T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KASTAMONU'DA KÜLTÜRE EDİLEN BİLYALI KEKİK (*Origanum onites* L.) ve TIBBİ ADAÇAYI'NIN (*Salvia officinalis* L.) ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Mostafa B. Khalifa MİLAD

Danışman	**Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Fatmagül GEVEN**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Sibel ATASAĞUN**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Talip ÇETER**
Jüri Üyesi	**Dr. Öğr. Üyesi Miraç AYDIN**

DOKTORA TEZİ
ORMAN MÜHENDİSİĞİ ANA BİLİM DALI

KASTAMONU - 2018

TEZ ONAYI

Mostafa B. Khalifa MİLAD tarafından hazırlanan **"Kastamonu'da Kültüre Edilen Bilyalı Kekik (*Origanum onites* L.) ve Tıbbi Adaçayı'nın (*Salvia officinalis* L.) Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Orman Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Fatmagül GEVEN Ankara Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Sibel ATASAĞUN Ankara Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Talip ÇETER Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Miraç AYDIN Kastamonu Üniversitesi	.....

02/ 08 /2018

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Hasbi YAPRAK .....

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.



İmza
Mostafa B. Khalifa MİLAD

ÖZET

Doktora Tezi

KASTAMONU'DA KÜLTÜRE EDİLEN
BİLYALI KEKİK (*Origanum onites* L.) ve TIBBİ ADAÇAYI'NIN
(*Salvia officinalis* L.) ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Mostafa B. Khalifa MİLAD

Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Ögr. Üyesi Kerim GÜNEY

Bu çalışma, bazı tıbbi ve aromatik bitkilerden su buharı distilasyonu yöntemi ile elde edilen uçucu yağın fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ile patojen mantar ve bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisini ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır.

Bu çalışmada bilyalı kekik (*Origanum onites* L.) ve tıbbi adaçayı'nın (*Salvia officinalis* L.) taksonlarının her birindensu buharı distilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkisi minimum inhibisyon konsantrasyon yöntemi kullanılarak gram-pozitif (*Bacillus subtilis, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Enterococcus durans, Listeria monocytogenes, Listeria innocua, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus ve Staphylococcus epidermidis*), gram-negatif (*Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Salmonella infantis, Salmonella kentucky, Salmonella typhimurium, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa ve Pseudomonas fluorescens*) patojen bakteri suşları ile bir adet patojen mantar (*Candida albicans*) suşuna karşı test edilmiştir.Bitkilerden elde edilen uçucu yağın fitokimyasal içeriği GC-MS analizi ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bilyalı kekik (*Origanum onites* L.), Tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.), antimikrobiyal, Uçucu yağ, GC-MS analizi.

2018, 62 sayfa
Bilim Kodu: 1205

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TURKISH OREGANO (*Origanum onites* L.) AND SAGE (*Salvia officinalis* L.) CULTIVATION IN KASTAMONU

Mostafa B. Khalifa MİLAD

Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forest Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Kerim GÜNEY

Abstract: This study aims to determine the phytochemical content of essential oil, obtained by water vapor distillation method from some medicinal and aromatic plants, and revealing the antimicrobial effect on pathogenic fungi and bacteria.

In this study, antimicrobial effect of essential oils obtained by water vapor distillation method from each of the *Salvia officinalis* L. and *Origanum onites* L. taxa were tested on gram-positive (*Bacillus subtilis, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Enterococcus durans, Listeria monocytogenes, Listeria innocua, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*), gram-negative (*Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Salmonella infantis, Salmonella kentucky, Salmonella typhimurium, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*) pathogenic bacterial strains and one pathogenic fungus strain (*Candida albicans*) obtained with using the minimum inhibition concentration method.

The phytochemical content of essential oils obtained from plants was determined by GC-MS analysis.

Key Words: Turkish Oregano (*Origanum onites* L.), Sage (*Salvia officinalis* L.), Antimicrobial, Essential oil, GC-MS analysis.

2018, 62 pages
Science Code: 1205

TEŞEKKÜR

Her şeyden önce, ülkeme (LİBYA) bana bu şansı verdikleri için samimi teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Bu yüksek lisans tez çalışmasının her aşamasındaki yapıcı tavrı, sabrı, pozitif yaklaşımı ve değerli katkıları için danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY'e, bu teşekkür ediyorum. Onun rehberliği, araştırmanın her aşamasında ve bu tezin yazımında bana yardımcı oldu.

Tezin antimikrobiyal çalışmalarının yorumlanmasında katkı sağlayan Doç. Dr. Talip ÇETER hocama ve GC-MS analizlerinin yorumlanmasında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÜR hocama verdiği destek için teşekkür ediyorum.

Laboratuvar çalışmalarında bana verdiği destek için Esma Sena PATTABANOĞLU'na teşekkürlerimi sunuyorum.

Aileme; anne ve babama, eşime hayatım boyunca manevi olarak destekledikleri için teşekkür etmek istiyorum.

Son olarak, Kastamonu Üniversitesinde destek gördüğüm akademik ve idari kadroda çalışan tüm personele, arkadaş ve dostlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Mostafa B. Khalifa MİLAD
Kastamonu, Ağustos, 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iii
ABSTRACT iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ viii
HARİTALAR DİZİNİ ix
TABLOLAR DİZİNİ x
GRAFİKLER DİZİNİ xi
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ xii
1. GİRİŞ 1
1.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi 1
1.2. Lamiaceae (Ballıbabagiller) Ailesi 5
1.2.1. *Salvia officinalis* (Tıbbi adaçayı) 6
1.2.2. *Origanum onites* (Bilyalı kekik) 7
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR 9
3. MATERYAL VE YÖNTEM 24
3.1. Materyal 24
3.1.1. Bitki Materyali 24
3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler) 24
3.2. Yöntem 25
3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması 25
3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi 25
3.2.3. GC-MS Analizi 30
3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik 30
4. BULGULAR 32
4.1. GC-MS Bulguları 32
4.1.1. Tıbbi Adaçayına ait GC-MS Bulguları 32
4.1.2. Bilyalı Kekike ait GC-MS Bulguları 32
4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği 37

4.2.1. Bitki Örneklerine Ait MİK Değerleri 37
4.2.2. Bitki Örneklere Ait MBK, MFK Değerleri 38
4.2.3. Tıbbi Adaçayı'na ait Ait MİK Değerleri 40
4.2.4. Tıbbi Adaçayı'na Ait MBK, MFK Değerleri 40
4.2.5. Bilyalı Kekik'e Ait MİK Değerleri 43
4.2.6. Bilyalı Kekik'e Ait MBK, MFK Değerleri 44
5. TARTIŞMA 46
5.1. GC-MS Değerleri Hakkında 46
5.2. Antimikrobiyal Değerler Hakkında 47
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 48
KAYNAKLAR 49
ÖZGEÇMİŞ 62

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrad derece
ATTC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
DSMZ	Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu
kob/ml	Koloni oluşturan birim
GC-MS	Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrofotometresi
kg	kilogram
GI	Mide barsak yolu enfeksiyonları
m	Metre
M.Ö.	Milattan önce
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungusidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
subsp.	Alttür
UTI	İdrar yolu enfeksiyonları
WHO	Dünya Sağlık Organizasyonu
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
µl	Mikrolitre

HARİTALAR DİZİNİ

Sayfa

Harita 1.1. *Salvia officinalis*'in doğal yayılış alanı 7
Harita 1.2. *Origanum onites*'in Türkiye'de dağılımı 8

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması 24
Tablo 3.2. Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması 25
Tablo 3.3. Bitki türleri, lokaliteleri, kullanılan kısımları ve toplanma tarihi 25
Tablo 4.1. Tıbbi adaçayı uçucu yağının GC-MS analizi..... 34
Tablo 4.2. Bilyalı kekik uçucu yağının GC-MS analizi..... 36
Tablo 4.3. Bitki taksonlarına ait MİK değerleri µl/ml. 37
Tablo 4.4. Bitki taksonlarına ait MBK, MFK değerleri µl/ml 38
Tablo 4.5. Bitki taksonlarına ait bakterisidal/fungusidal ve bakteriostatik/fungustatik değerlerin karşılaştırılması (µl/ml) ……. 39
Tablo 5.1. Bitki taksonlarında dominant kimyasal bileşenler açısından farklılıklar ve benzerlikler……. 46

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. Tıbbi adaçayının uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı..... 33
Grafik 4.2. Bilyalı kekiğin uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı..... 35
Grafik 4.3. Tıbbi adaçayının uçucu yağına ait MİK değerleri 42
Grafik 4.4. Tıbbi adaçayının uçucu yağına MBK, MFK değerleri 42
Grafik 4.5. Bilyalı kekiğin uçucu yağına ait MİK değerleri 45
Grafik 4.6. Bilyalı kekiğin uçucu yağına ait MBK, MFK değerleri…… 45

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Örneklerin toplanması 26
Fotoğraf 3.2. Örneklerin ayıklanması 26
Fotoğraf 3.3. Araziden toplanmış ve ayıklanmış örnekler 26
Fotoğraf 3.2. Örneklerin ayıklanması 23
Fotoğraf 3.3. Araziden toplanmış örnekler 23
Fotoğraf 3.4. Clevenger cihazında su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ eldesi 27
Fotoğraf 3.5. Ephendorf tüplerinde tıbbi adaçayı uçucu yağı. 28
Fotoğraf 3.6. Ephendorf tüplerinde bilyalı kekik uçucu yağı. 28
Fotoğraf 3.7. Ephendorf tüpünde tıbbi adaçayı uçucu yağı..... 29
Fotoğraf 3.8. Ephendorf tüpünde bilyalı kekik uçucu yağı..... 29
Fotoğraf 4.1. Tıbbi adaçayı uçucu yağının MİK sonuçlarına örnek 41
Fotoğraf 4.2. Tıbbi adaçayı uçucu yağının MBK, MFK sonuçlarına örnek 41
Fotoğraf 4.3. Bilyalı kekiğin uçucu yağının MİK sonuçlarına örnek 43
Fotoğraf 4.4. Bilyalı kekiğin uçucu yağının MBK, MFK sonuçlarına örnek 44

1. GİRİŞ

1.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi

Bitki, hayvan ve minerallerden elde edilen doğal ürünler, insan hastalıklarını tedavi etmenin temelini oluşturmuştur (Firenzuoli ve Gori, 2007). Şifalı bitkilere olan talep her geçen gün giderek artmaktadır. Bitkiler ekosistemlerde üretici fonksiyonlarıyla vazgeçilemez bir rol oynamaktadır. Bitkiler olmaksızın, diğer canlıların varlıklarını devam ettirmeleri mümkün değildir (Singh, 2002). Tıbbi bitkiler, antik çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmaktadır. Tarih öncesi devirlerde ilk insanlar bitkileri yakıt, giyim, barınak ve yiyecek olarak kullanmışlardır. Tıbbi bitkilerle ilgili araştırmalar Çin, Yunanistan, Mısır ve Hindistan gibi ülkelerde en eski bilimsel araştırmaları oluşturmuştur. Eski İran'da bitkiler ilaç, dezenfektan ve aromatik madde olarak kullanılmıştır (Hamilton, 2004). Hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerin kullanımı insanlık tarihinin başlarına kadar uzanmaktadır. Bugün bitki türlerinin onda biri ilaç ve kozmetik ürünü olarak (50.000'den fazla tür) kullanılmaktadır. Dünyadaki şifalı bitkilerin dağılımı tek düze değildir, coğrafi bölgelere göre farklılık gösterirler (Huang, 2011; ve Rafieian-Kopaei, 2012). Şifalı bitkilerin popülasyonları doğal alanlarda yayılış göstermektedir. Doğal ürünlere olan talep, son yıllarda Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'da yılda % 8-15 oranında artmıştır (Verma ve Singh, 2008).

Tıbbi bitkilerin değerlendirilecek kısımları çiçek, meyve, tohum yada kök gövde yaprak veya tüm bitki olabilir. Tıbbi bitkilerin çoğunda aktif bileşikler, doğrudan veya dolaylı terapötik etkilere sahiptir. Bu bitkilerde bulunan ve canlılar üzerinde fizyolojik etkileri olan aktif bileşikler üretilir ve depolanır (Phillipson, 2001). Şifalı bitkiler, sinerjik eylemler de dahil olmak üzere belirli özelliklere sahip oldukları için tedavi için kullanılmaktadır. Bitkinin bileşenleri birbiriyle etkileşime girebilir ve bu etkileşim yararlı ya da zararlı olabilir. Herhangi bir bilimin tarihini bilmek, bu bilimi anlamak ve kullanmakta etkilidir. Bu yüzden geçmişte, günümüzde ve gelecek için şifalı bitkilerin tarihsel önemi vurgulamak önemlidir. Şifalı bitkilerin ilaç olarak kullanılma zamanının kesin olarak belirlenmesi çok zordur.

Bazı veriler bitkilerin yaklaşık 60.000 yıl önce ilaç olarak yetiştirildiğini göstermektedir (Solecki ve Shanidar, 2011). Şifalı bitkilerle ilgili belgeler 5000 yıl önce Hindistan, Çin ve Mısır'da, en az 2500 yıl önce Yunanistan ve Orta Asya'da tespit edilmiştir (Ang-Lee vd., 2001). Geçmişte hastalığın nedenleri ve bunları tedavi etmek için yeterli bilgi olmadığından sonuçlar ampirikti. Zamanla, hastalıkların sebebleri tespit edildikçe kullanımın gerekçesi oluştu. Bitkisel ilaçların kullanımına dair ilk belgeler 5000 yıl öncesine dayanan Nagpur'dan bir Sümer kil tabletinde bulunmuştur (Qiu, 2007). Mısırlıların ve Çinlilerin M.Ö. 2700'lü yıllara dayanan tıbbi bitki kullanımlarına ilişkin bilgilere rastlanmıştır (Schippmann vd., 2006). Eski Yunan toplumlarında da bazı şifalı bitkilerin tıbbi özelliklerinin bilindiği ve Hippocrates'in hastalıkların tedavisi için şifalı bitkileri kullandığı çeşitli kaynaklar tarafından belirtilmektedir. Bir Yunan bilim adamı olan Theophrastus, Şifalı Bitkiler Okulu'nu kurmuştur. M.Ö. 75-45 yıllarında bir hekim ve cerrah olan Pedanius Dioscorides bir dizi bilimsel çalışma ile 600 terapötik tıbbi bitkiyi tanımlamak için De Materia Medica adlı bir ansiklopedi yazmıştır. İran'daki şifalı bitkilerin kullanım tarihi M.Ö. 6500'den 7000'e dayanır. İran'da geleneksel tıp ve eczacılık bilimi, ülkenin tarih öncesi inançlarının ve Mezopotamya'nın erken sakinlerinin geleneklerinin ve daha sonra Babilliler, Asurlular, Elamitler ve diğer eski uygarlıkların birleşmesinin bir sonucudur (Elgood, 2010; Levey, 1973). İranlı'larda şifalı bitkiler için en göze çarpan belge Zerdüştlük'ün kutsal kitabı olan Avesta'dır. Avesta'nın 5 kitabından biri olan Dorandiyud'un birçok bölümü fitoterapiyi, şifalı bitkileri ve kullanımını ele almaktadır (Malandra, 1983). Fakat ne yazık ki meşhur İskenderiye kütüphanesi bir yangında yok edilmiştir. İran'ın botanik tarihi bir kez de Moğol hükümdarı olan Hulagu Han tarafından kütüphanelerinin yakılmasıyla darbe almıştır. 8 ve 9. yüzyıllarda, Avicenna ve Razi'nin de dahil olduğu doktorlar tıpta büyük ilerlemeler kaydettiler. 13. yüzyılda İbnü'l-Baytar kitabında 1400'den fazla bitkinin özelliklerini tarif etmiştir. Geleneksel bitkisel ilaçlar doğal ve nispeten daha az komplikasyona neden olduğu düşünülmekte ve binlerce yıldır gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH), sağlık sistemlerini, uygulamaları ve ürünleri kapsayacak şekilde tamamlayıcı ve alternatif tıbbı (CAM) kullanmakta ve şu anda geleneksel tıbbın bir parçası olarak kabul edilmemektedir.

Dünya genelinde, çeşitli geleneksel tıbbi sistemlerin arasında, geleneksel Çin tıbbı (TCM) şu anda en popüler olanıdır, bunu Hint tıbbı izlemektedir. Batı ülkelerinde "Doğu Tıbbı" Çin, Japon ve Kore ilaçlarını ifade ederken, "Asya Tıbbı" sıklıkla Hindistan ve Tibet tıbbını içerir. Geleneksel tıp sistemlerinde tüm tedaviler arasında, tıbbi bitkiler en çok kullanılanlardır (Liu, 2011). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, dünya nüfusunun % 80'inden fazlası, çoğunlukla temel ilaç kaynağı olarak kullanılan bitkiler başta olmak üzere geleneksel ilaçlara daha çok güvenmektedir (Farnsworth vd., 1985). Bu rakam sadece Çin, Hindistan ve dünyanın gelişmekte olan tüm ülkeleri değil, aynı zamanda birçok gelişmiş ülkeyi de içermektedir (Ganesan, 2008). Hastalıklar şu anda daha çok özellikle laboratuvarlarda geliştirilmiş sentetik kaynaklı ilaçlar ile tedavi edilmekte ise bu ilaçların kullanımı bedensel hasarlara yol açmaktadır. Bu nedenle, tıbbi bitkilerin ve ürünlerinin önemi gittikçe daha fazla fark edilmekte ve kullanımlarına duyulan güven sürekli olarak güçlendirilmektedir. Günümüzde esas olarak bitkilerden elde edilen bu geleneksel ilaçların klinik, farmasötik ve kimyasal çalışmaları, Aspirin (*Salix* sp.), Digoxin (*Digitalis purpurea*), Morfin (*Papaver somniferum*) öncül ilaçların temelini oluşturmaktadır. Kinin (*Cinchona* kabuk) ve Pilocarpine'den (*Pilocarpus microphyllus* - Syn: *Maranham jaborandi*). Halihazırda mevcut ilaçların % 50'den fazlasının bir şekilde tıbbi bitkilerden türediği tahmin edilmektedir (Yarnell ve Abascal, 2002; Harvey, 2008). Doğal bileşiklerden ilaç keşfinde bitki materyalleri farmasötik amaçlı test edilir. Herhangi bir aktivite kanıtı gözlemlenirse, ekstrakt ayrılır ve aktif bileşik izole edilirerek tanımlanır. Dünyada çoğu tıbbi uygulamada henüz çalışılmamış yaklaşık yarım milyon bitki bulunduğu düşünülürse tıbbi faaliyetlerle ilgili şifalı bitkilerin umut verici bir geleceğe sahip olduğu düşünülmektedir (Singh, 2015). Bitkisel ilaçların geliştirilmesinin başlangıcı, kimyanın gelişmesi ve bitki bileşimlerinin izolasyonu, saflaştırılması ve tayini ile eş zamanlı olmuştur (Shakya vd., 2012). Geçmişte, bitki ekstrelerinden gelen biyolojik bileşiklerin keşfi ve aktif bileşiklerin yapılarının tanımlanması süreci, bileşiklerin karmaşıklığına bağlı olarak haftalar, aylar hatta yıllar alabilmektedir. Günümüzde, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC/MS), sıvı kromatografi kütle spektrometresi (LC/MS), manyetik alan ve nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi hassas aletlerin geliştirilmesi ile biyoassay güdümlü fraksiyonasyon oranı önemli ölçüde artmıştır (Schroeder ve Gronquist, 2006). Son yıllarda bitkiler üretmeye yönelik araştırmaların

