




Etnobotanik Amaçlı Kullanılan *Origanum acutidens* Bitkisinin Toplam Fenolik-Flovonoid İçeriği, Fenolik Bileşikleri ve Element Analizi


¹Mehmet Fidan, ^{2*}İbrahim Teğin, ³Mehmet Emre Erez, ⁴Süleyman Mesut Pınar, ⁵Hüseyin Eroğlu

¹Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 56100, Kezer-Siirt, Türkiye, mfidan7384@hotmail.com, 

^{2*} Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 56100, Kezer-Siirt, Türkiye, ibrahim.tegin@gmail.com, 

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Bölümü, 65080, Tuşba-Van, Türkiye, emreerez@hotmail.com, 

⁴ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Sağlık Yüksekokulu, 65080, Tuşba-Van, Türkiye, mesutpinar@hotmail.com, 

⁵Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 65080, Tuşba-Van, Türkiye, huseyineroglu_41@hotmail.com, 

Araştırma Makalesi

Geliş Tarihi: 09.01.2019

Kabul Tarihi: 16.09.2019

Öz

Bu çalışmada, Türkiye için endemik bir bitki olan *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietsw. iki farklı çözücü (Su ve % 80 etanol) ile ekstrakte edildi. *O. acutidens* örnekleri Bingöl-Topalan'dan toplandı. (Toplayıcı kayıt numarası: MMH 1157). *O. acutidens*'in etanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik flavonoid içeriklerinin yanı sıra element ve fenolik bileşik analizleri yapıldı. Tüm analiz sonuçları 1 mg/mL ekstrakt konsantrasyonuna göre hesaplandı. Analiz sonuçlarına göre DPPH aktivitesinde; su ekstraktının % 77,53'ü etanol ekstraktının ise % 90,69'u inhibisyon, FRAP aktivitesinde su için 0,34 mg/mL ve etanol için 0,96 mg/mL FeSO₄ eşdeğerinde aktivite gösterdiği tespit edildi. Toplam fenolik madde tayininde su ekstraktının 86,48 mg /mL etanol ekstraktının ise 142,78 mg /mL gallik asit eşdeğeri total fenolik madde bulundu. Total flavonoid madde analizinde ise su ekstraktı için 280,58 mg/mL etanol ekstraktı için ise 503,82 mg/mL rutin eşdeğeri flavonoid madde içeriği tespit edildi. Ayrıca *O. acutidens* bitkisinde 15 farklı fenolik bileşik ve 32 farklı element tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, element analizi, endemik, fenolik bileşik, *Origanum acutidens*.

Total Phenolic-Flovonoid Content, Phenolic Compounds and Elemental Analysis of the *Origanum acutidens* Plant Used for Ethnobotanical Purpose

¹Mehmet Fidan, ^{2*}İbrahim Teğin, ³Mehmet Emre Erez, ⁴Süleyman Mesut Pınar, ⁵Hüseyin Eroğlu

¹Siirt University Faculty of Science and Art Department of Biology, 56100, Kezer-Siirt, Turkey, mfidan7384@hotmail.com

^{2*}Siirt University Faculty of Science and Art Department of Chemistry, 56100, Kezer-Siirt, Turkey, ibrahim.tegin@gmail.com

³Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Science Department of Molecular Biology, 65080, Tuşba-Van, Turkey, emreerez@hotmail.com

⁴ Van Yüzüncü Yıl University, Van School of Health, 65080, Tuşba-Van, Turkey, mesutpinar@hotmail.com

⁵Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Science Department of Biology, 65080, Tuşba-Van, Turkey, huseyineroglu_41@hotmail.com

Abstract

In this study, *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietsw. (zemu), an endemic plant for Turkey, were extracted with two different solvents (Water and 80 % ethanol). *O. acutidens* samples were collected from Bingöl-Topalan (Collector registration number: MMH 1157). In this study, antioxidant activities, total phenolic and flavonoid content, also identification of element and phenolic compounds of *O. acutidens* (ethanol and water extracts) were analyzed. All analysis results were calculated at concentration of 1 mg/ml extract. According to these results, for DPPH activity; It was found that the water extract showed activity of 77.53%

and ethanol extract 90.69% inhibition, at FRAP activity 0.34 mg / mL for water and 0.96 mg / mL FeSO₄ equivalent for ethanol extracts. Total phenolic content was calculated as 86.48 mg / mL in water extract and 142.78 mg / mL gallic acid equivalent total phenolic substance in ethanol extract. Total flavonoid analysis revealed 280.58 mg/mL for water extract and 503.82 mg / mL routine equivalent flavonoid content for ethanol extract. In addition, 15 different phenolic compounds and 32 different elements were detected in *O. acutidens*.

