



***MARRUBIUM VULGARE* L. BİTKİSİ ÜZERİNDE FİTOTERAPÖTİK
ARAŞTIRMALAR**

Buket ERDEM

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

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

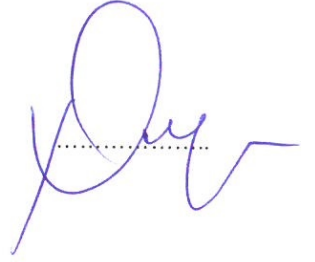
OCAK 2020

Buket ERDEM tarafından hazırlanan “*MARRUBIUM VULGARE* L. BİTKİSİ ÜZERİNDE FİTOTERAPÖTİK ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

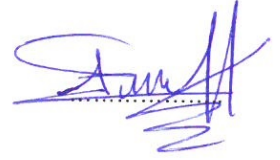
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~Onaylamıyorum~~



Başkan: Prof. Dr. Esra AKKOL

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~Onaylamıyorum~~



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fatma AYAZ

Farmakognozi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~Onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 17/01/2020

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Buket ERDEM

17/01/2020

MARRUBIUM VULGARE L. BİTKİSİ ÜZERİNDE FİTOTERAPÖTİK

ARAŞTIRMALAR

(Yüksek Lisans Tezi)

Buket ERDEM

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2020

ÖZET

Marrubium L. (Lamiaceae) cinsinin Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika’da yayılış gösteren yaklaşık 30 türü bulunmaktadır. Bunların içerisinde *Marrubium vulgare* L. Avrupa’da genellikle “white horehound” ismiyle bilinen, çok yıllık, halk arasında bronşit, öksürük ve soğuk algınlığında kullanılan bir bitkidir. Bitkinin immünomodülatör, kardiyoprotektif, antitümör, antimikrobiyal, vazorelaksan, analjezik, hipoglisemik gibi birçok biyolojik aktivitesi bildirilmiştir. Uçucu yağların ve bileşenlerinin potansiyel farmakolojik etkileri nedeniyle, çok sayıda çalışma uçucu yağ içeren bitkilere odaklanmıştır. Çalışmamızda, Çıralı, Antalya’da toplanan *M. vulgare* bitkisinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, GC ve GC-MS yöntemleri ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, total yağın %75,9’unu oluşturan altmış iki bileşen tespit edilmiştir. Majör bileşen olarak β -karyofillen (%25,6), takiben α -humulen (%4,9), (*E*)-nerolidol (%4,0), seskisabinen (%3,3), karyofillen oksit (%2,8), (*E*)- β -iyonon (%2,7), hekzahidrofarneşil aseton (%2,7), (*Z*)-3-hekzen-1-il benzoat (%2,5), fitol (%2,5), 1-okten-3-ol (%2,4), ve linalol (%2,0) tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *M. vulgare*’den elde edilen uçucu yağın 1-1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında insan epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattına (BEAS-2B) karşı sitotoksik aktiviteleri MTT testi ile değerlendirilmiştir. Uçucu yağın test edilen hücreler üzerinde en yüksek sitotoksik aktivitesi 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda gözlenmiştir. Çalışmamız, Antalya’da toplanan *M. vulgare*’nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlendiği ve MTT test ile A549 ve BEAS-2B hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitelerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : *Marrubium vulgare*, Lamiaceae, uçucu yağ, β -karyofillen, sitotoksik aktivite

Sayfa Adedi : 73

Danışman : Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

PHYTOTHERAPEUTIC INVESTIGATION ON *MARRUBIUM VULGARE* L.

(M. Sc. Thesis)

Buket ERDEM

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

The genus *Marrubium* L. (Lamiaceae) is represented by about 30 species native to Europe, Asia and North Africa. Among them, *Marrubium vulgare* L. is a perennial plant, which is generally known as “white horehound” in Europe and used as folk medicine to treat bronchitis, coughs and colds. It is reported to have several biological activities such as immunomodulatory, cardioprotective, antitumor, antimicrobial, vasorelaxant, analgesic, and hypoglycemic activities. Due to potential pharmacological activities of essential oils and their components, many studies have been focused on essential oil-containing plants. In this study, the essential oil of the aerial parts of *M. vulgare*, collected from Çıralı-Antalya, obtained by hydrodistillation, was analyzed by GC and GC-MS systems. Sixty-two components were identified, representing 75.9% of the total essential oil. The major constituent was β -caryophyllene (25.6%), followed by α -humulene (4.9%), (*E*)-nerolidol (4.0%), sesquisabinene (3.3%), caryophyllene oxide (2.8%), (*E*)- β -ionone (2.7%), hexahydrofarnesyl acetone (2.7%), (*Z*)-3-hexen-1-yl benzoate (2.5%), phytol (2.5%), 1-octen-3-ol (2.4%), and linalool (2.0%). In addition, the cytotoxic activity of essential oil obtained from *M. vulgare* was examined by MTT test in A549 (human lung cancer cells) and BEAS2B (human normal lung cells) cell lines at a concentration range of 1-1000 μ g/mL. The highest cytotoxic effect of the essential oil on the tested cells was observed at a concentration of 1000 μ g/mL. This is the first report on the composition of the essential oil of the aerial parts of *M. vulgare* from Antalya and in terms of cytotoxic activity of the essential oil of the plant against A549 and BEAS2B cell lines using by MTT test.

Science Code	: 1017
Key Words	: <i>Marrubium vulgare</i> , Lamiaceae, essential oil, β -caryophyllene, cytotoxic activity
Page Number	: 73
Supervisor	: Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yol gösterici olan, değerli bilgilerini benimle paylaşan danışman hocam Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI'ya,

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı, Prof. Dr. Betül DEMİRCİ, Doç. Dr. Esra EMERCE ve Arş. Gör. Damla KIRCI'ya,

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı imkanlarından faydalanmamı sağlayan Farmakognozi Anabilim Dalı'na,

Eğitim ve öğrenim hayatımın her aşamasında gösterdikleri fedakârlık, hoşgörü, güven ve destek için sevgili babam Birol ERDEM ve annem Lale ERDEM'e,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
HARİTALARIN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Kısım	3
2.1.1. Lamiaceae.....	3
2.1.2. <i>Marrubium</i> L. cinsi	4
2.1.3. <i>Marrubium vulgare</i> L.....	4
2.1.4. Yayılış ve habitat.....	7
2.1.5. <i>Marrubium vulgare</i> 'ye verilen isimler	7
2.1.6. Kayıtlı olduğu farmakope ve monograflar	8
2.2. Kimyasal Kısım	9
2.2.1. <i>Marrubium vulgare</i> üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar	9
2.3. Biyolojik Aktivite	19
2.3.1. <i>Marrubium vulgare</i> 'nin halk arasında ve homeopatide kullanımı.....	19
2.3.2. <i>Marrubium vulgare</i> üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları.....	22
2.3.3. Etki ve kullanılış.....	34

	Sayfa
2.3.4. Veriliş yolları ve dozu	35
2.3.5. Preparatları	35
2.3.6. İlaç etkileşimi ve diğerk etkileşimler	37
2.3.7. Uyarılar ve advers etkiler	37
2.3.8. Gebelik ve laktasyon	37
2.3.9. Kullanım süresi	37
2.3.10. Dikkat gerektiren işler	38
2.3.11. Doz aşımı.....	38
2.3.12. Saklama	38
2.3.13. Toksisite	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Gereç	39
3.2. Yöntem.....	39
3.2.1. Uçucu yağın elde edilmesi	39
3.2.2. Uçucu yağın gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ile analizi	40
3.2.3. Uçucu yağın sitotoksik aktivite tayini	41
4. BULGULAR	45
4.1. Uçucu Yağın Verimi	45
4.2. Uçucu Yağın Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile Analiz Sonuçları	45
4.3. Sitotoksik Aktivite Sonuçları	48
5. TARTIşMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİş	71

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>Marrubium vulgare</i> toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi	46
Çizelge 4.2. <i>Marrubium vulgare</i> 'den elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu konsantrasyona bağlı % hücre canlılığı sonuçları	49
Çizelge 5.1. Farklı orijinlerden toplanan <i>Marrubium vulgare</i> L. uçucu yağlarının analiz çalışmaları.....	53
Çizelge 5.2. <i>Marrubium vulgare</i> 'nin <i>in vitro</i> sitotoksik aktivite sonuçları	56

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Marrubium vulgare</i> 'de bulunan bazı fenolik bileşikler I	13
Şekil 2.2. <i>Marrubium vulgare</i> 'den izole edilen marrubozit'in kimyasal yapısı	14
Şekil 2.3. <i>Marrubium vulgare</i> 'de bulunan bazı flavon türevi bileşikler.....	15
Şekil 2.4. <i>Marrubium vulgare</i> 'den izole edilen verbaskozit'in kimyasal yapısı	15
Şekil 2.5. <i>Marrubium vulgare</i> 'de bulunan bazı fenolik bileşikler II	16
Şekil 2.6. <i>Marrubium vulgare</i> 'de bulunan bazı terpenoit bileşikler I.....	17
Şekil 2.7. <i>Marrubium vulgare</i> 'de bulunan bazı terpenoit bileşikler II	18
Şekil 4.1. <i>Marrubium vulgare</i> uçucu yağının kromatogramı	48
Şekil 4.2. <i>Marrubium vulgare</i> 'den elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi	49
Şekil 4.3. Pozitif kontrol olarak kullanılan doksorubisin'in BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi	50

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Marrubium vulgare</i> L.'nin genel görünüşü (A ve B), çiçekli dal uçları (C ve D) Çıralı, Yanartaş Yolu, Antalya	6
Resim 2.2. <i>Marrubium vulgare</i> 'nin yurtdışında bulunan bazı preparatları	36
Resim 3.1. <i>Marrubium vulgare</i> L., Çıralı, Antalya	39
Resim 3.2. Uçucu yağın Clevenger apareyi ile elde edilmesi.....	40

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 2.1. <i>Marrubium vulgare</i> L.'nin ülkemizdeki yayılışı	7

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
s	Saat

Kısaltmalar	Açıklamalar
A375	Melanoma kanser hücreleri
A549	İnsan epitel karsinom hücre hattı
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
B16	Melanoma hücreleri
BEAS-2B	Sağlıklı insan bronşiyal epitel hücreleri
BHA	Butil hidroksi anisol
BHT	Butil hidroksi toluen
BJ	İnsan cilt fibroblastları
COX	Cyclooxygenase (Siklooksijenaz)
DAD	Diode array detector

Kısaltmalar	Açıklamalar
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EMA	European Medicines Agency (Avrupa İlaç Kurumu)
ESI-MS	Electron Spray Ionization Mass Spectrometry (Elektron Sprey İyonizasyon Spektrometrisi)
FID	Flame Ionization Detector (Alev İyonizasyon Dedektörü)
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power (Demir İndirgeyici Antioksidan Aktivite)
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
GC	Gas Chromatography (Gaz Kromatografisi)
GC-FID	Gas Chromatography-Flame Ionization Detector
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
HCT-116	İnsan kolorektal adenokarsinom
HeLa	İnsan servikal kanser hücreleri
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
HPLC-DAD	High Performance Liquid Chromatography-Diode array detector
HPLC/UV-vis-DAD/ESI-MS	High Performance Liquid Chromatography/ Ultraviyole visible-Diode array detector/ Electron Spray Ionization Mass Spectrometry
IC₅₀	%50 inhibisyon gösteren doz
ID₅₀	%50'sini enfekte etmek için gerekli doz
Jeko-1	Non-Hodgkin lenfoma hücreleri
Jurkat	Akut T-lösemi hücreleri
KCl	Potasyum klorür
LN229	Glioblastoma hücreleri
MİK	Mininum inhibitör konsantrasyon
MS	Mass Spectrometry (Kütle Spektrometrisi)
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NAG-1	Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar ile aktive edilmiş gen
NIH3T3	Normal embriyonik fibroblast hücreleri
PC-3	Prostat adenokarsinom hücreleri
SW480	Kolorektal adenokarsinom hücreleri

Kısaltmalar**Açıklamalar**

SW620	Kolorektal kanser hücreleri
T98G	Glioblastoma multiforme hücreleri
U252	Glioma hücreleri
U2OS	Osteosarkoma hücreleri
U87	Glioblastoma multiforme hücreleri
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography (Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
UHPLC-MS/MS	Ultra High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry
UV-Vis	Ultraviyole visible
Vero	Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücreleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Marrubium vulgare L. (Lamiaceae) çok yıllık, 60 cm'ye kadar boylanabilen, dayanıklı otsu bir bitkidir [1,2]. Akdeniz ülkeleri, Orta Asya, Orta Avrupa, Amerika, Güney Afrika, Avustralya, Asya'nın ılıman batı kısımları, Kaşmir, Hindistan'ın kuzeybatı sınırı ve Pakistan'a kadar geniş yayılım göstermektedir [3,4]. Türkiye'de Marmara Bölgesi'nin güneyi, Ege Bölgesi, İç Anadolu'nun batısı ve Akdeniz Bölgesi'nde, bol güneşli ve soğuk rüzgarlardan korunaklı yerlerde ve kuru topraklarda yaygın olarak yetişir [1]. *M. vulgare* Avrupa'da "white horehound" ismi ile bilinir [4-6]. Türkiye'de halk arasında, "boz ot, yalancı ısırgan, it sineği, kara derme, köpek otu, kukas otu ve mayasıl otu" gibi isimlerle tanınmaktadır [7].

M. vulgare Avrupa, Fransa, Pakistan, Brezilya, Tunus ve Fas'ın çeşitli bölgelerinde geleneksel kullanıma sahiptir. Halk arasında, dahilen akut ve kronik bronşit, nezle, tüberküloz ve astım gibi solunum yolu enfeksiyonları ve sarılıkta, haricen cilt yaraları ve ülserde kullanılmaktadır. Almanya'da halk arasında acı tadından dolayı, iştah arttırıcı olarak kullanımı bulunmaktadır [8-10]. Türkiye'de ise çiçekli dalları idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır [11].

Yaygın geleneksel kullanımı yanında, *M. vulgare* Avrupa Farmakopesi'nde "Marrubii herba" adı ile kayıtlıdır [12]. Drog, 30 yıldan daha fazla süregelen geleneksel kullanımı nedeniyle Avrupa İlaç Kurumu (European Medicines Agency-EMA) tarafından geleneksel bitkisel tıbbi ürün sınıfına alınmış ve çeşitli preparatları için dozaj formları bildirilmiştir [13,14]. Ayrıca, drog çeşitli farmakope ve monograflarda yer almaktadır. Alman Komisyon E monograflarında iştah kaybı, şişkinlik ve gaz gibi dispeptik problemlerde kullanımı için onaylanmıştır [4]. British Herbal Compendium'da akut bronşit, kuru öksürük, nezle, dispepsi ve iştah kaybında endike olduğu belirtilmiştir [15]. Ekspektoran etkisi, Amerikan Farmakopesi'nde bildirilmiştir [4]. *M. vulgare* Almanya'da dispepsi problemlerinde, iştah kaybında, antitussif ve ekspektoran etkisinden dolayı soğuk algınlığı tedavisinde, kolagog etkisinden dolayı safra ve karaciğer problemlerinde kullanılmaktadır. Günümüzde, dünyada, tıbbi çayı halinde; tentür ya da ekstrelerini içeren mühtahzarları kapsül, tablet, damla, şurup veya pastil formlarında yaygın olarak tüketilmektedir. Ayrıca demulsan etkisinden dolayı meyan ve öksürük otu gibi bitkilerle birlikte kullanılmaktadır [3,4,14,16].

Son yıllarda yapılan çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, *M. vulgare*'nin antioksidan [17-19], antienflamatuar [20,21], analjezik [22], antidiyabetik [23], antihipertansif [24], antibakteriyel [25-27], antifungal [25], antibiyofilm [28], antispazmodik [29], sitotoksik [30-32] ve gastroprotektif [33] aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. *M. vulgare*'nin terapötik etkileri içeriğindeki uçucu yağlar, terpenoitler (marrubiin, marrubiol, peregrinin, dihidroperegrinin, vulgarol), flavonoidler, fenolik asitler ve fenilpropanoit glikozitlerinden kaynaklanmaktadır [34]. *M. vulgare*'nin ana bileşeni olan acı ve buruk tattaki diterpen yapısında marrubiin, bitkinin tıbbi kullanımından sorumlu biyoaktif maddelerinden birisi olarak bildirilmiştir [35-37].

Bugüne kadar yapılan çalışmalarla, farklı ülkelerde yetişen *M. vulgare* bitkisinin kimyasal bileşimleri, uçucu yağ kompozisyonları ve çeşitli biyolojik aktiviteleri pekçok araştırma ile incelenmiştir [8,38]. Yaptığımız literatür taramasına göre, ülkemizde yetişen *M. vulgare*'nin uçucu yağ bileşiminin belirlendiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır [39-41].

Tez çalışması kapsamında Çıralı, Antalya'dan topladığımız *M. vulgare* bitkisinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kompozisyonu, Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ile aydınlatılmıştır. Ayrıca, uçucu yağın insan epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattına (BEAS-2B) karşı sitotoksik etkileri MTT yöntemiyle incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde çalışmamıza ait teorik bilgiler “Botanik Kısım, Kimyasal Kısım ve Biyolojik Aktivite” adı altında üç ana başlıkta toplanmıştır.

Botanik kısımda bitkinin ait olduğu familya ve cinse ait bilgiler, bitkinin morfolojik özellikleri, bitkiye verilen isimler ve habitatu açıklanmıştır.

Kimyasal kısımda bitki üzerinde bugüne kadar yapılan fitokimyasal çalışmalar ile belirlenen kimyasal bileşenleri hakkında bilgi verilmiştir.

Biyolojik aktivite kısmında bitkinin halk arasında ve homeopatide kullanılışı, bitkinin biyolojik aktiviteleri, etki ve kullanılışı, veriliş yolları ve dozu, preparatları, ilaç etkileşimleri ve diğer etkileşimler, uyarılar ve advers etkiler, gebelik ve laktasyon döneminde kullanım, kullanım süresi, dikkat gerektiren işler, doz aşımı, saklama ve toksisitesine ait bilgiler verilmiştir.

2.1. Botanik Kısım

2.1.1. Lamiaceae

Akdeniz ikliminin görüldüğü bölgelerde yayılış gösteren, genellikle uçucu yağ taşıyan, bir ya da çok yıllık, otsu bitkiler veya çalılar. Gövde genellikle dört köşeli. Yapraklar basit, nadiren parçalı karşılıklı dizilişli (dekussat). Çiçekler braktelerin veya üst yaprakların koltuğunda, sık kümeler halinde, her nodusta çoğunlukla vertisillastrum durumunda. Çiçekler zigomorf. Çiçekler hermafrodit veya ginodioik bitkilerde erkek çiçek verimsiz. Kaliks kalıcı, üst dişler 3, alt dişler 2 olmak üzere 5 loblu, bazen bilabiat. Korolla gamopetal, simetrik ve bilabiat, üst dudak 2, alt dudak 3 loblu, bazen üst dudak eksik, 5 lobun hepsi alt dudakta ya da üst dudak 1, alt dudak 4 loblu. Stamenler korollaya bağlı, 4 ve çoğunlukla didinam, bazen 2. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü, her göz bir ovüllü. Stilus ginobazik. Meyve 4 nuksa ayrılan bir şizokarp [1,42].

Lamiaceae familyası, dikotiledonlar arasında en geniş familyalardan birisidir ve 240'dan fazla cinsle temsil edilmektedir. Birçok türü uçucu yağ taşıyan salgı tüylerine sahip aromatik

bitkilerdir [43]. Uçucu yağ epidermadaki salgı tüylerinde bulunur. Salgı tüyleri familya için karakteristik (Labiatae tipi salgı tüyü) olup; sapı tek, başı 8 hücreli ve pul şeklindedir [42].

Familya Türkiye’de 46 cins, 603 tür, 179 alt tür ve varyeteye sahip üçüncü en geniş familyadır. 271 tür, 75 alt tür ve varyete endemiktir, familyanın endemizm oranı %44’tür [44, 45].

2.1.2. *Marrubium* L. cinsi

Bir yıllık veya çok yıllık otlar. Yapraklar dişli, yoğun tüylü, nadiren tabanda kordat. Çiçek durumları vertisillastrum durumunda, her çiçek genellikle 1 dış ve 2 iç brakteollü. Kaliks dar, ters konik, 10 damarlı, 5, 10 ya da 30 dişli; dışı yoğun tüylü, ağzın içinde uzun tüylere sahip. Korolla beyaz, sarımsı veya morun çeşitli tonlarında, 2 dudaklı; üst dudak düz, iki parçalı; alt dudak 3 loblu. Stamenler 4, paralel, alt çift daha uzun, tamamı korolla tüpünün içinde. Meyvede nukslar pürüzsüz, kesik ve uçta yuvarlak [1].

Marrubium L. cinsinin Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika’da yayılış gösteren 40’a yakın türü bulunmaktadır. Türkiye’de 21 türü bulunmakta olup, bunlardan 12 tür (%53) endemiktir [46-48].

2.1.3. *Marrubium vulgare* L.

