

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ VE VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mentha Pulegium 'un İN VİTRO ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİ VE
COX-1/ COX-2 ENZİM İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Recep KOÇYİĞİT

ARALIK 2021

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mentha Pulegium 'un İN VİTRO ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİ VE
COX-1/ COX-2 ENZİM İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Recep KOÇYİĞİT

Danışman
Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. İbrahim YÖRÜK
Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
Doç. Dr. Engin YILMAZ

ARALIK 2021

ONAY

Recep KOÇYIĞİT tarafından hazırlanan “*Mentha Pulegium*’un İn Vitro Antioksidan, Antimikrobiyal Özellikleri ve COX-1/COX-2 Enzim İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması .../.../2021 tarihinde yapılan sınavla aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. İbrahim Hakkı YÖRÜK

(Başkan)

Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

(Danışman)

Doç. Dr. Engin YILMAZ

(Üye)

Bu tezin kabulü, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../...gün ve .../... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Mehmet Bakır ŞENGÜL
Enstitü Müdürü

BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre hazırlamış olduğum '***Mentha Pulegium***'un **İn Vitro Antioksidan, Antimikrobiyal Özellikleri ve COX-1/COX-2 Enzim İnhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi**' adlı tezimin özgün bir çalışma olduğunu, tez hazırlanırken tüm aşamalarda bilimsel etik ilkelerine uygun davrandığımı, tez kapsamında sunulan tüm verileri bilimsel etik ilkelerine uygun elde ettiğimi, tezde faydalandığım tüm eserlere atıf yaptığımı ve kaynaklar kısmında bu eserleri gösterdiğimi beyan ederim. .../.../20...

Recep KOÇYİĞİT

ÖZET

Mentha Pulegium'un IN VITRO ANTIOKSIDAN, ANTIMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİ VE COX-1/ COX-2 ENZİM İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Recep KOÇYİĞİT

Yüksek Lisans Tezi

Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

Aralık 2021, 34 sayfa

Tıbbi ve aromatik bitkiler ile baharatlar tarih boyunca insanlar tarafından hastalıkları tedavi etme amacıyla kullanılmıştır. *Mentha pulegium* dünyada ve ülkemizde gıda olarak kullanıldığı gibi geleneksel tedavilerde de kullanılmaktadır. Bu bağlamda, sunulan çalışma *Mentha pulegium* bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal özellikleri ile COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerine etkilerini irdelemek amacıyla yapıldı. Antioksidan özellikleri DPPH ve CUPRAC metotlarıyla spektrofotometrik olarak araştırılırken, antibiyotik etkisi disk difüzyon metodu ile belirlendi. COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerine etkileri ise ticari kitler ile kolorimetrik olarak saptandı. Elde edilen sonuçlar, *Mentha pulegium* bitkisinin önemli bir antioksidan etkiye sahip olduğunu gösterirken, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* suşları üzerine herhangi bir antibiyotik etkisinin olmadığını gösterdi. COX-1 enzimi üzerine ise çok zayıf inhibisyon etkisi sergiledi. COX-2 enzimi üzerine etkisi hesaplanamadı. Sonuç olarak, *Mentha pulegium* bitkisinin önemli bir antioksidan özelliğe sahip olduğu ve COX-1 enzimi üzerine çok zayıf inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Mentha Pulegium*, antioksidan, antibiyotik, antimikrobiyal, COX

ABSTRACT

DETERMINATION OF IN VITRO ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIYAL PROPERTIES AND COX-1/COX-2 ENZYME INHIBITORY ACTIVITY OF *Mentha Pulegium*

Recep KOÇYİĞİT

Master Thesis

Bitlis Eren University Graduate Education Institute,
Department of Chemistry
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
December 2021, 34 pages

Medicinal and aromatic plants and spices have been used by people throughout history to treat diseases. *Mentha pulegium* is used as food in the world and in our country, as well as in traditional treatments. In this context, the presented study was carried out to examine the antioxidant and antimicrobial properties of the *Mentha pulegium* plant and its effects on COX-1 and COX-2 enzymes. Antioxidant properties were investigated spectrophotometrically by DPPH and CUPRAC methods, while antibiotic effect was determined by disk diffusion method. The effects on COX-1 and COX-2 enzymes were determined colorimetrically with commercial kits. The results obtained showed that *Mentha pulegium* plant had a significant antioxidant effect, while it did not have any antibiotic effect on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* strains. On the other hand, it exhibited a very weak inhibition effect on the COX-1 enzyme. The effect on the COX-2 enzyme could not be calculated. As a result, it was determined that the plant *Mentha pulegium* has an important antioxidant property and has a very weak inhibition effect on the COX-1 enzyme.

Keywords: *Mentha Pulegium*, antioxidant, antibiotic, antimicrobial, COX

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarımnda, bana danıŐmanlık ederek, beni yönlendiren ve her türlü olanağı sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih ağlar ÇELİKEZEN'e en içten teŐekkürlerimi sunarım. ÇalıŐmalarımnda bana yardımcı olan Van YY Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü ğretim Elemanı Mehmet Fırat'a, BE SHMYO ğretim elemanı Öğr. Gör. İbrahim Halil ŐAHİN'e ve Bitlis Tatvan Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Uzmanı Sayın Dr. Özgür PAŞA ve mikrobiyoloji bölümü çalıŐanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her aŐamasında olduğu gibi bu aşamada da beni yalnız bırakmayan maddi ve manevi desteklerini her zaman hissetiğim annem, babam ve eŐime sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalıŐmalarım sırasında benden her türlü desteği esirgemeyen Őube Mdrem Sevim TEMİZHAVA, Muhammed Sabrullah ERKOÇ ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca Projemize destek veren Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1.Lamiaceae	2
1.2. <i>Mentha</i>	2
1.3. <i>Mentha pulegium</i> L	3
1.4. <i>Mentha pulegium</i> 'un Kimyasal Yapısı.....	4
1.5.Terpenler	5
1.5.1.Hemiterpenler (C5).....	5
1.5.2.Monoterpenler (C10)	5
1.5.3.Seskipenler (C15)	6
1.5.4.Diterpenler (C20)	6
1.5.5.Triterpenler.....	6
1.6.Fenolik Bileşikler	6
1.6.1.Flavonoidler	7
1.6.2.Fenolik Asitler.....	7
1.6.3. Tanenler	7
1.6.4. Stilbenler	7
1.6.5. Lignanlar	7
1.7.Antioksidanlar	8
1.7.1 Oksidatif Stres	9
1.8.Antimikrobiyal ve Antifungal Etki	9
1.9.Antienflamatuar Etki	10
1.10.Enzimler	11

1.10.1.Enzimlerin Özellikleri.....	11
1.10.2.Multienzim Sistemleri.....	12
1.10.3.Enzim Kinetiği	13
1.10.4.Enzim İnhibisyonu.....	14
1.10.5.Araşidonik Asit Metabolizması.....	15
1.10.6.Siklooksijenaz Yolağı.....	15
1.11.COX-1 ve COX-2 Enzimleri	15
2. MATERYAL VE YÖNTEM	17
2.1.Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	17
2.2.Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi.....	17
2.3.CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	17
2.4.Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi	18
2.5.COX-1 Enzim İnhibisyon Tespiti	19
2.6.COX-2 Enzim İnhibisyon Tespiti	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	20
4.1.DPPH testi bulguları.....	20
4.2.CUPRAC Testi Bulguları	21
4.3.Antimikrobiyal (Disk Difüzyon) Testi Bulguları.....	22
4.4.COX-1 ve COX-2 Enzim Çalışma Bulguları	23
4. SONUÇ	24
5. KAYNAKLAR	25
ÖZGEÇMİŞ	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

3.1. <i>M. Pulegium</i> 'un metanol ekstraktı ve AsA'nın CUPRAC testi bulguları.....	21
3.2. <i>M. Pulegium</i> 'un antimikrobiyal etki bulguları	22
3.3. <i>M. Pulegium</i> 'un COX enzimleri üzerine inhibisyon etkisi	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>SEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	9
1.2. Enzim Substrat Anahtar-Kilit Modeli	11
1.3. Michaelis-Menten Doygunluk Grafiği	13
3.1. <i>M. Pulegium</i> 'un farklı hacimlerde DPPH giderme aktivitesi	20



SİMGELER DİZİNİ

mg	Miligram
mL	Mililitre
g	Gram
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat
cm^2	Santimetre kare



KISALTMALAR DİZİNİ

ARA	Araşidonik Asit
CUPRAC	Toplam antioksidan potansiyel yöntemi
COX	Siklooksijenaz
CYP	Sitokrom p-450
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
E	Enzim
ES	Enzim substrat kompleksi
LOX	Lipooksijenaz
P	Oluşan ürün
RNA	Ribonükleik asid

1. GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de tıbbi bitkiler, çok uzun zamandan beri geleneksel olarak hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 91 ülkenin farmokopeleri ve yapılan yayınlara göre kullanılan tıbbi bitkilerin 20.000 civarında olduğunu bildirmiştir (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994).

Ülkemiz florası oldukça zengin bir yapıya sahiptir ve 9000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bu bitkilerden yeterince faydalanılmamaktadır. Bitkilerin kimyasal özellikleri üzerine yapılan çalışmalar yetersiz kalmaktadır (İlçim vd., 1998).

Lamiaceae familyası 1789 yılında ilk olarak De Jessieu tarafından Labiatae adıyla anılmıştır. Sonraları ise Dindley 1836 yılında bugünkü adı olan Lamiaceae olarak adlandırılan, ülkemizde ise Ballıbabagiller olarak bilinen familyadır (Greuteri, 1988).

Dünyanın en eski familyaları arasında yer alan Lamiaceae genellikle ot ve çalı biçiminde olup tek veya çok yıllık bitkilerdir. Lamiaceae ailesi dünyanın hemen hemen her yerinde bulunur ve genellikle Akdeniz bölgesinde yaygın olan, 220 cins ve 3500 türden oluşur. Türkiye'de 240'ı endemik olmak üzere 38 cinsi ve 400 türü yetişmektedir. Bünyesinde oldukça fazla endemik tür bulunduran Lamiaceae familyasına ait bitkilerin uçucu yağ verimi son derece yüksek olup, en çok bilinenleri, *Origanum*, *Satureja*, *Mentha*, *Teucrium*, *Ballota*, *Stachys*, *Salvia*, *Ajuga*, *Prunella*, *Melissa*, *Lamium*, *Sideritis* ve *Marrubium*'dur. Türkiye'nin her bölgesinde bu familyaya rastlanılabılır (Kocabaş ve Karaman, 2001; Ozkan ve Soy, 2007).

Lamiaceae türlerinin büyük bir bölümünün çiçekleri hem dişi hem erkek organını beraber bulundurur. Fakat *Zizophora* ve *Mentha* türlerinin çoğunluğunda erkek organlar körelmiş ve bundan ötürü de çiçeklerin tamamı dişi fonksiyonu olarak işlev görmektedir (Heywood, 1978).

