T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *SALVİA* (ADAÇAYI) TÜRLERİNİN BİYOLOJİK VE KİMYASAL YÖNDEN İNCELENMESİ

Hava BATIBAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Temmuz-2017

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Hava BATIBAY tarafından yapılan "Bazı *Salvia* (adaçayı) Türlerinin Biyolojik ve Kimyasal Yönden İncelenmesi" konulu bu çalışma , jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI

Üye : Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ

Üye : Doç. Dr. Abdulkadir LEVENT

Tez Savunma Sınavı Tarihi 17/07/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

17/07/2017

Doç.Dr.Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR V.

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve bütün çalışmalarım boyunca bilgi, tecrübe ve hoşgörüsüyle bana yol göstericilik yapan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI'na

Tez çalışmamın yürütülmesi aşamasında ihtiyacım olan her konuda yardımını ve desteğini esirgemeyip bana yol gösteren ikinci danışmanım Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Elif VARHAN ORAL'a

Tez çalışmamın ilk gününden son gününe kadar her aşamasında bilgi, tecrübe ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ'a

Tez hazırlık sürecinde hem bilgi ve tecrübesinden yararlandığım hem de yardımına ve desteğine ihtiyaç duyduğum her konuda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet BOĞA'ya

Tezimin LC-MS/MS çalışmalarının gerçekleşmesinde bilgi, tecrübe ve hoşgörüsüyle yardımcı olan Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ'a

Laboratuvar çalışmaları sırasında öğretici ve yardımcı olan arkadaşlarım Arş. Gör. Hilal SARUHAN FİDAN'a, Arş. Gör. Serkan YİĞİTKAN'a, Uzm. İsmail YENER'e, Evin AYGÜN'e ve Hatice ÇAKIRCA'ya

Son olarak maddi ve manevi destekleri ile yanımda olup, beni yalnız bırakmayıp her şeyi kolaylaştıran hayat ışığım dediğim başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: FEN.17.004).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR..... I

İÇİNDEKİLER..... II

ÖZET..... VI

ABSTRACT..... VII

ÇİZELGE LİSTESİ..... IIX

ŞEKİL LİSTESİ..... XI

EK LİSTESİ……..…….... XV

KISALTMA VE SİMGELER..... XX

1. GİRİŞ..... 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ..... 9

2.1. Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler..... 9

2.1.1. *Lamiaceae (Labiatae)* Familyasının Genel Özellikleri..... 9

2.1.2. *Salvia L.* Cinsi Hakkında Botanik Bilgiler..... 10

2.1.2.1. *Salvia macrochlamys* (Boiss. & Kotschy)..... 12

2.1.2.2. *Salvia suffruticosa (Montbret & Aucher ex Bentham)*..... 13

2.1.2.3. *Salvia blepharochlaena* (Hedge & Hub.-Mor)..... 14

2.1.2.4. *Salvia kronenburgii* (Rech. fil.)..... 16

2.1.2.5. *Salvia spinosa* (L.)..... 17

2.1.2.6. *Salvia sclarea* (L.)..... 18

2.1.2.7. *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham)..... 19

2.1.2.8. *Salvia pachystachys* (Trautv)..... 21

2.1.3. *Salvia* Türlerinin Halk Arasında Kullanışı..... 21

2.1.4. *Salvia* Türleriyle İlgili Yapılan Kimyasal Çalışmalar ve Biyolojik Aktiviteler …….. 23

2.2. Çalışmada Kullanılan Teknikler..... 29

2.2.1. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi)..... 29
2.2.2. HPLC Teknikleri..... 32
2.2.2.1. Bazı Önemli HPLC Kısımları ve Görevleri..... 34
2.2.2.2. HPLC ile beraber kullanılan dedektörler..... 35
- UV-visible temelli dedektörler (Ultraviolet/Visible dedector-UV/VIS)…… 36
2.2.2.3. HPLC Tekniğinin avantaj ve dezavantajları..... 37
2.2.3. Kemometri..... 37
2.4. Antioksidanlar..... 40
2.4.1. Antioksidanların Kullanım Alanları..... 42
2.4.2. Antioksidanların Sınıflandırılması..... 43
2.4.2.1. Birincil Antioksidanlar..... 43
2.4.2.2. İkincil Antioksidanlar..... 46
2.4.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri..... 47
2.4.3.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi..... 48
-DPPH Yönteminin Avantajları..... 49
-DPPH Yönteminin Dezavantajları..... 50
2.4.3.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Yöntemi..... 50
- CUPRAC Yönteminin Avantajları..... 51
2.4.3.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi..... 52
- ABTS Yöntemi Avantajları..... 52
- ABTS Yöntemi Dezavantajları..... 53
2.4.3.4. β-Karoten-Lineolik Asit Renk Açılım Yöntemi..... 53
2.4.3.5. Folin-Ciocalteau Yöntemi ile Toplam Fenolik Bileşik Tayini..... 53
2.5. Alzheimer Hastalığı ve Kolinestrazlar..... 53
2.6. Fenolik ve Flavonoid Bileşikler..... 56
2.6.1. Flavonoidler..... 58
2.6.1.1. Flavonoller 60
2.6.1.2. Flavonlar..... 61

2.6.1.3. Flavan-3-oller..... 61
2.6.1.4. Antosiyanidinler..... 63
2.6.1.5. Flavanonlar..... 63
2.6.1.6. İzoflavonlar..... 64
2.6.2. Fenolik asitler..... 64
2.6.2.1. Hidroksibenzoik asitler..... 65
2.6.2.2.. Hidroksisinnamik asitler..... 65
3. MATERYAL VE METOT..... 67
3.1. Bitki Materyali..... 67
3.2. Kullanılan Kimyasallar..... 67
3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Kimyasallar..... 67
3.2.2. Antialzheimer Aktivite Tayininde Kullanılan Kimyasallar..... 68
3.2.3. LC-MS/MS Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar..... 68
3.3. Kullanılan Cihazlar ve Diğer Gereçler..... 68
3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı..... 69
3.5. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi..... 70
3.5.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler..... 70
3.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler..... 70
3.5.3. Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi..... 71
3.5.4. Toplam Flavonoit Miktar Tayin Yöntemi..... 72
3.6. Antioksidan Testleri..... 72
3.6.1. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması 72
3.6.2. β–Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözeltiler..... 73
3.6.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler..... 73
3.6.4. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler..... 73
3.6.5. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler..... 73
3.6.6. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler..... 74
3.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri..... 75

3.7.1.	β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini)	75
3.7.2..	DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi.....	76
3. 7.3.	ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi.....	77
3.7.4.	CUPRAC Yöntemi.....	77
3.7.5.	Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi.....	78
3.7.5.1.	AChE Aktivite Testi.....	78
3.7.5.2.	BChE aktivite testi.....	79
3.7.6.	LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar.....	79
3.7.7.	Kemometrik Analiz……	80
3.7.7.1.	İstatiksel Method……..	80
4.	**BULGULAR VE TARTIŞMA**.....	81
4.1.	LC-MS/MS ile 37 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi.....	81
4.1.1.	LC-MS/MS ile Çalışılan *Salvia* Türlerindeki Fitokimyasalların Kantitatif .Analizi….	86
4.1.1.1.	Etanol Ekstrelerinin İncelenmesi.....	86
4.1.2.	LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları.....	90
4.2.	Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları.....	97
4.3.	Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	99
4.4..	Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları.....	105
4.5.	LC-MS/MS Sonuçlarının Kemometrik Analizi.....	108
5.	**SONUÇ VE ÖNERİLER**.....	113
6.	**KAYNAKLAR**.....	117
	EKLER.....	129
	ÖZGEÇMİŞ.....	159

ÖZET

BAZI *SALVİA* (ADAÇAYI) TÜRLERİNİN BİYOLOJİK VE KİMYASAL YÖNDEN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hava BATIBAY

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2017

Salvia türleri dünya üzerinde 220' ye yakın cins ve 4000' e yakın tür ile temsil edilen Lamiaceae familyasının üyeleridirler. Dünyada en çok Türkiye ve Akdeniz bölgesinde doğal yayılış göstermesine rağmen, hemen hemen tüm habitat türlerinde ve yüksekliklerde yetişebilen Lamiaceae familyasının dünyada yayılış göstermediği çok az bölge bulunmaktadır. Türkiye'de 46 cins ve bunlara ait 586 tür ile temsil edilmekte ve bu türlerin de yaklaşık 239 tanesi endemiktir. *Salvia* cinsi Türkiye'de 45'i endemik olmak üzere 89 tür ile temsil edilmektedir. Eski zamanlardan beri şifalı bitki olarak dünyanın birçok yerinde kullanılmaktadır. *Salvia* türleri, ağrıdan epilepsiye kadar özellikle soğuk algınlığı, bronşit, tüberküloz, kanama, menstrual bozukluklar karın ağrısı, baş ağrısı, hazımsızlık ve kalp rahatsızlıkları gibi atmıştan fazla hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca *Salvia* türlerinin kozmetik, gıda, boya ve ilaç sanayisinde de geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Bu çalışmada 8 farklı *Salvia* türünün (***Salvia staminea, Salvia macrochlamys, Salvia kronenburgii, Salvia pachystachys, Salvia spinosa, Salvia blepharochlaena, Salvia suffruticosa, Salvia sclarea***) çiçek, yaprak, dal ve kök kısımları ve bu kısımlardan karışımları oluşturulmuş ve daha sonra bu 8 türün 5 kısmının etanol ekstreleri hazırlanmıştır. Bu ekstrelerin toplam fenolik-flavonoit miktarlarının tespiti, *β*-karoten renk açılımı, DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve Cuprac yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve Ellman yöntemi ile antikolinesteraz aktivitelerinin tayini yapılmıştır. Ayrıca hazırlanan ekstrelerin, LC-MS/MS ile bazı fenolik ve flavonoid bileşiklerin miktarsal tayinleri ve sonuçların kemometrik değerlendirilmesi yapılmıştır.

Antioksidan yöntemlerde en aktif ekstrelere baktığımızda DPPH yönteminde SP-F ekstresi (IC_{50}: 22.52±0.11), ABTS yönteminde SB-R (IC_{50}: 5.40±0.67), β-karoten-linoleik asit yönteminde SSt-R (IC_{50}: 20.49±0.37) ve CUPRAC yönteminde ise SB-M ekstresi (3.291±0.31) olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler arasında toplam fenolik içerik bakımından SSp-R ekstresinin (283.43±18.83µg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) en zengin olduğu, flavonoid içerik bakımından ise SSf-M ekstresinin (53.81±0.39µg kersetine eşdeğer/mg ekstre) en zengin olduğu tespit edilmiştir. Türlerin antikolinesteraz aktivite sonuçlarına baktığımızda BChE' ye karşı en iyi aktiviteyi SSp-L ekstresinin (81.22± 1.67) gösterdiği belirlenmiştir. Ekstrelerin LC-MS/MS sonuçlarına baktığımızda ise tüm ekstrelerin fenolik bileşiklerce zengin olduğu belirlenmiş ve özellikle yüksek miktarda rozmarinik asit içerdikleri belirlenmiştir. Çalışılan türlerin zengin fenolik içeriğine ve yüksek antioksidan potansiyellerine bakıldığında tüm türlerin gıda koruyucu katkı maddesi olma potansiyellerinin olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *Salvia*, Antioksidan, Antikolinesteraz, LC-MS/MS, Kemometri

ABSTRACT

BIOLOGICAL AND CHEMICAL ANALYSE OF SOME *SALIVIA* (SAGE) SPECİES

POST GRADUATE THESIS

Hava BATIBAY

DİCLE UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2017

Salvia L. genus is member of Lamiaceae family which exists approximately 220 genus and 4000 species on the World. Althought it shows mpst natural distribution in Turkey and mediterranean region on the world, almost it can be grown in all habitat types and heights. Lamiaceae family is represented 46 genus and 586 species in Turkey and about 239 species of them are endemic. *Salvia L.* genus is represented about 89 species in Turkey and 45 species of them are endemic. Since ancient times, *Salvia* species have been used in folk medicine in many parts of world. *Salvia* species are used for treatment of more than sixty diseases such as, colds, bronchitis, tuberculosis, bleedingi menstrual disorders, stomachache, headache, indigestion and heart disorders. *Salvia* species are also widely used in the cosmetics, food, dye and pharmaceutical industries. İn this study different part of (flowers, leaves, branches, root ant mix of these parts) 8 different *Salvia* species (***Salvia staminea, Salvia macrochlamys, Salvia kronenburgii, Salvia pachystachys, Salvia spinosa, Salvia blepharochlaena, Salvia suffruticosa, Salvia sclarea*****)** were prepared and then ethanol extracts of these 5 parts of each species were prepared. The phenolic and flavonoid contents (determined as pyrocatechol and quercetin equivalents, respectively), antioxidant activity (DPPH free radical scavenging, β-carotene bleaching assay, CUPRAC methods, ABTS cation radical scavenging) and anticholinesterase activities by Ellman method of these extracts were determined. İn addition quantitative determination of some phenolic and flavonoid compounds by LC-MS/MS and chemometric evaluation of the result were performed.

When we look at the most active extracts in antioxidant methods, for DPPH SP-F (IC_{50}:22.52±0.11), for ABTS methods SB-R (IC_{50}: 5.40±0.67), for β-carotene method SSt-R (IC_{50}: 20.49±0.37) and CUPRAC method SB-M (3.291±0.31) extracts were the most active ectracts in the studied methods. İt was found that in total phenolic content SSp-R (283.43±18.83 µg pyrocatechol eqivalent/mg extract) and in total flavonoid content SSf-M extract (53.81±0.39 µg quercetin eqivalent /mg extract) was richest extracts in studied species. When we looked at the anticholinesterase activity results of the species, it was determined that SSp-L extract

(81.22±1.67) showed the best activity against BChE. When we look at the LC-MS/MS results of the extracts, it was determined that all the extracts were rich in phenolic compounds and it was determined that they contain especially high amount of rosmarinic acid. When we look at the rich phenolic contents and high antioxidant potantials of the species have the potantial to be food additives.

Keywords : *Salvia*, Antioxidan, Anticholinesterase, LC-MS/MS, Chemometri

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 2.1.	Bitkisel Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	57
Çizelge 3.1.	*Salvia* Türlerinin Herbaryum Kayıtları	67
Çizelge 3.2.	Elde Edilen Ekstrelerin % Verimleri	69
Çizelge 3.2.	Elde Edilen Ekstrelerin % Verimleri (devamı)	70
Çizelge 4.1.	Analitlerin Miktarının (µg analit/g ekstre) En Çok Bulunduğu Ekstreler	89
Çizelge 4.1.	Analitlerin Miktarının (µg analit/g ekstre) En Çok Bulunduğu Ekstreler (devamı)	90
Çizelge 4.2.	*Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS ile Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 1: Coumarin, 2: Hesperidin, 3: p-coumaric asit 4:Gallic asit, 5: Caffeic asit, 6: Vanilik asit, 7: Salicylic asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)	92
Çizelge 4.3.	*Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS ile Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. , 8: o-coumaric asit, 9: Quinic asit, 10:4-OH-Benzoic asit, 11: tr-Ferrulic asit, 12: Chlorogenic asit, 13: Rosmarinic asit, 14: Protocatechuic asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre*)*	93
Çizelge 4.4.	*Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS ile Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 15: Cinnamic asit, 16: Sinapinik asit, 17: Fumaric asit, 18: Vanilin, 19: Pyrocatechol, 20: Malic asit, 21: Syringic asit, 22: Hesperetin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)	94
Çizelge 4.5.	*Salvia* türlerinin etanol ekstrelerinin LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. 23: Naringenin, 24: Rutin, 25: Quercetin, 26: Quercitrin, 27: Apigenin, 28:Chrysin, 29: Liquiritigenin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)	95
Çizelge 4.6.	*Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS ile Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 30: Isoquercitrin, 31: cosmosiin, 32: Rhoifolin, 33: Nicotiflorin, 34: Fisetin, 35: Luteolin, 36: Myricetin, 37: Kamferol) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)	96
Çizelge 4.7.	Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerikleri	98
Çizelge 4.7.	Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerikleri (Devamı)	99
Çizelge 4.8.	Ekstrelerin B-Karoten, DPPH ve ABTS Yöntemlerine Göre	102

Antioksidan Aktiviteleri

Çizelge 4.8. Ekstrelerin β-Karoten, DPPH ve ABTS Yöntemlerine Göre Antioksidan Aktiviteleri (devamı) 103

Çizelge 4.9. Ekstrelerin CUPRAC Yöntemine Göre Antioksidan Aktiviteleri 104

Çizelge 4.9. Ekstrelerin CUPRAC Yöntemine Göre Antioksidan Aktiviteleri (devamı) 105

Çizelge 4.10. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları (a: 200 mg/ml; b: standart madde; AD: aktif değil) 107

Çizelge 4.10. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları (a: 200 mg/ml; b: standart madde; AD: aktif değil) (devamı) 108

Çizelge 4.11. *Salvia* Örneklerine Ait Temel Bileşenlerin Loading, Eigenvalue, Varyans ve Kümülatif Varyans Değerleri 108

Çizelge 4.11 *Salvia* Örneklerine Ait Temel Bileşenlerin Loading, Eigenvalue, Varyans ve Kümülatif Varyans Değerleri(devamı) 109

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 2.1.	*Salvia* Cinsinin Yaprak, Çiçek ve Stamen Tipleri: la, b grup A' nın tipik yaprak şekli. 2 f Grup B'nin yaprak şekli. 3 of Grup C' nin huni biçimli kaliksi. 4a, b huni biçimli olmayan kaliksler. 5 Grup D' nin göbekli korolla (s = squamula). 6a, b düz corolla. 7a, b tip A'nın stamenleri. 8a, b tip B' nin stamenleri. Tip C' nin 9 stamenleri (f = .filament; c = bağlayıcı; db = dolabriform steril doku.) (Aynı ölçeğe göre çizilmemiştir.) (Flora of Turkey, Davis 1982)	11
Şekil 2.2.	*Salvia macrochlamys* (Boiss. & Kotschy)	12
Şekil 2.3.	Yayıldığı İller HAKKARİ, MARDİN, SİİRT, BİTLİS, BİNGÖL, MUŞ, TUNCELİ, VAN	12
Şekil 2.4.	*Salvia macrochlamys* Korolla Yapısı	13
Şekil 2.5.	*Salvia suffruticosa* (Montbret & Aucher ex Bentham)	13
Şekil 2.6.	Yayıldığı iller BATMAN, ÇANKIRI, ANKARA, ELAZIĞ, KAYSERİ, KONYA, MALATYA, KAHRAMANMARAŞ, MUŞ, NİĞDE, ŞANLIURFA, VAN	13
Şekil 2.7.	*Salvia blepharochlaena* (Hedge & Hub.-Mor)	14
Şekil 2.8.	Yayıldığı iller KAYSERİ, KIRŞEHİR, NEVŞEHİR, SİVAS, KARAMAN	14
Şekil 2.9.	*Salvia blepharochleana*'nın Genel Görünümü ve Çiçek Kısımları: a.Bitkinin Genel Görünümü, b. Korolla, c. Kaliks (açık), d. Kaliks (kapalı), e. Stamenler, f. Pistil, g. Yaprak	15
Şekil 2.10.	*Salvia kronenburgii* (Rech. fil.)	16
Şekil 2.11.	Yayıldığı iller VAN	16
Şekil 2.12.	*Salvia spinosa* (L.)	17
Şekil 2.13.	Yayıldığı İller GAZİANTEP, MARDİN, ŞIRNAK, ŞANLIURFA	17
Şekil 2.14.	*Salvia sclarea* (L.)	18
Şekil 2.15.	Yayıldığı İller BOLU, GAZİANTEP, İSTANBUL, HAKKARİ, ANKARA, ANTALYA, ESKİŞEHİR, GÜMÜŞHANE, İÇEL, KAYSERİ, KOCAELİ, KÜTAHYA, KAHRAMANMARAŞ, MUĞLA, NİĞDE, SAMSUN, TRABZON, TUNCELİ, VAN	18

Şekil 2.16. *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham) 19

Şekil 2.17. Yayıldığı iller KARS, HAKKARİ, BATMAN, BİTLİS, AĞRI, ARTVİN, ERZİNCAN, VAN, ERZURUM, GÜMÜŞHANE, MUŞ, TUNCELİ 20

Şekil 2.18. *Salvia pachystachys* (Trautv) 21

Şekil 2.19. Yayıldığı İller IĞDIR, KARS, AĞRI, ARTVİN, ERZİNCAN, ERZURUM, GÜMÜŞHANE, VAN, BAYBURT 21

Şekil 2.20. a) Tekli Kuadrupol (LC-MS) b) Üçlü Kuadrupol (LC-MS/MS) Cihaz Şemaları 30

Şekil 2.21. Kemometrinin İlişkili Olduğu Disiplinler ve İlgi Alanları 38

Şekil 2.22. Hücredeki Antioksidan Savunma Sistemleri 41

Şekil 2.23. Yaygın Birincil Antioksidanlar 46

Şekil 2.24. İkincil Antioksidanlar 47

Şekil 2.25. Glutatyon 47

Şekil 2.26. $DPPH^{\bullet}$ Radikali ve Antioksidan (AO-H) Tarafından İndirgenmesi 49

Şekil 2.27. DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu 49

Şekil 2.28. CUPRAC Reaksiyonu ve Kromoforu: Bis(neokuproin) bakır(I) kelat katyonu (Reaksiyon sırasında açığa çıkan protonlar NH_4Ac tamponu tarafından nötralleştirilir) (Apak ve ark. 2004) 51

Şekil 2.29. ABTS Yöntemi 52

Şekil 2.30. Flavonoidlerin Benzopiran (A-C) ve Sinnamoil Halkası 58

Şekil 2.31. Majör Flavonoid İskeletleri 59

Şekil 2.32. Minör Flavonoid İskeletleri 60

Şekil 2.33. Flavonol Aglikonları: Kaempferol, Kersetin, İsorhamnetin, Myricetin 61

Şekil 2.34. Apigenin ve Luteolin Flavonları ile Polimetoksillenmiş Nobiletin Ve Tangeretin 62

Şekil 2.35. Flavan-3-Ol Molekül Yapılarından Bazıları 62

Şekil 2.36. Temel Yapı ve Genel Antosiyanidin Yapıları 63

Şekil 2.37. Pelargonidin ve Siyanidin Bileşikleri 63

Şekil 2.38. Bazı Yaygın Flavanon Aglikonları ve Glikozitleri 64

Şekil 2.39.	Önemli İzoflavonoidler Olan Daidzein, Genistein ve Kumestrol	64
Şekil 2.40.	Temel Yapı ve Genel Hidroksibenzoik Asit Yapıları	65
Şekil 2.41.	Doğada En Çok Bulunan Hidroksibenzoik Asitler	65
Şekil 2.42.	Temel Yapı ve Genel Hidroksisinnamik Asit Yapılar	66
Şekil 2.43.	Doğada En Çok Bulunan Hidroksisinnamik Asitler	66
Şekil 3.1.	Pirokatekolün Ölçü Grafiği	71
Şekil 3.2.	Kersetinin Ölçü Grafiği	72
Şekil 3.3.	Asetilkolinesteraz İnhibisyon Reaksiyonunun İşleyiş Mekanizması	78
Şekil 4.1.	Lc-Ms/Ms Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları	82
Şekil 4.1.	LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (Devam)	83
Şekil 4.1.	LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (Devam)	84
Şekil 4.1.	LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (Devam)	85
Şekil 4.2.	Kalibrasyon Noktası 6' nın Standart Kromatogramı	90
Şekil 4.3.	SM-L Ekstresinin Standart Kromatogramı	91
Şekil 4.4.	Three way PCA (PC1-2-3-) scores plot graphic of *Salvia samples* • *Salvia blepharochlaena,* ■ *Salvia krononburgei,* ♦ *Salvia macroclangys,*▲ *Salvia pachystachys,* ► *Salvia sclarea,* ◄ *Salvia spinosa,* ▼*Salvia steminea, + Salvia suffruticosa*	109
Şekil 4.5	*Salvia* Türlerine Ait PC1 ve PC2 Skor Grafiği • *Salvia steminea ,* ■ *Salvia krononburgei,* ♦ *Salvia suffruticosa,*▲ *Salvia pachystachys,* ►*Salvia sclarea,* ◄ *Salvia macroclangys,* ▼ *Salvia spinosa, + Salvia blepharochlaena*	110
Şekil 4.6.	*Salvia* Türlerine Ait PC1 ve PC2 Loading Grafiği	111
Şekil 4.7.	Euclidean Uzaklığı (distance) ve Ward Linkage Metodu ile Elde Edilen Dendogram Sonuçları	111

EK LİSTESİ

Ek No		Sayfa
Ek 1	*Salvia kronenburgii* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	129
Ek 2	*Salvia pachystachys* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	129
Ek 3	*Salvia blepharochlaena* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	129
Ek 4	*Salvia staminea* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	130
Ek 5	*Salvia suffruticosa* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	130
Ek 6	*Salvia sclarea* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	130
Ek7	*Salvia spinosa* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	131
Ek 8	*Salvia macrochlamys* Türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	131
Ek 9	*Salvia kronenburgii* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	131
Ek 10	*Salvia pachystachys* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	132
Ek 11	*Salvia blepharochlaena* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği	132

Ek 12 *Salvia staminea* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 132

Ek 13 *Salvia spinosa* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 133

Ek 14 *Salvia macrochlamys* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 133

Ek 15 *Salvia sclarea* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 133

Ek 16 *Salvia suffruticosa* Türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 134

Ek 17 *Salvia blepharochlaena* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 134

Ek 18 *Salvia sclarea* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 134

Ek 19 *Salvia kronenburgii* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 135

Ek 20 *Salvia suffruticosa* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 135

Ek 21 *Salvia pachystachys* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 135

Ek 22 *Salvia staminea* Türünün β-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği 136

Ek 23 *Salvia blepharochlaena* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 136

Ek 24 *Salvia sclarea* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 136

Ek 25 *Salvia pachystachys* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 137

Ek 26 *Salvia suffruticosa* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği kromatogramı 137

Ek 27 *Salvia macrochlamys* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 137

Ek 28 *Salvia staminea* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 138

Ek 29 Salvia kronenburgii Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 138

Ek 30 *Salvia spinosa* Türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği 138

Ek 31 SSt-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 139

Ek 32 SSt-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 139

Ek 33 SSt-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 139

Ek 34 SSt-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 140

Ek 35 SSt-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 140

Ek 36 SK-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 140

Ek 37 SK-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 141

Ek 38 SK-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 141

Ek 39 SK-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 141

Ek 40 SK-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 142

Ek 41 SSf-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 142

Ek 42 SSf-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 142

Ek 43 SSf-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 143

Ek 44 SSf-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 143

Ek 45 SSf-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 143

Ek 46 SP-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 144

Ek 47 SP-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 144

Ek 48 SP-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 144

Ek 49 SP-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 145

Ek 50 SP-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 145

Ek 51 SSc-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 145

Ek 52 SSc-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 146

Ek 53 SSc-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 146

Ek 54 SSc-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 146

Ek 55 SSc-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 147

Ek 56 SM-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 147

Ek 57 SM-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 147

Ek 58 SM-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 148

Ek 59 SM-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 148

Ek 60 SM-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 148

Ek 61 SSp-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 149

Ek 62 SSp-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 149

Ek 63 SSp-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 149

Ek 64 SSp-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 150

Ek 65 SSp-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 150

Ek 66 SB-M Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 150

Ek 67 SB-R Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 151

Ek 68 SB-S Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 151

Ek 69 SB-L Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 151

Ek 70 SB-F Ekstresinin LC-MS/MS Kromatogramı 152

Ek 71 PCA Biplot Grafiği (PC1 ve PC2 Loading ve Skor Grafiklerinin Birleştirilmiş Halidir 152

Ek 72. *Salvia* Örneklerine Ait Temel Bileşenlerin Skor Değerleri 153

Ek 72. *Salvia* Örneklerine Ait Temel Bileşenlerin Skor Değerleri(Devamı) 154

Ek 73. LC-MS/MS Analiz Metoduna Ait Analitik Parametreler (a) RT: Alıkonma zamanı, b) ana iyon(m/z): Standart bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) 155

Ek 73. LC-MS/MS Analiz Metoduna Ait Analitik Parametreler (a) RT: Alıkonma zamanı, b) ana iyon(m/z): Standart bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) (devamı) 156

Ek 73. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (a) RT: Alıkonma zamanı, b) ana iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) (devamı) 157

KISALTMA VE SİMGELER

µg	: Mikrogram
[M+H]+	: Moleküler iyonun pozitif hidrojen adduct'ı
[M+HCOO]-	: Moleküler iyonun negatif format adduct'ı
[M+NH4]+	: Moleküler iyonun pozitif amonyum adduct'ı
[M-H]-	: Moleküler iyonun negatif hidrojen adduct'ı
A.D.	: Aktif değil
ABTS	: 2,2 –azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit
AChE	: Asetilkolinesteraz
AcI	: Asetiltiyokolin iyodür
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: 2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen
BuI	: Bütiriltiyokolin iyodür
CUPRAC	: Cupric reducing antioxidant capacity
CLS	: En Küçük Kareler Yöntemi
DAD	: Diod-array dedektör
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ESI	: Elektrosprey iyonlaştırma
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FDA	: US Food and Drug Administration
FID	: Alev iyonlaştırma dedektörü
FT-ICR	: Fourier transform ion cyclotron resonance
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GSH	: Glutatyon
HCA	: Hiyerarşik Kümeleme Analizi
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC	: Sıvı kromatografisi

LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol kütle spektrometresi
m/z	: kütle/yük
M+	: Pozitif moleküler iyon
MeOH	: Metanol
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MRM	: Çoklu Reaksiyon Görüntüleme
MS	: Kütle spektrometresi
N.D.	: Gözlenemedi (Not Detected)
Nc	: Neokuproin
PCA	: Temel Bileşenler Analizi
PLS	: Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi
ppm	: parts per million
S.	: *Salvia*
SB	: *Salvia blepharochlaena*
SK	: *Salvia kronenburgii*
SM	: *Salvia macrochlamys*
SP	: *Salvia pachystachys*
SSc	: *Salvia sclarea*
SSf	: *Salvia suffruticosa*
SSp	: *Salvia spinosa*
SSt	: *Salvia staminea*
$R^{\bullet}$	: Radikal
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RT	: Alıkonma zamanı
SOD	: Süperoksit dismutaz
VANF	: Van Herbaryumu
UV	: Ultraviyole
α-Toc	: Alfa tokoferol
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar

1.GİRİŞ

Günümüzde güncelliğini koruyan bitkilerle tedavi (fitoterapi) eski çağlardan beri halk arasında uygulanmaktadır. İnsanlar, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yasayabilmek için onlardan yararlanmaktadır. Modern tıpta kullanılan pek çok ilaçta bitkilerden elde edilmektedir. 90 farklı bitkiden türetilen 119 ilaç, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerden izole edilen aktif bileşikler üzerine sürdürülen kimyasal çalışmalar sonucu keşfedilmiştir (Cragg ve Newman 2005). Bitkilerin tedavi edici etkilerinin hangi maddelerden ileri geldiğini belirlemek amacıyla yapılan araştırmalar hızla devam etmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan birçok bitkinin içerdiği sekonder metabolitlerin saflaştırılarak yapılarının aydınlatılması, bunların farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı ilaç etken maddeleri bulunmuştur. Sentetik ilaç etken maddelerine göre hem daha az yan etkiye sahip olduğu hem de maliyetinin daha az olduğu bilinen doğal kaynaklı maddeler daha çok tercih edilmektedir. Yaşam süresinin uzaması, halkın bilinçlenmesiyle sağlıklı beslenme gibi nedenler insanları bir dost gibi gördükleri doğaya yani bitkilere ya da bitkisel ürünlere her geçen gün biraz daha yöneltmektedir. Yapılan bir araştırma bunu açıkça göstermektedir. Çin'de geleneksel tıbbın, tüm sağlık hizmetlerinin yaklaşık %40' ını oluşturduğu, Şili'de nüfusun %71' inin ve Kolombiya' da nüfusun %40' ının benzer hekimlik yöntemlerini kullandığı bildirilmiştir. Hindistan' da kırsal alandaki nüfusun %65' i, temel sağlık hizmetleri ihtiyaçlarını karşılamak için geleneksel tıp yöntemlerini kullanmaktadır (Faydaoğlu 2011). Anadolu' da da eskiden beri halk arasında özellikle lokman hekim ve aktar denen kişiler aracılığı ile tedavi amacıyla bitkilere başvurduğu bilinmektedir.

Yapılan araştırmaların sonucu ülkemizin sahip olduğu bitki çeşitliliğini ve zenginliğini ortaya koymaktadır. Dünyada aşağı yukarı 20 000 çeşit bitki tıbbi amaçla kullanılmaktadır. Bunların da % 20' sinin bitkisel droglar halinde geniş bir kullanımı olduğu ortaya konmuştur. Avrupa'da ortalama 2 000 çeşit bitkisel drog ticareti yapılırken Türkiye'de bu sayı alt türler de dahil olmak üzere 350 civarı olup bunlarında ortalama %42-43' ünün dış satımı yapılabilmektedir. Ticareti yapılan türler genellikle floradan toplanmaktayken son yıllarda bu bitkilerin tarımına ilgi artmıştır (Yılmaz ve ark. 2010).

Flora of Turkey and The East Aegean Islands' a göre, Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ve 12 000' den fazla tür ve türaltı taksonuna sahiptir (Davis 1965-1985; Güner ve ark. 2000). Avrupanın 12 000 civarı bitki taksonuna sahip olduğu düşünüldüğünde yurdumuzun bitki örtüsü bakımından nedenli zengin olduğu görülmektedir (Ekim ve ark. 2000). Bu taksonların 234' ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir (Ekim ve ark. 1989; Erik ve Tarıkahya 2004).

Endemizm bakımından da yurdumuz oldukça zengindir. Avrupada toplam endemik takson sayısı yaklaşık 2750 iken ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891' dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt türü ve 390 varyeteyi dâhil ettiğimizde toplam endemik takson sayısı 3750' den fazladır (Güner ve ark. 2000). Ayrıca yurdumuz endemik tür oranı ve çeşitliliği açısından Orta Doğu' nun da en zengin florasına sahiptir. Yunanistan yaklaşık 1000 çeşit endemik bitki türüyle endemizm bakımından Avrupa' daki en zengin ülkedir. Bu farklılıklar göz önüne alındığında ülkemizin bitki türleri açısından ne kadar zengin ve ilginç bir ülke olduğu anlaşılmaktadır (Davis 1965-1985; Ekim ve ark. 2000).

Ülkemizde bitkisel zenginlik; üç fito-coğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezi olmasından kaynaklanmaktadır. Buna rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılamamaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Faydaoğlu 2011).

WHO, modern tıbba destek olacak şekilde, gelişmekte olan ülkelerin geleneksel tedavi yöntemlerinin kullanımının arttırılıp geliştirilmesi için "2001–2005 yılı Geleneksel Tıp Stratejileri" programı başlatmıştır (WHO 1998).

İnsan ömrünün uzamasıyla birlikte kronik hastalıkların artması (kanser, kalp-damar hastalıkları, Alzheimer, vb.) günümüzde antioksidanlara olan ilgiyi arttırmıştır. Bunun nedeni, antioksidan bakımından zengin gıdaların tüketilmesinin ve/veya doğal antioksidanların beslenme takviyesinde kullanılmalarının hücresel yaşlanmayı ve birçok kronik hastalığın oluşumunu geciktirdiğinin veya önlediğinin bilimsel olarak kanıtlanmış olmasıdır.

20. yüzyılın ortalarında, gıdaların ömrünü uzatmak için çalışan bilim insanları, antioksidanları besinlere eklediklerinde doymamış yağların parçalanması sonucu ortaya çıkan kötü koku ve tadın yani bozulmanın olmadığını gördüler. Bu gelişmeler olurken devam eden araştırmaların sonucunda, insanların günlük besinlerle aldıkları vitaminlerin bazılarının antioksidan olarak sınıflandırılabileceği anlaşıldı. Ve görüldü ki insanlar neredeyse 1000 yıldır tükettikleri bazı besinlerle antioksidan alıyorlar. Daha sonra antioksidanların insan sağlığına olan yararları, yaşam süresini uzatması ve yaşlanmayı yavaşlatması gibi etkileri araştırılmaya ve tartışılmaya başlandı (Antioksidan 2010).

Ne gariptir ki oksijen bir yandan enerji metabolizması yani solunum için olmazsa olmaz bir elementken diğer taraftan birçok hastalık ve dejeneratif koşulun sebebi olarak görülmektedir. Vücutta protein, yağ ve karbonhidratların oksijen ile tepkimeye girerek parçalanması ve ATP'nin üretilme işlemi sırasında; süperoksit; süperoksit (O^{-2}), hidroksil ($HO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), semiquinon ($Q^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) kökleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) ve singlet oksijen ($_1O_2$) gibi serbest radikal oluşmaktadır. Oksijen temelli moleküller olan serbest radikallerin tek kaynağı oksijen kullanılarak gerçekleşen metabolik tepkimeler değildir. Sigara, radyasyon, alkol, ağır metaller, çok yağlı besin tüketimi, herbisitler, pestisitler, çok fazla güneş ışığına maruz kalma, hava kirliliği, endüstriyel kimyasallar, tedavi amacıyla kullanılaan birçok ilaç vücutla etkileşerek serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir. Taşıdıkları tek elektron nedeniyle aşırı reaktif olan serbest radikaller vücudumuzda zincir reaksiyonlar başlatırlar ve başlattıkları zincir tepkimelerle de hücrelerin zarar görmesine neden olurlar. Yaşlanmanın doğal işleyişinde de serbest radikallerin verdiği hasar önemli rol oynamaktadır. Hatta kalp-damar hastalıkları, akciğer ve karaciğer rahatsızlıkları ve kanser gibi, yaklaşık 50 farklı hastalığın oluşmasında serbest radikallerin meydana getirdikleri zararın etkisi olduğu düşünülmektedir.

Aerobik yani oksijenli solunum yapan organizmalar gelişmiş antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Bu sistem sayesinde yapılarında eşleşmemiş bir elektron içeren serbest radikallerin oluşumunu kontrol altında tutuyor ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olup hücreyi hasarlardan ve hastalıklardan korumuş olur. Ancak bazen mevcut antioksidan savunma sisteminin serbest radikallerin etkisini

tamamen önleyemediği durumlar da olabiliyor ve o zaman serbest radikallerin artışı nedeniyle oksidatif stres ortaya çıkıyor. Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan aktif oksijen -antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozarak; DNA, protein, karbonhidrat ve lipidlerde hasara yol açmakta ve ardından erken yaşlanma, kanser, kalp ve damar hastalıkları gibi sorunlarla tanışıyoruz (Young ve Woodside 2001). İşte tam da bu noktada antioksidanlar imdadımıza yetişiyor. Antioksidanlar, otookside olabilir materyallerin oksidasyon başlangıcını geciktiren veya oksidasyon hızını azaltan maddelerdir (Nawar 1985).

Beynin oksidatif strese karşı savunmasız olması nedeniyle meydana gelen beyin hasarlarını tedavi etmek için antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavilerde kullanılabilecek antioksidan bileşimlerinin sinir hücrelerindeki oksidatif stresi önleyerek hücre ölümünün ve nörolojik hasarın önüne geçtikleri biliniyor. Antioksidanların Alzheimer, Parkinson, motor nöron hastalığı olarak bilinen ALS (Amiyotrofik Lateral Skleroz) ve gürültüye bağlı işitme kaybının tedavisi için kullanılmasına yönelik araştırmalar ise sürmektedir.

Doğal ya da sentetik birçok bileşiğin antioksidan özelliklere sahip oldugu bilinmektedir. Günümüzde endüstride gıda maddelerinin depolama süresini artırmak için çoğunlukla BHA, BHT ve PG gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak antioksidan olarak kullanılan kimyasalların olası toksisiteleri nedeniyle, son yıllarda ilgi doğal antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Vareltzis ve ark. 1997). Çünkü doğal antioksidanlar, insanların yüzlerce yıldır tükettikleri veya gıdalara karıştırdıkları katkılardır. Bu nedenle tüketiciler tarafından güvenilir olarak görülmektedirler (Bera ve ark. 2006).

Son çalışmalar bitkisel kaynaklı birçok maddeyi gıdalarda antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test etmektedir. Literatürde böyle doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdikleri ve bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bitkiler (yağlı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlarve çay), hayvansal ürünler (peptitler, amino asitler ve karotenoidler), enzimler (glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz) ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır (Hall 2001).

Alzheimer hastalığı ilk olarak 1907 yılında Alman hekim Alois Alzheimer tarafından klinik ve nöropatolojik özellikleri ile tanımlanmıştır (Alzheimer 1907-1911). Alzheimer merkezi sinir sisteminin bazı kısımlarında nöron ve sinaps kaybıyla ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, özbakım yetersizlikleri, nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar gibi belirtiler gösteren progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Gilman 1997, Lleó ve ark. 2006). İleri evre Alzheimer hastalığı için kötü bir ifade olan bunama kelimesi kullanılmaktadır.

Alzheimer demansı (Demans unutkanlıkla kendini gösteren birçok hastalığın genel adıdır.) gelişmiş ülkelerde en sık ölüme neden olan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer alır. Başlangıç yaşı genellikle 40-60 arasındadır. Kadınlar erkeklere oranla 2-3 misli daha fazla bu hastalığa yakalanırlar. Hastalık başlangıçtan itibaren 2-5 yıl içinde belirtilerde dalgalanma göstermeksizin belirgin şekilde ilerler.

Alzheimer hastalığı sinsice başlar ve ilerler. Hastanın yakınları ve sürekli hekimi hastalığın kesin başlangıcını ortaya koyamazlar.