Çok yıllık, dik, küçük dallı, gövde 20-60 cm uzunluğunda, yoğun tüylü, altta beyazımsı, üstte grimsi renklerde, dayanıklı otsu bitkiler. Yapraklar saplı, ovat ve serrat yapıda, kırışmış gibi görünen yüzeylere sahip, her iki yüzeyi tüylerle kaplı, altta beyazımsı veya grimsi, üstte koyu grimsi ve yeşil renkli; gövde ve saplar üzerinde karşılıklı dizilmiş durumda. Çiçek durumları vertisillastrum, çok çiçekli; brakteoller kaliks kadar veya daha uzun (Resim 2.1). Kaliks tüpü 3,5-4,5 mm, yoğun tüylü; 5-10 dişli, çengel şeklinde veya yuvarlak. Korolla, beyaz veya krem, dışı yoğun tüylü, üst dudakın içi tüysüz. Küçük, beyaz 5-7 mm uzunluklarında sessil çiçekleri aksiller kümelerde yoğun. Meyve ovat, 1,5-2 mm uzunlukta, üçgensel biçimli, grimsi-kahverengi, parlak görünümlü nukslar. Kökler lifli, sert, odunumsu ve siyah renkli [1-3,5].

Marrubium vulgare L'nin sistematikteki yeri [49]

- Alem: Plantae
- Alt alem: Tracheobionta
- Bölüm: Magnoliophyta
- Sınıf: Magnoliopsida
- Alt sınıf: Asteridae
- Takım: Lamiales
- Familya: Lamiaceae
- Cins: *Marrubium*
- Tür: *Marrubium vulgare* L.



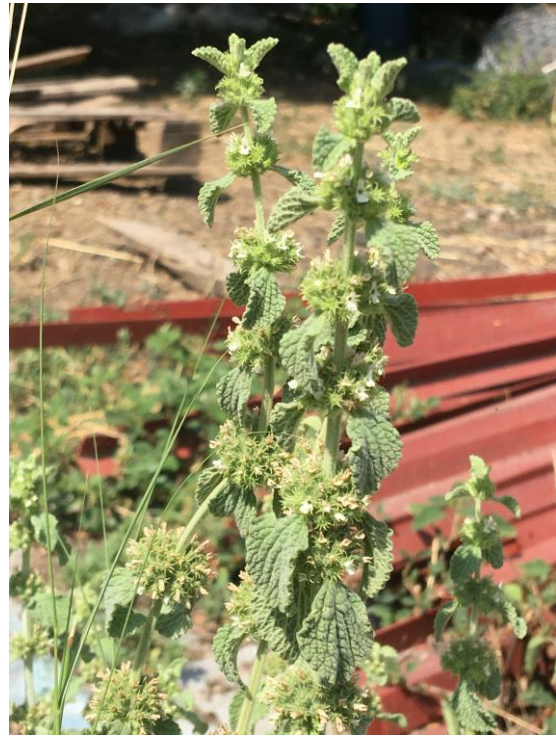
A



B



C



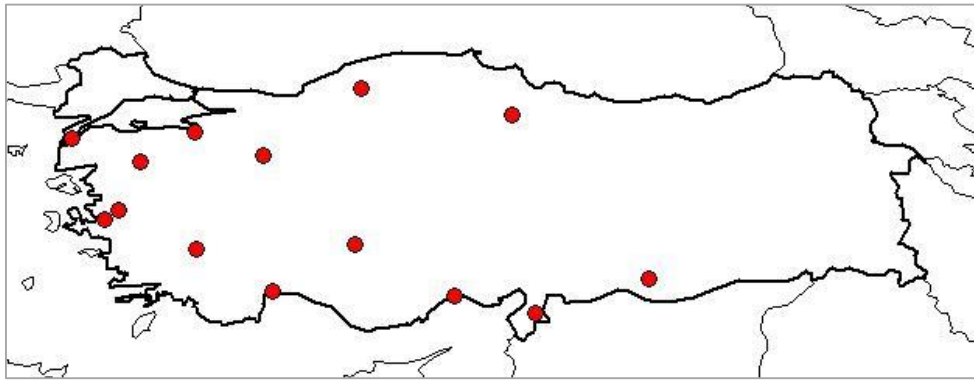
D

Resim 2.1. *Marrubium vulgare* L.'nin genel görünüşü (A ve B), çiçekli dal uçları (C ve D)
Çıralı, Yanartaş Yolu, Antalya (Foto: Nurgün Küçükboyacı)

2.1.4. Yayılış ve habitat

Marrubium vulgare Akdeniz ülkeleri ve Orta Asya'da doğal olarak yetişmekte; Orta Avrupa, Amerika, Güney Afrika ve Avusturalya'ya kadar yayılış göstermektedir [3,4].

M. vulgare ülkemizde Marmara Bölgesi'nin güneyi, Ege Bölgesi, İç Anadolu'nun batısı ve Akdeniz Bölgesi'nde yayılış göstermektedir [1]. Bitkinin TÜBİVES veri tabanına göre yayılışı Harita 2.1'de verilmiştir [49]. Bitki bol güneşli ve soğuk rüzgârlardan korunaklı yerlerde, kuru, çorak ve açık alanlarda yetişmektedir [1, 50].



Harita 2.1. *Marrubium vulgare* L.'nin ülkemizdeki yayılışı [49]

2.1.5. *Marrubium vulgare*'ye verilen isimler

Avrupa: White horehound [8]

Tunus: Marrubia [8]

Fransa: Marrube blanc, herbe a la vierge [16]

Almanya: Weißer andron, andornkraut [16]

İngiltere: Marrubium, horehound [16]

İtalya: Marrubio bianco (parti aeree fiorite) [13]

İspanya: Marrubio, sumidad florida de [13]

Polonya: Ziele szanty [13]

Portekiz: Marroio branco, parte aerea florida [13]

Çin: Ou xia zhi cao [9]

Güney Afrika: Houndsbene, koorsbossie [9]

Hindistan: Paharigandana, troper [9]

Arabistan: Marriout, merriwa, morroubia, omerroubia, roubia, umm re-roubia [9]

Türkiye: Boz ot, yalancı ısırgan, it sineği, kara derme, köpek otu, kukas otu ve mayasıl otu isimleriyle bilinmektedir [7].

2.1.6. Kayıtlı olduğu farmakope ve monograflar

İngiliz Bitki Farmakopesi'nde bitkinin çiçekli toprak üstü kısımları “White Horehound” ismiyle kayıtlı olup, bitkinin makroskobik ve mikroskobik özellikleri verilmiştir [5]. Martindale'de bitkinin çiçek ve yaprakları, “Marrubium” ismiyle kayıtlıdır [51]. Komisyon E Monografları'nda bitkinin yaprakları “Marrubii herba” ismiyle tanımlanmıştır [4]. PDR Bitki Monograflarında bitki “Horehound” ismiyle kayıtlıdır. Kurutulmuş çiçekli dalları, taze bitkinin çiçekli toprak üstü kısımları ve tüm bitki, tedavi edici kısımlar olarak belirtilmiş; çiçek, meyve, yaprak, kök ve gövdesi tanımlanmıştır [3].

Avrupa İlaç Kurumu (EMA) Bitki Monograflarında bitkinin toprak üstü kısımları “Marrubii herba” ismiyle kayıtlıdır [13]. Avrupa Farmakopesi'nde, bitkinin bütün ya da parçalara ayrılmış, kurutulmuş, çiçekli toprak üstü kısımları “Marrubii herba” olarak kayıtlıdır. Farmakopeye göre, kuru drog %0,7 marrubiin içermelidir [12].

2.2. Kimyasal Kısım

2.2.1. *Marrubium vulgare* üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar

M. vulgare üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda, bitkinin başlıca uçucu yağ ve terpenoitler (başlıca diterpenler; marrubiin, marrubiol, peregrinin, dihidroperegrinin ve vulgarol) bakımından zengin olmak üzere, flavonoitler, fenilpropanoit glikozitleri ve fenolik asitleri taşıdığı görülmüştür. Bitkinin kimyasal bileşiminde yer alan bileşikler sınıflandırılarak aşağıda verilmiştir.

Uçucu yağlar

Dünya'nın farklı bölgelerinden toplanan *M. vulgare* bitkisinin uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri farklı araştırmacılar tarafından analiz edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda; β -pinen, bisabolol, β -bisabolen, δ -kadinen, β -karyofillen, germakren D ve karyofillen oksit uçucu yağların ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir [52].

Kadri ve diğerlerinin (2011) yaptığı bir çalışmada, Tunus'tan toplanan *M. vulgare* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyi ile distilasyonu sonrasında, %0,34 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi, uçucu yağın yaklaşık olarak aynı oranlarda oksijenli monoterpen (%40,02) ve hidrokarbon seskiterpenleri içerdiğini (%42,70), ana bileşikler olarak γ -ödesmol (%11,93), β -sitronellol (%9,90), sitronellil format (%9,50) ve germakren D (%9,37) taşıdığını göstermiştir. Oksijenli seskiterpen yapısındaki ana bileşen γ -ödesmol, ilk kez bu çalışmada *M. vulgare* uçucu yağı içerisinde tespit edilmiştir [17]. Diğer bir çalışmada, Hamdaoui, Wannes, Marrakchi, Brahim ve Marzouk (2013) Tunus'tan toplanan *M. vulgare* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyi kullanılarak yapılan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı GC ve GC-MS yöntemleri ile analiz etmiştir. *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarının %0,02 verimle, keskin bir kokuya sahip açık renkte uçucu yağ içerdiği tespit edilmiştir. Uçucu yağın seskiterpen hidrokarbonlar bakımından zengin (%50,5) olduğu bulunmuştur. Uçucu yağın en yüksek oranda β -bisabolen (%28,3) içerirken, takiben β -karyofillen (%7,8), (E)- β -farnesen (%7,4) ve 1,8-sineol (%4,8) içerdiği tespit edilmiştir [53]. Tunus'ta yapılan diğer bir çalışmada, dört farklı iklim bölgesinden toplanan altı farklı *M. vulgare* popülasyonunun uçucu yağ analizleri yapılmıştır. GC-FID ve GC-MS yöntemleri

ile yapılan analiz sonucunda, uçucu yağ karışımı diterpen ve alkanlar bakımından zengin bulunmuş, 37 farklı bileşen analiz edilmiştir. Temel bileşenler, marrubiin (%9-34), doktriakontan (%13-25), and skualen (%6-47) olarak tespit edilmiştir. Farklı *M. vulgare* popülasyonlarının yüksek kimyasal çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çeşitliliğin biyolojik, genetik ve ekolojik faktörlere bağlı olduğu düşünülmüştür [54].

İran’da yapılan bir çalışmada, *M. vulgare* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile %0,09 verimle açık sarı renkli, keskin kokulu bir uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS ile analizi yapılmıştır [55]. İran’da toplanan *M. vulgare* bitkisinin uçucu yağının Tunus’tan toplanan örneklerle benzer temel bileşenleri yakın oranlarda içerdiği görülmüştür [17,53]. Uçucu yağın seskiterpen hidrokarbonlar bakımından (%73,6) zengin olduğu, majör bileşikler olarak β -bisabolen (%25,4), β -karyofillen (%11,6), germakren D (%9,7) ve (E)- β -farnesen (%8,3) içerdiği tespit edilmiştir [55]. İran’da yapılan başka bir çalışmada, *M. vulgare*’nin kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile %0,04 verimle açık sarı renkli uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS yöntemleri ile analizleri sonrasında; seskiterpenlerden (%68,2) zengin bulunan uçucu yağların, yüksek oranda β -bisabolen (%20,4), δ -kadinen (%19,1) ve izokaryofillen (%14,1) taşıdığı bulunmuştur [56].

Letchamo ve Mukhopadhyay (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, Kuzey Amerika’da (Kanada) yetişen *M. vulgare*’nin farklı kısımlarından hazırlanan kuru materyallerden Clevenger aparatı ile distilasyon yapılarak uçucu yağları elde edilmiştir. *M. vulgare* bitkisinin az miktarda uçucu yağ içerdiği (çiçeklerde %0,1, gövdede %0,01 ve yapraklarda %0,29 oranında) tespit edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ, koyu yeşil renkte, taze otsu bir kokuya sahip bulunmuştur. Tohumlardan, öğütülmeden iki saat distilasyon işlemi yapılmasına rağmen, uçucu yağ elde edilememiştir [57].

Slovakya’da *M. vulgare*’nin çiçekli toprak üstü kısımlarından %0,07 verimle elde edilen uçucu yağın GC-MS analizi, uçucu yağın majör bileşikler olarak β -karyofillen (%45,8) ve germakren D (%14,4) taşıdığını göstermiştir. Uçucu yağda bulunan diğer ana bileşiklerin ise α -humulen (%8,8), β -farnesen (%5,1) ve farnesol (%5,3) olduğu tespit edilmiştir [58].

Litvanya’dan toplanan *M. vulgare*’nin kurutulmuş yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC ve GC-MS yöntemleri ile analizi yapılmış ve temel bileşikler olarak seskiterpen

yapısında (Z)- β -farnesen (%9,61), β -karyofillen (%8,50), germakren D (%4,71), γ -kadinen (%4,96), α -kopaen (%3,08) ve (E)-hekz-2-enal (%4,67) taşıdığı belirlenmiştir [18].

Cezayir’de yapılan bir çalışmada, *M. vulgare* bitkisinin hem çiçeklenme hem de vejetatif fazda toplanan toprak üstü kısımlarında yaklaşık olarak %0,05 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. GC ve GC-MS analizleri sonucunda öjenol ve β -bisabolen elde edilen her iki yağ için de major bileşikler olarak tespit edilmiştir. Öjenol çiçeklenme fazındaki yağ için %50,1, vejetatif fazda %16 oranında analiz edilirken; β -bisabolen çiçeklenme fazında %10,9, vejetatif fazda %28,8 oranında bulunmuştur. Ayrıca, uçucu yağın çiçeklenme fazında fenilpropanoitlerden zenginken (%50,1); vejetatif fazda seskiterpen hidrokarbonlardan zengin olduğu belirlenmiştir (%40,3) [59]. Yapılan diğer bir çalışmada, Cezayir’in kuzey bölgesinden toplanan *M. vulgare*’nin (Mart ve Mayıs ayları arasında) Clevenger apereyi kullanılarak su distilasyonunun minimum zaman ve enerji kaybı ile uçucu yağ eldesinde yüksek verim elde edebilme koşulları incelenmiştir. Sıcaklık, kurutma, öğütme ve çözücü-katı kütlesi oranı gibi parametreler değiştirilerek maksimum verim hesaplanmıştır. Bitkinin kurutulması, öğütülmesi ve sıcaklığın artırılması uçucu yağ eldesinde pozitif etki gösterirken, çözücü-katı kütle oranı artışı verimde herhangi bir artış göstermemiş, %3 oranında maksimum verim alınmıştır [60].

Zawislak’ın (2012) yaptığı bir çalışmada, Polonya’dan toplanan kurutulmuş *M. vulgare* bitkisinin Deryng apereyi kullanılarak yapılan buhar distilasyonu sonrası elde edilen uçucu yağ verimi ortalama olarak %0,05 bulunmuştur. Uçucu yağın GC-MS ve GC-FID yöntemleri ile analizi sonucunda, seskiterpen hidrokarbon içeriğinin (%93,22) yüksek olduğu tespit edilirken, E-karyofillen (%25,91-32,06), germakren D (%20,23-31,14) ve δ -amorfen (%8,38-10,22) temel bileşenler olarak belirlenmiştir [61].

Mısır’ın kuzey bölgesinde yapılan bir çalışmada, *M. vulgare*’nin taze toprak üstü kısımlarından Clevenger apereyi kullanılarak yapılan su distilasyonu ile %0,2 verimle uçucu yağ elde edilmiştir. GC-MS analizleri sonucunda toplam yağın %90,19’unu oluşturan 19 farklı kimyasal bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşen olarak fenolik yapıya sahip timol (%34,55) tespit edilirken; yüksek miktarda bulunan diğer bileşik ise seskiterpen hidrokarbon yapısında γ -kadinen’dir (%17,68) [62]. Mahmoud ve diğerlerinin (2018) Mısır’da yaptığı diğer bir çalışmada, farklı üretim koşullarının (sulama ve hasat zamanı) *M. vulgare* bitkinin büyümesi ve uçucu yağ içeriğine etkileri incelenmiştir. Bitkinin 4 gün aralıklarla sulanarak

210 gün sonra hasat edilmesi ile en verimli üretim (bitkinin boy uzunluğu, dallanması, taze ağırlığı) gerçekleşmiştir. *M. vulgare*'nin uçucu yağ içeriğinde ise, fidelerin dikiminden 80 gün sonra hasat edilmesi ve 12 gün aralıklarla sulanması ile en verimli sonuçlara ulaşılmıştır ve bu bitkinin çiçekli döneminde toplanan taze bitkiden elde edilen yağın GC-MS analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda, uçucu yağda 6 majör, 14 minör ve 60 eser bileşik bulunmuştur. Buna göre; timol (%29,6-60,7), karvakrol (%0,5-19,3), m-simen (%1,0-14,2), γ -terpinen (%1,1-12,1), timol metil eter (%0,4-10,4) and α -himakalen (%0,0-10,3) majör bileşikler; izoborneol (%0,7-9,4), benzen 1-metoksi-4 metil-2 (1-metiletil) (%0,0-9,2), linalil antranilat (%0,8-7,0), γ -kadinen (% eser-2,9), α -terpinen (%1,4-2,0), β -karyofillen (%0,6-1,9), β -mirsen (%0,0-1,8), ökaliptol (%0,6-1,5), α -felandren (%0,4-1,4), 1-okten-3-ol (%0,0-1,2), 1R- α -pinen (%0,0-1,1), kamfen (%0,0-1,0), 2-siklohekzen-1-ol (%0,0-1,0) ve *cis*- β -bisabolen (%0,0-1,0) minör bileşikler olarak tespit edilmiştir [63].

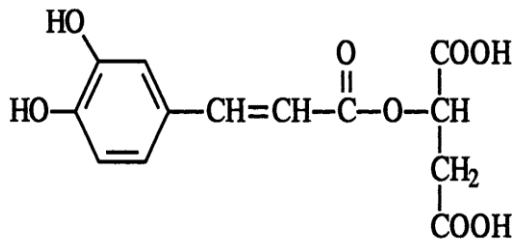
Ülkemizde Akdeniz havzasında yaygın yetişen *M. vulgare*'nin uçucu yağ bileşimi üzerine yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bayir, Gündüz, Usta, Şahin, Özdemir, Kayır ve diğerleri (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, Tokat'tan toplanan *M. vulgare* yapraklarından Clevenger apareyi kullanılarak yapılan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın GC ve GC-MS ile analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda, uçucu yağın major bileşikler olarak α -pinen (%28,85), β -pinen (%18,31), β -felandren (%17,40) ve 2-hekzenal (%14,80) taşıdığı bildirilmiştir. Analizde, varlığı tespit edilen diğer bileşikler α -felandren (%1,55), β -mirsen (%5,7), α -limonen (%3,88), sabinen (0,49), karyofillen (%3,86), β -farnesen (0,88) ve germakren (%1,05) olarak belirlenmiştir [39]. Sönmez ve Gül (2014) tarafından yapılan çalışmada, Silifke-Mersin'den toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın, subkritik su ekstraksiyonu ve Soxhlet apareyinde *n*-hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen ekstratlarının içerikleri GC-MS ile analiz edilmiştir. Su distilasyonu haricinde, diğer ekstratların başlıca bileşeni marrubiin olarak belirlenirken, su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın bileşiminde, karyofilin (%14,2), geranil linalol (%11,8), β -farnesen (%9,94) ve öjenol (%5,3) varlığı bildirilmiştir [40]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, Kütahya'da kültür bitkisi olarak ekilen *M. vulgare* örneğinin uçucu yağ analizi yapılmış ve sonuçta uçucu yağın germakren D (%7,1), β -karyofillen (%6,2), karvakrol (%5,7) ve heksadekanoik asit'i (%4,0) ana bileşenler olarak taşıdığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, uçucu yağda %12,2 ve %10,1 oranında bulunduğu belirlenen iki bileşiğin teşhisinin yapılamadığı belirtilmiştir. Uçucu yağın içeriği toplamda %59,6 oranında belirlenebilmiştir [41].

Fenolik bileşikler

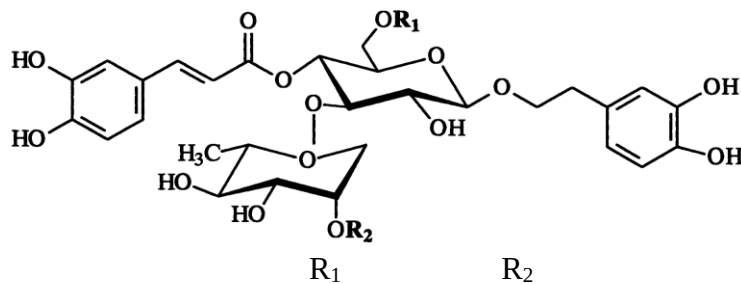
M. vulgare fenolik bileşikler bakımından zengin bir bitki olup, bileşiminde başlıca flavonoitler, fenilpropanoit esterleri ve fenolik asitler bulunmaktadır.

