



Ziziphora clinopodioides Lam. Türünün Kültür İle Doğal Ortamlarda Yetişen Örneklerinin Kimyasal ve Biyolojik Yönden Detaylı İncelenmesi

Mehmet ÇAVUŞOĞLU¹, Serkan YİĞİTKAN², İsmail YENER³, Mehmet Veysi ÇAĞLAYAN⁴
Barış REŞİTOĞLU⁵, Mehmet AKDENİZ⁶, Eda ÇAVUŞ KAYA⁷, Fethullah TEKİN⁸, Mustafa Abdulah YILMAZ⁹,
Abduselam ERTAŞ¹⁰

¹Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Mardin, Türkiye, ²Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD, Diyarbakır, Türkiye, ^{3,9,10}Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD, Diyarbakır, Türkiye, ⁴Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, Türkiye, ⁵Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, Türkiye, ⁶Adli Tıp Kurumu, Diyarbakır Grup Başkanlığı, Diyarbakır, Türkiye, ⁷Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Diyarbakır, Türkiye, ⁸GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, Diyarbakır, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-8871-5646>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6202-1515>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0988-9462>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4090-7227>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-2193-8386>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-9803-6444>

⁷<https://orcid.org/0000-0003-2635-4395>, ⁸<https://orcid.org/0000-0002-4435-4826>, ⁹<https://orcid.org/0000-0002-5359-8056>

¹⁰<https://orcid.org/0000-0003-3710-1705>

✉: mehmetcavusoglu@artuklu.edu.tr

ÖZET

Lamiaceae familyası ilaç, gıda, kozmetik ve parfümeri sektörleri için önemli bir kaynaktır. Lamiaceae familyasına ait olan *Ziziphora clinopodioides* Lam. türü çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde kullanılmaktadır. Mevcut çalışmada *Z. clinopodioides* türünün doğal ve kültür örneklerinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içeriği, antioksidan, sitotoksik ve enzim (AChE, BChE, tirozinaz, üreaz, elastaz, kolajenaz ve ACE) inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca türün aroma içerikleri GC-MS/FID ile belirlenip, etanol ekstraktlarının fitokimyasal bileşimi LC-MS/MS ile tespit edilmiştir. Aroma analizi sonuçlarına göre *Z. clinopodioides* türünün kültür örneğinin majör bileşenleri pulegon (%39.83), *cis*-menton (%21.36), *trans*-menton (%16.64), doğal örneğin majör bileşenleri ise pulegon (%62.42), neoizomentol (%5.93) ve *cis*-pulegon oksit (%5.47) olarak tespit edilmiştir. LC-MS/MS sonuçlarına göre türün kültür ve doğal örneklerinde kinik asit (sırasıyla, 25.841, 15.694 mg analit g⁻¹ ekstre), rosmarinik asit (6.804, 25.523) ve asasetin (6.115, 10.764) majör bileşenler olarak tespit edilmiştir. Ayrıca kültür örneğinde hesperidin (5.725) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Enzim aktivitesi sonuçlarına göre türün kültür ve doğal örneklerinin orta düzeyde bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi (sırasıyla, % inhibisyon: 45.14±1.40; 43.57±0.73) gösterdiği belirlenmiştir. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesinde ise kültür örneğinin orta düzeyde aktivite gösterdiği (% inhibisyon: 43.64±0.39) fakat doğal örneğin aktivite göstermediği, ayrıca kültür örneğinin yüksek antihipertansif (% inhibisyon: 81.6±1.19) aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde türün kültür örneğinin doğal örneğe kıyasla yüksek antioksidan, bütirilkolinesteraz, üreaz ve antihipertansif aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 14.11.2024

Kabul Tarihi : 26.12.2024

Anahtar Kelimeler

Lamiaceae

GC-MS

Pulegon

Tarımsal kültür

Antihipertansif

The Detailed Chemical and Biological Analysis of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Species Growing in Cultural and Natural Environments

ABSTRACT

The Lamiaceae family is an important resource for the pharmaceutical, food, cosmetic, and perfumery sectors. The species *Ziziphora clinopodioides* Lam., belonging to the Lamiaceae family, has been used in folk medicine since ancient times. The aim of the present study was to determine the total phenolic and flavonoid contents, antioxidant, cytotoxic and enzyme (AChE, BChE, tyrosinase, urease, elastase, collagenase and ACE) inhibition activities of ethanol extracts of the aerial parts of natural and cultivated samples of the species *Z.*

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 14.11.2024

Accepted : 26.12.2024

clinopodioides. In addition, the aroma contents of the species were determined by GC-MS/FID, and the phytochemical composition of the ethanol extracts was determined by LC-MS/MS. According to the aroma analysis results, the major components of the culture sample of the *Z. clinopodioides* species were determined as pulegone (39.83%), *cis*-menthone (21.36%), *trans*-menthone (16.64%), while the major components of the natural sample were determined as pulegone (62.42%), neoisomenthol (5.93%) and *cis*-pulegone oxide (5.47%). According to LC-MS/MS results, quinic acid (25.841, 15.694 mg analyte g⁻¹ extract, respectively), rosmarinic acid (6.804, 25.523), and acacetin (6.115, 10.764) were detected as major compounds in cultured and natural samples of the species. Also, hesperidin (5.725) was higher in culture sample. According to the enzyme activity results, it was determined that cultured and natural samples of the species showed moderate butyrylcholinesterase enzyme inhibition activity (inhibition %: 45.14±1.40; 43.57±0.73, respectively). In urease enzyme inhibition activity, it was determined that culture sample showed moderate activity (inhibition %: 43.64±0.39) but natural sample did not show activity, and culture sample showed high antihypertensive activity (inhibition %: 81.6±1.19). When the results were evaluated in general, it was determined that the cultured sample of the species showed higher antioxidant, butyrylcholinesterase, urease, and antihypertensive activity compared to natural sample.

Keywords

Lamiaceae
GC-MS
Pulegone
Agricultural culture
Antihypertensive

- Atıf Şekli:** Çavuşoğlu, M., Yigitkan, S., Yener, İ., Çağlayan, M. V., Reşitoğlu, B., Akdeniz, M., Çavuş Kaya, E., Tekin, F., Yılmaz, M. A., & Ertas, A., (2024) *Ziziphora clinopodioides* Lam. Türünün Kültür İle Doğal Ortamlarda Yetiştirilmesinin Kimyasal ve Biyolojik Yönden Detaylı İncelenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg 27* (<ek Sayı 2). <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1585656>
- To Cite :** Cavusoglu, M., Yigitkan, S., Yener, I., Caglayan, M. V., Resitoglu, B., Akdeniz, M., Cavus Kaya, E., Tekin, F., Yilmaz, M. A., & Ertas, A., (2024). The Detailed Chemical and Biological Analysis of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Species Growing in Cultural and Natural Environments. *KSU J. Agric Nat 27*(Suppl 2), 317-327. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1585656>