Tüm dünyada yılda 4.6 milyon yeni Alzheimer hastalığı olgusu geliştiği tahmin edilmektedir (Ferri ve ark. 2005). Hastalığın görülme sıklığı yaşa bağlı olarak logaritmik biçimde artar (Katzman ve ark. 1991, Taneli ve ark. 1999). 60-65 yaş aralığında görülme sıklığı yaklaşık olarak %0.1 iken 85 ve üzeri yaşlarda bu sayı %47' ye kadar çıkabilmektedir (Evans ve ark. 1989). 2050 yılında dünya nüfusunun dörte birinden fazlasının 65 yaşın üzerinde olacağı tahmin edilmektedir (Olhansky ve ark. 1993).

Tüm dünyada ölüm hızı giderek azalmakta ve yaşlı nüfusun tüm nüfus içindeki payıda artmaktadır. Buda bize Alzheimer hastalarının sayısının artacağını ve tedavisinin sadece Türkiye için değil tüm dünya için önem kazanacağını gösterir. Türkiye'de Alzheimer hastalığından ölen yaşlı nüfus oranının ölüm nedeni istatistiklerine göre 2010 yılında % 2.7 iken bu oran 2014 yılında % 4' e yükselmiştir. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı cinsiyet bazında incelendiğinde, her iki cinsiyette de artış olduğu görülmektedir. Alzheimer hastalığından ölen yaşlıların oranı 2010 yılında erkeklerde %2.2 ve kadınlarda %3.3 iken bu oranlar 2014 yılında erkeklerde %3.2 ve kadınlarda %4.7' ye yükselmiştir (TÜİK). 1999 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada Türkiye' deki Alzheimer hastası sayısının 200000' in üzerinde olduğu tahmin edilmektedir

(Taneli ve ark. 1999). Verilen bu rakamlar gelecekte dünyada ve Türkiye' de yaşlı nüfusun ne kadar artacağını göstermekle beraber aynı zamanda buna paralel olarak Alzheimer hastalarının sayısının da önemli miktarda artacağını gösterir. Bu da gelecekte Alzheimer hastalığının önemli sağlık sorunlarının başında geleceğini göstermektedir

Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitorleri, nöroprotektif yöntemler, farmakolojik olmayan tedaviler, psikofarmakolojik ajanlar, genel sağlığı korumaya yönelik aktiviteler gibi tedavi yöntemleri var olmasına rağmen alzheimer hastalığının nedeni ve oluşumu net olarak açıklanamadığından kesin tedavisi yoktur (Cankurtaran 2002, Ulger 2005 ve Yavuz 2005). Asetilkolin (Ach) beyinin bellek ile ilgili bölgelerinde önemli bir nörotransmiterdir. Alzheimer hastalığında Ach azalması bellek bozukluğu ile koreledir. Alzheimer hastalığında temel sorun kolinerjik sistemdeki azalma ve glutamat toksisite artışı sonucunda nöron kaybı oluşmasıdır. Alzheimer hastalığında meydana gelen kolinerjik kaybın, depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerin hastalarda gözlenmesine neden olduğu belirtilmiştir (Grossberg GT. 2002). Kolinesteraz inhibitorleri ilekolinerjik sinapslardaki asetil kolin miktarları yükseltilerek kolinerjik etkinlik arttırılabilir. Kolinesteraz inhibitorleri, asetilkolinin intrasinaptik yıkılımını geciktirmekte ve etkisini uzatmaktadır. Kolinesteraz inhibitorlerinin etkinliği sağlam kolinerjik nöronların varlığına bağlıdır. Ancak bu nöron kaybını geri getirmez sadece hastanın yaşam kalitesinde ve hastalığın ilerlemesinde düzelme sağlayabilir (Jones 2003, Cummings 2004).

Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesi bir başka deyişle yazılım, matematik ve istatistiğin kimyaya uygulanmasıdır. Analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ektraksiyonunu veya gizli bilgilerin elde edilmesini sağlayan güçlü bir araçtır (Dinç 2009). Kemometrik yöntemlerin gelişmesiyle birlikte çok sayıda etken madde içeren ürünlerin miktarsal tayini hiçbir kimyasal ön ayırma işlemine ve grafik işlemine ihtiyaç duyulmadan hızlı, doğru ve hassas olarak yapılabilmektedir. Bu kemometrinin diğer yöntemlerden daha avantajlı olmasını ve kullanım alanının genişlemesini sağlamıştır (Dinç 2009).

Kemometrik uygulamalar elle veya basit hesap makineleriyle yapılamayacak kadar karmaşık hesaplamalar içerir. Bu hesaplamaları yapabilmek için genellikle

EXCEL, MATLAB, PANORAMA, MİNİTAB, XLSTAT, SOLO ve diğer paket programlar gibi bilgisayar programlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Dinç 2009).

Kemometrik yöntemlerin bu kadar ilgi görmesinin nedeni kimyada özellikle analitik kimyada karmaşık örneklerin analizini hızlı, doğru, kesin ve güvenilir sonuçlarla vermesine, esnek ve çok yönlü çözümler sunmasına bağlanabilir.

Farklı analitik sonuçları tek bir veri seti üzerinde hesaplar. Böylece birden çok analitin aynı anda ölçümüne olanak sağlar. Aynı zamanda karmaşık veri setlerini yorumlayabilme kapasitesiyle çoğu disiplinde uygulama alanı bulmuştur (Wold 1998).

Kütle spektrometresi (MS) tekniği yüksek seçiciliğe sahip olmasına rağmen tek başına analizi yapılacak maddeyi aynı numune matriksi içindeki diğer maddelerden ayırmada yetersiz kalmaktadır. Bu noktada maddeleri m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayırmak üzere MS sistemine ayırmaya yardımcı olan sıvı kromatografisi (LC) sistemi kombine edilip her iki sistemin ayırt edici özellikleri birleştirilerek Sıvı kromatografi/ Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) sistemi tasarlanmış ve kullanılmaya başlanmıştır (LGC 2015). LC-MS/MS (high-performance liquid chromatography coupled with tandem massspectrometry) tekniğinde moleküller önce yüksek basınclı sıvı kromatografisinde fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılır. Sonra ayrılan moleküller kütle detektörü ile analiz edilir. İyonlaşma odasında iyonlaştırılan ve birincil parçalanmaya uğratılan molekuller, birinci kuadrupol filtrede m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılır. Filtreden sadece tayini yapılacak iyon geçer. Filtreden geçen iyon moleküller collision gas (çarpışma gazı) adı verilen yüksek saflıkta, inert argon gazı ile parçalanmaya uğratılır. İkinci kuadrupol filtrede parçalanma sonucu oluşan iyonlar (daughter veya production) arasından seçilen ikincil iyon detektöre ulaşır ve bu iyon üzerinden teşhis ve miktar tayini yapılır.

Aynı kütle/yük (m/z) oranına sahip çok sayıda molekül olmasına rağmen doğada aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin bulunma olasılığı ancak 1/10000 dir. Bundan dolayı LC/MS/MS tekniği babalık testi kadar spesifik bir testtir. Aynı zamanda bu teknik ile çok küçük derişimlerde nicel analiz hem yüksek duyarlılıkta hem de yüksek kesinlikte yapılabilir ve elde edilen sonuçların doğrulanmasına da gerek yoktur. LC-MS/MS tekniği numunede bulunan bileşenlerin yapısını, miktarını ve molekül ağırlığını çok kısa bir sürede tayin edebilir. Küçük farmosötik bileşikler, proteinlerin

tayini, polar iyonik, termal kararsız ve uçucu olmayan bileşiklerin analizleri gibi çok yaygın bir alanda kullanılabilmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri

Lamiaceae familyasının dünya üzerinde 220' ye yakın cinsi ve 4000' e yakın türü mevcuttur (Hedge 1992). Dünyada en çok Türkiye ve Akdeniz bölgesinde doğal yayılış göstermesine rağmen, hemen hemen tüm habitat türlerinde ve yüksekliklerde yetişebilen Lamiaceae familyasının dünyada yayılış göstermediği çok az bölge bulunmaktadır (Watson ve Dallwitz 1978, Heywood 1996).

Türkiye'de 46 cins ve bunlara ait 586 tür ile temsil edilmekte ve bu türlerin de yaklaşık 239 tanesi endemiktir. Lamiaceae familyası Türkiye'nin üçüncü en zengin familyası olup ülkemizdeki endemizm oranı % 45-47'dir (Güner ve ark. 2012). Familyadaki türlerin birçoğunun özellikle tıbbi özelliklerinden dolayı kültürü yapılmaktadır.

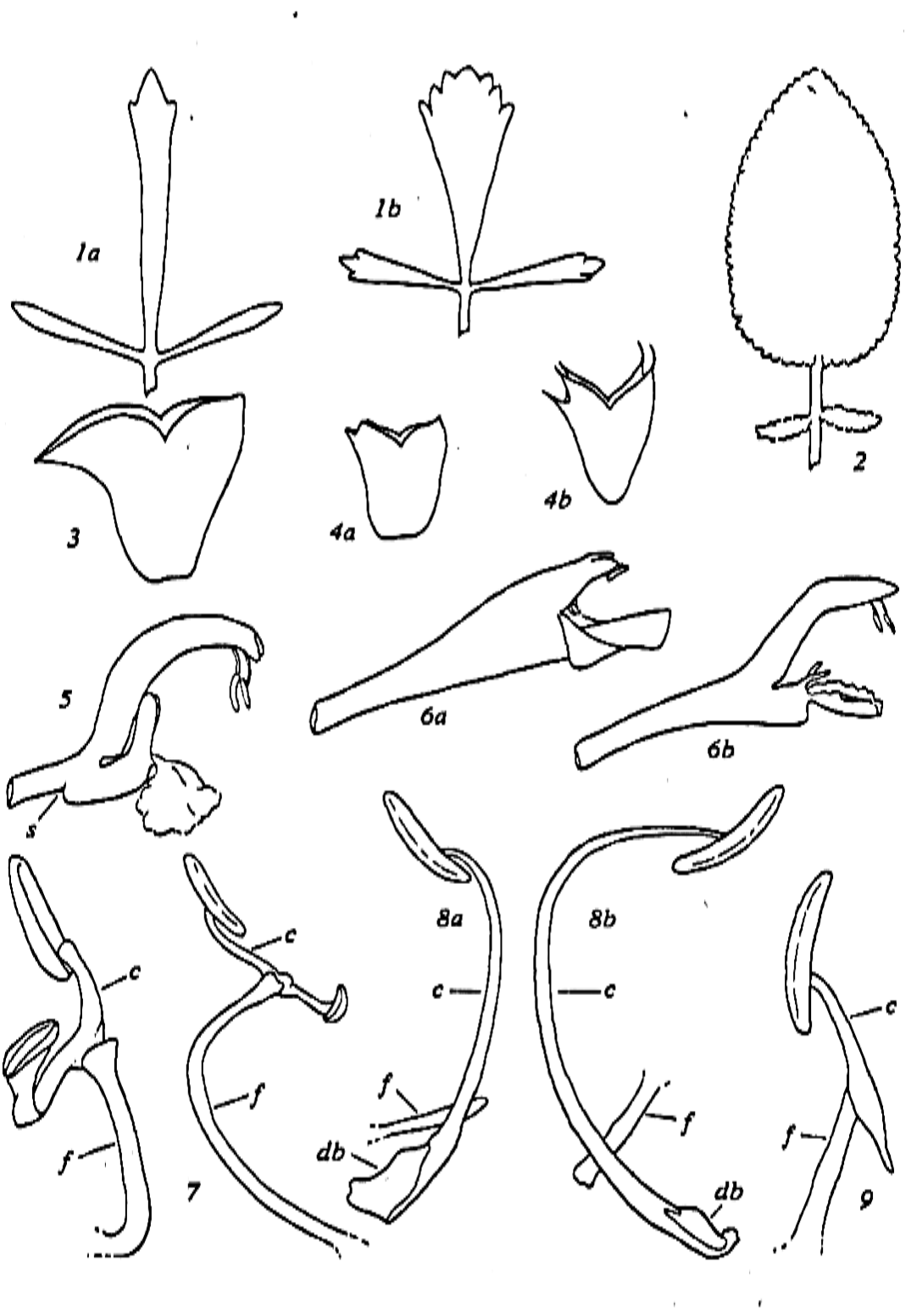
Lamiaceae familyası Ballıbabagiller olarakta bilinirler. Otsu, çalımsı ya da yarı çalımsı olabilirler. Çoğunlukla glandular ve aromatik bitkilerdir. Genellikle gövde 4 köşelidir. Yapraklar stipulası, tam, bazen parçalı, daima karşılıklı bulunurlar. Çiçeklenme ilk olarak braktelerin veya üstteki yaprakların koltuğundan çıkan kimozlar halindedir. Genelde yalancı çevrel çiçek durumu olan vertisillastrum şeklinde büzülür. Sonradan spika, kapitulum, rasemoz (salkım), başak veya kimoz şeklindedir. Çiçekler genellikle hermafrodittir. Brakteler yapraklardan tamamen farklı ya da "floral yaprak" olarak ifade edileceği zaman onların benzeridir. Genellikle brakteoller bulunur. Kaliks sıklıkla üstte 3 diş, altta 2 diş olmak üzere toplam 5 lobludur. Nadiren loblar veya dişler 1' e 1, 1' e 4 parçalı ya da kaliks aktinomorftur. Kaliks 5-20 damarlı olup, türlerin ayırımında damarların sayısı ve bağlantıları kullanılabilir. Korolla gamopetal, zigomorf ve 2 dudaklı, üst dudak genellikle belirgin olmayan 2 loplu, loplar düz veya konkav şekilde, alt dudak 3 loplu; nadiren üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loplu olabilir veya üstte 1 ve altta 4 lob olabilir ya da korolla aktinomorftur. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 loplu, 4 ovullüdür. Stilus genellikle ginobazik, bazen hafifçe üstten ikiye yarılmıştır. Meyve 4 (nadiren daha az) kuru nutlet şeklindedir. Çok nadiren meyveler

etli de olabilir. Islatıldığında müsilajlı yapıya sahip olabilirler. Müsilajlı nutlet yapısına sahip cinslerden biri de *Salvia* L.' dir.

Bu familya, Türkiye ve Akdeniz coğrafyasında doğal olarak yetişmekle birlikte, dünyanın birçok yerinde kültürü yapılmaktadır (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.2. *Salvia* L. Cinsi Hakkında Botanik Bilgiler

Salvia kelime olarak ''korumak'' anlamına gelen latince "salvere" kelimesinden gelmektedir **(**Grieve 1984). *Salvia* cinsi Türkiye'de 45'i endemik olmak üzere 89 tür ile temsil edilmektedir (Demirci ve ark. 2002). Eski zamanlardan beri şifalı bitki olarak dünyanın birçok yerinde kullanılmaktadır. Otsu, sürünücü ya da çalımsı, çok yıllık, nadiren iki yıllık veya tek yıllık, güçlü aromatik bitkilerdir. Gövde dik veya sürünücü, genellikle salgı tüyleriyle kaplı veya tüysüzdür. Yapraklar tam, lirat veya pinnatisekttir (tüysü derin parçalı). Çiçeklenme çeşitli şekilde düzenlenmiş kimozlardır. Vertisillatrum (1-) 2-10 (-40) çiçekli, çok sık veya gevşek aralıklı. Kaliks çansı, huni ya da boru şeklinde çift dudaklı (üst dudak üç dişli, alt dudak çift dişli)'dır. Korollalar beyaz, sarı, pembe, mavi veya menekşe renkli, çift dudaklıdır. Üst dudak düzden oraksıya; alt dudak orta lobu geniş konkav ve 2 küçük yan lob olmak üzere üç lobludur. Tüp düz veya kıvrık, içe doğru bükülmüş ya da göbekli, halkalı. Stame 2 adet. Stamen tip A; fertil tekanın üst ucunda kısa bir ipçik ve biraz daha uzamış konnektif yatak, alt ucunda ya daha küçük fertile veya subfertil teka ya da çeşitli şekillerde verimsiz dokudur. Stamen tip B; stamenler çoğunlukla konnektif ve ipçiğin kesişmesiyle eklemlidir. Stamen tip C; Staminodlar (arka stamen çifti, verimsiz stamenler) bulunur ve küçüktürler. Stilus 2 loblu. Nutletler tüysüz, yumurtamsı, üçgensi veya hafif orbikular, ıslatıldığında müsilajlıdır. Cinsin ana merkezi Anadolu Asya; 86 türün %50' si endemiktir. Hibritler yakın olmayan türler arasında sıklıkla görülür ve genelde verimli tohumlar üretirler (Flora of Turkey, Davis 1982).



Şekil 2.1. *Salvia* Cinsinin Yaprak, Çiçek Ve Stamen Tipleri: la, b grup A' nın tipik yaprak şekli. 2 f Grup B'nin yaprak şekli. 3 of Grup C' nin huni biçimli kaliksi. 4a, b huni biçimli olmayan kaliksler. 5 Grup D' nin göbekli korolla (s = squamula). 6a, b düz corolla. 7a, b tip A'nın stamenleri. 8a, b tip B' nin stamenleri. Tip C' nin 9 stamenleri (f = .filament; c = bağlayıcı; db = dolabriform steril doku.) (Aynı ölçeğe göre çizilmemiştir.) (Flora of Turkey, Davis 1982)

2.1.2.1. *Salvia macrochlamys* (Boiss. & Kotschy)

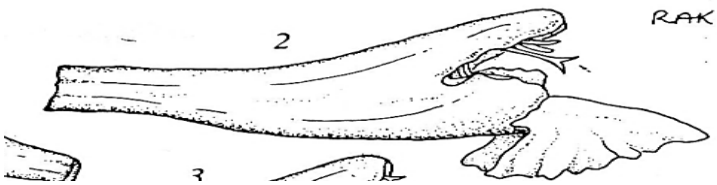


Şekil 2.2. *Salvia macrochlamys* **(**Boiss. & Kotschy) (Fırat 2013)



Şekil 2.3. Yayıldığı İller HAKKARİ, MARDİN, SİİRT, BİTLİS, BİNGÖL, MUŞ, TUNCELİ, VAN (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8040)

Arıotu olarakta bilinir. Çok yıllık otsu bitkilerdir. Gövde çoğunlukla 30-50 cm, yatay, üst kısımlarda dallanmış, yapraklı, yoğun vilöz salgı tüylüdür. Yapraklar basit, yumurtamsıdan eliptiğe kadar 4-7x2-4 cm boyutlarında, kordat veya yuvarlak, yaprak kenarları krenat (küt) ile serrate (tırtıklı), yaprak yüzeyi pilöz salgı tüylü ve birkaç sapsız salgı tüylü; yaprak sapı 2-4 cm' dir. Çiçek durumu genellikle kısa panikula.Vertisilatrum iki çiçekli sık. Brakteler yeşilimsi beyaz, çiçeklerin tabanında, ovattan oblonga kadar, 30-40x15-20 mm, zarımsı, belirgin damarlı. Kaliks tüpsü-ovat, yaklaşık 20 mm, vilöz salgı tüylü; üst dudak 3 dişli, akuminat. Korolla pembe veya beyaz renkli, alt dudak benekli veya tamamen mor, ortalama 35 mm; tüp, üstte genişleyen şekilde halkalı; üst dudak genellikle düz trunkat.



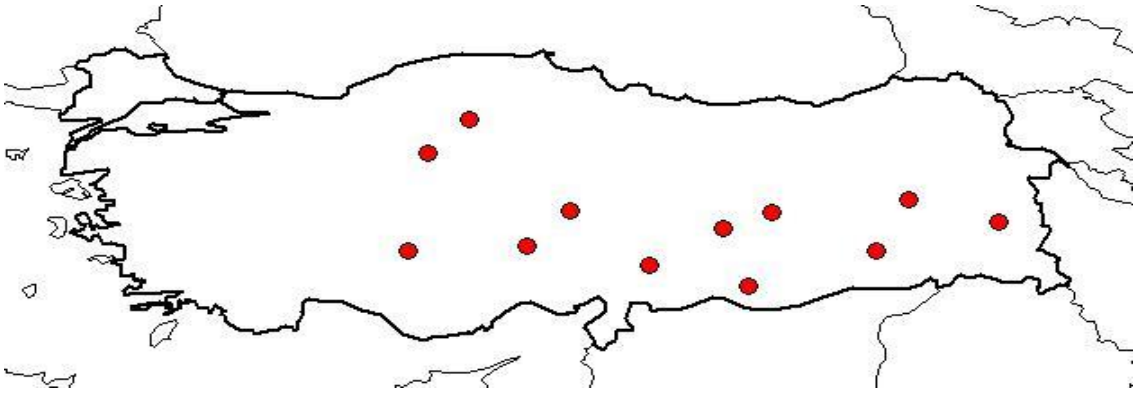
Şekil 2.4. *Salvia macrochlamys* Korolla Yapısı (Flora of Turkey, Davis 1982)

Stamen tipi A. Nutletler yuvarlatılmış üç köşeli, ortalama 5x4 mm. Çiçeklenme Haziran-Ağustos, yetişme ortamı kayalık kireçtaşı yamaçlar, açık yamaçlardaki Quarcus çalılarında, 900-2300m. Endemik bir tür değildir. Türkiye' de Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılış göstermiştir (Hakkari, Mardin, Siirt, Bitlis, Bingöl, Muş, Tunceli, Van.) (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.2.2. *Salvia suffruticosa* (Montbret & Aucher ex Bentham)



Şekil 2.5. *Salvia suffruticosa* (Montbret & Aucher ex Bentham) (Fırat 2013)



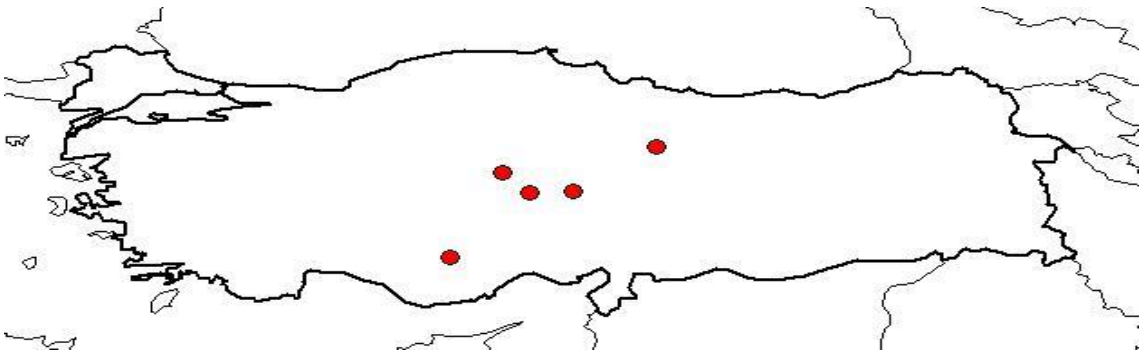
Şekil 2.6. Yayıldığı İller BATMAN, ÇANKIRI, ANKARA, ELAZIĞ, KAYSERİ, KONYA, MALATYA, KAHRAMANMARAŞ, MUŞ, NİĞDE, ŞANLIURFA, VAN (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8063)

Çayotu olarak bilinir. Çok yıllık otsu bitkiler, tabanda biraz suffruticose. Gövdeler çoğunlukla yükselen, 30-60 cm, üst kısımlarda dallanmış, genellikle sarımsı-yeşil, çoğu zaman tüysüz. Yapraklar pinnatisekt, parçalı, ovat, uç kısmı mızraksı; 2.5-5.5x0.5-2 cm, 2-3(-4) çift daha küçük yan segmentler taşır, yaprak damarlarının üstü piloz tüylü, 2-3(-4) çift daha küçük yan segmentlidir. Bazı pilöz damarlar, sapsız, salgı tüylüdür. Yaprak kenarları, serrulattan serrate; yaprak sapı 1-3 cm. Vertisilatrum geniş aralıklı, 2-8(-10) çiçekli. Brakteler 8-17x4-8 mm, birleşik ovat; brakteoller mevcuttur. Çiçek sapı 3-8 mm. Kaliks çan şeklinde, 10-12 mm, meyvede aşağı yukarı 1 mm'ye genişler, Korolla sulfur sarısı veya lila renginde, 22-25(-28) mm; tüp ortalama 15 mm, halkalı; üst dudak düz. Stamenenler A. Nutletler yuvarlağımsı üç köşeli, oval, 4.5x3.5 mm. 300-2000 m yüksekliklerde bozkır kıyılarında, nadas alanlarında, bağlarda, uçurumlarda yığılmışlardır. Çiçeklenme zamanı Nisan-Haziran aylarıdır, endemik değildir (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.2.3. *Salvia blepharochlaena* (Hedge & Hub.-Mor)

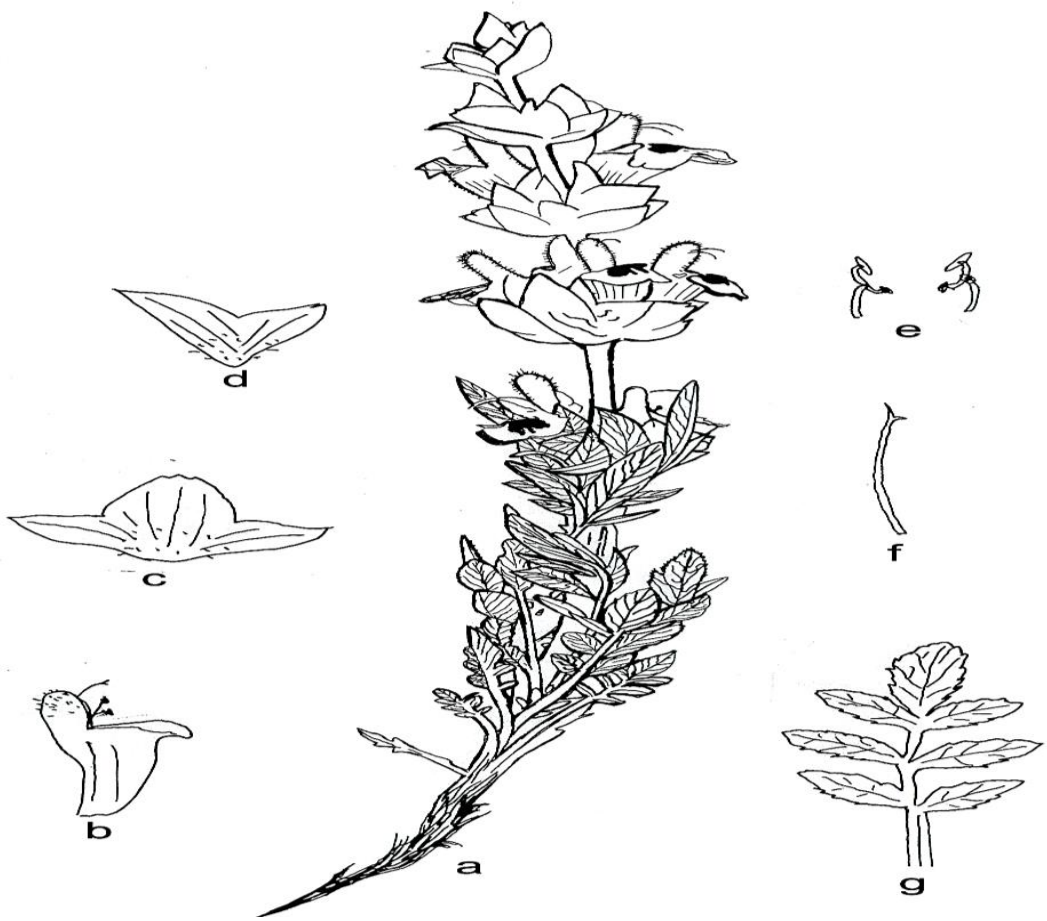


Şekil 2.7. *Salvia blepharochlaena* (Hedge & Hub.-Mor) (Fırat 2013)



Şekil 2.8. Yayıldığı İller KAYSERİ, KIRŞEHİR, NEVŞEHİR, SİVAS, KARAMAN (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8068)

Çok yılık bitki, tabanda odunsu. Gövde, yükselen-dik, 10-30 cm, yoğun vilöz salgı tüylü, tabanda sap kalıntılarıyla örtülü. Yapraklar çoğunlukla tabanda, 3-5 çift yan parçalı, pinnatisekt, oblong (dikdörtgenimsi), vilöz salgı tüylü. Lateral segment oblong-eliptik, serrattan serrulata, 10-12x4-5 mm sapsız, yaprak sapı 25 mm.Vertisilatrum aralıklı (-2)4-6 çiçekli. Orta kısımdaki vertisalstrumların brakteleri genişçe oval, yaklaşık 3x2 cm, kordat. Çiçek sapları 0-1 cm' dir. Kaliks geniş huni biçimli, 20-24 mm, yeşil veya morumsu renkli, meyvede yaklaşık 26x25 mm, farklı dudaklı yoğun vilöz salgı tüylü; üst dudak tam ya da belirsiz 3 dişli. Korolla, beyaz, üst dudak açık sarı ve labelyum mor damarlı, 40-50 mm, tüp 30 mm, geniş, halkalıdır. Stamen A. Nutletler yuvarlatılmış üç köşeli, genişçe obovat, yaklaşık 4.5 x 3.5 mm. Kalker ve eğimli yamaçlarda 1000-1620 metrelerde yetişirler. Çiçeklenme zamanı Haziran-Temmuz aylarıdır. Endemik bir türdür (Flora of Turkey, Davis 1982).

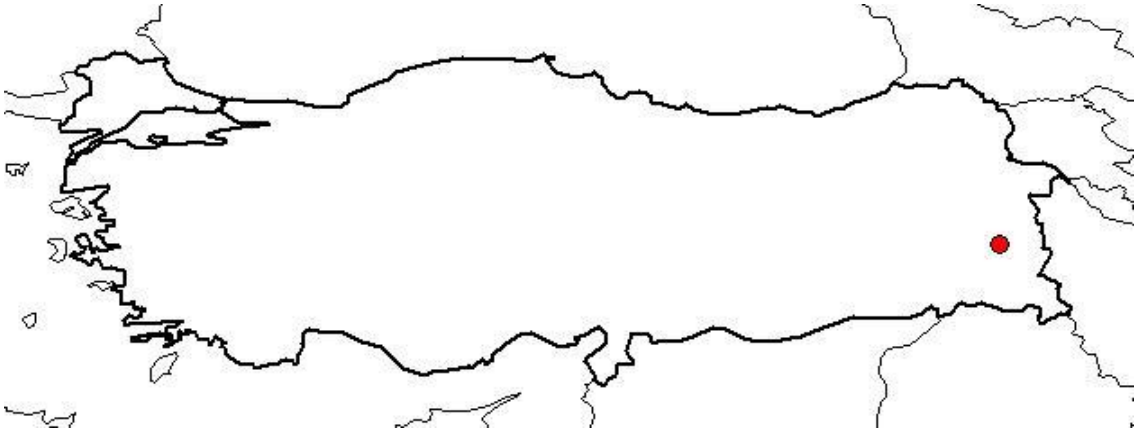


Şekil 2.9. *Salvia blepharochleana*'nın Genel Görünümü ve Çiçek Kısımları: a.Bitkinin Genel Görünümü, b. Korolla, c. Kaliks (açık), d. Kaliks(kapalı), e. Stamenler, f. Pistil, g. Yaprak

2.1.2.4. *Salvia kronenburgii* (Rech. fil.)



Şekil 2.10. *Salvia kronenburgii* (Rech. fil.) (Fırat 2013)



Şekil 2.11. Yayıldığı İller VAN (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8073)

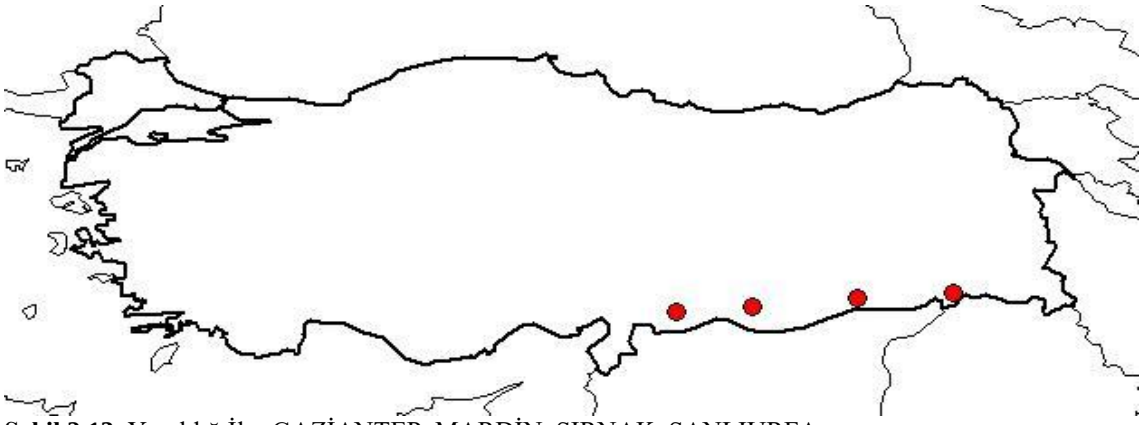
Kümelenmiş, odunsu bir türdür. Gövde yükselici-dik, 30-45 cm, alt kısımları seyrek lanat (yünsü), üst kısımları sarkık ve tüysüz. Yapraklar tam, ovat-oblong ile oblong, 4-8 x 2-3 cm, nadiren bir çift bazal lateral loblu, kordat veya yuvarlağımsı, altta ve üstte pilöz tüylü, ruguloz, yaprak kenarları krenulat; yaprak sapı 1.5-3.5 cm'dir. Versitilatrum aralıklı, 4-9 çiçeklidir. Üst kısımdaki vertisilatrumların brakteleri geniş ovat, 15-25 x 17-18 mm, soluk yeşil, en alttaki yaprak benzeri. Yaprak sapları 4-10 mm, dik-yatık duruşlu. Kaliks soluk yeşil, genişçe çan şeklinde, meyvede zarımsı ve genişleyen, aşağı yukarı 20 mm, tüysüz, alt dudak neredeyse bölünmemiş durumdadır. Korolla beyaz, 30-50 mm; tüp altta düz, üstte yukarı doğru kıvrık ve genişleyen, halkalı; üst dudak genellikle düz, geniş. Stamen A. Nutletler yuvarlatılmış üç köşeli, yaklaşık 4.5x3.5 mm. 1850-2500 metre yüksekliklerde, şist tepeler, volkanik kayaçların kuzey

yamaçlarında yetişir. Türkiye' de genelde Van ve çevresinde bulunur (Hoşap, Ahçanaz, Erçek). Çiçeklenme zamanı Haziran-Temmuz aylarıdır. Endemik bir türdür (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.2.5. *Salvia spinosa* (L.)



Şekil 2.12. *Salvia spinosa* (L.) (Fırat 2013)



Şekil 2.13. Yayıldığıİler GAZİANTEP, MARDİN, ŞIRNAK, ŞANLIURFA (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8082)

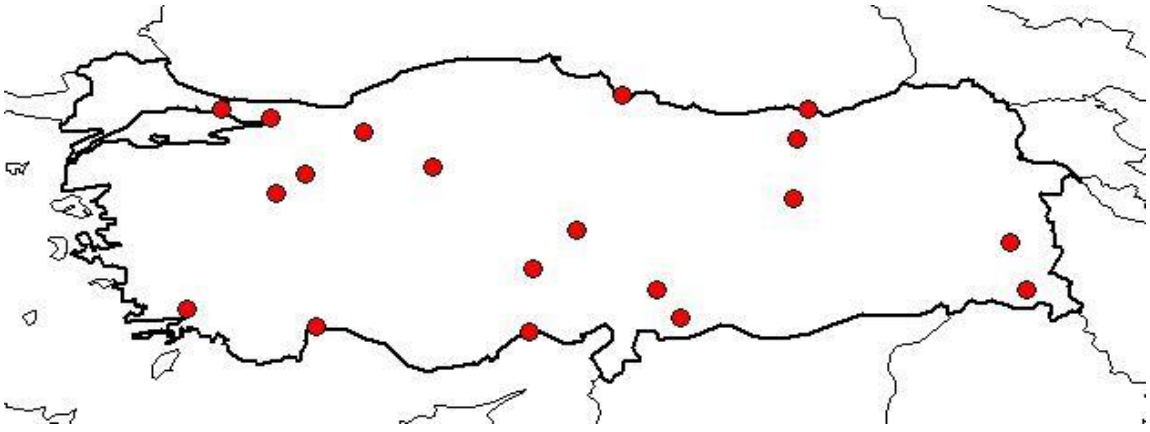
Çok yıllık bir türdür. Gövde tek, dik, dörtgen (quadrangular), 30-50 cm, yukarı kısımlarda dallanmış, alt kısmı pilöz ve vilöz salgı tüylü, üst kısmı yoğun salgı tüylüdür. Yapraklar tam, ince dokulu, geniş, ovattan ovat-oblonga, yaklaşık 8-12x4.5-8 cm yünlü, kordat ve yuvarlak, bütün ve pürüzlü; yaprak sapı 3-11 cm'dir. Çiçek durumu panikulat; vertisilatrum aralıklı, 2-6 çiçekli. Brakteler geniş ovat, akuminat, ortalama 20x16 mm. Yaprak sapı yaklaşık 3 mm, dik-yatık duruşlu. Kaliks tüp şeklinde, yaklaşık 20 mm, yeşilimsi-sarı, meyvede ortalama 22 mm' ye hafifçe sertleşip genişler, salgı

tüylü; üst dudak eşit 3 dişli, meyvede iğnelidir. Korolla beyaz, ortalama 24 mm; tüp düz, yaklaşık 17 mm, üstte hafifçe genişleyen, içi tüysüz; üst dudak oraksı. Stamen B. Nutletler genellikle küresel, yuvarlak üç köşeli, yaklaşık 3x2.7 mm . Bozuk bozkır alanlarında, nadas alanlarında, bağlarda 300-900 m yüksekliklerde yetişir. Çiçeklenmesi Mayıs-Haziran aylarıdır. Türkiye'de özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da yetişir (Gaziantep Nizip, Birecik; Şanlıurfa Akçakale, Mardin Kızıltepe, Cizre). Endemik bir tür değildir (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.2.6. *Salvia sclarea* (L.)



Şekil 2.14. *Salvia sclarea* (L.) (Fırat 2013)



Şekil 2.15. Yayıldığı İller BOLU, GAZİANTEP, İSTANBUL, HAKKARİ, ANKARA, ANTALYA, ESKİŞEHİR, GÜMÜŞHANE, İÇEL, KAYSERİ, KOCAELİ, KÜTAHYA, KAHRAMANMARAŞ, MUĞLA, NİĞDE, SAMSUN, TRABZON, TUNCELİ, VAN (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8086)

Salvia sclarea dağ çayı, misk adaçayı, ayıkulağı ve tüylü adaçayı olarakta bilinir. İki yıllık veya kısa ömürlü çok yıllık bir türdür. Gövdenin üst kısmı salgı tüylü, alt kısmı batıcı tüylü, çoğunlukla üst kısımlarda 1 metrelik oldukça kalın dörtgen köşeli. Yapraklar tam, geniş, ovattan ovat-oblonga, yaklaşık 8-14x5-10 cm, kordat, tüylü, yaprak kenarları krenat-pürüzlü; yaprak sapı 3-9 cm'dir. Çiçek durumu panikulat, çok çiçekli; vertisilatrum aralıklı, 2-6 çiçekli. Brakteler genellikle çiçeklerle örtülü, pembe ile leylak renginde, zarımsı, ovat, akuminat, 15-35x10-25 mm. Yaprak sapı 2-3 mm, dik-yatık duruşlu. Kaliks ovat-çansı, yaklaşık 10 mm, meyvede 13 mm'ye uzamış, scabrid, sapsız salgı tüylü; üst dudak 3 dişli, mukronat. Korolla 20-30 mm, krem rengi alt dudaklı ve lila rengi üst dudaklı; tüpler belirgin göbekli; üst dudak oraksı. Stamen B. Nutletler yuvarlak, üç köşeli, 3x2 mm. Çiçeklenme zamanı Mayıs-Ağustos aylarıdır. Kayalık volkanik tepelerde, karışık, yaprak döken ve iğne yapraklı ormanlık alanlarda, otlak, tarla ve yol kenarlarında, deniz seviyesi-2000 m yüksekliklerde yetişir. Batı Anadolu hariç Anadolunun hemen heryerinde doğal olarak yetişir (İstanbul: Çatalca, Kocaeli: Gebze ve İzmit, Bolu: Tataava ve Abant, Ankara: Kızılcahamam ve Gerede, Trabzon: Kalanema ve Akçaabat, Gümüşhane, Erzurum, Bayburt, Kütahya, Hakkari, Gaziantep…) Endemik bir tür değildir (Flora of Turkey, Davis 1982).