Familyaya ait türler uçucu yağlar, aromatik bileşikler ve ikincil metabolitler açısından çok zengin olduğundan tıp, eczacılık, kozmetik ürünleri, parfümeri gibi bir çok alanda bu bitkilerden yararlanılmaktadır (Baytop, 1991). Ülkemiz, çay ve baharat bitkilerinin ihracatında dünya pazarında önemli, söz sahibi ülkelerden biridir. Lamiaceae ise ticareti yapılan bitki familyaları içinde birinci sırayı almaktadır (Nurcan, 2012).

Lamiaceae familyası üyeleri Dünya'da, Akdeniz iklimi etkisinde olan bölgelerin tamamında, özellikle Güneybatı Asya'da, Kap bölgesi ve Madagaskar' da, Avusturalya'nın tropik bölgelerinde ve Çin' de, Kuzey Amerika'da Meksika' da, Avrupa'da, Güney Amerika'da ise Şili kıyı kesimlerinde bol miktarda bulunmakta olup Dünya'nın hemen hemen her yerinde yayılış göstermektedir (Hedge, 1992).

Mentha pulegium'un halk arasında hem beslenme hemde tedavi amaçlı kullanıldığı bildirilmiştir. Geleneksel olarak kullanılan bitkilerin ve tedavi yöntemlerinin bilimsel bilgiler ile optimize edilmesi yeni ilaç ve tedavi yöntemleri açısından önem arz etmektedir. Bu bağlamda, sunulan çalışma, *Mentha pulegium* bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal özellikleri ile COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerine etkisini incelemek amacıyla planlandı.

1.1. Lamiaceae

Çiçekli bitkilerin en büyük ailesi olan Lamiaceae, 230 cinse ayrılmış yaklaşık 7100 türden oluşur. Bu ailedeki türlerin, antioksidan özellikleri, geleneksel olarak yaygın farmasötik kullanımları ve uçucu yağlarının ticari öneme sahip olmalarının yanında kozmetik alanında ve mutfak uygulamalarında geniş bir kullanıma sahip olduğu için yüksek değere sahiptir (Stagos vd., 2012; Formisano vd., 2014). Bu familyaya ait türlerin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir. Familyanın en yaygın türlerinden olan biberiye, nane, ada çayı ve limon otu gibi türlerinin biyoaktif bileşikleri olarak hidroksisinamik asitler ve flavonoidler olarak bildirilmiştir (Ştefan vd., 2014).

1.2. *Mentha*

Labiatae familyasının üyesi olan *Mentha*, Yerküre'nin hemen hemen her yerinde bulunur. *Mentha* cinsinin yerkürede yaklaşık olarak 31 adet türü bulunmaktadır (Tucker ve Naczi, 2007). Ülkemizde ise 7 türü bulunan *Mentha*, hem dünyada hem ülkemizde, hem tedavi amacıyla hem de baharat olarak kullanılmaktadır. *Mentha* türleri ülkemizde hemen hemen tüm bölgelerde bulunabilmektedir (Baytop, 1999).

Uçucu yağının değerli olması nedeniyle *Mentha* türlerinin birçok ülkede ticari olarak tarımı yapılmaktadır. Türkiye bulunduğu konumu, iklimi ve bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyelive büyük yüzölçümü sayesinde tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinde çok önemli bir yere sahiptir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Ülkemizde yüzyıllardır saksılarda, bahçelerde ve çoğunlukla tarlalarda üretilen *Mentha* türleri tıbbi olarak genellikle gaz ve spazm gideren, serinleten, mide yanmasını giderici, idrar söktürücü olarak kullanılmış olup bitki çayı ve baharat şeklinde tüketilmektedir (Özguven ve Kırıcı, 1999).

Çok önemli bir baharat ve uçucu yağ olan nane, Lamiaceae familyasında yer alan *Mentha* türlerine verilen genel bir addır ve çok yıllık ve sürüncü gövdeleri bulunan çoğunlukla otsu olan

bir bitki türüdür. Uçucu yağlarının dünyada değerli olması nedeniyle *Mentha* türlerinin birçok yerde ticari olarak tarımı yapılmakta olup, nane yağı ilaç, gıda ve kozmetik sanayinde geniş ticari alana sahip olan mentolün en zengin doğal kaynağı olan bitki olup ilaç ve gıda sanayisi gibi farklı alanda kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

1997 yılı Türkiye verilerine göre ülkemizde toplam 4600 tona yakın baharatlık nane üretimi yapılmıştır. Türkiye geniş tarım arazisi, güzel iklim şartları olmasına rağmen uçucu yağları ithal etmektedirler. Türkiye olarak bu olumlu iklim koşulları ve geniş tarım arazileri değerlendirilmeli ve uçucu yağların üretimi fazlaştırılmalıdır. Bu sayede ithalata harcanan döviz oranının azaltılması ve ülkemize döviz girdisinin artması sağlanmalıdır (Telci, 2001).

1.3. *Mentha pulegium* L.

Mentha pulegium (*M. pulegium*), Lamiaceae ailesine ait, Amerika'da doğallaştırılan ve Avrupa, Asya, Arap ülkeleri ve Etiyopya'da yetişen aromatik bir bitkidir (Teixeira vd., 2012). Türkiye ılıman iklim kuşağında bulunmakta olup, barındırdığı bitki çeşitliliği bakımından çevresindeki birçok ülkeden farklı olan özelliğiyle dikkat çeker. Türkiye'de bulunan bitki türlerinin sayısı, Avrupa'da yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı ile yarışmaktadır. Son yıllarda yapılan keşiflerin de eklenmesiyle, Türkiye'nin 12.000 dolaylarında bitki türüne sahip olduğu saptanmıştır (Erik ve Tarıkahya, 2004).

M. pulegium L. Türkiye'de bulunan türler arasında yer almakla beraber Ballıbbagiller familyasının *Mentha* türlerinden birisi olup, genel olarak 2000 rakımın üzerinde yetişen yaygın adı Yarpuz (Pennyroyal) olarak bilinen türdür (Chalchat vd., 2000). Yarpuz bitkisi uçucu yağlar bakımından oldukça zengin olup, uçucu yağında majör komponent olarak pulegon bulunur. Pulegon'dan farklı olarak piperiton, menthol, menthon gibi diğer maddeleri de barındırmaktadır (Başer vd., 1999; Öztürk vd., 2002).

M. pulegium yaklaşık olarak 10-50 cm uzayabilen, dayanıklı çok yıllık otsu bir bitkidir. Dik olarak veya toprağa yatarak gelişen iki çeşidi vardır. Gövdesi ve yaprakları tüylerle kaplıdır. Yaprakları oval şekilli olup kısa saplıdır. Çiçekleri yaprakların hemen üstünde bulunur. Çiçeklerinin uçuk mor rengindedir. Bitki, döktüğü minik tohumlarıyla çoğalır. Kuvvetli ve keskin bir kokuya sahiptir. *M. pulegium* bitkisinin yapraklarında bol miktarda glutatyon, askorbik asit, B₂ ve B₆ vitaminlerinin bulunduğu ve fenolik bileşiklerce zengin olması sebebiyle de güçlü bir doğal antioksidan kaynağı olarak rapor edilmiştir (Çöteli vd., 2013).

Bitlis yöresinde *M. pulegium* kurutulmuş olarak tüketilmektedir. *M. pulegium* bitkisi çiçek açmadan koparılır ve karanlık bir ortamda kurutulur. Genellikle yemeklere katılarak tüketilen

yarpuz bitkisi bazen de su ile kaynatılarak tüketilmektedir. *M. pulegium* bitkisi Bitlis yöresinde mide kasılmaları, mide yanması ve bulantısına iyi geldiği için yoğurda karıştırılıp da tüketilmektedir.

M. pulegium bitkisinde bulunan uçucu yağlar çeşitli araştırmalarda kullanılmış olup özellikle lavralar üzerinde öldürücü etkisiyle ön plana çıkmıştır. Yapılan çalışmalara göre yarpuz bitkisinin uçucu yağları lavra ve yumurtalarda %100 ölüm oranı ile en etkili uçucu yağ olarak kayda geçmektedir (Lamiri vd., 2001). Bununla beraber, yaydığı keskin koku ile de bitkilerin polen ve tohumlarının diğer bitkilere yayılmasını kolaylaştırması yönünden oldukça önemli bir rolü üstlenmekte olup ekolojik dengenin korunmasına yardımcı olmaktadır (Laborda vd., 2013).

1.4. *Mentha Pulegium*'un Kimyasal Yapısı

M. pulegium'un kimyasal içeriğinin yetiştiği bölge özelliklerine göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. El Ghorab vd (2006) yaptıkları bir çalışmada Mısır'da yetişen yarpuzun uçucu yağ kompozisyon analizi sonucunda 53 farklı komponent tespit edilmiş bunlardan majör komponentlerin % 43.5 oranında pulegon, % 12.2 piperitone, % 6.5 p-mentan-1,2,3-triol, % 3.6 γ -elemenene, % 3.0 guaiene (cis- β), %2.6 karvakrol asetat ve 2.4 % feniletanol olduğu saptamışlardır (El-Ghorab 2006).

Mkaddem vd 2004 yılında yaptıkları bir araştırmada Tunus'ta yetişen *M. pulegium*'un uçucu yağ kompozisyonunda 34 farklı bileşik tespit etmişlerdir. Bu bileşiklerden majör olarak % 41.8 pulegone, % 11.3 isomenton ve karvon % 6.2 olarak bildirmiştir (Mkaddem vd, 2007).

Lorenzo vd (2002) yaptıkları bir araştırmada *M. pulegium* bitkisinde, pulegone oranını %73.4, isomenton miktarını %12.9, menton düzeyini ise %3.6 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada oksijen içeren monoterpenlerin oranı ise %94.3 olarak tespit edilmiştir. Monoterpen hidrokarbon oranı ise %2.2 olarak bulunmuştur. Aynı araştırmada, *Mentha rotundifolia* bitkisinde ise piperitenone oksid oranı % 80.8 olarak belirlerken, oksijen içeren monoterpen oranını ise % 84.6 olarak saptamışlardır. Monoterpen hidrokarbon oranı ise %5.3 olarak belirlenmiştir (Lorenzo vd., 2002).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Sarıkürkçü vd (2012) *M. pulegium* bitkisinin uçucu yağ analizinde majör komponent olarak pulegone oranını % 71.47 olarak belirlerken menthone oranını ise % 7.67 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada monoterpen hidrokarbon oranı %3.7 olarak bulunurken, oksijen ile doyurulmuş monoterpen miktarı %93.76 olarak bulunmuştur (Sarıkurkcu vd., 2012).

1.5. Terpenler

Yüzyıldan bu yana bazı bitkilerin çiçek, yaprak, dal, kök, gövde ve meyvelerinde hoş kokulu ve uçucu maddelerin bulunduğu bilinmektedir. Bu maddelere uçucu yağlar (esansiyel yağlar) ve eterik yağlar da denmektedir (Pinder, 1960).