başarısına rağmen, gelecekteki çabalar birçok zorlukla karşılaşmaktadır. Bitkisel ürünün de hammaddelerin standardizasyonu bitki endüstrisi için önemli bir konudur (Yadav vd., 2014). Otsu bitkiler, büyüme, işleme ve toplama sırasında kolaylıkla enfekte olabilmektedir. Yeni bitkisel ilaçlar keşfetmeye çabalarken, bitkisel ilaçların üretimi için biyoaktif bileşiklerin kalitesini ve miktarını arttırmak gereklidir (Clark, 1996). Dünya çapında doğal maddelerin kullanımının yaygınlaşması nedeniyle, bitki kaynaklı ilaçların kalitesi ve güvenliği kapsamlı ve doğru bir şekilde incelenmelidir (Firenzuoli ve Gori, 2007). Öte yandan, tıbbi bitkilerin karşılaştığı zorluklardan biri, bu kaynakların ilkeli olmayan kullanımı nedeniyle tıbbi bitki türlerinin kaybıdır. Uluslararası Doğa Koruma Birliği'ne göre, dünya çapında ilaç amaçlı kullanılan 50.000-80.000 çiçekli bitki türü bulunmaktadır. Bu rakamlar arasında, yaklaşık 15.000 türün yüksek hasat ve habitat tahribatı nedeniyle yok olma riskine maruz kalması ve artan yabani hayvan kaynaklarının % 20'si ve artan insan popülasyonları ve aşırı bitki tüketimi nedeniyle azalmaktadır (Ross, 2005). Bu nedenle, doğal kaynakları keşfetmek için doğal kaynaklardan yararlanma süreçlerinde biyolojik çeşitliliği koruyan çevresel etik kuralları dikkate alınmalıdır (Pan vd., 2013). Şifalı bitkiler için iyi tarım uygulamaların üretimi düzenlemesi ve kaliteyi sağlaması ve bitkisel ilaçların standardizasyonunu kolaylaştırması planlanmaktadır (Chan vd., 2012). İyi tarım uygulamaları çeşitli problemleri çözmeye yardımcı olmak için yüksek kaliteli, güvenli ve kirlenmemiş (ham ilaçlar) bitkisel ilaçları kullanan bir yaklaşımdır (Muchugi vd., 2008). İyi tarım uygulamalarında üretim materyalinin teşhisi, üretim alanlarının ekolojik temizliği, germplazma, kültüre etme, pestisit kontrolü, makroskopik veya mikroskobik tanımlama ve kalite özellikleri, aktif bileşiklerin kimyasal olarak tanımlanması gibi konular dikkate alınmaktadır (Makunga vd., 2008).

Çin'de, GAP, geleneksel bitkilerin geleneksel olarak yetiştirildiği alanlarda geleneksel şifalı bitkilerin gelişimini desteklemiştir (Ma vd., 2012). Günümüzde birçok insan bitkisel ilaçları temel sağlık hizmetinin bir parçası olarak kullanmasına rağmen, bitki kullanımının güvenliği ve etkinliği konusunda hala birçok endişe bulunmaktadır. Dünyadaki bilim adamlarının bitkilere ait tarihi belgeleri doğru bir şekilde çevirisini yapamamaları ve araştırma bulgularının yorumlamasını yine doğru bir şekilde yapamamaları bu alandaki en büyük zorluklardan biridir. Aslında,

bitkilerin tıbbi bir sisteme etkili entegrasyonunu gerçekleştirmek için, araştırmacılar ve uygulayıcılar, bitkisel ve modern bileşiklerin kullanımı için hem modern hem de geleneksel tıp eğitimi almalıdırlar. Ek olarak, geleneksel tıpta bitkilerin kullanımı için güvenilirlik oluşturmak için, ampirik argümanlar kanıta dayalı argümanlara dönüştürülmelidir. Son olarak, bitkisel ilaçlar ve doğal ürünlerin standartlarının yanı sıra güvenlik, doğru doz, tedavi süresi, yan etkileri, akut ve kronik toksisiteleri ile ilgili çeşitli sorular yanıt bulmalıdır. Bu sorunlar çözülürse, şifalı bitkiler güvenli, etkili ve uygun fiyatlı sağlık hizmeti olarak kullanılabilir. Orta Doğu'da, Latin Amerika, Afrika ve Asya nüfusunun % 85'inden fazlası, özellikle bitkisel ilaçlar üzerinde geleneksel sağlık hizmetlerine dayanmaktadır. Avrupa Birliği'nde ve nüfusun % 90'ı yaklaşık 100 milyon insan hala geleneksel, tamamlayıcı veya bitkisel ilaç kullanıyor. 2012 yılında, Çin bitkisel ilaçlarının satışları 83 milyar dolara ulaşmıştır. 2020 yılına kadar tüm bitkisel takviyeler için pazarın 115 milyar dolara ulaşacağı öngörülüyor. Bazı şifalı bitkiler, dünyadaki sağlık sistemlerinde, yalnızca hastalıkların tedavi edilmesi için değil, aynı zamanda onları önlemek ve sağlığı korumak için de destekleyici tedavi kaynaklarıdır. Geleneksel tıpta tıbbi bitkilerin kullanımındaki geniş tecrübelere rağmen, bilimsel çalışmalarla aktif bitki bileşiklerinin tanımlanması ve bunların etkilerinin tespiti, yeni terapötik faydaların keşfedilmesine ve gelecekte doğaya dayalı ürünlerin üretilmesine sebeb olacaktır. Bu amaca ulaşmak için, modern ilaç sistemindeki kullanımlarını doğrulamak amacıyla, ham ilaçların ve formülasyonun kalitesini kontrol etmek için kapsamlı araştırmalar yapmak gerekmektedir. Daha sonra, bu bitkilerin faydalarının uygulanabilirliği için hayvan çalışmaları ve klinik denemeler gereklidir. Ayrıca, tıbbi bitkilerden ilaçların geliştirilmesinde, bu ilaçların elde edildiği kaynakları korumak öncelikler arasında olmalıdır.

1.2. Lamiaceae (Ballıbabagiller) Ailesi

Ballıbabagiller ailesi, Bitkiler aleminden, tohumlu bitkilere mensup, yeryüzünde 250 cins ve 6500 adet türü, ülkemizde ise 42 cins ve 570’e yakın türü bulunan bir familyadır. Adaçayı, nane, kekik, lavanta, fesleğen vb. kokulu bitkileri kapsar. Genellikle çok yıllık otsu bitkiler veya ağaççıklardır.

1.2.1. *Salvia officinalis* (Adaçayı)

Adaçayı (*Salvia*), Lamiaceae familyasına ait değerli tıbbi ve aromatik bir bitki türüdür. Tıbbi adaçayı, İspanya'dan Balkanlara kadar Akdeniz ülkelerinde 0-1500 m rakım aralığında yayılış gösterir. Dünyada 900'ün üzerinde adaçayı türü bulunmakla birlikte, ticari değeri en yüksek olan türler arasında tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) da vardır. 30-70 cm boylu olan bitki menekşe renkli çiçeklere sahip olup halka dizilişlidir. Karşılıklı acımtırak bir kokuya sahiptir. Çiçekler üst yaprakların koltuğunda 3-6 veya daha fazladır. Kaliks tüp şeklinde, yeşil renkli ve 2 dudaklıdır. Üst dudakta 3, alt dudakta ise 2 diş bulunur. Korolla tüp şeklinde, ve 2 dudaklıdır. Stamen 4 tane, 2 si verimli diğer 2 si ise staminodium halindedir. Filamentler korollaya yapışıktır. Anter değişmiş ve uzamış bir konnektife sahiptir. Konnektifin 2 ucunda bulunan tekalardan biri verimli, diğeri plak şeklinde ve verimsizdir. Dişi organ 2 karpelden meydana gelmiş olup ovaryum üstte, 4 gözlü ve 4 tohum taslaklıdır. Stilus basit, stigma 2 parçalıdır.

Adaçayının ticari olarak en kıymetli olduğu yerlerden biri de Türkiye'dir. Ülkemizde tıbbi adaçayı başarılı bir şekilde kültürü yapılabilmekte, verimliliği ve kalitesi yüksek drog yaprak verebilmektedir. Tıbbi adaçayının ekonomik olarak değerlendirilen kısımları yaprak kısımlarıdır. Anadolu'da adaçayı türünün kurutulmuş yapraklarından çay ve baharat olarak yararlanılır. Çok uzun yıllardan beri kullanılan adaçayının unutkanlıkta, içerdiği östrojenle adet düzensiz ve sancılarında, ateş basması, terleme şikayetlerini gidermede kullanıldığı bilinmektedir. Çayının midevi oluşuyla bağırsaklardaki gazların kolay atılımını sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca aşırı terlemeyi azaltarak ter kokularını da azalttığı bilinmektedir.



Harita 1.1. *Salvia officinalis*'in doğal yayılış alanı

1.2.2. *Origanum onites* (Bilyalı Kekik)

İzmir kekiği diye anılan bu kekik türü Akdeniz ve Ege bölgesinin kıyı şeritlerinde yayılış göstermektedir. 0-1000 m rakım aralığında yayılış gösteren çok gövdeli bir yapıya sahip, doğal yayılış gösterdiği alanlarda 30-35 cm, kültüre edildiğinde ise 80-100 cm aralıklarında boylanabilen bitki türüdür. Kök yapısı saçak kök formundadır, 35 cm'ye uzayan kök yapısı derinliklere kadar inebilir. Gövde yeşil ve otsu yapıda olup, üzerinde ince tüyler barındırır, yaprak yapısı kalp şekline benzer ve üzerinde bol miktarda salgı tüyleri barındırır. Çiçekleri hermafrodit (hem erkek hem de dişi organ beraber), küçük beyaz renkte, tohumları ise çok küçük ve kahverengi renktedir.

En yaygın kullanımı baharat şeklinde olup sos, çorba ve en çok et yemeklerinde kullanımı mevcuttur. Geleneksel olarak sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılır. Çay, yağ, ekstrakt, sabun ve şampuan olarak kullanımı vb. gibi formlarda

kullanımları mevcuttur. Halk arasında öksürük tedavisi ve ruhsal sorunlarda, antiseptik özelliğinden dolayı ev hijyeninde kullanılması da oldukça popüler bir şekilde tercih edilir. Kolesterolü dengeleme ve kanı temizleme özelliği, kan kanseri tedavisinde destekleyici bir şekilde kullanılması, nezle-grip gibi rahatsızlıklarda, böbrek ve prostat rahatsızlıklarında kullanımları da diğer sayılabilecek özellikleri arasındadır.



Harita 1.2. *Origanum onites*'in Türkiye'de dağılımı

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bitkiler aralarında, uçucu yağlarında bulunduğu çok çeşitli ikincil metabolitler üretirler. Zengin ve karmaşık kompozisyonlarına rağmen, esansiyel yağların kullanımı kozmetik ve parfümeri alanlarıyla sınırlı kalır. Uçucu yağlar ikincil etkilere neden olmadan kimyasal endüstrinin sentetik bileşenlerine karşı etkili alternatif veya tamamlayıcı olarak kullanılabilirler. Uçucu yağların kullanımı 16. yy kadar uzanır ve İsviçre'den Paracelsus von Hohenheim tarafından isimlendirilen Quinta essentia sözcüklerinden türemiştir (Guenther, 1948). Uçucu yağlar isimlerini yanıcılıklarına borçludur. Uçucu yağlar, alkol, eter ve sabit yağlarda çözünür, ancak suda çözünmezler. Genellikle oda sıcaklığında sıvı ve renksizdir. Karakteristik bir kokuya sahip olup oda sıcaklığında sıvıdırlar. Bir kırılma indisine ve çok yüksek bir optik aktiviteye sahiptirler. Bitkilerde bulunan bu uçucu yağlar, bitkilerin yaydığı farklı kokulardan sorumludur. Kozmetik endüstrisinde, parfümeride ve aynı zamanda aromaterapide yaygın olarak kullanılırlar. Uçucu yağlar masaj, inhalasyon veya banyolarda terapötik etkileriyle kullanım alanı bulurlar. Tozlaştırıcı böceklerin çiçeklere doğru çekilmesi, yırtıcılara karşı kovucu madde, tohum çimlenmesinin engellenmesi veya bitkiler arasındaki iletişimde rol oynarlar. Uçucu yağlar antifungal, antibakteriyal veya böcek ilacı olarak caydırıcı etkilere sahiptir. Aşağıda verilen aromatik bitkilerin belirtilen organları uçucu yağlar içerebilir:

- Çiçek ve tomurcuk: Lavanta ve karanfil,
- Yaprak: Okaliptüs, nane, kekik, defne yaprağı, adaçayı, çam ibreleri,
- Rizom: Zencefil, havlıcan,
- Tohum: Rezene, anason, kişniş,
- Meyve: Limon, portakal, turunç,
- Kabuk: Tarçın, sandal ağacı.

Uçucu yağlar bitkinin bir veya daha fazla organında bulunan, hücre sitoplazmasında, salgı tüyleri, trikom, epidermal hücreler, iç salgı hücreleri ve salgı ceplerinde depolanan kimyasallardır. Bu uçucu bileşikler çeşitli kimyasal sınıflara aittir: alkoller, eterler veya oksitler, aldehitler, ketonlar, esterler, aminler, amidler, fenoller, heterosiklikler ve esas olarak terpenlerdir. Uçucu yağlar nitel ve nicel olarak

bileşimleri çok yüksek değişkenliğe sahiptir. Bu değişkenlikleri iki grupta toplayabiliriz. Birincisi bitki ile ilgili içsel faktörler ve çevre ile etkileşimi (toprak tipi ve iklim vb.), bitkinin olgunluğu, gün içinde hasat zamanı, ikincisi ekstraksiyon yöntemi ve süresidir. Uçucu yağların elde edilmesinde en yaygın olarak kullanılan cihaz damıtma cihazıdır. Ayıklanmış bitki materyali ve suyun kaynatılmasıyla soğuk yüzeye çarpan buharın yağ ve su şeklinde 2 faza ayrılması prensibiyle çalışır. Süreç yaklaşık 3-4 saat sürer. Uçucu yağların biyolojik aktiviteleri aşağıdaki şelikde gruplandırabiliriz.

a. Antibakteriyel aktivite

Uçucu yağların ve bileşenlerinin antimikrobiyal özellikleri (Shelef, 1983; Nychas, 1995) ve etki mekanizmaları detaylı olarak araştırılmıştır (Lambert vd., 2001). Uçucu yağların önemli bir özelliği hidrofobik olmalarıdır, bu da onların bakterilerin hücre zarının lipitlerine bağlanarak yapılarının bozulmasına ve daha geçirgen olmalarını sağlamaktadır (Sikkema vd., 1994). Bu daha sonra iyonların ve diğer hücresel moleküllerin sızmasına neden olmaktadır (Gustafson, 1998; Cox, 2000; Carson ve Riley, 1995: Ultee vd., 2002). Bakteri hücrelerinin belirli bir miktarının, canlılık kaybı olmaksızın tolere edilebilmesine rağmen, hücre muhtevasının kaybı veya molekül ve iyonların kritik çıktısı hücre ölümüne yol açabilir (Denyer ve Hugo, 1991). Uçucu yağların bileşenlerinin bir veya birden fazla hedefi olabilir. Sinnamaldehit, sitrol, karvakrol, öjenol veya timol gibi esas olarak aldehidler veya fenoller içeren uçucu yağların en yüksek antibakteriyel aktivite ile karakterize edildiği, bunu terpen alkolleri içeren uçucu yağların izlediği bildirilmiştir. Ketonlar veya esterler, uçucu yağlar daha zayıf bir aktiviteye sahipken, terpen hidrokarbonları ihtiva eden uçucu yağlar genellikle aktif değildir (Dorman ve Deans, 2000; Davidson, 1997). Genel olarak, karvakrol, öjenol ve timol gibi yüksek düzeyde fenolik bileşikler ile karakterize edilen esansiyel yağlar önemli antibakteriyel aktivitelere sahiptir (Lambert vd., 2001; Dorman ve Deans, 2000; Knobloch vd., 1986). Bu bileşikler sitoplazmik membranın bozulmasından, protonların itici gücünden, elektron akışından, aktif taşınmadan ve ayrıca hücre içeriğinin pıhtılaşmasından sorumludur (Sikkema vd., 1994; Denyer ve Hugo, 1991; Pauli,

2001). Uçucu yağların kimyasal yapısı, antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili etki tarzlarını etkiler (Knobloch vd., 1986). Karvakrol ve timol gibi fenolik bileşiklerde hidroksil grubunun varlığının önemi doğrulanmıştır (Ultee vd., 2002; Knobloch vd., 1986; Fabian vd., 2006). Bununla birlikte, fenolik hidroksil grubunun halka üzerindeki göreceli konumu, antibakteriyel aktivitenin yoğunluğunu etkilemektedir. Bununla birlikte, karvakrol ve timol, gram-pozitif ve gram-negatif bakteri türlerine karşı farklı davranırlar (Knobloch vd., 1986). Bileşiklerin diğer aileleri de değerli antibakteriyel özelliklere sahiptir: bazı alkoller, aldehidler ve ketonlar, monoterpen (geraniol, linalol, mentol, terpineol, thujanol, myrcenol, citronol, neral, tunaon, kafur, karvon vs.), fenilpropanlar (sinnamaldehid) ve monoterpenler (α-terpinen, p-cymene). Bu bileşikler arasında, karvakrol en aktif olanıdır. Toksik olmadığı bilinen bu içeceklerde, şekerlemelerde ve diğer müstahzarlarda koruyucu ve gıda tatlandırıcı olarak kullanılır. Uçucu yağların gram-negatif bakterilere karşı daha aktiftirler (Canillac ve Mourey, 2001; Cimanga vd., 2002; Delaquis vd., 2002; Ratledge ve Wilkinson, 1988; Davidson ve Parish, 1989). Maddelerin kombinasyonu, bireysel etkilerin toplamından daha büyük olduğunda sinerjik bir etki gözlemlenir (Reichling vd., 2009). Bazı çalışmalar, tüm uçucu yağın kullanımının, birlikte kullanılan ana bileşenlerinkinden daha büyük bir etki sağladığını göstermiştir (Burt, 2004). Bu, küçük bileşenlerin etkinlik için gerekli olduğunu ve sinerjik bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Uçucu yağlarda nntagonistik etkiler yaratan etkileşim mekanizmaları daha az çalışılmıştır (Maruyama vd., 2005). Uçucu yağlarda antagonistik etki görülebilir, yani birden fazla bileşiğin etkisi, tek tek kullanılmasından daha az etkili olabilir (Gill vd., 2002).

