

LAVANDULA STOECHAS, MELISSA OFFICINALIS VE TRIBULUS TERRESTRIS BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI*

*Determination Of Chemical Composition Of Lavandula Stoechas, Melissa Officinalis
And Tribulus Terrestris Plants*

Ahmet U MAY
Kimya Anabilim Dalı

Ramazan BİLGİN
Kimya Bölümü

ÖZET

Karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinden elde edilen uçucu yağ bileşenleri incelendi.

Ekstraktlar; hidrodestilasyon, demleme ve subkritik su ekstraksiyonu yöntemleri ile elde edildi. Uçucu yağların bileşenleri GC-MS ile belirlendi

Bu çalışmada; karabaş otu ve deve çökerten bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerinde ateroskleroza önleyici olarak bilinen *verbenone*, *carbamazepine* ve *vanillin* bulunmuştur. Karabaş otunun hidrodestilasyon işlemi ile elde edilen ekstraktında % 0,62 *verbenone*, subkritik su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktında % 0,60 *carbamazepine* ve deve çökerten bitkisinin subkritik su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktında % 4,41 *vanillin* bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, kolesterol, lipoprotein, uçucu yağ,

ABSTRACT

In this study, essential oil composition of *Lavandula stoechas*, *Melissa officinalis* and *Tribulus terrestris* plants were examined.

The extracts were obtained with hydrodistillation, brewing and subcritical water extraction methods. Components of the essential oils were analysed by GC-MS.

Verbenone, *carbamazepine* and *vanillin* known as atherosclerosis preventing substances and were found in *Lavandula stoechas* and *Tribulus terrestris* essential oils. The relative amount of *verbenone* was highest hydrodistillation extract of *Lavandula stoechas* (0,62 %) *carbamazepine* was found as (0,60 %) in subcritical water extract of and relative highest amount of *vanillin* (4,41 %) was found subcritical water extract of *Tribulus terrestris*.

Keywords: Atherosclerosis, cholesterol, lipoprotein, essential oil,

Giriş

Karabaş Otu *Lavandula stoechas*: Keşiş otu, yalancı lavanta çiçeği olarak da bilinmektedir. 45–50 cm yükseklikte, tüylü, kuvvetli kokulu, çalimsı ve çok yıllık bir bitkidir. Çiçek sapı 0,5–2,5 cm arasında, sık dizilmiş şekildedir. Yaprakları dar ve uzun kenarları alta doğru kıvrıktır. Batı Anadolu'nun maki bölgelerinde yaygın bir türdür. Yaprak ve çiçeklerinden elde edilen ekstraktları ağrı kesici, antimikrobiyal,

* Yüksek Lisans Tezi –MSc.Thesis

sakinleştirici, idrar yolları iltihaplarını giderici, kalp kuvvetlendirici ve damar sertliği damar tıkanıklığı giderici olarak kullanılmaktadır(Baytop,1997).

Oğul Otu *Melissa officinalis*: Kovan otu, limon otu, limon nanesi olarak ta bilinmektedir. 20–150 cm arasında uzayabilen hoş kokulu, çok yıllık bir bitkidir. Üzerinde tüyler bulunan dişli kenarlı ve saplı yaprakları, ile dikkati çeker Akdeniz bölgesinde bol olarak bulunmaktadır. Sakinleştirici ve gaz söktürücü çaylar hazırlanır. Kasımlara, damar tıkanıklığına, karşı kullanılmaktadır(Baytop,1997).

Deve Çökerten *Tribulus terrestris*: Çarık diken, çoban çökerten, demir diken olarak ta adlandırılmaktadır. Genellikle bahçelerde yabancı ot olarak bilinmektedir. 15–80 cm boyunda, bir yıllık otsu, sürünücü ve çiçekleri küçük ve açık sarı renklidir. Toprak üzerine yatık olarak bulunur. Meyveleri ortalama olarak 10 mm çapında ve boynuz şeklinde sivri uçlara sahiptir. Bu bitkinin ekstraktları hipertansiyon, koroner kalp rahatsızlıkları, göze bağlı iltihaplanmaların tedavisinde, taş düşürücü, idrar söktürücü ve kuvvet verici olarak kullanılmaktadır (Baytop,1997).

