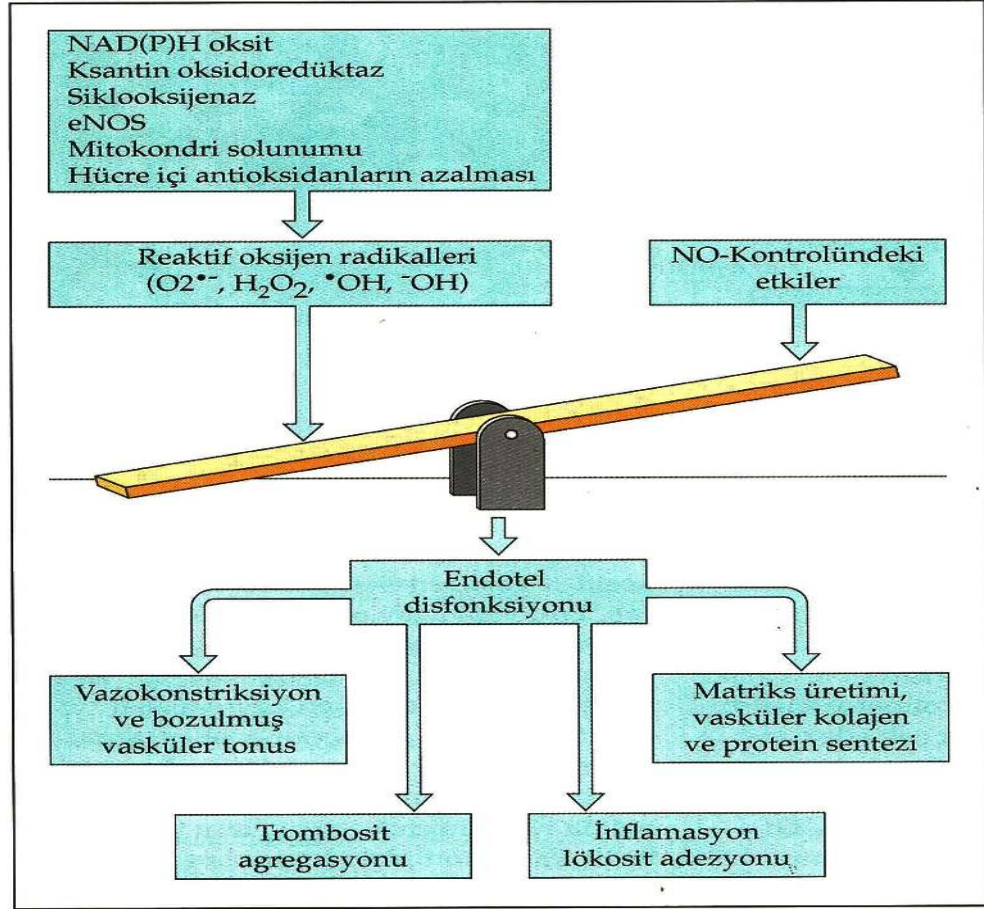


Şekil 1: Endotel kökenli nitrik oksit sentezi ve etki mekanizması. Endotel hücrelerinde sürekli işlev gören bir membranla ilişkili NO sentaz (eNOS) amino asit L-arjinin'in NO ve L-sitruiline dönüşümünü katalize etmektedir. eNOS'un kofaktörleri arasında FAD (flavin adenin dinükleotid), NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat), BH₄ (tetrahidrobiyopterin) ve kalsiyum yer almaktadır. NO'nin endotel tarafından üretilmesi sıkı bir şekilde kontrol edilmekte olup iyonize kalsiyum konsantrasyonundaki değişikliklerle ilişkilidir. Asetilkolin, bradikinin, substans P ve trombosit kökenli serotonin gibi agonistler sitozolde kalsiyum salınmasını ve eNOS aktivasyonunu tetikleyen spesifik membran reseptörler üzerine etki etmektedirler. Artmış kan akımına bağlı olarak artan gerilme stresi (shear stresses) NO üretimi için önemli bir uyarıcı görevini görmektedir. NO bazal vasküler tonusu modüle etmekte ve çözünabilir guanilil siklazın aktivasyonu ve bunu izleyen hücre içi cGMP miktarındaki artış yolu ile (ki bu yol aynı zamanda trombosit aktivasyonunu NO kaynaklı inhibisyonuna aracılık etmektedir) vasküler düz kas gevşeme etkisine sebep olmaktadır. Koroner risk faktörleri ya da aterosklerozları olan bireylerde gerilme stresi ve agonist kaynaklı endotele bağımlı vazodilatasyonda bozukluk görülmektedir. NO'nin diğer etkileri arasında monosit adezyonunun ve düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu yer almaktadır.



Şekil 2: Hiperhomosisteineminin koroner ve periferik dolaşımdaki ateroskleroz ve aterotromboz için değiştirilebilir bir risk faktörü olarak kabul edilmesi yakın tarihlidir. Plazma homosisteinindeki artışlar genellikle homosistein metabolizmasında görev alan enzimlerin kofaktör/vitamin (B₁₂, folat) eksiklikleri nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Hiperhomosisteinemi nedeni ile ortaya çıkan aterojenik yatkınlık, azalmış nitrik oksit sentezi, vasküler oksidatif hasardaki artış ve vasküler düz kas hücre artışının fazlaşması gibi çeşitli seviyelerde endotel fonksiyonunun bozulması ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, doku faktörü ekspresyonunun artışı, heparin sülfat ve trombomodülin ekspresyonunun baskılanması gibi endotelin antitrombotik fonksiyonlarında homosistein tarafından meydana getirilen değişiklikler de tromboza olan meyili desteklemektedir.

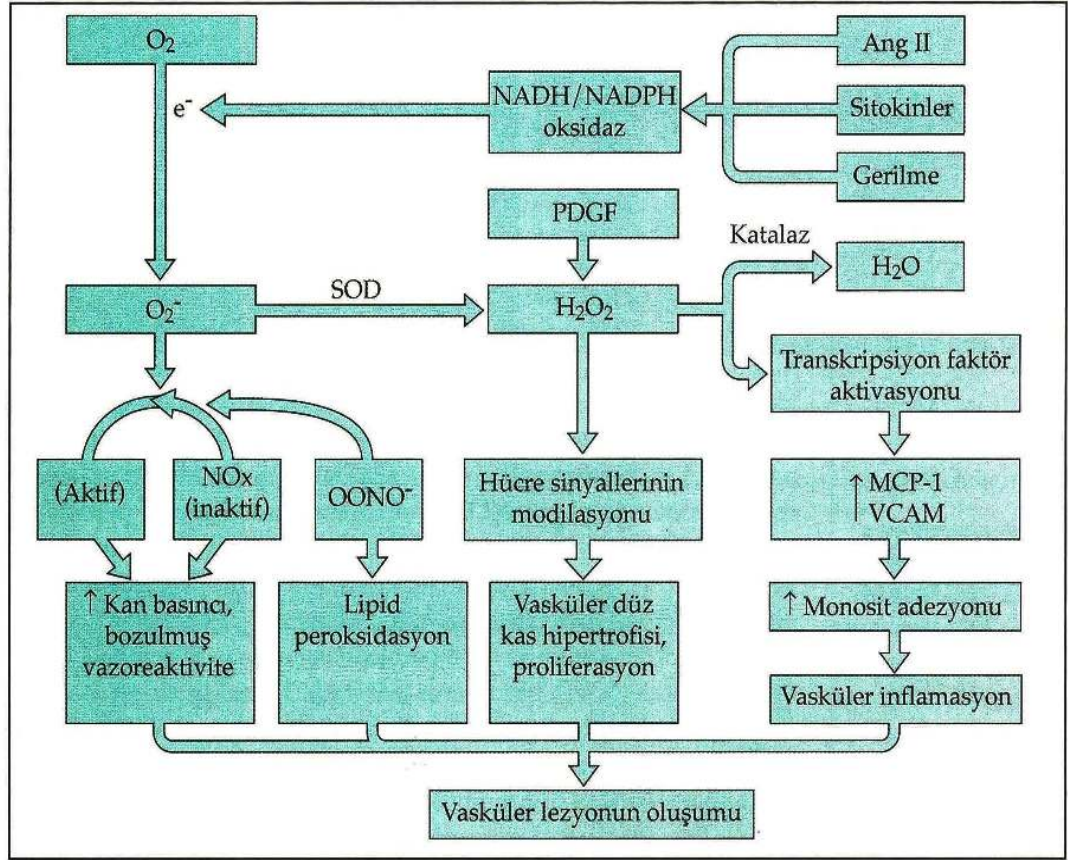
Endotel disfonksiyonu normal endotel hücrelerinin kolektif homeostatik özelliklerinin bozulduğu ya da kaybolduğu ve bu nedenle aterojenik bir ortamın meydana çıktığı patofizyolojik durumdur. Endotel disfonksiyonundaki anormalliklerin miyokard infarktüsü, kararsız anjina ve inme gibi sık karşılaşılan kardiyovasküler sendromların patofizyolojisinde merkezi bir rol oynadığına inanılmaktadır. Endotel disfonksiyonu, sigara, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, hiperhomosisteinemi, menopo ve ilerlemiş yaş gibi sayıları giderek artan kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkilidir



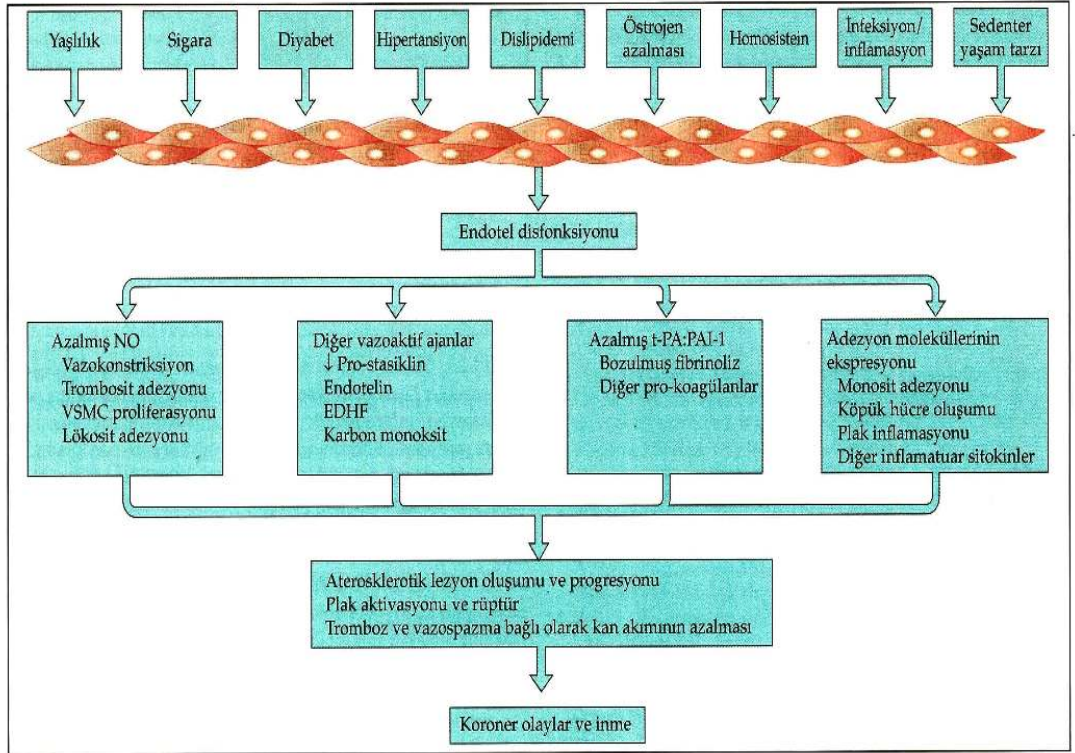
Şekil 3: Endojen oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stresin, (eNOS) biyoaktivitesinde azalmada ve aterogenez mekanizmalarında oynadığı önemli role dair giderek daha fazla kanıt ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres, endotel hücrelerinin aşırı reaktif oksijen radikallerine (ROS) maruz kaldığı patofizyolojik bir durumdur. Bu radikaller, oksijenin bir seri univalan reduksiyona uğrayarak, NO'ı direkt olarak inaktive eden peroksinitrit anyonunu açığa çıkaran süperoksit anyonu dahil, birçok yüksek derecede reaktif ara ürün meydana getirdiği normal hücresel metabolizmanın bir sonucu olarak ortaya çıkarlar. ROS vasküler inflamasyonu ve lezyon proliferasyonunu kolaylaştıran hücre sinyallerinde ve gen ekspresyonunda yaptıkları modülasyon yoluyla da aterogenezde rol oynamaktadırlar. ROS'nin aşırı üretimleri hipertansiyon, hiperlipidemi, ateroskleroz, diabetes mellitus ve kalp yetersizliği dahil birçok hastalığın ortak özelliği olup bu durum bu hastalıklarda NO inaktivasyonunun artmış olduğuna dair kanıt sağlamaktadır.

Patolojik koşullar altında bozulmuş endotel fonksiyonunun temel özelliğinin kısmen de olsa, endotel kökenli NO (eNO) biyoaktivitesindeki bir anormallikle ilişkili gibi gözükmesi, NO'in antiaterojenezdeki öneminin altını çizmektedir. NO sentezi için kullanılan L-arjinin'in hücre içi miktarının azalması, bozulmuş NO sentaz aktivitesi, uyarana cevaben reseptörle düzenlenen NO salgılanmasının bozulması ve okside LDL'nin ya da süperoksit (O₂) anyonu gibi reaktif oksijen radikallerinin damar içi aşırı üretimine bağılı NO inaktivasyonundaki artış, azalmış NO biyoyararlığı ile ilişkilendirilerek tarif edilmiş mekanizmalar arasında sayılabilir.

Özellikle artmış oksidatif stres; hipertansiyon, ateroskleroz gibi bazı hastalık durumları tarafından paylaşılan ortak bir mekanik özellik olup, mekanik hasar NO inaktivasyonuna ek olarak, aterom oluşumuna zemin hazırlayan inflamatuvar genlerin ekspresyonuna ve düz kas hücre proliferasyonu yönündeki cevaplara yol açmaktadır.



Şekil 4: Kardiyovasküler hastalığın mekanizmasında NO ile reaktif oksijen radikalleri arasında olduğu düşünülen etkileşimler. Oksidatif stresin arttığı durumlarda endotel hücreleri koruyucu fenotiplerini kaybederek aterogenezi arttıran pro-inflamatuar, vazokonstriktif ve büyümeyi destekleyici faktörler ekspresyonuna başlamaktadırlar. Bu süreçlerin kısmen de olsa yüzey adezyon molekülü ekspresyonunu uyaran, NO'yi inaktive eden, hücre sinyalleşmesini bozan ve lipid peroksidasyonunu arttıran süperoksitlerin damar içi aşırı üretimi nedeni ile meydana geldikleri düşünülmektedir. Birçok adhezyon molekülünün ekspresyonu hücre içi redoks durumuna hassas olan intrasellüler sinyal yolları tarafından kontrol edilen transkripsiyonel kontrol protein çekirdek faktörü-K β tarafından denetlenmektedir³². H_2O_2 – hidrojen peroksit ; Ang II – anjiyotensin II ; PDGF- trombosit kaynaklı büyüme faktörü ; SOD - süperoksit dismutaz; MCP- 1 –monosit kemotaktik protein -1;VCAM -1 vasküler hücre adezyon molekülü -1



Şekil 5: Risk faktörleri, endotel disfonksiyonu, aterogenez ve kardiyovasküler olayların ilerlemesi arasında öne sürülmüş ilişkiler. Endotel disfonksiyonu terimi endotel hücrelerin kontrol fonksiyonlarının bozularak vazospazma, tromboza, intima büyümesine, inflamasyona ve plak rüptürüne meyil yaratarak doku iskemisi, aterotromboz ve infarktüse yol açabileceği hastalık durumları için kullanılmaktadır.

Vasküler hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde anormal endotel fizyolojisinin düzeltilmesi iyi bir tedavi girişimi olarak görölmektedir. Bazı girişimlerin endotel vazomotor fonksiyonunu devamlı olarak normale çevirdiği gösterilmiştir. Bunlar arasında; lipid düşürücü tedavi, anjiyotensin çevirici enzim rolü bulunduğundan endotel disfonksiyonunun engellenmesi ya da tersine ACE inhibitörü tedavisi, L-arjinin, tetrahidrobiopterin, folat, antioksidan ve östrojen takviyeleri, sigaranın bırakılması ve egzersiz yer almaktadır⁹⁹.

3. G E R E Ç ve Y Ö N T E M

3. 1. Bitkisel materyal

Bitki Tekirdağ'a bağlı Bıyıklı köyünden 30 Haziran 2006 tarihinde toplanmış ve *Melissa officinalis* subspecies *officinalis* olarak Prof. Dr. Hayri Duman (Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara) tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği (AEF 23813) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda kayıtlıdır.

3. 2. Kimyasal maddeler

Aktivite çalışmasında kullanılan bileşikler Sigma firmasından temin edilmiştir. Noradrenalin'in 0,001 N HCl ile stok solüsyonu hazırlanmış ve oksidasyonu önlemek için askorbik asit eklenmiştir. Asetilkolin'in 0,001 N HCl; glibenklamid'in dimetilsülfoksit, indometazin'in 150 mM NaHCO₃ ile, diğer kimyasalların ise %0,9 serum fizyolojik ile çözeltileri hazırlanmıştır. Tüm dilüsyonlar Krebs-Heinseleit solüsyonu ile hazırlanmış ve buzdolabında saklanmıştır.

Rozmarinik asit, gallik asit ve Folin-Ciocalteu reaktifi Sigma-Aldrich'den satın alınmıştır.

HPLC analizinde çözücü olarak HPLC-safılıkta metanol (Merck), izopropil alkol (Merck), % 85'lik *orto*-fosforik asit (Merck) ve kromatografik safılıkta bidistile su kullanılmıştır. Tüm çözeltiler 0.45 µm Millipor filtreden geçirilip ultrasonik su banyosunda degaze edilmiştir.

3. 3. Deney hayvanları

MOO'in *in vitro* deneyleri 250-350 gram ağırlığındaki yetişkin erkek Wistar sıçanlarında yapılmıştır.

Deneyler Gazi Üniversitesi Rektörlüğü deney hayvanları etik kurul izni ile (G.Ü.E.T.-07.035) ve bu kurul tarafından belirtilen kurallara göre yapılmış, deney hayvanları 25 °C sıcaklıkta, 12 saat ışık-12 saat karanlık siklusunda barındırılmış ve standart laboratuvar diyeti ile beslenmiştir.

3. 4. Ekstre hazırlanışı

Gölgede kurutulmuş olan MOO yaprakları parçalanarak infüzyonu hazırlanmış ve liyofilize edilmiştir.