GİRİŞ

İnsanoğlu geçmişten günümüze kadar beslenmek, yaralarını iyileştirmek ve hastalıklarını tedavi etmek gibi çok çeşitli amaçlar için bitkilerden yararlanmışlardır. M.Ö. 5000'li yıllarda insanların tedavi amaçlı kullandıkları 250 adet bitkinin varlığı tespit edilmiştir (Göktaş & Gıdık, 2019). Hititler, Mısırlılar ve Sümerler gibi çok çeşitli medeniyetlerin yıllar boyunca hastalıkları tedavi etmek için bitkilerden yararlandıkları bildirilmiştir (Göktaş & Gıdık, 2019). Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre günümüzde kullanılan farmasötik ilaçların %25'i tıbbi bitkilerden üretilmektedir. Yine FAO (Gıda ve Tarım Örgütü)'ya göre dünya genelinde satılan ilaçların %30'unun bitkilerden elde edildiği ifade edilmiştir (Acıbuca & Budak, 2018). Son yıllarda endüstriyel alanlarda kullanımı artış gösteren tıbbi ve aromatik bitkilere verilen önem giderek artmaktadır (Oğan & Cömert, 2022). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada tedavi amacıyla kullanılan bitki ile gıdalara aroma verici olarak kullanılan bitkilerin sayısının yaklaşık olarak 20.000 olduğu rapor edilmiştir.

Lamiaceae familyası ilaç, gıda, kozmetik ve parfümeri gibi farklı ekonomik endüstriyel alanlar için önemli bir kaynaktır (Karayel, 2019; Yılmaz ve ark., 2023).

Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Z. clinopodioides* Lam., çok yıllık aromatik bir bitki türü olup besin kaynağı olarak kullanılabilir. *Z. clinopodioides* eski çağlardan beri halk hekimliğinde kullanılmaktadır (Sahakyan & Petrosyan, 2022). *Z. clinopodioides*, Anadolu'da yaygın olarak bulunan yenilebilir bir tıbbi bitkidir. Bitkinin yaprakları, çiçekleri ve sapı Türkiye'de sıklıkla yabani sebze olarak veya aroma ve yiyeceklere lezzet katmak için katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. *Z. clinopodioides* bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımları, yaprakları, çiçekleri ve gövdesi, özellikle Türkiye ve İran'da, aroma ve lezzet verici olarak yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Yerel olarak 'Kırnanesi' olarak bilinen bitki, halk arasında iştah açıcı, gaz giderici, antiseptik ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Meral ve ark., 2002; Ozturk & Ercisli, 2007; Senejoux ve ark., 2012; Kazeminia ve ark., 2024). *Z. clinopodioides* bitkisinin uçucu yağ, askorbik asit ve flavonoidler açısından zengin olduğu bilinmektedir. Uçucu yağının farmakolojik etkisinden sorumlu olduğu ve uçucu yağının ana bileşenlerinin α -pinen, β -pinen, limonen, menton, izomenton, pulegon ve timol olduğu rapor edilmiştir (Hayta & Bağcı, 2016).

Bu çalışmada *Z. clinopodioides* türünün hem kültür hem de doğal örneklerinin GC-MS/FID ile aroma analizi, LC-MS/MS ile fitokimyasal içerik analizi yapılarak kimyasal bileşimi ortaya konmuştur. Türün hem kültür hem de doğal örneklerinin ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan kapasitesi tespit edilmiştir. Ayrıca kolinesteraz (AChE ve BChE), üreaz, tirozinaz, elastaz, kolajenaz ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyon aktivite tayinleri yapılmıştır. Türünün kültür ve doğal örneklerinin kimyasal ve biyolojik açıdan karşılaştırılmasına ilişkin literatürde çalışma bulunmaması ve bu durumun ilk defa bu çalışmada ortaya konması çalışmayı özgün kılmaktadır.

MATERYAL ve METOD

Bitki Materyali ve Kültür Koşulları

Ziziphora clinopodioides Lam. bitkisinin ekstre verimi, toplanma yeri, zamanı ve herbaryum numarası Çizelge 1'de verilmiştir. Kültür için kullanılan tohumlar, GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi (GAPUTAEM) kampüs alanında doğal olarak yetişen bitkilerden elde edilmiştir. Akdeniz ve ark. (2021) çalışmasındaki şartlar uygulanarak kültür bitkisi yetiştirilmiştir (Çizelge 1).

Türün kültür çalışmaları GAPUTAEM deneme alanında gerçekleştirilmiştir. Tarla denemesinde materyal olarak *Z. clinopodioides* tohumları kullanılmıştır. Tohumlar GAPUTAEM kampüs alanında doğal olarak yetişen bitkilerden elde edilmiştir. Ağustos 2013'te tohumlar doğal ortamlarından toplanmıştır. Bu tohumlar su dolu bir

kaba aktarılmış ve bir gece bekletilmiştir. Suyun üstüne çıkan tohumlar kullanılmamış, su altında kalanlar kullanılmıştır. Tohum yatağı için, ince elekten geçirilmiş yakılmış koyun gübresi, orman toprağı ve nehir kumunun eşit oranda karışımından oluşan bir harç hazırlanmıştır. Harç, delikli plastik tüplere (10x25 cm) doldurulmuştur. Tohumlar, Kasım ayında her tüpte 3-4 tohum olacak şekilde, 3-4 cm derinliğe ekilmiştir. Tohum yatağı, tohumlar çimlenene kadar süzgeçle sulanmıştır. Fideler 5-10 cm boya ulaştıktan sonra erken ilkbaharda (Şubat-Mart ayları sonrası) tarlaya dikilmiştir. Bunun için tarlaya 30x30x30 cm boyutlarında çukurlar açılmıştır. Her çukura 2 L su konulduktan sonra, fideler çukura yerleştirilmiş, üzeri toprakla doldurulmuş ve sıkıştırılmıştır. Dikim yılı ilk kuruluş yılı olarak kabul edildiğinden, hasat ikinci yılda yapılmıştır. Deneme alanı Dicle Nehri kıyısındaki bodrum alanda kurulmuştur. Bu alan deniz seviyesinden yaklaşık 609 m yükseklikte olup 37°56'29.36"K (kuzey enlemi) ve 40°15'16.07"D (doğu boylamı) koordinatlarında bulunmaktadır. Bölge iklimi Akdeniz iklimi özelliklerine sahiptir. Yazları genellikle sıcak ve kurak, kışları ise soğuk ve yağışlıdır. Uzun yıllara ait iklim bulgularına göre her yıl toplam yağış miktarı 454 mm, ortalama sıcaklık ise 15.8°C'dir (Meteoroloji Müdürlüğü'nün Diyarbakır uzun yıllar ortalaması). Genel toprak özellikleri Dicle nehri sularının taşıdığı materyal üzerinde oluşmuş büyük toprak grubuna ait alüvyonlu topraklardır (Tekin ve ark., 2017). Doğal olarak yetişen türlerin toplandığı alan ile türün kültüre alındığı alanın iklim koşulları, bölge aynı olduğu için hemen hemen aynıdır.