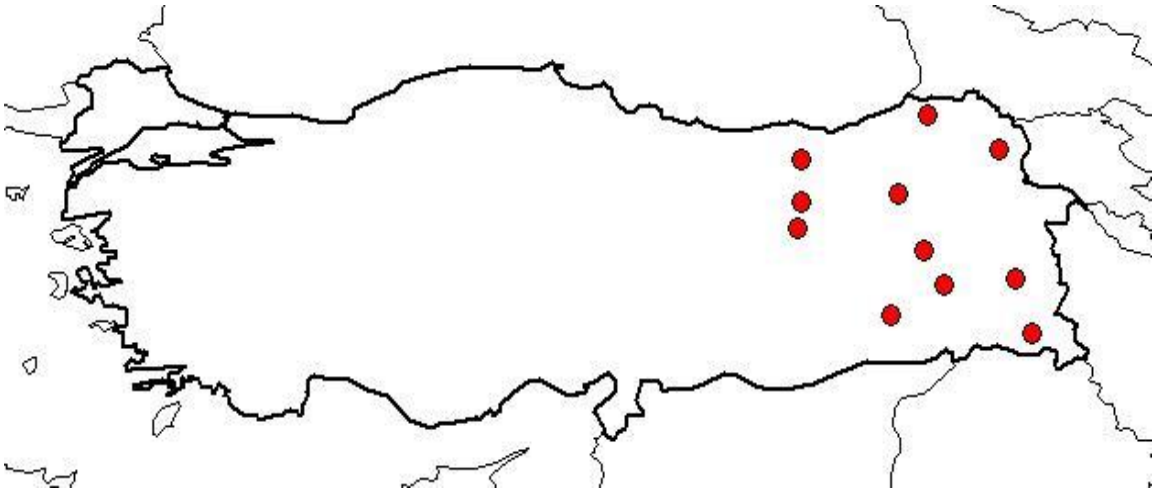
2.1.2.7. *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham)



Şekil 2.16. *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham) (Fırat 2013)

Çok yıllık bir türdür. Gövde dik, 30-50 cm, üst kısımda dallanmış, yukarı kısımda pilözden vilöze kadar değişen salgı tüyleriyle örtülüdür. Yapraklar gövdenin üzerine dağılmış veya tabanda rozet şeklinde, lineer, oblong-ovat, 4-13x2.5-6 cm, kısa

yünlü, yapraklar tam ve pürüzlü; yaprak sapı 2-9 cm'dir. Vertisilatrum üst kısımda daha dik, 2-6 (-8) çiçeklidir. Brakteler genişçe ovat, yaklaşık 4-12x5-8 mm. Yaprak sapları ortalama 2 mm' dir. Kaliks tüpsü-çansı yaklaşık 6-7 mm, meyvede yaklaşık 10 mm' ye kadar uzamış, sarımsı yeşil veya mavimsi mor çizgili, yoğun salgı tüylü, bazen uzun düzleşmiş salgısız tüylerle kaplı; üst dudak alttakine göre eşit ya da daha kısa, üç dişlidir. Korolla beyaz ile soluk sarı renkte, 12-14 mm; tüpler belirgin göbekli, birbirine bağlı; üst dudak genellikle düz ve dardır. Stamenler dışarı çıkmış, (5-)12(-18) mm tip B. Nutletler oval, yaklaşık 2x18 mm. Çiçeklenme Mayıs-Ağustos aylarıdır. Kireçtaşı ve volkanik kayaçlı yamaçlarda, alpin çayırlarda, meşe çalılıklarında, uçurumlarda ve 1700-3150 metre yüksekliklerde yetişirler. Türkiye'de Doğu Anadolu'da rastlanmaktadır (Erzurum: Tortum, Pasinler ve Horosan, Gümüşhane: Tempede, Kars: Akçay ve Cumaçay, Çoruh: Şavşat ve Ziyaret, Erzincan: Refahiye, Hakkari:Cilo, Bitlis: Nemrut, Muş, Bingöl, Van, Ağrı). Endemik bir tür değildir (Flora of Turkey, Davis 1982).

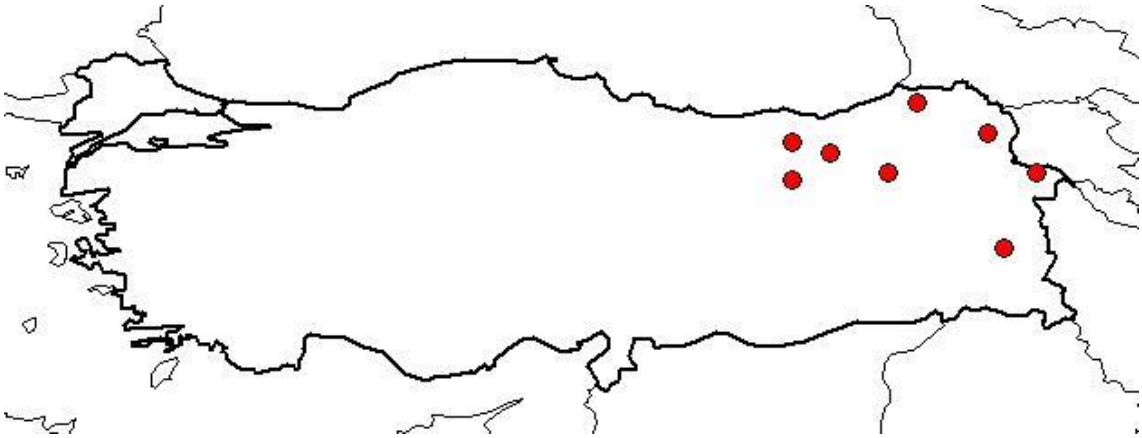


Şekil 2.17. Yayıldığı İller KARS, HAKKÂRİ, BATMAN, BİTLİS, AĞRI, ARTVİN, ERZİNCAN, VAN ERZURUM, GÜMÜŞHANE, MUŞ, TUNCELİ
(http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8112)

2.1.2.8. *Salvia pachystachys* (Trautv)



Şekil 2.18. *Salvia pachystachys* (Trautv) (Fırat 2013)



Şekil 2.19. Yayıldığı İller IĞDIR, KARS, AĞRI, ARTVİN, ERZİNCAN, ERZURUM, GÜMÜŞHANE, VAN, BAYBURT (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8061)

Yarı çalımsı veya odunsu çok yıllık bir türdür. Gövde yaklaşık 40 cm, nutletler ortalama 3x3 mm, korolla geniş beyaz 30-35 mm, vertisilatlar geniş aralıklı. Çiçeklenme Mayıs-Temmuz aylarındadır. Volkanik kayaçlarda, subalpin çayırlıklarda, kayalık kireç taşlarda, kabuklarda 1200-3200 metre yüksekliklerde yetişir. Türkiyede Doğu Anadolu'da yetişir (Gümüşhane, Bayburt, Artvin, Erzurum, Kars, Van…). Endemik bir tür değildir (Flora of Turkey, Davis 1982).

2.1.3. *Salvia* Türlerinin Halk Arasında Kullanışı

Salvia türleri, ağrıdan epilepsiye kadar özellikle soğuk algınlığı, bronşit, tüberküloz, kanama ve menstruel bozukluklar gibi atmıştan fazla hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Topçu 2006). *Salvia* türleri (Adaçayı) geleneksel olarak terleme ve menopozal sıcak basmalarını tedavi etmek ve buna bağlı olarak menopoz semptomlarını hafifletmek için (Bommer ve ark. 2011); *S. libanotica* geleneksel tıpta kullanılan, karın ağrısı, baş ağrısı, hazımsızlık ve kalp rahatsızlıkları gibi hastalıkları iyileştirmek için uzun yıllardır kullanılan adaçayı türlerinden biridir (Gali-Muhtasib 2000); *S. triloba* gaz söktürücü, midevi, ter kesici ve idrar arttırıcı etkileri vardır. Haricen yara iyi edici ve antiseptik olarak kullanılmaktadır. (Baytop 1984); *S. officinalis* türü gaz söktürücü, antiseptik (boğaz ve burun hastalıklarında), kuvvet verici ve uyarıcı etkilerinden dolayı dahilen ve haricen kullanılır (Baytop 1984). Ayrıca sindirim bozuklukları, dolaşım rahatsızlıkları, bronşit, öksürük, astım ve angina tedavisinde ve aşırı terlemeyi azaltmak, gingivitis ve farenjit gibi ağız ve boğaz mukozasındaki iltihapların tedavisinde (Saad ve Said 2011; Hamidpour ve diğerleri, 2013); *S. fruticosa,* Adaçayı adıyla gargara halinde iltihaplı boğaz ve dişeti rahatsızlıklarında, haricen romatizma tedavisinde (Baytop 1999); *S. spinosa,* geleneksel olarak ishal, üriner rahatsızlıklar ve hemoroid, göğüs ve karın ağrısı için (Flamini ve ark. 2007); *S. Sclarea*'nın çiçekli dalları ve yaprakları mide rahatsızlıkları, kabızlık, terlemeyi azaltıcı, yatıştırıcı olarak (Baytop 1999); *S. aethiopis*' in yaprakları ve çiçek durumları mide rahatsızlıklarında ve uyarıcı olarak (Baytop 1999); *S. virgata* haricen yaraları iyi edici olarak (Baytop 1999); *S. verbenaca* da S. sclarea ile aynı şekilde kullanılır ancak kokusu ve etkisi daha azdır. Tohumları bol miktarda müsilaj taşır bu tohumlar Doğu ülkelerinde göz hastalıklarına karşı kullanılır (Baytop 1984*). S. dichroanthastapf* yapraklarından hazırlanan infusyon, Niğde bölgesinde haricen yara ve çıbanların tedavisinde kullanılır (Baytop 1984). *S. sclarea*'nın uçucu yağı, gıda endüstrisinde, içki endüstrisinde, parfümeride tütün tipi kokularda, sabun, deterjan, krem, losyon imalatında yaygın olarak kullanılan bir uçucu yağdır (Demirci ve ark. 2002). Ayrıca bitkinin analjezik, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan etkileri saptanmıştır *S. multicaulis* yaprakları Doğu Anadolu' da haricen yara edici olarak kullanılmaktadır (Baytop 1984).

Salvia türlerinde yüksek miktarlarda bulunan rosmarinik asit antioksidatif, antiinflamatuvar, antimutajenik, antibakteriyel ve antiviral etkiler gösterir (Petersen ve Simmonds 2003).

2.1.4. *Salvia* Türleriyle İlgili Yapılan Kimyasal Çalışmalar ve Biyolojik Aktiviteler

Eski zamanlarda *Salvia* türleri şifalı bitki çayı olarak, ateşli gece terlemelerinde ve tüberküloz da kullanılıyordu. Günümüzde de yemeklere tat vermesi için ve çikolata gibi tatlılarda esans olarak kullanılmasının yanı sıra antioksidan, antibakteriyel, antivirütik gibi aktiviteleri içinde kullanılmaktadır (Anonyms 1994). Popülerliği her geçen gün artan bitkilerle tedavide çeşitli hastalıklar için halk arasında sıklıkla Adaçayına başvurulmaktadır. Hayvan deneyleri *Salvia* ekstrelerinin merkezi sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Newall ve ark. 1996). *Salvia* türleri önemli biyolojik aktiviteler gösterirler. *S. haematodes* Wall türü antidepresant özelliği (Akbar ve ark. 1985), *S. desoleana* Atzei&Picci geleneksel tıpta kadın hastalıkları, sindirim ve sinir sistemi hastalıklarında (Peana ve Satta 1992) kullanılıyordu.

Salvia türlerinin yükek miktarda uçucu yağ içerdikleri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Özellikle *S. officinalis, S. lavandulifolia, S. furuticosa* türleriyle yapılan çalışmalar bunların uçucu yağ bakımından zengin olduğunu göstermiştir (Biondi ve ark. 1993).

Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi olan sugiol bileşiği *S. albocaerulea* türünden izole edilirken forskalinon bileşiği *S. forskahlei* türünden izole edilmiştir (Uluben ve ark. 1996).

S. barelicii türüyle yapılan bir çalışma bitkinin toprak altı kısmından elde edilen diterpenlerin aktiviteleri DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikal giderim, süperoksit anyon radikal giderim aktivitesi ve CUPRAC metodları kullanılarak incelenmiş ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları ortaya konmuştur (Kolak ve ark. 2009).

Birçok *Salvia* türünde bolca bulunan rozmarinik asitin aktivitesi DPPH serbest radikal giderim yöntemiyle incelendiğinde aktivitesinin yüksek antioksidan özellik

gösteren askorbik asitle yarışır düzeyde olduğu görülmüştür (IC_{50}=–2.7 µg/ml) (Lee ve ark. 1987).

Forousin ve ark. gaz kromatografisi-kütle spektrumu (GC-MS) tekniğini kullanarak iki *Salvia* türünün (*S. suffruticosa ve S. verticillata*) esansiyel yağ içeriğini ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemiyle de fenolik içeriğini belirlemişlerdir. Esansiyel yağların invitro antioksidant aktiviteleri 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderim tekniği ile belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda *S. verticillata* için 7 türev belirlenirken *S. suffruticosa* için 4 türev belirlenmiş ve her iki tür için aynı olan ana bileşenlerden 1,8-sineol'ü *S. suffruticosa* %31.21 içerirken diğer tür %38.26 ve diğer ana bileşen olan kamfor (camphor)' u *S. suffruticosa* %27.11 diğer tür ise %22.98 içerdiğini tespit etmişlerdir. Fenolik bileşen analizinin sonucunda askorbik asit içeriği *S. suffruticosa* için %23.98 ve *S. verticillata* için %33.53, p-hidroksibenzoik asiti çeriği *S. suffruticosa* için %11.50 ve *S. verticillata* için %3.83, vanilik asit içeriği *S. suffruticosa* için %5.86 ve *S. verticillata* için %6.55, sirincik asit içeriği *S. suffruticosa* için %6.29, ferrulik asit içeriği *S. suffruticosa* için %6.35 ve *S. verticillata* için % 6.04, sinapik asit içeriği *S. suffruticosa* için %6.26 ve *S. verticillata* için % 4.93 olarak belirlenmiştir. DPPH serbest radikal giderim yeteneği *S. suffruticasa* için % 0.558 diğer *Salvia* türü için %0.558 olarak belirlenmiştir (Forouzin ve ark. 2015).

S. spinosa türünün esansiyel yağı ve metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmanın sonucunda bitkinin yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi ve α-glukosidaz inhibitör aktivitesi gösterdiği görülmüştür. GC-MS/FID kullanılarak yapılan esansiyel yağ analizi sonucunda tespit edilen 19 bileşenin yağın %98.5' ini temsil ettiği belirlenmiştir. Esansiyel yağın ana bileşenleri Karyofilen oksit (63.0), Spathulenol (%23.0), Linalol (%3.9) ve trans-karyofilen (%3.0) olarak tespit edilmiştir. Total fenolik ve flavonoid içerikleri sırasıyla 36-377 GEA/g ve QE/g olarak tespit edilmiştir. Metanol ekstraktının yüksek miktarda fenolik ve flavonoit içerdiği belirlenmiştir. Çalışma S. *spinosa*' nın yiyecek ve farmasötik endüstride birçok kullanım alanı için yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Bahadori ve ark. 2015).

S. officinalis türünün toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen fenolik diterpenlerin hem asetilkolin esteraz enzimini (AChE) hem de B16 melanoma

hücrelerinde melanin biyosentezini inhibe etme yeteneklerinin araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada izole edilen 7 diterpen (karnosol, 12-metilkarnosol, 7b-metoksi rosmanol, rosmanol, 7a-metoksi rosmanol, izorosmanol ve epirosmanol) elde edilmiştir. Ellman metodu kullanılarak izole diterpenlerin AChE inhibisyon yetenekleri test edilmiştir. AChE'nin aktif kısmında amino asit kalıntılarına izole fenolik diterpenlerin bağlanma afinitesini incelemek için moleküler kenetlenme deneyi yapılmıştır. Sonuç olarak izole diterpenlerden isorosmanolün arbutin kadar etkili (potent) melanin inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir. İzorosmanol ve 7a-metoksirosmanol bileşikleri 500 μM konsantrasyonda AChE aktivitesini sırasıyla %50 ve %65 oranında inhibe ettikleri belirlendi (Sallam ve ark. 2016).

Salvia türlerinin önemli biyolojik aktiviteye sahip oldukları ve ilaç, kozmetik, gıda ve parfüm sanayisinde büyük öneme sahip oldukları biliniyor. *S. cadmica* Boiss bitkisinin su, metanol ve etil asetat ekstrelerinin kullanılarak enzim inhibitör ve antioksidant aktivitesinin incelendiği bir çalışmanın sonucunda metanol ekstraktının DPPH radikal giderimi, CUPRAC ve fosfomolibden deneylerinde güçlü aktivite gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla 54.71, 59.89 μmol ve 311.96 TEs/g kuru bitki). Su ektraktının ise güçlü ABTS radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (102.23 μmol). Yapılan inhibitör aktivite analizlerinin sonucuna göre ekstraktların AChE, BChE ve tirozin üzerine aktivite göstermediği belirlenmiştir. Biyolojik aktivite testlerine paralel olarak ekstraktların fitokimyasal kompozisyonlarıda çalışılmıştır. Metanol ekstraktının fenolik ve flavonoit içerik bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (sırasıyla 64.98 μmol GAEs/g kuru bitki ve 12.96 μmol RE s/g kuru bitki). Kalitatif analizin yanı sıra ekstraktların 23 ayrı bileşikle kantitatif analizide yapılmış. Sonuçlar metanol ekstraktının önemli miktarda apigenin, kaffeik asit, klorojenik asit, ferrulik asit, hesperidin, kaemferol, luteolin, p-kumarik asit, protokateşik asit ve rozmarinik asit içerdiğini göstermiştir (Kocak ve ark. 2016).

S. sclarea bitkisiyle yapılan bir çalışmada bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarının metanol ekstraktlarının total fenolik içerikleri gallik aside eşdeğer olarak sırasıyla 116.22 ve 106.72 μg/mg olarak belirlenmiştir. Ekstraktların 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) testinde iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla IC_{50}=73 ve 81.33 μg/mg). β-karoten/linoleik asit testinde de iyi antioksidant aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (İnhibisyon yüzdeleri sırasıyla %40.25 ve %47.58). Diğer taraftan

bitkinin esansiyel yağı ve ekstraktları test edilen mikroorganizmaların çoğuna karşı ılımlı ve iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Safaei-Ghomi ve ark. 2016).

Diğer bir çalışmada *S. urmiensis* Bunge ve *S. hydrangea* DC. Ex Benth türlerinin ekstraktlarının DPPH ve ABTS (2,2-azino-bis (3-etil benzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal giderim aktiviteleri ile total fenolik ve flavonoid içerikleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda *S. urmiensi*' nin etil asetat ekstraktının 10.0±0.2 µg/ml IC_{50} değeri ile önemli antioksidan özelliği olduğu bulunmuştur. Test edilen tüm ekstraktların yüksek fenolik- flavonoid içerik gösterdiği belirlenmiştir (Bahadori ve ark. 2015).

Güney Batı Anadolu'nun endemik türlerinden *S. crysophylla*'nın toprak üstünün diklorometan ekstraktının uçucu olmayan ikincil metabolitlerinin ilk kez çalışıldığı bir çalışmada bitkiden izole edilen bileşiklerin yapıları aydınlatılmıştır (Salvigenin, sitosterol, oleanoik asit ve ursolik asit). Saf izole bileşiklerin antioksidant aktiviteleri DPPH serbest radikal giderimi yöntemiyle belirlenmiştir. Elman yöntemiyle incelenen kolinesteraz aktiviteleri (AChE ve BChE) sonucunda triterpenoit olan ursolik asit ve oleanolik asidin AChE'ye karşı seçici aktivite gösterdiği ve sclareol'ün ise her iki enzimede oldukça iyi aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Culhaoglu ve ark. 2016).

S. vertisillata türünün metanol ekstraktının DPPH ve β-karoten/linoleik asit testlerinin sonucunda güçlü antioksidant aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kromatografik yöntemler kullanılarak yüksek antioksidant kapasiteli chrysoeriol aktif bileşiği izole edilmiş ve DPPH serbest radikal giderim yönteminde 93.32 (80.23-108.57) mM IC_{50} değeri ile doza bağlı serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Nickavar 2016).

Misk adaçayının (*S. sclarea*) antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada kurutulmuş bitkinin kloroform ve aseton ekstraktları total antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, antimikrobiyal aktivitesi ve total fenolik içerik bakımından incelenmiştir. Standart olarak BHT ve BHA' nın kullanıldığı linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonunu kloroform ekstresi %93 inhibe ederken aseton ekstresinin ise %68 inhibe ettiği belirlenmiştir. Kloroform ekstraktının daha aktif olduğu gözlenmiş ve ekstrelerin az da olsa antifungal ve antimikrobiyal özellik gösterdiği belirlenmiştir (Gülçin ve ark. 2004).

İran'dan toplanan *S. mirzayanii*, *S. santolinifolia* ve *S. choloroleuca* türlerinin metanolik ekstreleri olası antioksidan aktiviteleri için DPPH, β-karoten renk giderimi gibi birkaç biyokimyasal test ile taranmış ve ayrıca HPLC analizi ile kateşin ve rozmarinik asit gibi bileşenlerin miktar tayinleri yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucu *S. choloroleuca* en etkilisi olmak üzere çalışılan bitkilerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Asadi ve ark. 2011).

S. microphylla bitkisinin esansiyel yağının antioksidan aktivitesi β-karoten renk giderim testi ve DPPH serbest radikal giderim yöntemiyle belirlenmiş ve β-karoten testinde IC_{50}=770 µg/ml olarak belirlenmiştir (Lima ve ark. 2012).

Türkiye'nin endemik türlerinden *S. poculatan'*ın toprak üstü kısmından 2 triterpenoid, 4 flavonoid, 1 diterpenoit ve 1 tane de steroid izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerden ursolik asit ve β-sitosterol ile ham ekstrenin antioksidan aktiviteleri β-karotenrenk giderimi, süperoksit anyon radikali giderimi ve ABTS katyon radikali giderimi (>100 µg/ml) yöntemleri ile belirlenmiştir. Ekstrenin total fenolik ve flavonoid içerikleri sırasıyla pirokatekol ve quercetine eşdeğer olarak belirlenmiş. *S. poculatan*'ın ekstresi bütrilkolin esteraz inhibitör aktivitesi kadar önemli miktarda antioksidant aktivitesi de sergilediği belirlenmiştir. İzole edilen ursolik asit ve cirsimaritinin yüksek bütrilkolin esteraz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Kolak ve ark. 2009).

16 *Salvia* L. türünün metanol ve su ekstrelerinin kullanıldığı bir çalışmada ekstrelerin zayıf kolin esteraz aktivitesi gösterirken DPPH serbest radikal giderim yönteminde yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmüş. Ekstrelerin toplam fenolik içeriği $AlCl_3$ reaktifiyle belirlenirken fenolik asitlerin analizi ise HPLC tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Ekstreler gallic asit, protokateşik asit, p-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, kaffeik asit, klorojenik asit, sirincik asit, o- ve p-kumarik asit, ferrulik asit, rozmarinik asit ve tr-sinamik asit açısından analiz edilmiştir. Kullanılan türlerden *S. ekimiana* türünün metanol ekstresi rozmarinik asit (153.50 mg /100g) bakımından en zengin olduğu ortaya konmuştur (Orhan ve ark. 2012).

Çeşitli habitatlarda yetişen 4 *Salvia türünün* metanolik ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ile fenolik içerik ve bileşimlerinin incelendiği bir çalışmada spektrofotometrik olarak hesaplanan total fenolik içerik *S. argenta* ekstresi için 67.67-

72.02 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında ve *S. officinalis* ekstreleri için 112.93-161.37 02 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında değiştiği belirlenmiştir. HPLC analizi ekstrelerde özellikle kaffeik asit türevleriyle beraber fenolik ve flavonoid diterpenler gibi birçok fenolik asitin varlığını ortaya koymuştur. Rozmarinik asitin analiz edilen ekstrelerde en bol bulunan bileşik olduğu görülmüş ve *S. officinalis* örneklerinde en yüksek değeri göstermiştir (13680.22-18378.00 µg/g kuru ağırlık). *S. officinalisin* metanol ekstreleri DPPH (10.08-3.37 µg/ml) ve ABTS (644.85-766.30 µg/ml) analizleri ile değerlendirildiğinde en güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir (Ben Farhat 2013).

S. nemorosa türünün kimyasal kompozisyonu, enzim inhibisyonu, toksisitesi, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmanın sonucunda bitkinin metanol ekstraktının yüksek fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olduğu (sırasıyla 294 mg GAE/g ve 117 mg QE/g ekstrakt) ayrıca güçlü DPPH radikal giderim aktivitesi gösterdiği görülmüştür (IC_{50}=82 µg/ml). HPLC-DAD ile fenolik bileşenler karakterize edilmiş ve 11 bileşen belirlenmiştir. Ana bileşen rozmarinik asit olarak belirlenmiş (7584 µg/g ekstrakt) ve bitkinin orta derecede asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi sergilediği belirlenmiştir (Bahadori ve ark. 2015).

14 *Salvia* türüyle yapılan başka bir çalışmada Ellman metodu kullanılarak türlerin kolin esteraz inhibisyonu belirlenmiş ve kullanılan türler arasından *S. cryptantha*' nın toprak üstü kısmının etanol ve diklorometan ekstrelerinin AChE' ye (% 56.22 ± 4.18) ve BChE' ye (% 33.80 ± 4.18) karşı en aktif olduğu gözlenmiştir (Orhan ve ark. 2013).

S. bicolor Desf'nin toprak üstü metanol ve petrol eteri ekstreleri kullanılarak bitkinin kimyasal kompozisyonu, antioksidan, antiinflamatuar, analjezik ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca HPLC/MS sonucu 14 fenolik asidin varlığı ortaya konmuş ve bunlardan protokateşik asidin baskın olduğu görülmüştür (75.22 mg/g kuru örnek). Onu p-kumarik (70.27 mg/g kuru örnek), gallik (68.26 mg/g kuru örnek) ve synergic (54.38 mg/g kuru örnek) asidin takip ettiği belirlenmiştir. HPLC/MS ile ayrıca flavonoid içerikte analiz edilmiş ve 5 çeşit flavonoidin varlığı ortaya konmuştur. İçerdiği flavonoidlerden 7-O-glukosid (120.25 mg/100g kuru örnek) ve apigenin (88.48 mg/100g kuru örnek) majör bileşik olarak belirlenmiştir. Her iki

ekstrenin antioksidan kapasitesi gallik aside eş değer (GAE) olarak DPPH ve total antioksidan kapasitesi yöntemleriyle belirlenmiştir. Her ikiside önemli miktarda antioksidan aktivite göstermiştir (Ibrahim 2012).

2.2. Çalışmada Kullanılan Teknikler

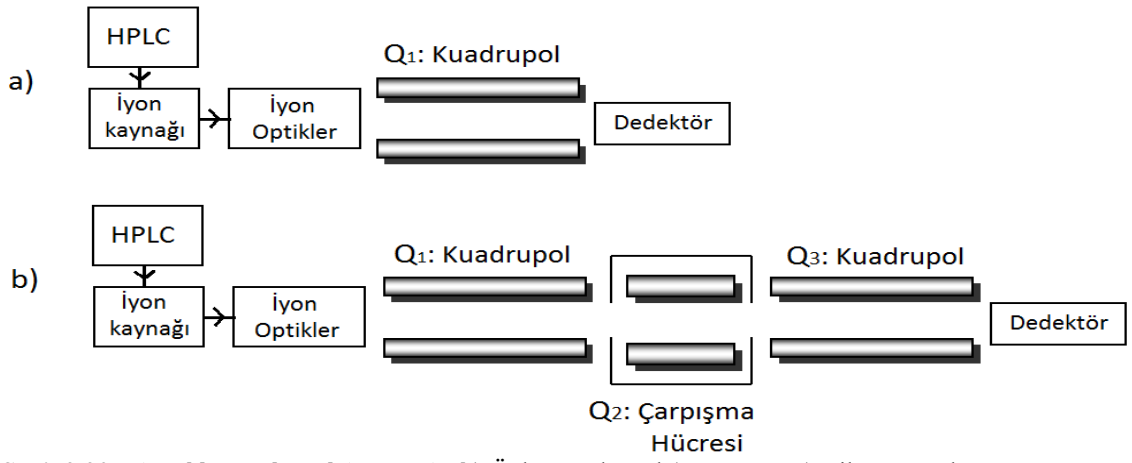
2.2.1. LC-MS/MS (Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi)

Kütle spektrometresi (MS) tekniği yüksek seçiciliğe sahip olmasına rağmen tek başına analizi yapılacak maddeyi aynı numune matriksi içindeki diğer maddelerden ayırmada yetersiz kalmaktadır. Bu noktada maddeleri m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayırmak üzere MS sistemine ayırmaya yardımcı olan sıvı kromatografisi (LC) sistemi kombine edilip her iki sistemin ayırt edici özellikleri birleştirilerek Sıvı kromatografi/ Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS) sistemi tasarlanmış ve kullanılmaya başlanmıştır.

LC-MS (tekli kuadrupol) ve özellikle de LC-MS/MS (üçlü kuadrupol) cihazları bitkilerin sekonder metabolitlerinin nitel ve nicel analizlerinde çok sık tercih edilmektedir. LC-MS cihazı ile HPLC kolonunda belli bir ayrımdan geçen analitlerin ana iyon (parent ion) da denilen moleküler iyonlarını belirleyerek bileşenlerin nicel veya nitel analizleri yapılır. Aynı kütle/yük (m/z) oranına sahip çok sayıda molekül olmasına rağmen doğada aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin bulunma olasılığı ancak 1/10000 dir. Bundan dolayı LC/MS/MS tekniği babalık testi kadar spesifik bir testtir. Aynı zamanda bu teknik ile çok küçük derişimlerde nicel analiz hem yüksek duyarlılıkta hem de yüksek kesinlikte yapılabilir Elde edilen sonuçların doğrulanmasına da gerek yoktur. LC-MS/MS tekniği numunede bulunan bileşenlerin yapısını, miktarını ve molekül ağırlığını çok kısa bir sürede tayin edebilir. Küçük farmosötik bileşikler, proteinlerin tayini, polar iyonik, termal kararsız ve uçucu olmayan bileşiklerin analizleri gibi çok yaygın bir alanda kullanılabilmektedir.

Tek kuadrupol (Bir kuadropol, bir kare düzlem boyunca sıralanmış 4 paralel çubuktan oluşur) filtresine sahip sistemler tekli kuadrupol, üç kuadrupol filtresine sahip sistemler de üçlü kuadrupol olarak adalandırılırlar. LC-MS/MS hibrit cihaz sisteminde Q1 ve Q3 kuadrupolleri kütle filtresi, Q2 kuadropolü ise çarpışma hücresi olarak görev yapar. Kuadrupoller taramalı veya filtreli modda kullanılabilirler. Tam taramalı kütle

spektrumları tarama esnasında DC ve RF voltajları uygulanarak elde edilebilir. Bu spektrumlar tipik nitel veri analizleri için kullanılırlar. Kuadrupol taramasının hızı düşük, hassasiyeti azdır. Bundan dolayı kuadrupoller nicel analizde filtreli modda çalıştırılır.



Şekil 2.20. a) Tekli Kuadrupol (LC-MS) b) Üçlü Kuadrupol (LC-MS/MS) Cihaz Şemaları

Tekli kuadrupol MS cihaz sistemlerinde kuadrupole sabit DC ve RF voltajları uygulanarak farklı m/z oranına sahip iyonların atılıp sadece tek iyonun geçmesi sağlanan çok seçici mod olan Seçilmiş İyon Görüntüleme (Selected Ion Monitoring (SIM)) modu kullanılır. Üçlü kuadrupol (MS/MS) cihazının Çoklu Reaksiyon Görüntüleme (Multiple Reaction Monitoring (MRM)) modunda çalışabiliyor olması onun tekli kuadrupol cihazlarına en önemli üstünlüğüdür. MRM modu nicel analizlerde sinyal/gürültü oranını çok büyük oranda düşürerek üçlü kuadrupol sistemlerine yüksek hassasiyet ve seçicilik kazandırmaktadır. MRM işleminin duyarlığı, oluşan ikincil iyonun miktarını belirler. MRM modunda iyonlaşma odasında iyonlaştırılan ve birincil parcalanmaya uğratılan moleküller, ilk kuadrupol fitrede (Q1) m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılır ve tayini yapılacak iyon (parent ion) filtrelenir. Farklı m/z oranına sahip iyonlar Q1'i geçemezler. Argon gazıyla dolu radyo frekanslı bir çarpışma hücresi olan ikinci kuadrupol (Q2) de Q1'den gelen moleküler iyon collision gas (çarpışma gazı) adı verilen yüksek saflıkta, inert argon (Ar) gazı ile çarpıştırılarak karakteristik parçalanma ürünü iyonlar oluşturması için optimize edilir. Bu işleme çarpışmaya bağlı ayrışma anlamına gelen Collision Induced Dissociation (CID) denir. Oluşturulan ürün iyonlar (product ions), sadece belirlenen iyonların geçmesine izin verildiği üçüncü kuadrupole (Q3) aktarılırlar. Q2'de oluşan diğer bütün parçalanma ürünü iyonlar dedektöre ulaşmadan filtrelenip dışarı atılırlar. Böylelikle, LC-MS/MS cihazında MRM modu çifte

kütle filtresi gibi çalışarak gürültüyü mükemmel derecede azaltır seçicilik ve hassasiyeti artırır. LC-MS/MS tekniğinde standart HPLC tekniğindeki alıkonma süresine (tR)ek olarak "1.cil ve 2.cil" iyonlarla (moleküler iyon ve ürün iyon) da değerlendirilmektedir. Bu da LC-MS/MS tekniğin spesifikliğini artttıran bir özelliktir.

Analizi yapılacak maddenin özelliklerinin, maddelerin cihaz üzerinde optimizasyonunun, maddeye özgü fragmentlerin, maddenin yapısına uygun analitik kolonun ve kolon üzerindeki akış ve sıcaklık parametrelerin belirlenmesi LC-MS/MS sistemindeki metodun geliştirilmesindeki en temel basamaklardır.

Piklerin birbirinden ayrılması için ayrımı yapılacak maddenin özelliklerine en uygun hareketli faz karışımı seçilir. Polarite, molekülün yapısı ve ortam pH' sı maddenin kolonla etkileşiminde ve madde bileşenlerinin birbirinden etkin bir şekilde ayrılmasında en önemli faktörler arasındadır. Ortam pH'sı ve molekülün pKa değeri maddenin hangi oranda non-iyonize formda bulunacağını belirlediğinden hareketli fazda uçucu özellikte tampon çözeltiler kullanılabilmektedir. Çünkü maddenin alıkonma zamanı maddenin hangi formda bulunduğuna da bağlıdır. Kolona hava girmesi mobil faz degaze edilerek engellenir.

İyon kaynakları maddelerin vakum altında çözücüden uzaklaştırıldığı ve yapısına göre yük kazandırıldığı bölümdür. Maddenin polaritesine göre elektrosprey (ESI) ya da atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI) kaynakları kullanılmaktadır (LGC 2015). Analizi yapılacak madde çözeltisi kolondan ayrılırken yüksek elektriksel potansiyelli yüklü bir iğneden püskürtülürken iyonlaşır. Böylelikle analit çözeltisi yüklü mikrodamlacıklar halini alarak ayrışmış olur. Damlacıkların içindeki yüklü tanelerin açığa çıkması için onları çevreleyen hareketli faz sıcak, kurutucu gaz damlacıkları ile hızla kurutulur. Damlacıklar küçüldükçe, üzerilerindeki yük yoğunluğu da artmış olacaktır. Diğer taraftan, iyonlar arasındaki itme kuvvetleri kohezyon kuvvetlerini aşınca, oluşan çok sayıda yüklü molekül iyonları da zarar görmeden gaz faza geçmiş olur. Bu tekniğe Elektrosprey İyonizasyon (ESI) denir (Nelson ve Cox 2005). Yüklü iyonlar açığa çıkar ve voltaj açısından farklı bir levhaya doğru hızlandırılır. Bu levhanın ortasındaki kapiller borudan geçerek MS detektöre yönlendirilir (Griffiths 2001).

EIS pozitif veya negatif modda çalışabilir. Pozitif modda $[M+H]^+$ temel iyonunun yanısıra, $[M+nH]^{n+}$ ve mobil faz kompozisyonuna bağlı olarak $[M+Na+]^+$ gibi

iyonlar da oluşabilir. Negatif mod, en çok, kararlı negatif iyonlar oluşturabilen asidik maddelere ve negatif yüklü fonksiyonel gruplar taşıyan moleküllere uygundur. Örn: $[M-H]^-$, $[M-nH]^{n-}$ ve $[M+I-]^-$

2.2.2. HPLC Teknikleri

Yüksek performans, yüksek hız, yüksek ayırıcılık veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi farklı isimlendirmeler yapılabilir. Sıvı kromatografisi, numune bileşenlerinin bir sıvı hareketli faz ve bir katı veya katı destek maddesi üzerine tutturulmuş sıvı durgun faz arasında dağıldığı bir ayrım tekniğidir. Başta yüksek duyarlılığı, kesinliği ve seçiciliğinden dolayı sonrasında ise nicel analizlerde kolaylıkla kullanılabilmesi, uçucu olmayan ya da sıcaklıkla kolaylıkla bozunabilen türlerin ayrılmasına uygun olması ve ilaç, gıda gibi sanayi dallarında uygulanabilirliğinden dolayı çok yaygın kullanılan bir tekniktir.

Sıvı kromatografisinde, hareketli (mobil) faz pompa yardımıyla enjeksiyon birimine oradan da kromatografik kolona gönderilir. Numunenin kolona girmesiyle, analitler durgun fazda farklı oranlarda zaman geçirir ve iki faz arasında farklı oranlarda dağılım gösterirler. Kolonun sonundan ayrışan her bir analit dedektöre ulaşır ve ölçülebilir bir sinyale dönüşür ve sinyaller kaydedici tarafından kaydedilir. Elde edilen sinyalin yoğunluk ve süresi analizi yapılan maddenin yapısı ve miktarı ile ilgilidir. Sinyalller yükseltilip entegratör yardımıyla kaydedilir.

Genelde, HPLC sistemlerinde çalışma prensipleri birbirinin tersi olan iki tür ayırma tekniğinden bahsedilir. Bunlardan ilki durgun fazın oldukça polar (silika v.b.) ve hareketli fazın apolar (hegzan v.b.) olduğu normal faz kromatografisi (NP-HPLC), bir diğeri ise mobil fazın durgun fazdan daha polar olduğu ters faz kromatografi (RP-HPLC veya RPC)' dir.

Normal faz kromatografisinde (NP-HPLC), analitler polaritelerine göre ayrılır. Polar maddeler sabit faz tarafından tutulur. Ayrımı yapılacak maddelerin polariteleri arttıkça adsorpsiyon (yüzeyde tutunma) kuvvetleri de artacaktır. Bu da analitlerin kolondan ayrılma süresini yani alıkonma süresini arttıracaktır. Mobil faz olarak, polaritesi düşük ve susuz hekzan, toluen, etil asetat ve metanol gibi organik çözücüler kullanılırken durgun faz olarak ise siyano, amino ve diol gibi polarlık sağlayan fonksiyonel gruplar silikaya bağlı olarak kullanılır. Eğer mobil fazın polaritesi artırılırsa

alıkonma zamanı azalır. Bu teknik, daha çok apolar veya az polar flavonoid aglikonlarının ayrımı için uygulanabilir.

Günümüzde daha çok analitik ve preperatif ayrımları için tercih edilen teknik ise nispeten polar olmayan analit ve apolar sabit faz arasındaki itici hidrofobik etkileşimler prensibine göre çalışan ters faz kromatografisidir. Ayrımı yapılacak maddenin durgun faza bağlanması, analitin yapısındaki apolar kısım ile durgun faz arasındaki temas yüzeyinin alanıyla orantılıdır (Bansal ve ark. 2010). Hareketli fazın daha polar olması analitlerin ayrılma sırasını belirler. En polar analit kolonu ilk olarak terk eder. Suyla karışabilen asetonitril, metanol ve etanol gibi analitlerin içinde çözünebileceği polar çözücüler hareketli faz olarak kullanılabilir. Sabit faz olarak ise alümina ($Al_2O_3.xH_2O$) ve özellikle düşük maliyet ve performansından dolayı silika ($SiO_2.xH_2O$) tercih edilir. Hidrofobik moleküller için daha uzun olan alıkonma zamanı, hareketli faza daha apolar çözgenler ekledikçe azalır. Numune moleküllerinin hidrofobikliği pH'a bağlı olduğu için, formik asit, asetik asit ve trifloroasetik asit gibi maddeler hareketli faza eklenebilir. Asit eklemenin etkisi uygulamaya göre değişir ancak genellikle ayrımı olumlu yönde etkiler (Perrin and Dempsey 1974; Snyder and Kirkland 1997).

Normal faz kromatografisinde, hareketli fazın bileşiminde meydana gelecek küçük değişikliklerin kromatogramda büyük farklılıklara yol açmasından dolayı sıvı fazın kontrolünün zor olması, dengeye ulaşma süresinin çok yavaş olması, polar maddeleri ayırmada çok yavaş olmasıyla beraber yayvan piklere neden olması ve apolar çözücülerin maliyetinin fazla olması aynı zamanda nemden de uzak tutmanın zorluğu gibi nedenler ters faz kromatografisinin daha çok tercih edilmesini sağlamıştır.

Bitkilerin biyoaktif sekonder metabolitlerinin birçoğu polar karakterli olduğu için, C_8 (n-oktil) veya daha çok C_{18} (n-oktadesil) gibi hidrokarbonlarla modifiye edilmiş kolonların kullanıldığı ters faz kromatografisi ile ayrılırlar. Elüsyon ise asetonitril veya metanol gibi polar organik çözücülerin su ile beraber olduğu mobil fazlar ile gerçekleştirilir.

2 μm veya daha küçük partikül boyutu ve çok yüksek basınçlarda (1300 bara kadar) çalışan pompa sistemleri ile daha kısa analiz süresi, yüksek pik etkinliği ve yüksek ayrım gibi avantajları beraberinde getiren UHPLC (ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) son zamanlarda sıklıkla başvurulan bir teknik olmuştur (Zotou 2012).

HPLC sistemleri pompa, enjektör, kromatografik kolon, termostatlı kolon fırını, dedektör veri toplama sistemi ve atık deposu gibi marka ve modelden bağımsız önemli kısımları içerir.