3. 5. İzole organ banyosu deneyleri

Hayvanlar eter ile anestezi edilip torasik aortaları çıkartılmış, bağ dokulardan temizlenmiş ve 4-5 mm uzunluğunda halkalara bölünmüştür. Bu parçalar, içinde Krebs-Henseleit çözeltisi (mM-NaCl 119, NaHCO₃ 25; KCl 4.6; MgCl 21.2; KH₂PO₄ 1.2; CaCl₂ 2.5 ve glukoz 11) bulunan 10 ml'lik banyolara asılmıştır. Çözelti % 95 O₂, % 5 CO₂ içeren gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Gevşeme cevaplarına endotel tabakasının katkısını görmek için endotelsiz halkalarda da çalışılmıştır. Damar endotelsizleştirilmesi üstü pürtüklü plastik bir çubuğun luminal katmana sürtülerek nazikçe tahrip edilmesi ile yapılmıştır. İzometrik kasılmalar, Labsys bilgisayar programı kullanılarak ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Damar halkaları, Krebs-Heinseleit solüsyonunda 1 gr optimum istirahat kuvvetinde, 1 saat boyunca dengelenmiştir. 1 saatlik

dengelenme süresi sonunda endotelli ve endotelsiz arteryel segmentlerin çalışıp çalışmadığı, KCl (60 mM) ve fenilefrin (10^{-5} M) ile kontrol edilmiştir. Endotelsizleştirme işleminin etkili olup olmadığı fenilefrin ile kastırılmış dokularda asetilkolinin gevşeme yanıtlarına bakılarak yapılmıştır.

MOO ekstresi distile suda çözülmüş (1mg mL^{-1}) ve Krebs-Henseleit solüsyonu ile dilüe edilmiştir ($0.001\text{-}1\text{mg mL}^{-1}$).

Deneyler 3 grupta toplanmıştır. Birinci grupta ekstrenin gevşetici etkisi ve istirahat halindeki arterlerde de kastırıcı etkisi olup olmadığı incelenmiştir. İstirahat gerimindeki arterlerde MOO ekstresinin bir etkisi olmadığı, buna karşılık prekontrakte edilen arterlerde doz bağımlı bir gevşeme yaptığı bulunmuştur. Buradan elde edilen sonuçtan sonra ikinci grup deneylerde MOO ekstresinin gevşetici etkisinin endotele bağlı olup olmadığına araştırılmasına geçilmiştir. Bunun için fenilefrin ile prekontrakte edilmiş endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş arterlerdeki etki incelenmiştir. Üçüncü grupta MOO ekstresinin endoteli sağlam arterlerdeki gevşeme etkisinin mekanizmaları araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan deneylerde, endotelli arterler, fenilefrin ile kastırılmadan önce endotel kaynaklı gevşeme faktör inhibitörleri olan nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME ($\text{N}^{\omega}\text{-nitro-L-arjinin-}2.5 \times 10^{-4}$ M), siklooksijenaz inhibitörü indometazin ($10\text{ }\mu\text{M}$) ve K_{ATP} kanal blokeri glibenklamid ($10\text{ }\mu\text{M}$) ile ayrı ayrı 30 dakika inkübe edilmiştir. Kontrol ve inhibitörler ile inkübe edilmiş prekontrakte arterlerde MOO ekstresinin kümülatif doz-cevap eğrileri çıkarılmış ve MOO ekstresinin majör bileşiği olan rozmarinik asitin de benzer deneysel yöntemlerle vazodilatör etki gösterip göstermediği test edilmiştir.

3. 6. Rozmarinik asit miktar tayini

Bitkisel materyalden hareketle yukarıda hazırlanışı anlatılan ekstredeki rozmarinik asit miktar tayini ters-faz HPLC yöntemi ile aşağıda belirtilen kromatografik şartlarda yapılmıştır.

3. 6. 1. HPLC şartları

HPLC: Agilent Technologies 1100 seri (Kuaterner pompa, vakum degazer, otosampler, diyod array dedektör)

Kolon: Phenomenex-Hyperclone ODS kolon (250 x 4.6 mm, 5 µm)

Mobil Faz: Aşağıdaki gradient mobil faz sistemi kullanılmıştır

Solvan A: % 0.085 o-fosforik asit taşıyan su

Solvan B: % 0.085 o-fosforik asit taşıyan metanol

Solvan C: % 0.085 o-fosforik asit taşıyan 2-propanol

İlk 10 dakika: A:B:C (80:10:10)

10→15. dakika: A:B:C (70:15:15)

15→20. dakika: A:B:C (60:20:20)

Kolon sıcaklığı: 30 °C

Akış Hızı: 1 ml/dk

Dedektör: UV 330 nm

Miktar tayini hesaplamalarında eksternal standart yöntemi kullanılmış ve hesaplamalar standart rozmarinik asit çözeltilerinin pik alan değerlerine göre elde edilen kalibrasyon grafiği ve doğru denkleminde yararlanarak yapılmıştır.

3. 7. Total fenolik bileşik miktar tayini

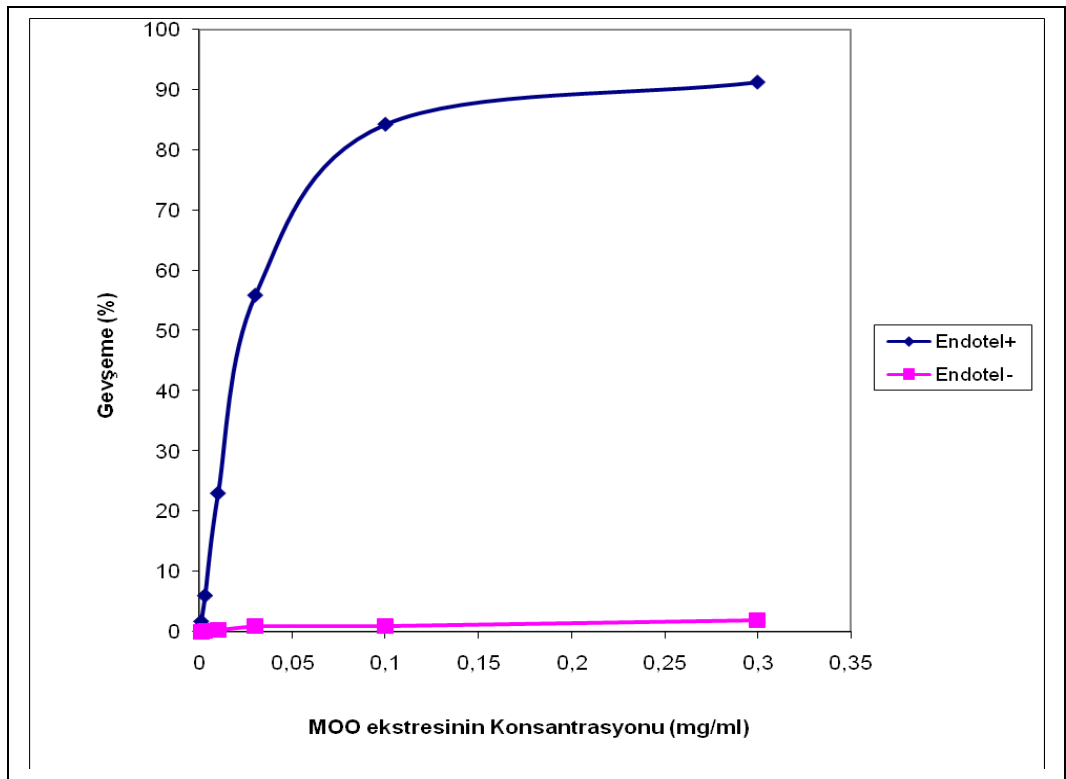
Fenolik bileşikler, Folin-Ciocalteu yöntemine göre tayin edilmiştir¹⁰⁰. Suda çözülen MOO ekstresi ile referans olarak kullanılan gallik asit dilüsyonlarından 150'şer µl mikropipetle alınarak test tüplerine konmuş, üzerlerine 750'şer µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 600 µl sodyum karbonat (% 7.5) ilave edilerek, 40°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından 760 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüş ve elde edilen doğru denkleminde, MOO ekstresinin total fenol içeriği gallik asit eşdeğeri olarak (mg/mg ekstre) ifade edilmiştir.

3. 8. İstatistiksel analiz

Deney sonuçları ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. MOO ve rozmarinik aside ait gevşemeler; KCl ile oluşan maksimum kasılmanın yüzde azalması (gevşemesi) olarak ifade edilmiştir. Maksimum cevabın %50'sini oluşturan (EC₅₀) madde konsantrasyonu ve E_{max} (maksimum cevap) Prism 3 Grahp Pad grafik program kullanılarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz; Student's t testi kullanılarak, 2 grup arasındaki farkı aynı anda ve tek yönde ölçecek şekilde yapılmıştır gruplar arasındaki farklılık ise tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. *P* değeri 0,05 ten küçük olan değerler anlamlı kabul edilmiştir.