Terpenler hücrelerin çok az miktarda içerdikleri ve 5 karbonlu bir hidrokarbon olan izopren yapıtaşlarından ibaret bileşiklere denir. Terpenler, iki ya da daha fazla izopren'in bir araya gelerek oluşturdukları hidrokarbonlardır. Bulundurdukları izopren sayısına göre; hemiterpenler (C5), monoterpenler (C10), seskiterpenler (C15), diterpenler (C20), triterpenler (C30) gibi gruplara ayrılır. Terpenler doğada genellikle terpenoid yani terpenlerin oksijenli türevi halinde bulunurlar. Terpenoidler genellikle bitkilerin tohumundan, çiçeğinden, gövdesinden, meyvesinden, kökünden elde edilen uçucu yağlarda bulunur (Thormar, 2010).

1.5.1. Hemiterpenler (C5)

Sadece bir tek izopren birimi içeren en küçük terpen grubunu oluşturmaktadır. En çok bilinen hemiterpen ise fotosentetik dokulardan salınan uçucu bir ürün olan izoprendir. İzopren enzim sentezi, birçok bitki türünün yaprak plastidlerinde yer almaktadır (Croteau vd., 2000).

1.5.2. Monoterpenler (C10)

Esansiyel yağlar bitkilerin uçucu yağ kısmını kapsar. Bitkilerin karakteristik özelliklerine ve kokularına sahiptir. Monoterpenler yapısında iki izopren birimi içeren terpen grubu olup 10 karbon atomu taşıyan izoprenoid grubundadır. Güzel koku ve güzel tat verici olarak parfüm ve gıda sanayisinde kullanılan esansiyel bitki uçucu yağları, yüzyıllardır böcekleri ve haşereleri kovmak için ve tarih boyunca medikal ilaç olarak kullanılmıştır. Örneğin; yapılan merhem ve ilaçların vücut yaralarında, mide ağrılarında ve üşütmelerde kullanılması gibi (Stammati vd., 1999; Muehlbauer vd., 2003).

1.5.3. Seskiterpenler (C15)

Seskiterpenler 15 karbonlu bileşiklerdir. Monoterpenlerin yapıtaşı olan geranil pirofosfat molekülü, izopentenil pirofosfat ile kondenzasyona uğrayarak seskiterpenleri oluştururlar. Terpenlerin en geniş sınıfını oluşturan seskiterpenler aynı zamanda dünyada da geniş bir

dağılıma sahiptirler. Bu terpenler hem uçucu hem de büyük molekülü olanları ise uçucu olmayan terpenler sınıfında da yer alır. Seskiterpenler asiklik, monosiklik, bisiklik, trisiklik ve tetrasiklik olarak 5 ayrı formda bulunabilirler (Robbers vd., 1996).

1.5.4. Diterpenler(C20)

Diterpenler bitkilerde yaygın olarak bulunan 20 karbonlu olup 4 izopren grubundan oluşmuş bileşiklerdir. 20 C'lu diterpenler daha az toksik olup daha basit bir yapıya sahiptir. 19C'lu yapısında bir N atomu taşıyan diterpen alkaloidleri ise daha karmaşık bir yapıya sahip olup aşırı toksik bileşiklerdir. Doğal bileşikler içinde önemli bir yeri oluşturan diterpenler antitümör, antibiyotik, insektisit özellik gösterirler (Robbers vd., 1996).

1.5.5. Triterpenler

Triterpenler Altı tane izopren içeren (30 karbonlu) terpen bileşiklerine denir. Karmaşık bir yapıya sahip olan aldehit, alkol ve karboksilik asitten oluşan erime noktası yüksek, rengi olmayan bileşiklerdir. Triterpenlerin antibakteriyel, antiviral, anti-HIV-1, hepato koruyucu, antioksidasyon, antihipertansif ve kolesterol azaltıcı etkilere sahiptir (Harborne, 1988).

1.6. Fenolik Bileşikler

Bitkilerde doğal olarak bulunan kimyasal bileşikleri tanımlamak için kullanılan, yüksek asitlik seviyesine sahip antioksidan olan fenolik bileşikler bitkilerin savunma mekanizmasında görev almaktadırlar. Parazit, virüs, bakteri gibi zararlı mikroorganizmalara karşı etki gösterirler. Bitkisel ürünlerin doğal tat, koku ve renkleri bu kimyasal bileşikler sağlar (Bohn, 2014).

1.6.1. Flavonoidler

Bitkisel ürünlerde bol olarak bulunan sayıları 4000'in üzerinde olduğu tahmin edilen baklagiller, soğan, çay, elma ve domates gibi ürünlerde bol miktarda bulunan antioksidan özelliğiyle beraber antiviral, antialerjik, antiinflamatuvar ve diğer özelliklerinin bulunduğu bileşiklerdir (Stavric, 1994).

1.6.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmayan fenol halkasına bağlı hidroksil grupları aktif olan şekerlerle birleşip glikozitleri oluşturan, karboksil grupları aminoasit karbonhidrat ve proteinlerle reaksiyona giren asitlerdir (Yıldız ve Baysal, 2003).

1.6.3. Tanenler

Tannik asit olarak da bilinen su, etanol ve asetonda eriyen, bitkilerde bulunan eter, kloroform gibi çözücülerde az eriyen, bitkilerin hemen hemen tüm organlarında bulunan fenolik asit moleküllerinin basit şekerlerle oluşturduğu esterlerdir. Tanenler doğada yapılı bitkilerin familyasında yaygın olarak bulunur. Özellikleri, proteinler ile kararlı çapraz bağlar oluşturacak yeterli miktarda fenolik hidroksil grubu içermesidir (Deshpande vd., 1986).

1.6.4. Stilbenler

Stilbenlerin en yaygın bileşiği bitki dünyasında oldukça yaygın resveratrol olmakla beraber resveratrol üzümün dış kabuğu ve kırmızı şarapta yüksek miktarda bulunur (Espin vd., 2007).

1.6.5. Lignanlar

Lignanlar insanlarda östrojenik etkinlik gösteren enterolakton ve enterodiol bileşikleriyle benzer yapıya sahip olup keten tohumunda yüksek miktarda bulunan bileşiklerdir (Özkaynak ve Ova, 2008).

1.7. Antioksidanlar

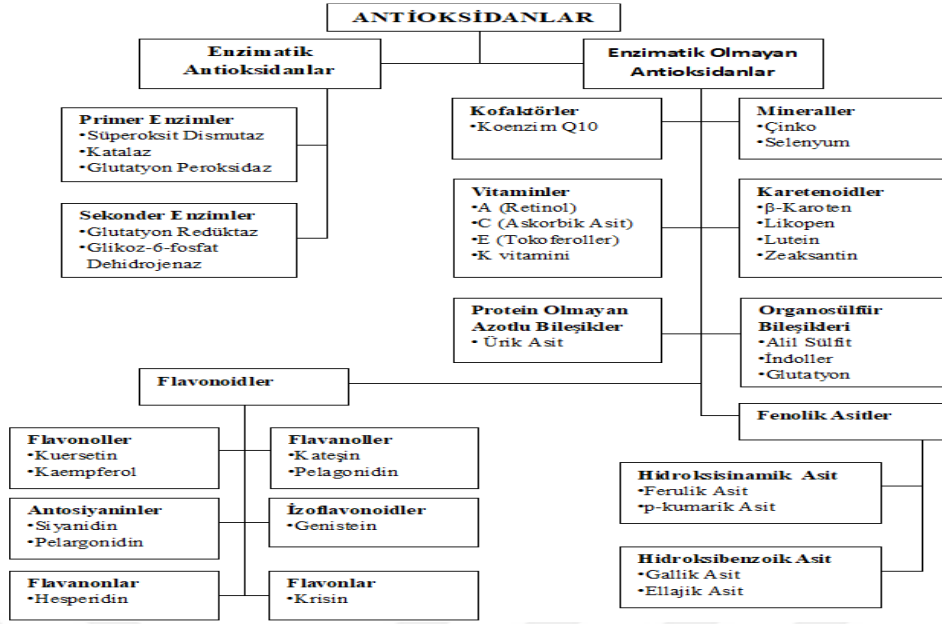
Serbest radikaller eşlenmemiş elektronları bulunduğundan dolayı diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona giren dış orbitalinde bir ya da birden fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller endojen (iç kaynaklar) ve eksojen (dış kaynak) kaynaklı olmak üzere iki çeşittir (Bast vd., 1991). Serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, serbest radikallerin toksik etkilerinden hücreleri korumak ve

hastalıkları önlemede etkinlik sağlayan ve hücre hasarını önlemeye yardımcı olan vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidanlar denmektedir (Pham-Huy vd., 2008).

İnsanların satın aldıkları gıdaların özelliklerini ve sağlık üzerindeki olumlu olumsuz etkilerini sorgulamaları, hayat standardının yükselmesi, kanser, kalp krizleri, diabet gibi hastalıklardan dolayı ölüm oranlarının aşırı yükselmesi, sigara, alkol stres gibi risk faktörleri yaşamı sağlıklı bir şekilde sürdürebilme ve hastalıkları önleme yollarının araştırılmasını sağlamıştır. Bundan ötürü insan vücudu üzerinde doğal sebze, bitki ve meyvelerin etkileri geçtikçe önem kazanmaktadır. Antioksidan kaynaklarla alınan antioksidanların zararlı maddelerin etkisine karşı koruyucu bir kalkan oluşturması doğal ürünlere olan ilgiyi arttırmıştır (Etherton vd., 2002).

Antioksidanlar, dört farklı mekanizma ile oksidanları pasifize ederler (Memişoğulları, 2005):

- **Temizleme (Scavenging) etkisi:** Hedef Oksidanları zayıf bir molekül haline getirme şeklinde meydana gelmektedir.
- **Baskılama (Quencher) etkisi:** Oksidan maddelere karşı bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde ve bu çoğunlukla flavonoidler tarafından yapılmaktadır.
- **Onarma etkisi:** Oksidanların hücrelere karşı oluşturduğu hasarı ortadan kaldırıp onarma şeklinde etki göstermektedirler.
- **Zincir koparma etkisi:** Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin ve E vitamini tarafından gerçekleştirilmektedir.



Şekil 1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması (Carocho ve Ferreira, 2013).

1.7.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres serbest radikaller ve antioksidanlar arasında olan dengenin serbest radikaller lehine olmasına yani serbest radikallerin oluşumunun artmasıdır. Oksidatif stres, insan vücudunda oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin, oksidanlar lehine bozulması olarak da tanımlanmaktadır (Bhuvaramurthy vd., 1996).