Nawwar, El-Mousallamy, Barakat, Buddrus ve Linscheid'in (1989) yaptığı bir çalışmada, *M. vulgare*'nin taze yapraklarından hazırlanan etanollü ekstreden yeni laktoil flavonoitler olarak 7-O-laktoil-luteolin, luteolin 7-O-[2-O- β -glukopiranuronozil-laktat], luteolin 7-O-[2-O- β glukopiranozil-laktat], 7-O-laktoil-apigenin, apigenin 7-O-[2-O- β -glukopiranuronozil-laktat] ve apigenin 7-O-[2-O- β -glukopiranozil-laktat] bileşikleri izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bununla birlikte, bilinen flavonoitler olan visenin II, viteksin, luteolin 7-glukozit, apigenin 7-glukozit, apigenin 7-O-(6''-p-kumaroil)glukozit, luteolin, krisoeriol ve apigenin de izole edilmiştir [64].

Sahpaz, Garbacki, Tits ve Bailleul (2002), *M. vulgare*'nin çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan polar ekstrelerden fenilpropanoit esterleri olarak akteozit, forsitozit B, arenariozit ve ballotetrozit izole etmişlerdir (Şekil 2.1). Ayrıca, fenolik yapıda bir bileşik olarak (+) (E)-kafeoil-L-malik asit elde edilmiştir [20].

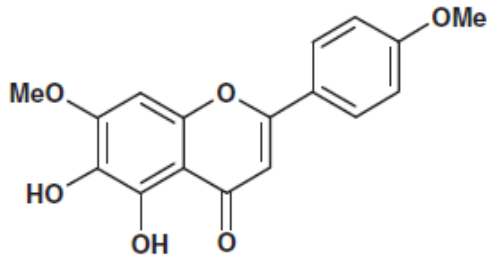


Kafeoil-L-malik asit

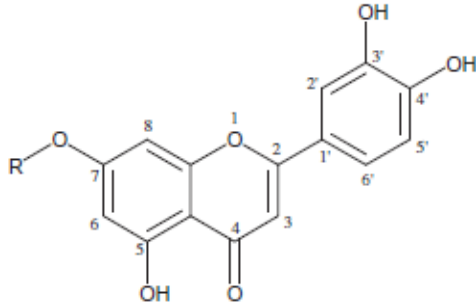


Akteozit	H	H
Forsitozit B	β -D-apioz	H
Arenariozit	β -D-ksiloz	H
Ballotetrozit	β -D-apioz	α -L-arabinoz

Şekil 2.1. *Marrubium vulgare*'de bulunan bazı fenolik bileşikler I



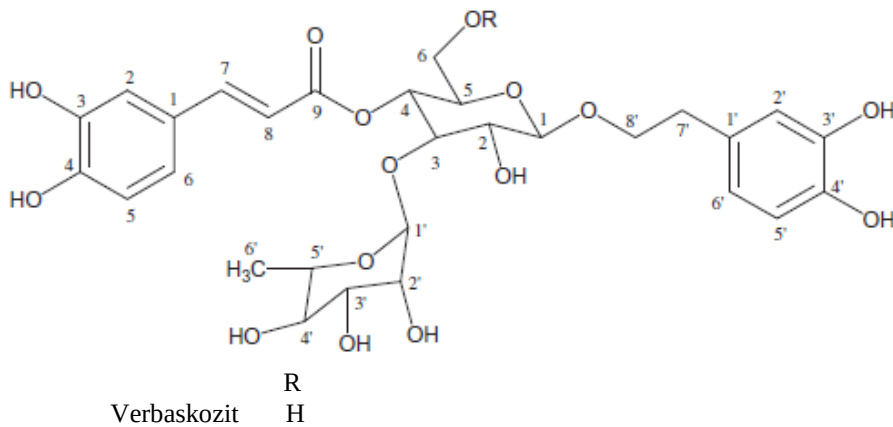
5,6-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavon (ladanein)



R
7-O- β -glukopiranozil luteolin glukoz
7-O- β -glukuronil luteolin glukuronik asit

Şekil 2.3. *Marrubium vulgare*'de bulunan bazı flavon türevi bileşikler

Boudjelal, Henchiri, Siracusa, Sari ve Ruberto (2012), *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırladıkları infüzyonun antidiyabetik etkisinin gözlemlendiği fraksiyonlarda yaptıkları High performance liquid chromatography/Ultraviyole visible-Diode array detector/Electron spray ionization mass spectrometry (HPLC/UV-vis-DAD/ESI-MS) analizlerinde, bitkinin flavonoidler (luteolin, apigenin ve krizoeriol türevleri, ladanein), 5-O-kafeoil kinik (klorojenik) asit ve fenil propanoit esterlerini (başlıca verbaskozit ve türevleri, ballotetrozit ve alissonozit) taşıdığını tespit etmiştir (Şekil 2.4) [23].

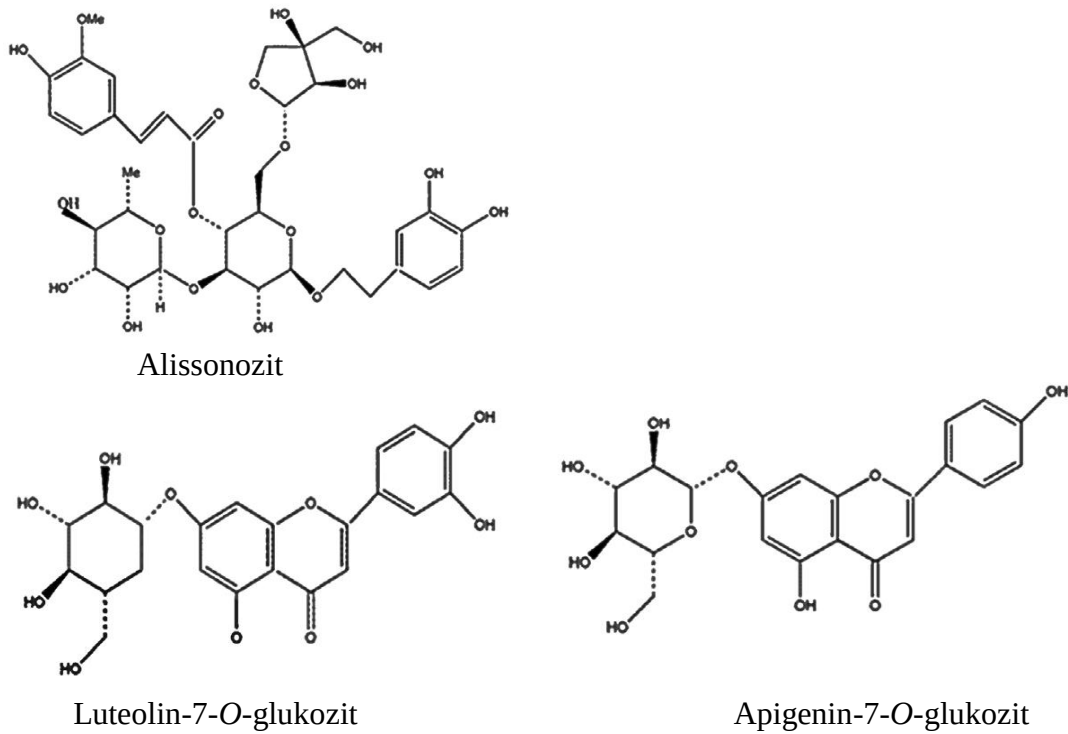


Şekil 2.4. *Marrubium vulgare*'den izole edilen verbaskozit'in kimyasal yapısı

Tunus'un 3 farklı iklim koşullarına sahip bölgelerinden toplanan 6 farklı *M. vulgare* popülasyonunun kurutulmuş toprak üstü kısımlarından etanol-su ekstraktları hazırlanmış ve etil asetat fraksiyonlarından High performance liquid chromatography-Diode array detector (HPLC-DAD) analizi ile fenolik asit ve flavonoid içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. HPLC analizleri sonucunda, *M. vulgare*'nin tüm popülasyonlarının kersetin-3-D-O-galaktoziti en yüksek oranda içerdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, apigenin, luteolin-7-O- β -D-glukozit, kemferol-3-glukozit ve kersetin-3- β -D-glukozit temel flavonoidler; kafeik, siringik, sinapik, ferulik, 2-hidroksi sinamik, rosmarinik, *trans*-sinnamik ve *p*-kumarik asit de temel fenolik asitler olarak analiz edilmiştir [67].

Cezayir'de yapılan bir çalışmada, *M. vulgare* bitkisinin kurutulmuş yapraklarından hazırlanan metanol ekstraktlarından Ultra high performance liquid chromatography-Mass spectrometry/Mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) analizleri ile feniletanol türevleri olarak dekafeoilverbaskozit, alissonozit ve lükoseptozit A ilk kez tespit edilirken; bitkinin verbaskozit, kafeik asit ve forsitoziti B izomerlerini de içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca bitkinin kurutulmuş yapraklarından hazırlanan metanol ekstraktlarından luteolin, apigenin, luteolin-7-O-glukozit, apigenin-7-O-glukozit, terniflorin ve anizofolin A izomerleri elde edilmiştir (

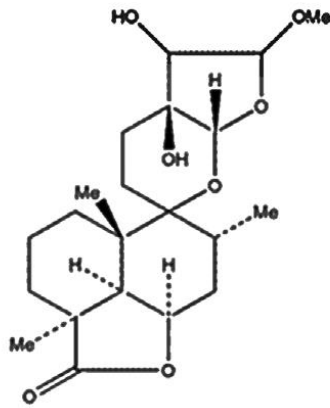
Şekil 2.5) [68].



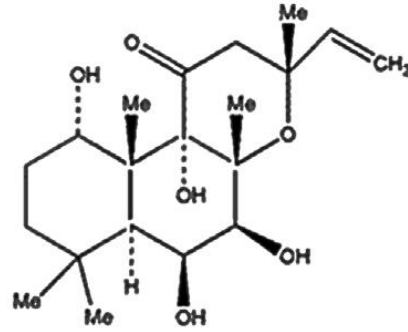
Şekil 2.5. *Marrubium vulgare*'de bulunan bazı fenolik bileşikler II

Terpenoitler

Yapılan araştırmalar bitkinin diterpenoitler bakımından zengin olduğunu göstermiştir. Amessis-Ouchemoukh, Abu-Reidah, Quirantes-Pine, Madani ve Segura-Carretero (2014) yaptıkları bir çalışmada, *M. vulgare* bitkisinin kurutulmuş yapraklarından hazırladıkları metanol ekstrelerinin UHPLC-MS/MS analizleri ile bitkinin sakranozit A, deasetilforskolin izomerleri, premarrubiin izomerleri, marrulibasetal A izomerleri, marrubenol ve preleosibirin taşıdığını belirlemiştir (Şekil 2.6) [68].



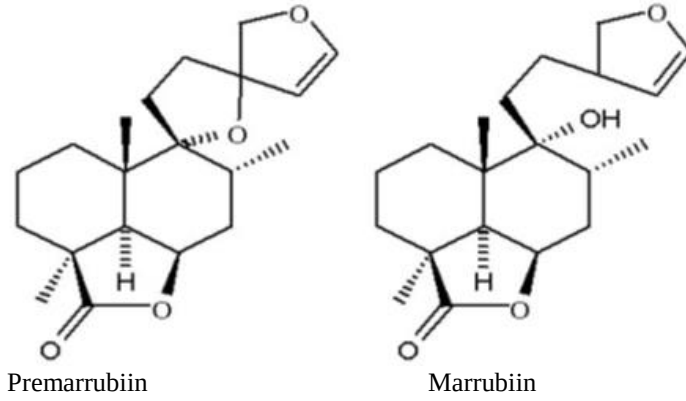
Marrulibasetal A



Deasetilforskolin

Şekil 2.6. *Marrubium vulgare*'de bulunan bazı terpenoit bileşikler I

M. vulgare'nin kurutulmuş toprak üstü kısımları ve köklerinden hazırlanan metanollü, etanollü, kloroformlu ve sulu-alkollü ekstrelerinden, kolon ve preparatif kalın tabaka kromatografileri ile marrubiin ve diğer kompleks karışımlar ayrılmıştır. 90 °C'de çözücünün uzaklaştırılması ile premarrubiin'in marrubiin'e dönüştürülmesinde en iyi deneysel koşullar sağlanırken, kitin ile yapılan açık kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi sonucunda da hızlı sonuçlar alınmış, yüksek verimle saf marrubiin elde edilmiştir (Şekil 2.7) [69]. Marrubiin, yaprak ekstresinin temel bileşenidir [57]. Çiçekli toprak üstü kısımlardan da elde edilen marrubiin [70], köklerden hazırlanan ekstrelerde de az miktarda bulunmuştur [69]. *M. vulgare* yapraklarında en yüksek konsantrasyonda marrubiin içeriği; Gas chromatography-Flame ionization detector (GC-FID) analizleri sonrasında, 28 gün büyütülen bitkinin orta yapraklarında bulunmuştur [36].



Şekil 2.7. *Marrubium vulgare*'de bulunan bazı terpenoit bileşikler II

Zerbe ve diğerlerinin (2014) yaptığı bir çalışmada, *M. vulgare*'nin kök, gövde, yaprak, gövde trikومları, çanak ve taç yapraklarının pentan ekstresinin Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) analizleri ile terpenoit içerikleri ve dağılımları incelenmiştir. Terpenler, sadece *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarında tespit edilmiştir. İçlerinden en yüksek oranda marrubiin; yapraklar, çanak yapraklar ve trikomlarda bulunmuştur. Bitkide aynı zamanda, marrubiin'in 9. C'undaki hidroksi grubu yerine 9,13-epoksi köprüsü içeren premarrubiin de teşhis edilmiş ve benzer dağılım gösterdiği bulunmuştur. Marrubiin ile neredeyse aynı kütle fragmentasyonuna sahip olan premarrubiin, ısı ile marrubiin'e dönüşmektedir. Toprak üstü kısımlarda tespit edilen diğer diterpen bileşikler; manoil oksit, 4 diterpen (A-D), nerolidol, δ -kadinen, paçulen, germakren D, β -kubeben, α -humulen, *trans*-karyofillen, α -kopaen ve linalol'dür [71].

M. vulgare bitkisinin metanol ekstresinden bilinen labdan yapısında diterpenoit bileşikler marrubiin ve polyodonin yanında yeni diterpenoitler olarak, oksomarrubiin ve diglukozit yapısında diterpenoit olan vulgarkozit A izole edilerek yapıları spektral tekniklerle aydınlatılmıştır [72].

Diğer bileşikler

M. vulgare'nin yukarıda belirtilen bileşikler dışında fitosteroller ve eser miktarda alkaloid içerdiği bildirilmiştir. Pentasiklik triterpen yapısında ursolik asit, steroid yapısında β -sitosterol ve stigmasterol bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilmiştir [64,73]. Bitkide eser miktarda alkaloid yapısında betonisin ve izomeri olan turisin yaprak ve çiçekli kısımlarından izole edilmiştir [74-76]. Ayrıca çeşitli alkan türevi bileşikler olarak, 2-

(omega-1)-dimetilalkan, 2-metilalkan, 3-metilalkan ve 3-(omega-9)-dimetilalkan *M. vulgare* 'nin toprak üstü kısımlarından elde edilmiştir [38].

2.3. Biyolojik Aktivite

2.3.1. *Marrubium vulgare*'nin halk arasında ve homeopatide kullanımı

Bitkinin Avrupa, Pakistan, Brezilya, Tunus ve Fas'ın çeşitli bölgelerinde geleneksel kullanımı vardır. Halk arasında, dahilen akut ve kronik bronşit, akciğer nezlesi, solunum yolu enfeksiyonları, tüberküloz, astım, sarılık, haricen de cilt yaraları ve cilt üzerinde gelişen ülserde kullanımı önerilmektedir. *M. vulgare* infüzyonu, koloretik etkili marrubininik asit gibi acı tada sahip bileşikler içermesinden dolayı gastrik sekresyon stimulanı olarak dahilen kullanılır. *M. vulgare*, Norfolk ve İngiltere'nin bazı bölgelerinde, halk arasında çay ve şekerleri hazırlanarak kullanılır [8].

Almanya'da halk arasında acı tadından dolayı, iştah arttırıcı ilaç olarak kullanılırken, Anglo-Amerika ve Akdeniz Bölgesi'nde solunum problemlerinde kullanımı yaygındır [8,77]. Geleneksel kullanımda, boğaz ağrısında, çeşitli formları hekimler tarafından hazırlanmış, balgamla birlikte görülen bronşit tedavisinde de önerilmiştir. İnfüzyon şeklinde; 1 tatlı kaşığı bitki, bir bardak dolusu kaynamış suda hazırlanır. Şurup olarak ise, Geo. M. Beringer tarafından verilen formülasyona göre; 200 mg toz edilmiş bitki, 750 mg şeker, 125 mL gliserin, toplamda 1000 mL olacak şekilde suyla tamamlanarak hazırlanır [2]. Öksürük, soğuk algınlığı ve boğaz tahrişlerinde şeker formları kullanılır. Kurutulmuş bitkinin infüzyonu halsizlik ve soğuk algınlığında kullanılırken, çayları mide ağrısı ve kolik semptomlarını rahatlatır, ancak uzun süreli kullanımı yüksek kan basıncına sebep olabilir [9].

Bitki, ekspektoran, diyaforetik, diüretik, ateş düşürücü, emenagog ve tonik etkilere sahiptir, yüksek dozlarda laksatif etki gösterir [9]. Bitkinin sıcak infüzyonunun ter bezlerini indükleyici etkisi bulunurken, soğuk infüzyonları sindirim sistemi üzerinde tonik etkili olarak kullanılır [8]. Bitki, eski dönemlerde kronik hepatit ve kaşektik hastalıklarda kullanılmıştır [2]. Kolera ve uzun süren ateşin tedavisinde de etkilidir [17,78]. Taze bitkinin infüzyon ve dekoksasyonu sıtma tedavisinde kullanılır [9,17]. Çiçek, yaprak ve gövdesinin infüzyonları diyabet ve kardiyak problemlerde kullanılırken, toz halindeki yaprakları hafif

dezenfektan etkilidir [8,9]. Menstrual ağrıda ve menstrual düzensizliklerde, uçucu yağ içeriğinden dolayı, infüzyon şeklinde dispepsi ve amenorede kullanılır [8]. Yapraklarından yapılan macunlar romatizma ve yanıklar üzerine haricen uygulanır, ayrıca ağrılı ve iltihaplı yaralarda haricen kullanılır [8,9].

Romalılar ve Mısırlılar ise zehir antidotu olarak kullanmıştır. *M. vulgare*'nin infüzyonu, meyve ağaçlarına püskürtülerek, tırtıl kurtlarının öldürülmesine yardımcı olmuştur. Sindirimi kolaylaştırıcı, bağırsak solucanlarını öldürdürücü ve mide yanmasını tedavi edici olduğu düşünülmüştür. Soğuk algınlığında, ilk soğuk algınlığı semptomları başladığında, dokuz küçük parça yaprak, bir yemek kaşığı bal ile karıştırılarak boğaz ağrısı rahatlayıncaya kadar yavaşça çiğnenerek kullanılmıştır. Çocuklarda öksürüğü tedavi etmek için, 4 tatlı kaşığı taze *M. vulgare* yaprağı, 3 adet öğütülmüş kakule tohumu, bir çay kaşığı öğütülmüş anason tohumu ve 2,5 bardak su ile şeker formu hazırlanarak kullanılmaktadır. Brezilya'da *M. vulgare* halk arasında, enflamasyonu, solunum yolu ve gastrointestinal sistem hastalıklarını tedavi etmede kullanılmaktadır [8].

M. vulgare, Mısır'da eski zamanlardan beri öksürük tedavisinde ekspektoran olarak kullanılmaktadır. On altıncı yüzyılda Elizabeth devri herbalistlerinden John Gerard ve on yedinci yüzyılda İngiliz herbalist Nicholas Culpepper, hırıltılı solunum ve tüberkülozda kullanılabileceğini belirtmiştir. Hindistan ayurveda tıbbında, akut ya da kronik bronşit ve boğmaca öksürüğünü tedavi etme amaçlı kullanılmaktadır [4]. Kurutulmuş bitki ya da tohumların dekoksasyonu ve taze bitkinin suyu, bal ile karıştırılarak nefes daralması ile birlikte görülen öksürüğün tedavisinde ve balgam söktürücü olarak kullanılır. Kadınlarda adet döngülerini başlatmak amacıyla ve doğum sonrasında, ayrıca zehirin vücuttan atılması ve zehirli yılan ısırıklarından sonra da verilmektedir. Yapraklar bal ile birlikte kullanılarak yara ve ülserlerin tedavisinde, bitki suyu ise bal ile karıştırılarak görme duyusunun iyileştirilmesi, burun tıkanıklığının giderilmesinde, ayrıca gülyağı ile birlikte kulak ağrısının rahatlatılmasında kullanılmaktadır. Galen, karaciğer ve dalak tıkanıklıklarının açılması, akciğer ve göğüsteki balgamin temizlenmesinde etkili olduğunu söylemiştir. Kaynatılan yeşil yapraklarından hazırlanan merhemler, köpek ısırıklarının iyileşmesinde, diken batması sonucunda oluşan ağrı ve şişliklerin hafifletilmesinde; sirkeyle birlikte kullanıldığında deri hastalıklarının temizlenmesi ve iyileşmesinde etkilidir [79].