Keywords: Antioxidant activity, elemental analysis, endemic, phenolic compound, *Origanum acutidens*

1. GİRİŞ

Lamiaceae familyasından bir cins olan *Origanum* ilk olarak Linnaeus tarafından Genera Plantarum'un 5. baskısında, Tournefort'a atıfta bulunularak tarif edilmiştir [1]. Daha sonraki süreçlerde bu cinsle ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. *Origanum* cinsinin dünyada 43 tür ve 18 hibriti bulunmaktadır [2;3]. Türkiye Florası'nda toplam 30 taksonu tespit edilmiştir [4]. Cinsine ait türlerin yaklaşık %75'i Doğu Akdeniz alt bölgesinde yayılış göstermektedir [5-7]. Ülkemizde kekik adıyla da bilinen, *Origanum* cinsine ait taksonların çoğu, halk hekimliğinde yaygın olarak baş ağrısı, baş dönmesi, öksürük, grip, gastrointestinal hastalık, bronşit, yüksek kolesterol, diyabet, karın ağrısı hipertansiyon ve diş ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [8]. *Origanum* türleri üzerine yapılan çalışmalar antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antinosiseptif ve antilipaz gibi biyolojik aktiviteler göstermiştir [9-17]. Bu çalışmalarla beraber gıda veya ilaç olarak tüketilen bitkilerin içerdiği elementlerin analiz edilmesi de son derece önem arz etmektedir. Bunlarla ilgili yaygın çalışmalar olmasa da belli bazı analizlerin yapıldığı bazı çalışmalar da bulunmaktadır.

Suda yüksek oranda çözünebilir özellikte olan kadmiyum biyolojik fonksiyonlar açısından gerekli bir element değildir ve diğer ağır metallerle göre 2-20 kat daha fazla toksik etkiye sahiptir. Bitki bünyesinde 1,0 ppm' den fazla kadmiyumun bulunması toksik etki yapmaktadır. Ayrıca 6,15 µg/g düzeyinde kadmiyumun birikmesi insan sağlığını olumsuz etkilediği belirlenmiştir [22,23].

Kurşunun vücuttaki absorpsiyon oranı %5'tir ve bu kalsiyum ve demir minerallerin vücut tarafından emilimini sınırlandırmaktadır. Yüksek miktarlarda kalsiyum alındığında kemik dokusuna yerleşip bağlanmış olan kurşun kalsiyumla yer değiştirebilmektedir. Böylece sistemde serbest kalan kurşun nefrotoksisite, nörotoksisite ve hipertansiyona neden olabilmektedir [24,25]. Doğal ürünler içerdikleri biyoaktif bileşikler nedeniyle antik çağlardan beri büyük ilgi görmüşler ve ilaç keşfi ve geliştirilmesi sürecinde önemli rol oynamışlardır [26-29].

Origanum türleri genellikle yemeklerde baharat olarak kullanılır. Bununla beraber kabızlık, gastrointestinal hastalıklar, diüretik, yatıştırıcı ve antiseptik tedavisinde kullanılmaktadır [30]. Halk tarafından farklı amaçlarla kullanılan *Origanum* cinsi ile ilgili birçok biyolojik çalışma bulunmaktadır [31-40].

Çalışma materyalimizi oluşturan *Origanum acutidens* endemik ve genellikle Doğu Anadolu'da doğal olarak yayılış gösteren çok yıllık tıbbi aromatik bir bitkidir. Bu çalışma kapsamında *O. acutidens*'in toprak üstü kısımlarından iki farklı çözücü ile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri ile element ve fenolik bileşik analizleri gerçekleştirilmiştir.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Bu çalışmada, Bingöl ili Topalan civarından toplanan *O. acutidens* örnekleri kullanılmıştır (Toplayıcı kayıt numarası: MMH 1157). Toplanan örnekler teşhis edildikten sonra herbarium tekniklerine uygun bir şekilde preslenip herbarium materyali haline getirilmiş ve bir örneği Siirt Üniversitesi Herbariumunda muhafaza altına alınmıştır. Toplanan diğer bitki örnekleri gölgede kurutulmuş daha sonra blender ile öğütülerek toz haline getirilmiş ve cam kavanozlarda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. 4 gr toz haline getirilmiş bitki örneği 40 mL çözücü (%80 etanol ve saf su) içerisinde 24 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra filtre kâğıdından süzülüş ve ardından çözücü evaporatör ile uzaklaştırılmıştır. Suyu evaporatörde uzaklaştırmak için 70-80 °C'lik, alkolün uzaklaştırılması için ise 50-60 °C'lik sıcaklık ayarlanmıştır. Son konsantrasyon 10 mg/mL olacak şekilde stok çözeltiler hazırlanarak +4 °C'de çalışmalar gerçekleştirilene kadar muhafaza edilmiştir.