Uçucu yağlar genellikle sıvı olup, kuvvetli kokulu ve uçucu maddelerdir; genel olarak parfümeri ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadırlar. Su buharı ile sürüklenirler. Bitkilerin büyük bir kısmı canlılarda fizyolojik etkileri nedeni ile tıbbi tedavi amacı ile de tercih edilmektedirler. Etken maddelerin genel olarak uçucu yağlarda bulunduğu belirlenmiştir (Ceylan, 1987).

Ateroskleroz büyük ve orta atardamarların duvarlarının iç kısmında gelişen plak şeklinde lipit içeren bir oluşumdur(Arthur ve Guyton, 1986)

Aterosklerotik kaynaklı hastalıklar halen ülkemizde ve gelişmiş ülkelerde birinci sıradaki ölüm nedeni olarak yer almaktadır. Aterosklerotik lezyonun bulunduğu yere göre klinik sonuçlar değişkenlik gösterir. Hiperlipidemi, Sigara Kullanımı, Diyabetes Mellitus, Hipertansiyon, Şişmanlık, Fiziksel Aktivite, Genetik Faktörler ise ateroskleroz oluşumunu etkileyen risk faktörleridir(Baykal ve ark., 1998)

Materyal ve Metot

Materyal

Clavenger cihazı, liyofilizatör, DB5 kapiler kolonu Finnigan–Trace GC–MS, HPLC pompası, 14 ml hacimli ekstraksiyon hücresi, sıcaklık ayarlı etüv. Karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkileri (Kurutulmuş olarak attarlardan temin edilmiştir.), n-hekzan, dikloro metan, sodyum klorür, sodyum sülfat.

Metot

Bu çalışmada uçucu yağların miktar ve bileşenlerini belirlemek için üç farklı ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bunlar; Clavenger cihazı kullanımı ile yapılan hidrodestilasyon işlemi (HD), Demleme sonrası liyofilizleme işlemi (Dem-LF) ve Subkritik su ekstraksiyonudur (SbKSE). Her çalışma 3 paralel olarak tekrarlanmıştır. Bu yöntemler aşağıda sırasıyla anlatılmaktadır.

Birinci olarak Clavenger Cihazı ile Hidrodestilasyon işlemi gerçekleştirildi; 500 ml'lik cam balon içerisinde Her bir bitki ayrı olarak; Karabaş otu bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden 20 gram, Oğul otunun yapraklarından 20 gramı ve Deve çökerten bitkisinin yaprak ve meyvelerinden 20 gram alındı. 250 mL saf su ile geri soğutucu

altında HD işlemi ile uçucu yağlarının elde edilmesi için 2 saat kaynatma işlemi yapıldı.

İkinci olarak ta kaynatılmış suda demleme ile ekstraksiyon ve sonrasında liyofilizleme işlemi gerçekleştirildi. Karabaş otu oğul otu ve deve çökerten bitkilerinden 2'şer gramları bir 100 mL kaynatılmış su içerisinde 10 dakika demlenmeye bırakıldı, daha sonra filtre kağıdı ile süzülerek elde edilen ekstraktlar 250 mL'lik rodajlı cam balonların içerisine ilave edilerek Liyofilizatörde kurutulmuştur.

Üçüncü yöntem olarak ta subkritik su ekstraksiyonu işlemi yapıldı. SbKSE karabaş otu oğul otu ve deve çökerten bitkileri ekstraksiyon hücresinin içerisine aldığı miktarlarda tartılarak 100°C'de 60 bar basınca maruz bırakılması ile gerçekleştirildi. Ekstraksiyon 30 dakika süresince gerçekleştirildi.

GC-MS Analizi

GC-MS analizleri Finnigan-Trace GC-MS'in kullanımı ile gerçekleştirildi. Kromatografik ayırmalar DB5 kapiler kolonu (0,25mm x 60m, 0,25µm film tabakası kalınlığı) içerisinde gerçekleştirildi. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak 1mL/dakika akış hızındaki helyum kullanıldı.