1.8. Antimikrobiyal ve Antifungal Etki

Tıbbi ve aromatik bitkiler asırlardır hastalıkları tedavi etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmıştır. Son yıllarda, geleneksel tıp üzerine olan ilginin artması, geleneksel tıbbın alternatif sağlık hizmeti olarak kabul edilmesi ve insan vücudunun antibiyotiklere karşı direncinin azalması gibi gelişmeler araştırmacıları bitkilerin antimikrobiyal etkilerini araştırmaya yöneltmiştir (Lis-Balchin ve Deans, 1996). Bazı araştırmalar *M.pulegium* bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan etkisi olduğunu göstermiştir (Sivropoulou vd., 1995; Mahboubi ve Haghi, 2008).

Buna ek olarak, bazı bitkilerin doğal ekstraktlarında fungisital etkili bileşikler mevcuttur. Bu bileşikler antifungal etkiye sahip olup miktar ve özellik olarak esansiyel yağ çeşidine göre antifungal etkilerde farklılıklar göstermektedir (Nguefack vd., 2009). *M. pulegium*'un antifungal (Hmiri vd., 2011) ve antimikrobiyal özellikleri bildirilmiştir (Mahboubi ve Haghi, 2008).

Yapılan bir araştırmada ise nane içeriğinde bulunan mentol ve mentonun antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Kıvanç ve Akgl, 1989).

1.9. Antienflamatuar Etki

Antienflamatuar iltihabi reaksiyonu, yangıyı önleyici anlamında kullanılır. M.S 30 yılında ilk defa inflamasyon tanımı yapılmış olup 1897’de ise Felix Hoffman aspirini ağızdan kullanım için uygun hale getirmiş ve iki yıl sonra aspirin ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Başlangıçta ağrı kesici olarak kullanılan aspirin, 20. Yüzyılın başlarında artan grip salgını sonrası grip için kullanılmıştır (Jack, 1997).

Çeşitli bitkiler inflamasyon semptomlarını gidermek için kullanılmıştır. İnflamasyon’un 5 belirtisi bulunmaktadır. İnflame bölgede sıcaklık artışı, ağrı, kızarıklık, şişlik ve işlevin kaybıdır. Bu belirtileri en aza indirmek ve bitirmek için nonsteroid antienflamatuar ilaçlar (NSAİİ) veya tıbbi bitkiler kullanılmaktadır (zalp Dural, 2002).

Yaralanmalarda meydana gelen inflamasyonun tedavisinde antienflamatuar, antiseptik, antimikrobiyal etkilerle sahip olan bitkiler kullanıldığında yaraların daha kısa bir zamanda iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (Yeşilada vd., 1999).

1.10. Enzimler

Yüzyıllardan beri yoğurt, peynir, şarap yapımında enzimler kullanılmaktadır. 1825 yılında Jakob Berzelius, nişastanın sindirilmesi için etkili olan bitkisel enzimler üzerinde çalışmalar yapmıştır. İlk 1878 yılında Khne tarafından kullanılan enzim kelimesi Yunanca’da "mayalanmak" anlamına gelmektedir. Alman fizyolojist Eduard Buchner ise fermentasyonun canlı içermeyen ortamlarda da oluştuğunu göstererek ve Nobel Kimya dln 1907 yılında almaya hak kazanmıştır (Hammamchi, 2014).

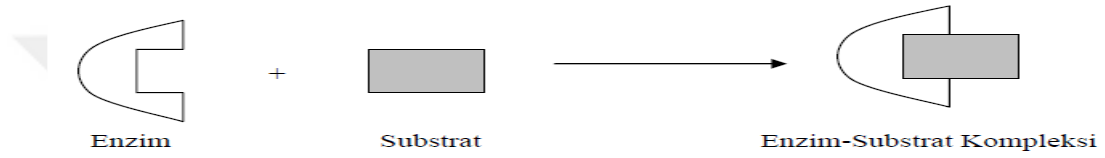
Enzimler diğer adı ile biyolojik katalizörler hücrelerde biyokimyasal reaksiyonların hızını artıran protein yapısında olan hücrelerde metabolik görevleri olan moleküllerdir. Her enzim için ayrı bir pH değeri vardır. Bu değerlerin dışında enzimlerin aktivitesi düşer. Her enzimin aktivite değeri birbirinden farklıdır (Bhat, 2000).

Enzimler yapısal açıdan basit ve bileşik enzim olmak üzere ikiye grupta incelenir. Basit enzimler yani apoenzim sadece proteinden oluşan enzim türü olup sindirim enzimlerinin tamamı basit enzimdir. Bileşik enzimler yani holoenzim protein olan kısım ve protein olmayan yardımcı kısımlardan meydana gelen enzimdir. Protein kısım enzimin hangi maddeye etki edeceğini

belirler. Yardımcı kısım organik ise koenzim, inorganik ise kofaktör denir. Koenzim veya kofaktör, substratı etkiler ve enzimi aktive ederler (Pandey ve Ramachandran, 2006).

1.10.1. Enzimlerin Özellikleri:

- Enzimler RNA molekülü dışında protein yapısındadır.
- Katalitik aktiviteleri çok yüksektir.
- Enzimlerin etki ettiği maddelere substrat denir ve her enzim sadece bir substrata etki eder.
- Enzim ile substrat birbirleri ile bağlanması anahtar-kilit ilişkisine benzerdir.



Şekil 1.2. Enzim Substrat Anahtar-Kilit modeli (Kaya, 1993).

- Substratın yüzeyi ne kadar fazla ise enzimin aktivitesi o kadar yüksek olur.
- Her hücrede kimyasal reaksiyon çeşidi kadar enzim bulunmaktadır.
- Enzimler tepkimeleri başlatmazlar, başlayan tepkimeleri hızlandırır.
- Enzimler 6 ana gruba ayrılmaktadırlar (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

-Oksiredüktazlar

İki substrat arasında redoks reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Dehidrogenazlar veya oksidazlar olarak da bilinmektedirler. Örnek olarak; laktat dehidrogenaz, katalaz verilebilir.

- Transferazlar

İki substrat arasında hidrojen dışındaki grubun transferini katalize eden enzimlerdir. Örnek; glutamik pirüvik transaminaz, fosforilaz vb.

- Hidrolazlar

Eter, peptid, glikozid gibi bağların suyun katılımıyla hidroliz olayını katalize eden enzimlere denir. Örnek; amilaz, proteazlar, karbonhidrazlar, lipazlar vb.

-Liyazlar

Hidrolizden farklı bir mekanizma ile substratlardan grupların uzaklaştırılıp, çift bağların oluşturulduğu reaksiyonları katalize eden enzimlere denir. Örnek; pirüvat dekarboksilaz, sitrat sentaz, adenilat siklaz vb.

-İzomerazlar

Optik, geometrik ve yapısal izomerlerin birbirine dönüştürülmesini katalize eden enzimlere denir. Örnek; triozfosfat izomeraz, glukoz-6-fosfat izomeraz vb.

-Ligazlar

Yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden, fosfat bağlarının kopmasını sağlayarak moleküller arasındaki bağlanmayı sağlayan enzimlerdir. Örnek; DNA ligaz vb. (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

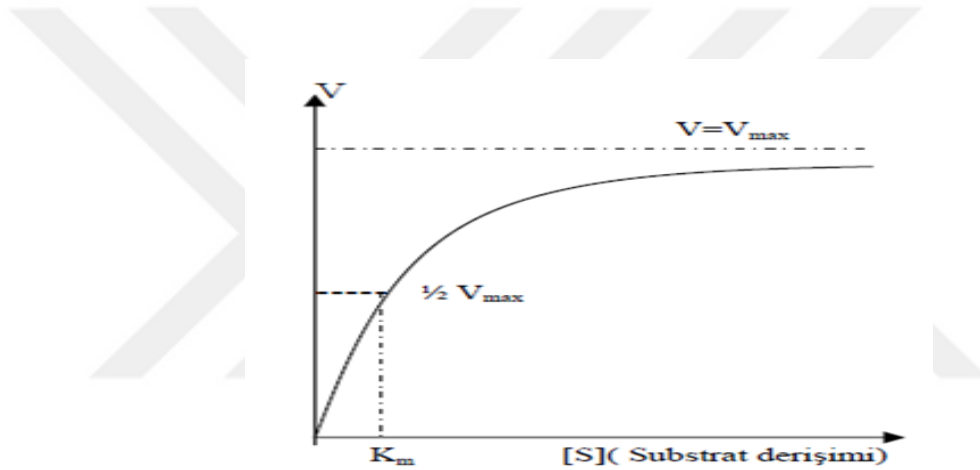
1.10.2. Multienzim Sistemleri

Enzimler sağlam hücrede bir arada ve hızlı bir şekilde çalışırlar ve birçok reaksiyonu katalize ederler. Birinci enzimin ürünü daha sonraki enzimin substratını oluşturan enzim sistemine multienzim sistemleri denir ve üç şekilde moleküler yapıya sahiptirler.

En basit multienzim sisteminde enzimler bir sıvı içerisinde çözülmüş ve birbirinden ayrı bir şekilde bulunurlar ve küçük substratlar difüzyonla bir enzimden diğer enzime geçiş sağlarlar. İkinci tip multienzim sisteminde ise enzimler fiziksel olarak birleşmiş, fonksiyonları beraber olarak gerçekleştirir. Multienzim grubundan ayrılan enzimler aktivitelerini kaybederler. Üçüncü tip multienzimlerde ise membramlar veya ribozom gibi yapıların üzerine dizilmiş halde enzimler bulunur (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

1.10.3. Enzim Kinetiği

Deneysel istatistiklerdeki değişmelerle enzimatik tepkimelerin hızları arasındaki ilişkileri ifade eden enzimatik tepkimenin hızı, enzim etkisiyle birim zamanda (1 saniyede) ürüne dönüşen substratın miktarına göre ilişkileri ifade eder. Substratların ürüne dönüşünde reaksiyon hızının ve izlenen yolun bilinmesidir. Enzim kinetiğinin bilinmesi gereken unsuru ise enzim-substrat yoğunluğundaki orandır. Bu yoğunluk enzim tarafında ise reaksiyon hızı artar ve substratların yoğunlukta olduğu reaksiyonların hızı da düşer. İlgili en önemli unsur enzimin substrat yoğunluğu arasındaki orandır. Aşırı miktarda substratın artırılması durumunda ise reaksiyon hızı olarak sabitleşir enzim ve substrat arasında doygunluk oluşur ve reaksiyon hızında hiçbir değişme meydana gelmez (Keha ve Küfrevioğlu, 2010).



Şekil 1.3. Michaelis-Menten Doygunluk Grafiği (Bingöl, 1977).