Kuzey Amerika yerlilerinin de Asya ve Avrupalılara benzer kullanımları vardır. Çerokiler, *M. vulgare*'nin infüzyonunu şeker ile karıştırarak hazırladıkları öksürük şurubunu, soğuk algınlığı tedavisinde ve ses kısıklığında boğazı rahatlatmak amacıyla kullanmaktadır. Costanoan kabilesi bitkinin yapraklarının dekoksiyonunu öksürük tedavisinde veya yaprakları ısıtarak yanıkları tedavi etmek amacıyla kullanırlar. İşletalar ezilmiş yaprakları antiromatizmal olarak, lapa şeklinde şişliklerin üzerine uygularlar. Navaholar hazırladıkları bitki infüzyonunu boğaz ağrısını tedavi etme amaçlı, dekoksiyonunu influenza ve mide ağrısında, köklerini ise doğum öncesi ve sonrasında jinekolojik tedavide kullanırlar. Kawaisular da bitkinin yaprak ve çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırladıkları sıcak ve soğuk sulu infüzyonları, öksürük ve soğuk algınlığı tedavisinde; şurupları ise solunum rahatsızlıklarında kullanmaktadır [10].

Ayrıca *M. vulgare* homeopatik sistem içerisinde solunum yolları enflamasyonunda kullanılmaktadır [3].

Dünya üzerinde geleneksel kullanımı yaygın olan *M. vulgare* bitkisinin ülkemizde de halk arasında çeşitli rahatsızlıklara karşı kullanıldığı görülmektedir. Çiçekli dalları idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır [11]. Gönen (Balıkesir) bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmada, “keklik otu” yöresel adıyla bilinen *M. vulgare*'nin çiçekli dallarından hazırlanan infüzyonunun hazımsızlık, peptik ülser, gastroözofageal reflü, mide kanseri ve nonsteroidal antienflamatuvar ilaç kullanımının sebep olduğu mide ağrısına karşı kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu etkisinin uçucu yağ içeriğinden kaynaklandığı belirtilmiştir [80,81]. Buldan'da yapılan bir çalışmada, halk arasında “yakı” olarak anılan karışımlarda *M. vulgare*'nin kullanılarak soğuk algınlığı, halsizlik ve çeşitli ağrıları tedavi ettiği belirtilmiştir [82]. Osmaneli (Bilecik) ve çevresinde yapılan etnobotanik bir çalışmada, *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çayın idrar söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir [83]. Karaman ve Kocabaş (2001), tarafından yapılan bir çalışmada, Kahramanmaraş'ta halk arasında “it sineği” olarak bilinen *M. vulgare*'nin çiçek ve yapraklarının analjezik, antipiretik, iştah açıcı ve öksürük ilacı olarak kullanıldığı bildirilmiştir [84].

2.3.2. *Marrubium vulgare* üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Analjezik etki

Farelerde oluşturulan çeşitli ağrı modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *M. vulgare*'nin yaprak, gövde ve köklerinin sulu alkollü ekstrelerinin analjezik etkileri araştırılmıştır. İntraperitoneal asetik asit enjeksiyonu ile fareler üzerinde oluşturulan abdominal kasılma üzerine *M. vulgare* ekstresi ve morfin'in karşılaştırmalı etkileri izlenmiştir. *M. vulgare* sulu alkollü ekstresinin intraperitoneal ve oral yolla uygulanması sonucunda, formalinle indüklenen ağrı üzerinde doza bağlı olarak belirgin bir analjezik etki ($p < 0,05$) gösterdiği bildirilmiştir. Ekstrenin ince tabaka kromatografisi ile analizi, bitkinin steroid ve terpenlere bağlı olarak analjezik aktivite gösterdiğini ve kimyasal olarak indüklenen akut ağrıyı inhibe ettiğini göstermiştir [22].

Yapılan diğer bir çalışmada, *M. vulgare*'nin ana aktif bileşeni marrubiin'in fareler üzerinde oral ve sistemik yollarla uygulandığında doza bağlı antinosiseptif etkileri, %50'sini enfekte etmek için gerekli doz (ID_{50}) hesaplanarak incelenmiştir. Ağrı mekanizmasında, bazı ilaçlardan daha etkili olduğu ve etkisinin uzun süre devam ettiği görülmüştür. Asetik asitle indüklenen kıvrınma testi ve formalinle indüklenen ağrı testlerinde, marrubiin'in periferik mekanizmaların etkisiyle yüksek aktivite gösterdiği izlenmiştir. Farelere 30 dakika öncesinde intraperitoneal olarak uygulanan marrubiin, asetik asitle indüklenen ağrıda 2,2 $\mu\text{mol/kg}$ ID_{50} değeriyle yüksek etki gösterirken, formalin testinde intraperitoneal ve oral yollarla uygulamaları sonucunda hem birinci hem de ikinci fazda etki tespit edilmiştir. Sistemik olarak, birinci fazda 6,6 $\mu\text{mol/kg}$, ikinci fazda ise 6,3 $\mu\text{mol/kg}$ ID_{50} değerleri hesaplanmıştır. Kapsaisin'le indüklenen nörojenik ağrı testinde, 28,8 $\mu\text{mol/kg}$ ID_{50} hesaplanarak doza bağlı inhibisyon gözlenmiştir [85].

Meyra-Silva, Yunes, Schlemper, Campos-Buzzi ve Cechinel-Filho (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, marrubiin'in lakton halkasının açılmasıyla oluşan marrubinik asit ve iki esterleşmiş türevinin fareler üzerinde kıvrınma testi ile analjezik etkisi test edilmiştir. Marrubinik asit'in asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) ve doza bağlı bir antinosiseptif etki gösterdiği bulunmuştur. İntraperitoneal uygulamada ise, 12 $\mu\text{mol/kg}$ ID_{50} değeriyle referans olarak kullanılan ilaçlardan (aspirin ve parasetamol) 11 kat fazla, marrubiin'e göre ise daha az aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Aktivitesi formalin, kapsaisin ve hot-plate testleri ile de desteklenmiştir. Karboksil grubunun verdiği asidik karakterin, antinosisseptif aktivitede etkili olduğu düşünülmüştür [86].

Antienflamatuvar etki

Sahpaz, Garbacki, Tits ve Bailleul'in (2002) yaptıkları bir çalışmada, *M. vulgare*'nin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen beş majör fenilpropanoit esterinin (kafeoil-L-malik asit, akteozit, forsitozit B, arenariozit ve ballotetrozit) antienflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Bu beş bileşiğin, siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe ederek antienflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Non selektif COX inhibitörü olan indometazin ve COX-2 enzim inhibitörü olan nimesulid referans ilaçlar olarak kullanılarak, fenilpropanoit esterlerinin COX enzimini inhibe edici etkileri test edilmiştir. Akteozit ve arenariozit, en güçlü COX-2 enzim inhibitörü etkiyi göstermiştir. Ballotetrozit çok zayıf bir COX-2 enzim inhibisyonu gösterirken, kafeoil-L-malik asit ise COX-2 enzimi üzerine inhibitör etkide bulunmamıştır [20].

Stulzer, Tagliari, Zampirola, Cechinel-Filho ve Schlemper'in (2006) yaptıkları bir çalışmada, farelerin kulaklarında Evans boyası yöntemiyle mikrovasküler ekstrasvazasyon oluşturularak, *M. vulgare*'nin temel bileşeni olan marrubiin'in antiödematojenik aktivitesi test edilmiştir. Sodyum diklofenak ve deksametazon, referans antienflamatuvar ilaçlar olarak kullanılmıştır. Karragenin, histamin, serotonin, dekstran, bradikinin, kapsaisin, madde P ve ovalbümin intradermal enjeksiyon yoluyla farelerin kulaklarına uygulanmış; marrubiin ve referans ilaçların uygulamalarından sonra ID₅₀ (mg/kg, i.p.) ve maksimum inhibisyon (%) değerleri hesaplanmıştır. Marrubiin'in, histamin (13,84 mg/kg ve %73,7), bradikinin (18,82 mg/kg ve %70,0) ve karragenin (13,61 mg/kg ve %63,0) üzerinde anlamlı ve doza bağlı antiödematojenik etkisi kanıtlanmıştır. Ayrıca ovalbümin ile indüklenen alerjik ödemde %67,6 inhibisyon değeriyle önemli derecede etki gösterdiği bulunmuştur [21].

Vazorelaksan etki

M. vulgare'nin toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinin, marrubiin ve marrubenol içeriği nedeniyle vazorelaksan etki gösterdiği, verapamil ile karşılaştırılarak kanıtlanmıştır. 10 nM potasyum klorür (KCl) depolarize solüsyonu, *in vitro* olarak farelerin aortik halkalarında kasılma oluşturularak, marrubiin, marrubenol ve referans bileşik olarak verapamil'in

(kalsiyum kanal blokörü) etkileri ölçülmüştür. Verpamil'den sonra, marrubiin ve en az marrubenol'ün aortik kasılmaları inhibe ettiği izlenmiştir [87].

Antihipertansif etki

M. vulgare sulu ekstresinin hipotansif etkisi spontan olarak hipertansif sıçanlarda ve normotensif Wistar-Kyoto sıçanlarda incelenmiştir. *M. vulgare* sulu ekstresinin oral yolla uygulaması sonrasında, spontan olarak hipertansif sıçanların sistolik kan basıncında azalma görülmüştür. Spontan olarak hipertansif sıçanlarda sulu ekstre su, sodyum ve potasyum atılımını arttırmamış, *ex vivo* ve *in vitro* olarak noradrenalin ve KCl'e (100 nM) karşı sıçan aortasının kontraktıl cevaplarını inhibe etmiştir. İnhibisyon spontan olarak hipertansif sıçanlarda daha fazla gözlenmiştir. Sonuçlar *M. vulgare* sulu ekstresinin vasküler relaksan aktivite üzerinden hipotansif etki gösterdiği sonucuna işaret etmiştir [88].

M. vulgare sulu ekstresinin 10 hafta süreyle *ex vivo*, amlodipin ile karşılaştırılarak spontan olarak hipertansif sıçanların damarlarındaki genişleme ve sistolik kan basıncını düşürücü etkileri incelenmiştir. *M. vulgare* sulu ekstresi ve refrans maddenin her ikisi de sistolik kan basıncını düşürmüştür. Amlodipin, sol ventrikül, aorta ve mezenterik arterin ağırlığında azalma yaparken, sulu ekstre sadece aortada antihipertrofik etki göstermiştir. Mezenterik arterin asetikolin'e relaksasyonu *M. vulgare* ekstresi ile artmıştır. Sonuç olarak, *M. vulgare* sulu ekstresinin sistolik kan basıncını amlodipin'e yakın oranda düşürdüğü ve hipertansiyona bağlı endotel fonksiyon bozukluklarında iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir [24].

Antidiyabetik etki

Boudjelal, Henchiri, Siracusa, Sari ve Ruberto (2012), *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu ekstresinin, Wistar albino sıçanlar üzerinde *in vivo* antidiyabetik aktivitesini test etmiştir. Sıçanlarda intraperitoneal alloxan enjekte edilerek diyabet oluşturulmuştur. Diyabet oluşumu gözlenen sıçanlara, 15 gün süreyle 2 gün aralıklarla, *M. vulgare* sulu ekstresinin farklı dozları (100, 200 ve 300 mg/kg) ve referans madde olarak glibenklamid (5 mg/kg) uygulanmıştır. Oral yolla 200 ve 300 mg/kg dozlarda uygulanan *M. vulgare* ekstreleri ile anlamlı antidiyabetik ve hiperlipidemik etki

gözlenmiştir. Bu etkinin *M. vulgare* sulu ekstresinin flavonoidler ve verbaskozit türevleri bakımından zengin olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir [23].

Antispazmodik etki

M. vulgare 'nin kök ve toprak üstü kısımlarının sulu alkollü ekstrelerinin *in vitro* olarak düz kaslar üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Ekstrelerin asetilkolin, bradikinin, prostaglandin E₂, histamin ve oksitosin gibi bazı nörotransmitterlerin etkisini inhibe ettiği belirlenmiştir. Kolinerjik kasılmaların selektif inhibisyonu ile bağırsak geçişlerinde, kan damar akışlarında, kardiyak kaslarda ve bronş düz kaslardaki antispazmodik aktivite kanıtlanmıştır [29].

Antimikrobiyal etki

Muğla civarında halk arasında soğuk algınlığı, öksürük gibi solunum sistemi rahatsızlıklarında kullanılan *M. vulgare* çiçekli evresinde toplanmış ve bitkinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin disk difüzyon metodu ile çeşitli test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi antibiyotik diskler (penisilin, ampicilin, amoksisilin+klavulanik asit, imipenem, sefaperazon, metisilin, oksasilin, gentamisin ve nistatin) ile karşılaştırılarak incelenmiştir. *M. vulgare* etanol ekstresinin incelenen Gram-pozitif bakteriler (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*), Gram-negatif bakteriler (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseomonas luteola*) ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermediği görülmüştür [89].

Başka bir çalışmada, Hindistan'dan toplanan *M. vulgare* bitkisinin metanollü ekstresinin *in vitro* antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemi ile çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı test edilmiştir. Bu çalışmada, metanollü ekstrenin (50, 100, 200, 400 ve 600 mg/mL dozlarında) Gram-pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* ve *S. aureus*'a karşı çok etkili, Gram-negatif bakterilerden *Proteus vulgaris* ve *Escherichia coli*'ye karşı kısmen etkili ve diğer bir Gram-negatif bakteri *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı ise etkisiz olduğu bulunmuştur [90].

Yapılan diğ er bir çalışmada, *M. vulgare* metanol ve su ekstresinin rinit, otit, sin z t ve farenjit gibi hastalıkların etkeni olan *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Bitkinin metanol ekstresinin 256  g/mL minimum inhibitör konsantrasyon (M K) değeri ile önemli derecede antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [91]. *M. vulgare*'nin yaprak, gövde ve çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstr lerin, su distilasyonu sonrasında kalan suyun ve elde edilen uçucu yağların bal arılarında görülen American Foulbrood hastalığına sebep olan *Paenibacillus larvae* bakterisinin çoğalması üzerine inhibitör etkisi disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Su distilasyonu sonrası kalan suyun *P. larvae*'nin çoğalması üzerine yüksek inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Uçucu yağ daha düşük inhibitör etkide belirlenmiştir [92].

Zarai ve diğerleri (2011) tarafından Tunus'tan toplanan *M. vulgare* bitkisinin halk arasında antiseptik olarak kullanımının doğrulanması amacıyla yapılan bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. 12 farklı patojen bakteri ve 4 farklı mantar türüne karşı antimikrobiyal etki, agar disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, uçucu yağın özellikle Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*) karşı 6,6-25,2 mm aralığında inhibisyon zonu ve 1120-2600  g/mL aralığında M K değerleri ile güçlü bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu, Gram-negatif bakterilere (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Salmonella* sp.) karşı ise yüksek direnç gösterdiği bulunmuştur. Test edilen funguslar (*Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Penicillium digitatum* ve *Aspergillus niger*) arasında ise 12,6 mm inhibisyon zonu ile *B. cinerea*'ye karşı en güçlü antifungal etki gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, *M. vulgare* uçucu yağının bazı Gram-pozitif patojenik bakteriler ve *B. cinerea*'ye karşı potent antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [25].

M. vulgare bitkisinin taze yapraklarından hazırlanan metanollü ekstr lerin (25-200 mg/mL konsantrasyon aralığında)  riner sistem hastane enfeksiyonu ve cerrahi alan enfeksiyonlarından izole edilen çok dirençli 7 farklı bakteri türüne karşı antimikrobiyal etkileri, agar disk difüzyon ve mikrodilüsyon metodları ile test edilmiştir. Bunlardan ikisi Gram-pozitif bakteri olan metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve beşi de geniş spektrumlu beta laktamaz üreten Gram-negatif bakterilerdir (*Escherichia coli*, *Proteus*

vulgaris, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinobacter baumannii*). Metanol ekstreleri disk difüzyon yönteminde metisilin dirençli *S. aureus*'a karşı 7,5-15 mm inhibisyon zonu ile en güçlü antibakteriyel etkide görülürken, *A. baumannii* (8,5-14 mm) ve *P. aeruginosa*'ya (7-13 mm) karşı diğerlerine göre daha güçlü antibakteriyel etkide bulunmuştur. Mikrodilüsyon yöntemi ile metanollü ekstrelerin MİK değerleri hesaplanmıştır. Metanollü ekstreler metisilin dirençli *S. aureus* ve *A. baumannii*'ye karşı 100 mg/mL konsantrasyonda yüksek aktivite gösterirken; *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris* ve *P. aeruginosa*'ya karşı ise 200 mg/mL konsantrasyonda daha duyarlı bulunmuştur. Bu çalışmayla, *M. vulgare*'nin Gram-pozitif bakterilere, Gram-negatif bakterilerden daha etkili olduğu desteklenmiştir [27].

Cezayir'in kuzeydoğu bölgesinden toplanan *M. vulgare* bitkisinin yapraklarından hazırlanan metanollü ekstrelerin agar disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile Gram-pozitif bakteri *Staphylococcus aureus* ve Gram-negatif bakteri *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etkileri test edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, ekstre *E.coli*'ye 18,5 mm ve *S. aureus*'a 15,5 mm inhibisyon zonları ile antibakteriyel etkide bulunmuştur [93].

Tunus'un farklı bölgelerinden toplanan *M. vulgare* bitkisinden elde edilen uçucu yağların, 3 Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecium*), 3 Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve 1 patojenik maya (*Candida albicans*) üzerindeki antimikrobiyal etkileri agar disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, ölçülen inhibisyon zonları ve hesaplanan MİK değerleri, uçucu yağların incelenen tüm bakteriler ve maya türüne karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır. Gram-pozitif bakterilere karşı, 10-15 mm aralığında inhibisyon değerleri ile güçlü inhibitör etki görülmüştür. Gram-negatif bakterilere karşı daha düşük inhibitör etki (*E. coli*'ye karşı 7-8 mm, *S. typhimurium* ve *P. aeruginosa*'ya karşı 7-9 mm inhibisyon değerleri) gözlenmiştir [54].

Bouterfas ve diğerleri (2018), Cezayir'in kuzeybatısında üç farklı bölgeden topladıkları *M. vulgare*'nin yapraklarından hazırladıkları farklı polaritelerdeki ekstrelerin bazı patojenik bakterilere karşı (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus* ve *Proteus mirabilis*) antibakteriyel aktivitelerini disk difüzyon metodu kullanılarak incelemiştir. Ham ekstre, hekzan ekstresi, kloroform ve etil asetat ekstreleri ve kalan su ekstresi, dimetil formamid içerisinde çözülerek farklı konsantrasyonlarda (20-100 µg/mL) bazı patojenik bakterilere karşı (*Escherichia coli*,

Bacillus cereus ve *Proteus mirabilis*) test edilmiştir. Ekstreler, 25-100 µg/mL aralığında MİK değerleri ile yüksek antibakteriyel etkide bulunmuştur. Gram-pozitif bakterilerde, Gram-negatif bakterilere göre daha yüksek inhibisyon gözlenmiştir [26].

Yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları, genel olarak Gram-pozitif bakterilerin Gram-negatif bakterilere göre uçucu yağlara daha duyarlı olduğunu göstermiştir [94]. Gram-negatif bakterilerin dış membranındaki geçirgen bariyerin, antimikrobiyal ajanların hedef bölgeye ulaşmalarını kısıtlayarak daha dirençli olmalarını sağladığı bildirilmiştir [26,54]. Yapılan çalışmalar, *M. vulgare*'den elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesinin, ana bileşenlerin (γ -ödesmol, β -sitronellol, sitronellil format ve germakren D) additif, sinerjik ya da antagonistik etkilerinden dolayı olabileceğini göstermiştir. Uçucu yağların öjenol, karvakrol gibi fenolik bileşikler bakımından zengin olmasının da antimikrobiyal aktiviteyi desteklediği düşünülmüştür [25,94]. Ayrıca *M. vulgare* uçucu yağının bileşiminde ana bileşenler olarak bulunan karyofillen ve germakren D'nin yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu [95], yağın içeriğindeki terpenler yanında tanenler gibi aktif bileşiklerin de antibakteriyel etki gösterdiği [91] bildirilmiştir.

Antibiyofilm etki

Cassandra ve diğerleri (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. vulgare*'nin kurutulmuş yaprak, gövde ve çiçeklerinden hazırlanan su ve etanol ekstrelerinin metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'da biyofilm oluşturma ve çoğalmayı inhibe edici etkisi test edilmiştir. Antibiyofilm aktivite, ekstrelerin 8-512 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarında MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerinin mikrodilüsyon broth metodu kullanılması ile 18 saatlik süre sonunda ölçülmüştür. Ayrıca, ekstrelerin 8-512 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarında 40 saat gelişim sonrasında %50 inhibisyon gösteren doz (IC₅₀) ölçülmüş ve köklerin etanol ekstresinin düşük konsantrasyonlarda biyofilm oluşumunu engellediği (IC₅₀=8 µg/mL ve IC₉₀=128 µg/mL) bulunmuştur. Maksimum biyofilm engelleyici etki, %31 oranıyla 128 µg/mL konsantrasyonda görülmüştür [28].