Bulgular ve Tartışma

Bulgular

Çizelge 1. Bitkilerin HD İle Elde Edilen Ekstraktların Yüzde Verimleri

Bitkiler	%verim (v/w),(w/w)
Karabaş otu	1,41 – 1,38
Oğul otu	0,43 – 0,40
Deve çökerten	0

Çizelge 2. Bitkilerin Dem-LF Elde Edilen Ekstraktlarının Yüzde Verimleri

Bitkiler	%verim, (w/w)
Karabaş otu	0,37
Oğul otu	0,07
Deve çökerten	0,02

Çizelge 3. Bitkilerin SbKSE İle Elde Edilen Ekstraktların Yüzde Verimleri

Bitkiler	% verim, (w/w)
Karabaş otu	1,49
Oğul otu	0,52
Deve çökerten	0,12

GC-MS (Gaz kromatografisi ve kütle spektrofotometresi) sonuçları (Tüm sonuçlarda % 0,1'in altındaki değerlerdeki bileşenler gösterilmemiştir. RT (Alınma zamanı)

Çizelge 4. Karabaş Otunun Yaprak ve Çiçeklerinden HD İle Elde Edilen Uçucu Yağının Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
15,88	sabinene	0,50
17,88	1,3,8-p- menthatriene	0,13
18,08	limonene	0,36
18,25	eucalyptol	0,11
19,91	cis-β-terpineol	0,10
21,01	fenchone	30,48
22,22	D-fenchly alcohol	0,24
22,72	campholene aldehyde	0,33
23,82	camphor	62,74
25,85	p- cymene -8-ol	0,14
26,20	myrtenol	0,42
26,84	verbenone	0,62
27,09	fenchyl acetate	0,26
28,40	3-carene	0,40
30,16	bornyl acetate	1,51
47,30	trans-caryophyllene	0,11
51,36	α-cadinol	1,23

Çizelge 5. Oğul Otunun Yapraklarından HD İle Elde Edilen Uçucu Yağının Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
15,63	sabinene	1,84
18,08	limonene	22,45
18,24	eucalyptol	13,95
19,90	linalool	1,43
20,98	fenchone	3,36
23,76	camphor	5,86
25,83	α-terpineole	2,13
26,27	n-octyl acetate	5,65
27,99	Z-citral	4,35
29,34	E-citral	4,91
34,43	copaene	0,67
34,95	β-bourbonene	0,62
36,77	caryophyllene	1,02
39,12	9,12-octadienoik acid	0,54
39,87	cedren	6,12
42,52	α-cedrol	0,72
45,13	farnesol	3,97
46,87	spathulenol	8,47
47,26	caryophyllene oxide	10,78
50,50	azulene	1,14

Çizelge 6. Karabaş Otuunun Yaprak ve Çiçeklerinden Dem-LF Sonrası N-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzütüsünün Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
18,18	limonene	0,40
20,16	linalool oxide	0,80
21,05	fenchone	15,16
21,98	Citral	0,78
22,85	1-formylmorpholine	1,97
23,84	camphor	58,31
24,84	borneol	1,46
25,56	hotrienol	1,70
26,26	myrtenol	0,19
26,88	verbenone	2,07
27,20	<i>Trans</i> -carveol	0,30
29,73	eicosanol	0,98
30,96	limonene dioxide	0,69
31,28	cyclohexasiloxane	1,25
32,26	3,7 dimethyl 1,7 octadiene 3,6 diol	1,31
32,77	geranyl acetate	1,55
34,32	methoprene	5,12
34,96	<i>Trans</i> sobrerol	0,12
35,72	lilac aldehyde	1,11
39,50	inosine 1 methyl	0,14
39,94	3 cyclohexene – 1 methanol 5 hydroxy	0,24
49,40	Apiol	1,75
50,94	lucenine	0,42
51,38	α -cadinol	0,45
53,04	didodecyl ftalate	0,22

Çizelge 7. Oğul Otuunun Yapraklarından Dem-LF Sonrası N-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzütüsünün Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
16,81	borinic acid-diethyl	50,96
22,92	n-formylmorpholine	36,01
25,75	inosine 1 methyl	1,81
28,44	cedranoxide	4,51
49,42	gigantine	4,05
50,93	lucenine	2,41

Çizelge 8. Deve Çökerten Bitkisinin Yaprak ve Meyvesinden Dem-LF Sonrası N-Hekzan İle Çözülerek Elde Edilen Süzütüsünün Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
15,59	inosine	21,61
22,94	n-formylmorpholine	78,38