Enzimler tarafından bir saniyede ürüne çevrilen molekül sayısına turnover sayısı denir ve ‘kcat’ sembolü ile gösterilir. Henri ve arkadaşı Brown 1903 yılında enzim ve substrat ile enzim-substrat arasında bir dengenin olduğunu önermiştir. Bu öneriden sonra Michaelis ve Menten ile arkadaşları gibi Henri’nin 6 denklemini doğrulayıp üzerinde çeşitli çalışmalar yapıp doğrulamışlardır. Bu reaksiyonlar enzimin eksilmediğini, yerine bir geri dönüşüm katalizörünün olduğunu kabul ederler. İlk aşamada serbest bir E kompleksi oluşturmak için serbest enzimin (E) ve substratın (S) hızlı bir şekilde dengelenmesi işlemidir. Bunu, ES (enzim substrat kompleksi)’nin E + P’ ye (oluşan ürün) hız sınırlayıcı ayrılması takip eder. E, S ve ES arasındaki hızlı denge reaksiyon boyunca korunur (Segel, 2013).

Michaelis-Menten’in 1913 yılında oluşturdukları mekanizmaları, büyük enzim molekül toplulukları için katalitik etkinliklerin oldukça doyurucu bir tanımını sağlamıştır. Enzim kinetiği, enzim aktivitelerinin karakterizasyonu önemli bir yere sahiptir (Fersht, 1999).

1.10.4. Enzim İnhibisyonu

Hem hücre içinde hem de hücre dışındaki aktivitelerinin diğer bileşikler tarafından azaltılması ya da yok edilmesi olayına inhibisyon denir. Buna neden olan bileşiklere ise inhibitör adı verilmekte olup, inhibitörler genellikle iyonlar veya küçük molekül ağırlığındaki bileşiklerdir. İnhibitörler enzimin katalitik görevini yerine getirmesini engeller. İnhibitörler enzim aktivitelerinin inhibisyonu için kontrol mekanizması oluşturur ve enzimlerin etki mekanizmalarının incelenmesinde yardımcı olur (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

Enzimatik inhibisyon dönüşümsüz ve dönüşümlü olmak üzere iki çeşittir. Dönüşümsüz inhibitör enzime kovalent olarak ya da kompleks olarak bağlanır ve bazı enzimleri yok ederler. Dönüşümlü inhibitörlerden olan yarışmalı inhibitörlerde inhibitör substrata benzemektedir. Substrat ile inhibitör bir yarışın içerisinde ve substrat yoğunluğunu arttırmak bu durumu çözmeye yardımcı olur. Fakat yarışmasız inhibitörlerde inhibitör enzimin farklı bir noktasına bağlanır ve substrata benzemez. Böyle bir durumda substrat yoğunluğunu arttırmak çare olmaz (Keha ve Küfrevioğlu, 1997).

1.10.5. Araşidonik Asit Metabolizması

Doymamış yağ asitleri hücre membranının yapısal ve işlevsel bütünlüğünün korunmasında rol oynamaktadır (Sargent vd, 1999). Araşidonik asit 20 karbonlu, 4 adet çift bağ içeren, hücre zarında esterleşmiş olarak bulunan inflamasyon sonucunda hücre zarından enzimlerin etkisiyle ayrılan doymamış yağ asitidir. Hücre zarı fosfolipidlerinin enzimler aracılığıyla hidrolizi sonucunda serbest hale geçerler. Hayvanlarda fosfolipit metabolizmasının önemli bileşenlerinden biridir. ARA hücre zarında bulunup fosfolipid sentezinin belli bir kısmında görev almaktadır (Marnett vd., 1999).

Eikozanoidlerin çoğunun biyosentezi araşidonik asitle başlar. Eikozanoidler, çoklu doymamış yağ asitlerinin metabozima sonucu ortaya çıkan oksijenli metabolitleri olup vücuttaki tüm büyük yollarda tanımlanırlar ve farklı fizyolojik reaksiyonlara katılım sağlarlar. eikozanoidler vücutun tüm dokularında ve vücut sıvılarında bulunmakta olup hastalıklarla savaşmada önemli role sahiptirler. Memelilerdeki eikozanoidlerin sentezi ARA'den siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX) ve sitokrom p-450 (CYP) yolları ile gerçekleşmektedir (Yuan vd., 2014).

1.10.6. Siklooksijenaz Yolağı

Araşidonik asitten prostaglandin H₂'ye (PGH₂) sentezlenmesi sonucunda eikosanoitlerin sentezi iki temel yolla gerçekleşir ve bunlardan biri olan siklooksijenaz yolağı prostaglandin ve tromboksanların sentezlediği yoldur. Siklooksijenaz yolunda prostaglandin sentezi için hücre membranından serbest hale gelen araşidonik asit, siklooksijenaz (COX) enziminin etkisiyle de prostaglandin endoperoksit üzerinden prostaglandin H₂'ye (PGH₂) dönüştürülür. COX, endoplazmik retikulumda ve çekirdek membranına bağlı olan bir enzimdir. Yapısal yani (COX-1) ve uyarılan yani (COX-2) olmak üzere iki farklı izoformu yani farklı genler tarafından sentez edilen iki tipi vardır (Harris vd., 2014).

Siklooksijenaz, AA'nın önemli anahtar enzimi olmasının yanında reaktif oksidan metabolitlerin oluşmasından sorumlu enzimlerden biri olma özelliğine sahiptir (Rouzer ve Marnett, 2003). Siklooksijenaz inhibitörlerinin enflamasyona neden olan serbest radikal hasarını önleyerek enflamasyonun tedavisine büyük katkı sağladıkları biliniyor (Kara vd., 2004).

1.11. COX-1 ve COX-2 Enzimleri

COX enzimi ilk defa 1971'de tanımlanmıştır ve COX enziminin ikinci izomeri olduğu 1980'lerde tespit edilmiştir (Merlie vd., 1988).

COX-1 enzimi üretildiği hücrelerde sürekli olarak sentez edilmesi yani yapısal(konstitütif) olması onu COX-2 enziminden ayıran en önemli özelliğidir. COX enzimatik reaksiyonları analjezik inflamatuvar ilaçlar tarafından aktiviteleri durdurulabilir yani inhibite olurlar. Vücudumuzda baskın olan çeşit COX-1'dir ve aynı zamanda fizyolojik uyarılarla COX-1 enzimi etki aktivite olur. COX-1 izoenzimi organizmada dengenin sağlanıp devam ettirilmesi için gereklidir. COX-1 enzimi memelilerde normal fizyolojik şartlar halinde mide mukozasında, damarların iç kısmında, kalp, böbrek tübüllerinde ve trombositlerde bol miktarda bulunmaktadır (Tolba vd., 2014).

COX-2 enzimi vücutta inflamasyon sonucu kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı oluşmasına tepkiyen hızla çoğu hücrede normal olarak düşük seviyelerde bulunurken, hızla pek çok hücrede çoğalarak PGI₂ (prostasiklin) sentezinde görev alan ve genellikle enzimlerin aktivitesinin artması sonucu oluşan bir izoformdur. COX-2'nin farklı hücrelerdeki enzimlerin ve diğer proteinlerin ekspresyonunu yükselttiği ve birkaç uyarıcı faktör aracılığıyla, sitokinler tarafından enzim aktivitesinin arttığı veya regülasyonunda artışa neden olduğu bilinmektedir (Flavahan, 2007).

Yapılan alışmalarda COX-2'nin patofizyolojik rolüne ek olarak da fizyolojik rolünün de olduğu tespit edilmiş ve bundan ötürü COX inhibitörlerinin yan etkilere sahip olması kaçınılmaz olmuştur (Mukherjee, 2002). Asetil salisilik asit (aspirin), asetaminofen tarzı non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar COX-1 ve COX-2 izoenzimlerini inhibe ederek prostaglandin sentezini baskılar ve etki ederler. Aspirin etkisini yapısındaki asetil grubunu yollayarak enzimi geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe etmek suretiyle gerçekleştirirler. NSAİ ilaçlar iki enzimi birden inhibe ederken, COX-2 inhibitörleri indüklenenir ve COX-2 inhibisyonu yapmakta ve NSAİ ilaçlarda görülen yan etkileri oluşturmaksızın etki yapmaktadırlar (Haşelik, 2001).



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışma materyali olan *M.pulegium* Mayıs-Temmuz 2020 aylarında köküyle beraber bitkiye zarar vermeyecek şekilde Bitlis İli Koruk Köyü civarından toplandı. Bitki örneğinin metanol ekstraktı hazırlandı. Çözücü ortamdan uzaklaştırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra kalan kısımdan ultrasaf su ortamına alınarak 7,98 mg/mL lik çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözelti taze olarak kullanıldı. Bitkilerin toplanması ve bilimsel teşhisi YYÜ Eğitim Fakütesi Biyoloji Bölümü Öğretim Elemanı Mehmet FIRAT tarafından yapıldı.

2.2. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, serbest radikal) serbest radikal temizleme aktivitesi (Brand-Williams vd, 1995) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Yöntemde minör modifikasyon yapıldı. Serbest radikal olarak 25 mg/L DPPH metanolde hazırlanılarak kullanıldı. Hazırlanan 7,98 mg/mL stok çözelti 10 kat seyreltilerek deney tüplerine sırasıyla 10, 20, 30, 40, 50 µL alındı ve DPPH testinde kullanıldı. Numuneler oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda absorbanları 517 nm'de blanka karşı (metanol) spektrofotometrede okundu. Reaksiyon ortamından temizlenen DPPH miktarı;

% İnhibisyon = $(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ formülüyle hesaplandı.

A_0 kontrolün absorbanı, A_1 örneklerin absorbanı olarak alındı.

2.3.CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Bir cam tüp içerisine bakır (II) çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırayla 1'er mL eklendi. Üzerine antioksidan çözeltisi 7,98 mg/mL stok çözülden 10 kat seyreltilerek deney tüplerine sırasıyla 10, 20, 30, 40, 50 µL alınarak kullanıldı ve distile su eklenir. Toplam hacim 4 mL'ye tamamlandı. Elde edilen çözelti oda koşullarında ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildi. 450 nm'de absorban değeri ölçüldü (Apak vd. 2004). Askorbik asit (AsA) standart olarak kullanıldı. Askorbik asitten $4,44 \times 10^{-4}$ M stok çözelti alınarak kullanıldı. AsA stok çözeltisinden 50 µL alınarak normal test prosedürü uygulandı. Toplam antioksidan kapasite askorbik asit cinsinden hesaplandı. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapıldı.