Çizelge 1. Çalışılan türlerin isimleri, ekstre verimi, toplanma yeri, toplanma zamanı ve herbaryum numaraları
Table 1. Names of studied species, extract yield, collection place, collection time and herbarium numbers

Tür İsmi	Etanol Ekstre Verimi %	Kod	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum No
<i>Z. clinopodioides</i> (Kültür)	2.94	ZC1	Project Number: TAGEM /17/A07/P09/013	2015	M.Fırat 32745(VANF)
<i>Z. clinopodioides</i> (Doğal)	5.0	ZC2	Diyarbakır	2015	M.Fırat 32745(VANF)

Ekstraksiyon İşlemi

Bitkinin kültür ve doğal örneklerinin toprak üstü kısımları toplam nemsiz ve gölge bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan örnekler toz haline getirilip ekstrelerini hazırlamak için 10g tartılmıştır. Daha sonra tartılan örnek üzerine 50 mL etanol ilave edilerek 8 saat bekletilmiştir. 8 saat sonra ultrasonik su banyosunda oda sıcaklığında 30 dk. bekletilmiş ve süzme işlemi yapılmıştır. Bu işlem 3 defa tekrarlandı daha sonra toplam süzüntüden evaporatör yardımıyla çözücüsünden kurtarılıp ham ekstre elde edilmiştir (Akdeniz ve ark., 2021).

Aroma analizi numune ekstraksiyonu SPME (Katı Faz Mikroekstraksiyon) yöntemi ile yapılmıştır. Doğrudan kuru bitkinin kendisinden alınan 1-2 g örnek 20 mL'lik Headspace vialine alınarak 40 °C'de 15 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince açığa çıkan aroma bileşikleri kullanılan SPME fiberi tarafından adsorplanmış ve örnek Headspace örnekleme bloğu ile GC-MS/FID cihazına numune gönderilmiştir. NIST ve Wiley GC-MS kütüphaneleri bileşenlerin belirlenmesinde kullanılmıştır (Yigitkan ve ark., 2022).

LC-MS/MS Analizi

Headspace-GC-MS/FID Cihazı ile Aroma Analizi

Z. clinopodioides kültür (ZC1) ve *Z. clinopodioides* doğal (ZC2) örneklerinin etanol ekstraları LC-MS/MS enjeksiyonu öncesinde son konsantrasyonları 1000 µg mL⁻¹'ye ayarlanmıştır. İncelenen örneklerin fitokimyasal bileşimi, daha önce belirlenmiş ve doğrulanmış LC-MS/MS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde, özellikle doğal ürünlerde bulunan, fenolik asit ve flavonoid yapılarında olan 53 bileşik ve 3 iç standart bakımından analiz edilmiştir (Yılmaz, 2020).

Toplam Flavonoid-Fenolik İçerik, Antioksidan ve Sitotoksik Aktivite Analizleri

Z. clinopodioides türünün toprak üstü etanol ekstralarının toplam fenolik içeriği pirokatekole eşdeğer ve toplam flavonoid içerikleri kuersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır (Slinkard & Singleton, 1977; Moreno ve ark., 2000). Türün antioksidan aktivitesini tespit etmek için DPPH (serbest radikal giderim yöntemi), ABTS (katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi) kullanılmış ve değerler IC₅₀ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ekstralar CUPRAC (Bakır (II) indirgeyici kapasite) yöntemi ile antioksidan aktivite tayini yapılmış ve sonuçlar A_{0.5} olarak hesaplanmıştır (Blois, 1958; Re ve ark., 1999; Apak ve ark., 2004). Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve α-tokoferol referans olarak kullanılmıştır. Ayrıca ekstralarının toksik ve sitotoksik aktivitelerini tespit etmek için Mojarraba ve ark. (2013) tarafından geliştirilen yöntemde ufak modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi.

Enzim Aktiviteleri

Kolinesteraz enzim aktivitesi

Çalışılan ekstraların antikolinesteraz aktivitesinin tespiti için Ellman ve ark. (1961) tarafından geliştirilen asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyonuna dayalı yöntem kullanılmıştır. Referans olarak galantamin kullanılmıştır.

Üreaz enzim aktivitesi

Örneklerin etanol ekstralarının üreaz enzim inhibisyon aktivitesini tespit etmek için Zahid ve ark. (2015) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi için tiyüere referans olarak kullanılmıştır.

Tirozinaz enzim aktivitesi

Türün etanol ekstralarının tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi Hearing & Jiménez (1987)'in geliştirdiği yöntemle yapılmıştır. Tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi için referans olarak kojik asit kullanılmıştır.

Elastaz ve Kolajenaz enzim aktiviteleri

Örneklerin antiaging (yaşlanma karşıtı) etkilerini belirlemek için elastaz (Kraunsoe ve ark., 1996) ve kolajenaz (Thiring ve ark., 2009) inhibisyon aktivite tayinleri yapılmıştır. Elastaz ve kolajenaz enzim inhibitör aktivite tayinlerinde sırasıyla substrat olarak N-süksinil-(Ala)₃-nitroanilide ve N-(3-[2-Furyl]acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala, standart olarak ise oleanolik asit ve epikateşin gallat kullanılmıştır. (Akdeniz ve ark., 2021; Yigitkan ve ark., 2022).

Hipertansif enzim aktivitesi

Kwon ve ark. (2006) tarafından geliştirilen yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak kullanılmıştır. Standart olarak lisinopril kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Headspace-GC-MS/FID Cihazı ile Aroma Analizi

Z. clinopodioides türünün doğal ve kültür örneklerinin aroma içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir. GC-MS/FID sonuçlarına göre ZC1 örneğinin aroma içeriğinin %95.22'si aydınlatılmış ve 19 bileşen belirlenmiştir. ZC2 örneğinin aroma içeriğinin ise %90.92'si aydınlatılmış ve 19 bileşen tespit edilmiştir. ZC1'in majör bileşenlerinin pulegon (%39.83), *cis*-menton (%21.36) ve *trans*-menton (%16.64) olduğu belirlenmiştir. ZC2 örneğinin majör bileşenleri ise pulegon (%62.42), neoizomentol (%5.93) ve *cis*-pulegon oksit (%5.47) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 1).