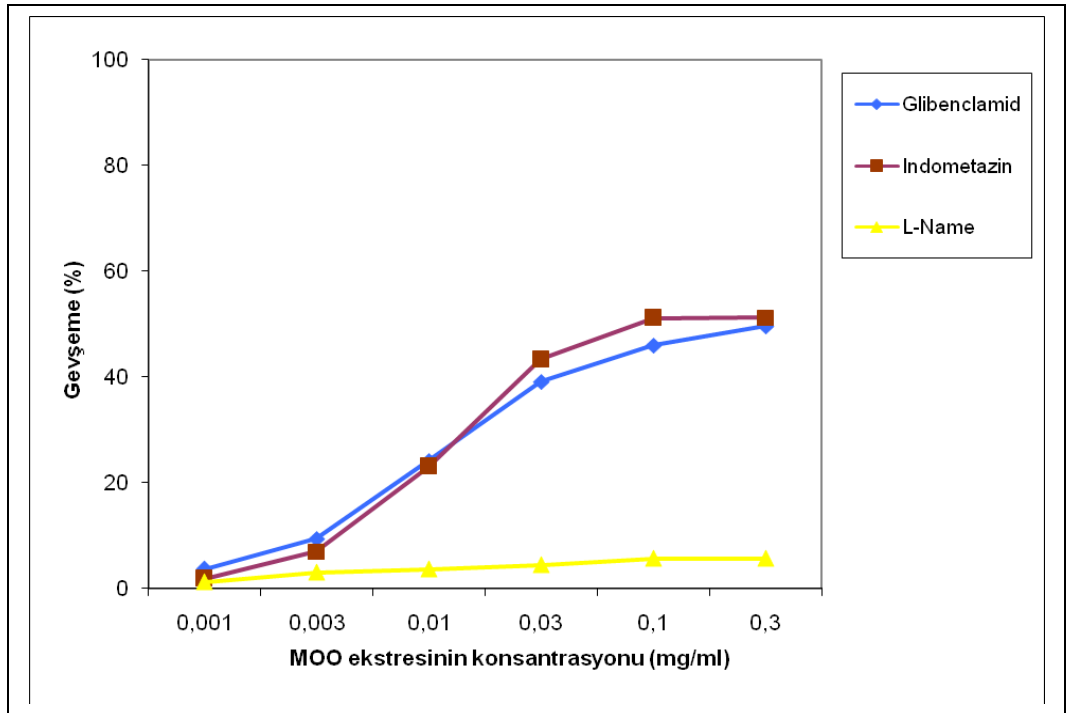
4. BULGULAR

MOO sulu ekstresi (1-1000 µg/ml) fenilefrin ile prekontrakte edilmiş endotelli torasik aort halkalarında doz bağımlı gevşeme gösterirken (Emax: %91±1.5, -logEC₅₀: 1.64±0.02, n=6), endotelsiz halkalarda bu etki görülmemiştir (Emax: %1.5±0.3, -logEC₅₀: 1.61±0.038, n=8). Ekstre fenilefrin ile prekontrakte aort halkalarında doz bağımlı gevşemeye yol açmıştır (Şekil 6).



Şekil 6: MOO ekstresinin fenilefrin ile kontrakte endotelli ve endotelsiz izole torasik halkalarında gösterdiği gevşeme grafiği (%), kontrole göre, p<0.05 n=8.

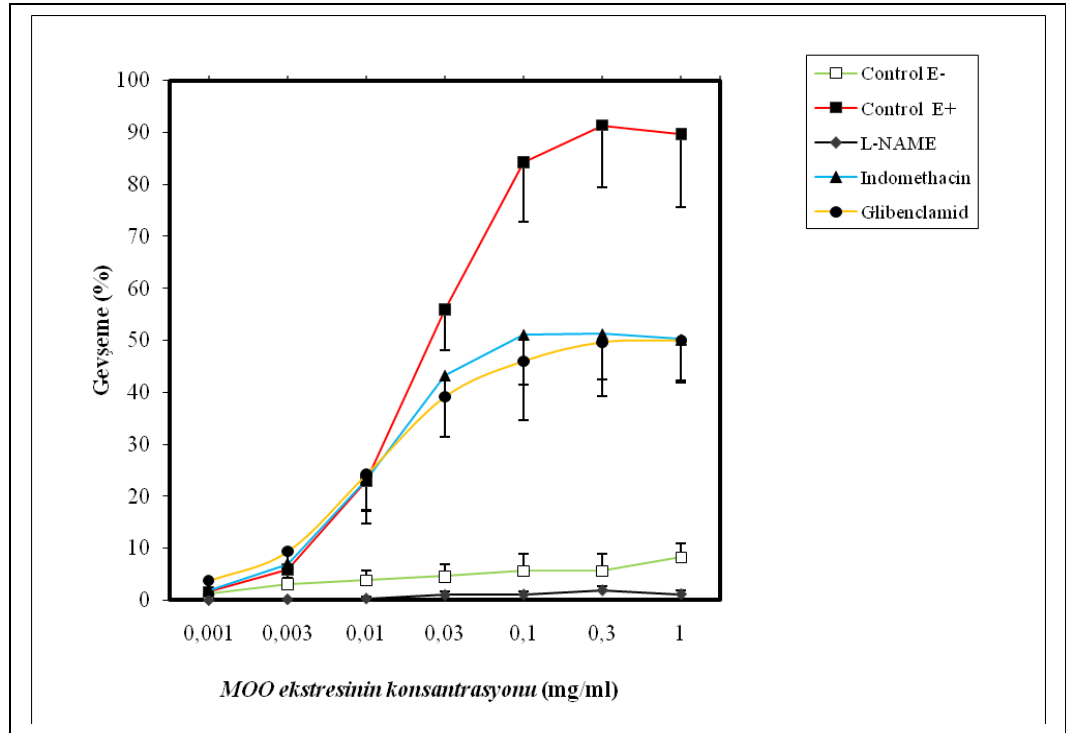
MOO'in vazodilatör etkisi L-NAME (2.4×10^{-4} M) ($E_{\max}$: $\%7.32 \pm 0.34$, $-\log EC_{50}$: 1.4 ± 0.34 , $n=8$) ile tamamen ortadan kalkmış, glibenklamid ve indometazin ise MOO'in vazodilatör etkisini 1 mg ml^{-1} ve 0.3 mg ml^{-1} dozlarında anlamlı derecede azaltmıştır ($E_{\max}$: $\%53.4 \pm 0.12$, $-\log EC_{50}$: 2.0 ± 0.12 , $n=8$; $E_{\max}$: $\%50 \pm 0.44$, $-\log EC_{50}$: 1.95 ± 0.02 , $n=8$) (Şekil 7,8). (Tablo 1)



Şekil 7: MOO'nin ortama NO inhibitörü (L-NAME), EDHF inhibitörü (Glibenklamid) ve Prostaglandin inhibitörü (İndometazin) eklendikten sonra izole torasik aort halkalarında gösterdiği gevşeme grafiği(%) ($n=8, p<0.05$)

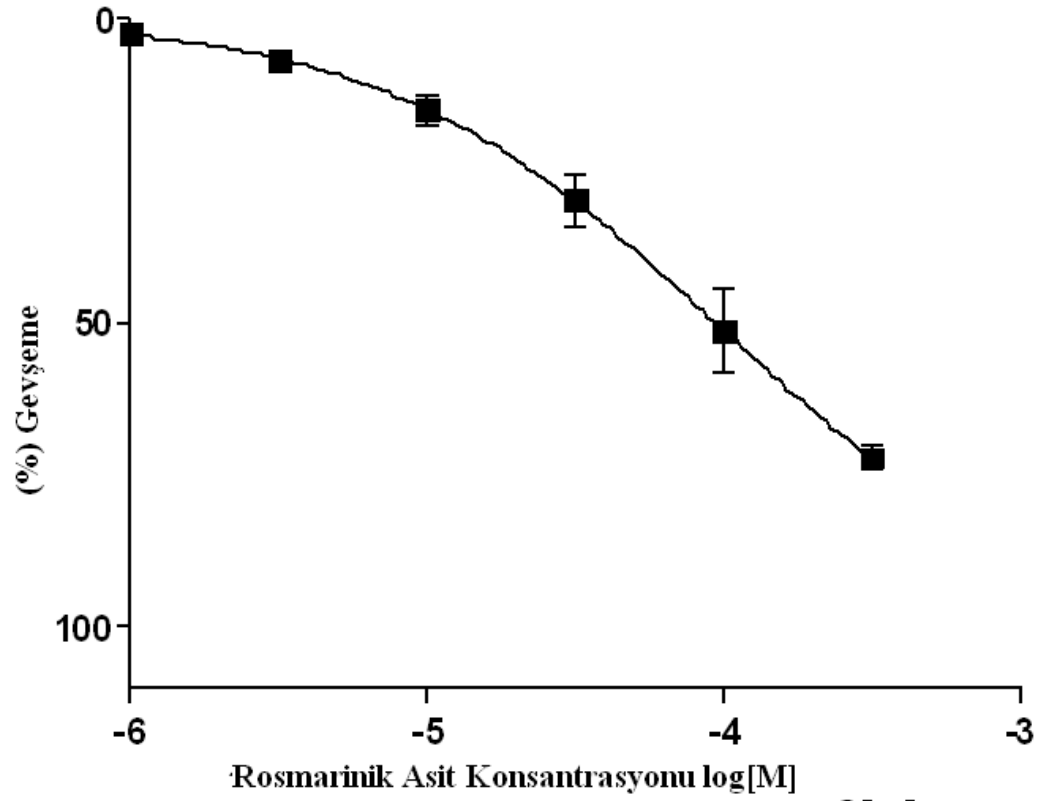
Tablo 1: MOO ekstresinin 0.001-1 mg/ml doz aralığında Endotelli, Endotelsiz ve Glibenklamid, İndometazin ve L-NAME ile muamele edilmiş izole aort halkalarındaki % gevşeme tablosu.

M.Officinalis(mg/ml)	Gevşeme Değerleri %				
	Endotel+	Endotel -	Glibenklamid	İndometazin	L-Name
0.001	1.70	0	3.7	1.9	1.2
0.003	6.00	0.1	9.4	7	3.1
0.01	23.00	0.3	24.2	23.1	3.7
0.03	55.90	0.9	39.1	43.3	4.5
0.1	84.30	1.00	46.00	51.10	5.70
0.3	91.30	1.90	49.60	51.20	5.70
1	89.70	1.10	50.00	50.20	8.20



Şekil 8: MOO ekstresinin 0.001-1 mg/ml doz aralığında Endotelli, Endotelsiz ve Glibenklamid, İndometazin ve L-NAME ile muamele edilmiş izole aort halkalarındaki gevşeme grafiği (%) (kontrolle göre, $p < 0.05$ $n=8$)

Ekstrenin major bileşiği olan rozmarinik asit de çalışıldığı aynı deneysel yöntem ile doza bağımlı bir gevşeme göstermiştir (Şekil 9).