2.2.2.1. Bazı Önemli HPLC Kısımları ve Görevleri

Pompa: HPLC sisteminde mobil fazın enjektör, kolon ve detektörden sabit veya değişken bir hızda, belirli bir basınçta geçmesini sağlayan donanımıdır. HPLC' de kullanılan pompalar sabit hacim pompaları ve sabit basınç pompaları olarak ikiye ayrılır. Çalışma farklılığına göre de pistonlu, şırınga ve pnömatik pompalar olarak üçe ayrılır.

Enjektör: Görevi analizi yapılacak örneği kolona göndermeden önce onu mobil faza enjekte etmektir**.** HPLC tekniğinde numunenin kolon dolgu maddesine gönderilmesinin tekrarlanabilirliği yapılan analizlerin kesinliğini belirler. Kolona çok fazla miktarda örnek gönderildiğinde bant genişlemesi görülür. Bu da kesinliği etkilediği için kullanılacak hacim çok küçük miktarda olmalı ve sistem basıncını düşürmeden örneğin girişi sağlanmalıdır. Manuel ve otomatik (autosampler) olarak iki çeşit enjektör vardır. Otomatik enjeksiyon sistemlerinde küçük miktarlarda ve çok sayıda numune enjeksiyonları yapılabilir ve aynı zamanda numune kayıpları da minimum seviyede olur.

Kolon: HPLC sisteminin en önemli parçasıdır. Analit bileşenlerinin iyi çözünürlükle birbirlerinden ayrılmasını sağlayan durgun fazdır. Genellikle yüksek basıncı korumak için paslanmaz çelikten üretilen kolonlar cam, teflon ya da PEEK (polietereterketon) gibi maddelerden de üretilebilir. HPLC'de genelde çok az miktarda çözücü ile hızlı ayırma yapabilen mikro kolonlar kullanılır. HPLC'de kullanılan çözücüler yüksek saflıkta olduğundan maliyetleri yüksektir. Bu nedenle mikro kolonlar kullanılarak daha az miktarda çözücünün atılması sağlanır. Kolonun ayrım gücü ve performansı yapıldığı materyalden çok, kolon dolgu maddesinin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. HPLC kolonlarında, dolgu materyalinin küçük ve aynı boyutlardaki partiküllerden oluşması kolona iyi seçicilik ve yüksek basınçlı akış, yüksek ayırma gücü ve hızlı analiz gibi özellikleri kazandırmıştır. Kolon dolgu maddeleri, yüzeylerine gözenekli yapıda silika, alümina veya iyon değiştirici reçineden ince gözenekli bir film ile kaplanmış gözeneksiz cam veya polimer taneciklerden oluşan film

dolgular ve silika, alümina ya da iyon değiştirici reçineden yapılan gözenekli dolgular olarak iki çeşittir. HPLC tekniğinde yaygın olarak kullanılan kolon dolgu materyali silisyum dioksit (silika)' tir. Kolon seçiminde kolonun iç çapı ve uzunluğu da önemlidir. İç çapın artması akış hızı ve iç doldurma hacmini arttırsada piklerin çözünürlüğü dolayısıyla duyarlılığı azalmaktadır. Kolon uzunluğunun artması daha iyi bir ayrım gerçekleştirmekle beraber analiz süresini uzattığı için daha fazla mobil faz harcanmasına neden olur.

2.2.2.2. HPLC ile Beraber Kullanılan Dedektörler

Dedektör; kolonda ayrımı yapılan maddenin varlığının tespit edildiği ve ona ait bileşenlerin alıkonma zamanlarına (Rf değerlerine göre) göre sırayla içerisinden geçerken nicel analizinin yapıldığı ve bilgisayar ekranına elde edilen verilerle ilgili sinyal gönderen HPLC donanımıdır. Bilgisayar ekranında kromatogramı oluşturan pikleri oluşturur. Cihazın en önemli kısımlarından biridir. Geniş konsantrasyon aralığında yüksek duyarlılık, düşük gürültü seviyesi, yüksek seçicilik ve kromatografik çözünürlüğe olumsuz etki etmeksizin kolondan geçen bileşiklere karşı yüksek duyarlılığa sahip olma gibi özellikler HPLC için ideal bir dedektörte olması gereken özelliklerdir. Bununla birlikte dedektörlerin, sıcaklık ve basınçtaki değişimlere karşı duyarlı olmaması, analizi yapılacak analitin fiziksel ve kimyasal özelliğine elverişli olması gerekir.

HPLC cihazına amaca uygun olarak buharlaştırmalı ışık saçılımlı dedektör (ELSD),Diod-array dedektör (DAD), elektirik iletkenlik dedektörü, elektrokimyasal dedektör, floresan dedektör, kütle spektrometre (MS) dedektörü, refraktif indeks dedektörü (RID) ve UV dedektör gibi farklı tipte dedektörler kullanılabilir (Skoog ve ark. 1998). Bunlardan floresans, kırma indisi, elektrokimyasal, kütle spektrometrisi ve UV absorbans dedektörleri araştırmalarda en çok kullanılanlardır. Ayrıca UV-visible ve MS dedektörleri son zamanlarda özellikle fitokimyasalların nitel ve nicel analizlerinde HPLC ile birlikte en çok kullanılan dedektör türleridir.

Diyot Dizinli Dedektörler (Diode Array Detector-DAD), değişken dalga boylu UV-GB dedektörleri olup sabit veya taramalı dalga boylarında analiz yapılabilir. Numune bileşenleri akış hücresinden geçerken UV-görünür spektrumları alınır ve bu spektrumlar, standartla karşılaştırılarak hem pik teşhisi yapılabilir hem de pik saflığı

hakkında bilgi elde edilebilir. Aynı zamanda bileşiklerin pik teşhisi için ek bilgiler sunan flüoresans özellikleri de ölçülebilir. RI detektörleri, numunedeki moleküllerin ışığı yansıtma oranınıölçülerek maddenin refraktif indeksi elde edilebilir. FD detektörleri, bileşiğin farklı dalga boylarında ışığı emme ve tekrar yayma oranını ölçer. MS detektörlerinde ise, moleküller iyonize edilir ve kütle analizatöründen geçerek bulunan iyonlar saptanır.

UV-visible Temelli Dedektörler (Ultraviolet/Visible Dedector-UV/VIS)

Çalışma prensipleri, ultraviyole veya görünür bölge ışığı absorblama esasına dayanır. Bu dedektörlerin sıklıkla tercih edilmesi sahip olduğu yüksek duyarlılık, geniş ve doğrusal bir aralıkta çalışabilme, küçük sıcaklık değişimlerinden kısmen etkilenmeme ve gradient elüsyon için uygun olma gibi özelliklerine bağlanabilir. Mobil faz kolondan sonra küçük bir sıvı akış hücresine gelip burdan akarken içinden UV ışık geçer ve UV foto-dedektöre çarpar. Bu dedektörler örneği bozmadan ışık kaynağının dalga boyundaki radyasyonu absorbe edip maddelere karşı cevap verir. Tek veya daha fazla dalgaboyunda Lambert-Beer yasasına dayanarak ölçüm yapabilen iki türü vardır. Bunlardan ilki basit olup ışın dalgaboyunun değiştirilmesine izin vermeyen ve genelde UV kaynağı olarak cıva lambalarının kullanıldığı sabit dalgaboylu detektörlerdir. Diğeri ise ışın kaynağı olarak çoğunlukla döteryum veya tungsten lambaların kullanıldığı, istenilen dalgaboyunun seçilebileceği kısa bir dalgaboyu aralığında çalışabilen çoklu veya değişken dalgaboyu detektörlerdir. Çözeltide bulunan birçok bileşik elektromanyetik spektrumun UV-visible bölgesindeki ışığı absorplayabildiğinden evrensel dedektörler oldukları söylenebilir. UV-görünür bölge spektroskopisi molekül yapısı ile ilgili bilgi vermez ayrıca belli bir desen olmayınca tam bir aydınlatma sağlayamaz sadece bileşiklerin ait olduğu sınıflar hakkında bilgi verebilir. Çünkü her sınıf kendine özel absorpsiyon bantlarına sahiptir. Bundan dolayı MS gibi tekniklere gereksinim duyulur.

2.2.2.3. HPLC Tekniğinin Avantaj ve Dezavantajları

Kolon, rejenerasyona ihtiyaç duyulmadan uzun süre kullanılabilir. Yüksek duyarlılığa sahip, nicel analizlere uygundur. Durgun faz değiştirilmeden farklı mobil faz sistemleriyle aynı anda çok fazla sayıda maddenin duyarlı olarak nicel analizi kısasürede yapılabilir. Tekrarlanabilirliği yüksektir. Kişinin becerilerine daha az

bağlıdır. Çok küçük miktarda bile maddelerin analizine olanak sağlar. Biyolojik sıvılardan gerek ilaç etken maddelerinin, gerekse metabolitlerinin analizi için geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tüm bu avantajlarının yanında pahalı durgun ve mobil faza ihtiyaç duyulması, tüm cihazla çalışan sistemler gibi yüksek maliyete sahip olması, çözücü içinde bulunabilecek toz ve partiküllerin pompaya ve enjeksiyon sistemine zarar vermemesi yada kolonu tıkamaması için bunları süzecek pahalı membran sistemlerine ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlara da sahiptir.

2.2.3. Kemometri

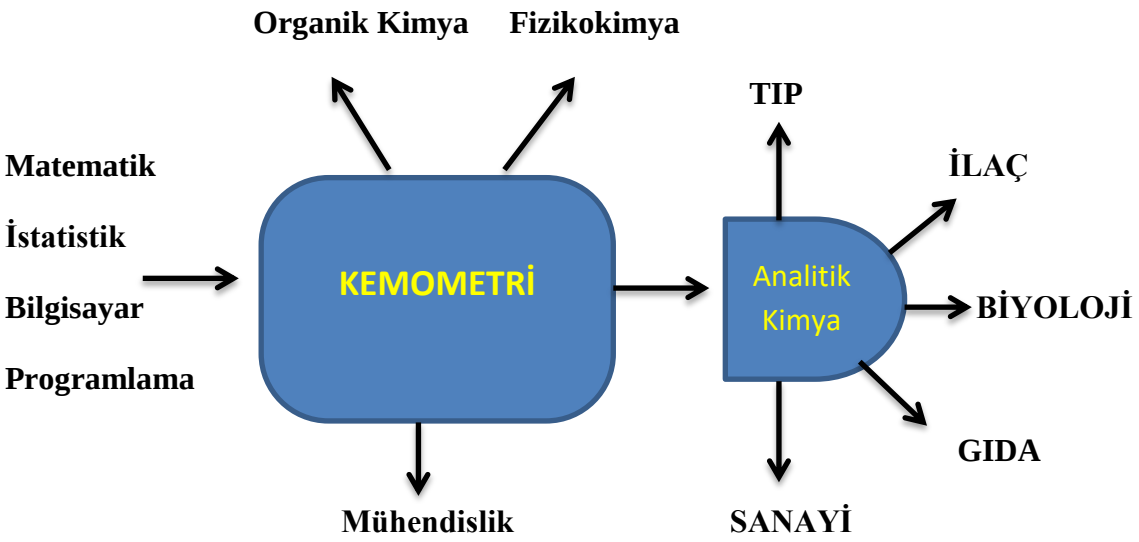
Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanılarak kimyasal verilerin işlenmesi ve değerlendirilmesi bir başka deyişle yazılım, matematik ve istatistiğin kimyaya uygulanmasıdır. Analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ektraksiyonunu veya gizli bilgilerin elde edilmesini sağlayan güçlü bir araçtır (Dinç 2009).

1972 yılında İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski' nin ortaya attığı kemometri daha sonraları ve özellikle günümüzde analitik, gıda ve çevre kimyası, adli tıp, biyoloji, arkeoloji, sinyal işleme ve çok değişkenli verilerin analizi için fizikokimyacılar ve madde bilimciler, yapı aktivite tayini için organik ve farmasötik kimyacılar tarafından sıkça kullanldığı görülmektedir. Kemometrik yöntemlerin bu kadar ilgi görmesinin nedeni kimyada özellikle analitik kimyada karmaşık örneklerin analizini hızlı, doğru, kesin ve güvenilir sonuçlarla vermesine, esnek ve çok yönlü çözümler sunmasına, farklı analitik sonuçları tek bir veri seti üzerinde hesaplayarak birden çok analitin aynı anda ölçümüne olanak sağlamasına bağlanabilir. Aynı zamanda karmaşık veri setlerini yorumlayabilme kapasitesiyle çoğu disiplinde uygulama alanı bulmuştur (Wold 1998).

Kemometri; tanımlayıcı ve açıklayıcı istatistik, sinyal üretme, deneysel tasarım, modelleme, kalibrasyon, optimizasyon, yapı teşhisi, sınıflandırma, yapay akıl metodları, resim üretme, bilgi ve sistem teorisi gibi kavram ve uygulamaları içeriğinde barındırmaktadır.

Kemometrik yöntemlerin gelişmesiyle birlikte çok sayıda etken madde içeren ürünlerin miktarsal tayini hiçbir kimyasal ön ayırma işlemine ve grafik işlemine ihtiyaç duyulmadan hızlı, doğru ve hassas olarak yapılabilmektedir. Bu kemometrinin diğer

yöntemlerden daha avantajlı olmasını ve kullanım alanının genişlemesini sağlamıştır (Dinç 2009).



Şekil 2.21. Kemometrinin İlişkili Olduğu Disiplinler ve İlgi Alanları

Kemometrik uygulamalar elle veya basit hesap makineleriyle yapılamayacak kadar karmaşık hesaplamalar içerdiğinden genellikle EXCEL, MATLAB, PANORAMA, MİNİTAB, XLSTAT, SOLO ve diğer paket programlar gibi bilgisayar programlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Dinç 2009).

Kemometrik teknikler sınıflama ve kümeleme teknikleri (Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA)) ile çok değişkenli kalibrasyon metodları (Klasik En Küçük Kareler Metodu (CLS) ve Kısmi En Küçük Kareler Yöntemi (PLS)) olarak belirtilebilir. En yaygın kemometrik teknikler Temel Bileşenler (Principal Component Analysis-PCA) ve Aşamalı Kümeleme (Hierarchical Cluster) analizleridir (HCA). PCA bileşenler arasındaki korelasyon şeklini ve değişkenler arasındaki etkileşim konularına cevap ararken aralarında ilişkinin bulunmadığı hallerde verilerin miktarını azaltmak amacıyla kullanılır. Temeli örnekleri tanımlayan esas değişkenlerin **(**X1, X2… Xn,) liner kombinasyonları (PC1, PC2… PCn) şeklindeki temel bileşenleri, T ile gösterilen bir score matrixi ve E ile gösterilen bir hata matrixi bulmaya dayanır (Uyanık 2008).

Kümeleme (CA) yönteminde bileşenler arasındaki sınıflandırma konusunda bilgi elde edilebilmektedir. Bu teknikler, daha önceden belirlenmemiş korelasyonları belirleme ve basit sonuçlar olarak tanımlanamayacak tahminler yapmaya izin veren

tekniklerdir. Kümeleme ve sınıflandırma amaçlı tekniklerin tümü, çok değişkenli veri analiz tekniği olan temel bileşenler analizine dayalıdır. PCA, incelenen çok sayıdaki değişkeni değişkenler arası korelasyonu engelleyerek; onların doğrusal kombinasyonlarından oluşan daha az sayıda bileşenlere indirgeyen bir metoddur. PCA temelli metodlar, verilen bir örnek sistemi üzerinde çok sayıda değişken değerinden yola çıkarak söz konusu örnekleri çeşitli guruplara kümeleyerek sınıflandırabilir.

Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA), verilen bir örnek setindeki örnekleri ve o örnekleri tanımlayan değişkenleri benzerliklere göre sınıflandıran bir tekniktir. HCA doğrudan orijinal değişkenlere uygulanabildiği gibi, değişken sayısının çok fazla olması durumunda PCA analizinden gelen temel bileşenlere de uygulanabilmektedir. HCA analizinde ölçümler Öklit uzaklığına dayanmaktadır.

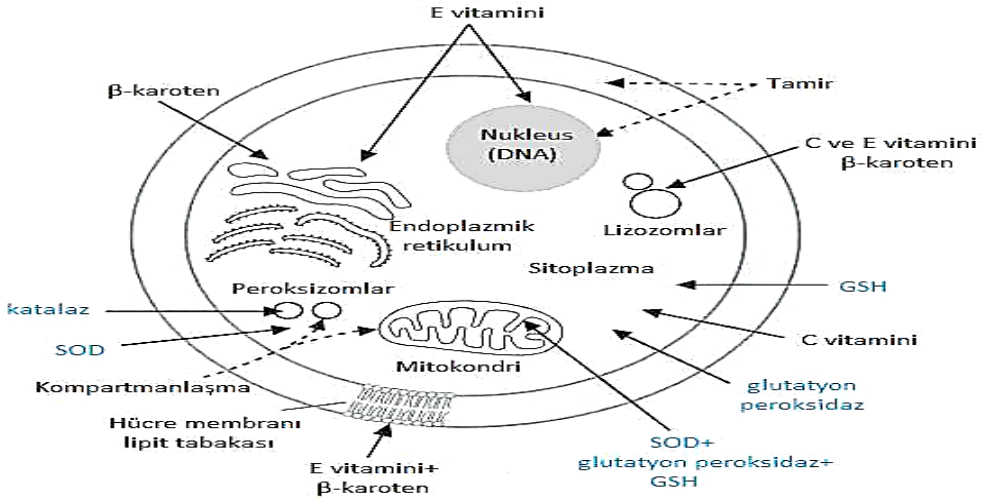
2.4. Antioksidanlar

Canlılığın temeli oksijen bir yandan enerji metabolizması yani solunum için olmazsa olmaz bir elementken diğer taraftan birçok hastalık ve dejeneratif koşulun sebebi olarak görülmektedir. Vücutta protein, yağ ve karbonhidratların oksijen ile tepkimeye girerek parçalanması ve ATP'nin üretilme işlemi sırasında; süperoksit (O^{-2}), hidroksil (HO^{-}), peroksil (ROO^{-}), alkoksil (RO^{-}), semiquinon (Q^{-}), nitrik oksit (NO^{-}) kökleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^{-}$) ve singlet oksijen ($_1O_2$) gibi genellikle üzerlerinde eşleşmemiş elektron taşıyan serbest radikaller oluşmaktadır. Oksijen temelli moleküller olan serbest radikallerin tek kaynağı oksijen kullanılarak gerçekleşen metabolik tepkimeler değil. Sigara, radyasyon, alkol, ağır metaller, çok yağlı besin tüketimi, herbisitler, pestisitler, çok fazla güneş ışığına maruz kalma, hava kirliliği, endüstriyel kimyasallar, tedavi amacıyla kullanılan birçok ilaç vücutla etkileşerek serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir.

Radikaller taşıdıkları eşleşmemiş elektronlarını eşleştirme yönünde istekli olduğundan özellikle zayıf bağlı elektronları koparırlar. Tepkimeye girme istekleri yüksek olan serbest radikaller vücudumuzda zincir reaksiyonlar başlatırlar ve başlattıkları zincir tepkimelerle de hücrelerin zarar görmesine neden olurlar. Yaşlanmanın doğal işleyişinde de serbest radikallerin verdiği hasar önemli rol oynuyor. Hatta kalp-damar hastalıkları, akciğer ve karaciğer rahatsızlıkları ve kanser gibi,

yaklaşık 50 farklı hastalığın oluşmasında serbest radikallerin meydana getirdikleri zararın etkisi olduğu düşünülüyor.

Aerobik yani oksijenli solunum yapan organizmalar gelişmiş antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Bu sistem sayesinde yapılarında eşleşmemiş bir elektron içeren serbest radikallerin oluşumunu kontrol altında tutuyor ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olup hücreyi hasarlardan ve hastalıklardan korumuş olur. Ancak bazen mevcut antioksidan savunma sisteminin serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemediği durumlar da olabiliyor ve o zaman serbest radikallerin artışı nedeniyle oksidatif stres ortaya çıkıyor. Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan aktif oksijen -antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozarak; DNA, protein, karbonhidrat ve lipidlerde hasara yol açmakta ve ardından erken yaşlanma, kanser, kalp ve damar hastalıkları gibi sorunlarla tanışıyoruz. (Young ve Woodside 2001) Oksidatif strese sadece oksijenin değil aynı zamanda Azot Oksit ($NO^{\bullet}$), Azot dioksit $NO_2^{\bullet}$), Nitroksi Anyonu (NO^{-}), Diazot tetraoksit (N_2O_4), Peroksinitrit anyonu ($ONOO^{-}$), Nitronyum Katyonu (NO_2^{+}) gibi azot elementinin reaktif türevleri de neden olabilmektedir. İşte tam da bu noktada antioksidanlar imdadımıza yetişiyor. Antioksidanlar**,** otookside olabilir materyallerin oksidasyon başlangıcını önleyen veya geciktiren ya da oksidasyon hızını azaltan maddelerdir (Nawar 1985). Vücudumuzda hücre tarafından üretilen Glutatyon, nikotinamid, karnozin, metabolik faaliyetler sonucu yan ürün olarak ortaya çıkan ürik asit ve bilirubin gibi antioksidant aktiviteye sahip maddeler mevcuttur. İnsanlarda veya diğer canlılarda antioksidan bileşiklerin ve antioksidan savunma sisteminin var olmuş olması yaşam için çok önemlidir.



Şekil 2.22. Hücredeki Antioksidan Savunma Sistemleri-Altınısık 2001'den

Beynin oksidatif strese karşı savunmasız olması nedeniyle meydana gelen beyin hasarlarını tedavi etmek için antioksidanlar yaygın olarak kullanılıyor. Tedavilerde kullanılabilecek antioksidan bileşimlerinin sinir hücrelerindeki oksidatif stresi önleyerek hücre ölümünün ve nörolojik hasarın önüne geçtikleri biliniyor. Antioksidanların Alzheimer, Parkinson, motor nöron hastalığı olarak bilinen ALS (Amiyotrofik Lateral Skleroz) ve gürültüye bağlı işitme kaybının tedavisi için kullanılmasına yönelik araştırmalar sürüyor.

Doğal ya da sentetik birçok bileşiğin antioksidan özelliklere sahip oldugu bilinmektedir. Endüstride gıda maddelerinin depolama süresini artırmak için çoğunlukla BHA (bütillenmiş hidroksi-anisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak, antioksidan olarak kullanılan kimyasalların olası toksisiteleri nedeniyle, son yıllarda sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunması amacıyla ilgi doğal antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Vareltzis ve ark. 1997). Çünkü doğal antioksidanlar, insanların yüzlerce yıldır tükettikleri veya gıdalara karıştırdıkları katkılardır. Bu nedenle tüketiciler tarafından güvenilir olarak görülmektedirler (Bera, Lahiri ve Nag 2006).

Son çalışmalar gıdalarda bulunan bitkisel kaynaklı birçok maddeyi antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test etmektedir. Örneğin yeşil çay yaprakları (-)-epikateşin, (-)-epikateşin gallat, (-)-epigallokateşin ve (-)-epigallokateşin gallat gibi antioksidan aktivite gösteren maddeleri içerir (Amarowicz ve Shahidi 1996, Ho ve ark. 1997). Literatürde böyle doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdikleri ve

bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bitkiler (yaglı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlar,çaylar) ve bitkilerde bulunan bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), hayvansal ürünler (peptitler, amino asitler ve karotenoidler), enzimler (glutatiyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz), bazı mikroorganizmalar (Hall 2001) ve sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin (Taylor ve Richardson 1980) gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin (Buchanan ve ark. 1994) proteini en önemli dogal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır.

2.4.1. Antioksidanların Kullanım Alanları

Antioksidanlar sağlık alanında, birçok endüstriyel alanda, kozmetik ürünlerinde koruyucu katkı maddesi olarak, yakıtlarda, kauçukta ve petrole bozunumlarını ve polimerizasyonlarını önlemek için dengeleyici olarak kullanılıyor. Yağların oksidatif bozulmalarını diğer bir deyişle renk, koku, tat, görünüş ve besin değeri gibi önemli özelliklerinin kaybolmasını önleyerek besinlerin kalitesini koruyor. Aynı zamanda bakteri ve küflerin neden olduğu gıda bozulmalarına karşı da iyi bir koruyucudurlar. Askorbik asit (AA, E300) ve E vitamini (E306) doğal antioksidanlar arasında sayılabilirken tersiyer butilhidrokinon (TBHQ, E319), bütillenmiş hidroksi anizol (BHA, E320) ve bütillenmiş hidroksi tolien (BHT, E321) petrol kökenli yapay antioksidanlar arasındadır.

Antioksidanlar dört farklı mekanizmayla etki gösterebilirler:

1- Temizleyici (Scavenging effect): Serbest radikalleri etkileyip tutan veya daha zayıf bir moleküle çeviren başka bir deyişle “toplayıcı” etki gösteren antioksidanlardır.

2- Bastırıcı etki (Quencher effect): Serbest radikallerle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma yani bastırma şeklinde etki gösterirler.

3-Onarıcı etki (Repair effect): Serbest radikallerin neden olduğu hasarı onararak etki gösterirler.

4- Zincir kırıcı etki (Chain breaking effect): Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincir tepkimelerini kırıp fonksiyonlarını engelleme şeklinde etki gösterirler.

2.4.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Temelde gerçekleştirdikleri reaksiyon mekanizmaları baz alınarak birincil ve ikincil antioksidanlar diye iki genel sınıfa ayrılsa da bunların yanı sıra çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılan ve birden çok mekanizma gösterebilen antioksidanlar da vardır (Reische ve ark. 2002).

2.4.2.1. Birincil Antioksidanlar

Zincir kırma reaksiyonları meydana getiren veya serbest radikal süpüren türlerdir (Uçar, 2004). Birincil antioksidanlar (tip–1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlamasını geciktiren veya önleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bunlara örnek olarak BHT ve BHA birincil sentetik antioksidanları gösterilebilir (Antolovich ve diğ., 2002). Bir lipit (alkil) radikali ($R^{\bullet}$) oluşturmak için, doymamış yağdan α-metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar (Reische ve ark. 2002). Reaksiyon başlangıç (initiation), çoğalma (propagation), ilerleme (branching) ve sonuç (termination) aşamalarından meydana gelir (Antolovich ve ark. 2002).

Başlama:

$$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

RH lipidi ve $R^{\bullet}$ zincir tepkimeyi başlatacak lipit radikali temsil etmektedir. Oksidasyon sonucu oluşan $R^{\bullet}$ çok reaktif olduğundan çok hızlı bir şekilde O_2 (oksijen) ile peroksi radikali ($ROO^{\bullet}$) oluşturmak üzere tepkimeye girer (yayılma basamağı) (Reische ve ark. 2002).

Yayılma:

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Zincir taşıyıcısı görevi gören peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar (Reische ve ark. 2002).

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

Oluşan bu yeni radikal başka bir peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Kendiliğinden katalizlenip yürüyen bu mekanizma bu şekilde devam edip otooksidasyonu sürdürür (Reische ve ark. 2002).

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Kararsız hidroperoksit (ROOH) molekülleri hemen bozunarak başka radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına yol açar (Reische ve ark. 2002).

İlerleme:

$$ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + HO^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROH + R^{\bullet}$$

İki radikalin tepkimeye girmesiyle ($RO^{\bullet} + RO^{\bullet}$, $ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet}$,$RO^{\bullet} + ROO^{\bullet}$) sonlanma basamağı oluşur

Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali ($R^{\bullet}$) ve peroksi radikalleriyle ($ROO^{\bullet}$) tepkimeye girip onları kararlı ve radikal olmayan türlere dönüştürürler. Birincil antioksidanlar lipit türevleri ve antioksidan radikaller ($A^{\bullet}$) meydana getirecek şekilde lipit radikallerine hidrojen atomları verirler. Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bundan dolayı birincil antioksidanlar otooksidasyon sonucunda oluşan peroksi ($ROO^{\bullet}$) ve oksi ($RO^{\bullet}$) serbest radikallerini giderir. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler (Reische ve ark. 2002).

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet}$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet}$$

Meydana gelen antioksidan radikali lipitlerle veya oksijenle çok az reaksiyona girdiğinden tepkime çok yavaştır. Bundan dolayı tepkime hızı azalır. Antioksidan radikalinin sahip olduğu fenol halkasını çevreleyen serbest elektronların delokalizasyonun antioksidan radikalini kararlı hale getirmesi sonucu kararlı rezonans melezler oluşur. Antioksidan radikaller peroksi, oksi ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler (Reische ve ark. 2002).

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROA$$

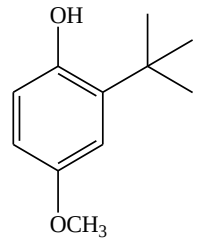
$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow AA$$

Yağlarda antioksidan dimerlerin meydana gelmesi fenolik antioksidan radikallerin sonlandırıldığının göstergesidir. Dimerler, bu hallerini ne kadar uzun süre koruyabilirlerse otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar (Reische ve ark. 2002).

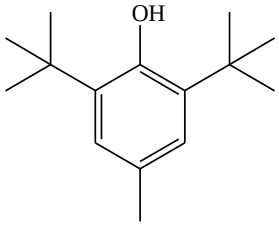
Birincil antioksidanların temel antioksidatif mekanizması radikal giderme olsa da bunun yanında hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler.(Reische ve ark. 2002).

Mono veya polihidroksi fenol şeklinde olan birincil antioksidanların antioksidan aktiviteleri yapılarındaki fenol halkasına bağlı hidrosil gruplarına göre orto veya para konumuna elektron salıcı grupların bağlanmasıyla artar. Çünkü elektron salıcı gruplar halkayı aktive eder. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütil grupların bağlanması, antioksidan aktiviteyi arttırır. Para konumuna uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının bağlı olması antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto konumuna dallanmış alkil gruplarının bağlanması kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırken antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar (Reische ve ark. 2002).

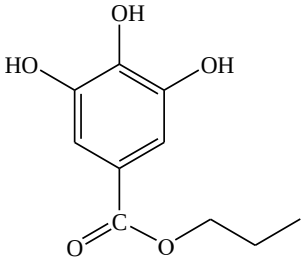
Aşağıda birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen, propil gallat, *t*-bütil hidrokinon gibi sentetikantioksidanlar ile α-tokoferol doğal birincil antioksidanları gösterilmiştir (Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır) (Reische ve ark. 2002).



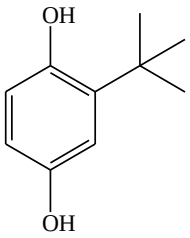
Bütillenmiş hidroksianisol



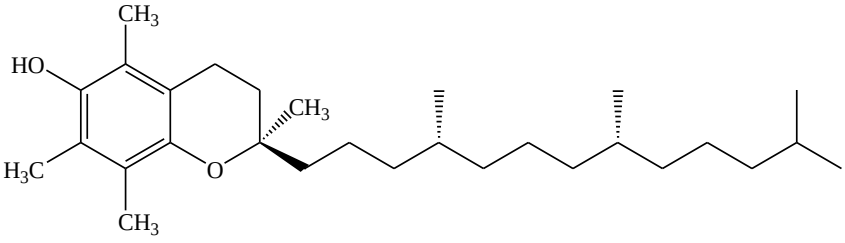
Bütillenmiş hidroksitoluen



Propil gallat



t-Bütil hidrokinon

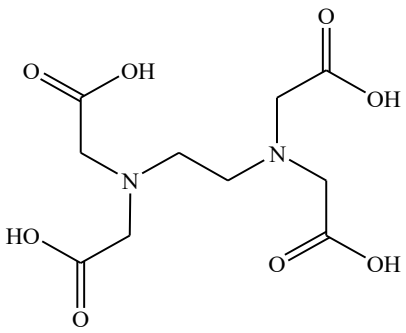


α-Tokoferol (Vitamin E)

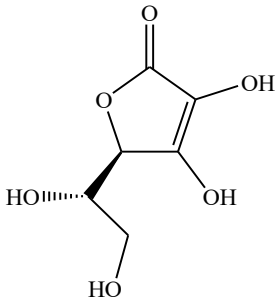
Şekil 2.23. Yaygın Birincil Antioksidanlar

2.4.2.2. İkincil Antioksidanlar

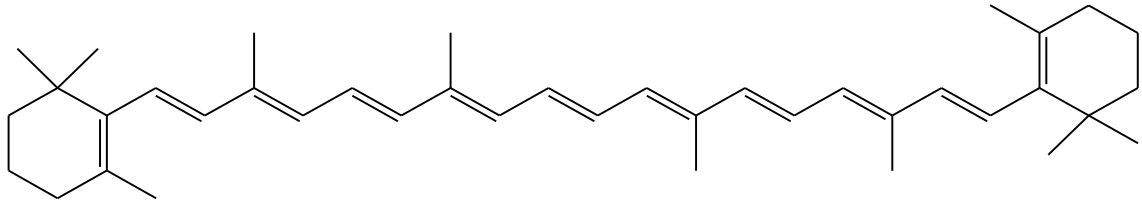
Tip–2 veya koruyucu antioksidanlar olarakta adlandırılabilen ikincil antioksidanlar çeşitli mekanizmalarla aktivite gösterebilirler. Singlet oksijeni deaktive edebilir, prooksidan metallerle şelat yapabilir, oksidasyonun hızını azaltıp onları deaktive edebilir, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan maddelere parçalanmasını sağlayabilir ve ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirlerken serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştüremezler. Genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırır yeniden üretimini sağlarlar. Askorbik asit, EDTA ve *β*-karoten ikincil antioksidan örnekleri olarak gösterilebilirler (Reische ve ark. 2002). Bu tür antioksidanlar etki mekanizmalarının önemi baz alınarak şelat yapıcılar (EDTA gibi), oksijen gidericiler (askorbik asit gibi) ve singlet oksijen gidericiler (*β*-Karoten, gibi) olarak üç gruba ayrılabilirler (Reische ve ark. 2002)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



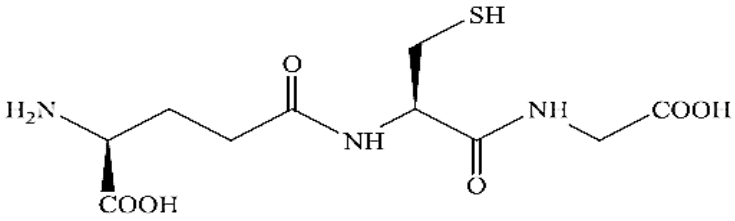
Askorbik asit



β-Karoten (A vitamini)

Şekil 2.24. İkincil Antioksidanlar

Başka bir sınıflandırmaya göre antioksidanlar; enzimler (Katalaz, Glutatyon peroksidaz, Süperoksit Dismutaz (SOD), doğal kaynaklı ve sentetik antioksidanlar şeklinde sınıflandırılabilirler (Halliwell ve Gutteridge 1989). Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görev alır.



Şekil 2.25. Glutatyon

2.4.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için çok sayıda yöntem vardır. Bu yöntemler birbirlerine göre bazen avantajlı bazen dezavantajlı olabilirler. Başvurulan tekniğin kimyasal ve kinetik özelliklerine bağlı olarak, ekstrelerin kimyasal yapısına, bileşenlerin polaritesine, sahip olduğu fonsiyonel gruplara ve kimyasal davranışlarına göre sonuçlar değişebileceğinden antioksidan aktiviteler belirlenirken en uygun yöntem seçilmeli ve daha güvenilir olması açısından birden fazla yöntemle değerlendirilmesi uygun

olmaktadır (Öztürk ve diğ. 2007). Bunlardan yaygın olarak başvurulanların bazıları şunlardır:

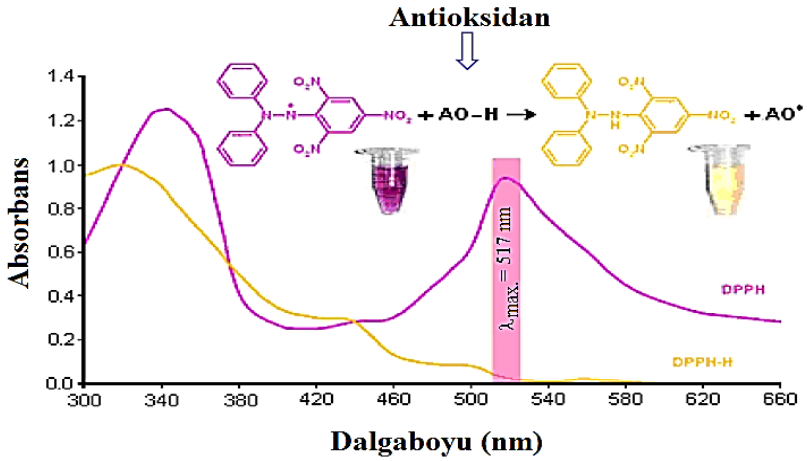
- **DPPH** serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi (Blois 1958).
- **CUPRAC** (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi (Apak ve ark. 2004).
- **ABTS** katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Re ve ark. 1999).
- *β*-Karoten renk açılım yöntemi (Miller 1971).
- Folin Ciocalteu yötemi (Singleton ve ark. 1999).
- Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Liu ve ark. 1997).
- FRAP (Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan gücü) yöntemi (Benzie ve Strain 1996).
- TRAP (Toplam radikal tutma parametresi) yöntemi (Wayner ve ark. 1985).
- DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) yöntemi (Valkonen ve Kuusi 1997).
- Fikoeritrin (PE) esaslı yöntemler (Ghiselli ve ark. 1995).
- Krosin yöntemi (Tubaro ve ark.1998).
- ORAC (Oksijen radikal absorbans kapasitesi) yöntemi (Prior ve Cao 1999).
- TOSC (Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi) yöntemi (Winston ve ark.1998).
- Metal bağlama yöntemi (Dinis ve ark. 1994).

2.4.3.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi

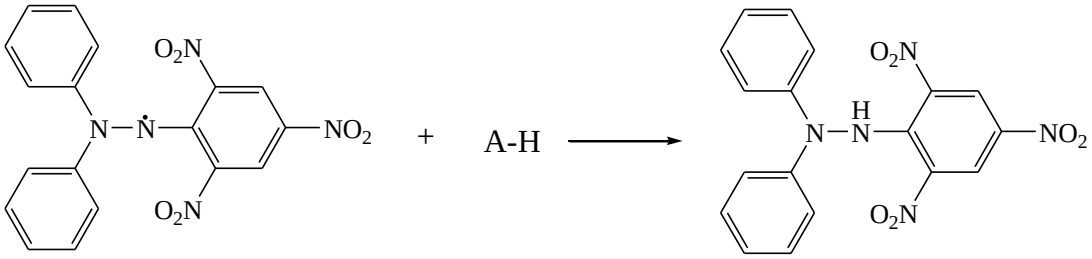
DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) yöntemi bazı dezavantajlara sahip olmasına rağmen antioksidan kapasite tayini için yaygın olarak başvurulan yöntemler arasındadır.

1958 yılında Blois' in DPPH' ın antioksidan aktivite tayininde kullanılabileceği fikriyle ortaya çıkan yöntemi antioksidan aktivite ölçümünün önem kazandığı sonraki yıllarda Brand-Williams ve çalışma grubunun geliştirip bilime kazandırılmasıyla yöntem birçok çalışmada kullanılmış ve halen kullanılmaya devam edilmektedir. Yöntemde antioksidan aktivite ölçümü için kullanılan DPPH (1,1–difenil–2–

pikrilhidrazil) kararlı yapıda ve etanol çözeltisi mor renkli olan bir serbest azot radikalidir. Absorbansı 517 nm dalgaboyunda ölçülür. DPPH çözeltisine antioksidanların ilave edilmesiyle antioksidanlar radikallere proton vererek onları indirger. İndirgenme sonucunda çözeltinin karakteristik mor rengi sarıya doğru kayar ve söz konusu dalga boyundaki absorbansta düşüş meydana gelir. Absorbanstaki bu düşüş antioksidanların serbest radikal giderim potansiyellerinin yüksek olduğunu gösterir. Antioksidan aktivite DPPH radikalinin başlangıç konsantrasyonunun % 50'sinin inhibe edilmesi için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC_{50} (etkin konsantrasyon) değeri ile elde edilir (Brand-Williams ve ark. 1995, Benabadji ve ark. 2004, Gülçin ve ark. 2004).



Şekil 2.26. DPPH• radikali ve antioksidan (AO-H) tarafından indirgenmesi (Boligon ve ark. 2014)



Şekil 2.27. DPPH Molekülünün Antioksidan Madde ile Reaksiyonu

DPPH Yönteminin Avantajları

Antioksidanların serbest radikali giderme aktivitelerini belirleyen DPPH yönteminin en önemli avantajı güvenirliği yüksek, ucuz, çok kolay ve hızlı sonuç veren

bir yöntem olmasıdır. Spektrofotometre ile kısa bir süre zarfında onlarca ölçüm yapabilir (Fukumoto ve ark.2000).