2.2. Antioksidan Aktivite Tayini

2.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Hazırlanan her bir konsantrasyon için ayrı tüplere 1'er mL bitki ekstraktları konularak üzerine 4 mL DPPH (0,001 M DPPH, saf metanolde çözünmüş) çözeltileri eklendi daha sonra iyice karıştırılıp 30 dakika inkübe ettikten sonra Spektrofotometre ile 517 nm'de absorpsanları ölçüldü. Kontrol için 4 mL DPPH üzerine 1 mL çözgen konuldu.

$$\text{DPPH aktivitesi (\% inhibisyon)} = \left(\frac{A_k - A_1}{A_k} \right) \times 100$$

(AK: Kontrol Absorbansı, A1: Numune Absorbansı) [41].

2.2.2. FRAP Analizi

Antioksidan aktivite tayini için Müller ve arkadaşlarının yaptığı protokol modifiye ederek FRAP yöntemi uygulandı

[42]. Buna göre taze hazırlanan FRAP çözeltisi için; Sodyum asetat (300 mM, pH 3,6), 40 mM HCl ile hazırlanmış 10 mM TPTZ (2,4,6- Tris (2-pyridyl)-s- triazin) ve 20 mM demir (III) klorür çözeltisi, 10:1:1 oranında karıştırıldı. Örnekten 100 µL alınıp 3 mL FRAP solisyonu eklenerek birer dakika aralıklarla karıştırılarak 37 °C'de 4 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 593 nm dalga boyunda absorbanları alındı. Standart olarak FeSO₄ kullanıldı.

2.3. Total Fenolik Madde İçeriği

Bitki ekstresindeki toplam çözünebilir fenolik madde miktarı Galik asit eşdeğeri olarak Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlendi [43]. Bitki örneğinin metanol ekstraktından 1 mL alınarak üzerine 1 mL FCR reaktifi ilave edildi. 3 dk'lık inkübasyondan sonra doymuş Na₂CO₃ (%7) çözeltisinden 1 mL eklenerek, karışım oda sıcaklığında karanlıkta 90 dk süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda spektrofotometrede 760 nm'de absorbanları ölçüldü. Aynı işlemler kontrol numunelerine ve gallik asit standart (0,05-1 mg/mL) çözeltilerine uygulanarak kalibrasyon eğrisi çizildi.

2.4. Toplam Flavonoid Madde İçeriği

1 mL ekstrakt üzerine 400 µL %80 metanol eklendi. Daha sonra 30 µL %5 NaNO₂ ilave edilip 6 dakika bekletildi. Süre sonunda 30 µL %10 AlCl₃.6H₂O eklenip iyice çalkalanarak, 6 dakika daha bekletildi. Son olarak 400 µL NaOH (1M) eklendi ve 15 dakika inkübasyondan sonra 510 nm dalga boyunda absorban değerleri alınmıştır.

Kör: % 80 metanol + 30 µL % 5 NaNO₂+30 µL % 10 AlCl₃.6H₂O+ 400 µL NaOH(1 M)

Regresyon; rutin'in farklı konsantrasyonlarına (0,1-1 mg/mL) göre yapıldı [44].

2.6. Element Analizi

0,5 g bitki materyali mikrodalga çözündürme metoduyla HNO₃ (10 mL) ve H₂O₂ (2,5 mL) varlığında Tablo.1.'de verilen mikrodalga ısıtma programıyla çözüldürülmüştür. Oda sıcaklığına soğutulan örnekler, süzgeç kâğıdıyla süzülüp 25 mL'lik falkon tüplerine aktarıldıktan sonra son hacim saf su ile belirli bir hacme tamamlanmıştır.

Tablo 1. Mikrodalga cihazının çalışma koşulları

	1	2	3	4
T (°C)	100	160	180	100
Ta (dk) ^a	10	10	10	10
t (dk) ^b	5	3	3	3

^aİstenilen sıcaklıkta bekleme süresi

^bİki ardışık sıcaklık arasındaki zaman

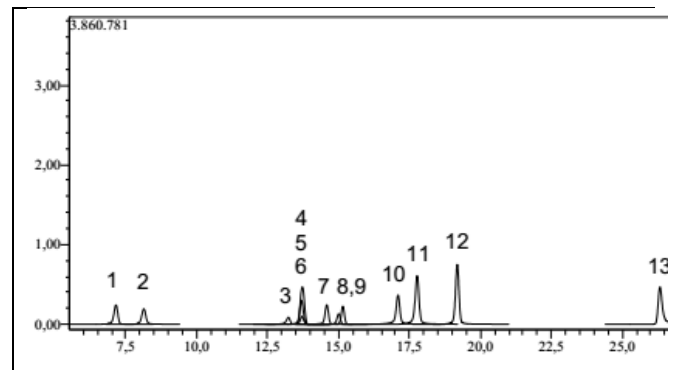
Element analizi için Thermo Scientific brand I CAP Q model ICP-MS cihazı kullanılmıştır. ICP-MS cihazının çalışma koşulları Tablo 2'de verilmiştir [45-47].