b. Antioksidan aktivite

Çok sayıda çalışma, esansiyel yağların antioksidan özelliklerini göstermiştir. Uçucu bir yağın antioksidan potansiyeli, bileşimine bağlıdır. Konjuge çift bağları olan fenolik ve sekonder metabolitlerin genellikle önemli antioksidatif özellikler gösterdiği iyi bilinmektedir (Koh vd., 2002). Fenolik bileşikler redoks özelliklerine sahiptir ve dolayısıyla serbest radikalleri nötralize etmede ve peroksit dekompozisyonunda önemli bir rol oynarlar. Serbest radikalleri temizleme

kapasitesine sahip olan uçucu yağlar, beyin fonksiyon bozukluğu, kanser, kalp hastalığı ve bağışıklık sistemi gerilemesi gibi bazı hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir (Burt, 2004).

c. Anti-inflamatuar aktivite

Enflamasyon, doku yaralanması veya enfeksiyonun neden olduğu normal koruyucu bir tepkidir ve vücuttaki (mikroorganizmalar ve kendi kendine olmayan hücreler) istilacılarla mücadele etmek ve ölü veya hasarlı konakçı hücreleri uzaklaştırmak için işlev görür. Son zamanlarda, esansiyel yağlar, romatizma, alerjiler veya artrit gibi inflamatuar hastalıkları tedavi etmek için klinik ortamlarda kullanılmıştır (Maruyama vd., 2005). *Melaleuca alternifolia*'nın uçucu yağının önemli bir anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir ki bu aktif ana bileşen (α-terpinol) ile ilişkilidir (Koh vd., 2002; Caldefie-Chézet vd. 2004; Caldefie-Chézet vd., 2006; Hart vd., 2000). Aktif bileşikler, histamin salımını inhibe ederek veya iltihap aracılarının üretimini azaltarak etki ederler. Uçucu yağların anti-inflamatuar aktivitesi, sadece antioksidan aktivitelerine değil, aynı zamanda sitokinleri ve düzenleyici transkripsiyon faktörlerini içeren sinyal kaskadları ile etkileşimlerine ve pro-inflamatuar genlerin ekspresyonuna da atfedilebilir. Bu nedenle, uçucu yağlar, enflamatuar hastalıkların tedavisinde yeni bir seçeneği temsil etmektedir.

d. Kanser kemoprotektif etkinlik

Son yıllarda esansiyel yağların çeşitli terapötik potansiyelleri araştırmacıları kansere karşı potansiyel aktiviteleri konusunda da araştırmaya sevketmiştir. Bu çalışmalar uçucu bileşenlerdeki yeni antikanserojen doğal ürünlerin keşfini hedeflemektedir (Edris, 2007). Uçucu yağlar, kanserin önlenmesinde veya ortadan kaldırılmasında rol oynayacaktır. Sarımsak ve zerdeçal gibi bazı gıdaların iyi bir antikanser ajanı olduğu iyi bilinmektedir (Pyun ve Shin, 2006). Sarımsak esansiyel yağı, kansere karşı önleyici etkileri nedeniyle tanınan bir sülfür bileşikleri kaynağıdır (Milner, 2001). Dialilsülfit, dialildisülfit ve dialiltrisülfid bu etkinlikte kimyasal yapılardır. Çeşitli

kanser hücre çizgilerine karşı sitotoksik aktivite gösteren başka uçucu bileşikler vardır (Aruoma, 1998). Geraniol, kolon kanseri hücrelerinin (TC118) bir antikanser ajan olan 5-florourasile direncini azaltır. Bu nedenle, geraniol, tümör büyümesinin 5-florourasilinin bu inhibitör etkisini arttırır (Lee vd., 2005). Balsam kökü ve α-humulene'nin esansiyel yağı, birçok hücre hattında belirgin antikanser aktivitesi ve sağlıklı hücrelerde düşük toksisite göstermiştir (Carnesecchi vd., 2002). Ek olarak, *Citrus* esansiyel yağının ana bileşeni olan D-limonenin antikanser aktivitesi özellikle mide kanseri ve karaciğer düzeyinde kanıtlanmıştır (Legault vd., 2003). Papatya esansiyel yağında (*Matricaria*) bulunan bol miktarda seskiterpen alkol olan α-Bisabolol antigliomale aktivitesine sahiptir (Uedo vd., 1999). Esansiyel yağların birçoğu, *Melissa officinalis* (Cavalieri vd., 2004), *Melaleuca alternifolia* (De Sousa vd., 2004), *Artemisia annua* (Calcabrini vd., 2004) ve *Comptonia peregrina* (Li vd., 2004) sitotoksik aktiviteye sahip bitki türleridir.

e. Sitotoksisite

Kompleks kimyasal bileşimleri nedeniyle, uçucu yağların spesifik hücresel ligandları yoktur (Carson ve Riley, 1995). Lipofilik karışımlar olarak, hücre zarını geçebilmekte ve polisakkaritler, fosfolipitler ve yağ asitleri katmanlarını bozmakta ve geçirgen hale getirmektedirler. Bu sitotoksisitenin membran hasarı içerdiği görülmektedir. Bakterilerde, membran permeabilizasyonu iyon kaybı ve membran potansiyelinin azalması, proton pompasının çökmesi ve ATP havuzunun tükenmesi ile ilişkilidir (Ultee vd., 2002). Uçucu yağlar sitoplazmayı pıhtılaştırmak suretiyle (Lambert vd., 2001) lipidlere ve proteinlere zarar verebilir (Burt, 2004). Duvar ve hücre zarının hasar görmesi, makromolekül ve lizis sızıntısına neden olabilir (Turina vd., 2006). Ek olarak, uçucu yağlar, anormal derecede geçirgen hale gelen membran akışkanlığını değiştirir, bu da oksidatif stres durumunda olduğu gibi radikallerin, sitokrom-C'nin, Ca^{+2} iyonlarının ve proteinlerin bir sızıntısına neden olur. Dış ve iç zarların bu permeabilizasyonu, apoptoz ve nekroz ile hücre ölümüne neden olur (Novgorodov ve Gudz, 1996). Hücrenin ultrastrüktürel değişimi, çok sayıda bölmede görülebilir (Armstrong, 2006). Viral zarfın herpes simpleks virüsü HSV'nin esansiyel yağlarla kesilmesi elektron mikroskobu ile de gözlemlenebilir (Soylu ve Kurt, 2006).

Membran hasarının indüksiyonu, hücresel detoksifikasyonunun yapısı ve işlevi α-terpinen ile ilişkilidir (Santoro vd., 2007). *Saccharomyces cerevisiae* mayası üzerindeki son çalışmalar, koloniler oluşturma yeteneğine dayanan bazı uçucu yağların sitotoksisitesinin kimyasal bileşimlerine göre önemli ölçüde farklı olduğunu göstermiştir. Genel olarak, esansiyel yağ sitotoksisitesi esas olarak fenoller, alkoller ve monoterpen aldehitlerin varlığı ile ilişkilidir (Santoro vd., 2007; Schnitzler vd., 2007). Esansiyel yağların sitotoksik özellikleri büyük önem taşımaktadır, çünkü bunların sadece belirli insan patojenlerine ve hayvan parazitlerine karşı değil, aynı zamanda mikrobiyal saldırıya karşı tarım ve deniz ürünlerinin korunmasında da kullanıldığını varsaymaktadırlar. Aslında, uçucu yağların bazı bileşenleri, bakteriler (Parveen, 2004), virüsler (Hong vd., 2004), mantarlar (Santoro vd., 2007), protozoa (Bruni vd., 2003), parazitler (Sacchetti vd., 2005), akarlar ve diğerleri gibi çeşitli mikroorganizmalara karşı etkilidir. Ayrıca, α-humulen, in vitro olarak göğüs kanseri hücrelerine karşı sitotoksisite gösterir. α-humulenin sitotoksisiteden sorumlu olduğu bildirilmiştir (El Hadri vd., 2010). Ayrıca (Zeytinoglu vd., 2003) kekik uçucu yağının ana bileşenlerinden biri olan karvakrol'ün, N-ras'a dönüştürülmüş fare miyoblast hücrelerinin DNA sentezi üzerindeki etkilerine odaklanarak, bu monoterpenik fenolün DNA sentezini inhibe edebildiğini bulmuşlardır. Mutasyona uğramış N-ras-onkojenin aktivasyonundan sonra bile, miyoblast hücrelerinin büyüme inhibisyonundan dolayı kanser terapisinde değerli olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bir in vitro sitotoksisite analizi, *Cyperus rotundus*'un (Cyperaceae) uçucu yağının α-Cyperone, isolongifolen-5-one, rotundene ve cyperorotundene'nin baskınlığı ile karakterize edildiğini, L1210 lösemi hücrelerine karşı çok etkili olduğunu gösterdi (Kilani vd., 2008).

f. Allelopatik aktivite

Uluslararası Allelopati Birliğine göre (IAS) göre allelopati, 1996 yılında "Tarım ve biyolojik sistemlerin büyümesini ve gelişimini etkileyen bitkiler, algler, bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen ikincil metabolitleri içeren herhangi bir süreci inceleyen bilim" olarak tanımlanmıştır. Allelopatik etkileşimler ikincil metabolitlerin üretiminden kaynaklanır. Sekonder metabolitler, bitki ve mikroorganizmalar

tarafından geniş çaplı bir savunma için sentezlenir. İlgili sekonder metabolitlere allelokimyasallar denir (Moon vd., 2006).

Uçucu yağlar ve bileşenleri, yabani ot ve haşere yönetimi için araştırılmaktadır (Priestley vd., 2006). Biyoaktif terpenoidler, çok sayıda organizmanın savunma mekanizmalarının önemli bir bölümünü oluşturur ayrıca hem tarım alanında, hem de potansiyel olarak kullanılmayan aktif bileşik bileşiklerini temsil eder (Rim ve Jee, 2006). Aslında, çok sayıda fitotoksik allelokimyasallar terpenoid yoldan elde edilir ve uçucu yağların fitotoksisitesi araştırılmıştır (Macías vd., 2006).

Melaleuca alternifolia (çay ağacı) esansiyel yağının allelopatik aktivitesi bir mantar kirletici olan *Trichoderma harzianum*'a karşı *Pleurotus* türlerinin ekiminde büyük kayıplara neden olarak araştırılmıştır (Angelini vd., 2003). Bu uçucu yağ, in vitro, *Trichoderma harzianum* kontrol etmek için allelopatik bir yeteneği vardır. *M. alternifolia* esansiyel yağının antifungal aktivitesi ve üç *T. harzianum* suşuna karşı *Pleurotus* türleri arasındaki antagonist aktiviteleri, farklı konsantrasyonlarda yapılan çift kültür deneylerinde incelenmiştir (Santos vd., 2011).

Portulaca oleracea tohumlarının çimlenmesi ve büyümesi, rosemary uçucu yağı ile yapılan uygulama ile belirgin şekilde azalmıştır (Dudai vd., 1999). Yazarlar biberiye yağının 1000 ppm'lik bir konsantrasyonunun *Portulaca oleracea* tohum çimlenmesini % 76'ya düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Ayrıca, *Artemisia* ve *Lavanta* esansiyel yağlarının güçlü allelopatik etkilere sahip olduğunu ve yabani ot tohumlarının çimlenmesini ve büyümesini önlediğini, bunun da bitkilerin organik ekiminde ümit verici bir sonuç olacağını ve herbisitlerin üretimi için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Callistemon viminalis uçucu yağının marul fidelerinin büyümesini etkilediğini ve sürgünlerin ve kök sisteminin uzunluğunun azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir (De Oliveira vd., 2015). Bu azalma uçucu yağ konsantrasyonu ile orantılıdır. Uçucu yağların kimyasal bileşimi ile çimlenme ve fide büyümesi üzerindeki etkileri arasında bir korelasyon olduğu ortaya konulmuştur (Saad ve

Abdelgaleil, 2014). En aktif bileşiklerin keton ve alkol gruplarına ait olduğu ve bunu aldehid ve fenol grubunun izlediğini bildirilmiştir (Astani vd., 2010).

Genel olarak, bitki uçucu yağlarının güçlü bir fitotoksik aktivitesinin, yüksek miktarda oksijenlenmiş monoterpenlerle korele olduğunu ileri sürülmüştür (Kotan vd., 2008). Hemen hemen tüm etkili yağlar, yüksek oranda oksijenli monoterpenlere sahiptir. (De Almeida vd., 2010). Monoterpenlerin tohum üzerinde çok düşük seviyelerde hareket ettiklerini bildirmişlerdir (Dudai vd., 1999). Özellikle, Lamiaceae familyasından, birçok tür, pinen, limonen, p-cymen ve 1,8-cineole dahil olmak üzere otsu türlerin gelişimini engelleyen fitotoksik monoterpenler salgılar (Angelini vd., 2003). Ayrıca, uçucu bitki yağlarında bulunan monoterpenlerin, bitki fidelerinde sitoplazmada lipid globül birikmesine, mitokondri gibi bazı organellerde azalmaya, muhtemelen DNA sentezinin inhibisyonuna neden olarak, anatomik ve fizyolojik değişikliklere neden olabilecek fitotoksik etkilere sahip olduğu iyi bilinmektedir (Bouajaj vd., 2014; Tabana vd., 2013). Sentetik herbisitlerin sürekli kullanımı, sürdürülebilir tarımsal üretimi tehdit edebilecek ve ciddi ekolojik ve çevresel sorunlara yol açabileceğinden, biyolojik olarak bozunabilir ve toksik olmayan bileşiklerin gelişmesine yol açan alternatif stratejilerdeki gibi, allelopatik özelliklere sahip esansiyel yağlar kullanılabilir (Paluch vd., 2011).

g. Kovucu ve insektisit aktivitesi

Uçucu yağlar, çeşitli böcek öldürücü ve kovucu mekanizmalara sahip bileşikler içermektedir. Çok sayıda çalışma, bu bileşiklerin ve bunların karışımlarının, eklembacaklı böceklerde yan etkilere yol açabilen biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bitki özü yağlarının repellent olarak ticarileştirilmesini etkileyen çeşitli faktörler arasında yasal gereklilikler, fikri mülkiyet değeri, biyolojik aktivite, ürün performansı ve ürün kalitesi yer almaktadır (Ahmed ve Eapen, 1986). *Gaultheria* (Ericaceae) ve *Eucalptus* (Myrtaceae) yağları böcekler üzerinde çok yüksek öldürme gücü sergilemiştir. Örneğin *Sitophilus oryzae, Callosobruchus chinensis, S. paniceum, M. domestica*'da (Mateeva ve Karov, 1983). Aslında, esansiyel yağların türler üzerindeki etkileri çeşitlidir. *Mentha, Lavandula* veya *Pinus*

uçucu yağları *Myzus persicae, Trialeurodes vaporariorum, Leptinotarsa decemlineata, Stephanitis pyri* üzerinde etkilidir (Hamraoui ve Regnault-Roger, 1995). Yaygın olarak, uçucu yağlar solunabilir, yutulabilir veya böcekler tarafından cilde nüfuz edebilir. Uçucu yağların ve bunların ana bileşenleri olan uçucu monoterpenlerin fumigant toksisitesi açıklanmıştır (Regnault-Roger ve Hamraoui, 1995). Böcekler, topikal uygulamalara da çok duyarlıdır. *Sitophilus zea-mais, Tribolium castaneum* ve *Prostephanus truncatus*, turunçgil (Rutacae) esansiyel yağlarına karşı hassastır. *Pediculus capiti, Anopheles funestus, Cimex lectularius* ve *Periplaneta orientalis*, 2 ila 30 dakika içerisinde *Eucalptus saligna* yağı ile temas ettiğinde ölmüştür. *Citronella* cinsine (Poaceae) ait bitkilerint uçucu yağları, yaygın olarak ticari preparatlarda Avrupa ve Kuzey Amerika'da satılan *Cymbopogon nardus* gibi bitki bazlı sivrisinek kovucularının bileşenleri olarak kullanılmaktadır (Maia ve Moore, 2011). Sayısız biyolojik aktiviteleri sayesinde, esansiyel yağlar, başta insan sağlığı, yeşil kimya ve sürdürülebilir tarım olmak üzere birçok alan üzerinden değerlendirilmelidir. Bununla birlikte, potansiyel kullanımlarını optimize etmek için etki tarzları ve muhtemel toksikolojik etkileri konusunda çok sayıda araştırma yapılmalıdır. Tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis*) ve bilyalı kekik'in (*Origanum onites*) uçucu yağının antimikrobiyal etkileri üzerine yakın zamanda yapılmış çalışmalar aşağıdadır.

Bu çalışmada, *Salvia officinalis* uçucu yağı'nın aktif bileşenleri araştırılmıştır. *Salvia officinalis* örnekleri sırasıyla kuzey ve güney Arnavutluk'tan toplanmıştır. Ezilmiş yapraklardan su distilasyonu ile uçucu yağı elde edilmiş, tanımlanması için gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC/MS) ile analiz edilmiştir. α-Thujon (% 30.7), kafur (% 26.6) ve 1, 8-sineol (% 14.7) kuzey Arnavutluk'taki uçucu yağın başlıca bileşenleri iken, kafur (% 43.8), α-thujon (% 15.9), kamfen Arnavutluk'un güneyindeki örnekte (% 8.5) ve 1,8 sineol (% 8.4) önde gelen bileşikler olarak tespit edilmiştir (Alev vd., 2014).

Bu çalışmada, Tunus'ta bulunan *Salvia officinalis* bitkisinin uçucu yağının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kimyasal bileşimi kafur (% 25.14), α-thujon (% 18.83), 1,8-sineol (% 14.14), viridiflorol (% 7.98), β-thujon (% 4.46), β-karyopilen (3.30 %) olan 49 bileşenin varlığı gaz kromatografisi-kütle

spektrometresi ile tespit edilmiştir. Test edilen mikroorganizmaların çoğu için orta derecede iyi inhibisyonlar kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, adaçayı uçucu yağının doğal antimikrobiyal koruyucu olarak potansiyel kullanılabileceğini göstermiştir (Khedher vd., 2017).

Bu çalışmada tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkisinin su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağının gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC/MS) analizi ile kimyasal bileşenleri verilmiştir. *Salvia officinalis*'in esansiyel yağ içeriği kuru ağırlık bazında % 1.11 - 2.76 arasında değiştiği tespit edilmiş olup toplam uçucu yağın % 94.21 - 99.36' sını temsil eden toplam 35 bileşik belirlenmiştir. Altı farklı adaçayı örneği arasında bulunan ana bileşenlerin aralığı: α-thujon (% 21.43 - 40.10), β-thujon (% 2.06 - 7.41), kafur (11.31 - 37.67), 1,8 sineol (% 4.47 - 9.17)), α-humulen (% 4.58 - 9.51), kamfen (% 1.89 - 7.04), viridiflorol (% 2.14 - 5.56), α-pinen (% 1.55 - 6.17), β-pinen (% 1.68 -% 3.49) ve β-karyofilen (% 1.06 - 5.59) dır. Adaçayı örneklemelerinde esansiyel yağ bileşimi, monoterpen hidrokarbon (% 13.41 - % 17.01), seskiterpen hidrokarbon (% 7.78 - 15.36) ve oksijenlenmiş seskiterpenler (% 2.14 - 7.73) ile karşılaştırıldığında, daha büyük miktarlarda oksijenlenmiş terpenlerin (% 59.43 - % 70.68) varlığını göstermiştir (Archana vd., 2017).