Antioksidan etki

Kadri ve diğerleri (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. vulgare*'nin topraküstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın antioksidan kapasitesini 1,1-

difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü test, β -karoten beyazlatma metodu ve redükleyici gücün tayini ile tespit etmiştir. DPPH radikal süpürücü etkisi sentetik antioksidan butil hidroksi toluen (BHT) ile karşılaştırılmıştır. *M. vulgare* uçucu yağının sentetik antioksidan BHT'ye göre yaklaşık 2 kat yüksek antioksidan etkisi ($IC_{50}=74 \mu\text{g/mL}$) tespit edilmiştir. β -Karoten beyazlatma metodu ile *M. vulgare* uçucu yağının, BHT'ye ($IC_{50}=20,30 \mu\text{g/mL}$) göre daha düşük antioksidan aktivite ($IC_{50}=36,30 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği, bununla birlikte lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. *M. vulgare* uçucu yağının Fe^{3+} iyonunun redüklenerek Fe^{2+} formuna dönüşmesi ile ölçülen demir redükleyici gücü sentetik antioksidan BHT ile karşılaştırılmıştır. *M. vulgare* uçucu yağının $70 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda sentetik antioksidan BHT'ye ($1,05\pm 0,01$) göre daha düşük antioksidan aktivite ($0,45\pm 0,032$) gösterdiği kanıtlanmıştır. Çalışmanın sonucunda, uçucu yağın, doğal kaynaklı antioksidanlar için etkili bir kaynak ve besinler için koruyucu olabileceği düşünülmüştür [17].

M. vulgare'nin yapraklarından hazırlanan aseton, deodorize aseton ve deodorize su ekstralarının antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. 80°C 'de kanola yağı içinde (*Brassica napus* L.), yüksek antioksidan içeriğe sahip adaçayının (*Salvia officinalis* L.) aseton ve deodorize aseton ekstraları ile antioksidan etkileri karşılaştırılmıştır. Ağırlık artışı metodu, peroksit değerinin tayini ve ultraviyole absorbans testleri sonucunda, *M. vulgare*'nin aseton ve deodorize aseton ekstralarının antioksidan aktiviteleri, *S. officinalis* aseton ve deodorize aseton ekstraları ile karşılaştırılabilir seviyelerde yüksek bulunmuş, deodorize su ekstresinde ise anlamlı bir aktivite gözlenmemiştir. Her iki bitkinin de aseton ekstraları deodorize aseton ekstresinden daha yüksek antioksidan özellikte belirlenmiştir [18].

M. vulgare'nin taze toprak üstü kısımlarından hazırlanan aseton ekstresinin (250 , 500 ve $1000 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında) antioksidan etkisi, DPPH radikal süpürücü aktivite testi, Fe^{+2} ferrozin testi ve demir indirgenme antioksidan kapasite analizi (FRAP) ile tespit edilmiştir. *M. vulgare* aseton ekstresi $1000 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda $82,48\pm 1,25$ inhibisyon değeri ile demir iyonuna karşı yüksek şelasyon kapasitesi göstermiş, $1,522\pm 0,036$ FRAP değeri ile de antioksidan etkisi kanıtlanmıştır. *M. vulgare*'nin diterpenler (marrubiin, marrubenol), feniletanoitler (marrubozid) ve flavon türevlerinden zengin içeriğinin, demir iyonu ile şelasyon kapasitesi ve FRAP testleri sonucunda kanıtlanan antioksidan etkisinden sorumlu olduğu düşünülmüştür [96].

Litvanya'dan toplanan *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol-su ekstresinin, butanol ve metil *ter*-butil eter fraksiyonlarının on line DPPH ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal süpürücü kapasitesi HPLC metodu kullanılarak araştırılmıştır. Radikal süpürücü aktivite tespit edilen fraksiyonlardan çeşitli kademeler sonrasında 5 aktif bileşik [5,6-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavon (ladanein), 7-*O*- β -glukopiranozil luteolin, 7-*O*- β -glukuronil luteolin, verbaskozit ve forsitozit B] izole edilmiş ve bu bileşiklerin off line DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktiviteleri referans maddeler (rozmarinik asit ve troloks) ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. ABTS testinde, verbaskozit ve forsitozit B'in yapılarındaki aglikon kısımlarının benzerliği nedeniyle rozmarinik asit'e benzer bir etki gösterdiği bulunmuştur. DPPH testinde ise rozmarinik asit, verbaskozit ve forsitozit B'den üç kat daha etkili bulunmuştur. ABTS testinde luteolin glikozitlerinin etkisi aglikon yapılarının aynı olmasından dolayı benzerlik gösterirken, DPPH testinde 7-*O*- β -glukuronil luteolin'in etkisi glukopiranozil analogundan iki kat yüksek ve rozmarinik asit'e çok yakın bulunmuştur [19].

Cezayir'den toplanan *M. vulgare*'nin yapraklarından hazırlanan metanol ve aseton ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi, hidrojen peroksit'e karşı süpürücü etkisi, total antioksidan kapasitesi ve demir redükleyici gücü ölçülerek antioksidan aktivite potansiyeli değerlendirilmiştir. Ekstrelerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite değerleri vitamin E, butil hidroksi anisol (BHA), rutin ve kateşin ile karşılaştırılmış, metanol ekstresinin %52,53 ve aseton ekstresinin %51,90 değerleri ile DPPH radikalini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu etkinin ekstrelerde yüksek oranda bulunan feniletanoit glikozitleri ve flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Tek başına tehlikeli olmayan hidrojen peroksit, hücre içinde hidroksil radikale dönüşebilmektedir. Hidrojen peroksitin süpürücü değeri *M. vulgare*'nin metanol ekstresi için %59,73 bulunurken, aseton ekstresinin değeri belirlenememiştir. Rutin'in süpürücü etkisi (%13,8) ile karşılaştırıldığında daha yüksek, BHA (%66,10) ve vitamin E'ye (%65,38) yakın aktivite göstermiştir. Yaprakların metanol ekstresinin total antioksidan kapasitesi (101,82 mg/g), aseton ekstresine (85,71 mg/g) göre daha yüksek bulunmuştur. Metanol ekstresinin daha yüksek oranda flavonoid ve tanen içeriğinin aktiviteyi arttırabileceği bildirilmiştir. Ekstrelerin demir redükleyici güçleri konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. Bu etkinin, bitkide bulunan, serbest radikalleri daha stabil hale getirerek radikal zincir reaksiyonlarını durduran antioksidan etkili flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülmüştür [68].

Diğer bir çalışmada, *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol, etil asetat ve kalan su fraksiyonlarının DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi incelenmiştir. Etil asetat fraksiyonunun DPPH süpürücü potansiyeli ($92,4 \pm 7,3 \mu\text{g/mL}$), etanol ($118,2 \pm 5,7 \mu\text{g/mL}$) ve kalan su fraksiyonlarının ($105,78 \pm 5,7 \mu\text{g/mL}$) potansiyellerine göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Etil asetat fraksiyonunun $68,98$ - $118,15 \mu\text{g/mL}$ aralığındaki %50 inhibisyon gösteren konsantrasyon (IC_{50}) değeri ile de yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Serbest radikallerin zincir reaksiyonları ve oksidasyonlarını geciktirerek ya da engelleyerek gösterdikleri antioksidan etkinin, flavonoid ve fenolik asit içeriklerinden kaynaklanmakta olduğu düşünülmüştür [67].

Yapılan çalışmalarda, *M. vulgare* uçucu yağlarının antioksidan aktivitesinin yapısında bulunan hidroksilli bileşiklerin etkileşiminden ya da oksijen içeren bileşiklerin sinerjik etkisinden kaynaklandığı düşünülmüştür [17]. Tanenler, flavonoidler, timol, karvakrol ve öjenol gibi fenolik bileşikler antioksidan aktivitede en etkili bileşikler olarak belirlenmiştir [18,93,97].

Kolinesteraz inhibitör etki

M. vulgare'nin taze toprak üstü kısımlarından hazırlanan aseton ekstresinin asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraza karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Aseton ekstresinin 25, 50 ve $100 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında sırasıyla $62,70 \pm 1,33$, $67,53 \pm 1,95$ ve $76,30 \pm 0,18$ inhibisyon değerleri ile asetilkolinesteraza; 25 ve $50 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında ise sırasıyla $55,68 \pm 1,25$ ve $83,51 \pm 1,27$ inhibisyon değerleri ile bütirilkolinesteraza karşı yüksek inhibitör etkisi kanıtlanmıştır. Aseton ekstresinin içeriğindeki öjenol'den dolayı bütirilkolinesteraza karşı güçlü inhibitör etki gösterdiği düşünülmüştür [96].

Sitotoksik etki

M. vulgare uçucu yağının insan servikal kanser hücre hattına (HeLa) karşı *in vitro* sitotoksik etkisi, kolorimetrik yöntemle, bir tetrazolium boyası olan 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) ile test edilmiştir. Uçucu yağın çeşitli konsantrasyonlarda ($3,91$ - $3000 \mu\text{g/mL}$) HeLa hücrelerinin canlılık oranları üzerine etkisi, uçucu yağ konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalmıştır. Uçucu yağın $250 \mu\text{g/mL}$

konsantrasyonunda HeLa hücreleri %27 oranında zarar görürken, 500 µg/mL üzerindeki konsantrasyonlarda tüm hücreler tahrip olmuştur. Uçucu yağın HeLa hücrelerinin proliferasyonunu 0,258 µg/mL IC₅₀ değeri ile inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *M. vulgare* uçucu yağının HeLa hücrelerine karşı yüksek sitotoksik etki gösterdiği, etkiden de seskiterpenlerin sorumlu olabileceği düşünülmüştür [25].

M. vulgare'nin tüm kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi ve bu ekstrenin hekzan, kloroform, etil asetat ve *n*-butanol fraksiyonlarının MTT testi ile Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücre kültürü (Vero) üzerinde sitotoksik aktivitesi test edilmiştir. IC₅₀ değerleri ham ekstre için 90 µg/mL, hekzan fraksiyonu için 140 µg/mL ve kloroform fraksiyonu için 140 µg/mL olarak bulunmuş, etil asetat ve *n*-butanol fraksiyonlarında inhibisyon görülmemiştir. Çalışma sonucunda, *M. vulgare*'den hazırlanan örneklerin Vero hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir [98].

M. vulgare'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan hekzan ve metanol esktreleri ile metanol ekstresinin diklorometan ve etil asetat fraksiyonlarının, solid ve hematolojik kanser orijinli hücre tiplerini içeren insan kanser hücre hattı panelinde *in vitro* sitotoksik etkileri incelenmiştir. *M. vulgare* diklorometan fraksiyonunun kolorektal kanser hücre hattı (SW620) üzerinde %33,11 canlılık ve 10,58±4,37 IC₅₀ değeri ile belirgin sitotoksik etkisi tespit edilmiştir. Bununla birlikte diklorometan fraksiyonunun akut T-lösemi hücrelerine (Jurkat) 11,54±2,83 ve non-Hodgkin lenfoma hücrelerine (Jeko-1) karşı 6,04±2,77 IC₅₀ değerleri ve %6'dan az canlılık oranları ile yüksek sitotoksik etkisi kanıtlanmıştır. Glioblastoma (LN229), glioblastomamultiforme (T98G), glioblastoma (U87MG), kolorektal adenokarsinoma (SW480), prostat adenokarsinoma (PC-3), osteosarkoma (U2OS) ve normal, embriyonik fibroblast (NIH3T3) hücrelerine karşı ise etkili bulunmamıştır [32].

Paunovic ve diğerleri (2016), *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin *in vitro* antimelanoma ve antiglioma etkilerini test etmiştir. Kristal viyole, MTT ve laktaz dehidrogenaz testleri ile etanol ekstresinin doza bağlı olarak melanoma (B16) ve glioma (U252) hücrelerinin canlılık oranlarını azalttığı tespit edilmiş, IC₅₀ değerleri ortalama 120 µg/mL bulunmuştur. Çalışma sonucunda, bitkinin B16 ve U251 hücre hattı üzerinde güçlü sitotoksik etkisi kanıtlanmıştır [31].

Son zamanlarda Okur, Karakaş, Karadağ, Yılmaz ve Demirci (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstralarının glioblastoma multiforme hücre hatları (U87, LN229 ve T98G) üzerinde *in vitro* sitotoksik aktiviteleri % canlılık değerleri ölçülerek araştırılmıştır. Hücre hatlarına etki glioblastoma multiforme'nin standart tedavisinde kemoterapötik ilaç olarak kullanılan temozolomid ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, *M. vulgare* ekstresi U87 hücre hattı üzerinde %69,9 ($p = 0,0081$), LN229 hücre hattı üzerinde %71 ($p = 0,028$) hücre canlılığına sebep olarak belirgin sitotoksik aktivite göstermiştir. IC_{50} Değerleri U87 hücre hattı için 270,3 μ M, LN229 için 343,9 μ M olarak bulunmuştur. T98G hücre hattı için hücre canlılığında belirgin düşüş gözlenmemekle birlikte, IC_{50} değeri 336,6 μ M olarak tespit edilmiştir [30].

Yine son yıllarda Kozyra ve diğerleri (2019) tarafından yapılan başka bir çalışmada, *M. vulgare*'nin çiçekli kısımlarının metanollü ekstresi ve bu ekstreten hazırlanan 3 polifenolik fraksiyonu (nonhidrolize, asidik ve alkalın hidroliz fraksiyonları) MTT testi ile insan melanoma kanser hücre hattı (A375) ve normal insan cilt fibroblastları (BJ) üzerindeki sitotoksik etkileri bakımından araştırılmıştır. Triton X-100 pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sadece nonhidrolize fenolik asit fraksiyonu A375 kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermiş ($IC_{50}=74,16 \mu\text{g/mL}$), normal fibroblast hücrelerini etkilememiştir. Asidik ve alkalın hidrolizleri sonucunda elde edilen fraksiyonlarda aktivitenin görülmemesi, fenolik bileşiklerin esterleşmiş formlarının sitotoksik etkiye sebep olduğu şeklinde değerlendirilmiştir [99].

M. vulgare yapraklarının metanol ekstresinin antiproliferatif etkisinin incelendiği bir çalışmada, ekstrenin pro-apoptotik nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar ile aktive edilmiş gen (NAG-1)'de fonksiyonel reseptör artışı ile hücre çoğalmasını baskıladığı ve bu yolla apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. *M. vulgare* yapraklarının apoptoz ve hücre döngüsü düzenleyici gen üzerindeki etkisi Western blot analiz yöntemi ile araştırılmıştır. Kolorektal adenokarsinom hücreleri (HCT-116), 10 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ *M. vulgare* ekstresi ile 24 saat muamele edilmiştir. Proapoptotik protein NAG-1, ekstrenin 100 $\mu\text{g/mL}$ 'ye ulaşması ile artmıştır. Bu kemopreventif etkinin *M. vulgare*'nin yapraklarında bulunan marrubiin ve marrubenol gibi diterpenoitlerden kaynaklandığı düşünülmüştür [100].

Gastroprotektif etki

Oliveira ve diğerkleri (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, *M. vulgare* yapraklarının metanol ekstresi ve yapraklarından elde edilen diterpen yapıda marrubiin'in *in vivo* gastroprotektif etkileri fareler üzerinde incelenmiştir. Etanolle indüklenen ülser modelinde, tüm parametlerde belirgin azalma gözlenmiş, iyileştirme oranları metanol ekstresi için 50 mg/kg dozda $49,31 \pm 0,57$, 100 mg/kg dozda $74,31 \pm 0,91$ ve referans madde omeprazol için 30 mg/kg dozda $79,86 \pm 0,59$ olarak bulunmuştur. İndometazin'le indüklenen ülser modelinde ise, ülser inhibisyon yüzdeleri metanol ekstresinin 50 ve 100 mg/kg dozları için sırasıyla $66,24 \pm 4,30$ ve $82,17 \pm 4,09$; pozitif kontrol grubu 30 mg/kg simetidin için $67,52 \pm 4,38$ olarak hesaplanmıştır. Her iki modelde de marrubiin (25 mg/kg) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm parametrelerde belirgin düşüşler sağlamıştır ($p < 0,01$). Ayrıca *M. vulgare* ekstreleri ve marrubiin pH ve mukus oluşumunda belirgin artış sağlamıştır [33].

2.3.3. Etki ve kullanılış

Dahili kullanılış

Marrubii herba şişkinlik ve gaz gibi dispeptik şikayetlerde ve iştah kaybında kullanılmaktadır [3,4,14]. Acı bileşikleri nedeniyle tonik etkisinden dolayı, iştahı arttırmakta ve mide fonksiyonlarını desteklemektedir [50]. Marrubiin'in lakton halkasının açılması ile oluşan marrubiinik asit'in koloretik etkisinden dolayı safra kesesi ve karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır [4].

Marrubiin ve uçucu yağ içeriğinden dolayı, solunum yolları mukozasında salgı stimölasyonunu sağlayarak ekspektoran etki göstermektedir. Ekspektoran etkisi nedeniyle akut bronşit, kuru öksürük ve solunum yolları rahatsızlıklarında kullanılmaktadır [4,15].

Antispazmodik ve uyarıcı etkileri için çay olarak kullanılmakta, baş ağrısı üzerinde de etki göstermektedir [38].

M. vulgare, kalp ritmini normalize etmekte ve düzenlemektedir [50].

Harici kullanılış

Haricen taze yaprakları lapa şeklinde yara ve kesikler üzerinde kullanılmaktadır [101].

2.3.4. Veriliş yolları ve dozu

M. vulgare'nin taze toprak üstü kısımları ve kurutulmuş çiçekli dallarından değişik hazırlama şekilleri birçok farmakope, kodeks, monograf ve kitaplarda yer almaktadır.

Maserasyon: şişkinlik ve gaz gibi dispeptik şikayetler ve solunum yolları rahatsızlıklarında, taze Marrubii herba'dan hazırlanan (1:0,70-0,90) maserat yetişkinlerde ve 12 yaş üzeri çocuklarda, dahilen günde 3 kez 10-20 mL [14] veya 2-6 yemek kaşığı [16], ya da 30-60 mL [3] önerilmektedir.

İnfüzyon: 1-2 g drog üzerine kaynar su eklenip 5-10 dak bekletilip süzülmesi ile hazırlanan infüzyonu, ekspektoran etki için günde 3 kez kullanılır [3,4,6,14,16]. Koleretik etki için, hazırlanan çay yemeklerden 30 dk önce içilmelidir [16]. Başka şekilde tarif edilmediği sürece, drog için günlük doz 4,5 g olarak belirtilmiştir [4,14,16].

Sıvı ekstresi: %20 Etanol ile seyreltilerek hazırlanan (1:1) sıvı ekstresi ise günde 3 kez 2-4 ml dozlarda kullanılır [3,6]. Solunum yollarında sekretolitik etki için, Marrubii herba'dan %30 etanol (v/v) kullanılarak hazırlanan (1:0,9-1,1) sıvı ekstre dahilen günde 3 kez 1,5-2 mL önerilmektedir [14].

Homeopatik kullanımı: Dahilen, akut durumlarda 30-60 dakikada 1 kez, kronik durumlarda günde 1-3 kez 5 damla, 1 tablet ya da 10 globül kullanılır. Parenteral olarak, akut durumlarda günde 3 kez, kronik durumlarda günde 1 kez 1-2 mL (subkutan) kullanılır [3].

2.3.5. Preparatları

Preparatlarda *M. vulgare* bitkisinin çay olarak hazırlanan preparatlarının yanısıra damla, tentür, kapsül ve şeker formları da piyasada satışa sunulmuştur.

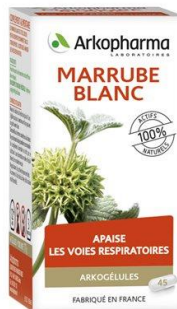
Türkiye'de prospektüsünde endikasyon belirtilerek satılan preparatı bulunmamaktadır. Yurtdışındaki preparatlarından bazı örnekler aşağıda verilmiştir (Resim 2.2).



ABD



Şili



Fransa



Kolombiya

Resim 2.2. *Marrubium vulgare*'nin yurtdışında bulunan bazı preparatları [102-109]

2.3.6. İlaç etkileşimi ve diğer etkileşimler

Diyabetik hastalarda, orta şiddette gastrointestinal reaksiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir [14].

2.3.7. Uyarılar ve advers etkiler

Lamiaceae familyasının diğer bitkilerine hassasiyeti olan kişilerde, safra kanalı ve bağırsak tıkanıklıkları ile kolanjit ve karaciğer hastalığı olan kişilerde kullanılmamalıdır. Safra taşı, aktif peptik ülser ve diğer safra rahatsızlıklarında dikkatli kullanılmalıdır. 12 yaşın altındaki çocuklarda yeterli veri bulunmadığı için kullanımı tavsiye edilmemektedir [14].

M. vulgare 'nin bitki suyu tahriş edici madde içeriğinden dolayı, kontakt dermatite sebep olabilmektedir [6,101]. Hayvanlar üzerinde kardiyookatif özellikleri ve 5-hidroksitriptamin üzerine antagonize edici etkisi kanıtlanmıştır [6].