DPPH Yönteminin Dezavantajları

Bu radikal sadece organik solvent içinde çözünebildiği için sadece organik solventlerde çözünebilen antioksidanların aktiviteleri ölçülebilir (Arnao MB. 2000). DPPH, peroksil radikalleriyle benzer olduğundan peroksil radikalleri ile hızlıca tepkimeye giren bazı antioksidanlar DPPH ile ya etkileşmezler ya da tepkimeler çok yavaş meydana gelir. Bir diğer dezavantajı ise 517 nm'de absorbsiyon yapan karotenoitler gibi bazı moleküllerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi güç olmasıdır**.**

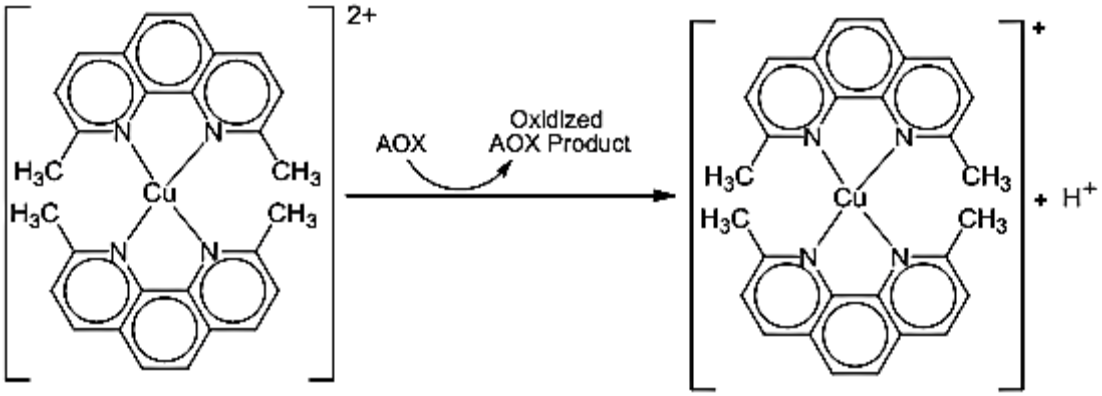
Antioksidan özellik gösteren bazı maddelerle sterik engelden dolayı etkileşime girmemesi veya çok geç cevap vermesi, DPPH ile antioksidan arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH konsantrasyonu ile doğrusal olarak değişmemesi ve eugenol gibi bazı antioksidanlarla geri dönüşümlü tepkime vermesi (Huang 2005) yöntemin dezavantajlarındandır.

2.4.3.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Yöntemi

Apak ve çalışma arkadaşlarının keşfedip 2004 yılında literatüre kazandırdığı CUPRAC tam açılımıyla "Cupric Recuding Antioxidant Capacity" yani "bakır(II) indirgeyici antiksidan kapasite" yöntemiyle meyve ve sebeler, meyve suları, bitkisel çaylar, insan serumu ve bitki ekstrelerindeki toplam antioksidan seviyesi belirlenebilir. Yöntem temelde indirgen özelliği yüksek olan polifenollerin bakır iyonunu indirgemesi olayını ölçmeye dayanır. Bakır(II) ve neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifleri kullanılarak polifenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin spektrofotometrik olarak tayin edilmesi esasına dayanır. Antioksidan özelliğe sahip polifenoller, pH=7 (amonyum asetat ile sağlanır) olan ortamda Cu(II)-Nc kompleksini, Cu(I)-Nc kompleksine dönüştürür. Bu redoks reaksiyonuyla oluşan Cu(I)-Nc kompleksinin maksimum absorpsiyon verdiği 450 nm"de absorbasın ölçülmesi ile antioksidan kapasite tayin edilir. 30 dakikalık bekleme süresi sonunda absorbans ölçülebilir ancak bazı antioksidant bileşiklerin tepkimeleri yavaş olup geç tamamlandığından etkileşimi hızlandırmak amacıyla 20 dakikalık ek bir inkübasyon

süresi öngörülmüştür. d10 elektronik konfigürasyonuna sahip Cu(I) ile Nc arasında oluşan kompleks, Cu(II)-d9 elektronık konfigürasyonuna göre daha tetraedral bir yapı kazanarak moleküler gerginliği azaltıp Cu(I)'i daha kararlı hale getirir (Apak R. ve ark. 2004). Bu yöntemle hem hidrofilik hem lipofilik toplam antioksidan kapasitesi kolaylıkla tayin edilebilmektedir.



Açık mavi kuprak reaktifi **Sarı renkli ürün**

Şekil 2.28. CUPRAC reaksiyonu ve kromoforu: Bis(neokuproin) bakır(I) kelat katyonu (Reaksiyon sırasında açığa çıkan protonlar NH4Ac tamponu tarafından nötralleştirilir) (Apak ve ark. 2004)

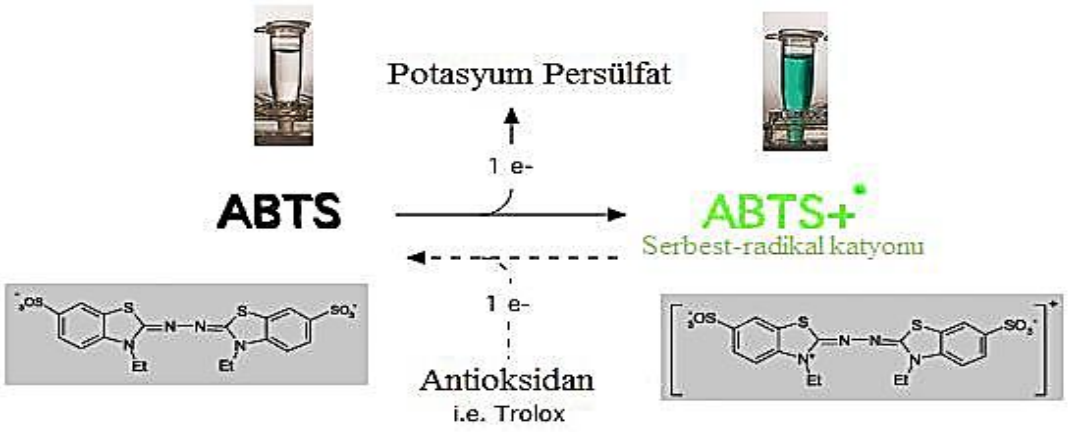
CUPRAC Yönteminin Avantajları

Cu (II,I)-neokuproin çiftinin indirgenme potansiyeli 0.60 V' tur. Bu potansiyelde gıdalarda fazla miktarda bulunan ve biyolojik açıdan büyük öneme sahip birçok antioksidanın 0.2-0.6 V' luk redoks potansiyelini karşılamaya dolayısıyla bunları yükseltgemeye yeterlidir. Bunun yanı sıra metodun sahip olduğu bu düşük potansiyel, yöntemin seçiciliğini de arttırır. Çünkü bu potansiyel antioksidan özellik göstermeyen bazı maddelerin olumlu sonuç vermesini engeller (Prior 2005 ve Apak 2008). Yöntemin bir diğer üstünlüğü de pH=7.0' da antioksidan tayini yapabilmesidir. Çünkü bu değer pH=7.4'e yani fizyolojik pH' a yakın bir değerdir.

Tiyol bazlı antioksidanları rahatlıkla belirleyebilmesi, ABTS ve DPPH'a göre kararlı bir ajan kullanılması, kolay kullanılabilen, hızlı, düşük maliyetli, kısa sürede doğru ve spesifik sonuçlar verebilen, nem ve ışık gibi olumsuz ortam koşullarından etkilenmeyen ve kolaylıkla erişilebilen bir yöntem olması da yöntemin diğer avantajlarındandır (Apak ve ark. 2008).

2.4.3.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

İlk olarak Miller ve Evans'ın 1993' te kullandıkları yöntem, ABTS (2,2′-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) radikalinin $ABTS^{+\bullet}$ radikal katyonuna $K_2S_2O_8$ gibi güçlü yükseltgenler yardımıyla yükseltgenmesine dayanan antioksidan kapasite ölçüm yöntemidir. Oluşan $ABTS^{+\bullet}$ radikal katyonu antioksidanlarla reaksiyona bırakıldığında radikalin absorbansında bir düşüş görülmesi antioksidanın aktif olduğunu gösterir. 2 gün oda sıcaklığında ve karanlıkta kararlı olan radikal 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında maksimum absorbans verir. Ancak bitki pigmentlerinden gelebilecek olan girişimin en az olduğu 734 nm dalgaboyu sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca bu yöntemle konjuge çifte bağlı antioksidanların aktivitesi de ölçülebilir (Miller ve ark. 1993, Re ve ark. 1999).



Şekil 2.29. ABTS Yöntemi (Boligon ve ark. 2014)

$ABTS + K_2S_2O_8 \rightarrow ABTS^{+\bullet}$ (λmax=734 nm)

$ABTS^{+\bullet} + ArOH \rightarrow ABTS + ArO^{\bullet} + H^{+}$

ABTS Yöntemi Avantajları

Uygulanması kolay olan yöntemin en büyük avantajı $ABTS^{+\bullet}$ radikalinin iyonik kuvvetten etkilenmeyip hem su hem de inorganik ortamlarda çözünebililir olmasıyla hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde antioksidan aktivitesi ölçülmesine olanak vermesidir. Yöntemin bir diğer avantajı ise çok geniş bir pH aralığında ölçüme imkan verebilmesidir (Özgen ve ark. 2006).

ABTS Yöntemi Dezavantajları

Belli zamanlarda elde edilen sonuçlarla hesabın yapıldığı yöntemde çoğu fenolik bileşiğin tepkimeye girme süresi uzun olduğundan reaksiyonlar tam olarak gerçekleşmeyebilir bu da sonuçların hatalı olmasına neden olur (Huang ve ark. 2005).

2.4.3.4. β-Karoten-Lineolik Asit Renk Açılım Yöntemi

Linoleik asit serbest bir radikal olup yükseltgenmesiyle alkil peroksitler oluşur. Oluşan bu radikaller *β*-karoteni parçalayarak renginin açılmasına neden olurlar. Eğer ortamda antioksidanlar varsa radikalleri söndürerek β-karotenin renginin açılmasını önlerler. 490 nm'de absorbans veren β-karotenin absorbansındaki değişim spektrofotometre yardımıyla ölçülüp antioksidan aktivite tayini yapılabilir. Solvent ve pH etkisinden bağımsız ve çok kısa zamanda gerçekleşir. Yöntem hidrofilik, hidrofobik ve emülsiyonların oksidasyonunu ölçmek için kullanılır (Miller 1971, Benabadji ve ark. 2004, Huang ve ark. 2005).

2.4.3.5. Folin-Ciocalteau Yöntemi ile Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Singleton ve Rossi'nin 1965 yılında önerdiği yöntemde fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımından oluşan Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) kullanılarak antioksidan tayini yapılır.Yöntem sahip olduğu bazı olumsuzluklara rağmen neredeyse tüm antioksidan çalışmalarında toplam fenolik miktar tayini için kullanılan standart bir yöntemdir. Fenolik maddeler bu reaktifle bazik ortamda tepkime verdiklerinden dolayı sodyum karbonatla (Na_2CO_3) pH=10' a ayarlanır. Mo(VI) + e- $\longrightarrow$ Mo(V) indirgenme tepkimesi ortamda fenolik antioksidanlar varsa gerçekleşir renk sarıdan maviye döner. 760 nm dalga boyunda absorbans ölçülür (Slinkard ve Singleton 1977, Singleton ve ark. 1999).

2.5. Alzheimer Hastalığı ve Kolinestrazlar

Alzheimer hastalığı ilk olarak 1907 yılında Alman hekim Alois Alzheimer tarafından klinik ve nöropatolojik özellikleri ile tanımlanmıştır (Alzheimer 1907-1911). İleri evre Alzheimer hastalığı için kötü bir ifade olan bunama kelimesi kullanılmaktadır. Alzheimer merkezi sinir sisteminin bazı kısımlarında nöron ve sinaps kaybıyla ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, öz bakım yetersizlikleri, nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar gibi belirtiler gösteren progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Gilman

1997, Lleó ve ark. 2006). Alzheimer hastalığı sinsice başlar ve ilerler. Hastanın yakınları, bakıcısı veya hekimi hastalığın kesin başlangıcını ortaya koyamaz. Alzheimer, yaşlılarda en sık görülen demans türüdür. Alzheimer demansı (Demans unutkanlıkla kendini gösteren birçok hastalığın genel adıdır.) gelişmiş ülkelerde en sık ölüme neden olan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer alır. Başlangıç yaşı genellikle 40-60 arasındadır. Kadınlar erkeklere oranla 2-3 misli daha fazla hastalığa yakalanırlar. Hastalık başlangıçtan itibaren 2-5 yıl içinde belirtilerde dalgalanma göstermeksizin belirgin şekilde ilerler. Hastada yeni öğrenilen şeylerin kısa sürede unutulması, yakın geçmişi hatırlayamamak ya da hatırlamada zorlanmak, bunların tam tersi şekilde uzak geçmişi çok iyi hatırlama, sıkça görülen konuşma bozukluğu, cümle kurmada güçlük çekme gibi önemli, yaygın belirtiler görülmektedir. Hastalığın ileri safhalarında hastada bellek sorunları artar ve öyle ki bir zaman sonra kişisel bakımını yapamaz hale gelir, psikiyatrik belirtiler başlar ve hasta zamanla yatağa bağımlı hale gelir (Yamantürk 2000).

Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitörleri, nöroprotektif yöntemler, farmakolojik olmayan tedaviler, psikofarmakolojik ajanlar, genel sağlığı korumaya yönelik aktiviteler gibi tedavi yöntemleri var olmasına rağmen alzheimer hastalığının nedeni ve oluşumu net olarak açıklanamadığından kesin tedavisi de yoktur (Cankurtaran 2002, Ulger 2005, Yavuz 2005). Asetilkolin (ACh) beyinin bellek ile ilgili bölgelerinde önemli bir nörotransmiterdir Alzheimer hastalığında ACh azalması bellek bozukluğu ile ilişkilidir. Alzheimer hastalığında temel sorun kolinerjik sistemdeki azalma ve glutamat toksisite artışı sonucunda nöron kaybı oluşmasıdır. Alzheimer hastalığında meydana gelen kolinerjik kaybın, depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerin hastalarda gözlenmesine neden olduğu belirtilmiştir (Grossberg 2002).

Risk faktörleri

Alzheimer hastalığının temel faktörü yaşlanmadır. Hastalığın görülme sıklığının 65 yaş sonrasında her 5 yılda bir iki kat arttığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuş (Gao ve ark. 1998, Hattori 2009). Genetik yatkınlık diğer bir önemli faktördür. Birinci dereceden akrabalarında Alzheimer hastası olan kişilerin Alzheimer hastalığına

yakalanma olasılığının arttığı görülmüştür (Wang ve Ding 2008, Williamson ve ark. 2009). Yaş, kadın cinsiyet ve aile öyküsü dışında kesinleşmiş risk faktörü yoktur.

Alzheimer hastalığında oksidadif hasar da önemli etkiye sahiptir. Oksidatif stresi azaltmak ve antioksidan korumayı arttırmak hastalığın başlamasını ve ilerlemesini azaltabilir. Klinik öncesi çalışmalar antioksidanların tedavi edici etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. (Oyama ve ark. 1996). Alzheimer hastalığının nedenleri ve seyri tam olarak açıklanamamış ve ve ilaçla kökten tedavisi mümkün olmayan hastalıklar arasında yer almıştır (Suh ve Checler 2002).

Son yıllarda hipertansiyon, düşük eğitim seviyesi, menopoz, homosistein yüksekliği, oksidatif hasar, inme ve beslenme yetersizzliği gibi daha küçük risk faktörleri de tanımlanmış (Cankurtaran ve ark. 2006).

Asetilkolin (ACh) kolinerjik sistem tarafından salgılanan, beynin bellekle ilgili bölümü serebral korteksin sinapsında bulunan ve sinir iletimini sağlayan önemli bir nörotransmiter' dir. ACh sinyal iletimini sağladıktan sonra kolinesteraz enzimleri tarafından asetil ve koline parçalanır. Kolinesterazlar, daha çok beyinde bulunmakla beraber uyarılabilen tüm dokularda bulunan asetil kolinesteraz (AChE) ve beyinde sınırlı miktarda bulunup karaciğer ve plazmada bulunan bütiril kolinesteraz (BChE) olarak iki formda bulunurlar. Alzheimer hastalığında temel sorun kolinerjik sistemdeki azalma ve glutamat toksisite artışı sonucunda nöron kaybı oluşmasıdır. Kolinerjik sistemdeki bozukluğun düzeltilmesinde AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonları hedeflenir (Adsersen ve ark. 2007). Kolinesteraz inhibitörleri ile kolinerjik sinapslardaki asetil kolin miktarları yükseltilerek kolinerjik etkinlik arttırılabilir. Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin intrasinaptik yıkılımını geciktirmekte ve etkisini uzatmaktadır. Ancak bu nöron kaybını geri getirmez sadece hastanın yaşam kalitesinde ve hastalığın ilerlemesinde düzelme sağlayabilir (Jones 2003, Cummings 2004) ve bu şekilde ACh miktarını arttırmak Alzheimer hastalığının tedavisi için şuana kadar geliştirilen en etkili yöntem olarak düşünülmektedir (Orhan ve ark. 2004). Alzheimer tedavisi için FDA tarafından onaylanan ilk ilaçlar kolinesteraz inhibitörleridir. Hastalardaki etkisi 6 ile 36 hafta arasında gözlemlenmiş ve süre sonunda hastaların bilişsel fonksiyonlarında artış görülmüştür (Mohs ve ark. 2001, Raskind ve ark. 2004). Ayrıca kolinestereazların, hastalığın erken evrelerinde nörotoksisiteyi ve fonksiyonel

komplikasyonları engellemesi tedavi için önemlidir. 1993 yılında Whitehouse tarafından 1, 2, 3, 4-tetrahydro-9-aminoacridine yani ticari adıyla 'tacrine' ilk AChE inhibitörü olarak bildirilmiştir. Galantamin, rivastigmin, donepezil, karbamatlar kolinesteraz inhibitörlere birer örnektirler (Colovic ve ark. 2013). Yarılanma süresinin kısa olması, etkilerinin kalıcı ve güçlü olmaması, sıklıkla görülen güçlü yan etkiler gibi nedenler bu ilaçların tedavide kullanımlarını sınırladığından güvenliği ve etkinliği daha yüksek ilaçlar geliştirme ihtiyacı doğmuştur. Hafıza kaybı ve yaşlanmayla ilişkili bilişsel bozulma durumunda geleneksel olarak kullanılan bitkisel kaynaklardan AChE inhibitör etkisine sahip bileşiklere yönelik etnofarmakolojik yaklaşımlar ve biyoanalizler her geçen gün artarak çoğalmaktadır. AChE inhibitörlerinin belirlenmesine yönelik pek çok yöntem, Ellman tarafından 1961' de tanımlanan Ellman reaksiyonlarına dayanmaktadır (Ellman ve ark. 1961, Mukherjee ve ark. 2007). AChE inhibitörleri ile ilgili çalışmaların çoğu, galantamin gibi asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesine sahip alkaloidler üzerine yoğunlaşmıştır.

Galantamin: Kolin esteraz enzim inhibisyonu yapmasına ilave olarak beyinde nikotinik reseptör agonisti olarak da etki gösterir (Coyle ve Kershaw 2001). Bu etkileri ile kolinerjik işlevi arttırabilir

Alzheimer hastalığının nedenlerinden birinin de oksidatif stres olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stres hastalığın ilk adımlarından biri olup, hastalıkta patojenik bir rol oynamaktadır (Piazzi ve ark. 2008). Oksidatif stresin artışının nöronlarda yapısal bozukluğa ve ölüme neden olabileceği düşünülmüştür. Beyinde serbest radikal oluşumunu tetikleyen demir, alüminyum ve civanın konsantrasyonlarının, lipid peroksidasyonunun, protein ve DNA oksidasyonunun artması ve amiloid plaklarda ileri glikozilasyon son ürünlerine ve peroksinitrite rastlanması oksidatif stresin katkısını gösteren nedenlerdendir (Markesbery 1997, Reddy ve ark. 2009).

2.6. Fenolik ve Flavonoid Bileşikler

Bitkininin UV radrasyon ve patojenler gibi çevresel koşullara karşı savunma mekanizmasının sonucu oluşan sekonder metabolitlerden olan fenolik bileşikler, bir aromatik halka ve ona bağlı hidroksil gruplarından oluşur. Tek ya da daha fazla sayıda benzen halkasına iki veya daha fazla sayıda fenolik hidroksil (HO^-) grubunun

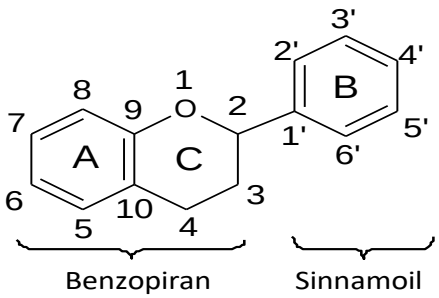
bağlanmasıyla polifenolik bileşkler meydana gelir. Fenolik bileşiklerin en geniş sınıfını flavonoidler oluştururken onları fenilpropanoidler ve fenolik kinonlar takip eder (Harborne 1998). Şeker kalıntılarının fenolik gruplara bağlanması gibi konjugasyonlardan dolayı doğal fenollerin kimyası karmaşıktır. Bu da kimyasal karakterizasyonlarını zorlaştıran bir faktördür (Mann ve ark. 1994). Fenolik maddeler serbest radikale kenetlenme, şelat oluşturma ve lipoksijenaz enzimini inhibe etme yoluyla antioksidan aktivite gösteren en aktif doğal antioksidanlar arasındadır. Ana iskeletlerinde bulunan C (karbon) sayısı göz önüne alınarak gruplandırılırlar.

çizelge 2.1. Bitkisel Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

C atomu	**İskelet**	**Sınıf**	**Örnek**
6	C_6	Basit fenoller Benzokinonlar	Hidrokinon 2,6-Dimetoksibenzokinon
7	C_6-C_1	Fenolik asitler	Salisilik asit
8	C_6-C_2	Asetofenonlar Fenilasetik asitler	3-Asetil-6-OMe-benzaldehit *p*-Hidroksifenilasetik asit
9	C_6-C_3	Hidrosisinamik asitler Fenilpropenler Kumarinler İzokumarinler Kromonlar	Kafeik Asit Eugenol Umbelliferon Bergenin Eugenin
12	C_6-C_4	Naftakinonlar	Juglon
13	C_6-C_1-C_6	Ksantonlar	Mangiferin
14	C_6-C_2-C_6	Stilbenler Antrokinonlar	Lunularik asit Emodin
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoitler	Kersetin
		İzoflavonoitler	Genistein
18	$(C_6$-$C_3)_2$	Lignanlar	Pinoresinol
30	$(C_6$-C_3-$C_6)_2$	Biflavonoitler	Amentoflavon
N	$(C_6$-$C_3)_n$	Ligninler	
	$(C_6)_n$	Kateşol melaninleri	
	$(C_6$-C_3-$C_6)_n$	Tanenlerle kondense flavonlar	

2.6.1. Flavonoidler

Fenolik bileşiklerin en önemli ve sahip olduğu 10' dan fazla alt grupla en kalabalık sınıfı (Acar 1998; Çam ve Hısıl 2003) olup ana iskeleti 2-fenil benzopiran yapısındadır. Bu yapı C6-C3-C6 şeklinde toplamda 15 karbona sahip 2 aromatik ve bir hetero halkadan oluşur.



Şekil 2.30. Flavonoidlerin Benzopiran (A-C) ve Sinnamoil Halkası

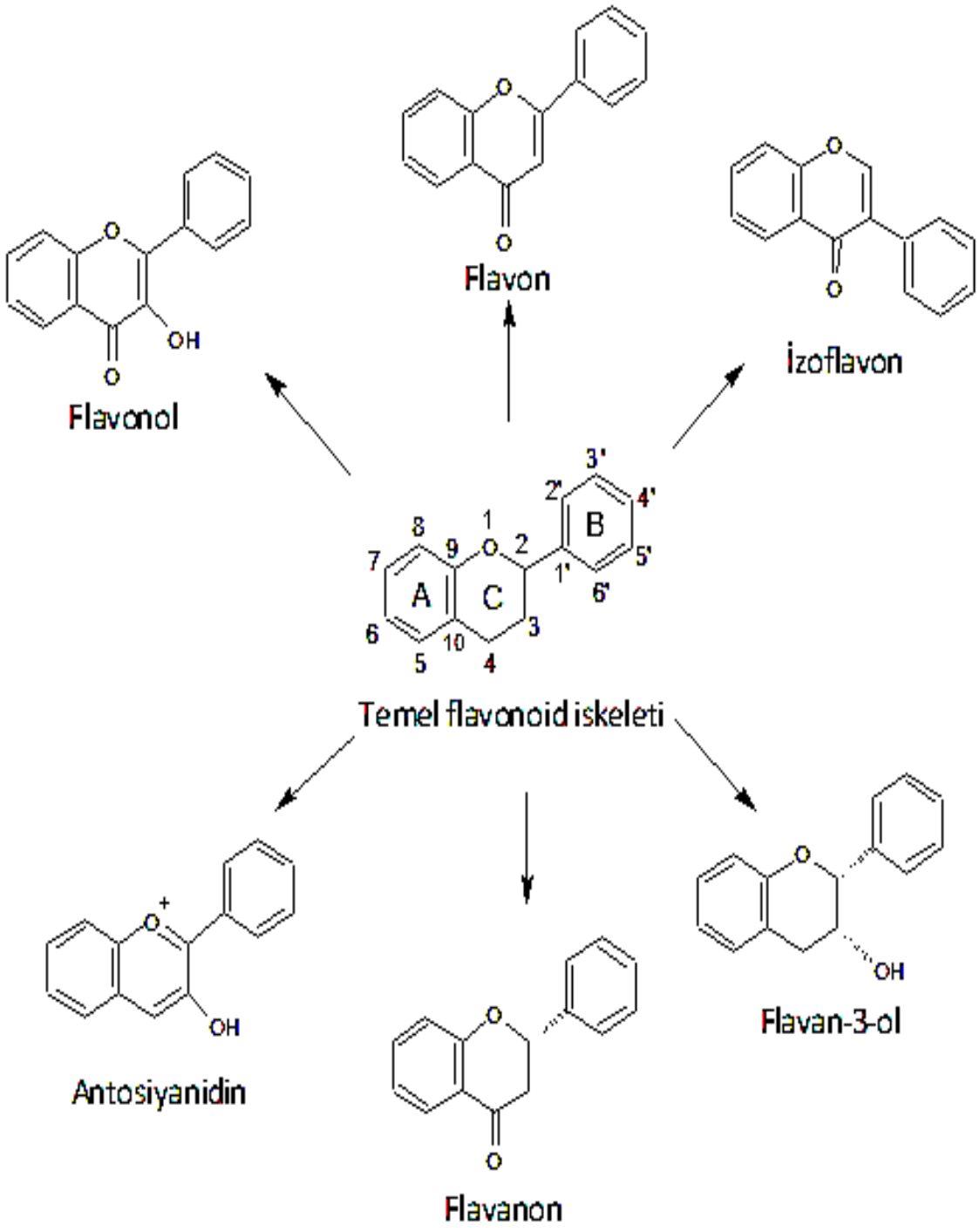
Fenolik yapıda oldukları için bazik maddelerle etkileştirildikleri zaman renklenirler ve böylece kromatogramlarda ya da çözeltilerde ayrımları kolaylıkla yapılabilir. Flavonoidler UV ışınlarını absorbe edip antioksidan aktivite gösterdiklerinden kanser tedavisinde kemoprotektif etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (Hertog ve ark. 1995). Bu aktivitelerinin şunlardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Oguz 2008).

-Aromatik halkaya bağlı hidroksil grupları (HO^-) üzerinden redoks tepkimeleri vererek serbest radikalleri giderebilirler

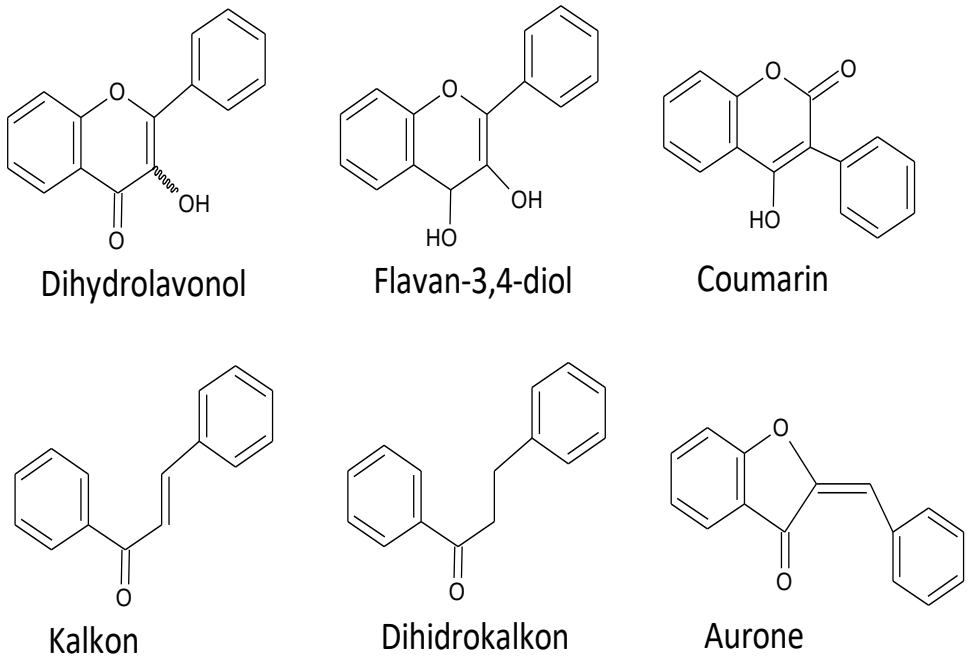
-Çoklu doymamış bağlar, aromatiklik ve hetero halka sayesinde kararlı bir elektron delokalizasyonu sağlamaları

-Yapılarında taşıdıkları metal şelatlama özelliğine sahip gruplar aracılığıyla serbest radikal oluşumunu engellemeleri

Flavonoidlerde ana iskeletin farklı yapıda düzenlenmesi, yapıya bağlı yan grupların çeşitleri, sayısı, özellikleri, bağlanma yerlerinin farklılığı gibi etmenlerden dolayı farklı yapılar gözlenir. Flavonoidlerde en yaygın görülen sübstitüent yapıya reaktiflik kazandıran hidroksil grupları (HO^-)' dır. Hidroksil grupları genellikle 4', 5 ve 7 pozisyonlarına bağlanırlar. Flavon, flavonol, flavon-3-ol, izoflavon, flavonon ve antosiyanidin majör flavonoid türleri; dihidroflavonol, flavan-3,4-diol, kumarin, kalkon, dihidrokalkon ve auron ise minör flavonoid türleridir.



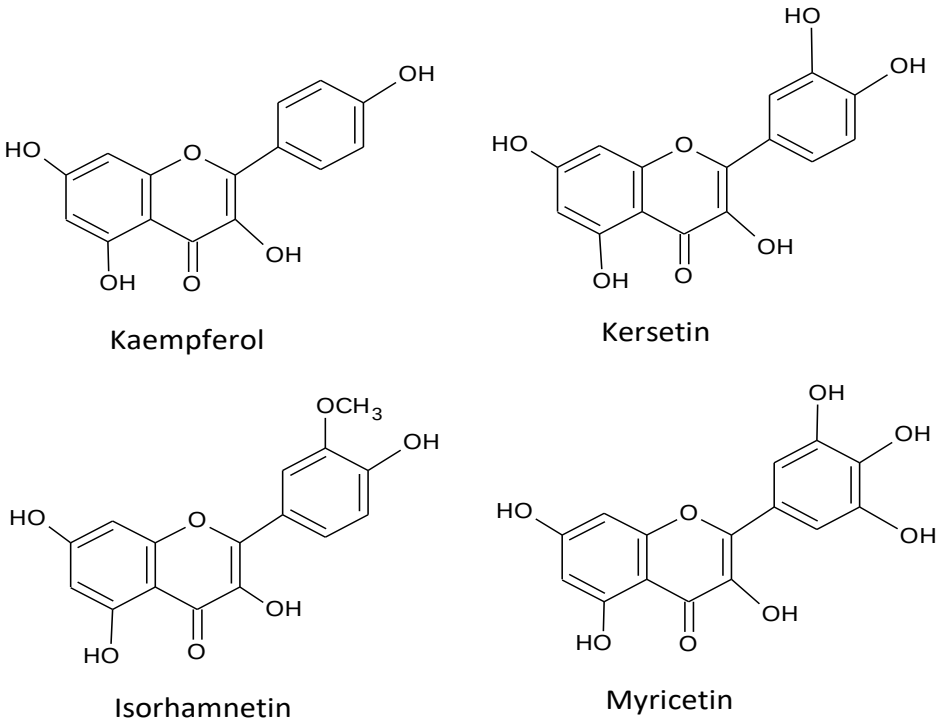
Şekil 2.31. Majör flavonoid iskeletleri



Şekil 2.32. Minör Flavonoid İskeletleri

2.6.1.1. Flavonoller

Flavonoidlerin en yaygın alt grubudurlar. Bitkilerde özlellikle yaprak ve taç yapraklarda yardımcı renk pigmentleri olarak bulunurlar. 200-300 çeşit flavonol agligonundan en yaygın görülenler myricetin, kersetin, isorhamnetin ve kaempferoldür. Çoğunlukla O-glikozitleri halindedirler. Bunların yanında fisetin ve rhamnetin gibi daha az rastlanan flavonol aglikonları da vardır. Glikozidik konjugasyonlar sonucu meydana gelirler. Genelde ana iskeletin C halkasının 3 pozisyonunda konjugasyon olur (Strack ve Wray 1992, Harborne 1988). Yapılan çalışmalar flavonollerin polimerizasyon derecelerinin artmasıyla süperoksit giderim aktivitelerinin de arttığı bildirilmektedir (Yamaguchi ve ark. 1999).



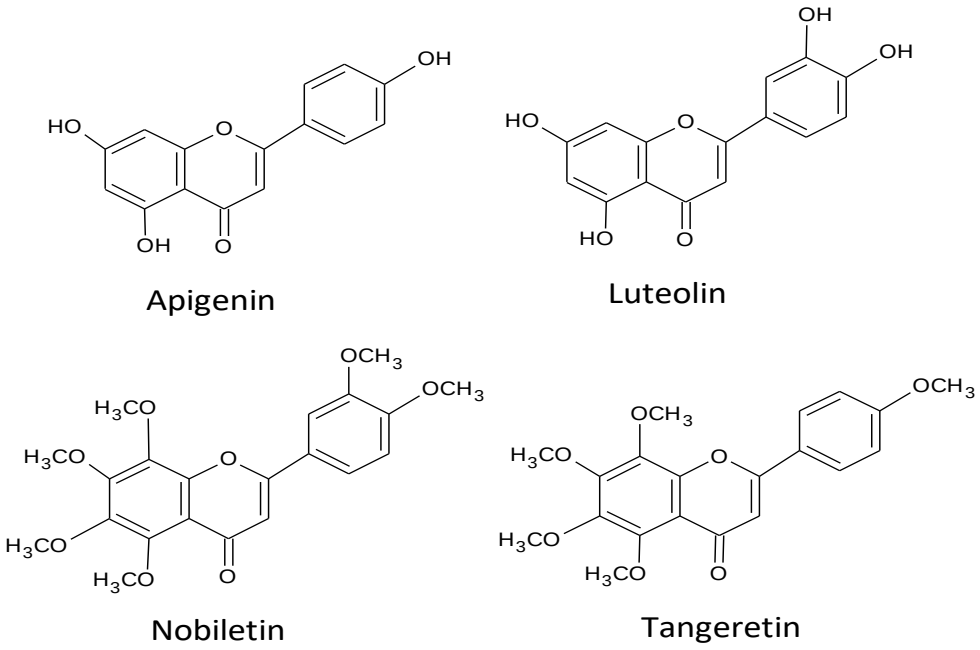
Şekil 2.33. Flavonol aglikonları: Kaempferol, kersetin, isorhamnetin, myricetin

2.6.1.2. Flavonlar

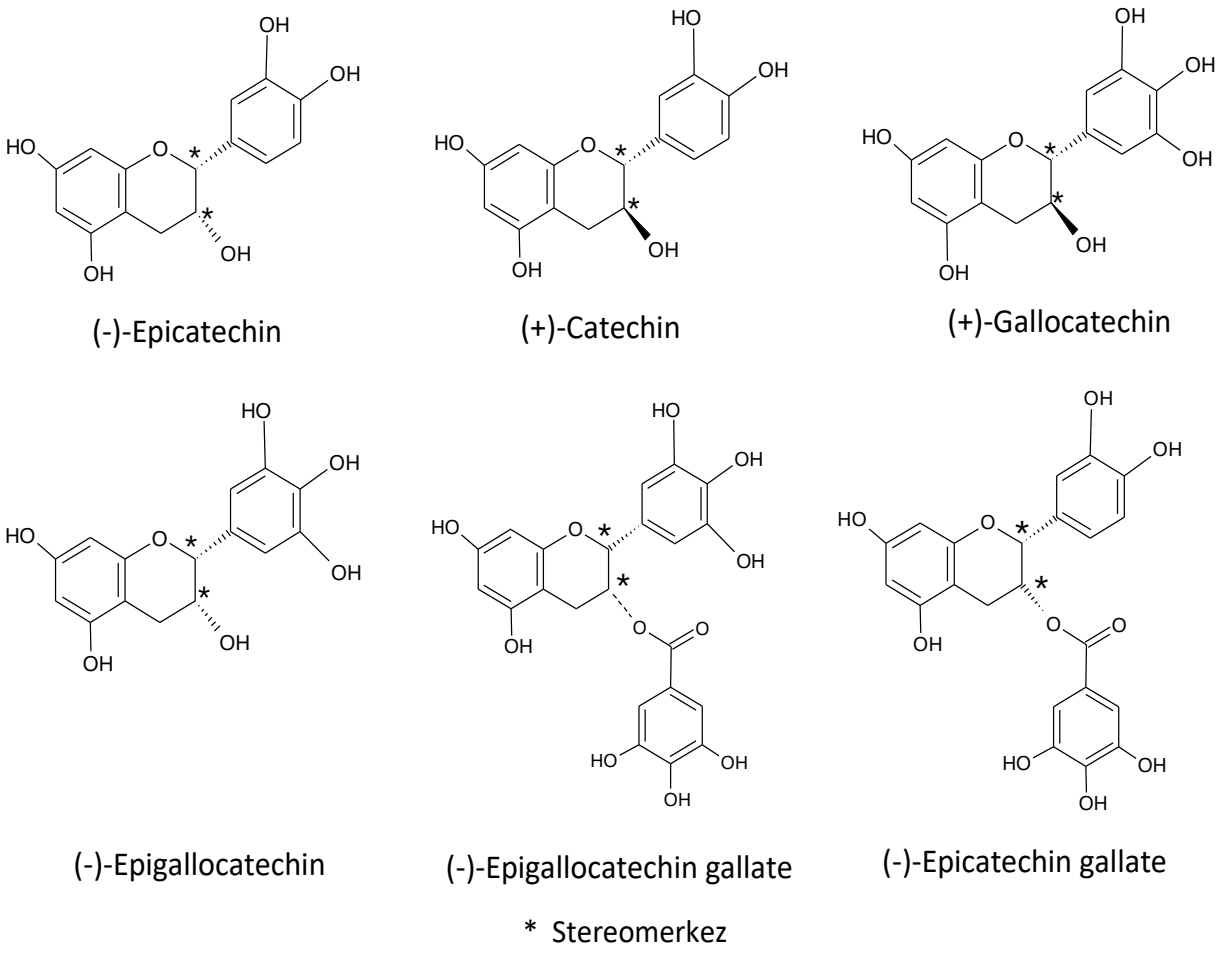
Yapıları flavonollere çok benzeyen flavonlar, bitkilerde serbest ya da glikozitleri şeklinde bulunurlar. Bir karbon karbon bağıyla şekerlere bağlıdırlar (Harborne J. B. 1988). Hidroksilasyonda görevli olduğu bilinen flavon türleri sadece Luteolin ve apigenindir. Flavonlar A ve C halka sübstitüsyonlarına sahip olduğu halde C3 pozisyonunda hidroksil eksikliği olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra hidroksilasyon, metilasyon, O- ve C- alkilasyonu, glikozilasyon ve bazı türlerinde polimetoksillenme gibi çeşitli sübstitüsyon yapabilirler (Gaitan ve ark. 1989).

2.6.1.3. Flavan-3-oller

Flavonoidlerin en karmaşık alt sınıfıdır. Flavan-3-ollerin başta antioksidan olmak üzere antikarsinojen, kalp ve sinir koruyucu, antimikrobiyal ve antiviral gibi birçok etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. En sık görülen türleri; (-)-Epikateşin, (+)-kateşin, (+)-gallokateşin, (-)-epigallokateşin, (-)-epigallokateşin gallat ve (-)-epikateşin gallattır. Flavan-3-oller, heterosiklik C- halkasında doygun C3 elementini içerdiğinden düzlemsel değildir (Clifford 1986).



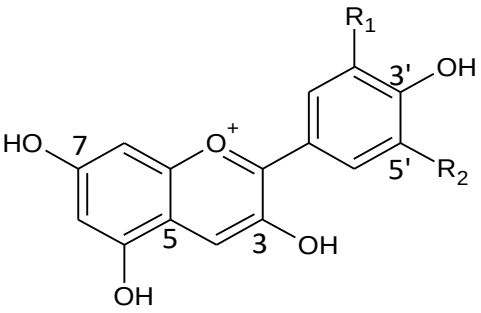
Şekil 2.34. Apigenin ve luteolin flavonları ile polimetoksillenmiş nobiletin ve tangeretin



Şekil 2.35. Flavan-3-ol Molekül Yapılarından Bazıları

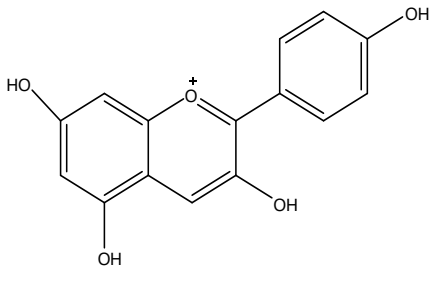
2.6.1.4. Antosiyanidinler

Antosiyanidinler bitki dünyasında geniş bir dağılım gösteren önemli bir flavonoit alt sınıfıdır. Bitkilerin meyve, yaprak, taç yaprak ve çiçeklerinde kırmızı, mavi, pembe ve mor renklerinden sorumlu renk pigmentleri olarak bulunurlar. Bununla beraber kök ve tohumda da bulunabilirler. Bitkileri aşırı ışıktan korumak ve polenleyici böcekleri çekmekte antosiyanidinlerin görevleri arasındadır. En sık görülen antosiyanidin türleri pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidin'dir. Antosiyanidinler aromatik temel yapı olan siyanidine hidroksil gruplarının, eklenip çıkarılması, metillenmesi veya glikozillenmesi şeklinde oluşurlar (Oliveira 2010, Harborne 1988).