Bu çalışmada, adaçayı uçucu yağının kimyasal bileşimi ile antifungal etkisinin belirlenmesi amaçlamıştır. Uçucu yağlar gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile araştırılmıştır. Maya, dermatofit ve *Aspergillus* suşlarına karşı antifungal aktivite değerlendirilmiştir. *Salvia officinalis* uçucu yağlarının ana bileşikleri 1,8 sineol (% 39.5 - 50.3) ve kafur (% 8.8 - 25.0) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağ, dermatofit suşlarına karşı antifungal aktivite göstermiştir (Abu-Darwish vd., 2013).

Bu çalışmada, *Salvia officinalis*'in su distillasyonu ve katı faz mikro ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerde uçucu bileşenler karşılaştırılmıştır. Farklı örnek hazırlama teknikleri sonunda özellikle seskidyal ve diterpenoid uçucu bileşenlerde önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Deryng ve Clevenger tipi ekipmanlarda su buharı distilasyonu ile elde edilen adaçayı uçucu yağında aynı terpenoitlerin varlığını göstermiş ancak bunların nispi yüzde bileşenleri farklı bulunmuştur. Bu farklılıkların

her iki yöntemde kullanılan farklı ekstraksiyon sürelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Baj vd., 2013).

Bu çalışmada, Rio de Janeiro'nun Petrópolis şehrinde tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis*) yapraklarından elde edilen uçucu yağın yağın kimyasal bileşimini araştırılmıştır. Uçucuğ yağ, Clevenger tipi ekipmanla su distilasyonu ile elde edilerek GC-MS'te analiz edilmiştir. Uçucu yağ verimi % 2.3 bulunmuştur. Kırk yedi bileşen, mevcut bileşiklerin % 94.9' una karşılık gelmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri α-thujon (% 40.90), kafur (% 26.12), α-pinen (% 5.85) ve β-thujon (% 5.62) olarak bulunmuştur (Porte vd., 2013).

Bu çalışmada, *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia* gibi in vitro olarak birçok ilaca dirençli dört yaygın patojenik bakteri türüne adaçayı etanol ekstresinin antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Tıbbi adaçayı bitkisinin etanol ekstresinin ilaca dirençli bakterilerin gelişimi üzerindeki antibakteriyel etkisi 50, 100, 400 mg/ml MİK değerleri çalışılmıştır. Adaçayı etanol özleri MİK testinde izole edilen bakterilerin büyümesi üzerinde önemli inhibitör etki göstermiştir. *S. aureus* için MİK: 18.75 mg/ml ve *E. coli* için MİK: 26.56 mg/ml, *P. aeruginosa* için MİK: 33.75 mg/ml, *K. pneumoniae* için MİK: 31.25 mg/ml ile adaçayı etanol ekstresinin inhibe edici etkilerini göstermiştir (Mosafa vd., 2013).

Çalışmada Güney Brezilya'da yetiştirilen *Salvia officinalis* ve *Salvia triloba* esansiyel yağları GC-MS ile analiz edilmiştir. *Salvia officinalis*'in yağının başlıca bileşenleri α-thujon, 1,8 sineol, kafur, borneol ve β-pinen iken, *Salvia triloba* için α-thujon, 1,8 sineol, kafur ve β-karyofillen olarak bulunmuştur. Her iki bitkinin uçucu yağlarının *Bacillus cereus, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis, Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria* ve *Klebsiella oxytoca* üzerinde bakteriyostatik ve bakterisit aktiviteleri incelenmiştir. *Salvia triloba* esansiyel yağı, *Staphylococcus aureus*'un büyümesini etkin bir şekilde inhibe etmiş, *Staphylococcus aureus* ve *Aeromonas hidrofil*'nın gelişimini 0.05 mg/ml varlığında durdurmuştur (Delamare vd., 2007).

Bu çalışmada, *Salvia officinalis, Salvia sclarea, Salvia lavandulifolia* ve *Salvia triloba*'nın uçucu yağları, GC-MS ile analiz edilmiş ve antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyonunu kullanarak 10 mikroorganizmaya karşı test edilmiştir. Bitkilerdeki esansiyel yağlarda ana bileşenler: α ve β-thujon, kafur ve 1,8 sineol, linalool, linalil asetat ve α-terpineol'dür. Antimikrobiyal aktivite MİK testinde anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.05$). Gram-pozitif mikroorganizmalar, uçucu yağlara karşı daha fazla hassasiyet göstermiştir. *Staphylococcus aureus, Salvia lavandulifolia* uçucu yağının 2.31 mg/ml'sine maruz kaldığında en düşük MİK değeri gözlenirken, *Shigella flexneri* aynı esansiyel yağın 9.25 mg/ml'sine maruz kaldığında en yüksek MİK değeri elde edilmiştir (Pierozan vd., 2008).

Çalışmada Gram-pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı adaçayı uçucu yağının antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon ile test edilmiştir. Uçucu yağ, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'e karşı önemli bir antibakteriyel etki göstermiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonları *Staphylococcus aureus* için 1.25-2.5 µl/ml ve *Bacillus subtilis* için 0.15-2.5 µl/ml tespit edilmiştir. *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*'un suşları ile elde edilen sonuçlar, hücre duvarı boyunca taşınmanın adaçayı uçucu maddelerin antibakteriyel etkisini sınırlandırdığını ortaya konmuştur (Mitić-Ćulafić vd., 2005).

Bu çalışmada, Suriye kıyı şeridinde iki farklı rakımdan toplanan *Salvia officinalis* örneklerine ait uçucu yağ gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Her iki rakımda yetiştirilen bitkilerden elde edilen esansiyel yağların ana bileşenleri 1,8 sineol, kafur, borneol, α-pinen, β-pinen, kamfen, β-mirsen ve karyofilen olmakla birlikte, bunların yüzdeleri rakıma göre değişmiştir. *Salvia officinalis*'in esansiyel yağının gram-pozitif ve negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Hem *Staphylococcus aureus* hem de *Streptococcus* sp., 20µl/ml'lik yağ konsantrasyonunda 10 dakikalık temastan sonra etkili bir şekilde inhibisyon etkisi gözlemlenmiştir. Ancak esansiyel yağ *Escherichia coli, Salmonella typhi* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde geçici bir bakteriyostatik etki göstermiştir. En bilinen antibiyotiklerle karşılaştırıldığında *Salvia officinalis* uçucu yağının etkinliği özellikle antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı çok daha iyi olarak bulunmuştur (Khalil ve Li, 2011).

Bu çalışmada, biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) uçucu yağları, GC-MS ile analiz edilmiş ve antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite 13 bakteri suşuna ve *Candida albicans* ile 5 dermatomycetes dahil olmak üzere 6 fungusa karşı test edilmiştir. Her iki bitki türüne ait esansiyel yağın en önemli antibakteriyel aktivitesi *Escherichia coli, Salmonella typhi, Salmonella enteritidis* ve *Shigella sonei* üzerinde gerçekleşmiştir. Özellikle de biberiye uçucu yağının önemli bir antifungal aktivitesi ortaya konmuştur (Bozin vd., 2007).

Bu çalışmada, Karadağ'da doğal yayılış gösteren *Salvia officinalis* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri GC-MS ile analizi yapılıp olup antimikrobiyal aktivitesi farklı yağ konsantrasyonlarında test edilmiştir. Uçucu yağda en büyük bileşenler α-thujon (% 29.50), kafur (% 22.52) ve 1,8 sineol (% 12.19)' dür. Uçucu yağdaki birkaç küçük bileşen ise kamfen (% 5.35), borneol (% 4.43) ve limonen (% 4.21)' dür. Adaçayı esansiyel yağının önemli bir antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediğini ortaya çıkmıştır. En duyarlı suş, *Staphyloccocus aureus* ve en düşük yağ konsantrasyonunda bile Gram negatif türlerdi, en hassas olanı ise *Providencia stuartii* olarak bulunmuştur. Genel olarak, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteridis* hariç tüm bakteriler, farklı konsantrasyonlarda adaçayı esansiyel yağına karşı hassas olarak tespit edilmiştir. Diğer önemli bir bulgu da *Candida albicans*'a karşı adaçayı esansiyel yağının etkisidir (Damjanovic-Vratnica vd., 2008).

Bu çalışmada, *Salvia officinalis* bitkisine ait uçucu yağın dört tür bakteri (*Bacillus cereus, Bacillus anthracis, Escherichia coli, Shigella sonnei*) üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Uçucu yağın kimyasal bileşimi gaz kromatografisi (GC-MS) ve kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir. Adaçayı'nın uçucu yağında en yüksek bulunan bileşiklerin globulin (% 9.3), α-humulen (% 8.4), borneol (% 9.4), α-pinen (% 5.5) ve 1,8 sineol (% 18.9) olduğu tespit edilmiştir. *Salvia officinalis* antibakteriyel aktivitesi, 24-28 saat sonra gelişmenin olmadığı haleler olarak gözlenmiştir. Hale çapı, *Bacillus cereus, Bacillus anthracis, Shigella sonnei, Escherichia coli* için 40, 25, 24 ve 20 mm olarak elde edilmiştir (Behboud vd., 2011).

Bu çalışmada, okul çağındaki çocuklarda dental plaklara neden olan *Streptococcus mutans* üzerine tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis*) ekstreleri içeren bir ağız gargarasının klinik etkileri değerlendirilmiştir. Aynı sosyoekonomik ve oral hijyen koşullarına sahip, 11-14 yaşları arasındaki 70 kız öğrenciye klinik çalışma yapılmıştır. Bu öğrenciler rastgele 2 gruba ayrıldı; adaçayı gargarası kullanılarak ilk grup (N=35) ve ikinci gruba ise (N=35), herhangi bir katkı maddesi içermeyen plasebo ağız gargarası kullanılmıştır. Başlangıçta dişlerin yüzeylerinden elde edilen plak örnekleri *Streptococcus mutans* koloni sayımı elde etmek için laboratuvara gönderilmiştir. Bu testler, ağız gargaralarının kullanılmasından 21 gün sonra tekrar değerlendirildi. Adaçayı gargarası, dental plakette *Streptococcus mutans* sayısını etkili bir şekilde azaltmıştır (Beheshti-Rouy vd., 2015).

Bu çalışmada, *Salvia officinalis* (tıbbi adaçayı)'nın *Coliformes* spp., *Pseudomonas* spp., *Saccharomyces cerevisiae, Zygosaccharomyces bailii* ve *Lactobacillus plantarum*'a karşı ticari ekstraktlarının in vitro antimikrobiyal aktivitesini değerlendirilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi, 10, 50 ve 100 ppm konsantrasyonlarında Agar kuyu difüzyon metodu ile İnhibisyon zonları ölçümü temelinde incelenmiştir. Ekstraktlar test edilen beş mikroorganizmaya karşı 0 ila 4.3 mm arasında inhibisyon zonu sergilemiştir. Maksimum inhibisyon (4.3 mm), *Zygosaccharomyces baillii*'ye karşı 10 ppm ile gösterirken, 100 ppm'le *Coliforms* spp. ve *Zygosaccharomyces baillii, Coliformes* spp, *Zygosaccharomyces baillii* ve *Pseudomonas* spp'de inhibisyon zonu oluşturmuştur (Raho vd., 2016).

Sırbistan'da yetişen adaçayı'nın (*Salvia officinalis*) uçucu yağı GC-MS ile analiz edilmiştir. En önemli yağ bileşenleri α-thujon (% 24.88), kafur (% 16.03) ve 1,8 sineol (% 9.79) tespit edilmiştir. Adaçayı yapraklarından elde edilen uçucu yağın *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escerichia coli, Salmonella enteritidis* ve *Aspergillus niger*'e karşı aktif olduğu bulunmuştur (Miladinović ve Miladinović, 2000).

Bu çalışmada *Origanum onites* esansiyel yağının kimyasal bileşimi GC-MS tanımlanmıştır. Sekiz farklı bakteri ve iki mayaya karşı disk difüzyon ve dilüsyon yöntemleri ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Uçucu yağın ana bileşikleri

karvakrol (% 51.4), linalool (% 11.2), p-simen (% 8.9) ve γ-terpinen (% 6.7) olarak belirlenmiştir. *Origanum onites* uçucu yağı tüm standart suşlara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur (Kaskatepe vd., 2017).

Bu çalışmada *Origanum onites, Satureja thymbra, Origanum vulgare* subsp. *hirtum* ve *Thymus cilicicus* taksonları Muğla ilinin çeşitli bölgelerinden toplanmıştır. Bu bitkilere ait uçucu yağlar su distilasyonu yöntemi ile elde edilmiştir. Bitkilere ait uçucu yağlar, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas fluorescens* hariç çok sayıda Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye karşı etkili oldukları bulunmuştur. *Origanum onites, Origanum vulgare* subsp. *hirtum* ve *Satureja thymbra Stenotrophomonas maltophilia, Stenotrophomonas maltophilia* ve *Chryseomonas luteola* gibi dirençli suşlara karşı özellikle çok etkili oldukları tespit edilmiştir. *Origanum onites* uçucu yağında maksimum antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri türlere bağlı olarak değişmiştir. Ayrıca, farklı yerlerden toplanan aynı türlere ait bazı bitkilerin uçucu yağları, farklı seviyelerde antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği tespit edilmiştir (Sarac ve Uğur, 2008).

Bu çalışmada, *Origanum onites* ve *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* bitkilerinin ait uçucu yağları çok sayıda antibiyotiğe dirençli *Stenotrophomonas maltophilia* suşuna karşı test edilmiştir. *Origanum onites* ve *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* test edilen bakterilerin büyümesini inhibe etmiş ve inhibisyon bölgeleri sırasıyla 28-32 mm ve 26-33 mm arasında bulunmuştur. Bu bitkilerin uçucu yağları olarak karakterize edilen ana bileşen, karvakrol (% 79.32 ve % 68.19) ve diğer ana bileşenler sırasıyla p-simen (% 4.32 ve % 6.81) ve γ-terpinen (% 3.94 ve % 4.63) olarak belirlenmiştir (Sarac vd., 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada Lamiaceae familyasına ait 2 bitki taksonunun uçucu yağı çalışılmıştır. Bu taksonlar *Salvia officinalis* L. (Tıbbi adaçayı) ve *Origanum onites* L. (Bilyalı kekik)'dir. Örnekler Kastamonu Merkez Gölköy'de kültüvasyon uygulama sahasından tedarik edilmiştir.

3.1.2. Mikrobiyal Materyal (Mantar ve Bakteriler)

Araştırmada kullanılan Gram pozitif bakteri suşları: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* DSMZ 20044, *Bacillus subtilis* DSMZ 1971 *Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus durans, Listeria innocula, Listeria monocytogenes*. Gram negatif bakteri suşları: *Serratia marcescens, Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071, *Pseudomonas fluorescens* P1, *Salmonella typhimurium* SL 1344, *Salmonella kentucky*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enteritidis* ATCC 13075, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7544 ve mantar: *Candida albicans* DSMZ 1386. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait özellikler Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de görülmektedir.

Tablo 3.1. *Gram pozitif bakterilerin sınıflandırılması*

Gram Pozitif Bakteriler			
İsim	**Morfoloji**	**Aktarım Bölgeleri**	**Enfeksiyon türü**
Staphylococci	Üzüm benzeri salkım koklar	Deri, burun delikleri/endojen, frontal bağlantı, atmosfer havası	Yumuşak doku, kemik, eklem, endokardit, gıda zehirlenmesi
Enterococci	Çiftli koklarve z incirler	GI bölgesi, endojen, frontal bağlantı	UTI, GI, kateterle ilişkili enfeksiyonlar
Bacilli	Çubuk ve spor oluşturan	Toprak, hava, su, hayvanlar/aerosol, bağlantı	Şarbon hastalığı, gıda zehirlenmesi, kateterle ilişkili enfeksiyonlar

Tablo 3.2. *Gram negatif bakterilerin sınıflandırılması.*

Gram Negatif Bakteriler			
İsim	**Morfoloji**	**Aktarım bölgesi**	**Enfeksiyon türü**
Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Salmonella, Shigella)	Çubuk	GI bölgesi, hayvanlar / endojen, fekal-oral	Diyare, boşaltım bölgesi, gıda zehirlenmesi, sepsis
Pseudomonas	Çubuk	Su, toprak/endojen, cilt bariyeri çatlağı	İmmünitesi zayıflamış konakçıdaki enfeksiyonlar, Kistik fibrozis

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmaların Temini ve Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan mantar ve bakteri suşları Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.2.2. Bitki Taksonlarının Temini ve Uçucu Yağın Elde Edilmesi

Bu çalışma kapsamında uçucu yağı çalışılan bitki türleri, lokaliteleri, toplanma tarihleri ve kullanılan kısımları Tablo 3.3.'de gösterilmiştir. Bitkilerin herbaryum örnekleri hazırlanmış ve teşhisleri Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Kerim Güney tarafından gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. *Bitki türleri, lokaliteleri, kullanılan kısımları ve toplanma tarihi*

Bitki ismi	**Toplanan İl**	**GPS**	**Kullanılan kısım**	**Toplama tarihi**
Salvia officinalis (Tıbbi adaçayı)	Kastamonu	36 T 560889.00 d D 4589109.00 m K	Yaprak	10.07.2017
Origanum onites (Bilyalı kekik)	Kastamonu	36 T 560915.00 d D 4589111.00 m K	Yaprak	10.07.2017

Tablo 3.3'de adı geçen bitki türleri tabloda belirtilen tarihlerde toplandıktan 1 gün sonra araştırma için kullanılacak bölümleri ayıklanıp küçük parçalar halinde kesilerek kilitli poşetlerde ağzı kapalı bir şekilde buzdolabında +4 ºC'de muhafaza edilmiş (Fotoğraf 3.1., Fotoğraf 3.2., Fotoğraf 3.3.), toplanıldıktan 2 gün sonrasında da su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağları elde edilmiştir. Elde edilen yağlar 1 hafta içerisinde uygulanacak mikrobiyal testleri için dolapta +4 ºC'de steril ependorf tüplerinde özelliklerini yitirmemeleri için korunmuştur.



Fotoğraf 3.1. Örneklerin toplanması



Fotoğraf 3.2. Örneklerin ayıklanması



Fotoğraf 3.3. Araziden toplanmış ve ayıklanmış örnekler

Çalışmada kullanılacak olan türlerin yaprak ve dalllarından Clevenger Cihazı kullanılarak su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiştir (Fotoğraf 3.4.)