2.3.8. Gebelik ve laktasyon

M. vulgare, düşüğe sebep olmakta ve emanagog etkisinden dolayı menstrual döngüyü etkilemektedir. Hayvanlar üzerinde rahim uyarıcı etkisi kanıtlanmıştır. Bu nedenle hamilelikte kullanımından kaçınılmalıdır [3,6,110]. Laktasyon döneminde de aşırı kullanımından kaçınılması önerilmiştir [6].

2.3.9. Kullanım süresi

Soğuk algınlığına bağlı öksürük tedavisinde ekspektoran amaçlı kullanımda, 1 hafta kullanım sonrası semptomların devam etmesi durumunda doktor kontrolünde kullanılmalıdır. Gaz, şişkinlik gibi dispeptik şikayetlerde ve iştah kaybında ise 2 hafta kullanım sonrası semptomların devam etmesi durumunda doktor kontrolünde kullanılmalıdır [14].

2.3.10. Dikkat gerektiren işler

Herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

2.3.11. Doz aşımı

Marrubiin'in kardiyolojik ve antiaritmik etkileri olmakla birlikte, bitkinin yüksek dozlarının aritmilere sebep olduğu belirtilmiştir [6]. *M. vulgare*, yüksek dozlarda kullanıldığında, acı madde içeriğinden dolayı iştah kesilmesi ve sekretolitik etkide inhibisyon, hassas kişilerde de baş ağrısına sebep olabilmektedir [14].

2.3.12. Saklama

Herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

2.3.13. Toksisite

Bitkinin üzerinde yapılan toksisite çalışması olmamakla birlikte, fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, marrubiin'in LD₅₀ dozu 370 mg/kg olarak belirlenmiştir. Uçucu yağının *Schistosoma mansoni* ve *S. haematobium* parazitleri için büyük ölçüde toksik olduğu bildirilmiştir [6]. Bitkinin metanol ekstresinin toksik dozu 2000 mg/kg'ın üzerindedir [14].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Marrubium vulgare L. (Lamiaceae) Antalya, Çıralı, Yanartaş yolu üzerinden bitkinin çiçeklenme mevsiminde, 12 Nisan 2018 tarihinde toplanmış (Resim 3.1) herbaryum örnekleri hazırlanarak teşhisi Prof. Dr. Hayri DUMAN tarafından yapılmıştır. Herbaryum örnekleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (GAZI, herbaryum no: NK3) saklanmaktadır.



Resim 3.1. *Marrubium vulgare* L., Çıralı, Antalya (Foto: Nurgün Küçükboyacı)

3.2. Yöntem

3.2.1. Uçucu yağın elde edilmesi

M. vulgare'nin oda sıcaklığında gölgede kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları küçük parçalar halinde kesilerek, 437,89 g olarak tartılmıştır. Drog 2 L'lik cam balona konulduktan sonra üzerine 1000 mL distile su eklenerek Clevenger apareyinde 3 saat distilasyon işlemi uygulanmıştır. Süre sonunda apareyin soğuması beklenerek, uçucu yağ ölçekli kısımda

toplanmıştır (Resim 3.2). Elde edilen uçucu yağ çok az miktarda olduğundan, Clevenger aparatından *n*-hekzan ile alınarak, GC ve GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.2. Uçucu yağın Clevenger aparatı ile elde edilmesi

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

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

GC analiz koşulları

Sistem: Agilent 6890N GC

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

Taşıyıcı gaz: Helyum (0,8 mL/dak.)

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

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

Bileşiklerin relatif tutunma indislerinin (RRI) hesaplanmasında *n*-alkanlar referans olarak kullanılmıştır. Bileşiklerin uçucu yağ içerisindeki relatif oranları elde edilen kromatogramdan bilgisayar yardımı ile hesaplanmıştır. GC sisteminde kolonda ayrılan uçucu bileşiklerin her birinin GC/MS sisteminde kütle spektrumları alınarak tanımlanmıştır.

GC/MS koşulları

Sistem: Agilent 5975 GC-MSD

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

Taşıyıcı gaz: Helyum (0,8 mL/dak.)

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

Split oranı: 40:1

İyon kaynağı sıcaklığı: 250 °C

İyonizasyon enerjisi: 70eV

Kütle aralığı: 35-450 *m/z*

Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi için “Wiley GC/MS kütüphanesi (MassFinder Software 4.0)” ve “Baser Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılmıştır [111,112].

3.2.3. Uçucu yağın sitotoksik aktivite tayini

Sitotoksitenin değerlendirilmesi, yaygın olarak kullanılan, enzimatik test yöntemlerinden biri olan MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntemde, MTT canlı hücrelere aktif olarak absorbe olur ve reaksiyon mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek mavi-mor renkli, suda

çözünmeyen formazan'a indirgenir. Formazan oluşumu, yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu canlı hücrelerde görülmektedir. Bu da hücre canlılığının bir belirteci olarak kabul edilmektedir. *M. vulgare*'nin geleneksel tedavide öksürük, bronşit, solunum yolları enfeksiyonu gibi akciğer hastalıklarında kullanılması nedeniyle sitotoksitenin belirlenmesinde hedef hücreler olarak akciğer hücre hatları seçilmiştir.

Hücre kültürü

Çalışmada sitotoksitenin belirlenmesi amacı ile insan akciğer epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücresi (BEAS-2B) kullanılmıştır. Kanser hücreleri %10 FBS, %1 L-glutamin, %1 antibiyotik (penisilin–streptomisin) içeren DMEM besiyerinde, sağlıklı hücreler ise %20 FBS, %1 L-glutamin, %1 antibiyotik (penisilin–streptomisin) içeren RPMI besiyerinde 37°C'de % 5 CO₂ içeren inkübatörde T₂₅ flasklarda kültüre edilmiştir. Hücreler yeterli confluent düzeyine ulaştığında, deneye alınmadan önce tripan mavisi metodu ile canlı hücre sayımı yapılmıştır. Bu yöntemde hücreler tripsinlendikten sonra santrifüj edilmiş ve pellet 5 mL besiyeri ile resüspande edilmiştir. Resüspansiyondan 10 µL alınarak 1:1 oranında % 4'lük tripan mavisi ile karıştırılmıştır. Karışımdan 10 µL alınıp Neubauer lamına uygulanmıştır. Neubauer lamında canlı hücre sayımı yapılmıştır.

Çalışma tasarımı

M. vulgare'den elde edilen uçucu yağın sitotoksik aktivitesi, deney sisteminde son konsantrasyonu en yüksek 1000 µg/mL olacak şekilde 7 konsantrasyonda çalışılmıştır (1, 3, 10, 30, 100, 300 ve 1000 µg/mL). Uçucu yağ dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözülmüştür. Hücrelerin DMSO kaynaklı zarar görmemesi için test sisteminde %0,2 (v/v)'yi geçmemesi göz önünde bulundurulmuştur. Test sistemine negatif kontrol (besiyeri), çözücü kontrol (DMSO) ve pozitif kontrol (doksorubisin 0.3, 1, 3, 10 µg/mL) eklenmiştir. Her deney 3 kez tekrarlanmış, en az ikişer örnek olacak şekilde çalışılmıştır.

MTT testi

MTT analizi için; 96 çukurlu plakalarda her bir kuyucuğa 6000 hücre ekilmiş, %70 büyüme sağlandığında belirlenen konsantrasyonlarda uçucu yağ ve kontrollerin uygulaması

yapılmıştır. Hücreler 48 saat boyunca inkübe edilmiş, süre sonunda indüklenen hücrelerden besi yeri uzaklaştırılmıştır. Bu aşamada hücreler mikroskop altında gözle değerlendirilerek madde uygulamasına bağlı hücre değişimleri kontrol edilmiştir. Her bir çukura 200 µL yeni besiyeri ve 50 µL 1g/L konsantrasyondaki MTT çözeltisi eklenmiştir. Ardından hücreler 3 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonrası çukurlardaki karışım uzaklaştırılarak her çukura 160 µL DMSO ilave edilmiştir. Pipetaj ile oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlanarak ELISA okuyucuda 570 nm’de absorbans değerleri okunmuştur. Çözücü kontrol olarak çalışılan hücrelerin canlılığı %100 olarak alınmış, IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism programı kullanılmıştır. Hücre canlılığı değerleri % $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. Konsantrasyonlar arasındaki % hücre canlılığı değerleri tek tönü varyans analizi ile değerlendirilmiş, ileri analizler Tukey’s çoklu karşılaştırma testleri ile yapılmıştır. IC₅₀ hesaplaması doğrusal olmayan regresyon ile belirlenmiştir. P <0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Uçucu Yağın Verimi

M. vulgare'nin kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyi kullanılarak uygulanan 3 saat su distilasyonu işleminin ardından çok az miktarda, açık sarı renkte uçucu yağ elde edilmiştir.

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

M. vulgare toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın analizi Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) sistemlerinin eş zamanlı uygulanması ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1). Uçucu yağda teşhis edilen bileşikler, relatif tutunma indisleri (RRI) ve bileşiklerin yüzde (%) miktarları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, *M. vulgare* uçucu yağının 62 bileşiğe karşılık gelen %75,9'u aydınlatılmıştır. Uçucu yağın yüksek oranda seskiterpen hidrokarbon bileşikleri (%41,0) ve daha az miktarda oksijenli seskiterpen bileşiklerini (%8,9) içerdiği belirlenmiştir. Sonuçta, uçucu yağın ana bileşik olarak β -karyofillen (%25,6) taşıdığı, takiben α -humulen (%4,9), ve (*E*)-nerolidol (%4,0) içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

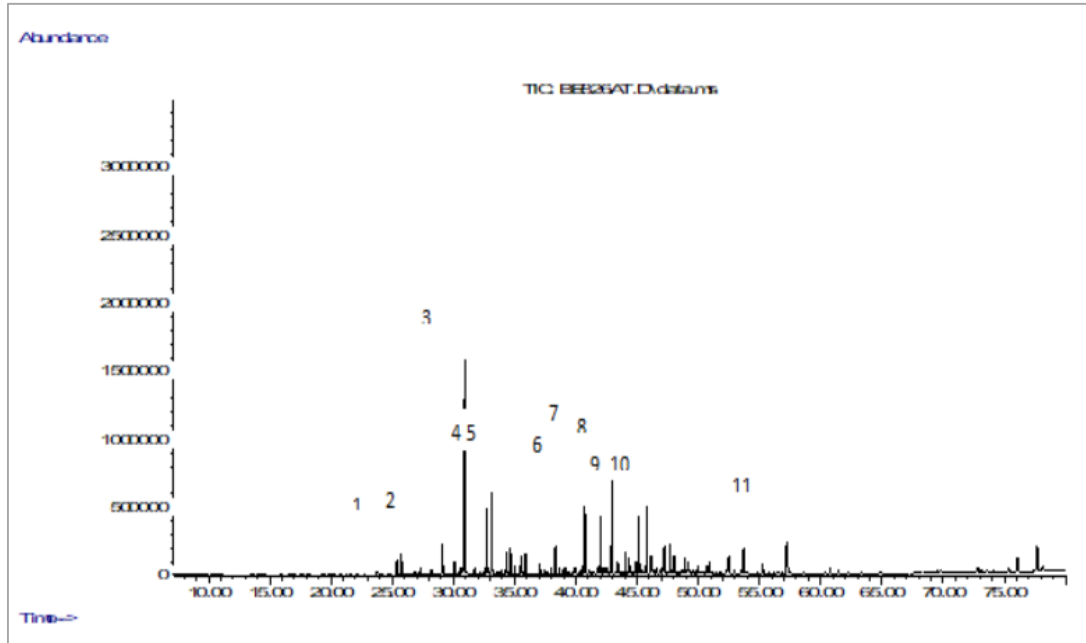
Çizelge 4.1. *Marrubium vulgare* toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi

RRI	Bileşik adı	%
1225	(Z)-3-Hekzenal	0,9
1244	Amil furan (2-Pentil furan)	0,4
1393	3-Oktanol	0,2
1400	Nonanal	0,2
1443	Dimetil tetradekan*	1,1
1452	1-Okten-3-ol	2,4
1495	Bisikloelemen	0,2
1497	α -Kopaen	0,6
1500	Pentadekan	0,2
1506	Dekanal	tr
1535	β -Borbonen	0,4
1541	Benzaldehit	0,1
1553	Linalol	2,0
1568	<i>trans</i> - α -Bergamoten	0,2
1594	<i>trans</i> - β -Bergamoten	0,2
1600	β -Elemen	0,4
1611	Terpinen-4-ol	0,2
1612	β -Karyofillen	25,6
1638	β -Siklositral	0,5
1659	β -Gurjunen	0,2
1668	(Z)- β -Farnesen	0,2
1669	Sesquisabinen	3,3
1687	α -Humulen	4,9
1695	(E)- β -Farnesen	0,1
1700	Heptadekan	0,2
1706	α -Terpineol	0,2
1722	2-Undekanol	0,6
1726	Germakren-D	1,7
1741	β -Bisabolen	1,3
1755	Bisiklogermakren	0,4
1773	δ -Kadinen	0,8
1808	Nerol	0,2
1815	2-Tridekanon	0,2
1830	β -Damaskon	0,1
1857	Geraniol	0,3
1900	Nonadekan	0,2
1958	(E)- β -iyonon	2,7
1973	Dodekanol	0,2
2008	Karyofillen oksit	2,8
2036	2-Pentadekanon	0,3

Çizelge 4.1. (devam) *Marrubium vulgare* toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi

RRI	Bileşik adı	%
2050	(E)-Nerolidol	4,0
2071	Humulen epoksit-II	0,7
2100	Heneikosan	0,8
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	2,7
2135	Benzil tiglat	0,5
2148	(Z)-3-Hekzen-1-il benzoat	2,5
2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	0,5
2186	Öjenol	1,0
2200	3,4-Dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on	0,2
2200	Dokosan	0,2
2226	Metil hekzadekanoat (=metil palmitat)	0,3
2300	Trikosan	0,6
2316	Karyofilla-2(12),6(13)-dien-5 β -ol (=Karyofilladienol I)	0,2
2324	Karyofilla-2(12),6(13)-dien-5 α -ol (=Karyofilladienol II)	0,6
2384	Farnesil aseton	0,5
2389	Karyofilla-2(12),6-dien-5 α -ol (=Karyofillenol I)	0,4
2392	Karyofilla-2(12),6-dien-5 β -ol (=Karyofillenol II)	0,2
2431	Metil oktadekanoat (=Metil stearat)	0,3
2456	(Z)-9-Metil oktadekanoat (=Metil oleat)	0,2
2509	(Z,Z)-9,12-Metil oktadekadienoat (=Metil linoleat)	0,1
2524	Abietatrien	0,2
2622	Fitol	2,5
	Oksijenli Monoterpenler	3,9
	Seskitерpen Hidrokarbonlar	41,0
	Oksijenli Seskitерpenler	8,9
	Diterpenler	2,7
	Yağ asitleri+esterler	0,9
	Diğerleri	18,5
	Toplam	75,9

RRI: *n*-alkanlar kullanılarak hesaplanan relatif tutunma indisleri; % : FID verisinden hesaplanmıştır;
tr: Eser miktar (< 0.1 %); * İzomer tanımlanamadı.



Şekil 4.1. *Marrubium vulgare* uçucu yağının kromatogramı

Ana bileşenler; **1:** 1-Okten-3-ol; **2:** Linalol; **3:** β -Karyofillen; **4:** Seskisabinen; **5:** α -Humulen; **6:** (*E*)- β -İyonon; **7:** Karyofillen oksit; **8:** (*E*)-Nerolidol; **9:** Hekzahidrofarnesil aseton; **10:** (*Z*)-3-Hekzen-1-il benzoat; **11:** Fitol

4.3. Sitotoksik Aktivite Sonuçları

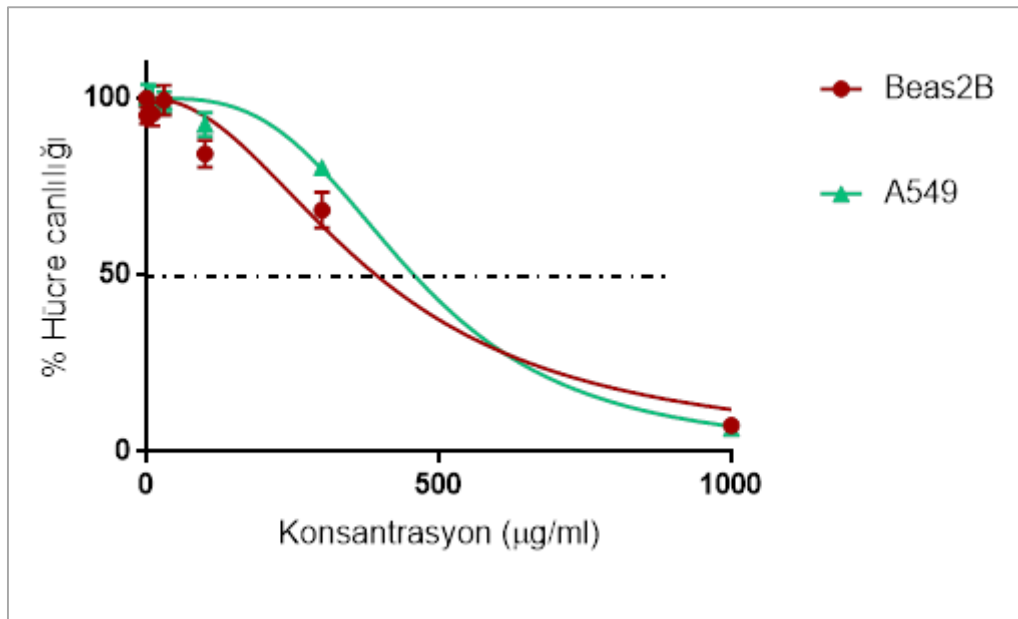
Çalışmada *M. vulgare*'den elde edilen uçucu yağın 1-1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda BEAS-2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulama yapılması sonucu gözlenen hücre canlılığındaki değişimler Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Uçucu yağ, BEAS-2B hücresinde 300 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik aktivite göstererek hücre canlılığını %68,32 değerine düşürmüştür, ancak hem biyolojik olarak hem de istatistiksel olarak anlamlılık 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda (%7,45) gözlenmiştir ($p < 0,05$). A549 hücresi için ise, 300 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik aktivite %80,45 olarak belirlenirken, hem biyolojik olarak hem de istatistiksel olarak anlamlılık 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda (%6,58) ortaya çıkmıştır ($p < 0,05$).

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

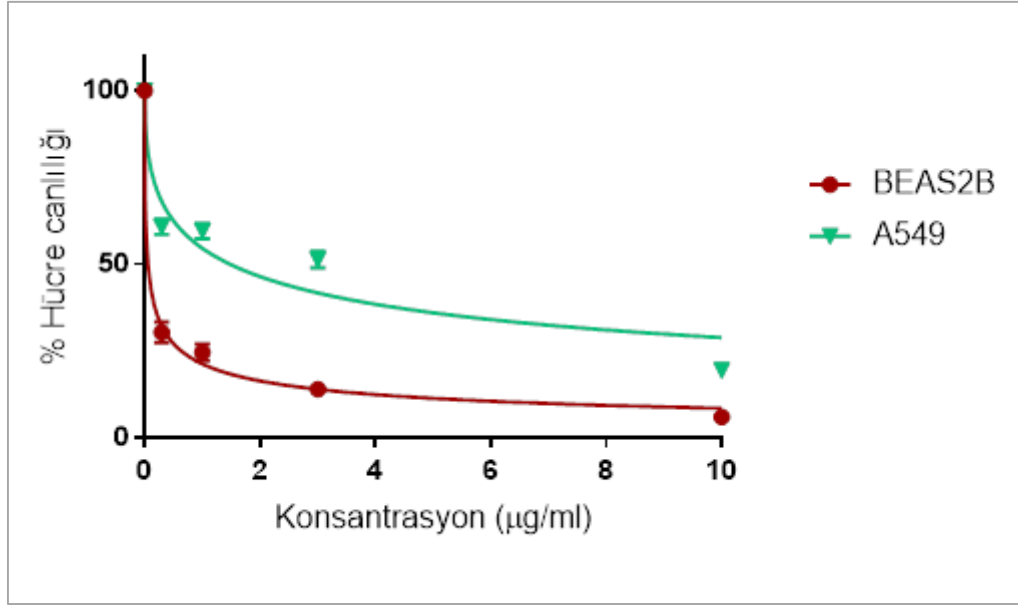
Kons. (µg/mL)	% Hücre canlılığı (ort ± standart hata)	
	BEAS-2B	A549
0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
1	95,13 ± 2,33	100,48 ± 1,56
3	95,39 ± 1,75	99,97 ± 3,82
10	95,50 ± 3,35	99,41 ± 3,95
30	99,45 ± 4,25	98,89 ± 2,98
100	84,28 ± 3,79	92,52 ± 3,39
300	68,32 ± 5,05*	80,45 ± 2,04*
1000	7,45 ± 1,19*	6,58 ± 1,13*

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

M. vulgare'ye ait uçucu yağın sitotoksik aktivitesine ait IC₅₀ değeri, BEAS-2B hücreleri için 392,8±26,6 µg/mL, A549 hücreleri için ise 457,7±25,2 µg/mL olarak bulunmuştur (Şekil 4.2). Test sisteminin doğruluğunu test etmek amacı ile kullanılan oldukça potent bir bileşik olan doksorubisin'in IC₅₀ değeri ise, BEAS-2B hücreleri için 0,06±0,02 µg/mL ve A549 hücreleri için ise 1,48±0,24 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. *Marrubium vulgare*'den elde edilen uçucu yağın BEAS2B ve A549 hücrelerine 48 saatlik uygulanması sonucu hücre canlılığı değişimi



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

5. TARTIŞMA

Tez kapsamında, başlıca ekspektoran etkileri bakımından solunum yolları şikayetleri ve koleretik etkileri nedeniyle dispeptik şikayetlerde kullanılan fitoterapötik preparatlarda yer alan ve halk arasında benzer amaçlarla dünya üzerinde yaygın kullanımı bulunan *M. vulgare*'nin, ülkemizde doğal olarak yetiştiği Çıralı, Antalya bölgesinden toplanarak, biyoaktif bileşenlerinden uçucu yağının kompozisyonu ve sitotoksik etkileri incelenmiştir.