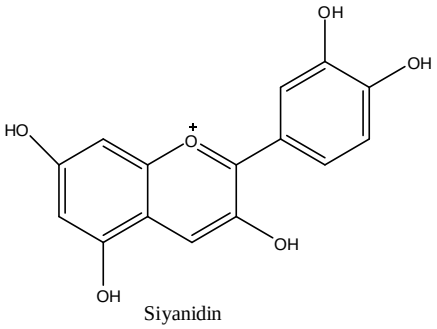


Antosiyanidin	R_1	R_2	M.A.
Siyanidin	OH	H	287
Delfinidin	OH	OH	303
Peonidin	OCH_3	H	301
Petunidin	OCH_3	OH	317
Malvidin	OCH_3	OCH_3	331

Şekil 2.36. Temel Yapı ve Genel Antosiyanidin Yapıları (M.A: . Molekül Ağırlığı)



Pelargonidin

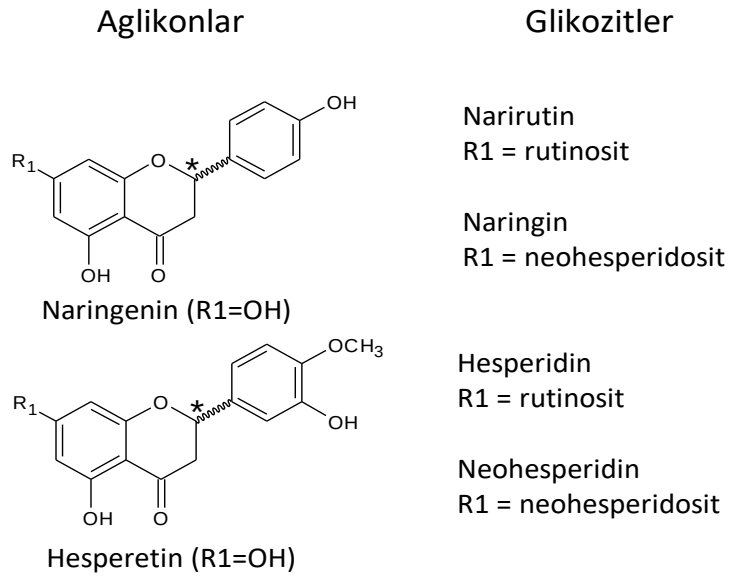


Siyanidin

Şekil 2.37. Pelargonidin ve Siyanidin Bileşikleri

2.6.1.5. Flavanonlar

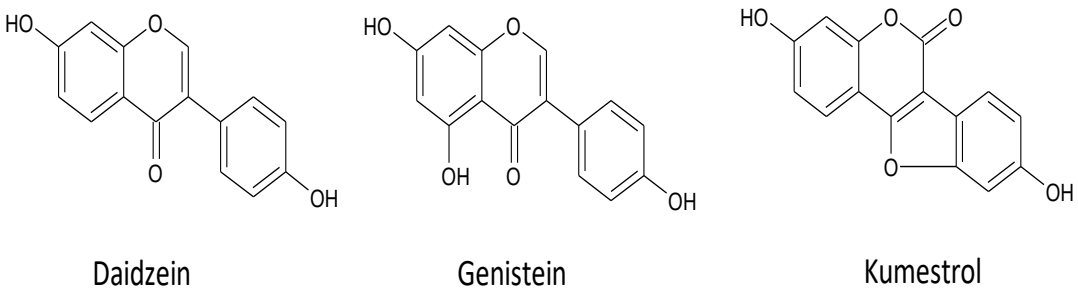
Bitkinin türüne göre bütün kısımlarda bulunabilen flavanonlara yaklaşık 42 bitki familyasında rastlanır. En yaygın görülen flavanonlar naringenin, hesperetin ve glikozitleridir (Iwashina 2000).



Şekil 2.38. Bazı Yaygın Flavanon Aglikonları ve Glikozitleri

2.6.1.6. İzoflavonlar

İzoflavonlarda B halkalarının ana iskeletin 2 nolu karbonuna değil 3 nolu karbonuna bağlı olması onların karakteristik özelliğidir. Antitümör, anti-menapozal osteoporoz ve anti-aging gibi etkilere sahip oldukları yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Daidzein, karanfilde bulunan ve zayıf östrojen olan genistein ve kumestrol önemli izoflavonoid örnekleridir (Zhang 2012, Boucher 2013).



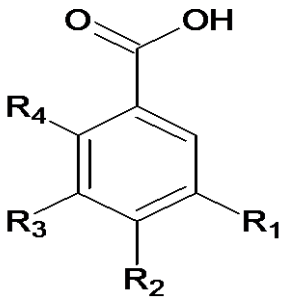
Şekil 2.39. Önemli İzoflavonoidler Olan Daidzein, Genistein ve Kumestrol

2.6.2. Fenolik Asitler

Temelde hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olarak ikiye ayrılan fenolik asitler fenolik bileşiklerin ana sınıflarındandır. En sık rastlanan fenolik asitler, vanilik asit, *p*-Hidroksibenzoik asit, syringic asit ve proto-kateşuik asitlerdir (Harborne 1988).

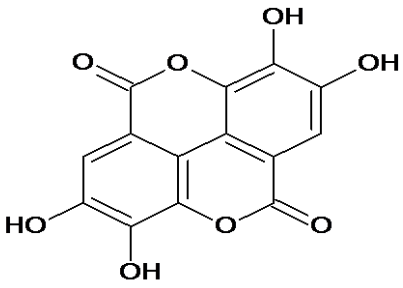
2.6.2.1. Hidroksibenzoik Asitler

Benzoik asit türevleri olup ana iskeletleri C6-C1 şeklinde olan Hidroksibenzoik asitler, yapılarındaki aromatik halkanın hidroksillenme ve metillenmesi ile çeşitlilik gösterirler. Yaygın olarak görülen hidroksibenzoik asitler ellagic, salisilik, p-hidroksibenzoik, vanilik, gallik, protokateşik, gentisik ve sirincik asitler olarak verilebilir (Yang ve ark. 2001).

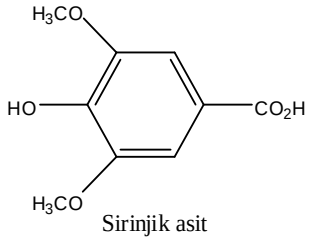


Bileşik	R_1	R_2	R_3	R_4
P-hidroksibenzoik asit	H	OH	H	H
Salisilik asit	H	H	H	OH
Protokateşik asit	OH	OH	H	H
Gentisik asit	OH	H	H	OH
Vanilik asit	OCH_3	OH	H	H
Gallik asit	OH	OH	OH	H
Syringic asit	OCH_3	OH	OCH_3	H

Şekil 2.40. Temel Yapı ve Genel Hidroksibenzoik Asit Yapıları



Ellagic asit

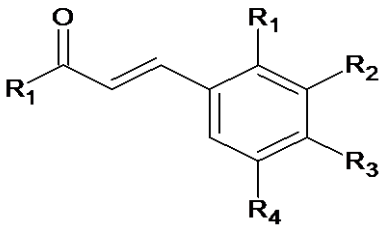


Sirinjik asit

Şekil 2.41. Doğada En Çok Bulunan Hidroksibenzoik Asitler

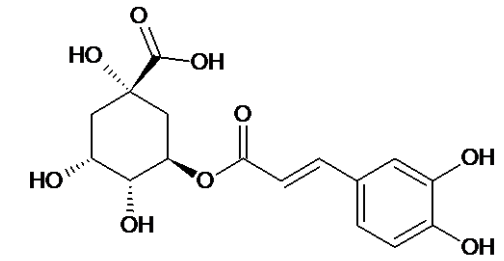
2.6.2.2. Hidroksisinnamik Asitler

Ana iskeletleri C6-C3 yapısına sahiptir. Bitkilerin büyümesi, gelişimi, üremesi ve hastalıklara karşı direncinde önemli görevleri vardır (Ververidis ve ark. 2007, Solecka 1997). Sıklıkla rastlanılan hidroksisinnamik asit türevleri olarak p-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asitler verilebilir.

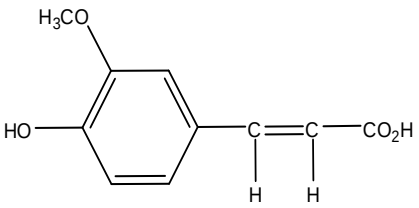


Bileşik	R_1	R_2	R_3	R_4
Sinnamik asit	H	H	H	H
o-kumarik asit	OH	H	H	H
m-kumarik asit	H	OH	H	H
p-kumarik asit	H	H	OH	H
Kafeik asit	H	OH	OH	H
Ferulik asit	H	OCH3	OH	H
Sinapik asit	H	OCH3	OH	OCH_3

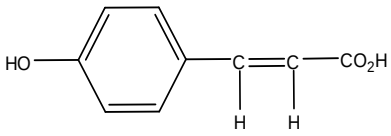
Şekil 2.42. Temel yapı ve Genel Hidroksisinnamik Asit Yapılar



Klorojenik asit



Ferulik asit



p-Kumarik asit

Şekil 2.43. Doğada En Çok Bulunan Hidroksisinnamik Asitler

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

8 farklı *Salvia L*. türünün (*S. blepharochlaena* (Hedge & Hub.-Mor), *S. kronenburgii* (Rech. fil.), *S. macrochlamys* (Boiss. & Kotschy), *S. pachystachy* (Trautv), *S. sclarea* (L.), *S. spinosa* (L.), *S. staminea* (Montbret & Aucher ex Bentham), *S. suffruticosa* (Montbret & Aucher ex Bentham)) toprak altı ve toprak üstü kısımları toplanmıştır. Kurutulmuş bitki örnekleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Herbaryumu' nda (VANF) saklanmaktadır. Bitkilerin herbaryum kayıtları ve toplanma yer ve zamanlarına ilişkin bilgiler tablo 1' de verilmiştir.

çizelge 3.1. *Salvia* Türlerinin Herbaryum Kayıtları

Türü	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
S. staminea	B9, Van, Gürpınar ilçesi, Güzeldere geçidi, açık yamaçlar, 2521 m,	17.6.2014	Mehmet Fırat 31000 (VANF)
S. kronenburgii	B9 Van; Van-Gürpınar arası, Kurubaş Geçidi, 2400m, erozyona uğramış çıplak alanlar,	28.05.2014	Mehmet Fırat 30650 (VANF)
S. suffruticosa	B9 Van; Van-Gürpınar arası 8. km, Kurubaş Geçidi, 1900m, erozyona uğramış çıplak alanlar,	28.05.2014	Mehmet Fırat 30657 (VANF).
S. pachystachys	B9, Van, Çaldıran ilçesi, Tendürek dağı, Hafif nemli açık yamaçlar, 2525 m,	15. 6. 2015	Mehmet Fırat 30878 (VANF)
S. sclarea	B9 Van, Bahçesaray, Elmayaka Köyü civarı, Bahçe içleri, 1800m,	18.06.2014	Mehmet Fırat 30921(VANF)
S. macrochlamys	B9 Van, Sisar deresi, Taşlık kayalık alanlar,1700m	18.06.2014	Mehmet Fırat 30907 (VANF)
S. blepharochlaena	Nevşehir-kapadokya	20.05.2015	Mehmet Fırat 30879(VANF)
S. spinosa	Mardin-Diyarbakır yolu Mazıdağı kavşağı	Haziran 2016	Mehmet Fırat 30908 (VANF)

3.2. Kullanılan Kimyasallar

3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Pirokatekol, sodyum karbonat (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu reaktifi (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + $CuSO_4$ (FCR)), kersetin, potasyum asetat (CH_3COOK), alüminyum nitrat ($Al(NO_3)_3$), Sodyumbikarbonat, potasyum asetat, %80'

lik etanol (CH_3CH_2OH), *β*- karoten, Linoleik asit, Tween-20, kloroform, BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), α-tokoferol, DPPH (1,1'-Difenil-2-pikrilhidrazil), bakır (II) klorür dihidrat ($CuCl_22H_2O$), neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), amonyum asetat (NH_4CH_3COO), ABTS (2,2′-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) ve potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$). Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.2.2. Antialzheimer Aktivite Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Asetiltiyokolin iyodür (ACI), bütiriltiyokolin iyodür (BuI), asetilkolin esteraz (AChE), bütirilkolin esteraz (BChE), sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_42H_2O$), sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($NaH_2PO_42H_2O$), sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$), DTNB (5,5'-ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asit)) ve galantamin. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.2.3. LC-MS/MS Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar:

p-Kumarik asit, *o*-kumarik asit, gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, kinik asit, 4-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rozmarinik asit, protokateşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, fumarik asit, malik asit, syringic asit, vanilin, kumarin, pirokatekol, fisetin, hesperetin, naringenin, rutin, kesretin, kamferol, mirisetin, kersitrin, luteolin, apigenin, krisin, hesperidin, likiritigenin, izokersitrin, apigetrin, roifolin, nikotiflorin, formik asit, amonyum format, asetonitril, ultra saf su.

3.3. Kullanılan Cihaz ve Diğer Gereçler

- ✓ Biotech EON Marka Eliza Okuyucu (Microplate Reader)
- ✓ Millipore marka Ultra saf su cihazı
- ✓ Nüve marka Etüv
- ✓ Shimadzu marka pH metre
- ✓ Shimadzu marka Hassas terazi
- ✓ Saf su cihazı
- ✓ Derin dondurucu -25/ Lab Companion FMG-650
- ✓ IKA RV10 Model Evaporatör (Buchi V850 model vakum kontrol ünitesi ve Lauda RA8 model soğutucu ile birlikte)
- ✓ IKA RT5 WERKE Model Karıştırıcı

- ✓ Vorteks/ Stuart SA8 karıştırıcı
- ✓ Jeio Tech Marka 5 L Ultrasonik banyo
- ✓ Bitki öğütme makinesi
- ✓ Shimadzu Marka LCMS 8040 Model
- ✓ LC-MS/MS kütle spektrometresi
- ✓ Derin dondurucu -86/ Glacier NU-9668
- ✓ Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)
- ✓ Otomatik tekli ve çoklu pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf, Almanya)
- ✓ Shimadzu marka DAD dedektörlü HPLC
- ✓ Shimadzu marka MS// HPLC
- ✓ Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2,1 mm, 2μm) kolon

3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı

Salvia türlerinin herbiri için kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları ile bunların karışımından oluşan mixler ayrı ayrı öğütülüp hassas terazi ile tartıldı. Tartılan materyal behere alındı. Üzerini geçecek miktarda etanol eklenip beherin ağzı parafilm ile kapatıldı. Bir gece bekletilen örnekler ultrasonik su banyosunda 20 dk bırakıldıktan sonra bir balona huni ve süzgeç yardımıyla süzüldü. Bu işlemler 3 defa tekrar edildi ve elde edilen süzüntülerin rotaevaporatörde çözücüleri uçurulduktan sonra ham ekstreler darası alınmış flakonara alınıp çeker ocak içerisinde kurumaya bırakıldı. Kuruyan ekstrelerin ependorf tüpler içerisinde etanol ile 4000 ppm' lik stok çözeltileri hazırlandı.

Çizelge 3.2. Elde Edilen Ekstrelerin % Verimleri

Bitki Materyali	Ekstrelerin kısaltmaları	Verimleri (%)	Bitki Materyali	Ekstrelerin kısaltmaları	Verimleri (%)
***S. staminea* (karışık)**	SSt-M	10.80	***S. sclarea*(karışık)**	SSc-M	7.90
***S. staminea* (kök)**	SSt-R	3.70	***S. sclarea*(kök)**	SSc-R	5.31
***S. staminea* (dal)**	SSt-S	4.34	***S. sclarea*(dal)**	SSc-S	6.32
***S. staminea* (yaprak)**	SSt-L	4.43	***S. sclarea*(yaprak)**	SSc-L	7.42
***S. staminea* (çiçek)**	SSt-F	8.09	***S. sclarea*(çiçek)**	SSc-F	17.46
***S. Kronenburgii* (karışık)**	SK-M	7.91	***S. macrochlamys* (karışık)**	SM-M	13.60
***S. Kronenburgii* (kök)**	SK-R	3.83	***S. macrochlamys* (kök)**	SM-R	7.03

Çizelge 3.2. Elde Edilen Ekstrelerin % Verimleri (devamı)

Bitki Materyali	Ekstrelerin kısaltmaları	Verimleri (%)	Bitki Materyali	Ekstrelerin kısaltmaları	Verimleri (%)
***S. Kronenburgii* (dal)**	SK-S	3.07	***S. macrochlamys* (dal)**	SM-S	6.10
***S. Kronenburgii* (yaprak)**	SK-L	8.49	***S. macrochlamys* (yaprak)**	SM-L	8.11
***S. Kronenburgii* (çiçek)**	SK-F	4.78	***S. macrochlamys* (çiçek)**	SM-F	28.85
***S. suffruticosa* (karışık)**	SSf-M	7.46	***S. blepharochlaena* (karışık)**	SB-M	6.33
***S. suffruticosa* (kök)**	SSf-R	2.23	***S. blepharochlaena* (kök)**	SB-R	3.84
***S. suffruticosa* (dal)**	SSf-S	3.82	***S. blepharochlaena* (dal)**	SB-S	4.98
***S. suffruticosa* (yaprak)**	SSf-L	5.74	***S. blepharochlaena* (yaprak)**	SB-L	11.63
***S. suffruticosa* (çiçek)**	SSf-F	2.64	***S. blepharochlaena* (çiçek)**	SB-F	6.92
***S. pachystachys* (karışık)**	SP-M	6.87	***S. spinosa* (Karışık)**	SSp-M	8.01
***S. pachystachys* (kök)**	SP-R	4.02	***S. spinosa* (kök)**	SSp-R	4.79
***S. pachystachys* (dal)**	SP-S	4.86	***S. spinosa* (dal)**	SSp-S	7.28
***S. pachystachys* (yaprak)**	SP-L	6.92	***S. spinosa* (yaprak)**	SSp-L	5.21
***S. pachystachys* (çiçek)**	SP-F	18.16	***S. spinosa* (çiçek)**	SSp-F	12.49

3.5. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

3.5.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 2'lik Sodyum karbonat çözeltisi 2 g Na_2CO_3 artılıp 100 mL'lik balon jojeye alındı ve hacmi saf su ile tamamlanarak hazırlandı.

100 ppm'lik Pirokatekol çözeltisi 10mg pirokatekol tartılıp 100 mL'lik balon jojeye alındı ve hacmi saf su ile tamamlanarak hazırlandı.

FCR satın alındığı kutudan doğrudan alınıp kullanıldı.

3.5.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 10'luk Alüminyum nitrat çözeltisi: $Al(NO_3)_3.9H_2O$' dan 1.76 g tartılıp 10 mL' lik balon jojeye alındı. Saf su ile hacmi tamamlanarak % 10' luk $Al(NO_3)_3$ çözeltisi hazırlandı.

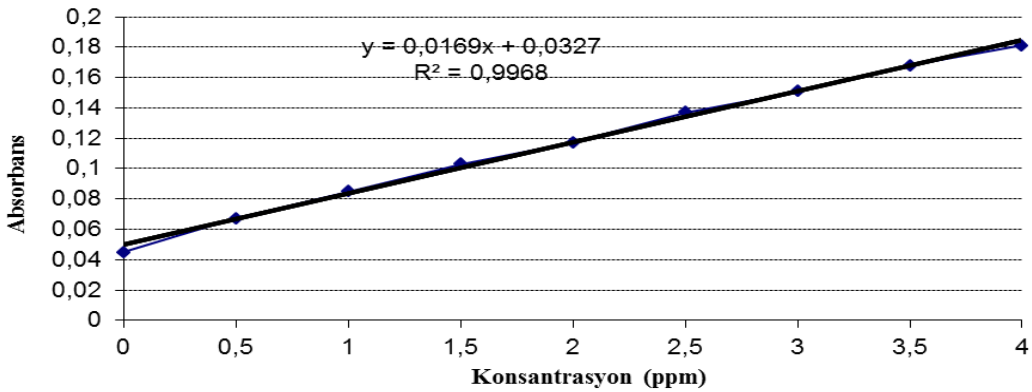
1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0,9815 g CH_3COOK tartılıp 10 mL' lik balon jojeye alındı. Saf su ile hacmi tamamlanıp çözünmesi sağlanarak 1 M' lık CH_3COOK çözeltisi hazırlandı.

1000 ppm'lik Kersetin çözeltisi: 25 mg kersetin tartıldı ve 25 ml' lik balon jojeye alındı. Etil alkol ile hacmi tamamlanarak 1000 ppm' lik kersetin çözeltisi hazırlandı.

3.5.3. Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi

Toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton 1977). Eliza plağının A sırasındaki ilk 9 kuyucuğuna 100 ppm' lik pirokatekol çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınıp üzerine sırasıyla 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ve 0 µL saf su eklendi. Çoklu pipet yardımıyla hacimleri 176 µL saf su eklenerek 184 µL' ye tamamlandı. Diğer kuyucuklara etanol ekstrelerinin 4000 ppm' lik stok çözeltileri seyreltilerek hazırlanan 1000 ppm' lik çözeltilerinden her örnek çözeltisinden 3 paralel olarak 4' er µL alındı. Üzerine çoklu pipetle 180 µL saf su eklenerek hacmi 184 µL' ye tamamlandı. Hem pirokatekol çözeltilerine hem de örneklere 4 µL FCR eklendi ve 3 dk sonra %2' lik Na_2CO_3 çözeltisinden 12 µL ilave edildi. Karışım 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 760 nm' de absorbansları okundu. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart pirokatekol grafiğinden (Şekil 3.1.) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0.0169\ (\mu g) + 0.0327 \qquad (R^2: 0.9968)$$

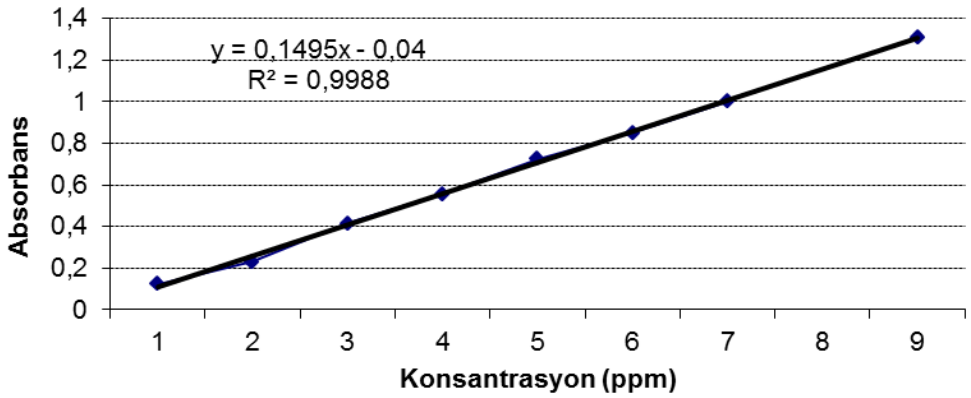


Şekil 3.1. Pirokatekolün Ölçü Grafiği

3.5.4. Toplam Flavonoit Miktar Tayin Yöntemi

Ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri alüminyum nitrat metodu ile kersetine eşdeğer olarak belirlendi (Moreno ve ark. 2000). 1000 ppm'lik kersetin çözeltiden ilk sıradaki 9 kuyucuğa sırasıyla 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri %80'lik etanol ile 184 µL'ye tamamlandı. Diğer kuyucuklara etanol ekstrelerinin 4000 ppm'lik stok çözeltileri seyreltilerek hazırlanan 1000 ppm'lik çözeltilerinden her örnek çözeltisinden 3 paralel olarak 20'şer µL alınıp 172 µL %80' lik etanol ilave edildi. Hem kersetin çözeltilerine hem de örneklere 4 µL1 M' lık potasyum asetat eklendi ve 1 dk sonra hazırlanan %10'luk alüminyum nitrat çözeltisinden 4 µL ilave edildi. 40 dakikalık inkübasyon süresinin ardından 415 nm'de mikroplaka okuyucu ile absorbansları okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri, standart kersetin grafiğinden (Şekil 3.2.) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

Absorbans = 0.1495(µg) - 0.04 (R^2: 0.9988)



Şekil 3.2. Kersetinin Ölçü Grafiği

3.6. Antioksidan Testleri

3.6.1. Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

1000 ppm BHT (2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisi: 10 mg BHT tartılıp 10 mL'lik balon jojeye alındı. Hacmi etanol ile tamamlanıp çözünmesi sağlanarak 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı.

1000 ppm α-Tokoferol çözeltisi: % 97'lik α-tokoferol' den 10.31 mgtartılıp 10 mL'lik balon jojeye alındı ve hacmi etanolle tamamlanarak 1000 ppm'lik α-tokoferol çözeltisi hazırlandı.

4000 μM Galantamin çözeltisinin hazırlanması: 2.3 mg galantamin tartıldı ve2 mL etanolde çözülerek hazırlandı.

3.6.2. β–Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

β-Karoten-Linoleik Asit Çözeltisinin Hazırlanması: β-Karotenden 0.2 mg tartılıp 1 mL kloroformda çözülerek bir balona alındı. Bu karışıma 20 μL lineloik asit ve 200 μL Tween–20 ilave edilip iyice karıştırıldı. Daha sonra kloroform rotaevaporatörde uçuruldu ve üzerine oksijen ile doyurulmuş 50 mL deiyonize su (saf sudan 2 saat boyunca oksijen geçirilerek elde edildi) ilave edilip kuvvetlice çalkalanarak hazırlandı. Bu çözelti hazırlandığı anda bekletilmeden kullanıldı.

3.6.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılıp 100 mL' lik balon jojede etil alkolle hacmi tamamlanarak 0.1 mM DPPH çözeltisi hazırlandı.

3.6.4. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

7 mM ABTS katyon radikalinin hazırlanması: 19.2 mg ABTS tartıldıktan sonra 5 mL suda çözüldü. 3.3 mg toz halinde potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$) tartılıp üzerine eklendi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 16 saat karanlıkta bekletildikten absorbsiyonu ~ 0.70 olacak şekilde seyreltildi.

3.6.5. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

10 mM Bakır (II) klorür dihidrat çözeltisinin hazırlanması: 42.62 mg $CuCl_2.2H_2O$ (Bakır (II) klorür dihidrat) tartılıp 25 mL suda çözülerek hazırlandı.

1 M Amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 1.927 g NH_4OAc (Amonyum asetat) tartılarak 25 mL suda çözüldü ve pH= 7'ye (amonyak ve asetik asit kullanılarak) ayarlandı.

7,5 mM Neokuproin çözeltisinin hazırlanması: Neokuproinden 39.05 mg tartılıp 25 mL etil alkolde çözülerek hazırlandı.

3.6.6. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

0,1 M NaH_2PO_4 Çözeltisinin hazırlanması: 1.56 g NaH_2PO_4 tartılıp 100 mL distile suda çözüldü.

0,1 M Na_2HPO_4 Çözeltisinin hazırlanması: 3.556 g Na_2HPO_4 tartılıp 200 mL distile suda çözüldü.

0,1 M pH=8 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 94.7 mL Na_2HPO_4 ve 5.3 mL NaH_2PO_4çözeltilerinden alındıktan sonra 100 mL distile su eklenerek hazırlandı.

0,1 M pH=7 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 3.9 mL NaH_2PO_4 ve 6.1 mL Na_2HPO_4çözeltilerinden alınarak 10 mL distile su eklenerek hazırlandı.

5 mM DTNB Çözeltisinin hazırlanması: DTNB reaktifinden 16 mg tartılıp 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözüldü. 7.5 mg $NaHCO_3$ tartılıp 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözüldükten sonra DTNB çözeltisiyle karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti karışımının hacmi 2 mL pH=7 tampon çözeltisi eklenerek 4 mL'ye tamamlandı. Kullanma aşamasında 4 mL pH=8 tampon çözeltisi ilave edildi.

Asetiltiyokolin iyodür (AcI): 32.8 mg AcI tartılıp üzerine 8 mL saf su eklendi. Kullanım sırasında hacmi 8 ml pH=8 tamponu eklenerek 16 mL'ye tamamlandı.

Butiriltiyokolin iyodür (BuI)**:** 4 mg BuI tartılıp üzerine 8 mL saf su eklendi. Kullanımısırasında hacmi 8 mL pH=8 tamponu eklenerek 16 mL'ye tamamlandı.

Asetilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1.17 mg (500 U) AChE enzimi alınıp 5 mL pH=8 tamponunda çözüldü ve 1'er mL'lik beş ayrı bölüme ayrıldı. Her biri için 0.234 mg/ml'lik konsantrasyon sağlanmış oldu ve 1 mL'lik stoklar da her birinde 0.02925 mg enzim bulunan 125 µL'lik 8 eş parçaya bölündü. Bu 8 parça enzim çözeltisinin herbirine 460 µL pH=8 tampon çözeltisi eklendi. Elde edilen 585 µL çözelti daha sonra kullanılmak üzere 25 µL'lik 23 ayrı eppendorf tüpealınıp derin dondurucuda bekletildi.

Stok çözeltiler kullanılmadan önce pH=8 tampon çözeltisi ilave edilerek 2125 µL' ye tamamlandı.

Butirilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1 mg BChE enzimi 5 mL pH=8 tamponu ile çözüldü. Bu çözelti 300 µL'lik stoklar halinde viyallere alınıp daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi. Hazırlanan stok çözeltilere kullanılmadan önce 1850 µL pH=8 tampon çözeltisinden ilave edilerek kullanıma hazır hale getirilirdi.

3.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için çalışılan 8 *Salvia* türünün etanol ekstrelerinin β-karoten-linoleik asit test sistemi ile toplam antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim ve CUPRAC yöntemleri ile aktiviteleri tayin edildi. Bütün yöntemlerin grafiklerindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

3.7.1. β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Toplam Antioksidan Aktivite Tayini)

Yöntem, linoleik asit yükseltgenmesi sonucu oluşan konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Dapkevicius ve ark. 1998). *Salvia* türlerinin etanol ekstrelerinin 4000 ppm' lik stok çözeltileri seyreltilerek 1000 ppm'lik çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden herbir örnek için 3 paralel olacak şekilde 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak saf su ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı. Tüm plakalara örnekler dışında standart olarak BHT ve α-Toc ile kontrol (kör) için etanol bırakıldı. Aynı işlemler kontrol ve standartlar için de uygulandı. Standart, kontrol ve örneklerin üzerine β-karoten-linoleik asit çözeltisinden 160 µL ilave edilir edilmez mikroplaka reader ile 490 nm'de başlangıç absorbansları ölçüldü ve sonra 50 ^{o}C'de 120 dakikalık inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon süresi sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü (Miller 1971). β-Karotenin renk açılım oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$R = \ln (a/b)/t$

ln: Doğal logaritma

a: Başlangıç absorbansı

b: İnkübasyonundan sonraki absorbans

t: Zaman (dakika)

Toplam antioksidan aktivite, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan Aktivite (%İnhibisyon) = $[(R_{kontrol} - R_{örnek}) / R_{kontrol}]$ x 100

$R_{kontrol}$: Kontrolün renk açılım oranı

$R_{örnek}$: Örneğin renk açılım oranı

Ayrıca örneklerin aktiviteleri excel'de % inhibisyon-konsantrasyon grafiği çizilerek elde edilen veriler yardımıyla IC_{50} cinsinden hesaplandı.

3.7.2. DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois 1958). *Salvia* türlerinin etanol ekstrelerinin 4000 ppm'lik stok çözeltileri seyreltilerek 1000 ppm'lik çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden herbir örnek için 3 paralel olacak şekilde 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak saf su ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı. Tüm plakalara örnekler dışında standart olarak BHT ve α-Toc ile kontrol (kör) için etanol bırakıldı. Aynı işlemler kontrol ve standartlar için de uygulandı. Standart, kontrol ve örneklerin üzerine 0.1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplanıp kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon = $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

A: Absorbans

Ayrıca örneklerin aktiviteleri excel'de % inhibisyon-konsantrasyon grafiği çizilerek elde edilen veriler yardımıyla IC_{50} cinsinden hesaplandı.

3.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

Ekstrelerin ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlendi (Re ve ark. 1999). *Salvia* türlerinin etanol ekstrelerinin 4000 ppm'lik stok çözeltileri seyreltilerek 1000 ppm'lik çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden herbir örnek için 3 paralel olacak şekilde 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak saf su ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı. Tüm plakalara örnekler dışında standart olarak BHT ve α-Toc ile kontrol (kör) için etanol bırakıldı. Aynı işlemler kontrol ve standartlar için de uygulandı. Standart, kontrol ve örneklerin üzerine 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisinden 160 µL ilave edilip karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon $= (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Ayrıca örneklerin aktiviteleri excel'de % inhibisyon-konsantrasyon grafiği çizilerek elde edilen veriler yardımıyla IC_{50} cinsinden hesaplandı.

3.7.4. CUPRAC Yöntemi

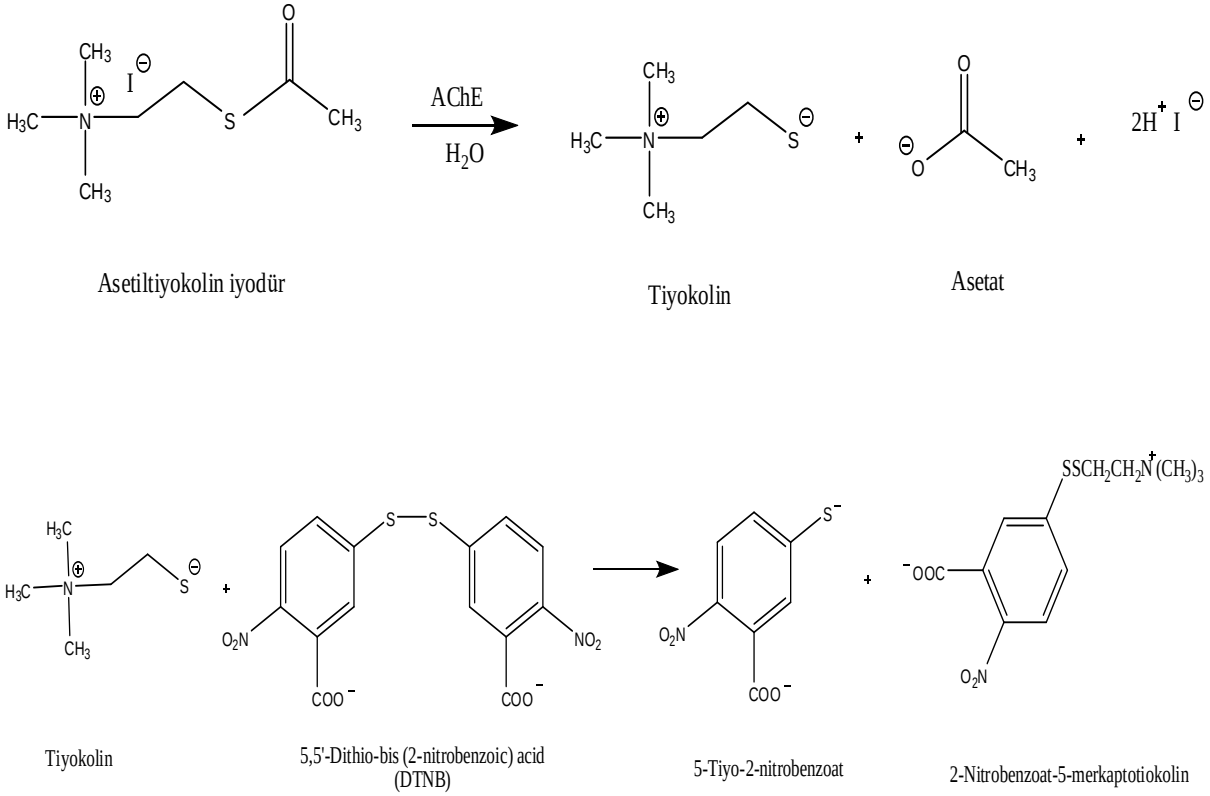
Yöntem, antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksinin renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenmesine dayanır. 3'er paralel olmak üzere 1000 ppm' lik örnek çözeltilerden 2.5, 6.25, 12.5 ve 25 µL alınarak saf su ile hacimleri 67 µL'ye tamamlandı. Tüm plakalara örnekler dışında standart olarak BHT ve α-Toc ile kontrol (kör) için etanol bırakıldı. Aynı işlemler kontrol ve standartlar için de uygulandı. Standart, kontrol ve örneklerin üzerine son konsantrasyonlarının 10, 25, 50, 100 µg/mL olması için sırasıyla Cu (II), neokuproin ve NH_4OAc tamponun herbirinden 61µl ilave edildi ve 1 saat sonra 450 nm'de absorbans ölçüldü (Apak ve ark. 2004). % İnhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon $= (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Örneklerin aktiviteleri excel'de % inhibisyon-konsantrasyon grafiği çizilerek elde edilen veriler yardımıyla IC_{50} cinsinden hesaplandı ve absorbans değerleri standartlara karşı değerlendirildi.

3.7.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Antikolinesteraz aktivite tayini, AChE' nin asetilkolini parçalaması sonuç oluşan tiyokolinin DTNB ilesarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermek üzere reaksiyona girdiği kolorimetrik bir yöntem olan Ellman metodu ile 96 kuyucuklu mikroplakalarda gerçekleştirildi (Ellman ve ark. 1961).



Şekil 3.3. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Reaksiyonunun İşleyiş Mekanizması

3.7.5.1. AChE Aktivite Testi

Test Ellman metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Mikroplaka kuyucuklarına ilk olarak çoklu pipetle 130 µL fosfat tamponu (pH =8) eklendi. Üzerine ekstrelerin 4000 ppm' lik etanol çözeltilerinden 10 µL ve AChE çözeltisinden 20 µL ilave edilip mikroplaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda ilk absorbans ölçüldü. Bu çözelti 15 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra 20 µL DTNB ve 20 µL substrat (asetiltiyokolin iyodür) ilave edildi. Oda sıcaklığında 10 dakikalık inkübasyonun ardında mikroplaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda ikinci absorbans değerleri okundu. AChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon $= (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak galantamin ve kontrol olarak etanol kullanıldı.

3.7.5.2. BChE Aktivite Testi

AChE aktivite testinde uygulunan yöntem aynı şekilde BChE aktivitesi tayini için de uygulandı. Farklı olarak butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak butirilkolinesteraz enzimi (BChE), substrat olarak ise butiriltiyokolin iyodür (BuI) kullanıldı. BChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon $= (A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak galantamin ve kontrol olarak etanol kullanıldı.

3.7.6. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

37 Fitokimyasalın nicel ve nitel analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Neexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LC/MS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayrım, Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2,1 mm, 2μm) kolon ile kromatografik ayrım gerçekleştirilirken kolon fırının sıcaklığı 35 ºC'ye ayarlandı. Elüsyon gradiyentinde mobil faz A için ultrasaf su ve mobil faz B için asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca, daha iyi bir kromatografik ayrım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 10 mM amonyum format ve % 0,1 formik asit eklenmiştir. Analitlerin optimum ayrımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok denemenin ardından en uygun UHPLC gradiyent profili 5-20% B (0-10 dk), 20% B (10-22 dk), 20-50% B (22-36 dk), 95% B (36-40), 5% B (40-50 dk) şeklinde optimize edilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0,25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlenmiştir.

Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. LC-ESI-MS/MS verileri

cihazda kayıtlı olan by LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japonya) yazılımı ile toplanarak işlenmiştir. Analitlerin kantitatif analizi için cihaz ile MRM (multiple reaction monitoring) modunda çalışılmış ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) (ilki nicel amaçlı diğeri nitel amaçlı kullanılmıştır) ile kombine edilmiştir. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır: ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 ºC, DL sıcaklığı; 250 ºC, heat block sıcaklığı; 400 ºC, nebulizer gaz (N_2) akışı; 3 L/dk ve kurutma gazı (N_2) sıcaklığı; 15 L/dk.

3.7.7. Kemometrik Analiz

Sekiz *Salvia* türünün çoklu değişken analizleri, temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) gibi kemometrik teknikler kullanılarak sınıflandırılmıştır. İlk iki temel bileşen toplam varyansın % 33,00'ını, ilk on temel bileşen varyansın % 84,40 ını açıklamaktadır.