Fotoğraf 3.4. Clevenger cihazında su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ eldesi

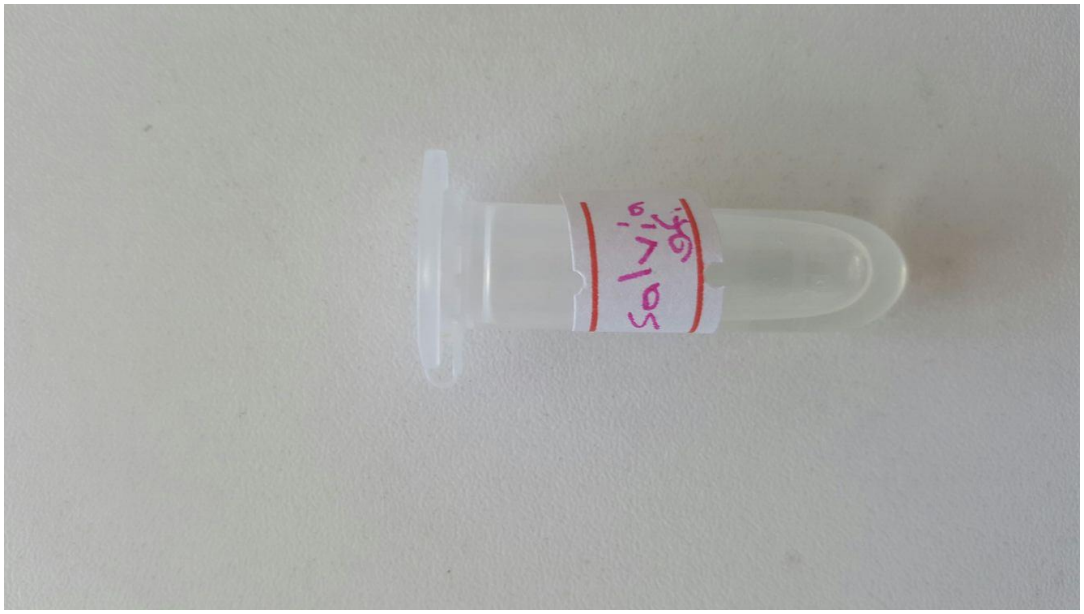


Fotoğraf 3.5. Ephendorf tüplerinde tıbbi adaçayı uçucu yağı



Fotoğraf 3.6. Ephendorf tüplerinde bilyalı kekik uçucu yağı

Uçucu yağ verimliliği açısından; 1 kg tıbbi adaçayı yaprağından 1,65 ml uçucu yağ elde edilmiştir (Fotoğraf 3.5.). Uçucu yağ verimliliği açısından; 1 kg bilyalı kekik yaprağından 2 ml uçucu yağ elde edilmiştir (Fotoğraf 3.6).



Fotoğraf 3.7. Ephendorf tüpünde tıbbi adaçayı uçucu yağı



Fotoğraf 3.8. Ephendorf tüpünde bilyalı kekik uçucu yağı

3.2.3. GC-MS Analizi

Bitki türlerinin kimyasal bileşiklerin belirlenebilmesi için, her bir numune Rtx-5MS kapiler kolon ile donatılmış GCMS QP 2010 Ultra (Shimadzu) ile analizleri elde edilmiştir (30m·0.25 mm; kaplama kalınlığı 0.25 μm). Analitik koşullar ise: enjektör sıcaklığı 250 °C, 1 ml/dk olarak taşıyıcı gaz Helyum, enjeksiyon modu: split oranı 1:10; enjekte edilen hacim: heksan içinde çözünmüş yağ 1 μl; ve fırın sıcaklığı 4°C/dk olarak 40 °C'den 240°C'ye ayarlanmıştır, basınç: 100 kPa, tahliye akımı:3 ml/dk dır. Kullanılan MS tarama koşulları, transfer hattı sıcaklığı 250 °C, ara birim sıcaklığı 250°C, iyon kaynağı sıcaklığı 200°C dir. Bileşenlerin belirlenmesi; alıkonma süresinin kıyaslanması ve Wiley Veri tabanı eşleştirmesine dayandırılmaktadır. Mümkün olduğunca, referans bileşikleri GC alıkonma sürelerini onaylamak için kromatografisi alınmıştır.

3.2.4. Antimikrobiyal Etkinlik

Mikroorganizmaların hazırlanması

Antimikrobiyal duyarlılık testlerin hazırlanma aşamasında kullanılan bakteri süspansiyonlarında bakterinin belirlenen bir sayıda olması istenilmektedir. Bakterilerin steril serum fizyolojik ortamdaki sayıları ile paralel oluşturduğu bulanıklığın McFarland baryum sülfat bulanıklık standartları ile karşılaştırılmasıyla standart ve tekrarlanabilir bir çalışmanın daha yapılabilmesi amaçlanmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan bakteri örneklerinden inokulum hazırlanma aşamasında, katı besiyerlerinde 24 saat geliştirilmiş kültürlerden aynı görünümlü koloniler steril öze yardımıyla alınarak steril serum fizyolojik içine aktarılmıştır ve inokulum bulanıklığı 0.5 McFarland standartlarına göre ayarlanılmıştır ve bakteriyel süspansiyonlar için yaklaşık $1x10^8$ kob/ml, fungal süspansiyon ise yaklaşık $1x10^7$ kob/ml mikroorganizma bulunacak şekilde standardize edilmişlerdir. Sonrasında steril tüplerin üzerine bakteri ve mantar isimleri yazılmış kullanılmadan önce votreks ile karıştırılmıştır.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) testi herhangi bir antimikrobiyal ajanın etken konsantrasyonunu saptamak için kullanılan bir testtir ve bu testin amacı etken maddelerin seri dilüsyonlarını yapmak suretiyle bir konsantrasyon yelpazesi oluşturmak ve bu yelpaze içinde hangi aralıkta mikrobiyal üremenin inhibe edildiğine bakarak maddenin etken konsantrasyonunu bulmaktır.

Öncelikle distilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağlar 0.45 µm'lik filtre ile sterilize edilmiştir. MİK testinde 96 kuyucuklu steril plakalar kullanılarak mikrodilüsyon ile etken konsantrasyon bulunmaya çalışılmıştır ve bunun için hazırlanmış Mueller Hinton Broth (MHB) besi yerinden 100'er µl olacak şekilde bütün kuyuculara pipetlendikten sonra ilk kuyucuğa bitkilerden elde edilmiş yağlardan 100 µl transfer edilmiş, kuyucuğun içeriği iyice karıştırıldıktan sonra 100 µl alınarak ikinci kuyucuğa aktarılmıştır. Bu seri dilüsyon işlemi 10. kuyucuğa kadar devam ettirilmiş, 10. kuyucuk içeriği iyice karıştırıldıktan sonra 100 µl alınarak dışarı atılmıştır. Böylece 1-10 numaralı kuyucuklar bitki uçucu yağlarının test edileceği seri dilüsyon kuyucukları olarak hazırlanmıştır. 10 µL standardize mikroorganizma stok solüsyonu, 12. kuyucuk hariç tüm kuyucuklara ilave edilmiştir. Bitki ekstraktının aktivitesi 1-10 kuyularda test edilmiştir. 11. kuyu (MHB besiyeri ve mikroorganizma) pozitif kontrol iken 12. kuyu sadece kültür ortamı içeren (sadece MHB besiyeri) negatif kontrol olarak hazırlanmıştır. Her örnek üç paralel çalışılmıştır. Bakteri örnekleri 37℃'de 24 saat, fungus örneği ise 27℃'de 48 saat inkübe edildikten sonra gözle bakıldığında üremenin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK, MFK)

MİK testinde üremenin gözlenmediği kuyucuklardan steril bir öze yardımı ile alınan bakteri örnekleri ve fungisit örnek Nutrient Agar'a ekilmiştir. Bakteri örnekleri 37 ℃'de 24 saat, fungal örnek ise 27 ℃'de 48 saat inkübe edildikten sonra üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon MBK, MFK değeri olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GC-MS Bulguları

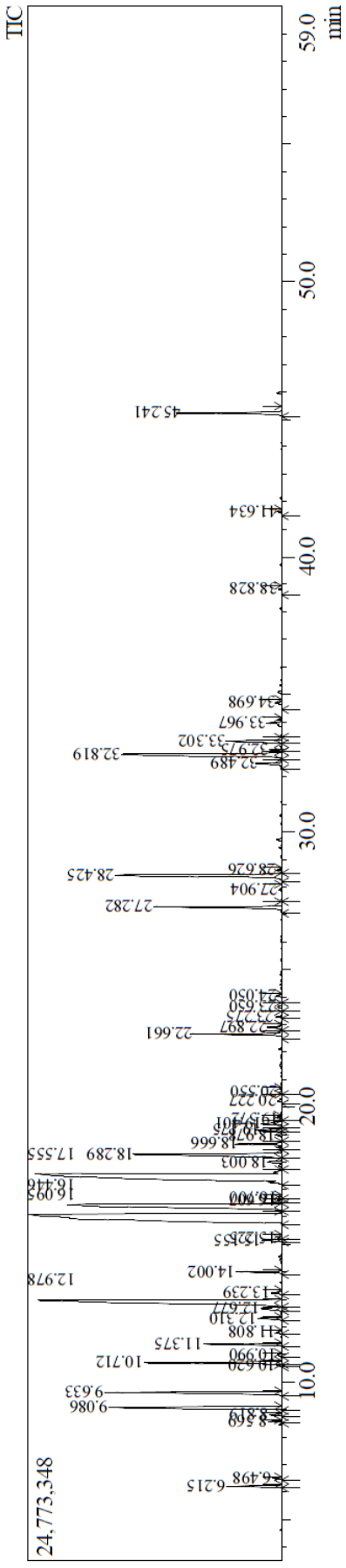
Tıbbi adaçayı, ve bilyalı kekik'in *(Salvia officinalis, Origanum onites*) uçucu yağlarının GC-MS analizleri ile sonuçlar elde edilmiş ve Tablo 3.7-3.11'de gösterilmiştir. Tabloda varlığı % 3 ve üstü olan bileşikler ana bileşikler olarak seçilmiştir.

4.1.1. Tıbbi Adaçayı'na ait GC-MS Bulguları

Tıbbi adaçayı'nın GC-MS analizinde toplamda 47 farklı bileşen tespit edilmiş olup % 3 ve üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 9'dir. Bunlar; % 20.46 β-Thujone, % 16.67 d-Camphor, %10.89 Eucalyptol (1,8-Cineole), % 8.81 α-Thujone, % 4.90 endo-Borneol, % 4.75 Viridiflorol, % 4.65 α-Humulene, % 4.15 Camphene, % 4.07 α-Pinene'dir.

4.1.2. Bilyalı Kekik'e ait GC-MS Bulguları

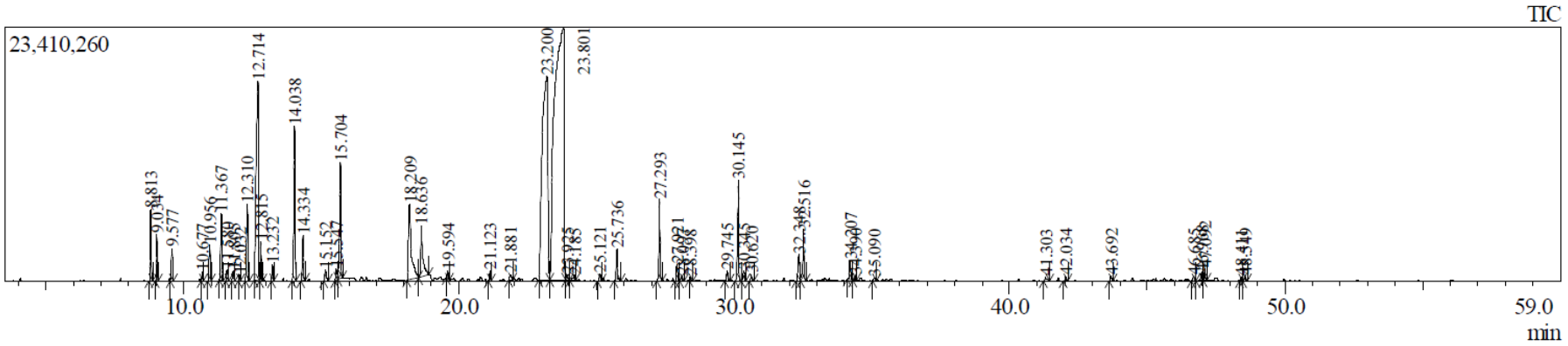
Bilyalı kekik'in GC-MS analizine göre toplamda 43 farklı bileşen tespit edilmiş olup % 3 ve üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 6'dır. Bunlar; % 40.63 Carvacrol, % 19.70 Thymol, % 8.07 p-Cymene, % 3.91 γ-Terpinene, % 3.49 endo-Borneol, % 3.08 Linalool'dür.



Grafik 4.1. Tıbbi adaçayının uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.1. *Tıbbi adaçayı uçucu yağının GC-MS analizi*

No	% Bileşen	İsim
1.	20.46	β-Thujone
2.	16.67	d-Camphor
3.	10.89	Eucalyptol (1,8-Cineole)
4.	8.81	α-Thujone
5.	4.90	endo-Borneol
6.	4.75	Viridiflorol
7.	4.65	α-Humulene
8.	4.15	Camphene
9.	4.07	α-Pinene
10.	2.89	Caryophyllene
11.	2.68	β-Pinene
12.	2.29	Epimanool
13.	1.75	Bornyl acetate
14.	1.26	Myrcene
15.	1.08	Humulene oxide
16.	0.93	Caryophyllene oxide
17.	0.88	p-Menth-1-en-4-ol
18.	0.81	cis-Salvene
19.	0.73	γ-Terpinene
20.	0.63	β-Cymene
21.	0.20	Tricyclene
22.	0.20	α-Thujene
23.	0.07	Sabinene
24.	0.09	1-Octen-3-ol
25.	0.10	α-Phellandrene
26.	0.40	α-Terpinene
27.	0.17	cis-Ocimene
28.	0.34	α-Terpinolene
29.	0.10	p-Cymenene
30.	0.10	p-menth-2-en-1-ol
31.	0.08	α-Campholenal
32.	0.32	Pinocamphone
33.	0.12	Cuminyl acetate
34.	0.45	α-Terpineol
35.	0.47	Myrtenol
36.	0.09	α-Phellandrene epoxide
37.	0.11	cis-Carveol
38.	0.11	Linalool
39.	0.28	Sabinol
40.	0.11	Carvacrol
41.	0.07	4-vinyl-Guaiacol
42.	0.09	Myrtenyl acetate
43.	0.10	Aromadendrene
44.	0.10	Alloaromadendrene
45.	0.26	β-Selinene
46.	0.12	3-Methyl-5-(2,6,6-Trimethyl-1-Cyclohexen-1-Yl)-1-Pentyn-3-Ol
47.	0.08	phenanthrene, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,9,10,10a-dodecahydro-1,1,4a,7-tetrameth
	100.00	



Grafik 4.2. Bilyalı kekikin uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.2. *Bilyalı kekik uçucu yağının GC-MS analizi*

No	% Bileşen	İsim
1.	40.63	Carvacrol
2.	19.70	Thymol
3.	8.07	p-Cymene
4.	3.91	γ-Terpinene
5.	3.49	endo-Borneol
6.	3.08	Linalool
7.	2.18	β-Bisabolene
8.	2.05	L-4-terpineol
9.	1.83	Caryophyllene
10.	1.51	α-Terpinene
11.	1.37	Caryophylleneoxide
12.	1.27	trans Sabinenehydrate
13.	1.23	α-Thujene
14.	1.18	Myrcene
15.	0.79	α-Pinene
16.	0.58	Camphene
17.	0.15	β-Pinene
18.	0.71	1-Octen-3-ol
19.	0.20	ethyl-Hexanol
20.	0.18	α-Phellandrene
21.	0.10	δ-3-Carene
22.	0.64	Sylvestrene
23.	0.27	cis-Ocimene
24.	0.26	α-Terpinolene
25.	0.21	α-Terpineol
26.	0.19	Thymyl Methyl Ether
27.	0.17	Carvone
28.	0.15	Methyl 9,10-dihydroxyoctadecanoate
29.	0.13	2-Ethyl-5-n-propylphenol
30.	0.81	Carvacrol acetate
31.	0.34	Aromadendrene
32.	0.11	o-Methoxy-α, α -dimethylbenzyl alcohol
33.	0.08	α-Humulene
34.	0.21	Viridiflorene
35.	0.21	γ-Cadinene
36.	0.14	δ-Cadinene
37.	0.67	Spathulenol
38.	0.44	α-epi-Muurolol
39.	0.07	3-Methyl-5-(2,6,6-Trimethyl-1-Cyclohexen-1-Yl)-1-Pentyn-3-Ol
40.	0.22	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane
41.	0.10	n, 3-ethenyldodecahydro-3,4a,7,7,10a-pentamethyl-, [3R-(3.alpha.,4a.beta.,6a.alph
42.	0.25	Retinoic acid
43.	0.10	α-Springene
	100.00	

4.2. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği

Araştırmanın bu bölümünde 2 farklı bitki taksonundan su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar on dokuz mikroorganizmaya (Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve *Candida albicans* suşu) karşı uygulanmış, Minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) ve MBK, MFK değerleri Tablo 4.1, 4.2.'de verilmiştir.