TAK (mmol AA/g-örnek) = $A / \epsilon \times V_t / V_0 \times S.F \times V_e/m$

A: 450 nm'de ölçülen örnek absorbansı

ε: AsA bileşiğinin CUPRAC yöntemindeki molar absorplama katsayısı

Vt: CUPRAC ölçüm çözeltisinin toplam hacmi (4.1 mL)

Vö: Örnek hacmi (mL)

S.f.: Seyreltme faktörü

Ve: Hazırlanan ekstrenin hacmi (mL)

m: Ekstraksiyon işleminde alınan örnek miktarı (g)

2.4. Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon metoduna göre çalışıldı (NCCLS,1997). Bakteri izolatları Mueller Hinton Broth (OXOID), mantar suşları ise SD Broth (DIFCO) sıvı besiyerine ekilerek $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyonla aktifleştirildi ve yoğunlukları MCFarland 0.5'e (108 CFU/mL) göre ayarlandı (Barry ve Thornsberry, 1985). Bakteriler Mueller Hinton Agar (OXOID), maya mantarı Sabouraud Dextrose Agar (OXOID) besiyerlerine 100 µl bırakılarak cam baget ile sürülerek kuruması için 15 dakika beklendi. 25 µl bitki ekstraları 6 mm çaplı steril standart disklere emdirilerek kültür ortamına bırakıldı (Barry ve Thornsberry, 1985). Sonrasında numuneler 24 saat süre ile 37°C sıcaklıkta inkübe edilerek inhibisyon çapları belirlendi. Antimikrobiyal çalışmada diğer testlerdeki bitki miktarına eşdeğer miktarda alınarak DMSO'da çözüldü.

2.5. COX-1 Enzim İnhibisyon Tespiti

Ticari kitler kullanılarak (Cayman Chemicals COX ovine/human Inhibitor Screening Assay Kit tem No. 560131) yapıldı. Çalışma iki tekrarlı olarak yapıldı. Absorbanslar 70. dakikada, Mikro Elisa plate okuyucuda okundu. Hesaplamalar kit prosedürüne göre yapıldı. Çalışmada bitki ekstraktı 10 kat seyreltilerek kullanıldı.

2.6. COX-2 Enzim İnhibisyon Tespiti

Ticari kitler kullanılarak (Cayman Chemical COX ovine/human Inhibitor Screening Assay Kit tem No.560131) yapıldı. Çalışma iki tekrarlı olarak yapıldı. Sonuçlar Mikro Elisa plate okuyucuda okundu. Absorbanslar 70. dakikada, Mikro Elisa plate okuyucuda okundu.

Hesaplamalar kit prosedürüne göre yapıldı. Çalışmada bitki ekstraktı 10 kat seyreltilerek kullanıldı.

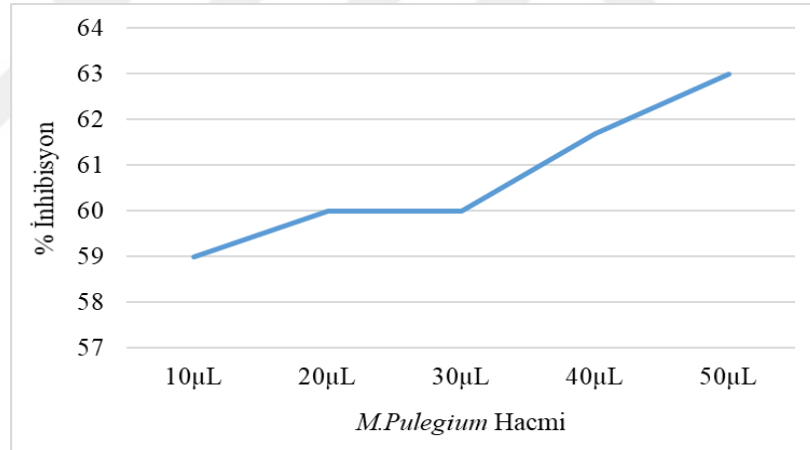
Sunulan çalışma Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BEBAP 2020.006 nolu proje olarak desteklenmiştir.



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tarihsel olarak bitkiler, insanların barınma, yakıt ve gıda gibi ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla önemli bir kaynak olarak kullanılmıştır. Öte yandan bitkiler, insanlığın sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için her zaman halk tıbbının ve modern ilaçların kaynağı olmuştur (Gilani ve Atta-ur-Rahman, 2005; Sharifi-Rad vd., 2018). Farmasötik tıbbın yüksek maliyet ve güvenlik sorunları nedeniyle, bitkilerin hem gıda hem de ilaç olarak kullanımına yönelik yeniden bir ilgi oluşmuştur (Anwar vd, 2016; Jamshed vd., 2015). Bitkilerden elde edilen tıbbi ürünlerin daha güvenli olduğu kabul edilmektedir (Abbas vd., 2017).

Bu bağlamda sunulan çalışma ile *M. pulegium* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerine etkisi incelendi. Antioksidan özellikleri DPPH ve CUPRAC metotları ile spektrofotometrik olarak incelendi. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, *M. pulegium* yapraklarından elde edilen metanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin DPPH testi sonucunda %63 değerine ulaştığı tespit edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *M. pulegium* bitkisinin DPPH testi bulguları

CUPRAC testinde de yine 10 µL-50 µL arasında değişen hacimlerde bitki ekstraktı kullanılarak toplam antioksidan kapasite belirlendi. *M. pulegium* bitkisinin tüm konsantrasyonlarda standart olarak kullanılan AsA'dan daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu saptandı (Çizelge3.1).

Çizelge 3.1. *M. Pulegium* metanol ekstraktı ve AsA'nın CUPRAC testi bulguları. Herbir değer $X \pm SD$ (n=3) olarak gösterilmiştir.

<i>M. Pulegium</i> (μL)	TAK (mmol AsA /g- <i>M. Pulegium</i>)	AsA (M)	TAK (mmol AsA /g)
10 μL	1,532 \pm 0,316	4.44x10 ⁻⁴	0,329 \pm 0,015
20 μL	1,495 \pm 0,014		
30 μL	0,834 \pm 0,041		
40 μL	0,663 \pm 0,113		
50 μL	0,560 \pm 0,034		

Çalışmadan elde edilen sonuçlara paralel olarak, Dzamic vd (2010) *Mentha longifolia* bitkisinin DPPH serbest radikal süpürme etkisini inceledikleri bir çalışmada antioksidan etkinin doza bağımlı olduğunu tespit etmişlerdir (Dzamic vd.,2010). Bardaweel vd (2018) yaptıkları bir araştırmada *Mentha spicata L.*'ni DPPH, ABTS serbest radikal süpürme aktivitesi ve FRAP yöntemi ile yaptıkları araştırmada göstermişlerdir (Bardaweel vd., 2018). Aynı çalışmada *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida glabrata* standart suşları üzerine antimikrobiyal etkisi olduğunu göstermişlerdir. Bir başka çalışmada Poonam ve Anshu (2012) *M. Spicata*'nın süperoksit radikal süpürme aktivitesini farklı fraksiyonlarda test etmişler ve etil asetat, su ve etanol ekstraktlarının diğer fraksiyonlara göre daha yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Poonam ve Anshu, 2012). Mimica-Dukic vd., (2003) *M. piperita* bitkisinin antioksidan kapasitesinin *M. aquatica* ya da *M. longifolia* antioksidan kapasitesinden daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmalarında, *M. piperita*'nın DPPH radikal etkisini IC₅₀, 2.53 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit etmişlerdir (Mimica-Dukic vd., 2003).

Bulaşıcı hastalıklar dünyada tıp alanında gittikçe artan endişelerden biri olarak kabul edilmektedir (Nathan, 2004). Dahası, bazı mikroorganizmaların çoğu zorlu çevre şartlarında yaşayabilmektedir ve çoklu ilaç direnci geliştirebilirler (Ahameethunisa ve Hoper, 2010). Ayrıca az gelişmiş ve gelişmekte olan ve ülkelerde, sentetik ilaçlar bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için hem pahalı hem de standartların altındadır ve yan etkiler sergilerler. Bu durum, mikrobiyal enfeksiyonları kontrol etmede ve bunlarla savaşmada yeni ve daha güvenli doğal antimikrobiyal ajanların araştırılması ihtiyacını doğurur (Ahameethunisa ve Hoper, 2010; Anwar vd., 2017). Bitki bazlı ilaçlar ve bitkisel ilaçlar, aynı zamanda yeni, daha güvenli ve etkili modern ilaçlar geliştirmek için prototip görevi görür (Muhammad vd., 2015; Sahib vd., 2013).

Sunulan çalışmada, *M. pulegium* bitkisinin çalışmada kullanılan standart suşlar üzerine herhangi bir antimikrobiyal etkisi tespit edilemedi. Elde edilen sonuçlardan farklı olarak, Jazani

vd (2009) *M. pulegium*'ın *Klebsiella* spp izolatları üzerine kuvvetli antimikrobiyal etkisini saptamışlardır (Jazani vd., 2009). *Mentha*'nın *Pseudomonas aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Serratia marcesens* ve *Streptococcus aureus* standart suşlarını içeren gram+ ve gram- suşlarına karşı da antibakteriyel etki gösterdiği rapor edilmiştir (Anwar vd., 2017; Saba vd., 2018).

Saba vd (2011) *Mentha piperita*'nın *Escherichia coli*, *Salmonella typhius*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermititis* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı geniş spektrumlu antibakteriyel etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Saba vd., 2011). Farklı bir çalışmada ise *Mentha longifolia*, özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *S. enterica* dahil olmak üzere gram - suşlara karşı güçlü antibakteriyel etkiler sergilemiştir (Haris vd., 2012). Bunlara ek olarak, Padmini vd., (2010) *M. spicata*'nın potansiyel doğal antibakteriyel ajan olduğunu göstermişlerdir (Padmini vd., 2010).

Elde edilen sonuçların farklı olmasının nedeni konsantrasyon ve kullanılan çözücü farklılıklarından olabileceği gibi, çalışmada kullanılan bitkinin yetiştiği bölgedeki toprak ve iklim şartlarından da kaynaklanıyor olabilir.

Çizelge 3.2. *M.Pulegium* 'un antimikrobiyal etki bulguları

<i>Menta Pulegium</i> (mg/mL)	Mikroorganizma	Antimikrobiyal Etki
7,98 mgr/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negatif
	<i>Escherichia coli</i>	Negatif
	<i>Candida albicans</i>	Negatif

İltihabi hastalıklar, dünya çapında önemli sağlık sorunlarından. Enflamasyon, vasküler dokunun patojen ve tahriş edici etkenlere karşı gösterdiği karmaşık bir biyolojik tepki olup şişlik, kızarıklık ve ağrı ile karakterizedir (Ferrero vd., 2007; Palladino vd., 2003). COX enzimleri, ağrı, iltihaplanma ve trombosit agregasyonu ile bağlantılı olan prostasiklinler ve tromboksanlar gibi farklı hormonların biyosentezinde görev alan anahtar enzimler arasındadır (Pilotto vd., 2010). İnflamasyonu azaltmak için kullanılan ilaçlar steroidlere dışında NSAİİ'ler olarak tanımlanır ve bu ilaçların uzun süreli kullanımının mide lezyonları, kardiyovasküler bozukluklar ve böbrek yetmezliği gibi çeşitli yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. (Huerta vd., 2002; Wallace 2001). Bu durum da yeni ilaçların keşfi ihtiyacını desteklemektedir.