Tablo 2. ICP-MS cihazının çalışma koşulları

Lensler	Parametreler	Değer
Ayırma (extraction) Lens 2	Plazma gücü	1550
CCT Focus Lens	Yardımcı (Auxiliary) gaz akış hızı (L·dk ⁻¹)	0,8
CCT Bias	Soğutucu (Cool) gaz akış hızı (L·dk ⁻¹)	14
CCT Exit (çıkış) Lens	Torch yatay (horizontal) pozisyon	0,04
Focus Lens	Torch dikey (vertical) pozisyon	2,00
D1 Lens		
D2 Lens		
Quad Entry Lens		
Pole Bias		

2.7. LC-MS/MS İle Fenolik Bileşiklerin Analizi

O. acutidens'in fenolik bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif tayinleri Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan Shimadzu Neexera model UHPLC cihaz ve Shimadzu LCMS 8040 model triple quadrupole kütle spektrometresi ile yapılmıştır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayırım, Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2,1 mm, 2µm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kolon fırını 35 °C'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli faz A için ultra saf su ve hareketli faz B için asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca, daha iyi bir kromatografik ayırım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 10 mM amonyum format ve % 0,1 formik asit eklenmiştir. Analitlerin optimum ayırımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok denemenin ardından en uygun UHPLC gradiyent profili 5-20% B (0-10 dk), 20% B (10-22 dk), 20-50% B (22-36 dk), 95% B (36-40), 5% B (40-50 dk) şeklinde optimize edilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0,25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlenmiştir [48]. Fitokimyasal standartın LC-MS/MS kromatogramı şekil 1'de verilmiştir.



Şekil.1. Fitokimyasal standartın LC-MS/MS kromatogramı (1Hesperidin, 2 Protocatechic acid, 3 Chlorogenic acid, 4 Luteolin-7-glucoside, 5 Hyperoside, 6 Rutin, 7 Apigetrin, 8

Quercitrine, 9 Astragalin, 10 Quercetin, 11 Luteolin, 12 Apigenin, 13 Hyperforin, 14 Pseudohypericin, 15 Hypericin)

3. BULGULAR

Bu çalışmada, birçok alanda kullanımı olan *Origanum* cinsinin bir üyesi olan *O. acutidens*'in element analizi, toplam fenolik ve flavonoid analizi, antioksidan aktivite tayini ve fenolik bileşik analizleri yapılmıştır.

O. acutidens'in su ve etanol ekstralarının %DPPH toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid ve FRAP aktiviteleri ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

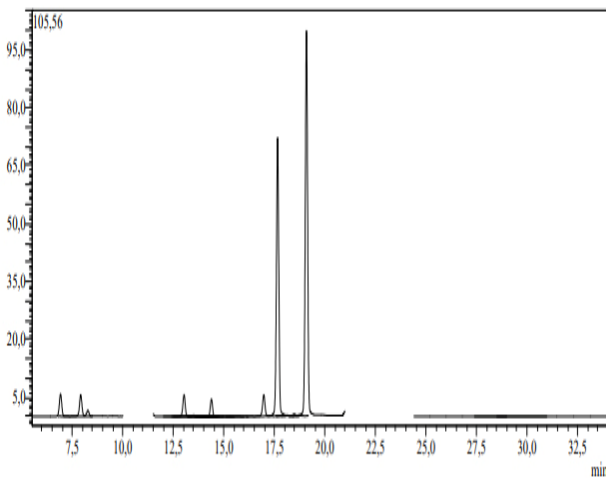
Tablo 3. *O. acutidens*'in su ve etanol ekstralarının farklı parametrelere ait analiz sonuçları

Ekstrakt	%DPPH	Toplam Fenolik (mg gallik asit/mL ekstrakt)	Toplam Flavonoid (mg rutin/mL ekstrakt ⁻¹)	FRAP aktivitesi (mg FeSO ₄ /mL ekstrakt)
Su	77,53±4,32-	86,48±3,68-	280,58±6,63-	0,34 ± 0,06-
Etanol	90,69±10,47	142,78±3,47	503,82±7,57	0,96 ± 0,12

Tablo 3'te görüldüğü gibi, su ve etanol ile elde edilen ekstraktların, toplam fenolik ve flavonoid analizleri sonucunda sırasıyla 86,48±3,68-142,78±3,47 mg gallik asit/mL ekstrakt, ve 280,58±6,63-503,82±7,57 mg rutin/mL ekstrakt olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada yapılan antioksidan aktivite tayininde % DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılmış ve sonuç olarak su ve etanol ekstraktları için %DPPH 77,53 ± 4,32-90,69 ± 10,47 ve FRAP aktivitesi 0,34 ± 0,06-0,96 ± 0,12 mg FeSO₄/mL ekstrakt olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

O. acutidens türünün element miktarlarının belirlenmesi için ICP-MS cihazı kullanılarak analizi yapılmış ve 32 farklı element tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir.