4.2.1. Bitki Örneklerine Ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerleri

Tablo 4.3. *Bitki taksonlarına ait MİK değerleri (µl/ml)*

Mikroorganizma	**Bitki Türleri**	
	Salvia officinalis	*Origanum onites*
B. subtilis	0,781	<0,195
C. albicans	0,195	<0,195
E. aerogenes	1,562	<0,195
E. coli	0,39	<0,195
E. durans	12,5	<0,195
E. faecalis	25	<0,195
E. faecium	3,125	<0,195
K. pneumoniae	1,562	<0,195
L. innocula	6,25	<0,195
L. monocytogenes	100	<0,195
P. aeruginosa	0,195	<0,195
P. fluorescens	0,781	<0,195
S. aureus	0,781	<0,195
S. enteritidis	0,39	<0,195
S. epidermidis	0,195	<0,195
S. infantis	3,125	<0,195
S. kentucky	3,125	<0,195
S. typhimurium	1,562	<0,195
S. marcescens	0,39	<0,195

4.2.2. Bitki Örneklerine Ait Minimum Bakterisidal/Fungusidal Konsantrasyon (MBK, MFK) Değerleri

Tablo 4.4. *Bitki taksonlarına ait minimum bakterisidal/fungusidal konsantrasyon (MBK, MFK) değerleri (µl/ml)*

Mikroorganizma	**Bitki Türleri**	
	Salvia officinalis	*Origanum onites*
B. subtilis	0,781	<0,195
C. albicans	25	<0,195
E. aerogenes	1,562	<0,195
E. coli	0,781	<0,195
E. durans	12,5	<0,195
E. faecalis	25	<0,195
E. faecium	3,125	<0,195
K. pneumoniae	1,562	<0,195
L. innocula	12,5	<0,195
L. monocytogenes	100	<0,195
P. aeruginosa	12,5	<0,195
P. fluorescens	12,5	<0,195
S. aureus	1,562	<0,195
S. enteritidis	1,562	<0,195
S. epidermidis	12,5	<0,195
S. infantis	3,125	<0,195
S. kentucky	6,25	<0,195
S. typhimurium	1,562	<0,195
S. marcescens	0,39	<0,195

Tablo 4.5. *Bitki taksonlarına ait bakterisidal/fungusidal ve bakteriostatik/fungustatik değerlerin karşılaştırılması (µl/ml)*

Mikroorganizma	**Bitki türleri**			
	Salvia officinalis		*Origanum onites*	
	Bakterisidal/ Fungusidal	Bakteriostatik/ Fungustatik	Bakterisidal/ Fungusidal	Bakteriostatik/ Fungustatik
B. subtilis	0,781	-	<0,195	-
C. albicans	25	0,195	<0,195	-
E. aerogenes	1,562	-	<0,195	-
E. coli	0,781	0,39	<0,195	-
E. durans	12,5	-	<0,195	-
E. faecalis	25	-	<0,195	-
E. faecium	3,125	-	<0,195	-
K. pneumoniae	1,562	-	<0,195	-
L. innocula	12,5	6,25	<0,195	-
L. monocytogenes	100	-	<0,195	-
P. aeruginosa	12,5	0,195	<0,195	-
P. fluorescens	12,5	0,781	<0,195	-
S. aureus	1,562	0,781	<0,195	-
S. enteritidis	1,562	0,39	<0,195	-
S. epidermidis	12,5	0,195	<0,195	-
S. infantis	3,125	-	<0,195	-
S. kentucky	6,25	3,125	<0,195	-
S. typhimurium	1,562	-	<0,195	-
S. marcescens	0,39	-	<0,195	-

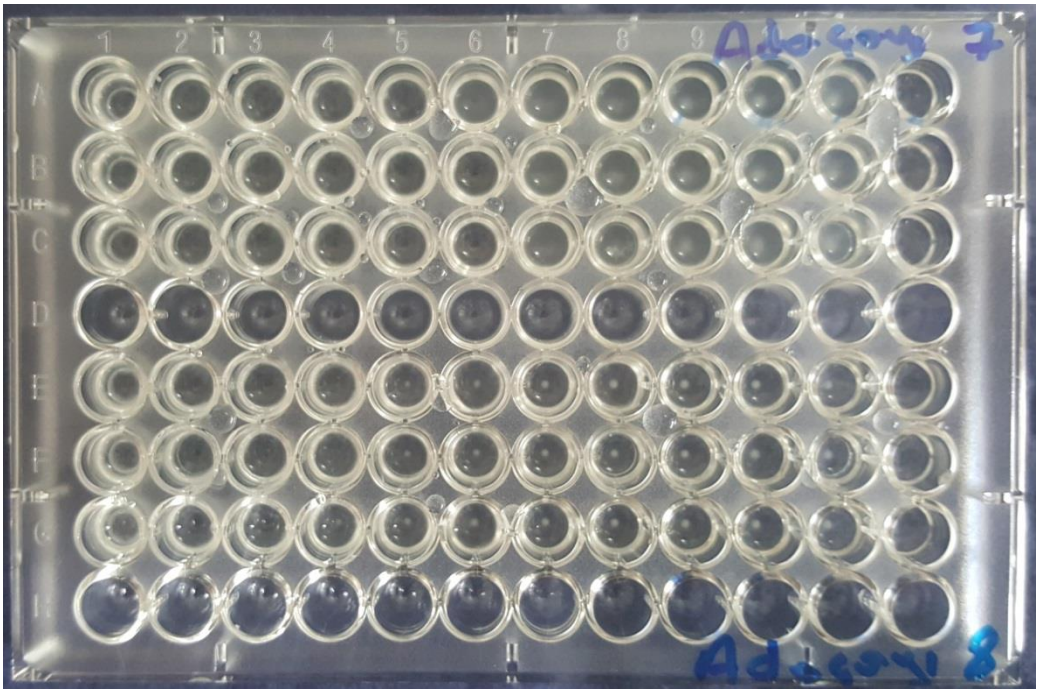
(-) Sidal ve statik etkinin eş konsantrasyonlarda ortaya çıkması durumu

4.2.3. Tıbbi adaçayına ait MİK Değerleri

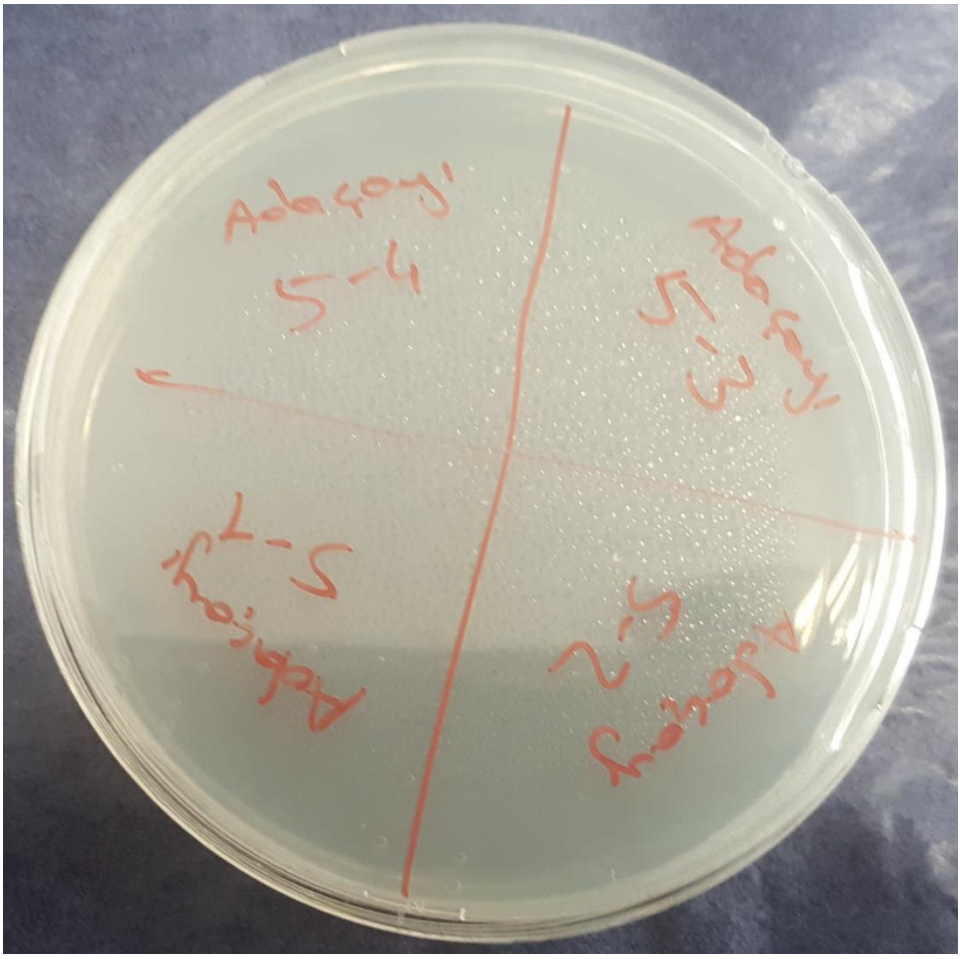
Salvia officinalis (Adaçayı) uçucu yağının MİK değerlerine bakılıp duyarlılığı en fazla olan değerlerden en düşük değerlere doğru sıralandığında *C. albicans* 0,195 µl/ml, *P. aeruginosa* 0,195 µl/ml, *S. epidermidis* 0,195 µl/ml, *E. coli* 0,39 µl/ml, *S. enteritidis* 0,39 µl/ml, *S. marcescens* 0,39 µl/ml, *B. subtilis* 0,781 µl/ml, *P. fluorescens* 0,781 µl/ml, *S. aureus* 0,781 µl/ml, *E. aerogenes* 1,562 µl/ml, *K. pneumoniae* 1,562 µl/ml, *S. typhimurium* 1,562 µl/ml, *E. faecium* 3,125 µl/ml, *S. infantis* 3,125 µl/ml, *S. kentucky* 3,125 µl/ml, *L. innocula* 6,25 µl/ml, *E. durans* 12,5 µl/ml, *E. faecalis* 25 µl/ml, *L. monocytogenes* 100 µl/ml olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlardan tıbbi adaçayı uçucu yağı karşısında aktivitelerini durduran en hassas mikroorganizmaların 0,195 µl/ml ile *C. albicans*, *P. aeruginosa* ve *S. epidermidis* olduğunu ortaya çıkmıştır. *L. monocytogenes* ise 100 µl/ml ile en az hssasiyeti göstermiştir.

4.2.3. Tıbbi adaçayına ait MBK, MFK Değerleri

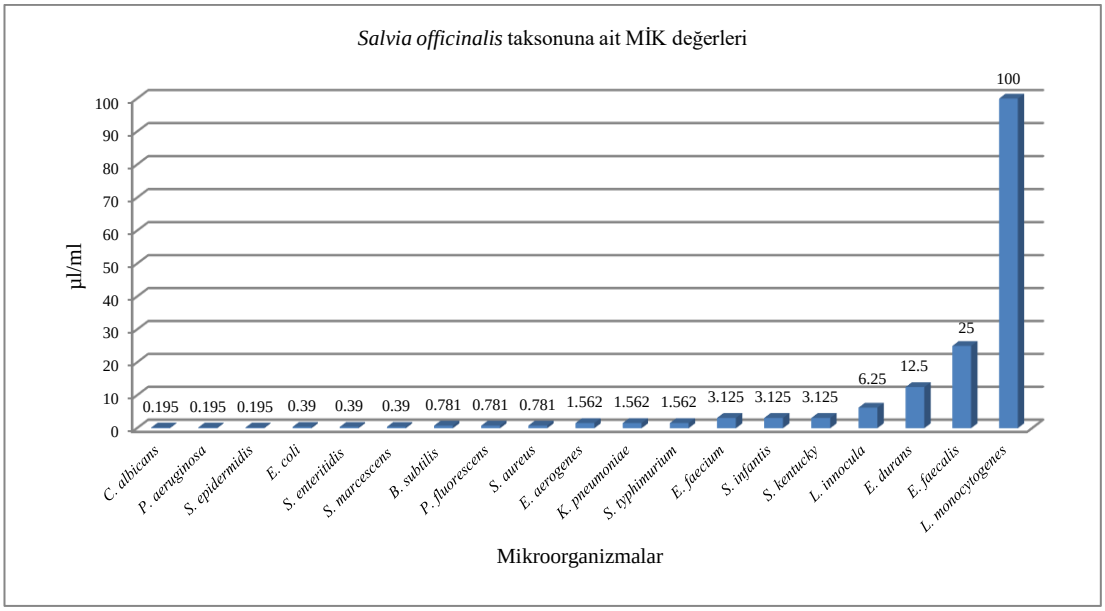
Salvia officinalis (Adaçayı) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK) öldürücü etkisi en fazla olan değerlerden en düşük değerlere doğru sıralandığında *S. marcescens* 0,39 µl/ml, *B. subtilis* 0,781 µl/ml, *E. coli* 0,781 µl/ml, *E. aerogenes* 1,562 µl/ml, *K. pneumoniae* 1,562 µl/ml, *S. aureus* 1,562 µl/ml, *S. enteritidis* 1,562 µl/ml, *S. typhimurium* 1,562 µl/ml, *E. faecium* 3,125 µl/ml, *S. infantis* 3,125 µl/ml, *S. kentucky* 6,25 µl/ml, *E. durans* 12,5 µl/ml, *L. innocula* 12,5 µl/ml, *P. aeruginosa* 12,5 µl/ml, *P. fluorescens* 12,5 µl/ml, *S. epidermidis* 12,5 µl/ml, *C. albicans* 25 µl/ml, *E. faecalis* 25 µl/ml, *L. monocytogenes* 100 µl/ml olduğu gözlemlenmiştir. Adaçayı uçucu yağının mikroorganizmalar içinde en düşük miktarı 0,39 µl/ml ile *S. marcescens* üzerinde bakterisidal etkili olduğu gözlemlenmiştir.



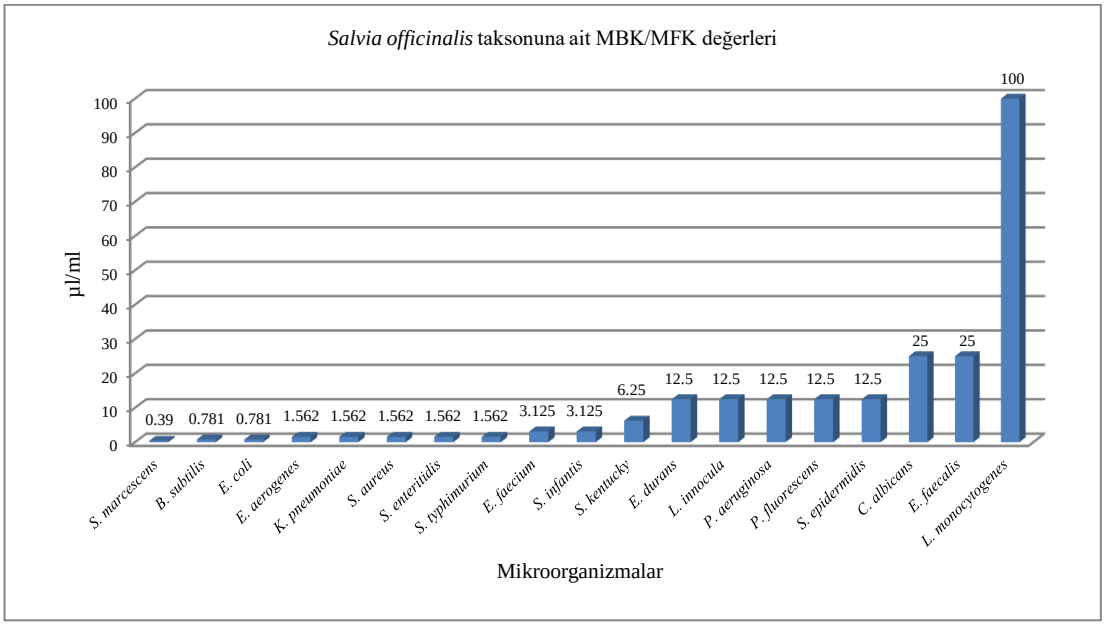
Fotoğraf 4.1. Tıbbi adaçayı uçucu yağının MİK sonuçlarından örnek



Fotoğraf 4.2. Tıbbi adaçayı uçucu yağının MBK, MFK sonuçlarından örnek



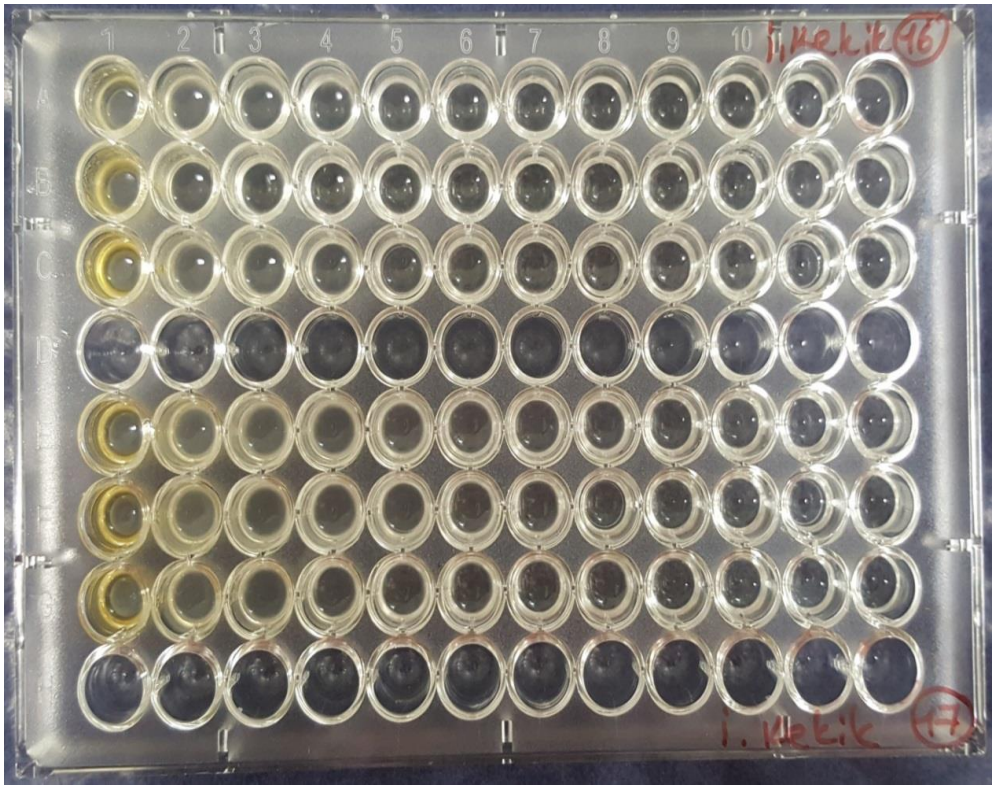
Grafik 4.3. Tıbbi adaçayı'nın uçucu yağına ait MİK değerleri



Grafik 4.4. Tıbbi adaçayı'nın uçucu yağına ait MBK, MFK değerleri

4.2.5. Bilyalı kekike ait MİK Değerleri

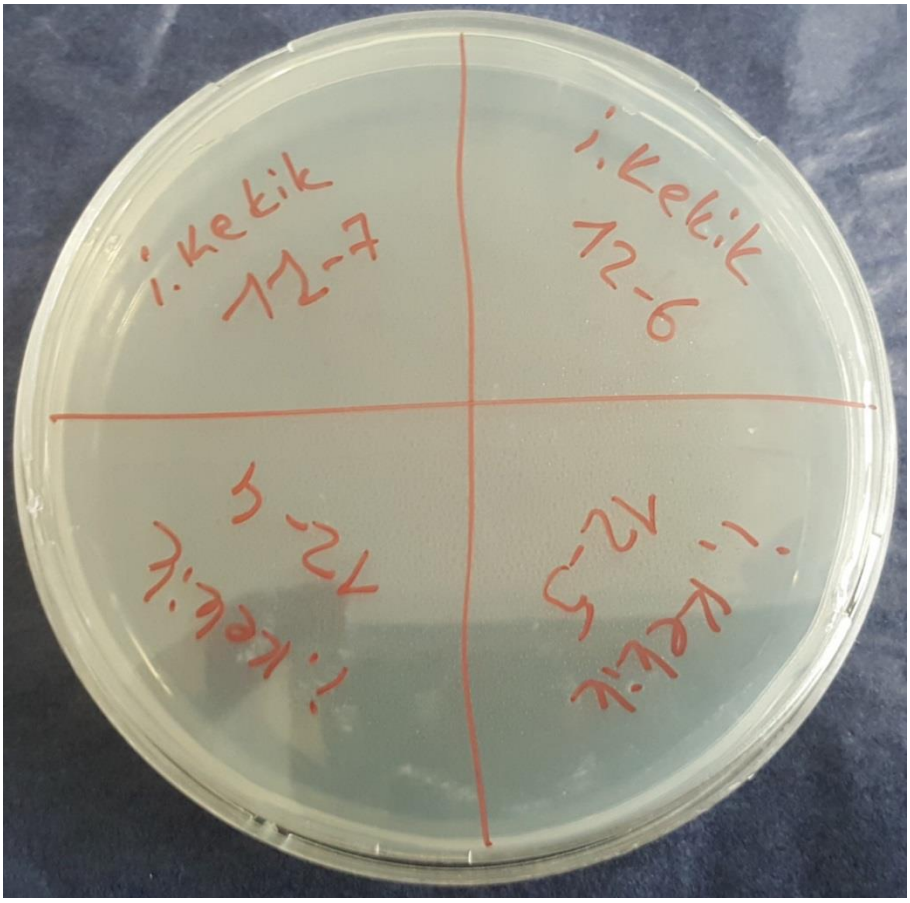
Origanum onites (Bilyalı kekik) uçucu yağının MİK değerlerine bakıldığında *C. albicans* 0,195 µl/ml'den küçük, *P. aeruginosa* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. epidermidis* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. coli* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. enteritidis*- 0,195 µl/ml'den küçük, *S. marcescens* 0,195 µl/ml'den küçük, *B. subtilis* 0,195 µl/ml'den küçük, *P. fluorescens* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. aureus* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. aerogenes* 0,195 µl/ml'den küçük, *K. pneumoniae* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. typhimurium* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. faecium* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. infantis* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. kentucky* 0,195 µl/ml'den küçük, *L. innocula* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. durans* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. faecalis* 0,195 µl/ml'den küçük ve *L. monocytogenes* 0,195 µl/ml'den küçük olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre bilyalı kekik uçucu yağının tüm mikroorganizmalar üzerinde uygulanan en düşük miktarı olan 0,195 µl/ml'de durdurucu etki gösterdiği ortaya çıkmıştır.