Çizelge 9. Karabaş Otunun Yaprak ve Çiçeklerinden Sbkse Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
7,98	Furanone	0,75
9,81	Fenchone	17,66
12,19	Camphor	34,09
12,77	Borneol	0,89
13,09	Linalool oxide	5,71
13,55	p-cymene-8-ol	0,65
14,12	cis-3-hexenyl phenylacetate	2,10
14,66	Verbenone	5,39
14,95	Carveol 1	0,75
15,36	neral	0,20
15,90	Carvone	0,47
19,26	α -campholenic acid	1,65
19,82	Vinylcyclohexane	1,57
20,75	Eugenic acid	1,12
22,45	6-methyl-5-hepten-2-one	2,45
23,48	α -campholenic aldehyde	4,02
26,37	Limonene oxide	0,83
29,89	Pyrocatechol, 3-methoxy	0,67
31,64	α -naginatene	0,27
32,13	Vanillylacetone	0,18
33,22	n-ethylisatin	2,07
33,66	isopulegol	0,63
34,86	Pyrrolidinocyclohexene	0,85
35,92	Aminosalicilic acid	0,89
36,74	carbamazepine	0,60
40,02	β -ionone	1,60
40,65	Cis- α -bisabolene epoxide	0,94
45,29	Tadeonal	0,52
46,01	Benzofuran	1,25
48,16	α -cedrene oxide	2,02
49,35	2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	0,90
51,42	Thiophene, 3-(2-phenylcyclopropyl)	1,55
54,52	4-isopropenyl-7-methyl-1-aspiro[2,5]octane	0,99
55,67	Caryophyllenol	0,70
57,33	Aromadendrene	1,14

Çizelge 10. Oğul Otunun Yapraklarının Sbkse Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
7,65	1,8-cineole	6,15
9,06	cresol	0,87
9,62	fenchone	0,58
11,77	Camphor	1,38
13,07	Terpinene-4-ol	0,94
13,64	α -terpineol	4,40
14,81	Trans carveol	3,15
15,84	carvone	2,52
17,00	citral	1,48
20,63	limonene	12,38
20,91	2-Propenylthiobenzene	4,72
21,29	1,2,3-trimethyl-5-pyrazolone	2,61
22,29	isogeraniol	2,52
22,73	p-Xylene, 2,6-dimethoxy	6,56
23,72	2-Hepten-4-one, 2-methyl-	5,45
24,21	3-Hexene, 3-methyl	1,57
26,13	hydroxy citronellal	3,44
29,40	spathulenol	1,84
30,09	Diethyl phthalate	0,53
31,58	Verbenol	0,58
31,93	Nerolidol	0,29
32,08	pulegone	0,46
32,71	Linalool oxide	1,09
33,78	Isospathulenol	2,47
34,95	2,5,6-trimethyl, 1,3,6-heptatriene	1,67
35,94	Isoaromadendrene epoxide	4,45
37,44	Loliolide	8,32
39,95	1-naphthalenamine, 4-bromo	3,42
40,79	Cumene, trimethyl	3,71
41,41	Caryophyllene oxide	2,06
45,12	Viridiflorol	0,51
45,86	Capnellane-8-one	1,96
51,36	Cis-limonene oxide	0,58

Çizelge 11. Deve Çökerten Bitkisinin Yaprak ve Meyvelerinin SbKSE Sonrası Diklorometan İle Alınan Ekstraktının Bileşenleri

RT (dakika)	Bileşenler	% dağılım
11,74	Camphor	2,90
15,32	Ethylmethyleimide	3,84
15,80	Carvone	3,11
16,96	Nonanoic acid	0,19
18,24	Carvacrol	2,40
18,70	p-Vinylguaiacol	1,68
20,56	p-Eugenol	2,99
22,19	VANILLINE	4,41
22,56	Methyleugenol	1,55
25,50	Veratral	0,38
25,72	Acetovanillone	0,85
27,42	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl	12,94
29,24	6-azathymine	7,81
29,71	Acetovanillone	0,57
31,39	Elemicine	0,53
31,56	4-fluoro-1,2-xylene	1,98
31,67	Acetophenone	0,31
31,84	3-Oxo- α -ionol	1,08
31,96	verbanone	0,98
32,40	Syringaldehyde	1,64
32,54	carvacrol	2,58
32,77	4-Oxo- α -ionone	0,73
33,43	β -Ionone epoxide	2,93
33,58	Hidroxy- β -ionone	3,25
35,41	Coniferol	7,88
36,89	Loliolide	23,82
38,01	Phenol, 4-methoxy-, acetate	3,22
38,65	Indole-3-aldehyde	1,60
47,66	Scopoletin	0,51