Sahakyan ve Petrosyan (2022) tarafından yapılan çalışmada, Ermenistan'da toplanan *Z. clinopodioides* türünden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri, sırasıyla %42.1, %9.7, %8.22, %7.35 ve %5.9 konsantrasyonlarıyla pulegon, izomenton, 1,8-sineol, piperiton ve neomentol olarak rapor edilmiştir. İran'dan toplanan *Z. clinopodioides* türünün uçucu yağ bileşenleri hidrodistilasyon yoluyla elde edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda bitkinin uçucu yağında 27 bileşen tanımlanmıştır. Ana bileşikler pulegon (%44.5), terpineol (%14.5), metil asetat (%10.9), izo-neomentol (%7.1) ve 1,8-sineol (%4.1) olarak tespit edilmiştir (Behravan ve ark., 2007). Başka bir çalışmada *Z. clinopodioides* türünün 9 farklı büyüme evresinin uçucu yağ bileşimi GC-MS ile analiz edilmiş ve major bileşenler, pulegon (%77.48-87.3), *p*-mentanon (%2.79-12.39), *trans*-izopulegon (%1.04-2.06), *d*-limonen (%0.51-3.03) ve karvon (%1.5-4.48) olarak tespit edilmiştir (Ding ve ark., 2014). Alp ve ark. (2016) tarafından, *Z. clinopodioides* türünün Türkiye'deki Çoruh vadisinin farklı noktalarında yerel olarak toplam 8 takson toplanmış ve bunların toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiştir. Yağın %92.91'ini temsil eden 17 bileşik tanımlanmıştır. Tüm örneklerin başlıca bileşenleri

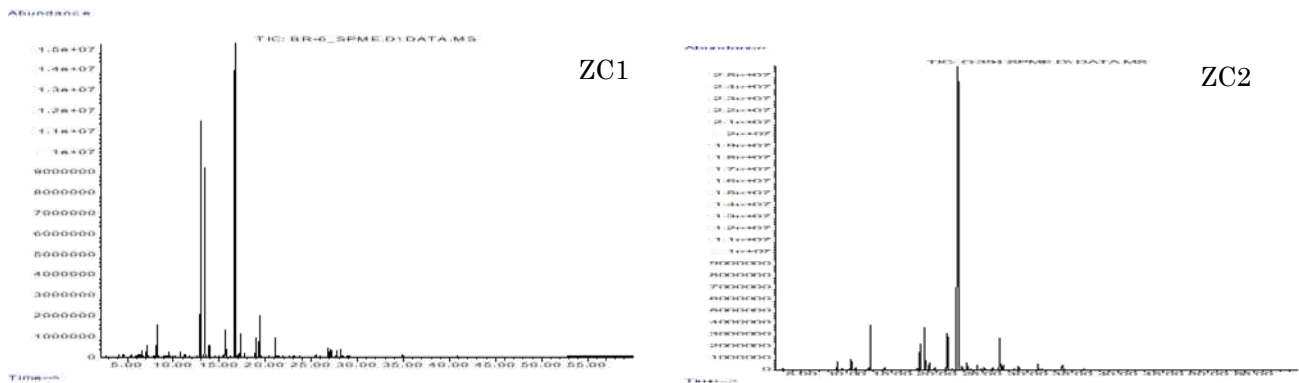
pulegon (%40.13-51.13), 1,8-sineol (%6.18-9.34), limonen (%6.98-9.78), mentol (%6.57-8.83), β -pinen (%2.15-6.88), menton (%4.45-5.47), piperitenon (%4.44-7.03) ve piperiton (%2.98-4.56) olarak tespit edilmiştir. Ozturk ve Ercisli (2007) tarafından yapılan başka bir çalışmada Türkiye'nin Doğu kesiminde toplanan *Z. clinopodioides* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların ana

bileşenleri pulegon (%31.86), 1,8-sineol (%12.21), limonen (%10.48), mentol (%9.13), β -pinen (%6.88), menton (%6.73), piperitenon (%5.30) ve piperiton (%4.18) olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde mevcut çalışma majör bileşikler açısından literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Çizelge 2. ZC1 ve ZC2 örneklerinin aroma sonuçları
Table 2. Aroma results of ZC1 and ZC2 samples

No	RI ^a	Bileşenler	ZC1	ZC2	No	RI ^a	Bileşenler	ZC1	ZC2
1	935	α -Pinene	0.20 ^b	0,77	17	1148	<i>cis</i> -Menthone	21.36	-
2	952	Camphene	-	0.14	18	1157	Menthone	-	3.14
3	975	1-Octene-3-ol	-	0.16	19	1164	<i>tr</i> -Menthone	16.64	-
4	975	Sabinene	0.12	-	20	1167	Neoisomenthol	-	5.93
5	980	β -Pinene	0.34	1.10	21	1181	Isopulegone	1.05	-
6	984	3-Octanone	-	0.10	22	1213	Verbenone	1.81	-
7	991	β -Myrcene	-	0.07	23	1221	<i>cis</i> -Pulegone oxide	-	5.47
8	997	Mesitylene	0.40	-	24	1243	Pulegone	39.83	62.42
9	1000	Decane	0.80	-	25	1246	Carvenone	0.89	-
10	1026	σ -Simen	-	0.18	26	1258	Piperitone	2.02	-
11	1031	D-Limonene	0.81	0.26	27	1290	Thymol	1.64	-
12	1032	Eucalyptol	2.29	4.65	28	1301	Carvacrol	3.61	0.98
13	1060	γ -Terpinen	-	0.20	29	1346	Piperitenone	-	4.58
14	1091	Terpinolene	-	0.05	30	1381	Copaene	-	0.24
15	1100	4-Thujanol	0.37	-	31	1392	β -Bourbonen	-	0.48
16	1100	Undecane	0.32	-	32	1489	Germacrene D	0.72	-
Toplam Tanımlanan (%)								95.22	90.92

^aAhkonma indeksi, ^b% içerik, ZC1: *Z. clinopodioides* kültür örneği, ZC2: *Z. clinopodioides* doğal örneği



Şekil 1. Çalışılan türlerin GC-MS kromatogramları; ZC1: *Z. clinopodioides* kültür örneğinin aroma bileşenlerinin Headspace-GC-MS toplam iyon kromatogramı, ZC2: *Z. clinopodioides* doğal örneğinin aroma bileşenlerinin Headspace-GC-MS toplam iyon kromatogramı

Figure 1. GC-MS chromatograms of the studied species; ZC1: Headspace-GC-MS total ion chromatogram of aroma components of *Z. clinopodioides* culture sample, ZC2: Headspace-GC-MS total ion chromatogram of aroma components of *Z. clinopodioides* natural sample

LC-MS/MS Analizi

Her iki ekstrede de kinik asit (sırasıyla, 25.841, 15.694 mg analit g⁻¹ ekstre), rosmarinik asit (6.804, 25.523) ve asasetin (6.115, 10.764)'nin majör bileşenler olduğu görülmektedir. Kültür örneğinde