Şekil 9: Rozmarinik asidin endotelli torasik aort halkalarındaki gevşeme grafiği (%), (kontrole göre, $p < 0.05$, $n=4$)

MOO sulu ekstresinde rozmarinik asit miktarı ters faz-HPLC ile % 18.75 olarak bulunmuştur. Ekstredeki total fenol içeriği ise Folin-Ciocalteu reaktifi ile 0.284 mg/mg ekstre (gallik asit eşdeğeri) olarak tayin edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmamızda MOO'nin kardiyovasküler sistem üzerine etkisini, gerek tarihçesinde yer alması gerek ülkemizde halk arasında ve komşu bazı ülkelerde antihipertansif etkisinden dolayı geleneksel kullanımı olması sebebiyle¹⁰⁻¹², organ banyosu tekniğini kullanarak araştırdık. Araştırmamızda MOO sulu ekstresinin etkisini izole sıçan torasik aort halkalarında çalıştık ve fenilefrin ile prekontrakte arterlerde doz bağımlı damar gevşetici etki gözlemledik. Endoteli tahrip edilmiş aort halkalarının nitrik oksit (NO) inhibitörü L-NAME ile inkübe edilmesi MOO ekstresine bağlı gevşemeyi tamamen ortadan kaldırırken, indometazin ve glibenklamid bu gevşemeyi ekstrenin yüksek konsantrasyonlarında bir miktar azaltmıştır. Araştırmamızın sonuçları; MOO ekstresinin prostasiklin ve EDHF aktivasyonunun da katkılarıyla endotelyal NO salınımı aracılığıyla doz bağımlı vazodilatasyona yol açtığını ortaya koymaktadır.

Ekstrenin fenolik bileşikler yönünden zengin (0,284 mg/mg) ve major bileşiğinin de rozmarinik asit (%18,75) olması, bize vazodilatör etkinin rozmarinik aside bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Rozmarinik asidin, aynı yöntemle test edildiğinde, total ekstreya benzer doz bağımlı bir vazodilatasyon göstermesi etkiden sorumlu olduğunu göstermiştir.

MOO tıbbi bir bitki olarak bilinmesine rağmen kardiyovasküler sistem üzerine etkisi konusunda bilgi oldukça kısıtlıdır. Hiperlipidemik sıçanlarda yapılan ve MOO ekstresinin lipit düşürücü etkisinin tespit edildiği çalışmalar dışında^{13,14} kardiyak aktivite ile ilgili tek literatür, izole sıçan kalbinde yapılmış çalışmadır. Bu çalışmada, MOO ekstresi kalp hızında belirgin bir azalma sağlamış, ancak kasılma üzerinde bir etkisi olmamıştır. Yani negatif kronotropik etki gösterirken, inotropik etki gözlenmemiştir¹⁵. Bu 3 çalışmada da hem antihiperlipidemik hem de

negatif kronotropik etkiden sorumlu olabilecek MOO bileşenleri arasında polifenollerden ilk sırada bahsedilmiştir¹³⁻¹⁵.

Literatür bilgimize göre bizim çalışmamız MOO ekstresinin vazodilatör etkisi üzerine yapılmış ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Ancak günümüze kadar birçok farklı bitki ekstresi ile benzer çalışmalar yapılmıştır. Bunların bir kısmında damar gevşetici etkiden sorumlu olabilecek aktif bileşiklerden de bahsedilmiştir. İzole aort halkalarında yapılmış ve gevşeme görülmüş bu değişik çalışmalarda altta yatan vazodilatasyon mekanizmasını izah ederken; bir kısım bitkinin endotelden NO salınımı üzerinden etkili olduğu, birçoğunun ise hem NO üzerinden hem de prostasiklin ve/veya endotel kaynaklı hiperpolarizasyon faktör (EDHF) üzerinden etki gösterdiği iddia edilmiştir. Benzer deneysel yöntemler kullanılarak yapılmış bu çalışmalarda damar gevşetici etkiden sorumlu olarak flavonoidler, kumarinler, feniletanoidler gibi fenolik bileşikler ve diğer bazı polifenoller gösterilmiştir^{20,101-107}.

Bunlardan Brezilya'da yaygın olarak tüketilen Açai (*Euterpe oleracea* bitkisinin meyvası) ekstresi ile yapılan çalışmada sıçan mezenterik arterlerinde endotel bağımlı vazodilatasyon gözlenmiş ve bu etkiden NO salınımı ve EDHF aktivasyonu sorumlu tutulmuştur²⁰. Üzüm ekstresi ve polifenoller ile yapılan birçok çalışmada da endotel bağımlı vazodilatasyon gözlenmiştir. Bunlardan Anselm ve arkadaşlarının Concord üzüm suyunda yaptıkları çalışma bizim çalışmamıza oldukça yakın sonuçlar içermekte olup üzüm suyunun koroner arterlerde endotel bağımlı güçlü bir vazodilatasyon sağladığı ve bunun endotelial NO ve EDHF formasyonuna bağlı olduğu açıklanmıştır¹⁰¹. Çin ve Japonya'da halk arasında diüretik olarak kullanılan ve ekstrelerinin antikoagulan etkili olduğu belirlenmiş olan *Geum japonicum* bitkisi sıçan torasik aortunda test edilmiş, endotel bağımlı ve NO üzerinden damar gevşetici etki görülmüştür¹⁶.

Mentha villosa uçucu yağı ile yapılan bir çalışmada ise sıçan torasik aort halkalarında doz bağımlı vazodilatasyon gözlenmiş; gevşeme endotelin tahribi, ortama L-NAME ve indometazin eklenmesi ile kaybolmuştur¹⁰⁸. Fas'ın doğusunda hipertansiyon tedavisinde geleneksel olarak kullanılan *Arbutus unedo* bitkisinin sulu ekstresi yine benzer yöntemlerle çalışılmış, endotele bağımlı vazodilatasyon gözlenmiş ve bu etkinin endotelial nitrik oksit formasyonuna bağlı olduğu sonucuna varılmıştır²².

Tüm bu çalışmalarda da ortaya konulmuştur ki; polifenoller antioksidan etkileriyle veya bu etkiden bağımsız olarak; NO, EDHF ve prostasiklin gibi vazodilatör faktörlerin endotelden salınımını artırırken endotelin-1 gibi vazokonstriktör faktörleri de inhibe etmektedir¹⁰⁹. Polifenolik bileşiklerin birçok çalışmada gösterilen serbest radikalleri önleyici etkilerinin yanı sıra LDL oksidasyonunu önleyerek ateroskleroz ve koroner kalp hastalıklarının ana risk faktörlerinden birini ortadan kaldırdığı da bilinmektedir. Yine antioksidan etkilerine ilave olarak polifenolik bileşikler bazı enzimlerdeki modölatör özellikleriyle terapötik potansiyellerini güçlendirmektedir. Örneğin bir çok polifenol COX-2 ve lipooksijenaz dahil oksijenaz inhibitörüdür. Bu özellikleriyle de platelet agregasyonunu ve inflamatuvar süreci önlemektedirler. Bu etkilerin bir kısmı –Tromboksan B2 inhibisyonu ve platelet agregasyonunu azaltması gibi- polifenollerden zengin diyet veya belirli bazı preparatların uygulandığı *in vivo* çalışmalarda da gösterilmiştir¹¹⁰.

Bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz vazodilatör etki, ekstreinin antioksidan özelliğinden bağımsız gibi gözükmesine rağmen şu noktanın altının çizilmesi gerektiği kanaatindeyiz: “endotel disfonksiyonunun fizyopatolojisinin temelinde oksidatif stres ve hücre içi serbest radikallerin

artışının olduğu bilinen bir gerçektir". Serbest radikal önleyici etkileriyle bilinen antioksidanların, endojen oksidanlar lehine bozulan dengenin geri kazanılmasında ve endotel kökenli NO biyoaktivitesinde azalma ve aterojenoz mekanizmalarındaki önleyici rolüne gün geçtikçe daha fazla dikkat çekilmektedir.(Şekil 3) Kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda başlıca risk faktörlerinden diyabet, dislipidemi, metabolik sendrom gibi rahatsızlıkların ve bunların yol açtığı mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişimini önlemede antioksidanlardan yani taze sebze ve meyvedan zengin diyetle beslenme, bu hastalıkların tedavisinin ilk basamağı olan hayat tarzı değişikliğinin en önemli bileşenlerindendir. MOO da antioksidan etki açısından oldukça çok araştırılmış olmasının yanı sıra bu çalışmalarda antioksidan aktivitesi oldukça güçlü bulunmuş ve karşılaştırıldığı diğer bitkiler arasında öne çıkmış bir bitkidir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz neticeleri MO ile daha önce yapılmış fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları ile birlikte değerlendirecek olursak;

MOO endotel fonksiyonunu düzeltici, başta NO olmak üzere, bazı mediyatörlerin salınımını uyararak endotele bağımlı vazodilatasyon sağlamıştır.