Şekil 2. LC-MS/MS analiz sonucuna ait kromatogram

Tablo 4. *O. acutidens*'in ICP-MS cihazı ile analiz edilmesi sonucu belirlenen elementler

Element	Değer (ppm)
Li	0,36±0,03
B	21,35±1,69
Na	77,40±8,02
Mg	1844,41±0,29
Al	384,93±0,06
P	1081,52±0,07
K	19809,98±3,10
Ca	4243,07±1,08
Cr	16,75±1,52
Mn	108,18±20,53
Fe	3732,56±694,12
Co	0,76±0,09
Ni	3,85±0,22
Cu	10,74±1,32
Zn	45,87±5,33
Ga	3,35±0,23
As	0,99±0,13
Se	90,12±8,53
Sr	29,29±7,82
Mo	6,25±0,38
Ag	0,52±0,03
Cd	1,63±0,04
La	5,24±0,71
Ce	6,88±0,49
Pb	2,07±0,24
Ba	11,14±2,52
Element	Değer (ppb)
In	91,13±0,06
Sn	251,10±0,04
Sb	711,29±0,11
Pt	13,32±0,01
Tl	27,80±0,01
Bi	9,50±0,00

Fenolik bileşiklerin tespiti için mevcut bulunan ve Tablo 5'te görülen 15 adet standart kullanılmıştır. Fenolik bileşik analizleri sonucu kullanılan 15 standart bileşikten 7 tanesi bitki örneğinde tespit edilmiştir (Tablo 5; Şekil 2).

Tablo 5. *O. acutidens*'in kalitatif ve kantitatif fenolik bileşik analiz sonuçları

Fenolik Bileşik	Değer (µg analit/g ekstrakt)
Hesperidin	n.d.
Protocatechic acid	15,23± 0,01
Chlorogenic acid	17,72±0,02
Luteolin-7-glucoside	33,86±0,46
Hyperoside	n.d.
Rutin	n.d.
Apigetrin	5,46±0,00
Quercitrine	n.d.
Astragalin	n.d.
Quercetin	4,56±0,26

Luteolin	32,57±0,01
Apigenin	45,08± 0.00
Hyperforin	n.d.
Pseudohypericin	n.d.
Hypericin	n.d.

n.d.:Tespit edilmedi.

4. DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Günümüzde temel sağlık hizmeti olarak alternatif tıbbı kullanan insanların sayısı dünya nüfusunun yaklaşık % 80' nine denk gelmektedir. Bu nedenle alternatif tıpta kullanılan materyallerin farklı parametrelere bağlı yapılan analizleri her geçen gün biraz daha önem taşımaktadır. Yapılan analizlerde elde edilen sonuçlar bize bu bitkisel ürünlerin hangi bileşenlerinin hastalık etmenine etki ettiğini tespit etme fırsatı vermektedir. Bitkilerin hastalıklara karşı direnç gösteren bileşikler böylece belirlenmiş olup onlardan daha fazla faydalanma imkânı sağlanmış olmaktadır. Birçok bitkinin iyileştirici etkisi, içerdiği çok az miktarda eser elementten kaynaklanmaktadır [49]. Mikro besin elementi ya da ağır metallerin konsantrasyonlarının yüksek değerlerde olması ciddi sorunlara neden olmaktadır. Bu açıdan bitkilerin element içeriklerinin tespiti ile kullanım olanaklarının belirlenmesi konuları önem arz etmektedir [50].

Tablo 4'te görüldüğü gibi tespit edilen elementlerden toksik etkiye sahip Arsenik (As), kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) elementlerinin oranlarının düşük olması ve diğer taraftan demir (Fe), kalsiyum (Ca), potasyum (K) ve magnezyum (Mg) gibi sağlıklı bir gelişim için gerekli olan elementlerinin oranlarının yüksek olması nedeniyle çalışma materyalini oluşturan *O. acutidens* bitkisinin çay, baharat veya besin maddesi olarak tüketilmesinin insan sağlığına olumlu etkisi olacağı düşünülmektedir.

Oke-Altuntas ve ark. 2018'de yaptıkları çalışmalarında 4 farklı çözücü (su, n-bütanol, etil asetat ve metanol/kloroform 1:1(v/v)) ile fraksiyonlama yaparak *O. acutidens* bitkisinin toprak üstü kısımlarının ekstraktlarında bazı analizleri yapılmıştır. Çalışmanın analiz sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarı 21,34 ile 231,55 µg/mg aralığında tespit edilmiştir [51]. Bu değerler bu çalışmada elde edilen değerlerle doğru orantılıdır (Tablo 3). Bu durum çalışmanın güvenilirliğini arttırmaktadır. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak toplam flavonoid oranı ve bitkide bulunan elementler belirlenmiş ayrıca farklı bir çözücü olarak %80 etanol kullanılmıştır.