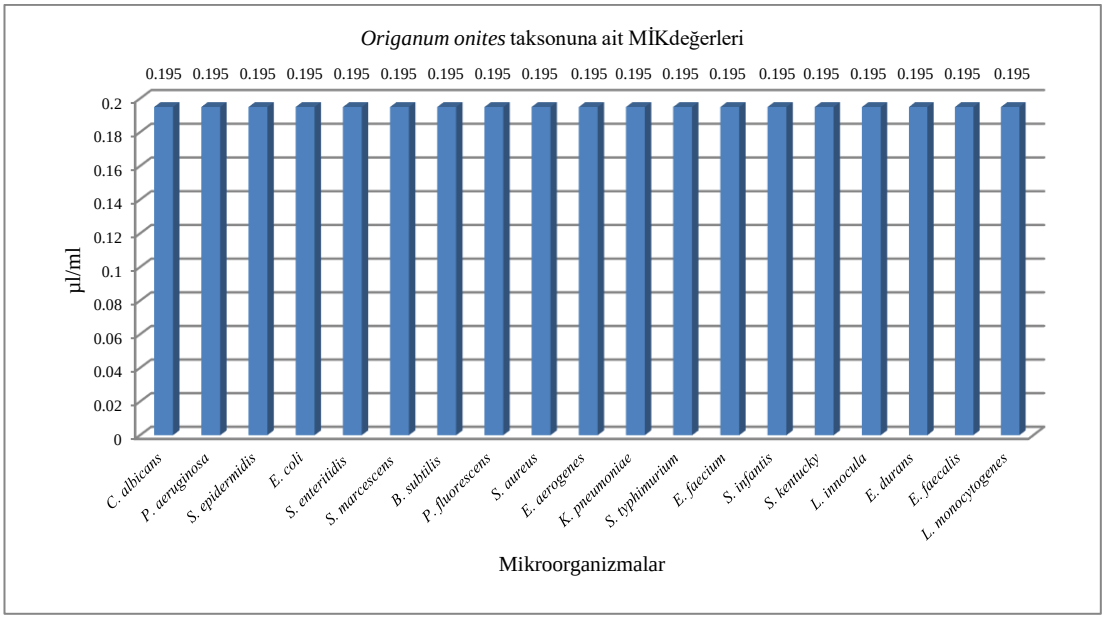
Fotoğraf 4.3. Bilyalı kekik uçucu yağının MİK sonuçlarından örnek

4.2.5. Bilyalı kekiğe ait MBK, MFK Değerleri

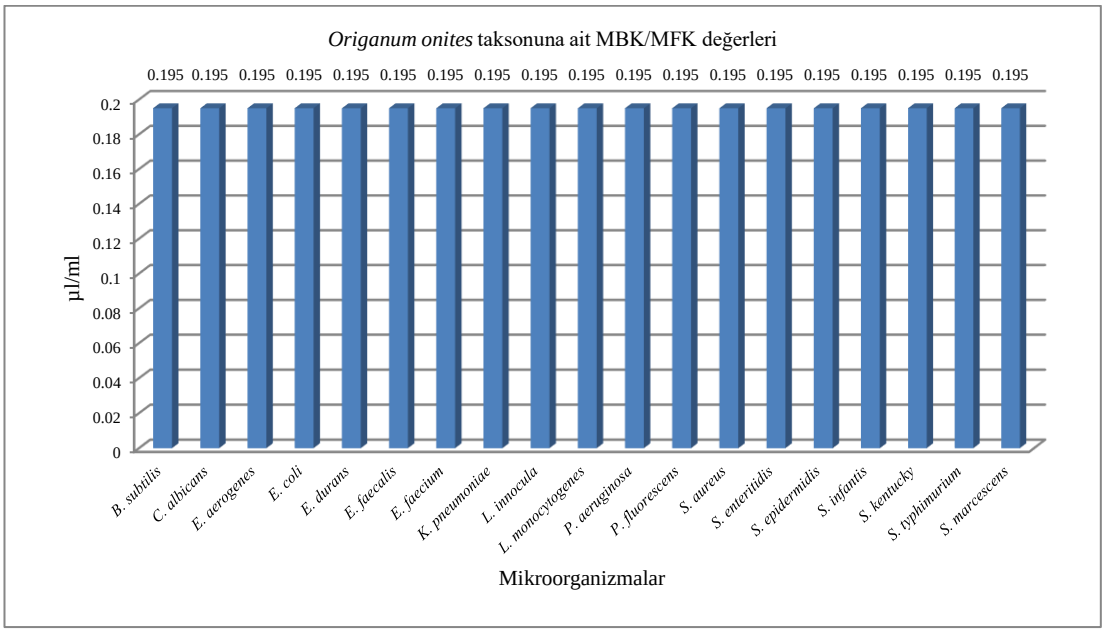
Origanum onites (Bilyalı kekiğin) uçucu yağının bakterileri ve fungusu öldüren en düşük konsantrasyon değerleri (MBK, MFK) *C. albicans* 0,195 µl/ml'den küçük, *P. aeruginosa* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. epidermidis* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. coli*- 0,195 µl/ml'den küçük, *S. enteritidis* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. marcescens* 0,195 µl/ml'den küçük, *B. subtilis* 0,195 µl/ml'den küçük, *P. fluorescens* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. aureus* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. aerogenes* 0,195 µl/ml'den küçük, *K. pneumoniae* 0,195 µl/ml'den küçük, *S. typhimurium* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. faecium* 0,195 µl/ml den küçük, *S. infantis* 0,195 µl/ml den küçük, *S. kentucky* 0,195 µl/ml'den küçük, *L. innocula* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. durans* 0,195 µl/ml'den küçük, *E. faecalis* 0,195 µl/ml'den küçük ve *L. monocytogenes* 0,195 µl/ml'den küçük olduğu gözlemlenmiştir. Bilyalı kekik uçucu yağının mikroorganizmalar üzerine uygulanan en düşük miktarı olan 0,195 µl/ml'nin hem bakterisidal hem fungusidal etki göstermiştir.



Fotoğraf 4.4. Bilyalı kekik uçucu yağının MBK, MFK sonuçlarından örnek



Grafik 4.5. Bilyalı kekik'in uçucu yağına ait MİK değerleri



Grafik 4.6. Bilyalı kekik'in uçucu yağına ait MBK, MFK değerleri

5.1. TARTIŞMA

5.1. GC-MS Değerleri Hakkında

Bu araştırmada çalışılan bitki taksonlarından elde edilen uçucu yağın GC-MS analiz sonuçlarına göre ilk 9 bileşeni tablo 5.1'de gösterilmektedir. Dominant kimyasal bileşenler açısından endo-borneol ortak bileşeni benzer yüzdelik dilimlerde aynı aileye ait 2 bitki taksonunda da gözlemlenmiştir. Kimyasal bileşenlerde yüzdelik bulunma oranları düştükçe benzer kimyasal bileşenlerde artmaktadır.

Tablo 5.1. Bitki taksonlarında dominant kimyasal bileşenler açısından farklılıklar ve benzerlikler

Takson Adı	**Kimyasal Bileşen**								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Salvia officinalis	% 20.46 β-Thujone	% 16.67 d-Camphor	%10.89 Eucalyptol	% 8.81 α-Thujone	% 4.90 endo-Borneol	% 4.75 Viridiflorol	% 4.65 α-Humulene	% 4.15 Camphene	% 4.07 α-Pinene
Origanum onites	% 40.63 Carvacrol	% 19.70 Thymol	% 8.07 p-Cymene	% 3.91 γ-Terpinene	% 3.49 endo-Borneol	% 3.08 Linalool	% 2.18 β-Bisabolene	% 2.05 L-4-terpineol	% 1.83 Caryophyllene

Tıbbi adaçayı uçucu yağı bu kimyasal bileşenleriyle antimikrobial, antioksidan, antiseptik, antienflamatuar, antispazmodik, safra salgısını artıran, yara kapatıcı, depurative, sindirim kolaylaştırıcı, dezenfektan, adet söktürücü, balgam attırıcı, ateş düşürücü, laksatif ve uyarıcı özellik göstermektedir (Baytop, 1984).

Bilyalı kekiğin uçucu yağının kimyasal bileşenleri antimikrobial, antioksidan, sindirim kolaylaştırıcı, antialerjik, antiparazitik, antienflamatuar, menapoz düzenleyici etki göstermektedir (Baytop, 1984).

5.2. Antimikrobiyal Değerler Hakkında

Bu sonuçlardan, tıbbi adaçayı uçucu yağı karşısında aktivitelerini durduran en hassas mikroorganizmaların 0,195 µl/ml ile *C. albicans*, *P. aeruginosa* ve *S. epidermidis* olduğunu ortaya çıkmıştır. *L. monocytogenes* ise 100 µl/ml ile en az hssasiyeti göstermiştir. Adaçayı uçucu yağının mikroorganizmalar içinde en düşük miktarı 0,39 µl/ml ile *S. marcescens* üzerinde bakterisidal etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre bilyalı kekik uçucu yağının tüm mikroorganizmalar üzerinde uygulanan en düşük miktarı olan 0,195 µl/ml ile durdurucu etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bilyalı kekik uçucu yağının mikroorganizmalar üzerine uygulanan en düşük miktarı olan 0,195 µl/ml'nin hem bakterisidal hem fungusidal etkilidir. Bu sonuçlardan bu uçucu yağa ait daha düşük miktarların (0,195 µl/ml'den) bir başka araştırmada denenmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Türkiye'de yayılış gösteren Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasından *Origanum onites* (Bilyalı kekik) ve yine Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasından ve kültüre edilerek üretilen *Salvia officinalis*'in su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin test edildiği adaçayına göre bilyalı kekikte yüksek antimikrobiyal etkinliğin olduğu belirlenmiştir.

Bilyalı kekikteki yağ verimliliği de göz önüne alındığında özellikle uçucu yağının etkin olduğu tüm bakteri gruplarına ve 1 fungusa karşı (*Bacillus subtilis, Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Enterococcus durans, Listeria monocytogenes, Listeria innocua, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus ve Staphylococcus epidermidis, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Salmonella infantis, Salmonella kentucky, Salmonella typhimurium, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa ve Pseudomonas fluorescens* patojen bakterilerine ve patojen mantar *Candida albicans*) bitkisel preparatların hazırlanabileceği düşünülmektedir.

Türkiye dışında kekik ve adaçayı taksonlarından elde edilen, uçucu yağ, distilasyon suyu ve ekstraksiyonları "Cooling Sage", "Menosan", "Broncho stop" gibi destekleyici bitkisel ürün başlıkları altında satılmaktadır. Türkiye içinde ise farklı firmalara ait adaçayı yağı (elma yağı) ve kekik yağı ürünü olarak piyasada değerlenmektedir.

Gerek tıbbi adaçayının gerekse bilyalı kekiğin çok yıllık çalımsı bir bitki olması, ülkemizin iklim koşullarına uygunluğu dolayısıyla farklı fitocoğrafyalarda kültüre edilebilmeleri, sulama yapılarak yıl içi hasat sayısının artırılabilirliği, piyasada bu ürünlere duyulan ihtiyacın doygunluk noktasına gelmemiş olması, kuru yada ya uçucu yağ, distilasyon suyu gibi ürün gamının geniş olması, farklı kullanım alanlarına hizmet edebilecek potansiyellerinin olması bu bitki türlerini potansiyel hedef ürünler arasında ayrıcalıklı kılmaktadır. Ayrıca bu tezin de konusunu oluşturan adaçayı ve bilyalı kekiğin antimikrobiyal etkileri bu bitki türlerinin mamul ürün olarak büyük potansiyellerinin olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

Abu-Darwish, M. S., Cabral, C., Ferreira, I. V., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz M. T., Al-bdour T. H., Salgueiro L. (2013). Essential Oil of Common Sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *BioMed Research International* Volume, Article ID 538940, 9 pages. http://dx.doi.org/10.1155/2013/538940

Ahmed, S. M., Eapen, M. (1986). Vapour toxicity and repellency of some essential oils to insect pests. *Indian Perfum*. 30, 273–278.

Angelini, L. G., Carpanese, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M., Flamini, G. (2003). Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *J. Agric. Food Chem*. 51, 6158-6164.

Ang-Lee, M.K., Moss, J., Yuan, C.S. (2001). Herbal medicines and perioperative care. *Jama*. 286(2):208-16.

Archana, P. R., Negi, K. S., Dutta, M. (2013). Variability in essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) grown under North Western Himalayan Region of India. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 7(11), pp. 683-688, 17 March

Armstrong, J. S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: The sine qua non for cell death. *Bioessays*, 28, 253-260.

Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 75, 199-212.

Astani, A., Reichling, J., Schnitzler, P. (2010). Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother*. *Res*. 24, 673-679.

Baj, T., Ludwiczuk, A., Sieniawska, E., Skalickawoèniak, K., Eaw, W. J., Zieba, K., Geowniak, K. (2013). GC-MS analysis of essential oils from *Salvia officinalis* L. Comparison of extraction methods of the volatile components. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, Vol. 70 No.1 pp. 35ñ40, 2013. ISSN 0001-6837.

Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., Ritieni, A., Bruno, M., Spatuzzi, D., Rigano, D. (2006). Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *J. Ethnopharmacol*.,107, 240–248.

Baytop T. (1984). Türkiye'de bitkilerle tedavi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi *Eczacılık Fakültesi Yayınları*,; 284-6.

Behboud, J., Amirreza, E., Mohammad, M. (2011). Antibacterial effect of *Salvia officinalis* L. extract. *Annals of Biological Research*, 2 (6):532-535.

Beheshti-Rouy, M., Azarsina, M., Rezaie-Soufi, L., Yousef, A. M., Roshanaie, G., Komaki, S. (2015). The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: a randomized clinical trial. *Iran J Microbiol.* Jun; 7(3): 173–177

Bouajaj, S., Romane, A., Benyamna, A., Amri, I., Hanana, M., Hamrouni, L., Romdhane, M. (2014). Essential oil composition, phytotoxic and antifungal activities of *Ruta chalepensis* L. leaves from High Atlas Mountains (Morocco). *Natl. Prod. Res.*, 28, 1910-1914.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7879-7885.

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M. (2003). Chemical composition and biological activities of Isphingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chem.* 85, 415-421.

Burt, S. (2004). Essential oils. Their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253.

Calcabrini, A., Stringaro, A., Toccacieli, L., Meschini, S., Marra, M., Colone, M., Salvatore, G., MondeIlo, F., Arancia, G., Molinari, A. (2004). Terpinen-4-ol, the main component of *Melaieuca aitemifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. *J. Investig. Dermatol.*, 122, 349-360.

Caldefie-Chézet, F., Fusillier, C., Jarde, T., Laroye, H., Damez, M., Vasson, M.P. (2006). Potential antiinflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytother. Res.* 20, 364-370.

Caldefie-Chézet, F., Guerry, M., Chalchat, J.C., Fusillier, C., Vasson, M.P., Guillot, J. (2004). Antiinflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human polymorphonuciear neutrophils and monocytes. *Free Radic. Res.* 38, 805-811.

Canillac, N., Mourey, A. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of Picea excelsa on Listeria, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol.* 18, 261-268.

Carnesecchi, S., Bras-Gonçalves, R., Bradaia, A., Zeisel, M., Gossé, F., Poupon, M.F., Raul, F. (2004). Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorourcil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Lett*., 215, 53-59.

Carnesecchi, S., Langley, K., Exinger, F., Gossé, F., Raul, F. (2002). Geraniol, a component of plant essential oils, sensitizes human colonie cancer cells to 5-fluorouracil treatment. *J. Pharm. Exp. Ther*., 301, 625-630.

Carson, C. F., Riley, T. V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleuca alternifolia. *J. Appl. Bacteriol.*, 78, 264-269.

Cavalieri, E., Mariotto, S., Fabrizi, C., Carcereri, A., Gottardo, R., Leone, S., Berra, L.V., Lauro, G.M., Ciampa, A.R., Suzuki, H. (2004). A-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. Biochem. *Biophys. Res. Commun.* 315, 589-594.

Chan, K,, Shaw, D., Simmonds, M.S., Leon, C.J., Xu, Q., Lu, A. (2012). Good practice in reviewing and publishing studies on herbal medicine, with special emphasis on traditional Chinese medicine and Chinese materia medica. *J. Ethnopharmacol.* 140(3):469-75. doi: 10.1016/ j.jep.2012.01.038.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 79, 213-220.

Clark, A. M. (1996). Natural Products as a Resource for New Drugs. *Pharmaceutical Research.* 13(8):1133-41. doi: 10.1023/a:1016091631721.

Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of essential oil of Melaleuca alternifola (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.*, 88, 170-175.

Damjanovic-Vratnica, B., Đakov, T., Šukovic, D., Damjanovic, J. (2008). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Wild-Growing *Salvia officinalis* L. from Montenegro. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11:1, 79-89.

Davidson, P. M. (1997). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *In Food Microbiology*: Fundamentals and Frontiers, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J., Eds., ASM Press: Washington, DC, USA, pp. 520-556.

Davidson, P. M., Parish, M. E. (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* 43, 148-155.

De Almeida, R., Fernando, L., Fernando, F., Mancini, E., de Feo, V. 2010. Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils. *Molecules.* 15, 4309-4323.

De Oliveira, C. M., Graças, C. M., Ionta, M., Gomes S. M., Andrade S. J., Ferreira De Silva, G. A., Teixeira, M. L., Carvalho S. R. D. A., Vieira S. R., Isac S. L. 2015. Chemical Characterization and in vitro Antitumor Activity of the Essential Oils from the Leaves and Flowers of *Callistemon viminalis. Am. J. Plant Sci.* 6, 2664-2671.