MO endotel disfonksiyonunun temel sebebi olan oksidatif stresi alt edebilecek güçlü antioksidanların başında gelmektedir⁶³⁻⁷⁵. Ayrıca kan trigliserit ve kolesterol seviyelerini düşüren güçlü bir antihiperlipidemik ajandır^{13,14} ve bu etkisinin teyit edildiği çalışmada aynı zamanda görülmüştür ki mevcut antihiperlipidemik ilaçların aksine karaciğer üzerine herhangi bir toksisite göstermediği gibi karaciğer enzimlerini kontrol gurubununkinin dahi altına düşürmüştür¹³. Kalbin kasılma gücünü arttırmasa da kalp hızını yavaşlatan ve iskemik hastalıklarının tedavisinde endike negatif kronotropik ve antiaritmik aktiviteyi de göstermektedir¹⁵.

Tüm bunların ötesinde MOO'nın en fazla çalışılmış ve ilgili tüm monograflarında onaylanmış etkisi anksiyolitik ve sedatif aktivitesidir ki bu hem kronik hem de akut kalp hastalıklarında ihtiyaç duyulan bir t rap tik etkidir. Diyabet, hipertansiyon, obezite, dislipidemi gibi risk faktörlerinin yol açtığı mikro ve makro vasküler komplikasyonların patogenezinde rol oynayan mikro ve makro stresin her ikisine de etkili güçlü bir bitki olduğunu düşünmekteyiz.

6. S O N U Ç

Bu çalışmada, oğulotunun (MOO) tarihçesinde ve geleneksel kullanımında kalp dostu olarak anılmasını sağlayan ancak literatür bilgisi bir hayli kısıtlı olan kardiyovasküler sistem üzerine etkisini araştırdık. İzole sıçan torasik aortunda yaptığımız deneyde MOO sulu ekstresiy ile endotele bağımlı bir vazodilatasyon gözlemledik ve bu etkinin endotelial NO salınımına bağlı olduğunu; diğer iki yolağın, prostasiklin ve EDHF yolaklarının da kısmen katkı sağladığını belirledik. Oğulotunun bizden önce yapılmış çalışmalarda tespit edilen antihiperlipidemik, negatif kronotropik ve endotel fonksiyonu üzerinde olumlu katkıları olduğu bilinen antioksidan etkisini ve bizim saptadığımız vazodilatör etkiyi bir arada düşündüğümüzde bu tıbbi bitkinin kalp ve damar sağlığında çok yararlı bir fitofarmasötik ajan olabileceği kanaatine vardık.

Kalp ve damar hastalıklarının görülme sıklığı, mortalite ve morbidite oranları gün geçtikçe artmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de en sık görülen ölüm sebebidir. Türkiye’nin kalp ve damar hastalıkları görülme sıklığı ve görülme zamanının erken yaşlarda olması açısından Avrupa ülkeleri arasında ilk sırada yer alması ve kardiyovasküler hastalıkların tüm mortalite sebepleri arasında açık ara önde olması oğulotunun bu çalışmayla ortaya koyduğumuz kardiyoprotektif etkisini daha da bir anlamlı kılmaktadır.

Oğulotunun kardiyovasküler sistem üzerine etkisini teyit için bizim çalışmamızın *in vivo* ve klinik deneylerle desteklenmesi, saptadığımız vazodilatör etki nedeniyle antihipertansif ve antiiskemik etki gösterip göstermeyeceğinin araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Aktivite çalışmalarındaki eksikliğin aksine güvenilirlik ve kalite konusunda eksikliği bulunmayan, monograflarında kullanımı ile ilgili herhangi bir yan etki ve kontrendikasyonundan bahsedilmeyen bu hoş kokulu, içimi kolay, tıbbi bitkinin günümüzde az da olsa kalp hastalıklarındaki geleneksel kullanımını fırsat bilip, en azından bitki ayı olarak tüketilmesini tavsiye etmek ve bunu mümkün olduğunca her platformda ve özellikle de bilimsel platformlarda desteklemek gerektiğine inanmaktayız. Bu bilginin paylaşımı kalp ve damar hastalıklarından dolayı hem ekonomik hem de insan hayatı bağlamında çok ciddi kayıplar yaşadığımız ülkemizde toplum sağlığı yararına ciddi bir bilincin göstergesi olacaktır.

7. Ö Z E T

MELISSA OFFICINALIS L. SUBSP. OFFICINALIS BİTKİSİNİN KARDİOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada, *Melissa officinalis* L. ssp. *officinalis* (MOO)'ın sulu ekstresinin, fenilefrin ile prekontrakte izole sıçan aortunda gösterdiği vazodilatör etki ve bu etkinin muhtemel mekanizmaları incelenmiştir.

Deneylerin ilk safhasında MOO in baseline ve fenilefrin ile kontrakte arterlere etkisi incelenirken ikinci safhada endotele bağımlı ve endotelden bağımsız etkiler gözlenmiştir. Kullanılan ajanlar; nitrik oksit (NO) sentaz irreversibil inhibitörü L-NAME, siklooksijenaz (Cox) inhibitörü indometazin ve ATP ye duyarlı K kanal blokeri glibenklamiddir.

Ekstrenin vazodilatör etki gösterdiği bulunmuş ve bitkinin karakteristik bileşeni rozmarinik asit miktarı (% 18.75) ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile tayin edilmiştir. Ekstredeki total fenol miktarı (0.284 mg/mg ekstre) Folin-Ciocalteau reaktifi kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışma neticesinde MOO ekstresinin vazodilatör etkisi endotele bağımlı bulunmuş ve L-NAME ile muamele bu etkiyi tamamen ortadan kaldırmıştır. İndometazin ve glibenklamid ile muamele ise vazodilatör etkiyi kısmen azaltmıştır. Rosmarinik asit de ekstreya benzer şekilde test edilmiş ve vazodilatör etki gösterdiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak bu bulgular ışığında; MOO sulu ekstresinin nitrik oksit üzerinden vazodilatasyon gösterdiği, prostasiklin ve endotel kaynaklı

hiperpolarizasyon faktörü (EDHF) yolaklarının da bu etkiye kısmen katkıda bulunduğu neticesine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Melissa officinalis* ssp. *officinalis*; Lamiaceae; vazodilatör etki; endotel; sıçan aortu; rozmarinik asit.

8. A B S T R A C T

THE EFFECT OF *MELISSA OFFICINALIS* L. SUBSP. *OFFICINALIS* PLANT ON CARDIOVASCULAR SYSTEM

In the current study, vasorelaxant effect produced by the aqueous extract of *Melissa officinalis* L. ssp. *officinalis* (MOO) (Lamiaceae) and its possible mechanism in isolated rat aortic rings precontracted with phenylephrine were examined. In the first series of experiments, effect of MOO on the baseline and phenylephrine (10^{-5} M) precontracted arteries was investigated, while in the second group of experiments, endothelium intact or endothelium denuded effect was determined. The agents used were N^ω-nitro-L-arginine (L-NAME), an irreversible inhibitor of nitric oxide (NO) synthase, indomethacin (10 μ M), a cyclooxygenase (COX) inhibitor, and glibenclamide (10 μ M), an ATP-sensitive potassium channel blocker. The extract was found to exert a vasorelaxant effect and rosmarinic acid quantity, the characteristic compound of the plant, was analyzed by reversed-phase high performance liquid chromatography (18.75%). Total phenol amount in the extract was determined using Folin-Ciocalteu reagent (0.284 mg/mg extract). Vasorelaxant effect of the extract was entirely dependent on the presence of endothelium and was abolished by pretreatment with L-NAME whereas pretreatment with indomethacin and glibenclamide reduced the relaxation to a minor extent. Rosmarinic acid was also tested in the same manner as the extract and was found to exert vasorelaxant effect.

These results suggest that the aqueous extract of MOO vasodilates *via* nitric oxide pathway with the possible involvement of

prostacycline and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) pathways as well.

Keywords: *Melissa officinalis* ssp. *officinalis*; Lamiaceae; vasorelaxant effect; endothelium; rat aorta; rosmarinic acid.

9. KAYNAKLAR

1. Baytop T. Türkiye’de tıbbi bitkilerle tedavi. 2’inci baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1999.
2. Uzun E, Sarıyar G, Adersen A, Karakoç B, Ötük G, Oktayoğlu E, et al. Traditional medicine in Sakarya province and antimicrobial activities of selected species. J Ethnopharmacol 2004; 95: 287-296.
3. Wichtl, M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. (Edited and translated from the second German edition by Grainger Bisset N.), Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers; 1994.
4. Expanded Commission E Monographs. Newyork: American Botanical Council; 2000.
5. Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. Farmasötik Botanik. Ankara: Ankara Üniversitesi basımevi; 1998.
6. Tabib İbn-i Şerif. Yadigar.İstanbul: Merkezefendi ve halk hekimliği Derneği; 2003.
7. Messegue M. Hayat Veren Şifalı Otlar. İstanbul: Milliyet Yayınları; 1982.
8. Culpeper N. Culpeper’s Complete Herbal. London: 1992.
9. Babulka P. La mélisse (*Melissa officinalis* L.). Phytothérapie 2005; 3: 114-117.
10. Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. J Ethnopharmacol 2005; 97 : 145-149.
11. Abu-Hamdah S, Afifi FL, Shehadeh M, Khalid S. Simple quality control procedures for selected medicinal plants commonly used in Jordan. Pharm Biol 2005; 43: 1-7.
12. Ivanova D, Gerova D, Chercenkov T , Yankova T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. J Ethnopharmacol 2004; 96 : 145-150.

13. Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study. J Ethnopharmacol.2005; 99: 391-398.
14. Lee J, Chae K, Ha J, Park BY, Lee HS, JeongS, et al. Regulation of obesity and lipid disorders by herbal extracts from *Morus Alba*, *Melissa officinalis*, *Artemisia capillaries* in high fat diet induced obese mice. J Ethnopharmacol 2008; 115: 263-270.
15. Gazola R, Machado D, Ruggiero C, Singi G, Alexandre MM. *Lippia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. Pharmacol Res 2004; 50: 477-480.
16. Xie YW, Xu HX, Dong H, Fiscus RR, But PP. Role of nitric oxide in the vasorelaxant and hypotensive effects of extracts and purified tannins from *Geum japonicum*. J Ethnopharmacol 2007;109(1):128-133.
17. Madeira SVF, Resende AC, Ognibene DT, Sousa MAV, Moura RS. Mechanism of the endothelium dependent vasodilator effect of an alcohol free extract obtained from a vinifera grape skin. Pharmacol Res 2005; 52: 321-327.
18. KubotaY, TanakaN, Umegaki K, Takenaka H, Mizuno H, Nakamura K, et al. *Ginkgo biloba* extract induced relaxation of aorta is associated with increase in endothelial intracellular ca level. Life Sci 2001; 69: 2327-2336
19. Ghayur Muhammed N, Gilani AH, Afridi MB, Houghton PJ. Cardiovascular effects of ginger aqueous extract and its phenolic constituents are mediated through multiple pathways. Vascular Pharmacol 2005; 43: 234-241
20. Rocha AP, Carvalho LC, Sousa MA, Madeira SV, Sousa PJ, Tano T, et al. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. Vasc Pharmacol 2007; 46: 97-104.

21. [Pires SL](#), [de Assis TS](#), [de Almeida RN](#), [Filho JM](#), [Julien C](#), [de Medeiros IA](#). Endothelium-derived nitric oxide is involved in the hypotensive and vasorelaxant responses induced by the aqueous fraction of the ethanolic extract of the leaves of *Albizia inopinata* (Harms) G. P. Lewis in rats. *Phytomedicine* 2000; 7: 91-98.
22. Ziyat A, Mekhfi H, Bnouham M, Tahri A, Legssyer A, Hoerter J, et al. *Arbutus unedo* induces endothelium-dependent relaxation of the isolated rat aorta. *Phytotherapy Res.* 2002;16: 572-575.
23. Calderone V, Martinotti E, Baragatti B, Breschi MC, Morelli I. Vascular effects of aqueous crude extracts of *Artemisia verlotorum* Lamotte (Compositae): in vivo and in vitro pharmacological studies in rats. *Phytother Res* 1999;13(8): 645-648.
24. Wazlawik E, Da Silva MA, Peters RR, Correia JF, Farias MR, Calixto JB, Ribeiro-Do-Valle RM. Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49(4): 433-437.
25. Rodríguez-Cruz ME, Pérez-Ordaz L, Serrato-Barajas BE, Juárez-Oropeza MA, Mascher D, Paredes-Carbajal MC. Endothelium-dependent effects of the ethanolic extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* on the vasomotor responses of rat aortic rings. *J Ethnopharmacol* 2003;86(2-3):213-8.
26. Jiang HD, Jai J, Xu JH, Zhou XM, Xia Q. Endothelium-dependent and direct relaxation induced by ethyl acetate extract from *Flos Chrysanthemi* in rat thoracic aorta. *J Ethnopharmacol* 2005; 101: 221-226.
27. Moon MK, Kang DG, Lee JK, Kim JS, Lee HS. Vasodilatory and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of rhubarb via a NO-cGMP pathway. *Life Sci.* 2006; 28: 1550-1557.
28. Mill RR. *Melissa* L. In: Davis PH, editor. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1982. vol. 7, p. 262-264.

29. Carnat A P, Carnat A, Fraisse D, Lamaison JL. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. [Pharm Acta Helv](#) 1998;**72**(5): 301-305.
30. Schultze Von W, Zanglein A, Klose R, Kubeczka KH. Die Melisse. *Dtsch Apoth Ztg* 1989; 4 : 155-163.
31. Mulkens A, Kapetanidis I. Etude de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharm Acta Helv* 1988 ;63 : 9-10.
32. Enjalbert F, Bessiere JM, Pellecuer J, Privat G, Doucet G. Analyse des essences de Melisse. *Fitoterapia* 1983; 54: 59-65.
33. Basta A, Takou O, Couladis M. Composition of the leaves essential oil of *Melissa officinalis* from Greece. *Flav Fragr J* 2005; 20: 642-644.
34. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 2485-2489.
35. De Sousa AC, Alviano DS, Blank AF, Alves PB, Alviano CS, Gattass CR. [Melissa officinalis L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities](#). *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 677-681.
36. Baerheim Svendsen A, Merckx IJM. A simple method for screening of fresh plant material for glycosidic bound volatile compounds. *Planta Med* 1989; 55: 38-40.
37. Mulkens A, Stephaneou F, Kapetanidis I. Heterosides a genines volatiles dans les feuilles de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) *Pharm Acta Helv* 1985 ;60 :77-85.
38. Mulkens A, Kapetanidis I. Eugenylglucoside , a new natural phenylpropanoid heteroside from *Melissa officinalis*. *J Nat Prod* 1988 ; 51:496-498.
39. Mulkens A, Kapetanidis. Flavonoides des feuilles de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharm. Acta Helv.* 1987; 62: 19-22.
40. Heitz A, Carnat A, Fraisse D, Carnat A.P, Lamaison JL. Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*. *Fitoterapia* 2000; 71: 201-202.

41. Herodez SS, Hadolin M, Skerget M, Knez Z. Solvent extraction study of antioxidants from balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. Food Chem 2003; 80: 275-282.
42. Karasova G, Lehotay J. [Chromatographic determination of derivatives of p-hydroxybenzoic acid in *Melissa officinalis* by HPLC](#). J Liq Chromatogr & R Tech 2005; 28(15): 2421-2431.
43. Karasova G, [Lehotay J](#), [Klodzinska E](#), [Gadzala-Kopciuch R](#), [Buszewski B](#). Comparison of several extraction methods for the isolation of benzoic acid derivatives from *Melissa officinalis*. J Liq Chromatogr & R Tech 2006; 29(11): 1633-1644.
44. Hohmann J, Zupkó I, Rédei D, Csányi M, Falkay G, Máthé I, et al. [Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation](#). Planta med 1999; 65(6):576-8.
45. Lamaison JL, Freytet CP, Carnat A. Teneurs en acide rosmarinique, en derives hydroxycinnamiques totaux et activite antioxydante chez des Apicees, les Borriginacees et les Lamiacees medicinales. Ann Pharm Fr 1990 ;48 : 103-108.
46. Tagashira M, Ohtake. A new antioxidative 1,3 Benzodioxole from *Melissa officinalis*. Planta Med 1998; 64:555-558.
47. Toth J, Mrlanova M, Tekelova D, Korenova M. Rosmarinic acid-An important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Acta Fac Pharm Univ Comenianae 2003; 50: 139-146.
48. Soulimani R, Fleurontin J, Mortier F, Misslin R, Derrieu G, Pelt JM. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse. Planta Med 1991; 57: 105-109.
49. Vafaei AA, Miladi-Gorgi H, Rashidy-Pour A, Taherian AA, Jarrahi M, Emami-Abargoei M. Anxiolytic effects of the aqueous extracts of *Melissa officinalis* and the role of opioid receptors in mice. J Neurol Sci 2005; 238: 342.

50. ESCOP Monographs, the scientific foundation for herbal medicinal products. 2 nd ed. Stuttgart: George Thieme Verlag;2003.
51. Buchbauer G, Jirovetz L, Jager W, Plank C, Dietrich H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. J Pharm Sci 1993;82(6): 660-664.
52. Muller SF, Klement S. A combination of valerian and lemon balm is effective in the treatment of restlessness and dyssomnia in children. Phytomedicine 2006; 13: 383-387.
53. Cerny A, Schmid K. Tolerability and efficacy of valerian/ lemon balm in healthy volunteers. Fitoterapia 1999; 70: 221-228.
54. Kennedy DO, Little W, Haskell CF, Scholey AB. Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced stress. Phytother Res 2006; 20: 96-102.
55. Wake G, Court J, Pickering A, Lewis R, Perry E. CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. J Ethnopharmacol 2000; 69:105-114.
56. Awad R, Levac D, Cybulska P, Merali Z, Trudeau VL, Arnason JT. Effects of traditionally used anxiolytic botanicals on enzymes of the gamma-aminobutyric acid (GABA) system. Can J Physiol Pharmacol 2007; 85 :933-942.
57. Ferreira A, Proenca C, Serralheiro MLM, Araujo MEM. [The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal](#). J Ethnopharmacol 2006; 108(1): 31-37.
58. Pereira P, Tysca D, Oliveira P, Brum LFS, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. Pharmacol Res 2005; 52: 199-203.
59. Ballard CG, O'Brien JT, Reichelt K, Perry EK. Aromatherapy as a safe and effective treatment for the management of agitation in severe dementia: the results of a double-blind, placebo-controlled trial with Melissa. J Clin Psychiatry 2002; 63(7):553-558.

60. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003; 74: 863-866.
61. Kennedy DO, Scholey AB, Tildesley NTJ, Perry EK, Wesnes KA. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of *Melissa officinalis*. Pharmacol Biochem Behav 2003; 72: 953-964.
62. Kennedy DO, Wake G, Savelev S, Tildesley N T J, Perry E K, Wesnes K A, et al. [Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of single doses of *Melissa officinalis* \(Lemon balm\) with human CNS nicotinic and muscarinicreceptor-bindingproperties.](#) Neuropsychopharmacology 2003;28(10):1871-1881.
63. Capecka E , Mareczek A, Leja M . Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. Food Chem 2004; 93: 223-226.
64. Marinova EM, Yanishlieva NV. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. Food Chem 1996; 58: 245-248.
65. Lamaison JL, Petitjean-Freytet C, Carnat A. Lamiacées médicinales à propriétés antioxydantes, sources potentielles d'acide rosmarinique. Pharm Acta Helv 1991; 66: 185-188.
66. Marongiu B, Porcedda S, Piras A, Rosa A, Deina M, Dessi M.A. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* subsp. *inodora*. Phytother Res 2004; 18: 789-92.
67. Mantle D, Eddeb F, Pickering AT. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. J Ethnopharmacol 2000; 72: 47-51.

68. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Erçağ E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *Int J Food Sci Nutr* 2006; 57: 292-304.
69. Schempp H, Weiser D, Kelber O, Elstner EF. Radical scavenging and anti-inflammatory properties of STW 5 (Iberogast) and its components. *Phytomedicine* 2006;13: 36-44.
70. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. [Food Chem](#) 2006; 94: 550-557.
71. Lopez V, Akerreta S, Casanova E, Garcia-Mina JM, Cavero RY, Calvo MI. In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts. *Plant Foods Hum Nutr* 2007; 62: 151-155.
72. [Pereira RP](#), [Fachinetto R](#), [de Souza Prestes A](#), [Puntel RL](#), [Santos da Silva GN](#), [Heinzmann BM](#), et al. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus* [Neurochem Res](#) 2008; 34(5): 973-83.
73. Canadonovic B J., Cetkovic G, Djilas S, Tumbas V, Bogdanovic G, Mandic A, et al. Radical scavenging, antibacterial and proliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. *J Med Food* 2008; 11:133-143.
74. Ponce AG, Del Valle CE, Roura SI. Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 2004; 37(22): 199-204.
75. Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahi K. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia* 2003; 74: 445-452.
76. Vejdani R, Shalmani HRM , FattahMM, Zali MR, Alizadeh AHM, Bahari A, et al. The efficacy of an herbal medicine, Carmint, on the relief of abdominal pain and bloating in patients with irritable bowel syndrome: A pilot study. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1501-1507.

77. Savino F, Cresi F, Castagno E, Silvestro L, Oggero R. A randomized double blind placebo controlled trial of a standardized extract of *Matricaria recutita*, *Foeniculum vulgare* and *Melissa officinalis* (Colimil) in the treatment of breastfed colicky infants. *Phytother Res* 2005; 19: 335-340.
78. Heinle H, Hagelauer D, Pascht U, Kelber O, Weiser D. Intestinal spasmolytic effects of STW 5 (Iberogast) and its components. *Phytomedicine* 2006 ;13 : 75-79.
79. Khayyal MT, El Ghazaly MA, Kenawy SA, Nasr MS, Mahran LG, Kafafi YAH, et al. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. *Arzneim Forsch Drug Res* 2001; 51: 545-553.
80. Mahady GB, [Pendland SL](#), [Stoia A](#), [Hamill FA](#), [Fabricant D](#), [Dietz BM](#), et al. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. [Phytother Res](#) 2005; 19(11): 988-91.
81. May G, Willuhn G. Antivirale Wirkung wabriger Pflanzenextrakte in Gewebekulturen. *Arzneim-Forsch Drug Res* 1978; 28:1-7.
82. Yamasaki K, Nakano M, Kawahata T, Mori H, Otake T, Ueba N, et al. Anti-HIV 1 activity of herbs in Labiatae. *Biol pharm Bull*.1998; 21: 829-833.
83. Guenich S, Goffinet C, Vezke S, Nolkemper S, Baumann I, Plinkert P, et al. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density. *Retrovirology* 2008;20 : 27.
84. Allahverdiyev A, Duran N, Ozguven M, Koltas S. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine* 2004;11: 657-661.
85. Schnitzler P, Schumacher A, Astani A, Reichling J. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine* 2008;15: 733-740.

86. Nolkemper S, Reichling J, Stinzting F, Carle R, Schnitzler P. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against *Herpes simplex* virus type-2 *in vitro*. *Planta Med* 2006;72 : 1378-1382.
87. Koytchev R, alken RG, Dundarov S. Balm mint extracts (Lo-701) for topical treatment of recurring herpes labialis. *Phytomedicine* 1999;6 : 225-230.
88. Mazzanti G, Battinelli L, Pompeo C, Serrilli AM, Rossi R, Sauzullo I, et al. Inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. extract on *Herpes simplex* virus type1 and type 2 replication. *Nat Pros Res* 2008; 16:1433-1440.
89. Ertürk Ö. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biolog Bratislava* 2006;61: 275-278.
90. Iauk L, Lo Blue AM, Milazzo I, Rapisarda A, Blandino G. Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. *Phytotherapy Res* 2003; 17: 599-604.
91. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* 2000; 31:247-256.
92. Larrondo JV, Agut M, Calvo-Torras MA. Antimicrobial activity of essences from labiates. *Microbios* 1995; 82:171-172.
93. Cetin H, Cinbilgell, Yanikoglu A, Gokceoglu M. Larvicidal activity of some Labiatae (Lamiaceae) plant extracts from Turkey. *Phytother Res* 2006;20 (12): 1088-1090.
94. Pavela R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. [Fitoterapia](#) 2004; [75\(7-8\)](#): 745-749.
95. Pavela R. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis* [Fitoterapia](#), 2005; [76\(7-8\)](#): 691-696.
96. Drozd J, Anuszevska E. The effect of *Melissa officinalis* extract on immune response in mice. *Acta Pol Pharm* 2003 ;60 : 467-470.
97. WHO Monographs on selected medicinal plants. Geneva: World Health Organisation; 2002.

98. Ruiz AR, De la Torre RA, Alonso N, Villaescusa A, Betancourt J, Vizoso A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. J Ethnopharmacol 1996; 52:123-127.
99. Gokce N, Loscalzo J. Grundy S, editor .Atlas of Atherosclerosis Risk factors and treatment. İstanbul: Tenedoks yayıncılık; 2007.
100. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 1965; 16, 144-158.
101. Anselm E, Chataigneau M, Ndiaye M, Chataigneau T, Schini-Kerth VB. Grape juice causes endothelium-dependent relaxation *via* a redox-sensitive Src-and akt-dependent activation of eNOS. Cardiovasc Res 2007; 73: 404-413.
102. Brixius K, Willms S, Napp A, Tossios P, Ladage D, Bloch W, et al. *Crataegus* special extract WS1442 induces an endothelium-dependent, NO-mediated vasorelaxation *via* eNOS-phosphorylation at serine 1177. Cardiovasc Drugs Ther 2006; 20: 177-184.
103. Goto H, Shimada Y, Akechi Y, Kohta K, Hattori M, Terasawa K. Endothelium-dependent vasodilator effect of extract prepared from the roots of *Paeonia lactiflora* on isolated rat aorta. Planta Med 1996 ; 62 : 436-439.
104. Ko FN, Huang TF, Teng CM. Vasodilatory action mechanisms of apigenin isolated from *Apium graveolens* in rat thoracic aorta. Biochim Biophys Acta 1991;1115: 69-74.
105. Lee JW, Roh TC, Rho MC, Kim Y.K, Lee HS. Mechanisms of relaxant action of a pyranocoumarin from *Peucedanum japonicum* in isolated rat thoracic aorta. Planta Med 2002; 68: 891-895.
106. Legssyer A, Ziyat A, Mekh H, Bnouham M, Herrenknecht C, Roumy V, et al. Tannins and catechin gallate mediate the vasorelaxant effect of *Arbutus unedo* on the rat isolated aorta. Phytother Res 2004; 18, 889-894.

107. Yoshikawa M, Matsuda H, Morikawa T, Xie H, Nakamura S, Muraoka O. Phenylethanoid oligoglycosides and acylated oligosugars with vasorelaxant activity from *Cistanche tubulosa*. Bioorg Med Chem 2006; 14: 7468-7475.
108. Guedes Nunes D, Silva DF, Barbosa-Filho JM, Almeida de Medeiros I. Endothelium dependent hypotensive and vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Mentha x villosa* in rats. Phytomedicine 2003; 11:490-497.
109. Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M, Oak MH, El Bedoui J, Chataigneau M, et al. Vascular protection by dietary polyphenols. Eur J Pharmacol 2004; 500: 299-313.
110. Visioli F, Hagen TM. Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging: focus on micronutrients. Pharmacol Res 2007;55(3):199-206.

10. Ö Z G E Ç M İ Ş

Adı: Süleyman

Soyadı: Ersoy

Doğum yeri ve Tarihi: İstanbul -20.01.1970

Eğitimi: Haseki EAH Aile Hekimliği İhtisası

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi

Kadıköy Anadolu Lisesi

Melekhatun İlkokulu

Yabancı Dili: İngilizce

Halen Haseki EAH Topçular Semt Polikliniğinde Aile Hekimliği
Uzmanı olarak görev yapmaktayım.

11. TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her safhasında değerli yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Fatma TOSUN'a;

Çalışmamıza gösterdiği ilgi ve destekten dolayı hocam sayın Prof. Dr. Turhan BAYKAL'a;

Tez çalışmamızda rozmarinik asit ve total fenolik bileşik miktar tayini yapılmasında her türlü yardımı sağlayan sayın Doç. Dr. İlkey ORHAN'a;

Tez çalışmamızın organ banyosu deneyinin yapılmasındaki değerli katkılarından dolayı Farmakoloji ABD öğretim üyeleri sayın Doç. Dr. Nilüfer N. TURAN DURAL ve sayın Doç. Dr. Mustafa ARK'a ve Ecz. Gürkan ŞAHAN'a;

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince desteklerinden ve sabırlarından dolayı eşim ve çocuklarıma;

Tez çalışmalarım süresince bana sağladığı maddi ve manevi desteklerinden dolayı Dr. Hüseyin ÖZBAY'a;

Teşekkürü bir borç bilirim.