Oke-Altuntas ve ark. 2018'de antioksidan aktivite tayini için DPPH ve metal şelatlama yöntemlerini kullanmışlar ve sonuç olarak DPPH (IC₅₀ µg/mL) değerini 11,8->100 aralığında ve metal şelatlama değerini de (1 mg/mL) % 17,27-78,84 aralığında tespit etmişler. Çalışmamızda ise yapılan antioksidan aktivite tayininde %DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılmış sonuçları (Tablo 3'te verilmiştir. Ayrıca çalışma sonucunda 7 farklı fenolik bileşik tespit

edilmiştir (Tablo 5). Bunlar arasında en fazla bulunan 33,86±0,46 µg analit/g ekstrakt Luteolin-7-glucoside ve en düşük bulunan 4,56±0,26 µg analit/g ekstrakt Quercetin'dir.

Rump ve ark., (1994) luteolin-7-glukozidin (LUT) fonksiyonel etkileri, sabit basınçta perfüze edilmiş Langendorff-tavşan kalplerinde araştırılmış sonuç olarak; sol ventrikül basıncını ve global ve göreceli koroner akışı (= global koroner akış / basınç oranı ürünü) önemli ölçüde arttırdığı, epikardiyal NADH-floresans alanını ve yoğunluğunu önemli ölçüde azalttığı ve kardiyoprotektif özelliklere sahip bir inodilatör olduğu belirtilmiştir. Bunlar, miyokardiyal perfüzyonun iyileştirilmesi ve / veya serbest radikal süpürücü özelliklerle ilgili olabileceğini açıklamışlar [52]. Bu sonuçlar *O. acutidens* bitkisinin kalp damar hastalıklarının engellenmesinde önemli bir etki yaratabileceğini göstermektedir.

Bitkilerden elde edilen, özellikle fenolik yapıdaki kimyasal maddeler, antioksidan özellikleri sayesinde reaktif oksijen türlerini inaktive ederek oksidatif hasarın önlenmesinde ve giderilmesinde önemli rol oynamaktadırlar [53]. Çalışmamızda gerçekleştirilen analiz sonuçlarına göre elde edilen fenolik bileşikler, bu bileşiklerin toplam oranları, antioksidan aktivite sonuçları ve belirlenen elementlerin oranları göz önünde bulundurulduğunda *O. acutidens*'in çay, baharat veya gıda olarak tüketilmesinin sağlığa olumlu etkileri olabileceği belirlenmiştir.

Bitkisel materyaller gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ilaç endüstrisi için reçetesiz satılan ilaç ürünleri ve hammaddeler olarak kullanılmaktadır ve küresel ilaç pazarının önemli bir bölümünü temsil etmektedir. Bu nedenle, kalitelerini değerlendirmek için uluslararası kabul görmüş kılavuzların oluşturulması şarttır [54]. Çalışmamız ve benzer çalışma sonuçları bu kılavuzların oluşturulmasında kolaylık sağlayacaktır. Bitkisel formülasyonlarda kullanılan şifalı bitki türlerinin mineral içerikleri, yaşamsal organların düzgün işleyişinde önemli rol oynayan yan sıra tahmini güvenli günlük alım miktarının üzerinde toksik olabilmektedir. Bu açıdan mineral içeriklerinin tespiti ile ilgili bu tarz çalışmalar sıklıkla yapılmalıdır.

REFERANSLAR

- [1]. Linnaeus C. 1754. Genera Plantarum, facsimile edition 1960: 256 Engelmann (Cramer), Weinheim, Wheldon & Wesley, Codicote.
- [2]. Duman H., Aytaç Z., Ekici M., Karavelioğulları F. A., Dönmez A., Duran A. 1995. Three new species (Labiatae) from Turkey, Flora of Mediterranean, 5, 221-228.
- [3]. Ietswaart J.H. 1980. A Taxonomic Revision of the Genus *Origanum*, Leiden University Press, London.
- [4]. Güner A.; Aslan S.; Ekim T.; Vural M.; Babaç M. 2012. Türkiye bitkileri listesi (Damarlı bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalar Derneği Yayını: İstanbul.