Tartışma

Bu çalışmada, karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinin ateroskleroz ve kalp rahatsızlıklarına karşı bir etkisinin olup olmadığını araştırmak amacı ile bu bitkilerin uçucu yağlarının bileşenleri GC-MS ile belirlendi.

Yaptıkları çalışmada farklı antioksidan testlerle karanfil ve karabaş otunun antioksidan özelliklerini değerlendirmişler ve güçlü antioksidan özelliklerinin bulunduğunu ve ayrıca lipit peroksidasyonunu engellediğini rapor etmişlerdir (Ivanova ve ark., 2005). Bu sonuçlar LDL'lerde oluşacak muhtemel peroksidasyonları da engelleyerek ateroskleroz oluşumunu azaltabileceği buna bağlı rahatsızlıklara karşı koruyucu etki gösterebileceğini desteklemektedir.

Karabaş otu ile yaptıkları fareler üzerindeki deneysel çalışmalarda spazm giderici "kas gevşetici" (Gilani ve ark., 2000). Bizim çalışmamızdaki Karabaş otunun SbKSE ile hazırlanan ekstraktının GC-MS analiz sonuçlarına göre; 36,74 dakika alıkonma zamanı ve % 0,60 göreceli bolluk ile geri kazanılan carbamazepine bileşenin bu çirpınmaları "kontROLSÜZ kasılmalar" gidermede etkin olabileceğini düşünmekteyiz.

Yaptıkları çalışmada oğul otundan elde ettikleri ana bileşeni % 59,8 göreceli bolluk ile citral olan uçucu yağ ile farelerden aldıkları ince bağırsak üzerinde yaptıkları deneyde; oluşturulan kasılmaları önemli oranda inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. (H.Sadraei ve ark., 2003). Bu çalışmanın sonuçları bize bu bitkilerin kontrolsüz kasılmaları inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

Deve çökerten bitkisinin sulu ve metanolik ekstraktları ile laboratuvar koşullarında uyutulan hipertansif fareler üzerinde yaptıkları deneylerde hipertansiyona karşı damar genişletici olarak anlamlı oranlarda tansiyon düşürücü etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir (Philips ve ark., 2005). Bu sonuçlar bize tansiyon düşürücü etkisinden dolayı kalp ve damar hastalıklarında deve çökerten bitkisinin kullanılmasına bilimsel kanıt olarak gösterilebilir.

Sonuçlar

Bizim çalışmamızda kullanılan metotların kıyaslamalarında SbKSE işlemlerinde uçucu yağ içeriği açısından daha fazla bileşen daha kısa sürede geri kazanılmıştır. SbKSE işlemi ile elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçlarının kıyaslamalarında oksijenli monoterpenlerin daha fazla geri kazanıldığı görülmektedir. Bu sonuçlar bize SbKSE işleminin oksijenli terpenlerin geri kazanılmasında daha uygun olduğunu ortaya koymaktadır.

Karabaş otunun uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde 17 bileşen ve en fazla % 62,74 göreceli bolluk miktarı ile *camphor*, Dem-LF işleminde 25 bileşen ve en fazla % 58,31 göreceli bolluk miktarı ile *camphor* üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 35 bileşen ve % 34,09 göreceli bolluk miktarı ile *camphor* elde edilmiştir.

Oğul otunun uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde 20 bileşen ve en fazla % 22,45 göreceli bolluk miktarı ile limonene, Dem-LF işleminde 6 bileşen ve en fazla % 50,96 göreceli bolluk miktarı ile borinic acid-diethyl üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 33 bileşen ve % 12,38 göreceli bolluk miktarı ile limonene elde edilmiştir. Literatürde *limonene* tümör gelişimini engelleyerek cilt kanseri riskini önemli ölçüde azaltabilen bir bileşen olarak verilmektedir.