Sunulan çalışmada, *M. pulegium* bitkisinin COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerine etkisi ticari kitler ile çalışıldı. COX-1 üzerine %1.64 olarak belirlenirken, COX-2 değerleri kitin ölçüm aralığının dışında kaldığı için hesaplanamadı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. *M.pulegium*'un COX enzimleri üzerine inhibisyon etkisi

Enzim	İnhibitör	% İnhibisyon Değeri
COX-1	<i>M. Pulegium</i>	% 1.64
COX-2	<i>M. Pulegium</i>	Hesaplanamadı

Filomena vd (2008), *Mentha aquatica* ekstraktının antiinflamatuvar aktivitesini değerlendirdikleri çalışmalarında pozitif kontrol olarak NSAİİ indometasine kullanmışlar ve bu ilaca kıyasla *Mentha aquatica*'nın %27 ödem inhibisyonu ürettiğini ve bunun 100 µg/cm² dozunda ödem yanıtını %57 azalttığını bildirmişlerdir (Filomena vd, 2008). Başka bir çalışmada, Verma vd (2003), ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, *Mentha arvensis*'in metanolik ekstraktlarının antiinflamatuvar etkileri incelemiş ve *Mentha* bitkilerinin potansiyel farmasötik uygulamalar için keşfedilebilecek antiinflamatuvar ajanlara sahip olduğunu bildirmişlerdir (Verma vd., 2003). Husseini vd (2016) farelerde *L.officinalis*'in hidroalkolik ekstraktının COX-1 ve COX-2 aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında bitki ekstraktını 100 ile 800 mg/kg arasında değişen dozlarda intraperitoneal olarak uygulamışlar ve ekstraktın COX-1 ve COX-2 üzerine inhibisyon etkilerini sırasıyla %33 ve %45 olarak tespit etmişlerdir.

4. SONUÇ

Sonuç olarak, sunulan çalışmadan elde edilen veriler *M. pulegium*'un kullanılan konsantrasyonda iyi bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu ancak çalışmada kullanılan şuşlar üzerine herhangi bir antimikrobiyal etkiye sahip olmadığını gösterdi. COX-1 enzimi üzerine çok zayıf bir etki gösterirken COX-2 üzerine etkisi hesaplanamadı.



5. KAYNAKLAR

- Abbas A, Anwar F, Ahmad N, 2017. Variation in Physico-Chemical Composition and Biological Attributes of Common Basil Essential Oils Produced by Hydro-Distillation and Super Critical Fluid Extraction. *Journal of Essential Oils Bearing Plants*, 20 (1): 95–109.
- Ahameethunisa A, Hoper W, 2010. Antibacterial Activity of *Artemisia Nilagirica* Leaf Extract Against Clinical and Phytopathogenic Bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10: 6–10.
- Anwar F, Alkharfy KM, Rehman N, Adam K, Gilani A, 2017. Chemo-Geographical Variations in the Composition of Volatiles and the Biological Attributes of *Mentha Longifolia* (L.) Essential Oils from Saudi Arabia. *International Journal of Pharmacology*, 13: 408–424.
- Anwar F, Muhammad G, Hussain MA, Zengin G, Alkharfy KM, Ashraf M, Gilani AH, 2016. *Capparis Spinosa* L. A Plant with High Potential for Development of Functional Foods and Nutraceuticals/Pharmaceuticals. *International Journal of Pharmacology*, 12: 201–219.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, 2004. Novel Total Antioxidant Capacity index for Dietary Polyphenols and Vitamin C and E, Using Their Cupric Reducing Capability in the Presence of Neocuproine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970–7981.
- Bardaweel SK, Bakchiche B, ALSalamat HA, Rezzoug M, Gherib A, Flamini G, 2018. Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Essential Oil of *Mentha Spicata* L. (Lamiaceae) from Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18 (1): 1-7.
- Barry AL, Thornsberry C, 1985. Susceptibility Tests: Diffusion Test Procedures. 978-987, in: *Manual of Clinical Microbiology for Microbiology* (eds: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ). American Society for Microbiology.
- Bast A, Haenen G, Goelmen JA, 1991. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *The American Journal of Medicine*, 91: 2-13.
- Başer KHC, Kürkçüoğlu M, Tarımcılar G, Kaynak G, 1999. Essential Oils of *Mentha* Species from Northern Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 11: 579- 588.
- Baytop A, 1991. *Farmasotik Botanik Ders Kitabı*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Ankara.
- Baytop T, 1999. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün*. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

- Bhat MK, 2000. Cellulases and Related Enzymes in Biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18: 355- 383.
- Bhuvarahamurthy V, Balasubramanian N, Govindasamy S, 1996. Effect of Radiotherapy and Chemoradiotherapy on Circulating Antioxidant System of Human Uterine Cervical Carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 158 (1): 17-23
- Bingöl G, 1977. Vitaminler ve Enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Ankara.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C, 1994. Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 28: 25-30.
- Bohn T, 2014. Dietary Factors Affecting Polyphenol Bioavailability. *Nutrition Reviews*, 72 (7): 429-452.
- Carocho M, Ferreira ICFR, 2013. A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy. Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51: 15-25.
- Chalchat JC, Gorunovic MS, Maksimovic ZA, Petrovic SD, 2000. Essential Oil of Wild Growing *Mentha Pulegium* L. from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*, 12: 598-600.
- Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG, 2000. Natural Products. 24: 1250-1319, içinde: Secondary Metabolites (eds: B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, California.
- Çöteli E, Erden Y, Karataş F, 2013. Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) Bitkisindeki Malondialdehit, Glutasyon ve Vitamin Miktarları ile Total Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 17 (2): 4-10.
- Deshpande SS, Cheryan M, Salunkhe DK, 1986. Tannin Analysis of Food Products. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 24 (4): 401-449.
- Dzamic AM, Marina DS, Mihailo SR, Miroslav N, Slavica GJ, Vele T, Petar DM, 2010. Antifungal and Antioxidant Activity of *Mentha Longifolia* L. Hudson (Lamiaceae) Essential Oil. *Botanica Serbica*, 34: 57-61.
- El-Ghorab AH, 2006. The Chemical Composition of the *Mentha Pulegium* L. Essential Oil from Egypt and Its Antioxidant Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9 (2): 183-195.
- Erik S, Tarıkahya B, 2004. Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç*, 17: 139-163.
- Espin JC, Garcia-Conesa MT, Tomas-Barberan FA, 2007. Nutraceuticals: Facts and Fiction. *Phytochemistry*, 58 (68): 2986-3008.

- Etherton PMK, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD, 2002. Biactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The American Journal of Medicine*, 113: 71-85.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS, 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52-67.
- Ferrero ML, Nielsen OH, Anderson PS, Girardin SE, 2007. Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in Interleukin-1 Beta Generation. *Clinical and Experimental Immunology*, 147: 227-235.
- Fersht A, 1999. *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*, Fourth Edition. Macmillan. New York.
- Filomena C, Silvio S, Mariangela M, Federica M, Giancarlo AS, Dimitar U, Roberto DL, 2008. In Vivo Anti-Inflammatory and In Vitro Antioxidant Activities of Mediterranean Dietary Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 144-151.
- Flavahan NA, 2007. Balancing Prostanoid Activity in the Human Vascular System. *Trends Pharmacol Science*, 28: 106-110.
- Formisano C, Oliviero F, Rigano D, Saab AM, Senatore F, 2014. Chemical Composition of Essential Oils and In Vitro Antioxidant Properties of Extracts and Essential Oils of *Calamintha Origanifolia* and *Micromeria Myrtifolia*, Two Lamiaceae from The Lebanon Flora. *Industrial Crops Products*, 62: 405-411
- Gilani AH, 2005. Trends in Ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 43-49.
- Greuteri W, 1988. *International Code of Botanical Nomenclature*. Koetz Scientific Books. Konigstein.
- Hammamchi H, 2014. *Rhodotorula Mucilaginosa*'dan Lipaz Enziminin Üretimi ve Aktivitesine Etkili Parametrelerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Harborne JB, 1988. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Third Edition, Chapman Hall. London.
- Haris N, Elvira KB, Elma M, Kemal D, 2012. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Mentha Longifolia* (L.) Essential Oil. *Journal of Health Science*, 2: 192-200.
- Harris MZ, Harris RE, Casto BC, 2014. Cyclooxygenase-2 and the Inflammogenesis of Breast Cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 5 (4): 677-692.
- Hasçelik Z, 2001. Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 10 (1): 1-3.

- Hedge IC, 1992. A Global Survey of The Biogeography of the Labiatae. 7-17, in: Advances in Labiatae Science (eds: RM Harley T. Reynolds). Royal Botanic Gardens, Kew.
- Heywood VH, 1978. Flowering Plants of the World. Oxford University Press, Oxford.
- Hmiri S, Amrani N, Rahouti M, 2011. In Vitro Determination of Antifungal Activity of Eugenol and Essential Oils of *Mentha Pulegium* L. and *Tanacetum Annuum* L. Against Three Fungi Causing Postharvest Rot of Apples. *Acta Botanica Gallica*, 158 (4): 609-616.
- Huerta C, Castellsague J, Varas-Lorenzo C, García Rodríguez LA, 2002. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Risk of ARF in the General Population. *American Journal of Kidney Diseases*, 45: 531–539.
- Husseini Y, Sahraei H, Meftahi GH, Dargahian M, Mohammadi A, Hatef B, Zardooz H, Ranjbaran M, Hosseini SB, Alibeig H, Behzadnia M, Majd A, Bahari Z, Ghoshooni H, Jalili C, Golmanesh L, 2016. Analgesic and Anti-inflammatory Activities of Hydro-Alcoholic Extract of *Lavandula Officinalis* in Mice: Possible Involvement of the Cyclooxygenase Type 1 and 2 Enzymes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26 (1): 102-108.
- İlçim A, Dığrak M, Bağcı E, 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22: 119-125.
- Jack DB, 1997. One Hundred Years of Aspirin. *The Lancet*, 350: 437-9.
- Jamshed H, Sultan FAT, Iqbal R, Gilani AH, 2015. Dietary Almonds Increase Serum HDL Cholesterol in Coronary Artery Disease Patients in a Randomized Controlled Trial. *Journal of Nuts*. 145 (10): 2287–2292.
- Jazani NH, Ghasemnejad-Berenji H, Sadegpoor S, 2009. Antibacterial Effect of Iranian *Mentha Pulegium* Essential Oil on Isolates of *Klebsiella*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12: 183–185.
- Kalaycıoğlu A, Öner C, 1994. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutajenik Etkilerinin Amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Turkish Journal of Botany*, 18: 117-122.
- Kara E, Var A, Vatansever S, Cilaker S, Kaya Y, Coşkun T, 2004. Effects of Rofecoxib, a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor on Endothelial Dysfunction, Lipid Peroxidation, and Hepatocyte Morphology in Rats With Sepsis-Induced Liver Damage. *Current Therapeutic Research*, 65 (3): 278-291.
- Kaya N, 1993. Biyokimya. Atatürk Üniversitesi Basımevi. Erzurum.
- Keha E, Küfrevioğlu İ, 1997. Biyokimya. Şafak Yayınevi. Erzurum.
- Keha E, Küfrevioğlu İ, 2010. Biyokimya. Aktif yayınevi. Erzurum.