- [5]. Davis, P.H. (Ed.) 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 7, pp. 297-313, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [6]. <http://apps.kew.org/wcsp/qsearch.do;jsessionid=E3EF5FAE37BD73CE5ECFA0B0C4690342>
- [7]. Doğu S., Dinç M. 2011. Endemik *Origanum saccatum* P.H. Davis (Lamiaceae) Üzerine Anatomik Bir Çalışma, Ot Sistemik Botanik Dergisi, 18, 2, 45-55.
- [8]. Tepe B., Cakir A., & Sihoglu Tepe A. 2016. Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology of *Origanum onites* (L.): A Review. Chemistry & Biodiversity, 13(5), 504-520.
- [9]. Walker J. F., Santos P. d. S., Schmidt C. A., Bittencourt T. C. C. d., & Guimarães A. G. 2016. Antimicrobial Activity of Marjoram (*Origanum majorana*) Essential Oil Against the Multidrug-Resistant Salmonella Enterica Serovar Schwarzengrund Inoculated in Vegetables from Organic Farming. Journal of Food Safety, 36(4), 489-496.
- [10]. Oke Altuntas F., & Demirtas I. 2017. Real-Time Cell Analysis of the Cytotoxicity of *Origanum acutidens* Essential Oil on HT-29 and HeLa Cell Lines. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(1).
- [11]. Soliman A. M., Desouky S., Marzouk M., & Sayed A. A. 2016. *Origanum majorana* Attenuates Nephrotoxicity of Cisplatin Anticancer Drug through Ameliorating Oxidative Stress. Nutrients, 8(5), 264.
- [12]. Yılmaz H., Çarıkçı S., Kılıç T., Dirmenci T., Arabacı T., & Gören A. C. 2017. Screening of Chemical Composition, Antioxidant and Anticholinesterase Activity of Section Brevifilamentum of *Origanum* (L.) Species. Department of Biology Educations, Balıkesir.
- [13]. Bower A. M., Hernandez L. M. R., Berhow M. A., & de Mejia E. G. 2014. Bioactive Compounds from Culinary Herbs Inhibit a Molecular Target for Type 2 Diabetes Management, Dipeptidyl Peptidase IV. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(26), 6147-6158.
- [14]. Karaman M., Bogavac M., Radovanović B., Sudji J., Tešanović K., & Janjušević L. 2017. *Origanum vulgare* essential oil affects pathogens causing vaginal infections. Journal of applied microbiology, 122(5), 1177-1185.
- [15]. Waller S. B., Cleff M. B., Serra E. F., Silva A. L., dos Reis Gomes A., de Mello J. R. B., Meireles M. C. A. 2017. Plants from Lamiaceae family as source of antifungal molecules in humane and veterinary medicine. Microbial Pathogenesis.
- [16]. Awaad A. S., El-Meligy R., Qenawy S., Atta A., & Soliman G. A. 2011. Anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of some desert plants. Journal of Saudi Chemical Society, 15(4), 367-373.
- [17]. Quiroga P. R., Grosso N. R., Lante A., Lomolino G., Zygadlo J. A., & Nepote V. 2013. Chemical composition, antioxidant activity and anti-lipase activity of *Origanum vulgare* and *Lippia turbinata* essential oils. International Journal of Food Science and Technology, 48(3), 642-649.
- [18]. Özcan M. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. Food Chem 2004;84: 437-40.
- [19]. Ergün N., Yolcu H., Karanlık S. ve Dikkaya E. 2010. Amanoslarda yetişen bazı bitki türlerinde ağır metal birikimi ve mineral içerik üzerine çalışma. BİBAD;3: 121-7.
- [20]. Leblebici S, Bahtiyar SD, Özyurt MS. 2010. Kütahya aktarlarında satılan bazı bitkilerin ağır metal içeriklerinin incelenmesi. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2012;29: 1-6.
- [21]. Bedir N. Açık ve Paket Çaylarda Bulunan Ağır Metallerin ICP-OES ile Analizleri. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.
- [22]. Öktüren Asri F, Sönmez S, Çıtak S. 2007. Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. DERİM 24: 32-9.
- [23]. Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven, Timur S. 2011. Metallerin Çevresel Etkileri – I. http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf [Erişim Tarihi 23.04.]
- [24]. Baş L, Demet Ö. Çevresel toksikoloji yönünden bazı ağır metaller. Ekoloji 1992;5: 42-6.
- [25]. Topçuoğlu. B. Kentsel katı atık kompostu ve arıtma çamurunda ağır metallerin bitkiler ve çevre üzerinde potansiyel etkileri ve kirletici limitleri. DERİM 2002;19: 38-49.
- [26]. Cragg, G. M., Newman, D. J., & Snader, K. M. (1997). Natural products in drug discovery and development. Journal of Natural Products, 60(1), 52-60.
- [27]. Demirtas, I., Erenler, R., Elmastas, M., & Goktasoglu, A. (2013). Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. Food Chemistry, 136(1), 34-40.
- [28]. Erenler, R.; Sen, O.; Aksit, H.; Demirtas, I.; Yaglioglu, A.S.; Elmastas, M.; Telci, I. Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. J. Sci. Food Agric., 2016, 96(3), 822-836.
- [29]. Topcu, G., Erenler, R., Cakmak, O., Johansson, C. B., Celik, C., Chai, H. B., & Pezzuto, J. M. (1999). Diterpenes from the berries of *Juniperus excelsa*. Phytochemistry, 50(7), 1195-1199.
- [30]. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi (Geçmişte ve Bugün). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 1999.
- [31]. Esen, G., Azaz, A.D., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., Tinnaz, A. (2007). Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) letsvaart from the Marmara region, Turkey. Flavour Fragr., J. 22: 371–376.
- [32]. Daouk, R.K., Dagher, S.M., Sattout, E.J. (1995). Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. J. Food Protect. 58: 1147-1149.
- [33]. Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L.M.I., Hmamouchi, M. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers. Fr. J. Ethnopharmacol. 89: 165-169.
- [34]. Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., Karadogan, T. (2004). Antimicrobial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control. 15: 169-172.
- [35]. Yildirim, E., Kesdek, M., Aslan, I., Calmasur, O., Sahin, F. (2005). The effects of essential oils from eight

plant species on two pests of stored product insects. Fresen Environ. Bull. 14: 23-27.