3.7.7.1. Kemometrik Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar Minitab 16.2.1. istatistiksel yazılım (MINITAB Inc, 2010) kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada *Salvia* türlerinin 28 fenolik bileşenine ilişkin çoklu değişken analizi, temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) teknikleri kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. LC-MS/MS ile 37 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi

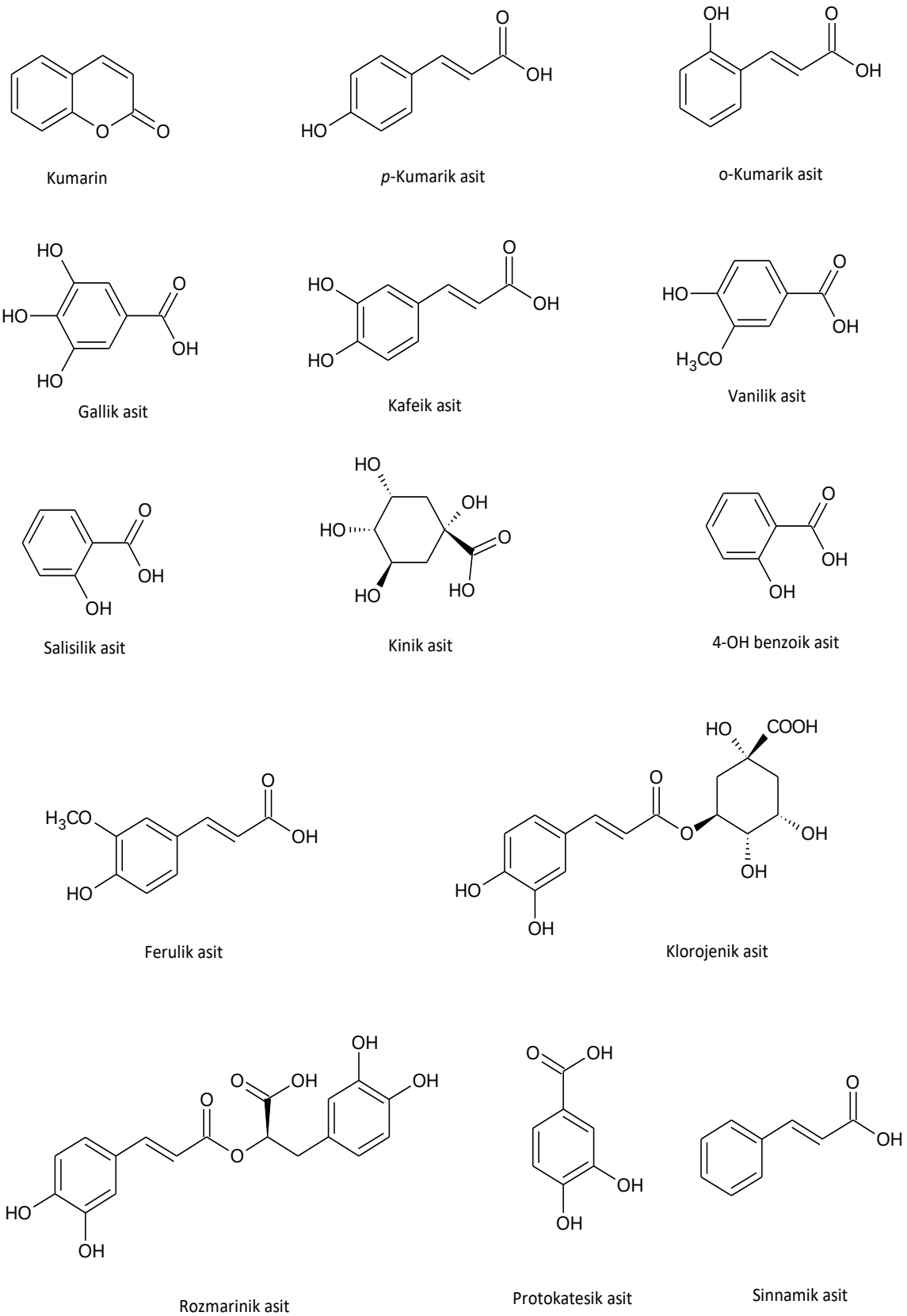
Tez çalışmasının bu kısmında, çalışılan *Salvia* türlerinin LC-MS/MS cihazı ile çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinin sekonder metabolit profilleri çıkarıldı. LC-MS/MS çalışmasında 37 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizi için Yrd. Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ tarafından validasyon çalışmaları yapılan çok kapsamlı bir metot kullanıldı.

LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (alıkonma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar: standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı (R^2), bağıl standart sapma (RSD), belirleme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ (µg/L)), 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2) (U (%)) ek 73' te verilmiştir.

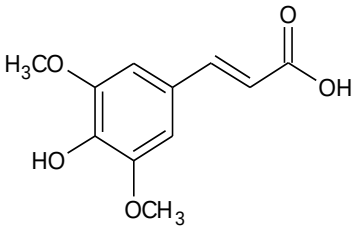
LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasallar ve sınıfları şunlardır:

- **Fenolik Asitler (15 adet):** p-kumarik asit, o-kumarik asit, gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, salisilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, klorojenik asit, rozmarinik asit, protokateşik asit, sinnamik asit, sinapinik asit, sirinjik asit, pirokatekol.
- **Flavonoitler (17 adet):** fisetin, hesperetin, naringenin, rutin, kersetin, kamferol, mirisetin, kersitrin, luteolin, apigenin, krisin, hesperidin, likiritigenin, izokersitrin, apigetrin (cosmosiin), roifolin, nikotiflorin.
- **Fenolik Olmayan Organik Asitler (3 adet):** kinik asit, malik asit, fumarik asit.
- **Fenolik Aldehit (1 adet):** vanilin.
- **Benzopiran (1 adet):** kumarin.

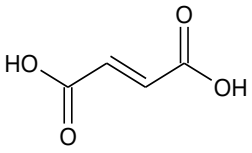
LC-MS/MS metodunda çalışılan 37 kimyasalın molekül yapıları Şekil 4.1. de verilmiştir.



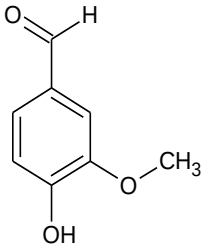
Şekil 4.1. LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları



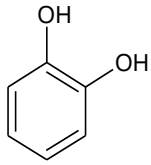
Sinapinik asit



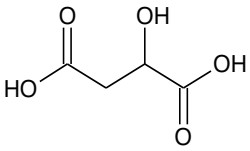
Fumarik asit



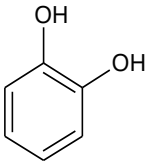
Vanilin



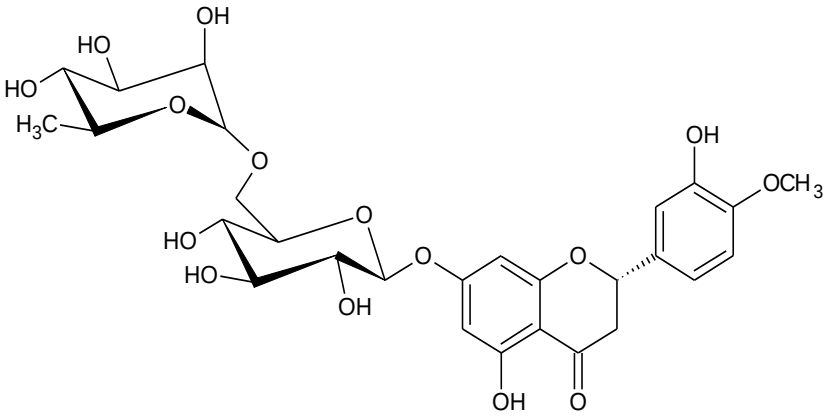
Pirokatekol



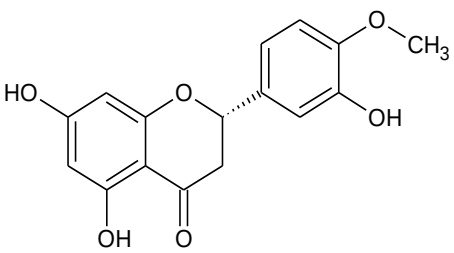
Malik asit



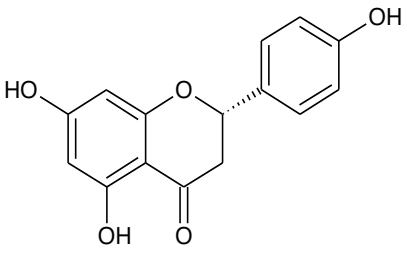
Sirinjik asit



Hesperidin

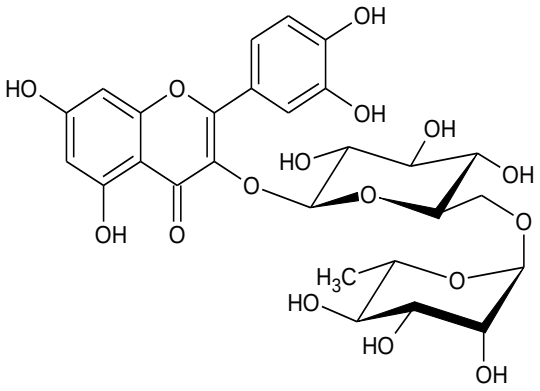


Hesperetin

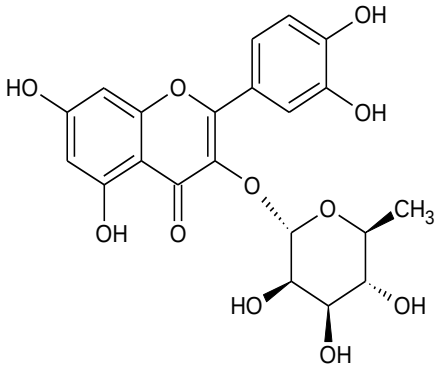


Naringenin

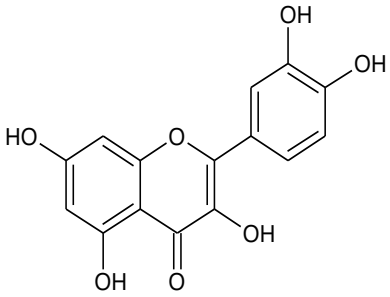
Şekil 4.1. LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (devam)



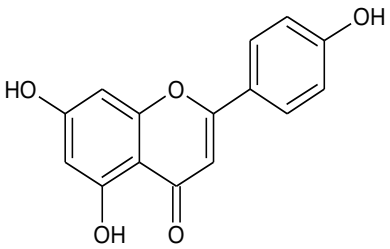
Rutin



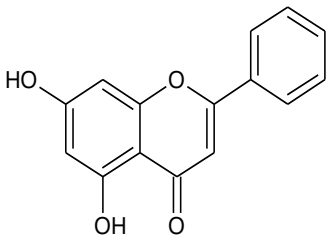
Kersitrin



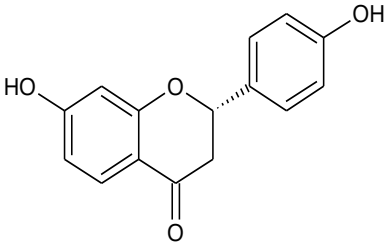
Kersetin



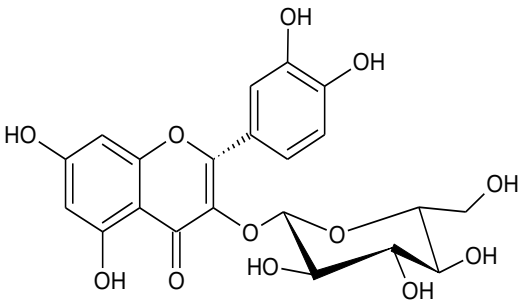
Apigenin



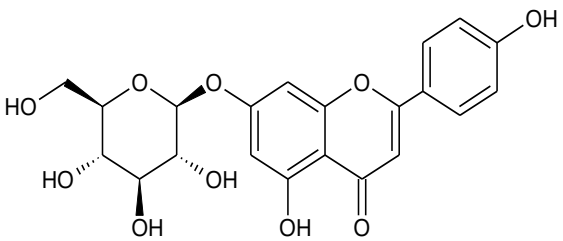
Krisin



Likiritigenin

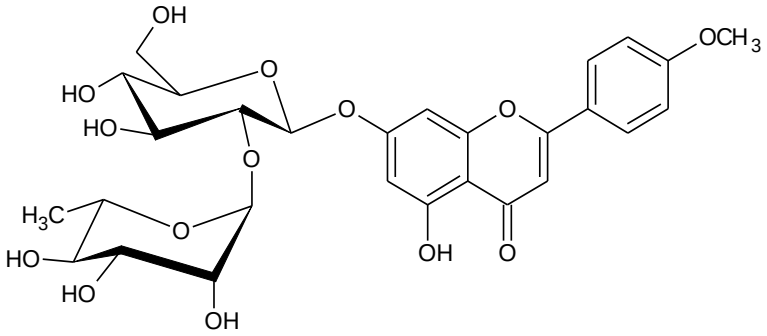


Izokersitrin

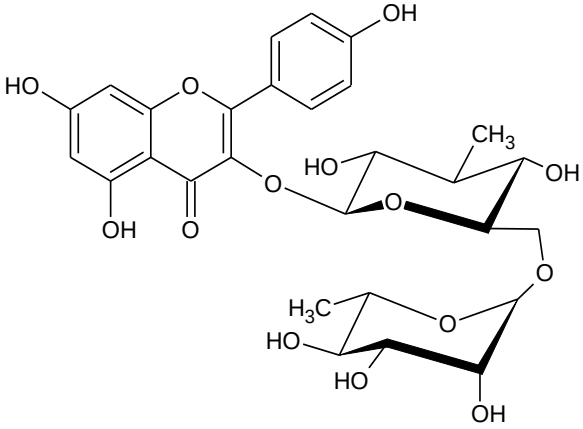


Apigetrin

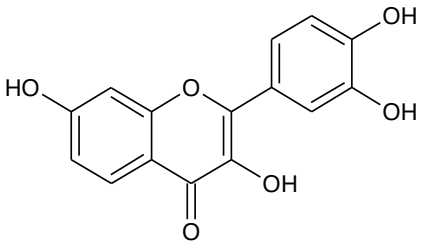
Şekil 4.1. LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (devam)



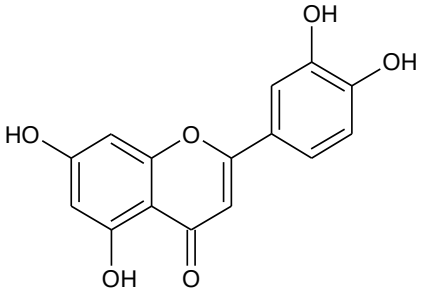
Roifolin



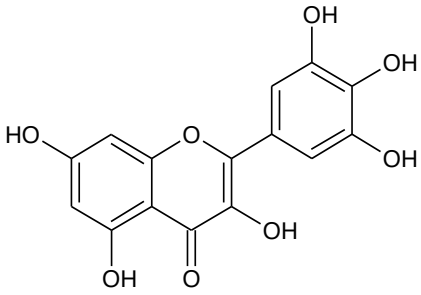
Nikotiflorin



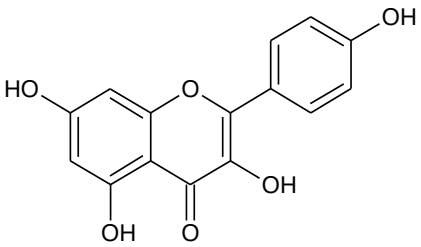
Fisetin



Luteolin



Mirisetin



Kamferol

Şekil 4.1. LC-MS/MS Metodunda Kullanılan Fitokimyasalların Molekül Yapıları (devam)

4.1.1. LC-MS/MS ile Çalışılan *Salvia* Türlerindeki Fitokimyasalların Kantitatif Analizi

8 *Salvia* türünün (*S. blepharochlaena, S. kronenburgii, S. macrochlamys, S. pachystachys, S. sclarea, S. spinosa, S. staminea, S. suffruticosa)* fitokimyasal madde içerikleri (nicel ve nitel olarak) LC-MS/MS cihazında validasyon çalışmaları daha önce yapılan metot ile belirlendi. Bu türlerin etanol ekstreleri analiz edildi. Sonuçlar, çizelge 4.3, 4.4, 4.5, 4.6' da verilmiştir.

4.1.1.1. Etanol Ekstrelerinin İncelenmesi

Çalışılan *Salvia* türlerinin toprak altı (kök) ve toprak üstü (gövde, yaprak ve çiçek) kısımlarının etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizine ilişkin sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir. Verilen miktarlar µg analit/g ekstre cinsindendir.

S. steaminea türünün SSt-R, SSt-S, SSt-L ve SSt-F kısımları incelendiğinde fumarik (sırasıyla 4367.41, 8733.04, 10308.75 ve 9170.97 µg analit/g ekstre), rosmarinik (sırasıyla 10727.1, 2606.2, 2267.49 ve 1507.8 µg analit/g ekstre), malic (sırasıyla 3079.24, 5579.41, 6319.25 ve 2920.46 µg analit/g ekstre), quinik (sırasıyla 2221.61, 1061.95, 1061.83 ve 755.27 µg analit/g ekstre) asitlerin önemli miktarda oldukları gözlemlendi. Ayrıca bu türün toprak üstü (gövde, yaprak ve çiçek) kısımlarında apigenin (sırasıyla 285.99, 637.5 ve 1246.75 µg analit/g ekstre) ve cosmosiin (sırasıyla 1674.21, 1120.7 ve 4458.34 µg analit/g ekstre) flavonoidleri kayda değer miktardadırlar. *S. steaminea* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. kronenburgii türünün SK-R, SK-S, SK-L ve SK-F kısımlarında fenolik asitlerden kaffeik (sırasıyla 829.22, 697.17, 263.45 ve 431.52 µg analit/g ekstre), rosmarinic (sırasıyla 5599.9, 3673.93, 2485.17 ve 8053.35 µg analit/g ekstre), protokateşik (sırasıyla 531.22, 497.4, 141.5 ve 346.15 µg analit/g ekstre) asitler ve fenolik olmayan organik asitlerden kinik (sırasıyla 527.12, 943.16, 488.22 ve 1526.17 µg analit/g ekstre), fumarik (sırasıyla 1764.9, 6126.45, 1844.68 ve 2079.12 µg analit/g ekstre) ve malik (sırasıyla 2121.89, 5520.52, 1495.9 ve 7333.55 µg analit/g ekstre) asitler kayda değer miktarda gözlenmiştir. Bununla beraber bitkinin SK-S ekstresinde vanilik (337.28 µg analit/g ekstre) ve salisilik (226.12 µg analit/g ekstre) asitlerin

bitkinin diğer kısımlarına göre daha yüksek miktarda var olduğu gözlemlendi. Flavonoidlerden cosmosiin ve hesperidin bitkinin tüm ekstrelerinde gözlenirken cosmosiin'in özellikle SK-F ekstresinde (10 999.63 µg analit/g ekstre) daha yüksek miktarda olduğu görüldü. *S. kronenburgii* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle cosmosiin bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. suffruticosa bitkisinin SSf-R, SSf-S, SSf-L ve SSf-F ekstrelerinin sonuçlarına bakıldığında rosmarinik (sırasıyla 11309.67, 2748, 7793.19 ve 23983.79 µg analit/g ekstre), kaffeik (sırasıyla 624.28, 173.7, 326.78 ve 360.65 µg analit/g ekstre), fumaric (sırasıyla 812.13, 2715.03, 5493.82 ve 1123.58 µg analit/g ekstre) kinik (sırasıyla 737.3, 1232.79, 728.49 ve 2817.32 µg analit/g ekstre), protokateşik ve malic asitler ile kersitrin yüksek miktarlarda gözlendi. Ayrıca SSf-R ekstresinde hesperidin'in (387.7 µg analit/g ekstre), SSf-L ve SSf-F ekstrelerinde cosmosiin'nin (sırasıyla 5146.81 ve 15540.48 µg analit/g ekstre) fazla miktarda olduğu görüldü. Bitkinin SSf-F ekstresinde çalışmadaki bitkilerden *S. macrochlamys* dışındakilerde görülmeyen kaemferol gözlendi. *S. suffruticosa* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. pachystachys türünün SP-R, SP-S, SP-L ve SP-F ekstrelerinde önemli miktarda hesperidin (sırasıyla 660.76, 39260.44**,** 860.85 ve 1149.15 µg analit/g ekstre), rosmarinic asit (sırasıyla 1080.65, 6874.32, 9349.38 ve 26355.13 µg analit/g ekstre), malik asit (517.85, 5756.33, 2823.08 ve 6912.58 µg analit/g ekstre) kinik asit, fumarik asit ve kaffeik asit olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber bitkinin toprak üstü ekstrelerinde (SP-S, SP-L ve SP-F) apigenin (sırasıyla 255.07, 405.33 ve 882.06 µg analit/g ekstre) ve cosmosiin (960.59, 2802.97 ve 15375.33 µg analit/g ekstre) yüksek miktarda gözlemlendi. *S. pachystachys* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle hesperidin bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. sclarea türüne baktığımızda SSc-R, SSc-S, SSc-L ve SSc-F ekstrelerinde kaffeik (sırasıyla 1162.82, 678.18, 667.77 ve 632.35 µg analit/g ekstre), rosmarinic (sırasıyla 18330.25, 26431.32, 28206.65 ve 14889.59 µg analit/g ekstre), protokateşik (sırasıyla 542.84, 370.07, 421.36 ve 396.63 µg analit/g ekstre), fumarik (sırasıyla 6633.9, 13072.88, 4361.8 ve 5831.84 µg analit/g ekstre) ve malik (sırasıyla 3101.17, 7433.01, 4829.21 ve 7858.08) asitler diğer bileşiklere göre daha fazla miktarda

gözlemlend-i. Bitkinin tüm kısımlarında cosmosiin önemli miktarda gözlenirken apigenin SSc-L ve SSc-F ekstrelerinde daha fazla miktarda gözlemlendi. *S. sclarea* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. macrochlamys türünün SM-R, SM-S, SM-L ve SM-F ekstreleri incelendiğinde fumarik (sırasıyla 1792.92, 3129.9, 2209.06 ve 1696.66 µg analit/g ekstre), rosmarinik (sırasıyla 6732.17, 8433.05, 8205.75 ve 32148.03 µg analit/g ekstre), malic (sırasıyla 8425.8, 5763.72, 3487.82 ve 7244.13 µg analit/g ekstre), quinik (sırasıyla 243.86, 136.58, 494.74 ve 2638.89 µg analit/g ekstre), kaffeik (sırasıyla 413.02, 164.11, 366.66 ve 521.27 µg analit/g ekstre), protokateşik (sırasıyla 405.16, 334.68, 378.2 ve 516.92 µg analit/g ekstre), salisilik (sırasıyla 170.84, 240.57, 392.5 ve 82.76 µg analit/g ekstre) asitlerin önemli miktarda oldukları gözlemlendi. Flavonoitlerden hesperidin (sırasıyla 5187.22, 5954.1, 159.49 ve 1210.37 µg analit/g ekstre), apigenin (sırasıyla 373.61, 303.99, 2758.53 ve 267.41 µg analit/g ekstre) ve izokersetin (sırasıyla 774.43, 3464.16, 4510.17 ve 1442.97 µg analit/g ekstre) bitkinin tüm ekstrelerinde yüksek miktarda bulunurken toprak üstü kısımlarında (SM-S, SM-L ve SM-F) cosmosiin'nin (sırasıyla 166.79, 1182.89 ve 9744.14 µg analit/g ekstre) daha fazla miktarda olduğu görüldü. Ayrıca SM-L ekstresinde naringenin (192.26 µg analit/g ekstre), kersetin (309.21 µg analit/g ekstre) ve çalışmadaki diğer bitkilerde görülmeyen kaemferol (1138.68 µg analit/g ekstre) de fazla miktardadır. *S. macrochlamys* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. blepharochlaena türüne baktığımızda SB-R, SB-S, SB-L ve SB-F ekstrelerinde kaffeik (sırasıyla 1282.59, 367.28, 581.95 ve 355.02 µg analit/g ekstre), rosmarinic (sırasıyla 9634.63, 6670.36, 13260.55 ve 5380.15 µg analit/g ekstre), protokateşik (sırasıyla 232.5, 396.69, 543.46 ve 658.77 µg analit/g ekstre), fumarik (sırasıyla 609.74, 7282.72, 5605.36 ve 6248.54 µg analit/g ekstre) ve malik (sırasıyla 365.73, 5133, 1963.17 ve 2217.92 µg analit/g ekstre) asitler diğer fenolik asitlere göre daha fazla miktarda gözlemlendi. Apigenin (sırasıyla 320, 541 ve 1217.17) ve cosmosiin (343.5, 519.81 ve 2643.76 µg analit/g ekstre) SB-S, SB-L ve SB-F ekstrelerinde; izokersitrin SB-S ve SB-L (sırasıyla 197.25 ve 125.28 µg analit/g ekstre) gallik asit ise SB-F ekstrelerinde (204.93 µg analit/g ekstre) kayda değer miktarda

gözlemlendi. *S. blepharochlaena* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

S. spinosa türüne baktığımızda SSp-R, SSp-S, SSp-L ve SSp-F ekstrelerinde kaffeik (sırasıyla 1442.4, 1459.43, 419.43 ve 881.47 µg analit/g ekstre), rosmarinic (sırasıyla 10903.32, 9207.98, 9602.96 ve 22460.75 µg analit/g ekstre), protokateşik (sırasıyla 831.05, 1239.53, 208.14 ve 778.19 µg analit/g ekstre), fumarik (sırasıyla 733.85, 4548.05, 1025.7 ve 2473.99 µg analit/g ekstre) malik (sırasıyla 908.78, 994.8, 1276.65 ve 1726.9 µg analit/g ekstre) ve vanilik (452.70, 141.10, 57.32 ve 221.15 µg analit/g ekstre) asitler diğer fenolik asitlere göre daha fazla miktarda gözlemlendi. Flavonoidlerden hesperedin tüm ekstrelerde bulunurken (sırasıyla 1237.67, 18314.28, 475.93 ve 1388.77 µg analit/g ekstre) hesperetin SSp-R ve SSp-F (sırasıyla 2061.71 ve 119.13 µg analit/g ekstre), izokersetin SSp-S ve SSp-F (sırasıyla 782.51 ve 531.29 µg analit/g ekstre), cosmosiin SSp-S, SSp-L ve SSp-F (sırasıyla 482.13, 461.13 ve 16020.98 µg analit/g ekstre), apigenin SSp-F (991.57 µg analit/g ekstre), vanilin SSp-S, SSp-L ve SSp-F (sırasıyla 348.23, 190.14 ve 119.74 µg analit/g ekstre) ekstrelerinde kayda değer miktarda tespit edildi. *S. spinosa* türünün tüm kısımlarına baktığımızda bu türün özellikle rosmarinik asit bakımından zengin olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1. Analitlerin Miktarının (µg analit/g ekstre) En Çok Bulunduğu Ekstreler

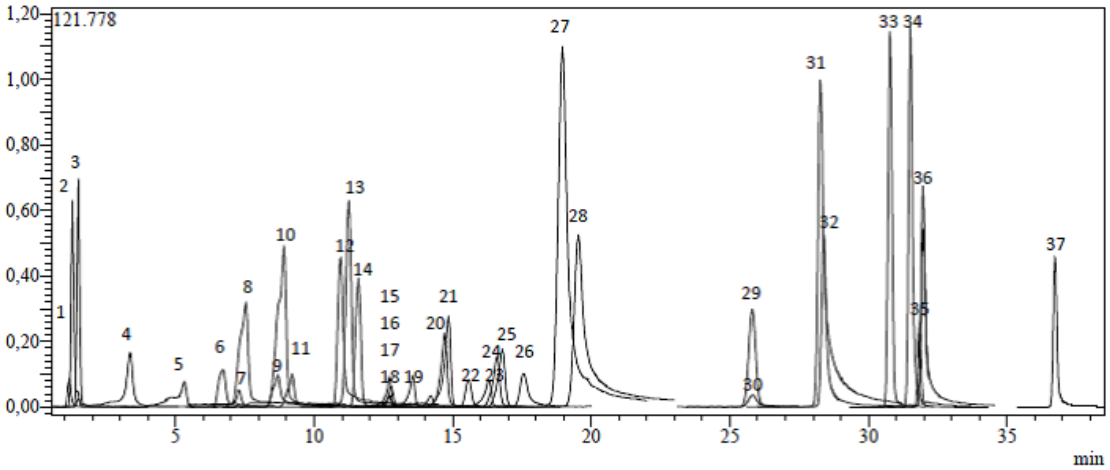
No	Analit	Miktarı en çok olan tür	Ekstre	Miktar
1	Kumarin*	-	-	-
4	o-kumarik asit	-	-	-
5	Gallik asit	*S.blepharochlaena*	SB-F	204.93
10	4-OH-benzoik asit	*S. macroclangys*	**SM-L**	203.08
15	Sinamik asit	*S.steaminea*	***SSt-L***	159.04
16	Sinapinik asit	*S. sclarea*	**SSc-F**	23.38
19	Pirokatekol	-	-	-
21	Sirinjik asit	-	-	-
26	Kersitrin	*S. pachystachys*	**SP-S**	206.36
29	Likiritigenin	-	-	-
32	Roifolin	-	-	-
34	Fisetin	-	-	-
36	Mirisetin	-	-	-
22	Hesperetin	*S. spinosa*	**SSp-S**	2061.75
13	Rozmarinik asit	*S. sclarea*	**SSc-L**	28206.65
28	Krisin	*S. sclarea*	**SSc-L**	36.36
8	Salisilik asit	*S. spinosa*	**SSp-F**	458.78
11	Ferulik asit	*S. spinosa*	**SSp-L**	287.56
3	p-Kumarik asit	*S.steaminea*	SSt-L	236.39
37	Kamferol	*S. macroclangys*	**SM-L**	1138.68

çizelge 4.1. **A**nalitlerin miktarının (µg analit/g ekstre) en çok bulunduğu ekstreler (devamı)

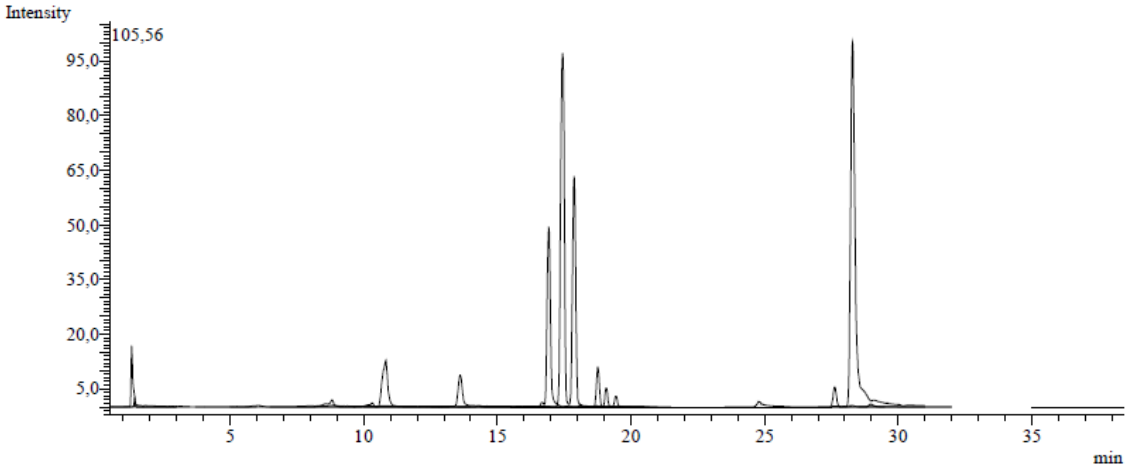
No	Analit	Miktarı en çok olan tür	Ekstre	Miktar
14	Protokateşik asit	*S. spinosa*	**SSp-S**	1239,53
23	Naringenin	*S. macroclangys*	**SM-L**	192,26
33	Nikotiflorin	*S. spinosa*	**SSp-F**	41,48
18	Vanilin	*S. krononburgei*	***SK-S***	**651,08**
35	Luteolin	-	-	-
30	İzokersitrin	*S. macroclangys*	**SM-L**	**4510,17**
2	Hesperidin	*S. pachystachys*	SP-S	**39260,44**
27	Apigenin	*S. macroclangys*	**SM-L**	**2758,53**
7	Vanilik asit	*S. spinosa*	**SSp-R**	**452,7**
25	Kersetin	*S. macroclangys*	**SM-L**	**309,21**
24	Rutin	*S.steaminea*	***SSt-F***	**151,92**
20	Malik asit	*S. sclarea*	**SSc-F**	**7858,08**
17	Fumarik asit	*S. sclarea*	**SSc-S**	**13072,88**
9	Kinik asit	*S. pachystachys*	**SP-F**	**3126,63**
12	Klorojenik asit	*S. macroclangys*	**SM-M**	**300,51**
6	Kafeik asit	*S.steaminea*	**SSt-R**	**1491,03**
31	Apigetrin	*S. spinosa*	**SSp-F**	**16020,98**

4.1.2. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları

Çalışılan *Salvia* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin kromatogramlar ek 31-70' te gösterilmiştir. Aşağıda sadece örnek olarak kalibrasyon noktası 6 ve SM-L ekstresinin kromatogramları verilmiştir.



Şekil 4.2. Kalibrasyon Noktası 6' nın Standart Kromatogramı



Şekil 4.3. SM-L Ekstresinin Standart Kromatogramı

çizelge 4.2. *Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS İle Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 1: Coumarin, 2: Hesperidin, 3: p-coumaric asit 4:Gallic asit, 5: Caffeic asit, 6: Vanilik asit, 7: Salicylic asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür	1	2	3	4	5	6	7
SSt-M	N.D.	41.55±1.09	57.44±2.96	N.D.	118.69±4.20	59.33±3.01	13.79±0,45
SSt-R	N.D.	64.08±1.68	66.22±3.42	N.D.	1491.03±52.78	136.56±6.94	22.64±0.75
SSt-S	N.D.	46.64±1.22	47.16±2.43	N.D.	187.79±6.65	56.92±2.89	60.31±1.98
SSt-L	N.D.	53.02±1.39	236.39±12.20	N.D.	252.85±8.95	41.83±2.13	8.85±0.29
SSt-F	N.D.	46.64±1.22	86.38±4.46	N.D.	154.97±5.49	46.48±2.36	20.03±0.66
SK-M	N.D.	129.33±3.39	29.88±1.54	N.D.	595.52±21.08	26.62±1.35	92.18±3.03
SK-R	N.D.	114.87±3.01	14.71±0.76	N.D.	829.22±29.35	90.32±4.59	30.02±0.99
SK-S	N.D.	542.56±14.22	50.19±2.59	N.D.	697.17±24.68	337.28±17.13	226.12±7.44
SK-L	N.D.	53.34±1.40	58.10±3.00	N.D.	263.45±9.33	64.20±3.26	66.21±2.18
SK-F	N.D.	78.84±2.07	35.94±1.86	N.D.	431.52±15.28	116.43±5.91	90.24±2.97
SSf-M	N.D.	128.34±3.36	12.65±0.65	N.D.	265.20±9.39	25.86±1.31	97.16±3.20
SSf-R	N.D.	387.7±10.16	20.91±1.08	N.D.	624.28±22.10	147.44±7.49	92.99±3.06
SSf-S	N.D.	116.17±3.04	11.21±0.58	N.D.	173.70±6.15	42.51±2.16	178.38±5.87
SSf-L	N.D.	62.37±1.63	28.95±1.49	N.D.	326.78±11.57	36.90±1.88	138.54±4.56
SSf-F	N.D.	98.1±2.57	26.93±1.39	N.D.	360.65±12.77	22.94±1.17	13.9±0.46
SP-M	N.D.	1851.85±48.52	27.54±1.42	N.D.	390.91±13.84	40.25±2.05	37.48±1.23
SP-R	N.D.	660.76±17.31	4.94±0.26	N.D.	249.09±8.82	38.61±1.96	2.86±0.09
SP-S	N.D.	39260.44±1028,62	9.43±0.49	N.D.	191.10±6.77	44.20±2.25	78.8±2.59
SP-L	N.D.	860.85±22.55	43.52±2.25	N.D.	301.73±10.68	32.16±1.63	23.98±0.79
SP-F	N.D.	1149.15±30.11	87.26±4.50	N.D.	843.79±29.87	19.41±0.99	15.27±0.50
SSc-M	N.D.	19.48±0.51	53.17±2.74	N.D.	720.94±25.52	41.14±2.09	178.34±5.87
SSc-R	N.D.	72.61±1.90	28.09±1.45	N.D.	1162.82±41.16	41.30±2.10	46.75±1.54
SSc-S	N.D.	18.34±0.48	33.32±1.72	N.D.	678.18±24.01	42.78±2.17	36.62±1.21
SSc-L	N.D.	22.30±0.58	112.79±5.82	N.D.	667.77±23.64	36.70±1.86	148.59±4.89
SSc-F	N.D.	28.68±0.75	126.27±6.52	N.D.	632.35±22.39	32.71±1.66	51.76±1.70
SM-M	N.D.	2562.20±67.13	28.33±1.46	N.D.	403.67±14.29	37.79±1.92	376.85±12.40
SM-R	N.D.	5187.22±135.67	26.42±1.36	N.D.	413.02±14.62	62.99±3.20	170.84±5.62
SM-S	N.D.	5954.10±156.00	11.80±0.61	N.D.	164.11±5.81	65.91±3.35	240.57±7.92
SM-L	N.D.	159.49±4.18	31.70±1.64	N.D.	366.66±12.98	33.74±1.71	392.5±12.91
SM-F	N.D.	1210.37±31.71	35.63±1.84	N.D.	521.27±18.45	20.32±1.03	82.76±2.72
SB-M	N.D.	37.03±0.97	41.33±2.13	N.D.	226.10±0.92	30.18±1.53	25.57±0.84
SB-R	N.D.	46.81±1.23	23.43±1.21	N.D.	1282.59±45.40	28.70±1.46	6.84±0.23
SB-S	N.D.	21.4±0.56	35.47±1.83	67.29±1.90	367.28±13.00	95.49±4.85	14.58±0.48
SB-L	N.D.	7.89±0.21	73.70±3.80	121.84±3.44	581.95±20.60	12.87±0.65	48.01±1.58
SB-F	N.D.	24.67±0.65	50.10±2.59	204.93±5.78	355.02±12.57	53.07±2.70	15.26±0.50
SSp-M	N.D.	1719.86±45.06	31.67±1.63	N.D.	442.05±15.65	45.85±2.33	60.2±1.98
SSp-R	N.D.	1237.67±32.43	40.26±2.08	N.D.	1442.40±51.06	452.70±23.00	28.98±0.95
SSp-S	N.D.	18314.28±479.83	55.30±2.85	N.D.	1459.43±51.66	141.10±7.17	204.14±6.72
SSp-L	N.D.	475.93±12.47	60.89±3.14	N.D.	419.43±14.85	57.32±2.91	55.15±1.81
SSp-F	N.D.	1388.77±36.39	161.09±8.31	N.D.	881.47±31.20	222.15±11.29	458.78±15.09

çizelge 4.3. *Salvia* türlerinin etanol ekstrelerinin LC-MS-MS ile kantitatif analizi (Fitokimyasallar numaralarla belirtilmiştir. , 8: o-coumaric asit, 9: Quinic asit, 10:4-OH-Benzoic asit, 11: tr-Ferrulic asit, 12: Chlorogenic asit, 13: Rosmarinic asit, 14: Protocatechuic asit) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür	8	9	10	11	12	13	14
SSt-M	N.D	467.6±3.83	80.24±2.32	26.9±1.33	24.23±0.17	819.36±58.42	69,62± 2,86
SSt-R	N.D	2221.61±18.22	96.65±2.79	66.53±3.29	47.89±0.33	10727.1±764.84	478,63±19,67
SSt-S	N.D	1061.95±8.71	90.02±2.60	28.33±1.40	44.72±0.31	2606.2±185.82	204,91±8,42
SSt-L	N.D	1061.83±8.71	29.1±0.84	57.06±2.82	4.8±0.03	2267.49±185.82	110,44±4,54
SSt-F	N.D	755.27±6.19	57.33±1.66	43.27±2.14	5.67±0.04	1507.8±107.51	94,23±3,87
SK-M	N.D	431.97±3.54	142.88±4.13	32.97±1.63	2.58±0.02	3887.13±277.15	360,04±14,80
SK-R	N.D.	527.12±4.32	169.53±4.90	7.65±0.38	3.74±0.03	5599.9±399.27	531,22±21,83
SK-S	N.D	943.16±7.73	175.45±5.07	43.58±2.15	7.93±0.06	3673.93±261.95	497,4±20,44
SK-L	N.D.	488.22±4.00	48.01±1.39	62.7±3.10	7.37±0.05	2485.17±177.19	141,5±5,82
SK-F	N.D	1526.17±12.52	173.33±5.01	24.75±1.22	2.85±0.02	8053.35±574.20	346,15±14,23
SSf-M	N.D	715.85±5.87	74.65±2.16	20.28±1.00	57.16±0.39	6490.98±462.81	79,74±3,28
SSf-R	N.D	737.3±6.05	123.57±3.57	32.65±1.61	7.05±0.05	11309.67±806.38	439,44±18,06
SSf-S	N.D	1232.79±10.11	72.56±2.10	9.06±0.45	16.45±0.11	2748±195.93	284,2±11,68
SSf-L	N.D	728.49±5.98	81.5±2.36	24.82±1.23	123.62±0.85	7793.19±555.66	124,61±5,12
SSf-F	N.D	2817.32±23.10	71.44±2.07	26.37±1.30	2.4±0.02	23983.79±1710.04	94,69±3,89
SP-M	N.D	936.35±7.68	71.86±2.08	55.29±2.73	1.37±0.01	8945.07±637.78	173,76±7,14
SP-R	N.D	296.78±2.43	146.49±4.23	20±0.99	7.86±0.05	1080.65±77.05	89,83±3,69
SP-S	N.D	858.65±7.04	75.01±2.17	26.63±1.32	0.98±0.01	6874.32±490.14	145,5±5,98
SP-L	N.D	875.7±7.18	44.36±1.28	49.63±2.45	10.71±0.07	9349.38±666.61	122,83±5,05
SP-F	N.D	3126.63±25.64	6.23±0.18	20.71±1.02	1.31±0.01	26355.13±1879.12	324,88±13,35
SSc-M	N.D	99.36±0.82	112.08±3.24	22.37±1.11	1.48±0.01	25491.47±1817.54	345,46±14,20
SSc-R	N.D	160.37±1.32	75.75±2.19	56.01±2.77	53.98±0.37	18330.25±1306.95	542,84±22,31
SSc-S	N.D	198.92±1.63	42.4±1.23	37.18±1.84	1.28±0.01	26431.2±1884.55	370,07±15,21
SSc-L	N.D	138.8±1.14	129.16±3.73	36.11±1.78	0.9±0.01	28206.65±2011.13	421,36±17,32
SSc-F	N.D	272.12±2.23	148.69±4.30	28.17±1.39	3.4±0.02	14889.56±1061.63	396,63±16,30
SM-M	N.D	236.14±1.94	135.2±3.91	32.48±1.61	300.51±2.07	8312.11±592.65	647.51±26.612
SM-R	N.D	243.86±2.00	12.38±0.36	10.88±0.54	20.6±0.14	6732.17±480.00	405.16±16.65
SM-S	N.D	136.58±1.12	8.52±0.25	8.69±0.43	83.67±0.58	8433.05±601.28	334.68±13.76
SM-L	N.D	494.74±4.06	203.08±5.87	48.42±2.39	220.38±1.52	8205.75±585.07	378.2±15.54
SM-F	N.D	2638.89±21.64	55.75±1.61	5.71±0.28	197.02±1.36	32148.03±2292.16	516.92±21.25
SB-M	N.D	34.34±0.28	100.15±2.89	34.31±1.70	2.90±0.02	1998.28±142.48	297.25±12.22
SB-R	N.D	65.92±0.54	11.38±0.33	46.48±2.30	4.30±0.03	9634.63±686.95	232.50±9.56
SB-S	N.D.	49.81±0.41	3.66±0.11	36.23±1.79	0.54±0.01	6670.36±475.60	396.69±16.30
SB-L	N.D	53.04±0.44	107.07±3.09	43.26±2.14	24.41±0.17	13260.55±945.48	543.46±22.34
SB-F	N.D	189.37±1.55	147.28±4.26	43.04±2.13	0.41±0.01	5380.15±383.61	658.77±27.08
SSpM	N.D	39.46±0.32	26.27±0.76	101.39±5.01	0.39±0.01	9177.97±654.39	407.15±16.73
SSp-R	N.D.	210.11±1.72	60.15±1.74	98.33±4.86	0.3±0.01	10903.32±777.41	831.05±34.16
SSp-S	N.D	159.19±1.31	101.79±2.94	140.93±6.96	0.98±0.01	9207.98±656.53	1239.53±50.95
SSp-L	N.D	131.76±1.08	40.3±1.17	287.56±14.21	0.42±0.01	9602.96±684.69	208.14±8.56
SSp-F	N.D	298.71±2.45	106.68±3.08	265.00±13.09	23.40±0.16	22460.75±1601.45	778.19±31.98