Deve çökerten bitkisinin uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde uçucu yağ elde edilemedi. Dem-LF işleminde iki bileşen ve fazla olarak % 58,31 göreceli bolluk miktarı ile *n-formylmorpholine* üçüncü yöntem olarak ta SbKSE ile 29 bileşen ve % 19,38 göreceli bolluk miktarı ile *Loliolide* elde edilmiştir.

Bu çalışmada araştırılan bitkilerdeki bileşenler içerisinde Çeşitli farmakolojik etkilerinin olduğu bilinen bileşenlerde tespit edilmiştir. GC-MS analizlerine göre; Karabaş otunun HD işlemi ile elde edilen ekstraktında % 0,62 göreceli bolluk miktarı ile *verbenone*; antitrombosit "pıhtı önleyici" ve % 0,11 göreceli bolluk miktarı ile bulunan *caryophyllene*; anti-inflamatuvar "iltihap giderici" özellik göstermektedir.

Karabaş otu Dem-LF sonrası elde edilen ekstraktında % 0,12 göreceli bolluk miktarı ile bulunan *sobrerol*; expectorant "balgam söktürücü" özellik göstermektedir. Karabaş otunun SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında % 0,60 göreceli bolluk

miktarı ile bulunan *carbamazepine*; anticonvulsant (epileptik tedavilerde kullanılır.) "kontROLSÜZ kasılmaları giderici" ve % 0,52 göreceli bolluk miktarı ile bulunan *tadeonal*; anti fungal "mantar giderici" özellik göstermektedir. Son olarakta deve çökerten bitkisinin SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında % 4,41 göreceli bolluk miktarı ile bulunan *vanillin*; anticonvulsant "kontROLSÜZ kasılmaları giderici" özellik göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan; karabaş otu, oğul otu ve deve çökerten bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerinde esas olarak ateroskleroza önleyici olarak Karabaş otunun HD işlemi ile elde edilen *verbenone*'a, SbKSE ile elde edilen ekstraktında bulunan *carbamazepine* ve deve çökerten bitkisinin SbKSE sonrası elde edilen ekstraktında bulunan *vanillin*'e rastlanmıştır.

Öneriler

Kullanılan metotlar içerisinde subkritik su ekstraksiyonu işlemi 60 bar ve 100°C de gerçekleştirilmiştir. Farklı sıcaklık ve basınçlarda da incelemeler yapılabilir.

Kaynaklar

- ARTHUR, C., GUYTON, M.D., 1986, Tıbbi Fizyoloji, Merk Yayıncılık, 1189–1191
- AYALA, R.S., CASTRO, M.D., 2001, Continous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils, Food chemistry (75) 109-113.
- BAYKAL, Y., TÜZÜN, A. ve KOCABALKAN, F., 1998, Aterosklerozun Patogenezi, T Klin. Tıp Bilimleri (18), 360–368.
- BAYTOP, T., 1997, Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu. 88, 153, 217.
- CEYLAN, A., 1987, Tıbbi Bitkiler II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:481, s 1-22.
- GAZOLA, R., MACHADO, D. and RUGGIERO, C., 2004, Lippia alba, Melissa officinalis and Cymbopogon citratus: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats, Pharmacological Research, (50) 477–480.
- GILANI, A.H., AZIZ, N. and KHAN, M.A., 2000, Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of Lavandula stoechas L, Journal of Ethnopharmacology, (71) 161–167.
- HEPER, C., HEPER, Y., MOĞOL, E., 2000, Kardiyoloji, Melisa Matbaacılık, Alfa Basın Yayım, 183–249.
- IVANOVA, D., GEROVA, D., CHERVENKOV, T. and YANKOVA, T. 2005, Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, Journal of Ethnopharmacology (96) 145–150.
- SADRAEI, H., GHANNADI, A., and MALEKSHAHI, K., 2003, Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions, Fitoterapia (74) 445–452.
- PHILLIPS, O.A., MATHEW K T., and ORIOWO M A., 2005, Antihypertensive and vasodilator effects of methanolic and aqueous extracts of Tribulus terrestris in rats, Journal of Ethnopharmacology 5.