[36]. Pichersky, E., Noel, J.P., Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. Science. 311: 808-811.

[37]. Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E.M., Kurt, S. (2007). Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. J Appl Microbiol. 103: 1021-1030.

[38]. Baser, K.H.C., Tumen, G., Duman, H. (1997). Essential oil of *Origanum acutidens* (Hund. Murr.) lestaart. Oil Res. 9: 91-92. 38.

[39]. Kucukgul Gulec A., Erecevit P., Yuce E., Arslan A., Bagci E.& Kirbag S. 2014. Antimicrobial Activity of the Methanol Extracts and Essential Oil with the Composition of Endemic *Origanum acutidens* (Lamiaceae). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17:2, 353-358

[40]. Erenler, R.; Meral, B.; Sen, O.; Elmastas, M.; Aydin, A.; Eminagaoglu, O.; Topcu, G. Bioassay-guided isolation, identification of compounds from *Origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities. Pharm. Biol., 2017, 55(1), 1646-1653.

[41]. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature(26), 1199-1200.

[42]. Müller, S. Gnoyke, A.M. Popken, V. Böhm., 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT Food Sci. Technol., 43 (6) : 992-999.

[43]. Su, L., Yin, J. J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., Yu, L. L., 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry, (100): 990-997.

[44]. Park Y-S, Jung S-T, Kang S-G, Heo BK, Arancibia-Avila P, Toledo F, Drzewiecki J, Namiesnik J, Gorinstein S., 2008. Antioxidants and proteins in ethylene-treated kiwifruits. Food Chem. 193-206.

[45]. Teğın İ., Fidan M., Erez M. E. 2018 Siirt-Eruh'ta Doğal Yetişen *Tecrium polium* L. subsp *polium*'un Antioksidan Kapasitesi, Toplam Fenolik, Flavonoid İçeriği Ve Element Analizi. Ahtamara 25-26 Ağustos Gevaŝ Van.

[46]. Teğın İ., Fidan M., Erez M. E. 2018 Siirt-Eruh'ta Doğal Yetişen *Tecrium polium* L. subsp *polium*'un Antioksidan Kapasitesi, Toplam Fenolik, Flavonoid İçeriği Ve Element Analizi. Ahtamara 25-26 Ağustos Gevaŝ Van.

[47]. Fidan, M., 2018. Assessment of biological activity and element analysis of *Psylliostachys spicata* (Willd.) Nevski. The Journal of Animal and Plant Sciences. 28(6): 1635-1640.

[48]. Yılmaz M. A. 2015. Bazı Achillea L. Türlerinin LC-MS-IT/TOF ve LC MS/MS İle Metabolik Profillerinin Çıkarılması Ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, Diyarbakır.

[49]. Nema K.N., Maity N., Sarkar K.B., Mukherjee K.P., 2014. Determination of trace and heavy metals in some commonly used medicinal herbs in Ayurveda. Toxicology and Industrial Health, Vol. 30(10) 964-968.

[50]. Yıldız G., Ŗekerođlu N. 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Bazı Ağır Metallere Tepkisi Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 6 (1): 80-84.

[51]. Oke-Altuntas F., Mehmet Ali Demirci M.A., Demirtas I.,*, Ayse Sahin Yaglioglu A. and Behcet L. 2018. Phytochemical Screening, Antiproliferative and Antioxidant Properties of Various Extracts from Endemic *Origanum acutidens* Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, 21, 281-291.

[52]. Rump AF, Schussler M, Acar D, Cordes A, Theisohn M, Rosen R, Klaus W, Fricke U. 1994. Functional and antiischemic effects of luteolin-7-glucoside in isolated rabbit hearts. Gen Pharmacol 25:1137-42.

[53]. Çeker S., Orhan F., Medine Güllüce M. ve Ağar G. 2017. *Mentha longifolia* L. Hudson ssp. *longifolia*'dan Elde Edilen Apigenin-7-O- glukozit ve Apigenin-7-O-rutinozit'in Genotoksik Potansiyelleri. MSU Fen Bil. Dergi., Cilt 5, Sayı 1, 413-418.

[54]. WHO Quality control methods for medicinal plant materials. WHO Geneva Switzerland. 1998, available at <http://whqlibdoc.who.int/publications/1998/9241545100.pdf>.