De Sousa, A., Alviano, A., Blank, A., Alves, P., Alviano, C., Gattass, C. 2004. *Melissa officinalis* L. essential oil: Antitumoral and antioxidant activities. *J. Pharm. Pharmacol.* 56, 677-681.

Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello I. T., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigaray S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry* . 100 (2007) 603-608.

Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 101-109.

Denyer, S. P., Hugo, W. B. (1991). Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In Mechanisms of Action of Chemical Biocides, the Society for Applied Bacteriology, Technical Series No 27, Denyer, S.P., Hugo, W.B., Eds., *Oxford Blackwell Scientific Publication*: Oxford, UK. pp. 171-188.

Di Pasqua, R., Hoskins, N., Betts, G., Mauriello, G. (2006). Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2745-2749.

Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88, 308-316.

Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A. M., Putievsky, E., Lerne, H. R. (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *J. Chem. Ecol.* 25, 1079-1089.

Duschatzky, C. B., Possetto, M. L., Talarico, L. B., Garcia, C. C., Michis, F., Almeida, N. V., Lampasona, M. P., Schuff, C., Damonte, E. B. (2005). Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antivir. Chem. Chemother.* 16, 247-251.

Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents. *Phytother. Res.* 21, 308-323.

El Hadri, A., Gómez Del Río, M.A., Sanz, J., González Coloma, A., Idaomar, M., Ribas Ozonas, B., Benedí González, J., Sánchez Reus, M. I. (2010). Cytotoxic activity of α-humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. *An. Real Acad. Nac. Farm.*, 76, 343-356.

Elgood, C. (2010). *A medical history of Persia and the Eastern Caliphate: From the earliest times until the year AD 1932*. Cambridge University Press.

Fabian, D., Sabol, M., Domaracké, K., Bujnékovâ, D. (2006). Essential oils, their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in Vitro*, 20, 1435-1445.

Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*. 63(6):965-81.

Firenzuoli, F., Gori, L. (2007). Herbal medicine today: Clinical and research issues. *Evid Based Complement Alternat Med.* 4 (Suppl. 1): 37-40. doi: 10.1093/ecam/nem096.

Ganesan, A. (2008). The impact of natural products upon modern drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.* 12(3):306-17. doi: 10.1016/j.cbpa.2008.03.016.

Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *Int. J. Food Microbiol.*, 73, 83-92.

Guenther, E. (1948).*The Essential Oils*, D. Van Nostrand Company Inc.: New York, NY, USA, p. 427.

Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J. L., Bell, H. C., Wyllie, S. G.,Warmington, J. R. (1998). Effects of teatree oil on *Escherichia coli. Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 194-198.

Hamilton, A. C. (2004). Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodivers. Conserv.*13 (8):1477-517. doi:10.1023/b:bioc.0000021333.23413.42.

Hamraoui, A., Regnault-Roger, C. (1995). Oviposition and larval growth of *Acanthoscelides obtectus* Say (Col., Bruchidae) in regard to host and non-host plants from Leguminosae family. *J. Appl. Entomol.*, 119, 195-196.

Hart, P. H., Brand, C., Carson, C. F., Riley, T. V., Prager, R. H., Finlay-Jones, J. J. (2000). Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm. Res.* 49, 619-626.

Harvey, A. L. (2008). Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*. 13(19-20):894-901. doi: 10.1016/j.drudis.2008.07.004.

Hong, E. J., Na, K. J., Choi, I. G., Choi, K. C., Jeung, E. B. (2004). Antibacterial and antifungal effects of essential oils from coniferous trees. *Biol. Pharm. Bull.* 27, 863-866.

Huang, H. (2011). Plant diversity and conservation in China: planning a strategic bioresource for a sustainable future. *Bot J Linn Soc.*166(3):282-300.

Kaskatepe, B., Yildiz, S. S., Kiymaci, M. E., Yazgan, A. N., Cesur, S., Erdem, S. A.. (2017). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Commercial *Origanum onites* L. Oil Against Nosocomial Carbapenem Resistant Extended Spectrum Beta Lactamase Producer *Escherichia coli* Isolates. *Acta Biologica Hungarica* 68(4), pp. 466-476.

Khalil R., Li Z. G. (2011). Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(42), pp. 8397-8402, 8 August.

Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., Hammami, M. (2017). Chemical Composition and Biological Activities of *Salvia officinalis* Essential Oil From *Tunisia Excli. Journal*; 16:160-173 - ISSN 1611-2156.

Kilani, S., Abdelwahed, A., Ben Ammar, R. (2008). Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *J. Essent. Oil.* 20, 695-700.

Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H. M., Vigenschow, H. (1986). Action of terpenoids on energy metabolism. In Progress in Essential Oil Research: 16th *International Symposium on Essential Oils*, Brunke, E.J., Ed., De Walter de Gruyter: Berlin, Germany, pp. 429-445.

Koh, K. J., Pearce, A. L., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J., Hart, P.H. (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br. J. Dermatol.* 147, 1212-1217.

Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Kesdek, M., Kaya, Y., Kilic, H. (2008). Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. Ex. Benth. *Biochem. Syst. Ecol*.36, 360-368.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P., Nychas, G. J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of Oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91, 453-462.

Lee, B. K., Kim, J. H., Jung, J. W., Choi, J. W., Han, E. S., Lee, S. H., Ko, K. H., Ryu, J. H. (2005). Myristicin induced neurotoxicity in human neuroblastoma MSK-N-SH cells. *Toxicol. Lett.* 157, 49-56.

Legault, J., Dahl, W., Debiton, E., Pichette, A., Madelmont, J. C. (2003). Antitumor activity of balsam fir oil: Production of reactive oxygen species induced by Humulene as possible mechanism of action. *Planta Med.*, 69, 402-407.

Levey, M. (1973). *Early Arabic Pharmacology: An Introduction Based on Ancient and Medieval Sources*. Brill Archive.

Li, Y., Li, M., Wang, L., Jiang, Z., Li, W., Li, H. (2004). Induction of apoptosis of cultured hepatocarcinoma cell by essential oil of *Artemisia annua* L. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 35, 337–339.

Liu, W. J. H. (2011). Traditional Herbal Medicine Research Methods: Identification, Analysis, Bioassay, and Pharmaceutical and Clinical Studies. John Wiley Sons Inc; 477.

Ma J, Rong K, Cheng K. (2012). Research and practice on biodiversity in situ conservation in China: progress and prospect. *Biodiversity Science*. 20(5):551-8. doi:10.3724/sp.j.1003.2012.08118.

Macías, F. A., Chinchilla, N., Varela, R. M., Molinillo, J. M. (2006). Bioactive steroids from *Oryza sativa* L. *Steroids*. 71, 603-608.

Maia, M. F., Moore, S. J. (2011). Plant-based insect repellents: A review of their efficacy, development and testing. *Malar. J.* 10 (Suppl. 1).

Makunga, N. P., Philander, L. E., Smith, M. (2008). Current perspectives on an emerging formal natural products sector in South Africa. *J Ethnopharmacol.* 119 (3): 365-75. doi:10.1016/ j.jep.2008.07.020.

Malandra, W. W. (1983). *An introduction to ancient Iranian religion: Readings from the Avesta and Achaemenid inscriptions*. U of Minnesota Press.

Maruyama, N., Sekimoto, N., Ishibashi, H. (2005). Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of *Geranium* essential oil. *J. Inflamm.* 2, 1-11.

Mateeva, A., Karov, S. (1983). Studies on the insecticidal effect of some essential oils. Naushni Tr. Vissha Selskostop. *Inst. Vasil Kolar. Plodiv.* 28, 129-139.

Miladinović, D., Miladinović, L. J. (2000). Antimicrobial Activity Of Essential Oil of Sage From Serbia. Physics, *Chemistry and Technology* Vol. 2, No 2, pp. 97-100.

Milner, J. A. (2001). A historical perspective on garlic and cancer - Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement. *J. Nutr.* 131, 1027-1031.

Milner, J. A. (2006). Signifiance of garlic and its constituents in cancer and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 136, 827-831.

Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Knežević-Vukčević, J., Stanković, S., Simić. D. (2005). Comparative study on the antibacterial activity of volatiles from sage (*Salvia officinalis* L.). *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 57 (3), 173-178.

Moon, T., Wilkinson, J. M., Cavanagh, H. M. (2006). Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and Hexamitainflata. *Parasitol. Res.* 99, 722-728.

Mosafa, E., Yahyaabadi, S., Doudi, M. (2014). In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *ZJRMS* Oct; 16 (10): 42-46.

Muchugi, A., Muluvi, G. M., Kindt, R., Kadu, C. A., Simons, A. J., Jamnadass, R. H. (2008). Genetic structuring of important medicinal species of genus *Warburgia* as revealed by AFLP analysis. *Tree Genetics Genomes*. 4(4):787-95. doi: 10.1007/s11295-008-0151-3.

Novgorodov, S. A., Gudz, T. I. (1996). Permeability transition pore of the inner mitochondrial membrane can operate in two open states with different selectivities. *J. Bioenerg. Biomembr*. 28, 139-146.

Nychas, G. J. E. (1995). Natural antimicrobials from plants. *In New Methods of Food Preservation*, 1st ed., Gould, G.W. ,Ed., Blackie Academic & Professional: London, UK, pp. 58-89.

Oussalah, M., Caillet, S., Lacroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes. J. Food Prot.* 69, 1046-1055.

Paluch, G. E., Zhu, J., Bartholomay, L., Coats, R. J. (2011). Amyris and Siam-wood Essential Oils: Insect Activity of Sesquiterpenes. *Pestic. Househ. Struct. Resid. Pest Manag*. 1015, 5-18.

Pan, S. Y., Zhou, S. F., Gao, S. H., Yu, Z. L., Zhang, S. F., Tang M. K. (2013). New Perspectives on How to Discover Drugs from Herbal Medicines: CAM's Outstanding Contribution to Modern Therapeutics. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013:627375. doi: 10.1155/2013/627375.

Parveen, M., Hasan, M. K., Takahashi, J., Murata, Y., Kitagawa, E., Kodama, O., Iwahashi, H. (2004). Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: Evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 54, 46-55.

Pauli, A. (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133.

Phillipson, J. D. (2001). Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*. 56(3):237-43.

Pierozan, M. K., Pauletti, G. F., Rorota, L., Santos, A. C. H., Ler, L. A., Luccio, M., Mossi, A. J., Afini, L. A., Cansian, R. L., Oliveira, J. V. (2008). Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. *Ciênc. Tecnol. Aliment.Campinas,* 29(4): 764-770.

Porte, A., Godoy, R. L. O., Maia-Porte, L. H. (2013). Chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *Nota Prévia. Rev. Bras. Pl. Med. Campinas,* v.15, n.3, p.438-441.

Priestley, C. M., Burgess, I. F., Williamson, F. M. (2006). Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs. *Fitoterapia*. 77, 303-309.

Pyun, M. S., Shin, S. (2006). Antifungal effects of the volatile oils from Asiium plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils wih ketoconazole. *Phytomedicine*. 13, 394-400.

Qiu, J. (2007). Traditional medicine: a culture in the balance. *Nature*. 448(7150): 126-8. doi: 10.1038/448126a.

Rafieian-Kopaei, M. (2012). Medicinal plants and the human needs. *J. HerbMed Pharmacol.* 1(1):1-2.

Raho, B., Benattouche, Z., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Pignatiello, S. (2016). Antimicrobial Activity of Extracts from *Salvia officinalis* L.

on some Bacteria and Yeast. *Journal of Biotechnology Research*, 2(5): 31-35.

Ratledge, C., Wilkinson, S. G. (1988). An overview of microbial lipids. In Microbial Lipids, Ratledge, C., Wilkinson, S.G., Eds., *Academic Press Limited*: London, UK, Volume 1, pp. 3–22.

Regnault-Roger, C., Hamraoui, A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by Monoterpenes upon Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. Stored Prod. Res.*, 31, 291-299.

Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., Saller, R. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotocic properties-an overview. *Forsch. Komplement*. 16, 79-90.

Rim, I. S., Jee, C. H. (2006). Acaricidal effects of herb essential oils against Dermatophagoides farinae and D. pteronyssinus (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). *Korean J. Parasitol*. 44, 133-138.

Ross, I. A. (2005). Constituents, Medicinal Plants of the World (Volume 3): Chemical Traditional and Modern Medicinal Uses. Humana, New Jersey: *Humana Press*; 110-30.

Rota, C., Carraminana, J. J., Burillo, J., Herrera, A. (2004). In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 67, 1252-1256.

Saad, L. M. M. G., Abdelgaleil, S. A. M. (2014). Allelopathic Potential of Essential Oils Isolated from Aromatic Plants on *Silybum marianum*. *Glob. Adv. Res. J. Agric. Sci.*, 3, 289-297.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food. *Food Chem.* 91, 621-632.

Santoro, G. F., Cardoso, M. G., Guimaraes, L. G., Mendonca, L. Z., Soares, M. J. (2007). Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp. Parasitol*., 116, 283-290.

Santoro, G. F., Das Gracas Cardoso, M., Guimaraes, L. G., Salgado, A. P., Menna-Barreto, R. F., Soares, M. J. (2007). Effect of Oregano (*Origanum vulgare* L.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol. Res.* 100, 783–790.

Santos, S., Moraes, M. L. L., Rezende, M. O. O., Souza-Filho, A. P. S. (2011). Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. *Eclética Quím.* 36, 51-68.

Sarac, N., Ugur, A. (2008). Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart, *Satureja thymbra* L., and *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal. Growing Wild in Turkey. *J Med Food* 11 (3) 2008, 568-573.

Schippmann, U. W, Leaman, D., Cunningham A. B. (2006). A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. *Frontis*. 17:75-95.

Schnitzler, P., Koch, C., Reichling, J. (2007). Susceptibility of drugresistant clinical HSV-1 strains to essential oils of Ginger, Thyme, Hyssop and Sandalwood. *Antimicrob. Agents Chemother*. 51, 1859-1862.

Schroeder, F. C., Gronquist, M. (2006). Extending the scope of NMR spectroscopy with microcoil probes. *Angew Chem Int Ed Engl*. 45(43):7122-31. doi: 10.1002/anie.200601789.

Shakya, A. K., Sharma, N., Saxena, M., Shrivastava, S., Shukla, S. (2012). Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective effect of Majoon-e-Dabeed-ul-ward against carbon tetrachloride induced liver injury. *Exp Toxicol Pathol.* 64(7-8):767-73. doi: 10.1016/j.etp.2011.01.014.

Shelef, L. A. (1983). Antimicrobial effects of spices. *J. Food Saf.* 6, 29-44.

Si,W., Gong, J., Tsao, R., Zhou, T., Yu, H., Poppe, C., Johnson, R., Du, Z. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *J. Appl. Microbiol*. 100, 296-305.

Sikkema, J. de Bont, J. A. M., Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.*, 269, 8022-8028.

Singh, J. S. (2002). The biodiversity crisis: A multifaceted review. *Curr Sci.* 82(6):638-47.

Singh, R. (2015). Medicinal plants: A review. *J. Plant Sci.* 3(1-1):50-5. doi: 10.11648/j.jps.s.2015030101.18.

Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., Kohli, R. K. (2009). Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *J. Chem. Ecol.*, 35, 154-162.

Solecki, R., Shanidar IV. (1975). A Neanderthal flower burial in Northern Iraq. *Science*. 190 (4217):880-1. doi:10.1126/science.190.4217.880.

Sonboli, A., Babakhani, B., Mehrabian, A. R. (2006). Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. *Z. Naturforschung*, 61, 160-164.

Soylu, E. M., Soylu, S., Kurt, S. (2006). Antimicrobial activity of the essential oils of various plants against tomatolate blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*. 161, 119-128.

Sylvestre, M., Pichette, A., Lavoie, S., Longtin, A., Legault, J. (2007). Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrine* L. *Coulter. Phytother. Res.* 6, 536-540.

Tabana, A., Saharkhiza, M.J., Hadian, J. (2013). Allelopathic potential of essential oils from four Satureja spp. *Biol. Agric. Hortic*. 29, 244-255.

Tellez, M. R., Kobaisy, M., Duke, S. O., Schrader, K. K., Dayan, F. E., Romagni, J. (2002). Terpenoid based defense in plants and other organisms. *In Lipid Technology, Kuo, T.M., Gardner, H.W., Eds.*, Marcel Dekker: New York, NY, USA, p. 354.

Tosun, A., Khan, S., Kim, Y. S., Calín-Sánchez, A., Hysenaj, X., Carbonell-Barrachina, A. A. (2014). Essential Oil Composition and Anti-Inflammatory Activity of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) in Murin Macrophages. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* June 2014; 13 (6): 937-942.

Turina, A.V., Nolan, M.V., Zygadlo, J. A., Perillo, M. A. (2006). Natural terpenes: Self-assembly and membrane partitioning. *Biophys. Chem.* 122, 101-113.

Uedo, N., Tatsuta, M., Lishi, H., Baba, M., Sakai, N., Yano, H., Otani, T. (1999). Inhibition by Dlimonene of gastric carcinogenesis induced by N methyl N' nitro N-nitrosoguanimidine in wistar rats. *Cancer Lett.*, 137, 131-136.

Ultee, A., Bennink, M. H. J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol*., 68, 1561-1568.

Ultee, A., Kets, E. P., Alberda, M., Hoekstra, F. A., Smid, E. J. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen Bacillus cereus to carvacrol. *Arch. Microbiol.* 174, 233-238.

Vercesi, A. E., Kowaltowski, A. J., Grijalba, M. T., Meinicke, A. R., Castilho, R. F. (1997). The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition. *Biosci. Rep.* 1, 43-52.

Verma, S, Singh, SP. (2008). Current and future status of herbal medicines. *Vet. World.* 1(11):347-50. doi: 10.5455/vetworld.2008.347-350.

Vokou, D., Douvli, P., Blionis, G. J., Halley, J. M. (2003). Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. *J. Chem. Ecol.* 29, 2281-2301.

Yadav, M., Chatterji, S., Gupta, S.K., Watal, G. (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *Int. J. Pharm Pharm Sci.* 6(5):539-42.

Yarnell, E., Abascal, K. (2002). Dilemmas of traditional botanical research. *Herbal Gram.* 55:46-54.

Yoon, H. S., Moon, S. C., Kim, N. D., Park, B. S., Jeong, M. H., Yoo, Y. H. (2000). Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 276, 151-156.

Zeytinoglu, H., Incesu, Z., Baser, K. H. (2003). Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human NRAS oncogene. *Phytomedicine*. 10, 292-299.

ÖZGEÇMİŞ



Adı ve Soyadı : Mostafa B. Khalifa MİLAD
Doğum Tarihi-Yeri : 17.10.1969/ Zawia
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dil : İngilizce
E-posta : mustafa.one70@yahoo.com

Öğrenim Geçmişi

Lise : Zawia Lisesi
Lisans : Tripoli Üniversitesi, Tripoli
İnşaat Mühendisliği

İş Deneyimi

Akademik personel : Jadu Yüksek Okulu