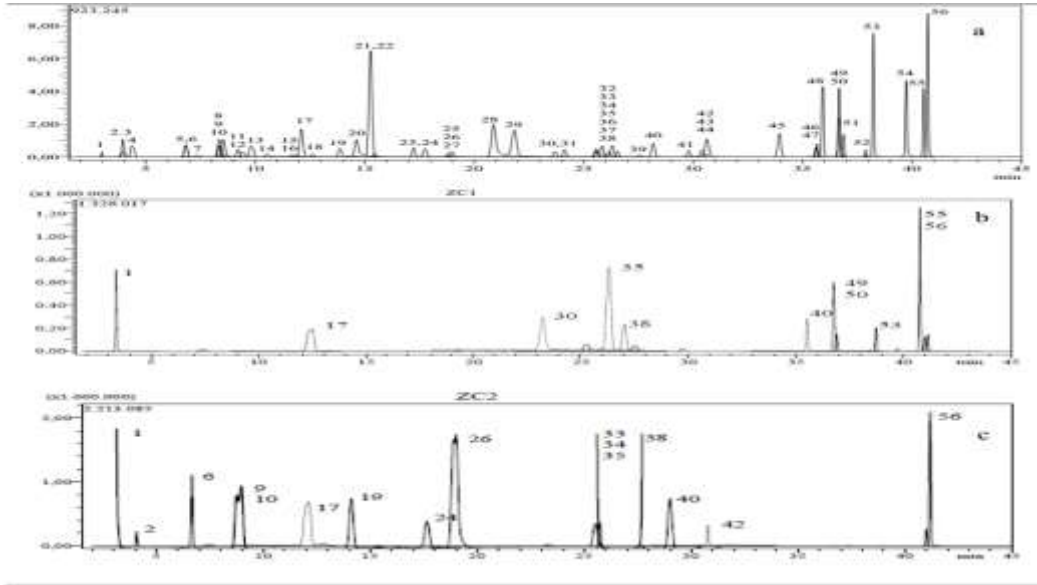
farklı olarak hesperidin (5.725) bileşenin yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir. ZC1 ekstresinde kinik asit ve hesperidin bileşenlerin miktarlarının ZC2 ekstresine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 3 ve Şekil 2-3).

Çizelge 3. *Z. clinopodioides* türünün etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile fitokimyasal bileşenlerin kantitatif tayini (mg analit g⁻¹ ekstre)

Table 3. Quantitative determination of phytochemical components of ethanol extracts of *Z. clinopodioides* species by LC-MS/MS (mg analyte g⁻¹ extract)

No	Analitler	RT ^a	Ana iyon (m/z) ^b	MS ² (Çarpışma enerjisi) ^c	Miktar (mg analit g ⁻¹ ekstre) ^d	
					ZC1	ZC2
1	Quinic acid	3.0	190.8	93.0	25.841	15.694
2	Fumaric acid	3.9	115.2	40.9	0.728	0.111
3	Aconitic acid	4.0	172.8	129.0	nd ^e	nd
4	Gallic acid	4.4	168.8	79.0	0.013	nd
5	Epigallocatechin	6.7	304.8	219.0	nd	nd
6	Protocatechuic acid	6.8	152.8	108.0	0.746	1.204
7	Catechin	7.4	288.8	203.1	nd	nd
8	Gentisic acid	8.3	152.8	109.0	0.271	nd
9	Chlorogenic acid	8.4	353.0	85.0	0.156	0.534
10	Protocatechuic aldehyde	8.5	137.2	92.0	0.055	0.557
11	Tannic acid	9.2	182.8	78.0	nd	nd
12	Epigallocatechin gallate	9.4	457.0	305.1	nd	nd
13	1,5-Dicaffeoylquinic acid	9.8	515.0	191.0	nd	nd
14	4-OH Benzoic acid	10.5	137.2	65.0	0.223	nd
15	Epicatechin	11.6	289.0	203.0	nd	nd
16	Vanilic acid	11.8	166.8	108.0	nd	nd
17	Caffeic acid	12.1	179.0	134.0	1.141	2.426
18	Syringic acid	12.6	196.8	166.9	nd	nd
19	Vanillin	13.9	153.1	125.0	nd	0.276
20	Syringic aldehyde	14.6	181.0	151.1	nd	0.061
21	Daidzin	15.2	417.1	199.0	nd	nd
22	Epicatechin gallate	15.5	441.0	289.0	nd	nd
23	Piceid	17.2	391.0	135/106.9	nd	nd
24	p-Coumaric acid	17.8	163.0	93.0	0.532	0.174
25	Ferulic acid-D3-IS ^h	18.8	196.2	152.1	is	is
26	Ferulic acid	18.8	192.8	149.0	1.155	0.138
27	Sinapic acid	18.9	222.8	193.0	nd	nd
28	Coumarin	20.9	146.9	103.1	nd	nd
29	Salicylic acid	21.8	137.2	65.0	0.460	0.171
30	Cynaroside	23.7	447.0	284.0	2.902	0.449
31	Miquelianin	24.1	477.0	150.9	nd	nd
32	Rutin-D3-IS ^h	25.5	612.2	304.1	is	is
33	Rutin	25.6	608.9	301.0	0.182	1.061
34	isoquercitrin	25.6	463.0	271.0	0.065	0.987
35	Hesperidin	25.8	611.2	449.0	5.725	1.082
36	σ-Coumaric acid	26.1	162.8	93.0	nd	nd
37	Genistin	26.3	431.0	239.0	nd	nd
38	Rosmarinic acid	26.6	359.0	197.0	6.804	25.523
39	Ellagic acid	27.6	301.0	284.0	nd	nd
40	Cosmosiin	28.2	431.0	269.0	0.737	0.226
41	Quercitrin	29.8	447.0	301.0	nd	nd
42	Astragalın	30.4	447.0	255.0	0.025	0.174
43	Nicotiflorin	30.6	592.9	255.0/284.0	nd	nd
44	Fisetin	30.6	285.0	163.0	nd	nd
45	Daidzein	34.0	253.0	223.0	nd	nd
46	Quercetin-D3-IS ^h	35.6	304.0	275.9	is	is
47	Quercetin	35.7	301.0	272.9	0.008	nd
48	Naringenin	35.9	270.9	119.0	0.469	0.079
49	Hesperetin	36.7	301.0	136.0/286.0	1.014	0.004
50	Luteolin	36.7	284.8	151.0/175.0	0.864	0.140
51	Genistein	36.9	269.0	135.0	nd	nd
52	Kaempferol	37.9	285.0	239.0	nd	nd
53	Apigenin	38.2	268.8	151.0/149.0	0.377	0.152
54	Amentoflavone	39.7	537.0	417.0	nd	nd
55	Chrysin	40.5	252.8	145.0/119.0	0.339	0.752
56	Acacetin	40.7	283.0	239.0	6.115	10.764

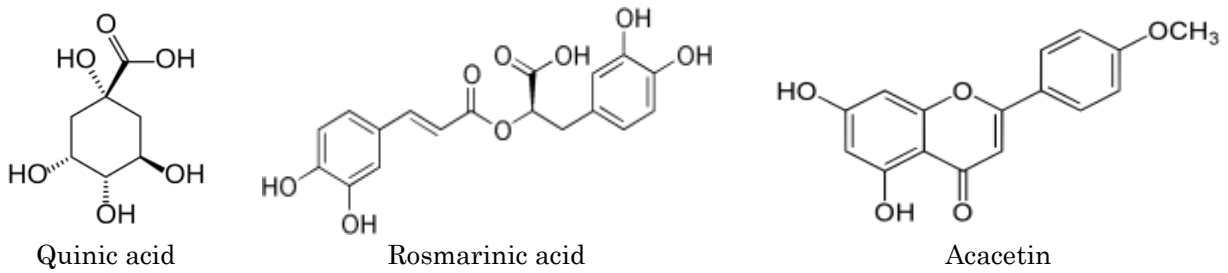
^aRT: Tutulma süresi, ^bAna iyon (m/z): Standart bileşiklerin moleküler iyonları (kütle/şarj oranı), ^cMS² (ÇE): İlgili moleküler iyonlar için MRM fragmentleri, ^dEtanol ekstresi için mg g⁻¹ cinsinden değerler, ^end: Tespit edilmedi, ^his: İç standart, ZC1 *Z. clinopodioides* kültür örneğinin etanol ekstresi, ZC2: *Z. clinopodioides* doğal örneğinin etanol ekstresi