M. vulgare bitkisinin toprak üstü kısımları, Clevenger apareyinde 3 s su distilasyonu işlemine tabi tutularak uçucu yağı elde edilmiş ve bu yağın GC ve GC/MS yöntemleri ile eş zamanlı olarak analizi yapılmıştır. Analiz sonucuna göre, GC/MS ile teşhis edilen toplam 62 bileşen, elde edilen uçucu yağın %75,9'unu oluşturmaktadır. Uçucu yağ yüksek oranda seskiterpen hidrokarbon bileşikler (%41,0) ve daha az miktarda oksijenli seskiterpen bileşiklerini (%8,9) içermektedir. Uçucu yağın ana bileşeni β -karyofillen (%25,6) olarak tespit edilmiş, yağın daha az miktarlarda α -humulen (%4,9), (*E*)-nerolidol (%4,0), seskisabinen (%3,3), karyofillen oksit (%2,8), (*E*)- β -iyonon (%2,7), hekzahidrofarnesil aseton (%2,7), (*Z*)-3-hekzen-1-il benzoat (%2,5), fitol (%2,5), 1-okten-3-ol (%2,4) ve linalol (%2,0) taşıdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Dünyada geniş yayılış gösteren *M. vulgare*'nin farklı bölgelerde yetişen örneklerinin uçucu yağları elde edilerek, kimyasal kompozisyonları GC ve GC/MS yöntemleri ile incelenmiştir (Çizelge 5.1). Kadri ve diğerleri (2011), Tunus'tan topladıkları *M. vulgare* örneklerinin uçucu yağında γ -ödesmol (%11,93), β -sitronellol (%9,90), sitronelil format (%9,50) ve germakren D'yi (%9,37) yüksek oranlarda, takiben leden (%5,35) ve δ -kadinin'i (%3,30) ise daha az oranlarda tespit etmiştir [17]. Tunus'ta yapılan başka bir çalışmada, Hamdaoui ve diğerleri (2013), *M. vulgare*'nin majör bileşenlerini β -bisabolen (%28,3), β -karyofillen (%7,8), β -farnesen (%7,4) ve 1,8-sineol (%4,8) olarak bildirmiştir [53]. İran'dan toplanan *M. vulgare* örneklerinin uçucu yağının Tunus'tan toplanan örneklere benzer temel bileşenleri yakın oranlarda içerdiği görülmüş, ana bileşenler β -bisabolen (%25,4), β -karyofillen (%11,6), germakren D (%9,7) ve *E*- β -farnesen (%8,3) olarak tespit edilmiştir [55]. İran'da yapılan bir çalışmada ise, yine benzer şekilde *M. vulgare* uçucu yağının yüksek oranda β -bisabolen (%20,4) taşıdığı, takiben δ -kadinin (%19,1) ve izokaryofillen (%14,1) içerdiği bildirilmiştir [56]. Nagy ve Svajdlenka (1998), Slovakya'dan toplanan *M. vulgare* uçucu yağının majör bileşenleri olarak β -karyofillen (%45,8), germakren D (%14,4), α -humulen

(%8,8), β -farnesen (%5,1) ve farnesol'u (%5,3) tespit etmiştir [58]. Litvanya'dan toplanan *M. vulgare*'nin uçucu yağının (Z)- β -farnesen (%9,61), β -karyofillen (%8,50), germakren D (%4,71), γ -kadinen (%4,96), α -kopaen (%3,08) ve (E)-hekz-2-enal (%4,67) taşıdığı belirlenmiştir [18]. Polonya'da yapılan bir çalışmada, (E)-karyofillen (%25,91-32,06), germakren D (%20,23-31,14) ve δ -amorfen (%8,38-10,22) uçucu yağın temel bileşenleri olarak belirlenmiştir [61]. Mısır'da yapılan bir çalışmada ise *M. vulgare* uçucu yağının ana bileşeni, diğer lokalitelerden farklı şekilde timol (%34,55) olarak belirlenmiş, takiben yüksek oranda γ -kadinen (%17,68) içerdiği tespit edilmiştir [62]. Mahmoud ve diğerleri (2018) tarafından Mısır'da yapılan diğer bir çalışmada, benzer şekilde ana bileşikler timol (%29,6-60,7), karvakrol (%0,5-19,3), m-simen (%1,0-14,2), γ -terpinen (%1,1-12,1), timol metil eter (%0,4-10,4) ve α -himakalen (%0,0-10,3) olarak bulunmuştur [63]. Sonuç olarak, yapılan bu çalışmalarla, farklı ülkelerde yetişen *M. vulgare* örneklerinin ana bileşenler olarak başlıca " β -pinen, bisabolol, β -bisabolen, δ -kadinen, β -karyofillen, germakren D, karyofillen oksit ve timol" taşıdığı görülmektedir.

Ülkemizde Marmara Bölgesi'nin güneyi, Ege Bölgesi, İç Anadolu'nun batısı ve Akdeniz Bölgesi'nde geniş yayılım gösteren ve halk arasında çeşitli amaçlarla kullanıldığı tespit edilen *M. vulgare*'nin uçucu yağ bileşimi bakımından incelendiği çok az çalışmaya rastlanmıştır (Çizelge 5.1). Tokat'tan toplanan *M. vulgare* yapraklarından elde edilen uçucu yağın temel bileşenler olarak α -pinen (%28,85), β -pinen (%18,31), β -fellandren (%17,40) ve 2-hekzeneal (%14,80) taşıdığı [39], Mersin'den toplanan örneğin karyofilin (%14,2), geranil linalol (%11,8), β -farnesen (%9,94) ve öjenol (%5,3) içerdiği [40] ve son yıllarda yapılan bir çalışmada Kütahya örneğinin iki majör bileşeninin tespit edilemediği yağda ana bileşikler olarak germakren D (%7,1), β -karyofillen (%6,2), karvakrol (%5,7) ve hegzadekanoik asit'in (%4,0) belirlendiği bildirilmiştir [41].

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

Toplandığı yer/ yılı	Bitki kısmı	Elde ediliş metodu	Uçucu yağ verimi	Ana bileşenler (%)	Kaynak
Tunus/ Haziran- Temmuz 2009	Kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu/ 4 s	%0,34	γ -ödesmol (11,93) β -sitronellol (9,90) sitronellil format (9,50) germakren D (9,37)	17
Tunus/ İlkbahar 2012	Kurutulmuş bitki	<i>n</i> -hekzan ile ekstrasyon	-	marrubiin (9-34) doktriakontan (13-25) skualen (6-47)	54
Tunus/ Ağustos 2005	Kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu/ 2 s	%0,02	β -bisabolen (28,3) β -karyofillen (7,8) β -farnesen (7,4) 1-8 sineol (4,8)	53
İran/ Haziran 1998	Kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları	Su distilasyonu/ 3 s	%0,09	β -bisabolen (25,4) β -karyofillen (11,6) germakren D (9,7) (<i>E</i>)- β -farnesen (8,3)	55
İran/ Haziran 2005	Kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları	Su distilasyonu/ 3 s	%0,40	β -bisabolen (20,4) δ -kadinen (19,1) izokaryofillen (14,1)	56
Slovakya/ -	Kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımları	Farmakope Bohemoslovaca'ya göre yapıldığı belirtilmiştir.	%0,07	β -karyofillen (45,8) germakren D (14,4)	58
Litvanya/ Ağustos 1998	Kurutulmuş yaprakları	Su distilasyonu/ 3 s	-	β -farnesen (9,61) β -karyofillen (8,50) γ -kadinen (4,96) germakren D (4,71) (<i>E</i>)-hekz-2-enal (4,67) α -kopaen (3,08)	18
Cezayir/ Haziran 2003	Kurutulmuş toprak üstü kısımları	Su distilasyonu/ 3 s	%0,05	öjenol (50,1) β -bisabolen (10,9)	59
Polonya/ Temmuz 2008	Kurutulmuş bitki	Buhar distilasyonu/ 3 s	%0,05	<i>E</i> -karyofillen (25,91- 32,06) germakren D (20,23- 31,14) δ -amorfen (8,38-10,22)	61
Hollanda/ Mart 2014- 2015	Tohum	Su distilasyonu	100 mL/g	timol (29,6-60,7) karvakrol (0,5-19,3) <i>m</i> -simen (1,0-14,2) γ -terpinen (1,1-12,1) timol metil eter (0,4- 10,4) α -himakalen (0,0-10,3)	63
Mısır/ Nisan 2010	Taze toprak üstü kısımları	Buhar distilasyonu	%0,20	timol (34,55) γ -kadinen (17,68)	62

Çizelge 5.1. (devam) Farklı orijinlerden toplanan *Marrubium vulgare* L. uçucu yağlarının analiz çalışmaları

Toplandığı yer/ yılı	Bitki kısmı	Elde ediliş metodu	Uçucu yağ verimi	Ana bileşenler (%)	Kaynak
Tokat/ -	Yaprakları	Buhar distilasyonu/ 3 s	-	α -pinene (28,85) β -pinene (18,31) β -fellandren (17,40) 2-hekzenal (14,80)	39
Silifke, Mersin/ -	Kurutulmuş toprak üstü kısmımları	Su distilasyonu/ 4 s	-	karyofilin (14,2) geranil linalol (11,8) β -farnesen (9,94) öjenol (5,3)	40
Kütahya (Kültür bitkisi)/ Nisan 2018	Topraküstü kısmımları	Su distilasyonu/ 3 s	-	germakren D (7,1) β -karyofillen (6,2) karvakrol (5,7) hekzadekanoik asit (4,0)	41

-: belirtilmemiştir.

Çalışmamızda, Antalya'dan topladığımız *M. vulgare*'den elde ettiğimiz uçucu yağın, dünyanın farklı yerlerinden toplanan örneklerin uçucu yağ bileşimleri ile farklılık gösterdiği görülmüştür [17,18,53,55,56,58,61-63]. Bu farklılığın genetik köken, coğrafik ve iklim faktörleri, yükseklik, toplama zamanı, kurutma ve saklama koşulları gibi farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, *M. vulgare*'nin geleneksel tedavide öksürük, bronşit, solunum yolları enfeksiyonu gibi akciğer hastalıklarında kullanılması nedeniyle, uçucu yağının sitotoksitesinin belirlenmesinde akciğer hücre hatları hedef hücreler olarak seçilmiştir. Bu amaçla, *M. vulgare*'den elde edilen uçucu yağın insan akciğer epitel karsinoma hücre hattı (A549) ve sağlıklı insan bronşiyal epitel hücre hattına (BEAS-2B) karşı sitotoksik aktiviteleri % canlılık ve IC₅₀ değerleri ölçülerek tayin edilmiştir. Uçucu yağın 1-1000 µg/mL konsantrasyonlarında hücre canlılığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Uçucu yağ 300 µg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığını BEAS-2B hücresinde %68,32, A549 hücresinde %80,45 değerine düşürmüştür. 1000 µg/mL konsantrasyonunda ise hücre canlılığını BEAS-2B hücresinde %7,45, A549 hücresinde %80,58'e düşürerek doksorubisin ile karşılaştırıldığında anlamlı bir sitotoksik etki göstermiştir ($p < 0,05$).

M. vulgare uçucu yağının sitotoksik aktivitesi, BEAS-2B hücre hattına karşı IC₅₀=392,8±26,6 µg/mL ve A549 hücre hattına karşı IC₅₀=457,7±25,2 µg/mL olarak

bulunmuştur. Pozitif kontrol doksorubisin için IC_{50} değerleri BEAS-2B ve A549 hücre hattına karşı sırasıyla $0,06 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ ve $1,48 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Yaptığımız literatür taramasına göre, *M. vulgare*'nin çeşitli kanser hücre hatları üzerine sitotoksik aktivitelerinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların büyük çoğunluğunu bitkiden hazırlanan farklı polaritelerdeki ekstraktların çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etkilerinin incelendiği çalışmalar oluşturmaktadır (Çizelge 5.2) [25,30-32,66,99]. Zarai ve diğerleri (2011) tarafından yapılan çalışmada, *M. vulgare* uçucu yağının HeLa hücrelerine karşı yüksek sitotoksik etkisi bulunmuştur ($IC_{50}=0,258 \mu\text{g/mL}$) [25]. Belayachi ve diğerleri (2013), *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin diklorometan fraksiyonunun Jurkat ($IC_{50}=11,54 \mu\text{g/mL}$), Jeko-1 ($IC_{50}=6,04 \mu\text{g/mL}$) ve SW620 ($IC_{50}=10,58 \mu\text{g/mL}$) hücre hatlarına karşı sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir [32]. Paunovic ve diğerleri (2016), *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin B16 melanoma ve U251 glioma kanser hücre hattı üzerinde güçlü sitotoksik etkisini ($IC_{50}=120 \mu\text{g/mL}$) tespit etmiştir [31]. Kozyra ve diğerlerinin (2019) yaptığı çalışmada, *M. vulgare*'nin yüksek fenolik asit içeriğine bağlı olarak sitotoksik etkisi kanıtlanmış ve etkinin nonhidrolize fenolik asit fraksiyonlarında görülmesi sonucunda, fenolik asitlerin esterlenmiş formlarından kaynaklandığı bildirilmiştir [99]. *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin U87 ($IC_{50}=270,3 \mu\text{M}$), LN229 ($IC_{50}=343,9 \mu\text{M}$) ve T98G ($IC_{50}=336,6 \mu\text{M}$) glioblastoma multiforme hücre hatları üzerinde sitotoksik etkisi kanıtlanmıştır [30].

Yapılan çalışmalar, *M. vulgare* ekstraktlarının veya uçucu yağının içerisinde bulunan bileşenlerin sitotoksik etkilerden sorumlu olduğunu göstermiştir. *M. vulgare*'nin yapraklarında bulunan majör diterpenoit marrubiin ve marrubenol'ün apoptoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [100]. Başka bir çalışmada, gentisik, kafeik, *p*-kumarik ve ferulik asit gibi fenolik asitleri metanol ekstraktlarında yüksek oranda içeren *M. vulgare*'nin, antioksidan ve sitotoksik etkilerini bu bileşiklere bağlı olarak gösterdiği ve antioksidan etkisinin sitotoksik etkiye katkı sağladığı bildirilmiştir [25,99,100].

Uçucu yağların sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda, uçucu yağlarda bulunan α -humulen gibi seskiterpenler [113] ve geraniol gibi monoterpenlerin [114] sitotoksik etkiden sorumlu olduğu görülmüştür. *M. vulgare* uçucu yağında az miktarda bulunan bu bileşiklerin, tümör hücrelerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte uçucu yağda yüksek oranda bulunan germakren D, diğer bileşiklere göre daha etkili sitotoksik

aktiviteye sahip bulunmuştur. Germakren D'nin α -pinen ve limonen'e göre Hs 578T hücre hattına karşı 7 kat daha fazla ve 1,8-sineol, linalol, 4-terpineol ve α -terpineol'e göre Hs 578T ve Hep-G2 hücre hatlarına karşı 6 kat daha fazla sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır [115]. Literatür bulguları ışığında, çalışmamızda *M. vulgare* toprak üstü kısmının uçucu yağında ana bileşen olarak belirlenen β -karyofillen (%25,6) ve daha az miktarlarda tespit edilen α -humulen (%4,9), (*E*)-nerolidol (%4,0), seskisabinen (%3,3) ve karyofillen oksit (%2,8) gibi seskiterpen bileşikleri, uçucu yağın sitotoksik etkisinden sorumlu bileşikler olarak düşünülmüştür.

Çizelge 5.2. *Marrubium vulgare*'nin *in vitro* sitotoksik aktivite sonuçları

Test	Bitki kısmı	Test materyali	Hücre Hattı	IC ₅₀	% Canlılık	Kaynak
MTT	Taze toprak üstü kısımları	Uçucu yağ	HeLa (Servikal kanser)	0,258 µg/mL	-	25
MTT	Tüm bitki	Metanol ekstresi	Vero (Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücresi)	90 µg/mL	-	98
		Hekzan fr.		50 µg/mL	-	
		Kloroform fr.		140 µg/mL	-	
		Etil asetat fr.		-	-	
		n-butanol fr.		-	-	
Luminesens tayini	Toprak üstü kısımları	Metanol ekstresinin diklorometan fr.	LN229 (Glioblastoma)	>50 µg/mL	-	32
			T98G (Glioblastoma multiforme)	>50 µg/mL	-	
			U87MG (Glioblastoma)	>50 µg/mL	-	
			Jurkat (Akut T-lösemi hücresi)	11,54±2,83 µg/mL	< %6	
			Jeko-1 (Non-Hodgkin lenfoma)	6,04±2,77 µg/mL	< %6	
			SW620 (Kolonorektal adenokarsinom)	10,58±4,37 µg/mL	%33,11	
			SW480 (Kolonorektal adenokarsinom)	-	-	
			PC-3 (Prostat adenokarsinom)	>50 µg/mL	-	
			U2OS (Osteosarkoma)	>50 µg/mL	-	
			NIH/3T3 (Normal embriyonik fibroblast hücresi)	-	-	
Kristal viyole ve MTT	Toprak üstü kısımları	Etanol ekstresi	B16 Melanoma	~120 µg/mL	-	31
			U251 Glioma	~120 µg/mL	-	

Çizelge 5.2. (devam) *Marrubium vulgare*'nin *in vitro* sitotoksik aktivite sonuçları

Luminesens tayini	Toprak üstü kısımları	Metanol ekstresi	U87 (Glioblastoma multiforme)	270,3 µM	%69,9	30
			LN229 (Glioblastoma multiforme)	343,9 µM	%71	
			T98G (Glioblastoma multiforme)	336,6 µM	-	
MTT	Çiçekli tüm bitki	MeOH ekstresinin Nonhidroliz e fenolik asit fr.		74,16 µg/mL		99
		MeOH ekstresinin Asidik hidroliz fr.	A37 (Melanoma)	-		
		MeOH ekstresinin Alkalın hidroliz fr.		-		
		MeOH ekstresinin Nonhidroliz e fenolik asit fr.		-		
		MeOH ekstresinin Asidik hidroliz fr.	BJ (Normal insan cilt fibroblast)	-		
		MeOH ekstresinin Alkalın hidroliz fr.		-		
					-	
					-	

Fr.: fraksiyon, -: etki gözlenmedi.

Sonuç olarak, literatür bilgileri göz önünde bulundurulduğunda, ülkemizde doğal olarak yetiştiği Antalya bölgesinden toplanarak uçucu yağı elde edilen ve bu yağın kompozisyonunun büyük oranda belirlendiği bu çalışma, Türkiye'den toplanan *M. vulgare*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi üzerine yapılmış kapsamlı bir çalışmadır. Aynı zamanda, ülkemizden toplanan *M. vulgare* bitkisinin uçucu yağının ilk kez bu çalışma ile sitotoksik etkisi incelenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında Antalya bölgesinden topladığımız *Marrubium vulgare* örneklerinin uçucu yağının kimyasal kompozisyonu GC ve GC/MS sistemleri kullanılarak analiz edilmiş ve kütüphane taramasıyla bileşikler teşhis edilerek, bileşiklerin bağıl değerleri (%) belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, β -karyofillen (%25,6) ana bileşen olarak bulunmuş, takiben uçucu yağın daha az oranlarda α -humulen (%4,9), (*E*)-nerolidol (%4,0), seskisabinen (%3,3), karyofillen oksit (%2,8), (*E*)- β -iyonon (%2,7), hekzahidrofarnesil aseton (%2,7), (*Z*)-3-hekzen-1-il benzoat (%2,5), fitol (%2,5), 1-okten-3-ol (%2,4) ve linalol (%2,0) taşıdığı tespit edilmiştir.

M. vulgare uçucu yağının sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesi için yapılan sitotoksikite çalışmaları sonucunda, sağlıklı ve karsinoma hücre hatları için IC₅₀ değerleri ve % hücre canlılık sonuçları belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri, BEAS-2B (sağlıklı insan bronşiyal epitel) hücreleri için 392,8±26,6 µg/mL, A549 (insan akciğer epitel karsinoma) hücreleri için 457,7±25,2 olarak bulunmuştur. Uçucu yağın 1000 µg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığında en etkili düşüş tespit edilmiştir (BEAS-2B için %7,45, A549 için %6,58).