- Kıvanç M, Akgül A, 1989. Baharatlar, Sorbik Asit ve Sodyum Klorürün Antimikrobiyal Etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 13: 1-9.
- Kocabas YZ, Karaman S, (2001). Essential Oils of Lamiaceae Family from South East Mediterranean Region (Turkey). Pakistan Journal of Biological Sciences, 4 (10): 1221- 1223.
- Laborda R, Manzano I, Gamónb M, Gavidiac I, Pérez-Bermúdezc P, Boluda R, 2013. Effects of Rosmarinus Officinalis and Salvia Officinalis Essential Oils on Tetranychus Urticae Koch (Acari: Tetranychidae). Industrial Crops and Products, 48: 106-110.
- Lamiri A, Lhaloui S, Benjlali B, Brrada M, 2001. Insecticidal Effects of Essential Oils Against Hessian Fly, Mayetiola Destructor (Say). Field Crops Research, 71 (1): 9-15.
- Lis-Balchin M, Deans SG, 1996. Antimicrobial Effects of Hydrophilic Extracts of Pelargonium Species. Letter Applied Microbiology, 23 (4): 205-7.
- Lorenzo D, Paz D, Dellacassa E, Davies P, Vila R, Caniguer S, 2002. Essential Oils of Mentha Pulegium and Mentha Rotundifolia from Uruguay. Brazilian Archives of Biology and Technology, 45 (4): 519-524.
- Mahboubi M, Haghi G, 2008. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Mentha Pulegium L. Essential Oil. Journal of Ethnopharmacol, 119: 325-327.
- Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar, AS, Lanzo CA, 1999. Arachidonic Acid Oxygenation by COX-1 and COX-2: Mechanisms of Catalysis and Inhibition. Journal of Biological Chemistry, 274 (33): 22903-22906.
- Memişoğulları R, 2005. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Dicle Tıp Fakültesi Dergisi, 3: 30-39.
- Merlie JP, Fagan D, Mudd J, Needleman P, 1988. Isolation and Characterization of the Complementary DNA for Sheep Seminal Vesicle Prostaglandin Endoperoxide Synthase (Cyclooxygenase). Journal of Biological Chemistry, 263 (8): 3550-3553.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Mihailovic B, Matavulj M, 2003. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three Mentha Species Essential Oils. Planta Medica. 69: 413-419.
- Mkaddem M, Boussaid M, Fadhel NB, 2007. Variability of Volatiles in Tunisian Mentha Pulegium L. (Lamiaceae). Journal of Essential Oil Research, 19: 211-214.
- Muhammad G, Hussain MA, Anwar F, Ashraf M, Gilani AH, 2015. Alhagi: A Plant Genus Rich in Bioactives for Pharmaceuticals. Phytotherapy Research, 29: 1-13.
- Mukherjee D, 2002. Selective Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitors and Potential Risk of Cardiovascular Events. Biochem Pharmacol, 63: 817-821.

- Muehlbauer FJ, Rakshit SP, Winter M, Tekeoglu M, Juarez Munoz T, Pfaff AM, Benko-Iseppon G, Kahl, 2003. DAF Marker Tightly Linked to a Major Locus for Ascochyta Blight Resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*, 132: 23-30.
- Nathan C, 2004. Antibiotics at the Crossroads. *Nature*, 431: 899–902.
- Nguefack J, Dongmo JBL, Dakole CD, Leth V, Vismar HF, Pedersen JGT, Guemdjom EFN, Mbeffo M, Tamgue O, Fotio D, Zollo PH, Nkengfack AE, 2009. Food Preservative potential of Essential Oils and Fractions from *Cymbopogon Citratus*, *Ocimum Gratissimum* and *Thymus Vulgaris* Against Mycotoxigenic Fungi. *Internacional Journal Food Microbiology*, 131 (2-3): 151–156.
- Nurcan E, 2012. Ardahan Yöresinde Yetişen Lamiaceae (Labiatae) Familyasına Ait Bazı Türlerin Biyoaktiviteleri. Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Özalp Dural, EA 2002. Farmakoloji. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul.
- Özkan M, Soy E, 2007. Morphology, Anatomy, Hair and Karyotype Structure of *Salvia Blepharoclaena* Hedge and *Rhaponticoides Mykalea*, Endemic to Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (6): 893-898.
- Özgüven M, Kırıcı S, 1999. Farklı Ekolojilerde Nane (*Mentha*) Türlerinin Verim ile Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Araştırılması. *Turkey Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 465-472.
- Özkaynak E, Ova G, 2008. Lignanlar ve Sağlık Üzerine Etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs. Erzurum.
- Öztürk B, Konyalıoğlu S, Ertuş H, Gökgünneç L, 2002. Türkiyede Doğal Yayılış Gösteren Bazı *Mentha* L. Taksonlarının Karşılaştırmalı Uçucu Yağ Bileşenleri ve Antioksidan Etkileri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002. Eskişehir.
- Padmini E, Valarmathi A, Usha RM, 2010. Comparative Analysis of Chemical Composition and Antibacterial Activities of *Mentha Spicata* and *Camellia Sinensis*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1: 772–781.
- Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, Moldawer LL, 2003. Anti-TNF- α Therapies: The Next Generation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2: 736–746.
- Pandey A, Ramachandran S, 2006. Enzyme Technology. 1-11, in: General Introduction (eds: A. Pandey, C. Webb, C.R. Soccol and C. Larroche). Springer Science and Business Media, Incorporation, Asiatech Publishers Incorporated, New York.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C, 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal Biomedical Science*, 4 (2): 89-96.

- Pilotto A, Sancarlo D, Addante F, Scarcelli C, Franceschi M, 2010. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Use in the Elderly. *Journal of Surgical Oncology*, 19: 167–172.
- Pinder AR, 1960. *The Chemistry of the Terpenes*. Chapman and Hall Limited. London.
- Poonam R, Anshu S, 2012. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Extracted from *Mentha Spicata* L.. *International Journal of Engineering and Mathematical Science*, 1 (1): 22–26.
- Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE, 1996. 81-107, in: *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology* (eds: Balado D, Williams Wilkins). Baltimore.
- Rouzer CA, Marnett LJ, 2003. Mechanism of Free Radical Oxygenation of Polyunsaturated Fatty Acids by Cyclooxygenases. *Chemical Reviews*, 103 (6): 2239-2304.
- Saba I, Anwar F, 2018. Effect of Harvesting Regions on Physico-Chemical and Biological Attributes of Supercritical Fluid-Extracted Spearmint (*Mentha Spicata* L.) Leaves Essential Oil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 21 (2): 400–419.
- Saba I, Muneeba B, Hira Y, 2011. In-Vitro Antibacterial Activity of Two Medicinal Plants Neem (*Azadirachta Indica*) and Peppermint. *International Journal of Pharmaceutics*, 1: 9–14.
- Sahib NG, Anwar F, Gilani AH, Hamid AA, Saari N, Alkharfy KM, 2013. Coriander: A Potential Source of High-Value Components for Functional Foods and Nutraceuticals. *Phytotherapy Research*, 27: 1439–1456.
- Sargent J, Bell G, McEvoy L, Tocher D, Estevez A, 1999. Recent Developments in the Essential Fatty Acid Nutrition of Fish. *Aquaculture*, 177: 191-199.
- Sarikurkcu C, Eryigit F, Cengiz M, Tepe B, Cakir A, Mete E, 2012. Screening of the Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of *Mentha pulegium* L. from Turkey. *Spectroscopy Letters*, 45 (5): 352-358.
- Segel IH, 1975. *Enzyme Kinetics*. Wiley, New York.
- Sharifi-Rad M, Fokou P, Sharopov F, Martorell M, Ademiluyi A, Rajkovic J, Sharifi-Rad J, 2018. Antiulcer agents: From Plant Extracts to Phytochemicals in Healing Promotion. *Molecules*, 23 (7): 1-37.
- Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M, 1995. Antimicrobial Activity of Mint Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2384-2388.
- Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, Chaita E, Panagoulis C, Reri E, Skaltsounis L, Tsatsakis AM, Kouretas D, 2012. Correlation of Total Polyphenolic

- Content with Antioxidant and Antibacterial Activity of 24 Extracts from Greek Domestic Lamiaceae Species. *Food Chem. Toxicol.*, 50: 4115-4124.
- Stammati A, Bonsi P, 1999. Toxicity of Selected Plant Volatiles in Microbial and Mammalian Short-Term Assays. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 813-823.
- Stavric B, 1994. Role of Chemopreventers in Human Diet. *Clinical Biochemistry*, 27 (5): 319-332.
- Štefan MB, Rodríguez JV, Blažeković B, Kindl M, Vladimir-Knežević S, 2014. Total Hydroxycinnamic Acids Assay: Prevalidation and Application on Lamiaceae Species. *Food Analytical Methods*, 7(2): 326-336.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C, Batista I, Serrano C, Matos O, Neng NR, Nogueira JMF, Saraiva JA, Nunes ML, 2012. European Pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical Composition of Essential Oil and Antioxidant and Antimicrobial Properties of Extracts and Essential Oil. *Industrial Crops Products*, 36: 81-87.
- Telci İ, 2001. Farklı Nane (*Mentha* spp.) Klonlarının Bazı Morfolojik Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi, Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Thormar H, 2010. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. Wiley Publication. London.
- Tolba RH, Fet N, Yonezawa K, Taura K, Nakajima K, Hata K, 2014. Role of Preferential Cyclooxygenase-2 Inhibition by Meloxicam in Ischemia/ Reperfusion Injury of the Rat Liver. *European Surgical Research*, 53: 11–24.
- Tucker AO, Nazcı RFC, 2007. *Mentha: An Overview of Its Classification and Relationships*. 3-39, in: *Genus Mentha* (eds: BM. Lawrence). Taylor Francis Group, Boca Raton, Florida.
- Verma SM, Arora H, Dubey R, 2003. Anti-Inflammatory and Sedative Hypotonic Activity of the Methanolic Extracts of the Leaves of *Mentha Arvensis*. *Ancient Science of Life*, 23: 1–4.
- Wallace JL, 2001. Pathogenesis of NSAID Induced Gastroduodenal Mucosal Injury. *Best Practice Research Clinical Gastroenterology*, 15: 691–603.
- Yesilada E, Gurbuz I, Shibata H, 1999. Screening of Turkish Antiulcerogenic Folk Remedies for Anti-*Helicobacter Pylori* Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 66: 289-293.
- Yıldız H, Baysal T, 2003. Bitkisel Fenoliklerin Kullanım Olanakları ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7 (14): 29-35.

Yuan D, Zou Q, Yu Z, Song C, Huang S, Chen S, 2014. Ancestral Genetic Complexity of Arachidonic Acid Metabolism in Metazoa. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1841: 1272–1284.