Şekil 2. a) LC-MS/MS ile analiz edilen standartın ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$) TIC kromatogramı, b) ZC1 etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı, c) ZC2 etanol ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı
Figure 2. a) TIC chromatogram of the standard ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$) analyzed by LC-MS/MS, b) LC-MS/MS chromatogram of ZC1 ethanol extract, c) LC-MS/MS chromatogram of ZC2 ethanol extract

Özkan ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Z. clinopodioides* türünün toprak üstü ve kök kısımlarının etanol ekstrelerinin LC-MS sonucunun başlıca bileşikleri, kinik asit, malik asit ve rhoifolin olarak tespit edilmiştir. Toprak üstü kısım ekstraktındaki bileşik miktarları sırasıyla $9020.51 \pm 73.97 \mu\text{g g}^{-1}$, $1972.95 \pm 22.29 \mu\text{g g}^{-1}$ ve $1972.95 \pm 22.29 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Kök

ekstraktında ise bileşik miktarları sırasıyla $14721.04 \pm 120.71 \mu\text{g g}^{-1}$, $2179.04 \pm 24.62 \mu\text{g g}^{-1}$ ve $3593.31 \pm 338.1 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca özütlerin hesperidin, naringenin, rutin, apigenin ve izokersetin gibi bazı flavonoidler ve bazı fenolik asitler içerdiğini ifade etmişlerdir. Mevcut çalışma önceki çalışmayla karşılaştırıldığında majör bileşen olarak her iki çalışmada kinik asit tespit edilmiştir.



Şekil 3. Türün majör bileşikleri
Figure 3. Major components of the species

Toplam Flavonoid-Fenolik İçerik Analizleri

Kültür örneğinin toplam fenolik ve flavonoid miktarlarının doğal örneğine kıyasla yaklaşık olarak iki katına eşit olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Tian ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *Z. clinopodioides* türünün etil asetat, kloroform, *n*-butanol ve etanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları incelenmiş ve sonuçlar yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, etil asetat ekstresinin (%19.27) yüksek miktarda polifenolik içerdiği, kloroform (%4.99) ve *n*-butanol (%3.94) ekstrelerinin ise az

miktarda polifenolik içerdiği belirtilmiştir. Petrol eteri (%0.23) ve etanol (%1.64) ekstrelerinin ise neredeyse hiç polifenolik içermediği bildirilmiştir. Ayrıca, *Z. clinopodioides*'in toplam flavonoid içeriği etil asetat (%65.61), kloroform (%14.36) ve *n*-butanol (%10.76) ekstrelerinde bulunduğu rapor edilmiştir. Alp ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, *Z. clinopodioides* türünün toprak üstü kısmının Türkiye'nin Çoruh Vadisi'ndeki 8 ekotipinin toplam fenolik içeriğinin, 43.41 ile 55.71 mg gallik asit eşdeğeri 100 g^{-1} taze ağırlık arasında değiştiği bildirilmiştir. Aliakbarlu ve Shamelı (2013)

tarafından yapılan çalışmada farklı gelişim evrelerinde olan *Z. clinopodioides* türünün toplam fenolik içeriğinin 9.91 ile 12.80 mg g⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Ding ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise *Ziziphora clinopodioides* Lam. türünün 9 farklı büyüme evresi boyunca toplam fenolik ve toplam flavonoid analizi yapılmıştır. Sonuçlar toplam fenolik içerik için 9.91±0.18 ile 12.80±0.04 mg g⁻¹ arasında, toplam flavonoid miktarları ise 29.84±0.18 ile 50.63±0.59 mg g⁻¹ arasında olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan Aktivite Analizi

Z. clinopodioides türünün DPPH (serbest radikal giderim yöntemi), ABTS (katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi) ve CUPRAC (bakır(II) indirgeyici kapasite) yöntemlerine göre antioksidan aktivite tayinleri yapılmıştır. Standart olarak BHT ve α -TOC kullanılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde ZC1 ekstresinin DPPH serbest radikal giderim yönteminde (IC₅₀: 62.95±1.15 μ g mL⁻¹) standart olarak kullanılan BHT'ye (IC₅₀: 62.15±0.35) benzer antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. ZC2 ekstresinin ise orta düzeyde aktiviteye (145.61±1.94) sahip olduğu görülmektedir. ABTS katyon radikali yönteminde de ZC1 örneğinin

(40.81±0.98), ZC2 (49.29±0.24) örneğinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. CUPRAC yöntemine göre her iki ekstrenin hemen hemen birbirine eşit oranda antioksidan aktivite sergiledikleri belirlenmiştir (Çizelge 4).

Salehi ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, İran'dan toplanan *Z. clinopodioides* türünün antioksidan aktivitesi DPPH yöntemiyle incelenmiştir. Türün metanol ekstresinin serbest radikal temizleme aktivitesinin diğer tüm ekstrelerden daha iyi olduğu (IC₅₀: 30.7 μ g mL⁻¹) belirlenmiştir. Alp ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Z. clinopodioides* türünün 8 taksonun uçucu yağlarının DPPH yöntemine göre IC₅₀ değerlerinin 3.60 ile 4.20 mg mL⁻¹ arasında olduğu belirlenmiştir. Taheri ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, *Z. clinopodioides* türünün 14 popülasyonunun antioksidan aktiviteleri değerlendirmek için DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılmıştır. Sonuçlara göre DPPH için en yüksek değerler sırasıyla 1. ve 13. popülasyonlarda 4.61±0.4 ve 7.59±0.26 μ g mL⁻¹ iken, FRAP için sırasıyla 6. ve 1. popülasyonlarda 328.61±5.54 ve 292.84±2.85 mg g⁻¹ olarak bulunmuştur. Önceki çalışmalar ve mevcut çalışma, türün yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4. Ekstrelerin toplam fenolik, flavonoid içerikleri, toksik ve sitotoksik aktiviteleri ile antioksidan aktivite sonuçları

Table 4. Total phenolic, flavonoid contents, toxic and cytotoxic activities, and antioxidant activity results of the extracts

Örnekler	Fenolik İçeriği (μ g Pes mg ⁻¹ ekstrakt) ^b	Flavonoid İçeriği (μ g QEs mg ⁻¹ ekstrakt) ^c	IC ₅₀ (μ g mL ⁻¹) ^d		A _{0.5}		% Canlılık ^e	
			ABTS Katyon Radikali	DPPH Serbest Radikali	CUPRAC	HT29	MCF7	PDF
ZC1	42.39±1.14	13.44±0.25	40.81±0.98	62.95±1.15	60.52±1.45	176.25±1.80	81.63±0.82	157.78±5.60
ZC2	23.81±0.00	6.57±0.99	49.29±0.24	145.61±1.94	62.53±0.03	60.28±0.60	101.90±0.33	263.5±3.43
BHT	-	-	13.62±0.28	62.15±0.35	7.69±0.01	-	-	-
α -TOC	-	-	10.48±0.63	13.10±0.52	14.49±0.11	-	-	-

^aDeğerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. ^bPirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y = 0.0498(\mu\text{g}) + 0.0434 (r^2: 0.9918)$). ^cKersetine eşdeğer flavonoid içerik. ($y = 0.0535 (\mu\text{g}) + 0.0748 (r^2: 0.9960)$). ^dSonuçlar IC₅₀ değerleri olarak verilmiştir. ^e200 ppm konsantrasyondaki % canlılık değerleri. ZC1: *Z. clinopodioides* kültür örneğinin etanol ekstresi, ZC2: *Z. clinopodioides* doğal örneğinin etanol ekstresi

Sitotoksik Aktivite

Z. clinopodioides türünün ZC1 ve ZC2 örneklerinin etanol ekstrelerinin toksik etkileri PDF (sağlıklı birincil dermal fibroblast hücre hattı) hücre hattına ve sitotoksik etkileri HT-29 (kolon kanseri hücre hattı) ve MCF-7 (meme kanseri hücre hattı) hücre hattına karşı incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde ekstraktların yüzde canlılık değerleri 200 μ g mL⁻¹ konsantrasyonunda, ZC2 örneği kolon kanseri hücre hattı (HT-29) üzerinde iyi düzeyde (% canlılık: 60.28±0.60) sitotoksik etki göstermiştir. Ayrıca ZC1 örneğinin meme kanseri hücre hattına (MCF-7) karşı orta düzeyde (81.63±0.82) sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Her iki ekstrenin PDF (sağlıklı hücre

hatları) üzerine toksik etki göstermediği bulunmuştur (Çizelge 4).

Enzim İnhibisyon Aktivitesi

Çalışılan her iki ekstrenin AChE, BChE, üreaz, tirozinaz, elastaz, kolajenaz ve ACE enzim inhibisyon aktivite ölçümleri yapılmıştır. Enzim aktivitesi sonuçlarına göre kültür ve doğal örneklerin orta düzeyde (sırasıyla, % inhibisyon: 45.14±1.40; 43.57±0.73) bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi açısından değerlendirdiğimizde ise kültür örneğinin orta düzeyde aktivite gösterdiği (% inhibisyon: 43.64±0.39) fakat doğal örneğin aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca kültür

örneğin yüksek antihipertansif (% inhibisyon: 81.6±1.19) aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 5).

Ozdemir ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Z. clinopodioides* türünün özütü sodyum fosfat tampon içinde hazırlanmış ve AChE enzim inhibisyonu aktivitesi ölçülmüştür. 200 µg mL⁻¹ konsantrasyonda yaklaşık olarak % 40'lık bir inhibisyon aktivitesi sergilemiştir. Özkan ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Z. clinopodioides*

türünün toprak üstü ve kök kısımlarının etanol ekstrelerinin antikolinesteraz (AChE ve BChE), tirozinaz ve üreaz enzim inhibisyon aktivite testi gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin AChE, BChE ve üreaz enzim inhibisyon testinde aktif olmadıkları, sadece toprak üstü ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyon testinde zayıf aktivite (% inhibisyon: 8.60±0.87; standart olarak kullanılan kojik asit: 95.26±0.23) gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 5. Ekstrelerin antikolinesteraz, üreaz, tirozinaz, elastaz, kolajenaz ve antihipertansif enzim aktivite sonuçları

Table 5. Anticholinesterase, urease, tyrosinase, elastase, collagenase, and antihypertensive enzyme activity results of the extracts

Örnekler	AChE (% inh.) ^a	BChE (% inh.) ^a	Üreaz (% inh.) ^a	Tirozinaz (% inh.) ^a	Elastaz (% inh.) ^a	Kolajenaz (% inh.) ^a	ACE (% inh.) ^a
ZC1	A.D	45.14±1.40	43.64±0.39	A.D	A.D	10.04±0.12	81.6±1.19
ZC2	A.D	43.57±0.73	A.D	7.49±0.37	A.D	A.D	74.7±0.26
Galantamin ^b	80.54±1.43	76.73±0.46	-	-	-	-	-
Tiyüreb	-	-	95.74±0.67	-	-	-	-
Kojik asit ^b	-	-	-	93.64±1.23	-	-	-
Oleanolik asit ^b	-	-	-	-	44.32±0.20	-	-
Epikateşin gallat ^b	-	-	-	-	-	43.80±0.12	-
Lisinopril ^b	-	-	-	-	-	-	97.68±0.42

^aDeğerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg mL⁻¹). ^bStandart madde. A.D: Aktif değil. ZC1: *Z. clinopodioides* kültür örneğinin etanol ekstresi. ZC2: *Z. clinopodioides* doğal örneğinin etanol ekstresi.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Z. clinopodioides* türünün kültür ile doğal örneklerinin toprak üstü kısımlarının etanol ekstresi hazırlanarak, GC-MS ile aroma analizi, LC-MS/MS ile fitokimyasal içeriği tespit edilip karşılaştırılmıştır. Her iki ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid içeriği, sitotoksik aktivitesi, DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemleriyle antioksidan kapasiteleri, AChE, BChE, üreaz, tirozinaz, elastaz, kolajenaz ve ACE enzim inhibisyon aktiviteleri tespit edilip karşılaştırılmıştır. *Z. clinopodioides* kültür örneğinin aroma analiz sonucuna göre majör bileşenleri pulegon, *cis*-menton ve *trans*-menton olarak belirlenmiştir. Doğal örneğin ise majör bileşenleri pulegon, neoizomentol ve *cis*-pulegon oksit olduğu tespit edilmiştir. LC-MS/MS sonuçlarına göre kinik asit, rosmarinik asit ve asasetin majör bileşenler olarak tespit edilmiştir. Kültür örneğinin fenolik ve flavonoid içeriğinin doğal örneğe göre yaklaşık olarak iki kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Kültür örneğinin genel olarak daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Enzim aktivitesi sonuçlarına göre kültür ve doğal örneklerin orta düzeyde bütirikolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Üreaz enzim inhibisyon aktivitesi açısından değerlendirdiğimizde ise kültür örneğinin orta düzeyde aktivite gösterdiği fakat doğal örneğin aktivite göstermediği

bulunmuştur. Ayrıca kültür örneğinin yüksek antihipertansif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak *Z. clinopodioides* türünün kültüre alınmasının kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri üzerinde olumlu sonuçlar doğurduğu söylenebilir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar bu çalışmada Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü'ne (Proje Numarası: Eczacılık 24.002, Eczacılık 24.007 ve Tıp 20.032) teşekkür etmektedirler. Ayrıca yazarlar türün doğal örneklerini teşhis eden Dr. Mehmet Fırat'a teşekkür eder.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Bitkisel materyal: A.E ve F.T.; Deneysel çalışmalar: M.Ç., M.V.Ç., B.R., İ.Y., M.A., M.A.Y., E.Ç.K. ve S.Y.; Veri derleme ve makale yazımı: M.Ç, S.Y. ve A.E.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Acıbuca, V., & Budak, D. B. (2018). Dünya'da ve Türkiye'de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve

- önemi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1), 37-44.
- Akdeniz, M., Yener, I., Yılmaz, M. A., Kandemir, S. I., Tekin, F., & Ertas, A. (2021). A potential species for cosmetic and pharmaceutical industries: Insight to chemical and biological investigation of naturally grown and cultivated *Salvia multicaulis* Vahl. *Industrial Crops and Products*, 168, 113566. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113566>
- Aliakbarlu, J., & Shameli, F. (2013). *In vitro* antioxidant and antibacterial properties and total phenolic contents of essential oils from *Thymus vulgaris*, *T. kotschyanus*, *Ziziphora tenuior* and *Z. clinopodioides*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(4), 450. <https://doi.org/10.5505/tjb.2013.58070>
- Alp, S., Ercisli, S., Dogan, H., Temim, E., Leto, A., Zia-Ul-Haq, M., Handiabolic, A., & Aladag, H. (2016). Chemical composition and antioxidant activity *Ziziphora clinopodioides* ecotypes from Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, 21(2), 11298-11303.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Behravan, J., Ramezani, M., Hassanzadeh, M. K., Eskandari, M., Kasaian, J., & Sabeti, Z. (2007). Composition, antimycotic and antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(4), 339-345. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2007.10643565>
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200.
- Ding, W., Yang, T., Liu, F., & Tian, S. (2014). Effect of different growth stages of *Ziziphora clinopodioides* Lam. on its chemical composition. *Pharmacognosy Magazine*, 10(Suppl 1), 1-5. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.127329>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Göktaş, Ö., & Gıdık, B. (2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1), 145-151.
- Hayta, S., & Bağcı, E. (2016). The essential oil composition of *Ziziphora clinopodioides* Lam.(Lamiaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Science and Technology*, 11(1), 17-19.
- Hearing, V. J., & Jiménez, M. (1987). Mammalian tyrosinase the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *International Journal of Biochemistry*, 19(12), 1141-1147. [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(87\)90095-4](https://doi.org/10.1016/0020-711X(87)90095-4)
- Karayel, H. B. (2019). Kütahya (Gediz) yöresinde yetiştirilen tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) türünün tohum ve yaprağında uçucu yağ bileşenlerin değerlendirilmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 1-5. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.555167>
- Kazemina, M., Gandomi, H., Koohi, M. K., Noori, N., Khanjari, A., & Ehterami, A. (2024). Optimization of *Ziziphora clinopodioides* L. essential oil nanoencapsulation in chitosan nanocomplex by response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 265, 131114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131114>
- Kraunsoe, J. A., Claridge, T. D., & Lowe, G. (1996). Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry*, 35(28), 9090-9096. <https://doi.org/10.1021/bi953013b>
- Kwon, Y. I. I., Vattem, D. A., & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(1), 107.
- Meral, G. E., Konyalioglu, S., & Ozturk, B. (2002). Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides*. *Fitoterapia*, 73(7-8), 716-718. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00244-7](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00244-7)
- Mojarrab, M., Lagzian, M. S., Emami, S. A., Asili, J., & Tayarani-Najaran, Z. (2013). *In vitro* anti-proliferative and apoptotic activity of different fractions of *Artemisia armeniaca*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5), 783-788. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500010>
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., & Vattuone, M. A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1-2), 109-114. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0)
- Oğan Y., & Cömert M. (2022). Artvin yöre gastronomisinde tıbbi ve aromatik bitkiler. *Aydın Gastronomy*, 6(1), 29-38. https://doi.org/10.17932/iau.gastronomy.2017.016/gastronomy_v06i1003
- Ozdemir, A., Turkoglu, V., & Demir, H. (2013). *In vitro* effect of some plant extracts on acetylcholinesterase enzyme in human erythrocytes and serum. *Fresenius Environmental Bulletin*, 22, 2510-5.
- Ozturk, S., & Ercisli, S. (2007). Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control*, 18(5), 535-540. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.01.002>
- Özkan, E. E., Boğa, M., Yılmaz, M. A., Kara, E. M., & Yeşil, Y. (2020). LC-MS/MS analyses of *Ziziphora clinopodioides* Lam. from Turkey: Antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and, anticancer

- activities. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 50(1), 33-41. <https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2019.0064>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sahakyan, N., & Petrosyan, M. (2022). Possible preventive effect of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil on some neurodegenerative disorders. *OBM Neurobiology*, 6(4), 1-17. <https://doi.org/10.21926/obm.neurobiol.2204140>
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., & Yousefzadi, M. (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) RECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(10), 1892-1896. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1892>
- Senejoux, F., Demougeot, C., Kerram, P., Aisa, H. A., Berthelot, A., Bévalot, F., & Girard-Thernier, C. (2012). Bioassay-guided isolation of vasorelaxant compounds from *Ziziphora clinopodioides* Lam. (Lamiaceae). *Fitoterapia*, 83(2), 377-382. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.023>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49>
- Taheri, A., Ganjeali, A., Arefi-Oskouie, A., Cirak, C., & Cheniany, M. (2023). The variability of phenolic constituents and antioxidant properties among wild populations of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(2), 221-237. <https://doi.org/10.1007/s12298-023-01283-y>
- Tekin, F., Efe, A., Çınar, O., Özbek, O., Kılınc, E., Akpolat, N., Özcan, N., Özek, T., Avcioglu B., & Karakas, O. (2017). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki tıbbi ve aromatik bitkilerin genetik kaynaklarının araştırılması. *GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, Proje numarası: TAGEM/17/A07/P09/013*.
- Thring, T. S., Hili, P., & Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-27>
- Tian, S., Shi, Y., Zhou, X., Ge, L., & Upur, H. (2011). Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. extracts. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 65. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.75904>
- Yigitkan, S., Akdeniz, M., Yener, I., Seker, Z., Yilmaz, M. A., Firat, M., Kavak, D. E., Koseoglu, P. Y., Ertas, A., Kolak, U., & Orhan, I. E. (2022). Comprehensive study of chemical composition and biological activity of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Čelak. *South African Journal of Botany*, 149, 425-434. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.06.037>
- Yilmaz, G., Eruygur, N., Bona, G. E., Bona, M., Akdeniz, M., Yilmaz, M. A., & Ertas, A. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant, and enzyme inhibition activity of five *Salvia* taxa from Turkey. *South African Journal of Botany*, 152, 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.11.027>
- Yilmaz, M. A. (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC-MS/MS method validation. *Industrial Crops and Products*, 149, 112347. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112347>
- Zahid, H., Rizwani, G., Kamil, A., Shareef, H., Tasleem, S., & Khan, A. (2015). Anti-urease activity of *Mimusops elengi* Linn (Sapotaceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 6(4), 223-230. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2015/12240>