Çalışmamız, Türkiye’den toplanan *M. vulgare*’nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlendiği kapsamlı ve sitotoksik aktivitesinin BEAS-2B (sağlıklı insan bronşiyal epitel) ve A549 (insan akciğer epitel karsinoma) hücrelerine karşı değerlendirildiği ilk çalışmadır. Uçucu yağın insan akciğer epitel karsinoma hücrelerine (A549) karşı sitotoksik etki göstermesi, antineoplastik etkili, kemoterapi alanında yapılacak ileri çalışmalara imkan sağlayacaktır.

Bulgularımız, ayrıca, ülkemizde yayılış gösteren, halk arasında kullanımı bulunan ve fitoterapötik olarak dünyada ilgi gören *M. vulgare*’nin tıbbi bitki olarak potansiyelinin ortaya konmasında önemli bir rapor niteliğindedir.

KAYNAKLAR

1. Cullen, J. (1982). *Marrubium* L. In: Davis P.H. (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburg: Edinburg University Press, 7, 165-178.
2. Wood, G. B., Farrar, G. E., Osol, A., Pratt, R., and Wood, H. G. (1918). *The dispensatory of the United States of America*. (25th edition). Philadelphia, PA: JB. Lippincott, 14-15.
3. Greunwald, J., Brendler, T., and Janike, C. (2004). *PDR for Herbal Medicines*. (Third edition) Montvale: Thomson PDR, 444-445.
4. Blumenthal, M., Goldberg, A., and Brinckmann, J. (2000). *Herbal Medicine (Expanded Commission E Monographs)*. American Botanical Council, Integrative Medicine Communications, Newton, USA, 1-3.
5. British Pharmacopoeia (2009). The Stationary Office, 1-4.
6. Barnes, J., Anderson, L. A., and Philipson, J. D. (2002). *Herbal Medicines: a Guide for Health Care Professionals* (Second edition). London: Pharmaceutical Press, 294-295.
7. Baytop, T. (1994). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Ankara: Türk Dil Kurumu, 52.
8. Lodhi, S., Vadrere, G. P., Sharma, V. K., and Usman, M. D. R. (2007). *Marrubium vulgare* L: A review on phytochemical aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(4), 429-452.
9. Quattrocchi U. (2012). *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology*. Boca Raton, FL: CRC Press: 2428.
10. Moerman, D. E. (1998). *Native American Ethnobotany*. Portland, OR: Timber Pres: 336.
11. Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 281-282.
12. European Pharmacopoeia 8.0 (2014).
13. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). (2013). Community herbal monograph on *Marrubium vulgare* L., herba, EMA/HMPC/604271/2012, 1-6.
14. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). (2013). Assessment report on *Marrubium vulgare* L., herba, EMA/HMPC/604273/2012, 1-27.
15. Bradley, P. R. (Editor). (1992). *British Herbal Compendium*, Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1, 218-220.

16. Wichtl, M. (2004). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Marburg: CRC Press: 317-318.
17. Kadri, A., Zarai, Z., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak, M., and Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 10(19), 3908-3914.
18. Weel, K. G. C., Venskutonis, P.R., Pukalskas, Gruzdiene, D., and Linssen, J. P. H. (1999). Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare* L.) grown in Lithuania. *Fett/Lipid*, 101(10), 395-400.
19. Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., Salido, S., Waard, P., and Beek, T. A. (2012). Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. *Food Chemistry*, 130(3), 695-701.
20. Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M., and Bailleul, F. (2002). Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*. 79, 389-392.
21. Stulzer, H. K., Tagliari, M., P., Zampirola, J. A., Cechinel-Filho, V., and Schlemper, V. (2006). Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), 379-384.
22. Souza, M. M., Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., and Schlemper, V. (1998). Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*, 5(2), 103-107.
23. Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., and Ruberto, G. (2012). Compositional analysis and *in-vivo* anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia*, 83, 286-292.
24. Bardai, S. E., Lyoussi, B., Wibo, M., and Morel, N. (2004). Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(6), 465-474.
25. Zarai, Z., Kadri, A., Chobba, I. B., Mansour, R. B., Bekir, A., Mejdoub, H., and Gharsallah, N. (2011). The *in-vitro* evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in health and Disease*, 10(161), 1-8.
26. Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Aouad, L., Latreche, A., and Benchiha, W. (2018). *In vitro* antibacterial activity of flavonoids extracts from three Algerian horehound (*Marrubium vulgare* L.) leaves. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 18, 59-66.
27. Temmouri, H. B., Meddah, A. T., Sahraoui, T., and Meddah, B. (2014). Alternative treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended spectrum beta-lactamases producing multiresistant gram-negative bacteria from nosocomial infection by *Marrubium vulgare* methanolic compounds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(6), 60-64.

28. Quave, C. L., Plano, L. R. W., Pantuso, T., and Bennett, B. C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3), 418-428.
29. Schlemper, V., Ribas, A., Nicolau, M., and Filho, C. (1996) Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. *Phytomedicine*, 3(2), 211-216.
30. Okur, M. E., Karakaş, N., Karadağ, A. E., Yılmaz, R., and Demirci, F. (2019). *In vitro* cytotoxicity evaluation of *Marrubium vulgare* L. Methanol extract. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(4), 711-718.
31. Paunovic, V., Kosic, M., Djordjevic, S., Zugic, A., Djalina, N., Gasic, U., Trajkovic, V., and Harhaji-Trajkovic, J. (2016). *Marrubium vulgare* ethanolic extract induces proliferation block, apoptosis, and cytoprotective autophagy in cancer cells *in vitro*. *Cellular and Molecular Biology*, 62(11), 108-114.
32. Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., Fernandez de Mattos, S., Amzazi, S., and Villalonga, P. (2013). Screening of North African Medicinal Plant Extracts for Cytotoxic Activity Against Tumor Cell Lines. *European Journal of Medicinal Plants*, 3(3), 310-332.
33. Oliveira, A. P., Santin, J. R., Lemos, M., Junior, L. C. K., Cuoto, A. G., Bittencourt, C. M. S., Filho, V. C., and Andrade, S. F. (2011). Gastroprotective activity of methanol extract and marrubiin obtained from leaves of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(9), 1230-1237.
34. Kurbatova, N. V., Muzychkina, R. A., Mukhitdinov, N. M., and Parshine, G. N. (2003). Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(5), 501-502.
35. Rezgui, M., Majdoub, N., Ben-Kaab, S., Marzouk, B., Gouia, H., Araujo, M. E. M., and Ben-Kaab, L. B. (2017). How salt stress represses the biosynthesis of marrubiin and disturbs the antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(1), 267-277.
36. Piccoli, P. N. and Bottini, R. (2008). Accumulation of the labdane diterpene marrubiin in glandular trichome cells along the ontogeny of *Marrubium vulgare* plants. *Plant Growth Regulation*, 56(1), 71-76.
37. Popoola, O. K., Elbagory, A. M., Ameer, F., and Hussein A. A. (2013). Marrubiin. *Molecules*, 18(8), 9049-9060.
38. Meyra-Silva, C. and Cechinel-Filho V. (2010). A review of the chemical and pharmacological aspects of the genus *Marrubium*. *Current Pharmaceutical Design*, 16(31), 3503-3518.
39. Bayir, B., Gündüz, H., Usta, T., Şahin, E., Özdemir, Z., Kayır, Ö., Şen, Ö., Akşit, H., Elmastaş, M., and Erenler, R. (2014). Chemical composition of essential oil from *Marrubium vulgare* L. leaves. *Journal of New Results in Science*, 6, 44-45.

40. Sönmez, M. ve Gül, Ş. (2014). Mersin'in ilçelerinde yetişen *Euphorbia macroclada* Boiss. ve *Marrubium vulgare* L. bitkilerinin subkritik su ve geleneksel yöntemlerle ekstrakte edilmesi ve elde edilen ekstraktların bileşenler yönünden kıyaslanması. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 31(3), 127-132.
41. Koç, S. S. (2019). *Marrubium vulgare* L.'nin Farmakognozik İncelemesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
42. Baytop, A. (1996). *Farmasötik Botanik Ders Kitabı* (5. Baskı). İstanbul: İ.Ü. Basım Evi ve Film Merkezi, 3637.
43. Giuliani, C. and Bini, L. M. (2008). Insight into the structure and chemistry of glandular trichomes of Labiatae, with emphasis on subfamily Lamioideae. *Plant Systematics and Evolution*, 276, 199-208.
44. Başer, K. H. C. and Kırimer, N. (2018). Essential oils of Anatolian Lamiaceae. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 5(4), 1-28.
45. Erik, S., ve Tarıkahya, B. (2004). Türkiye Florası Üzerine. *Kebikec*, 17: 139-163.
46. Davis, P.H., Mill, R.R., and Kit Tan, (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Suppl. 1). Edinburgh University Press, Edinburgh, 202-203.
47. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., ve Adıgüzel, N. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı*. Ankara: Van Y.Y. Üniversitesi Doğa Derneği, Barışcan Ofset, 246.
48. Aytaç, Z., Akgül, G., and Ekici, M. (2012). A new species of *Marrubium* (Lamiaceae) from Central Anatolia. Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 36, 443-449.
49. İnternet: *Marrubium vulgare* L. Web: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7624. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
50. Chevallier, A. (2000). *Encyclopedia of Herbal Medicine: 550 Herbs and Remedies for Common Ailments* (Second edition). New York: DK Publishing Inc., 233.
51. Sweetman, S. C. (2002). *Martindale: The Complete Drug Reference* (Thirty-third edition). London: Pharmaceutical Press, 1094.
52. Kılıç, Ö. (2018). *Marrubium parviflorum* subsp. *parviflorum* bitkisinin yağ asidi ve uçucu yağ kompozisyonu. *MSU Journal of Science*, 6(1), 487-491.
53. Hamdaoui, B., Wannes, W. A., Marrakchi, M., Brahim, N. B., and Marzouk, B. (2013). Essential oil composition of two Tunisian horehound species: *Marrubium vulgare* L. and *Marrubium aschersonii* Magnus. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(5), 608-612.
54. Bejaoui, A., Salem, I. B., and Boulila, A. (2017). Chemical variation and *in vitro* antibacterial properties of volatiles from Tunisian *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(5), 1244-1253.

55. Khanavi, M., Ghasemian, L., Motlagh, E. H., Hadjiakhoondi, A., and Shafiee, A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. and *Marrubium vulgare* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(3), 324-326.
56. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., and Babanezhad, E. (2008). The essential oil composition of *Marrubium vulgare* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 20(6), 488-490.
57. Letchamo, W. and Mukhopadhyay, S. (1997). Variability in chromosomes, herb yield, essential oil content and potentials of horehound for North American commercial production. *Journal of Horticultural Science*, 72(5), 741-748.
58. Nagy, M. and Svajdenka, E. (1998). Comparison of essential oils from *Marrubium vulgare* L. and *M. peregrinum* L. *Journal of Essential Oil Research*, 10(5), 585-587.
59. Belhattab, R. and Larous, L. (2006). Essential oil composition and glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. growing wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 369-373.
60. Rezazi, S., Hanini, S., Si-Moussa, C., and Abdelmalek, S. (2016). Modeling and optimization of the operating conditions of *Marrubium vulgare* L. essential oil extraction process: kinetic parameters estimation through genetic algorithms. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(4), 843-853.
61. Zawislak, G. (2012). Chemical composition of essential oils of *Marrubium vulgare* L. and *Marrubium incanum* Desr. Grown in Poland. *Chemija*, 23(2), 136-140.
62. Salama, M. M., Taher, E. E., and El-Bahy M., M. (2012). Molluscicidal and mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. and *Marrubium vulgare* L. *Journal of the Institute of Tropical Medicine of São Paulo*, 54(5), 281-286.
63. Mahmoud, A. A., Gendy, A. S. H., Ahli H. A. H. S., Grulova, D., Astatkie, T., and Abdelrazik, T. M. (2018). Impacts of harvest time and water stress on the growth and essential oil components of horehound (*Marrubium vulgare*). *Scientia Horticulturae*, 232, 139-144.
64. Nawwar, M. A. M., El-Mousallamy, A. M. D., Barakat, H. H., Buddrus, J., and Linscheid, M. (1989). Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry*, 28(11), 3201-3206.
65. Sahpaz, S., Hennebelle, T., and Bailleul, F. (2002). Marruboside, a new phenylethanoid glycoside from *Marrubium vulgare* L. *Natural Product Letters*, 16(3), 195-199.
66. Alkhatib, R., Joha, S., Cheok, M., Roumy, V., Idziorek, T., Preudhomme, C., Quesnel, B., Sahpaz, S., Bailleul, F., and Hennebelle, T. (2010). Activity of ladanein on leukemia cell lines and its occurrence in *Marrubium vulgare*. *Planta Medica*, 76(1), 86-87.

67. Boulila, A., Sana, A., Salem, I. B., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., and Fernandez, X. (2015). Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*, 76, 616-622.
68. Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Pine, R., Madani, K., and Segura-Carretero, A. (2014). Phytochemical profiling, *in vitro* evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 61, 120-129.
69. Rodrigues, C. A., Savi, A. O. S., Schlemper, V., Reynaud, F., and Cechinel-Filho, V. (1998). An improved extraction of marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Chromatographia* 47(7), 449-450.
70. Rey, J. P., Levesque, J., and Pousset, J. L. (1992). Extraction and high-performance liquid chromatographic methods for the γ -lactones parthenolide (*Chrysanthemum parthenium* Bernh.), marrubiin (*Marrubium vulgare* L.) and artemisinin (*Artemisia annua* L.). *Journal of Chromatography*, 605(1), 124-128.
71. Zerbe, P., Chiang, A., Dullat, H., O'Neil-Johnson, M., Starks, C., Hamberger, B., and Bohlmann, J. (2014). Diterpene synthases of the biosynthetic system of medicinally active diterpenoids in *Marrubium vulgare*. *The Plant Journal*, 79(6), 914-927.
72. Shaheen, F., Rasoola, S., Shah, Z.A., Soomro, S., Jabeen, A., Mesaik M. A., and Choudhary, M. I. (2014). Chemical constituents of *Marrubium vulgare* as potential inhibitors of nitric oxide and respiratory burst. *Natural Product Communications*, 9(7), 903-906.
73. Laonigro, G., Lanzetta, R., Parrilli, M., Adinolfi, M., and Mangoni, L. (1979). The configuration of the diterpene spiro ethers from *Marrubium vulgare* and from *Leonotis leonurus*. *Gazzetta Chimica Italiana*, 109(3/4), 145-150.
74. Baxter, H., Harborne, J. B., and Moss, G. P. (1998). *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants* (Second edition). London: CRC Press: 79.
75. Hoffmann, D. (2003). *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Rochester, VT: Inner Traditions, Bear & Company, 564.
76. Daniel, M. (2006). *Medicinal Plants: Chemistry and Properties*. Boca Raton: CRC Press, 67.
77. Janssen, S., Laermans, J., Verhulst, P. J., Thijs, T., Tack, J., and Depoortere, I. (2011). Bitter taste receptors and α -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108(5), 2094-2099.
78. Anonymous. (2005). *The Wealth of India: A dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Product*, New Delhi: Publication and Information Directorate, CSIR, 4, 304-305.

79. Culpeper, N. (2015). The *Complete Herbal*. London: Thomas Kelly, 17, Paternoster Row, 659-663.
80. Erbay, M. Ş., Anıl, S., and Melikoğlu, G. (2017). Plants Used as Painkiller in Folk Medicine in Turkey-I Stomacache. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 741-755.
81. Tuzlacı, E. and Eryaşar Aymaz, P. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72, 323-343.
82. Ertuğ, F. (2014). *Resimli Türkiye Florası*, Cilt 1. İstanbul: Ali Nihat Gökyiğit Vakfı, Flora Araştırmaları Derneği and Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları Yayını, 331-332.
83. Koyuncu, O., Yaylacı, Ö. K., Öztürk, D., Potoğlu Erkara, İ., Savaroğlu, F., Akcoşkun, Ö., and Ardiç, M. (2010). Risk categories and ethnobotanical features of the Lamiaceae taxa growing naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biological Diversity and Conservation*, 3(3), 31-45.
84. Karaman, Ş. and Kocabaş, Y. Z. (2001). Traditional Medicinal Plants of K. Maras (Turkey). *The Sciences*, 1(3), 125-128.
85. De Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., Oliveira, A. E., and Schlemper, V. (1999). Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*, 7(2), 111-115.
86. Meyre-Silva, C., Yunes, R. A., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F., and Cechinel-Filho, V. (2005). Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *Il Farmaco*, 60(4), 321-326.
87. Bardai, S. E., Morel, N., Wibo, M., Fabre, N., Llabres, G., Lyoussi, B., and Quetin-Leclercq, J. (2003). The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Planta Medica*, 69(1), 75-77.
88. Bardai, S.E., Lyoussi, B., Wibo, M., and Morel, N. (2001). Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat. *Clinical and Experimental Hypertension*, 23(4), 329-343.
89. Sarac, N. and Ugur, A. (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 28-37.
90. Masoodi, M. H., Ahmed, B., Zargar, I. M., Khan, S. A., Khan, S., and Singh, P. (2008). Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. *African Journal of Biotechnology*, 7(2), 86-87.
91. Warda, K., Markouk, M., Bekkouche, K., Larhsini, M., Abbad, A., Romane, A., and Bouskraoui, M. (2009). Antibacterial evaluation of selected Moroccan medicinal plants against *Streptococcus pneumoniae*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(3), 101-104.

92. Gonzalez, M. J. and Marioli, J. M. (2010). Antibacterial activity of water extracts and essential oils of various aromatic plants against *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American Foulbrood. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(3), 209-213.
93. Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., and Madani, K. (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 61, 41-48.
94. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
95. Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., and Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* spp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15(7), 549-557.
96. Orhan, I. E., Belhattab, R., Şenol, F. S., Gülpınar, A. R., Hoşbaş, S., and Kartal, M. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 566-571.
97. Amri, B., Martino, E., Vitulo, F., Corana, F., Ben-Kaab, L. B., Rui, M., Rossi, D., Mori, M., Rossi, S., and Collinai S. (2017). *Marrubium vulgare* L. leave extract: phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. *Molecules*, 22(11), 1851.
98. Fayyad, A. G. S., Ibrahim, N., and Yaakob, W. A. (2014). Phytochemical screening and antiviral activity of *Marrubium vulgare*. *Malaysian Journal of Microbiology*, 10(2), 106-111.
99. Kozyra, M., Korga, A., Ostrowska, M., Humeniuk, E., Adamczuk, G., Gieroba, R., Makuch-Kocka, A., and Dudka, J. (2019). Cytotoxic activity of methanolic fractions of different *Marrubium* spp. against melanoma cells is independent of antioxidant activity and total phenolic content. *FEBS Open Bio*, 1-10.
100. Yamaguchi, K., Liggett, J., Kim, N. C., and Beak, S. J. (2006). Anti-proliferative effect of horehound leaf and wild cherry bark extracts on human colorectal cancer cells. *Oncology Reports*, 15, 275-281.
101. Foster, S. and Duke, J. A. (1990). *A Field Guide to Medicinal Plants: Eastern and Central North America*. Boston: Houghton Mifflin Company, 70.
102. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://butterflyexpress.shop/products/horehound-tincture>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
103. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.innit.com/nutrition/alvita-horehound-herb-caffeine-free-tea-bags/p/00726016004534>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
104. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.teahaven.com/organic-horehound-herb-tea>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.

105. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.oceanstatejoblot.com/claeyshorehound-old-fashioned-hard-candy-6-oz/product/105546>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
106. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://store.nutritionalresources.com/products/horehound?variant=1073311084>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
107. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.farmaciasknop.com/product/capsulas-marrubio-230-mg-x-50-pharmaknop>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
108. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.arkopharma.com/fr-FR/arkogelules-marrube-blanc>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
109. İnternet: *Marrubium vulgare*. Web: <https://www.sears.com/terravita-horehound-450-mg-100-capsules-zin-511819/p-SPM9597034332>. Son Erişim Tarihi: 28.12.2019.
110. Brinker, F. (2002). *Herb Contraindications and Drug Interactions* (Third edition). Eclectic Medical Publications, 120.
111. McLafferty, F. W. and Stauffer, D.B. (1989). *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, J Wiley and Sons: New York.
112. Hochmuth, D. H. (2008). *MassFinder 4.0*, Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg, Germany.
113. Sylvestre, M., Legault, J., Dufour, D., and Pichette. (2005). A. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L. *Phytomedicine*, 12, 299–304.
114. Burke, Y. D., Stark, M. J., Roach, S. L., Sen, S. E., and Crowell, P. L. (1997). Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids*, 3, 151–156.
115. Setzer, W. N., Schmidt, J. M., Noletto, J. A., and Vogler, B. (2006). Leaf oil composition and bioactivities of Abaco bush medicines. *Pharmacologyonline*, 3, 798–802.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ERDEM, Buket
Uyruğu : T. C.
Doğum tarihi ve yeri : 26.07.1989, Ankara
Medeni hali : Bekâr
Telefon : 549 459 32 96
e-mail : buketerdem@hotmail.com.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı	Devam Ediyor
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	2013
Lise	Cumhuriyet Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-Devam Ediyor	Ertuğrul Gazi SSGM	Eczacı
2014-2016	Çankaya Yaşam Eczanesi	Sahibi ve Mesul Müdürü

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..