çizelge 4.4. *Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS İle Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 15: Cinnamic asit, 16: Sinapinik asit, 17: Fumaric asit, 18: Vanilin, 19: Pyrocatechol, 20: Malic asit, 21: Syringic asit, 22: Hesperetin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür	15	16	17	18	19	20	21	22
SSt-M	19.3±0.28	N.D.	2191.67±27.18	30.5±0.85	N.D.	1513.5±17.10	N.D	N.D
SSt-R	46.26±0.66	N.D.	4367.41±54.16	181.61±5.09	N.D.	3079.24±34.80	N.D	N.D
SSt-S	31.06±0.44	N.D.	8733.04±108.29	130.8±3.66	N.D.	5579.41±63.053	N.D	N.D
SSt-L	159.04±2.27	N.D.	10308.75±127.83	40.94±1.15	N.D.	6319.25±71.41	N.D	N.D
SSt-F	34.34±0.49	N.D.	9170.97±113.72	52.16±1.468	N.D.	2920.46±33.00	N.D	N.D
SK-M	15.87±0.23	N.D.	1974.39±24.48	218.99±6.13	N.D.	2609.5±29.49	N.D	N.D
SK-R	25.94±0.37	N.D.	1764.9±21.89	354.5±9.93	N.D.	2121.89±23.98	N.D	N.D
SK-S	26.29±0.38	N.D.	6126.45±75.97	651.08±18.23	N.D.	5520.52±62.38	N.D	19.65±1.10
SK-L	15.67±0.22	N.D.	1844.68±22.87	46.43±1.30	N.D.	1495.9±16.90	N.D	N.D
SK-F	6.82±0.10	N.D.	2079.12±25.78	82.63±2.31	N.D.	7333.55±82.87	N.D	N.D
SSf-M	22.32±0.32	N.D.	2220.84±27.54	43.21±1.21	N.D.	2195.58±24.81	N.D	N.D
SSf-R	9.33±0.13	N.D.	812.13±10.07	211.19±5.91	N.D.	736.45±8.32	N.D	N.D
SSf-S	9.65±0,14	N.D.	2715.03±33.67	59.69±1.67	N.D.	2814.17±31.80	N.D	N.D
SSf-L	52.5±0.75	N.D.	5493.82±68.12	25.59±7.17	N.D.	2765.81±31.25	N.D	N.D
SSf-F	48.99±0.70	N.D.	1123.58±13.93	N.D.	N.D.	7490.12±84.64	N.D	N.D
SP-M	73.69±1.05	N.D.	2126.51±26.37	33.9±0.95	N.D.	2518.26±28.46	N.D	138.27±7.77
SP-R	22.89±0.33	N.D.	110.96±1.38	57.10±1.60	N.D.	517.85±5.85	N.D	40.82±2.29
SP-S	69.41±0.99	N.D.	6568.47±81.45	104.77±2.93	N.D.	5756.33±65.05	N.D	184.47±10.37
SP-L	34.29±0.49	N.D.	2405.23±29.83	23.29±0.65	N.D.	2823.08±31.90	N.D	67.67±3.80
SP-F	13.73±0.20	N.D.	2145.52±26.61	15.07±0.42	N.D.	6912.58±78.11	N.D	47.28±2.66
SSc-M	18.06±0.26	N.D.	3826.48±47.45	32.39±0.91	N.D.	4128.76±46.66	N.D	N.D
SSc-R	13.44±0.19	N.D.	6633.90±82.26	90.49±2.53	N.D.	3101.17±35.04	N.D	N.D
SSc-S	15.66±0.22	N.D.	13072.88±162.10	40.06±1.12	N.D.	7435.03±84.02	N.D	N.D
SSc-L	16.58±0.24	N.D.	4346.18±53.89	34.25±0.96	N.D.	4829.21±54.57	N.D	N.D
SSc-F	21.51±0.31	N.D.	5831.84±72.32	N.D.	N.D.	7858.08±88.80	N.D	N.D
SM-M	15.04±0.22	N.D.	3601.27±44.66	36.79±1.03	N.D.	3616.43±40.87	N.D	51.75±2.91
SM-R	16.07±0.23	N.D.	1792.92±22.23	85.85±2.40	N.D.	8425.80±95.21	N.D	112.18±6.31
SM-S	43.48±0.62	N.D.	3129.90±38.81	64.91±1.82	N.D.	5763.72±65.13	N.D	N.D
SM-L	15.42±0.22	N.D.	2209.06±27.39	34.29±0.96	N.D.	3487.82±39.41	N.D	N.D
SM-F	32.69±0.47	N.D.	1696.66±21.04	N.D.	N.D.	7244.13±81.86	N.D	N.D
SB-M	33.1±0.47	N.D.	1005.74±12.47	67.69±1.90	N.D.	872.27±9.86	N.D	N.D
SB-R	17.69±0.25	N.D.	609.74±7.56	54.55±1.53	N.D.	3365.73±38.03	N.D	N.D
SB-S	67.86±0.97	N.D.	7282.72±90.31	113.48±3.18	N.D.	5133.00±58.00	N.D	N.D
SB-L	39.45±0.56	N.D.	5605.36±69.51	47.31±1.33	N.D.	1963.17±22.18	N.D	N.D
SB-F	38.20±0.55	N.D.	6248.54±77.48	30.92±0.87	N.D.	2217.92±25.06	N.D	N.D
SSp-M	32.60±0.47	N.D.	597.77±7.41	42.89±1.20	N.D.	852.59±9.63	N.D	138.84±7.80
SSp-R	21.27±0.30	N.D.	733.85±9.10	348.23±9.75	N.D.	908.78±10.27	N.D	46.59±2.62
SSp-S	14.72±0.21	N.D.	4548.05±56.40	190.14±5.32	N.D.	994.80±11.24	N.D	2061.75±115.87
SSp-L	32.05±0.46	N.D.	1025.70±12.72	27.23±0.76	N.D.	1276.65±14.43	N.D	56.51±3.18
SSp-F	32.85±0.47	N.D.	2473.99±30.68	119.74±3.35	N.D.	1726.9±19.52	N.D	119.13±6.70

çizelge 4.5. *Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS İle Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 23: Naringenin, 24: Rutin, 25: Quercetin, 26: Quercitrin, 27: Apigenin, 28:Chrysin, 29: Liquiritigenin) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür	23	24	25	26	27	28	29
SSt-M	19.09±0.99	112.15±1.78	N.D	174.54±350.46	1016.73±66.09	N.D	N.D
SSt-R	N.D	119.41±1.90	N.D	168.99±339.32	32.49±2.11	N.D	N.D
SSt-S	N.D	157.88±2.51	N.D	151.12±303.43	285.99±18.59	N.D	N.D
SSt-L	21.98±1.15	96.99±1.54	N.D	164.11±329.52	657.35±42.73	N.D	N.D
SSt-F	27.84±1.45	151.92±2.42	N.D	155.58±312.39	1246.75±81.04	N.D	N.D
SK-M	N.D	93.83±1.49	N.D	180.20±361.82	207.64±13.50	N.D	N.D
SK-R	N.D	107.62±1.71	N.D	190.74±382.99	15.73±1.02	N.D	N.D
SK-S	N.D	112.11±1.78	N.D	176.53±354.46	144.37±9.38	N.D	N.D
SK-L	N.D	113.89±1.81	N.D	173.06±347.49	301.36±19.59	N.D	N.D
SK-F	N.D	100.8±1.60	N.D	147.54±296.25	270.31±17.57	N.D	N.D
SSf-M	N.D	146.86±2.34	N.D	120.99±242.94	238.15±15.48	N.D	N.D
SSf-R	N.D	91.28±1.45	N.D	184.07±369.59	16.56±1.08	N.D	N.D
SSf-S	N.D	112.36±1.79	N.D	174.02±349.42	N.D	N.D	N.D
SSf-L	N.D	125.39±1.99	N.D	166.45±334.22	185.81±12.08	N.D	N.D
SSf-F	N.D	115.61±1.84	27.34±1.49	139.00±279.10	377.35±24.53	N.D	N.D
SP-M	22.21±1.16	94.19±1.50	16.13±0.88	180.86±363.15	630.21±40.96	N.D	N.D
SP-R	N.D	103.96±1.65	N.D	183.83±369.11	19.94±1.30	N.D	N.D
SP-S	15.03±0.78	114.01 ±1.81	N.D	206.36±414.35	255.07±16.58	N.D	N.D
SP-L	17.69±0.92	99.10±1.58	N.D	178.19±357.79	405.33±26.35	N.D	N.D
SP-F	14.31±0.75	N.D	37.16±2.02	N.D	882.06±57.33	N.D	N.D
SSc-M	12.59±0.66	N.D	N.D	N.D	244.37±15.88	N.D	N.D
SSc-R	10.86±0.57	N.D	N.D	N.D	131.43±8.54	N.D	N.D
SSc-S	N.D	N.D	N.D	N.D	118.07±7.68	N.D	N.D
SSc-L	31.81±1.66	N.D	26.21±1.42	N.D	481.50±31.30	36,36	N.D
SSc-F	64.06±3.34	40.23±0.64	15.28±0.83	N.D	590.32±38.37	N.D	N.D
SM-M	127.57±6.65	N.D	198.54±10.78	N.D	1961.16±127.48	N.D	N.D
SM-R	11.36±0.59	N.D	37.91±2.06	N.D	373.61±24.29	N.D	N.D
SM-S	N.D	13.17±0.21	41.27±2.24	N.D	303.99±19.76	N.D	N.D
SM-L	192.26±10.02	N.D	309.21±16.79	N.D	2758.53±179.31	N.D	N.D
SM-F	N.D	N.D	27.73±1.51	N.D	267.41±17.38	N.D	N.D
SB-M	N.D	21.74±0.35	N.D	N.D	1250.07±81.26	N.D	N.D
SB-R	N.D	N.D	N.D	N.D	22.4±1.46	N.D	N.D
SB-S	N.D	N.D	N.D	N.D	320.00±20.80	N.D	N.D
SB-L	N.D	N.D	N.D	N.D	541.00±35.17	N.D	N.D
SB-F	N.D	28.33±0.45	N.D	N.D	1217.17±79.12	N.D	N.D
SSp-M	19.41±1.01	N.D	N.D	N.D	60.35±3.92	N.D	N.D
SSp-R	N.D	N.D	N.D	N.D	10.64±0.69	N.D	N.D
SSp-S	N.D	N.D	22.99±1.25	N.D	82.35±5.35	N.D	N.D
SSp-L	22.13±1.15	N.D	N.D	N.D	66.71±4.34	N.D	N.D
SSp-F	29.21±1.52	N.D	16.80±0.91	N.D	991.57±64.45	N.D	N.D

çizelge 4.6. *Salvia* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS-MS İle Kantitatif Analizi (Fitokimyasallar Numaralarla Belirtilmiştir. 30: Isoquercitrin, 31: cosmosiin, 32: Rhoifolin, 33: Nicotiflorin, 34: Fisetin, 35: Luteolin, 36: Myricetin, 37: Kamferol) (Derişim birimi: µg analit/g ekstre)

Tür	30	31	32	33	34	35	36	37
SSt-M	47.84±0.64	2421.15±144.54	N.D	19.46±0.54	N.D	N.D	N.D	N.D
SSt-R	40.89±0.54	104.31±6.23	N.D	12.15±0.34	N.D	N.D	N.D	N.D
SSt-S	70.22±0.93	1674.21±99.95	N.D	36.66±1.01	N.D	N.D	N.D	N.D
SSt-L	36.86±0.49	1120.70±66.91	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSt-F	141.39±1.88	4458.34±266.16	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SK-M	31.76±0.42	2617.87±156.29	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SK-R	22.15±0.30	108.87±6.50	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SK-S	84.78±1.13	676.01±40.36	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SK-L	14.34±0.19	1705.67±101.83	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SK-F	54.31±0.72	10999.63±656.68	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSf-M	157.21±2.09	6199.7±370.12	N.D	46.04±1.27	N.D.	N.D.	N.D	N.D
SSf-R	75.16±1.00	257.24±15.36	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSf-S	125.8±1.67	201.69±12.04	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSf-L	81.83±1.09	5146.81±307.27	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSf-F	202.02±2.69	15540.48±927.77	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	169.65±3.56
SP-M	57.97±0.77	5401.55±322.47	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SP-R	N.D	52.73±3.15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SP-S	86.61±1.15	960.59±57.35	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SP-L	42.57±0.57	2802.97±167.34	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SP-F	121.55±1.62	15375.33±917.91	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSc-M	68.23±0.91	369.26±22.05	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSc-R	33.6±0.44	200.12±11.95	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSc-S	61.53±0.82	655.33±39.12	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSc-L	58.60±0.78	538.45±32.15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSc-F	60.74±0.81	4052.09±241.91	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SM-M	4046.77±53.82	1535.22±91.65	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	623.70±13.04
SM-R	774.43±10.30	37.33±2.23	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SM-S	3464.16±46.07	166.79±9.96	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SM-L	4510.17±59.99	1182.89±70.62	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	1138.68±23.80
SM-F	1442.97±19.19	9744.14±58.73	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SB-M	60.52±0.81	642.86±38.38	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SB-R	50,77±0,68	75.17±4.49	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SB-S	197.25±2.60	343.50±20.51	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SB-L	125.28±1.67	519.81±31.03	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SB-F	78.86±1.05	2643.76±157.83	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSp-M	96.12±1.28	707.28±42.23	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSp-R	34.44±0.46	75.46±4.51	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSp-S	782.51±10.41	482.83±28.83	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSp-L	123.02±1.64	461.13±27.53	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
SSp-F	531.29±7.07	16020.98±956.45	N.D	41.48±1.15	N.D	N.D	N.D	N.D

4.2. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları

Çalışılan 8 *Salvia L.* türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları etanol ile ekstre edildi. Bu ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.7' de verildi.

S. steaminea bitkisinin total fenolik-flavonoid analiz sonuçlarını incelendiğimizde genel olarak bitkinin fenolik içerik bakımından flavonoid içeriğe göre daha zengin olduğu görülmüştür. Aynı bitkiden hazırlanan ekstreleri karşılaştırdığımız zaman fenolik içerik bakımından en zengin ekstre SSt-R (139.14±5.36), flavonoid bakımından ise SSt-F (44.05±0.70) ekstresinin daha yüksek miktarda içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

S. kronenburgii türünün total fenolik-flavonoid içerik analizine baktığımızda diğer türlerde olduğu gibi fenolik içeriğin flavonoid içerikten daha fazla miktarda olduğu gözlemlenmiştir. Türden hazırlanan ekstreler kendi içinde karşılaştırıldığında ise hem fenolik hem de flavonoid içerik bakımından en zengin ekstrenin SK-R (sırasıyla, 132.83±7.14, 41.24±1.76) olduğu belirlenmiştir.

S. suffruticosa türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin total fenolik–flavonoid içeriğine baktığımızda çoğunlukla fenolik içeriğin flavonoid içerikten oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler kendi içinde karşılaştırıldığında ise hem fenolik hem de flavonoid içerik bakımından en zengin ekstrenin SSf-M (sırasıyla, 103.79 ±1.79, 53.81±0.39) olduğu gözlemlenmiştir.

S. pachystachys türünden hazırlanan SP-R, SP-S, SP-L ve SP-F ekstrelerinin total fenolik–flavonoid içeriğine baktığımızda genel olarak fenolik içeriğin flavonoid içerikten oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler arasında karşılaştırma yapıldığında hem fenolik hem de flavonoid içerik bakımından SP-F (sırasıyla 270.12 ±4.18, 30.14±0.46) ekstresinin en zengin olduğu gözlemlenmiştir.

S. sclarea türünün total fenolik-flavonoid analiz sonuçlarını incelendiğimizde genel olarak bitkinin fenolik içerik bakımından flavonoid içeriğe göre daha zengin olduğu görülmüştür. Ekstreler kendi içerisinde karşılaştırıldığında fenolik içerik bakımından SSc-M (227.22±2.09) ekstresinin, flavonoid içerik bakımından ise SSc-L (16.45±0.72) ekstresinin daha zengin olduğu belirlenmiştir.

S. macrochamys türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin total fenolik–flavonoid içeriğine baktığımızda ise genellikle fenolik içeriğin flavonoid içerikten oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler kendi içinde karşılaştırıldığında ise fenolik içerik bakımından en zengin ekstrenin SM-F (230,18±10,46), flavonoid içerik bakımından ise en zengin ekstrenin SM-L (22.11±0.24) olduğu gözlemlenmiştir.

S. blepharochlaena türünün total fenolik-flavonoid analiz sonuçlarını incelendiğimizde genel olarak bitkinin fenolik içerik bakımından flavonoid içeriğe göre daha zengin olduğu görülmüştür. Bitkinin farklı kısımlarından hazırlanan ekstreleri karşılaştırdığımız zaman fenolik içerik bakımından en zengin ekstre SB-L (157.69±4.18), flavonoid bakımından ise SB-M (23.19±0.41) ekstresinin daha yüksek miktarda içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir

S. spinosa türünün farklı kısımlarının total fenolik–flavonoid içeriğine baktığımızda genel olarak fenolik içeriğin flavonoid içerikten oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Farklı kısımlardan hazırlanan ekstreleri karşılaştırdığımızda fenolik içerik bakımından SSp-R ekstresinin (283.43), flavonoid içerik bakımından ise SSp-F ekstresinin en zengin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerikleri[a]

Ekstreler	**Toplam Fenolik Miktarı** *(µg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre*[b]	**Toplam Flavonoit Miktarı** *(µg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre*[c]
SSt-M	77.27±14.28	13.05±1.31
SSt-R	139.14±5.36	43.13±0.64
SSt-S	27.85±1.71	24.82±2.57
SSt-L	79.80±0.01	42.76±1.17
SSt-F	83.59±1.79	44.05±0.70
SK-M	98.74±1.79	28.40±0.73
SK-R	132.83±7.14	41.24±1.76
SK-S	117.68±0.01	22.69±0.70
SK-L	30.27±2.10	9.53±0.74
SK-F	58.72±4.28	35.44±0.20
SSf-M	103.79±1.79	53.81±0.39
SSf-R	56.50±5.46	27.98±0.98
SSf-S	23.61±0.86	9.93±0.12
SSf-L	35.51±3.05	9.53±0.74
SSf-F	72.03±4.28	52.85±2.54
SP-M	60.53±0.01	42.76±0.00

Çizelge 4.7. Ekstrelerin Toplam Fenolik Ve Toplam Flavonoid İçerikleri[a] (devamı)

Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı *(µg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre*[b]	Toplam Flavonoit Miktarı *(µg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre*[c]
SP-R	33.49±9.09	24.67±0.59
SP-S	128.11±4.18	9.99±0.73
SP-L	148.82±0.01	14.23±0.78
SP-F	270.12±4.18	30.14±0.46
SSc-M	227.22±2.09	14.96±0.28
SSc-R	188.76±2.09	9.81±0.23
SSc-S	191.72±2.09	11.97±0.47
SSc-L	215.38±6.28	16.45±0.72
SSc-F	156.21±.2.09	15.74±0.60
SM-M	141.42±2.09	17.89±0.05
SM-R	154.73±4.18	16.21±0.95
SM-S	147.34±2.09	13.55±0.61
SM-L	135.50±2.09	22.11±0.24
SM-F	230.18±10.46	12.78±0.33
SB-M	104.44±0.01	23.19±0.41
SB-R	117.75±2.09	10.03±0.20
SB-S	101.48±0,01	11.73±0.04
SB-L	157.69±4.18	21.72±0.44
SB-F	120.71±6.28	19.93±0.95
SSp-M	176.92±2.09	13.09±0.23
SSp-R	283.43±18.83	17.90±0.34
SSp-S	166.57±0.01	11.55±0.27
SSp-L	145.86±8.37	10.87±0.80
SSp-F	242.01±2.09	22.47±2.27

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. (y== 0.0169(µg) + 0.0327 R2: 0.9968)

c: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik. (y=0,1495(mg) - 0,04 R2: 0,9988)

4.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

β-karoten renk açılımı, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleriyle çalışmada kullanılan 8 *Salvia* türünün antioksidan aktiviteleri belirlendi. Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α-Toc ve BHT kullanıldı.

S. steaminea bitkisinin farklı kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde genel olarak ABTS ve DPPH yöntemlerinde iyi aktivite gösterirken β-karoten yönteminde daha düşük aktivite gösterdikleri gözlemlenmiştir. Hem β-karoten hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde en iyi aktiviteyi SSt-R (sırasıyla, IC_{50}=20.49±0.37, IC_{50}=51.524±0.97ve IC_{50}=22.46±0.43) ekstresinin gösterdiği belirlenmiştir.

S. kronenburgii türünden hazırlanan farklı ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde genel olarak kullanılan üç yöntemde de iyi aktivite gösterdikleri gözlemlenmiştir. Fakat genel olarak ABTS yönteminde ekstrelerin daha aktif olduğu söylenebilir. Hem β-karoten hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde en iyi aktiviteyi SK-R (sırasıyla, IC_{50}=51.59±0.13, IC_{50}=39.75±0.31 ve IC_{50}=23.41±0.76) ekstresinin gösterdiği belirlenmiştir.

S. suffruticosa türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçlarına baktığımızda genel olarak β-karoten renk açılımı yönteminde düşük aktivite gözlenirken, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri gözlemlenmiştir. Hem β-karoten hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde en iyi aktiviteyi SSf-R (sırasıyla, IC_{50}=66.16±0.88, IC_{50}=37.56±0,28 ve IC_{50}=16.72±0.77) ekstresinin gösterdiği belirlenmiştir.

S. pachystachys türünden hazırlanan farklı ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçlarına baktığımızda ise β-karoten renk açılımı yönteminde genel olarak düşük aktivite gözlenirken, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. β-karoten yönteminde en iyi aktiviteyi SP-L (IC_{50}=211.15±14.07), DPPH ve ABTS yöntemlerinde SP-F (sırasıyla IC_{50}=22.52±0.11 ve IC_{50}=7.41±0.01) ekstresinin gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca ABTS yönteminde SP-F ekstresi (IC_{50}=7.41±0.01) standart olarak kullanılan α-TOC (IC_{50}=12.95±0.67) ve BHT (IC_{50}=8.91±1.03)' den daha yüksek aktivite göstermiştir.

S. sclarea türünden hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde genel olarak β-karoten renk açılımı yönteminde düşük aktivite gözlenirken, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. β-karoten yönteminde en iyi aktiviteyi SSc-R (IC_{50}=105.46±0.65), DPPH ve ABTS yöntemlerinde ise SSc-M (sırasıyla, IC_{50}=29.46±0,07 ve IC_{50}= 11.68±0.01) ekstreleri daha yüksek aktivite göstermiştir.

S. macrochlamys türünden hazırlanan 5 ekstrenin antioksidan aktivite sonuçlarına baktığımızda β-karoten renk açılımı yönteminde genel olarak düşük aktivite gözlenirken, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. DPPH ve ABTS yöntemlerinde en iyi aktiviteyi SM-F (sırasıyla, IC_{50}=31.77±0.52 ve IC_{50}=14.54±2.34) ekstresinin gösterdiği tespit edilmiştir.

S. blepharochlaena türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçlarına baktığımızda β-karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Ekstreler kendi arasında karşılaştırıldığında β-karoten ve ABTS yöntemlerinde en iyi aktiviteyi SB-R (sırasıyla, IC_{50}=34.19±1.41 ve IC_{50}=5.40), DPPH yönteminde ise SB-F (IC_{50}=14.58±0.61) ekstrelerinin gösterdiği tespit edilmiştir.

S. spinosa türünden hazırlanan 5 ekstrenin antioksidan sonuçlarına baktığımızda β-karoten renk açılımı yönteminde genel olarak düşük aktivite gözlenirken, DPPH ve ABTS yöntemlerinde iyi aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. β-karoten yönteminde en iyi aktiviteyi SSp-S (IC_{50}=244.73±29.39), DPPH ve ABTS yöntemlerinde ise SSp-L (sırasıyla IC_{50}=66.89±0.53 ve IC_{50}= 30.98±0.25) ekstresi göstermiştir.

Çalışılan tüm ekstreler genel olarak değerlendirildiğinde β-karoten renk açılımı yöntemine göre en yüksek aktiviteyi SSt-S (20.49±0.37), SB-S (34.19±1.41), SB-L (36.86±1.99) ve SB-F (46.35±0.46) ekstreleri göstermiştir. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemine göre, en yüksek aktiviteyi SB-F (**14.58±0.61**), SP-F (22.52±0.11) ve SM-F (31.77±0.52) ekstreleri göstermiştir. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemine göre en yüksek aktiviteleri SSf-R (16.72±0.77), SP-F (**7.41±0.01**), SSc-M (**11.67899**), SM-F (14.54±2.34), SB-M (13.21926), SB-R (**5.396066**), SB-S (12.31898), SB-L (13.84383), ve SB-F (**7.619006**) ekstreleri göstermiştir. DPPH, β-karoten ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktivite sonuçları IC_{50} değerleri olarak çizelge 4.8' de verilmiştir.

çizelge 4.8. Ekstrelerin β-Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri

	IC_{50} values[a]		
Samples	β-Karoten-linoleik asit	DPPH Free Radical	ABTS Cation Radical
SSt-M	200.78±0.92	161.28±2.11	101.26±1.28
SSt-R	20.49±0.37	51.524±0.97	22.46±0.43
SSt-S	159.384±7.14	127.63±0.69	84.17±0.26
SSt-L	98.53±0.66	113.94±1.85	56.61±0.57
SSt-F	133.90±1.78	125.33±0.66	66.95±0.99
SK-M	87.44±0.98	113.21±0.59	51.42±0.75
SK-S	204.14±2.17	95.31±0.01	38.45±0.46
SK-L	202.06±2.35	187.85±0.67	79.52±0.73
SK-F	210.39±4.27	92.64±0.001	32.12±0.63
SSf-M	224.38±1.43	79.96±0.64	36.85±0.53
SSf-R	66.16±0.88	37.56±0.28	**16.72±0.77**
SSf-S	621.56±34.73	66.96±0.49	37.09±0.67
SSf-L	560.89±6.30	72.99±0.93	35.12±0.16
SSf-F	634.11±6.84	57.41±0.23	25.70±0.50
SP-M	254.06±0.61	67.13±0.32	30.20±0.36
SP-R	299.08±7.19	234.55±0.77	101.28±1.66
SP-S	419.09±326.62	67.40±0.97	27.54±0.41
SP-L	211.15±14.07	64.65±0.37	31.73±1.04
SP-F	255.55±12.82	22.52±0.11	**7.41±0.01**
SSc-M	331.25±12.88	29.46±0.07	**11.68±0.01**
SSc-R	105.46±0.65	60.66±3.19	23.31±0.86
SSc-S	>1000	54.43±0.13	24.12±2.00
SSc-L	625.80±133.96	54.30±0.21	22.10±0.02
SSc-F	579.86±23.95	155.55±2.28	70.69±0.61
SM-M	315.82±125.67	85.34±1.29	38.18±0.17
SM-R	>1000	126.83±1.11	45.27±1.76
SM-S	>1000	88.79±0.70	37.89±0.96
SM-L	>1000	92.88±0.86	31.76±1.07
SM-F	>1000	31.77±0,52	**14.54±2.34**
SB-M	45.42±1.10	27.64±0.02	**13.21926**
SB-R	34.19±1.41	32.62±0.24	**5.396066**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

çizelge 4.8. Ekstrelerin β-Karoten, DPPH ve ABTS Yöntemlerine Göre Antioksidan Aktiviteleri (devamı)

	IC50 valuesa		
Samples	**β-Karoten-linoleik asit**	**DPPH Free Radical**	**ABTS Cation Radical**
SB-S	110.62±1.00	43.96±0.93	**12.31898**
SB-L	36.86±1.99	30.69±0.04	**13.84383**
SB-F	46.35±0.46	14.58±0.61	**7.619006**
SSp-M	310.08±6.90	337.27±7.35	201.21±1.24
SSp-R	245.16±4.88	108.68±1.00	45.66±3.17
SSp-S	244.73±29.39	99.18±3.69	56.55±0.53
SSp-L	>1000	66.89±0.53	30.98±0.25
SSp-F	>1000	129,92±10,43	73.72±0.80
α-TOC	15.77±0.41	13.95±1.07	12.95±0.67

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

CUPRAC yönteminde çalışılan türlerin farklı kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesi dört farklı derişimde (10, 25, 50, 100 µg/mL) çalışıldı. Bazı ekstrelerin antioksidan aktivitesinin standart olarak kullanılan BHT ve α-Toc' den daha yüksek olduğu belirlendi.

Çalışmada kullanılan 8 *salvia* türünün her biri kendi içinde değerlendirildiğinde *S. steaminea, S. kronenburgii, S. suffruticosa ve S. macrochlamys* türlerinin kök (sırasıyla, 2.165±0.026, 1.683±0.01, 2.693±0.130 ve 2.287±0.039), *S. pachystachys* ve *S. blepharochlaena* türlerinin çiçek (her ikisi için >3.5), *S. sclarea* türünün karışık (3.002±0.196) ve *S. spinosa* türünün yaprak (1.175±0.072) ekstrelerinin diğer kısımlarından hazırlanan diğer 4 ekstreden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde SB-M (3.291±0.314), SB-R (3.190±0.087), SSc-M (3.002±0.196), SB-L (2.556±0.037), SB-S (2.341±0.232), SB-F **>3.5,** SM-R (2.287±0.039), SSc-S (2.382±0.363), SP-F **>3.5**, SSt-R (2.165±0.026), SSc-L (2.151±0.069), SM-F (2.052±0.145), SSf-F (2.025±0.189), ve SSf-R (2.693±0.130) ekstrelerinin yüksek bir antioksidan potansiyele sahip oldukları belirlenmiştir. Bu yöntemde en yüksek aktiviteyi *S. blepharochlaena* göstermiştir. CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite sonuçları çizelge 4.9' da gösterilmiştir.

çizelge 4.9. Ekstrelerin CUPRAC Yöntemine Göre Antioksidan Aktiviteleri[a]

Örnek	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100µg/mL
SSt—M	0.145±0.002	0.282±0.018	0.574±0.018	1.000±0.037
SSt-R	0.304±0.006	0.648±0.014	1.226±0.014	2.165±0.026
SSt-S	0.154±0.024	0.296±0.019	0.543±0.017	**1.008±0.010**
SSt-L	0.180±0.011	0.352±0.011	0.644±0.018	**1.039±0.056**
SSt-F	0.175±0.042	0.374±0.022	0.706±0.039	**1.282±0.053**
SK-M	0.194±0.007	0.349±0.014	0.633±0.022	**1.082±0.036**
SK-R	0.279±0,005	0.610±0.026	1.028±0.098	**1.683±0.011**
SK-S	0.222±0.008	0.412±0.004	0.762±0.066	1.423±0.003
SK-L	0.120±0.016	0.217±0.015	0.336±0.024	0.599±0.034
SK-F	0.207±0.011	0.438±0.024	**0.785±0.003**	**1.417±0.054**
SSf-M	0.270±0.052	0.436±0.019	0.822±0.035	**1.452±0.042**
SSf-R	0.347±0.010	0.815±0.046	1.465±0.076	**2.693±0.130**
SSf-S	0.202±0.016	0.431±0.039	**0.730±0.034**	**1.311±0.016**
SSf-L	0.244±0.011	0.516±0.050	**0.971±0.034**	**1.673±0.075**
SSf-F	0.291±0.024	0.671±0.016	1.095±0.113	**2.025±0.189**
SP-M	0.285±0.015	0.571±0.061	**1.093**±0.033	1.756±0.140
SP-R	0.136±0.014	0.240±0.041	0.365±0.021	0.605±**0.033**
SP-S	0.253±0.020	0.470±0.049	0.957±0.022	**1.422±0.123**
SP-L	0.238±0.009	0.503±0.013	0.877±0.054	1.783±0.042
SP-F	0.584±0.013	1.246±0.031	2.440±0.059	**>3.5**
SSc-M	0.417±0.021	0.962±0.107	1.566±0.253	**3.002±0.196**
SSc-R	0.294±0.027	0.592±0.047	1.097±0.028	1.903±0.037
SSc-S	0.289±0.023	0.602±0.417	1.066±0.500	**2.382±0.363**
SSc-L	0.304±0.016	0.603±0.046	1.197±0.038	2.151±0.069
SSc-F	0.142±0.010	0.076±0.004	0.083±0.005	**0.081±0.006**
SM-M	0.268±0.020	0.575±0.007	1.000±0.023	**1.671**±0.166
SM-R	0.213±0.009	0.617±0.052	1.211±0.032	**2.287±0.039**
SM-S	0.206±0.021	0.388±0.012	0.679±0.007	1.092±0.070
SM-L	0.251±0.023	0.511±0.067	0.962±0.027	1.712±0.045
SM-F	0.494±0.036	0.972±0.024	1.810±0.045	2.052±0.145
SB-M	0.332±0.004	0.788±0.046	1.527±0.042	**3.291±0.314**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

çizelge 4.9. Ekstrelerin CUPRAC Yöntemine Göre Antioksidan Aktiviteleri[a] (devamı)

Örnek	10 µg/ml	25 µg/mL	50 µg/mL	100µg/mL
SB-R	0.160±0.005	0.942±0.030	1.791±0.030	**3.190±0.087**
SB-S	0.333±0.051	0.716±0.051	1.240±0.077	2.341±0.232
SB-L	0.381±0.009	0.731±0.044	**1.546±0.204**	**2.556±0.037**
SB-F	0.588±0.034	1.392±0.083	2.635±0.284	**>3.5**
SSp-M	0.191±0.002	0.361±0.035	0.586±0.226	0.894±0.066
SSp_R	0.160±0.005	0.268±0.044	0.462±0.041	0.936±0.118
SSp-S	0.183±0.010	0.401±0.116	0.598±0.021	**1.176±0.113**
SSp-L	0.236±0.010	0.418±0.029	0.817±0.010	**1.556±0.056**
SSp-F	0.193±0.009	0.384±0.010	0.643±0.020	1.175±0.072
BHT	0.205±0.014	0.365±0.027	0.616±0.029	**1.171±0.110**
α-TOC	0.305±0.023	0.746±0.057	1.528±0.068	**1.94±0.066**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapası olarak verilmiştir..

4.4. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Çalışılan türlerden hiçbiri asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivite göstermedi. Ancak ekstrelerin çoğunluğu bütirilkolinesteraz enzimini inhibe edici etki gösterdi.

S. steaminea türünün *toprak* altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçlarına baktığımızda asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivite göstermediği ancak bütirilkolin esteraz enzimini inhibe edici etki gösterdiği belirlendi. SSt-S ekstresinin zayıf, SSt-M, SSt-L ve SSt-F ekstrelerinin orta ve SS-R (73.81± 1.24) ekstresinin çok iyi bütirilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivite gösterdiği tespit edildi.

S. kronenburgii türünün farklı kısımlarının etanol ekstreleri asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği belirlendi. Bütirilkolinesteraz enzimine karşı ise SK-M, SK-F ve SK-S orta; SK-R ve SK-L iyi aktivite göstermiştir.

S. suffruticosa türünün farklı kısımlarından hazırlanan 5 ekstreye baktığımızda asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği tespit edildi. Bütirilkolinesteraz enzimine karşı ise SSf-S ve SSf-F ekstrelerinin zayıf, SSf-M, SSf-R ve SSf-L ekstrelerinin orta derecede aktivite gösterdiği belirlendi.

S. pachystachys türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibe edici aktivite göstermediği bütrilkolinesteraz enzimine karşı ise zayıf aktivite gösterdiği görüldü.

S. sclarea türünün toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçlarına baktığımızda SSc-M ve SSc-S nin her iki enzime karşı aktivite göstermediği, SSc-L ve SSc-F nin çok zayıf ve SSc-R nin zayıf bütrilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivite gösterip asetilkolinesteraz enzimine karşı ise aktivite gösteremediği belirlendi.

S. macrochlamys türünün farklı kısımlarının antikolinesteraz aktivitesi incelendiğinde asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği belirlendi. Bütirilkolinesteraz enzimine karşı ise SM-S ekstresinin çok zayıf, SM-M, SM-R ve SM-F ekstrelerinin orta ve SM-L (75.89± 1.03) ekstresinin çok iyi aktivite gösterdiği tespit edildi.

S. blepharochlaena türünün farklı kısımlarının etanol ekstrelerinin antikolinesteraz aktivitesi incelendiğinde ise ekstrelerin yine hiçbirinin asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği, bütrilkolineesteraz enzimine karşı ise SB-R ekstresinin iyi, SB-M ve SB-L ekstrelerinin zayıf, SB-S ekstresinin çok zayıf ve SB-F ekstresinin aktivite göstermediği tespit edildi.

S. spinosa türünün farklı kısımlarından hazırlanan 5 ekstrenin antikolinesteraz aktivite sonuçlarını incelediğimizde hiçbir ekstrenin asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermediği tespit edildi. Bütirilkolinesteraz enzimine karşı ise SSp-M ve SSp-F ekstrelerinin orta, SSp-R ekstresinin iyi ve SSp-S ile SSp-L ekstrelerinin çok iyi derecede aktivite gösterdiği belirlendi.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonunda en yüksek aktiviteyi SSt-R (73,81± 1,24), SM-L (75,89± 1,03), SSp-S (76,62± 2,41), SSp-L (76,01± 5,68) ekstreleri göstermiştir. Elde edilen aktivite sonuçları çizelge 4.10’ da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları[a] (a: 200mg/ml; b: standart madde; AD: aktif değil)

Örnekler	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
SSt-M	AD	58.90 ± 2.48
SSt-R	AD	73.81± 1.24
SSt-S	AD	33.96± 0.89
SSt-L	AD	52.76± 4.43
SSt-F	AD	47.49± 2.30
SK-M	AD	42.86± 0.71
SK-R	AD	61.90± 1.77
SK-S	AD	45.86± 2.84
SK-L	AD	63.66± 2.84
SK-F	AD	41.98± 2.66
SSf-M	AD	49.50± 1.59
SSf-R	AD	57.64± 0.35
SSf-S	AD	21.80± 0.71
SSf-L	AD	47.74± 0.53
SSf-F	AD	28.57± 0.01
SP-M	AD	33.21± 3.01
SP-R	AD	31.33± 0.71
SP-S	AD	14.29± 3.19
SP-L	AD	38.10± 1.77
SP-F	AD	7.71± 0.69
SSc-M	AD	AD
SSc-R	AD	21.23± 3.62
SSc-S	AD	AD
SSc-L	AD	3.49± 0.70
SSc-F	AD	16.60± 0.86
SM-M	AD	40.46± 3.62
SM-R	AD	51.42± 1.55
SM-S	AD	5.15± 4.65
SM-L	AD	75.89± 1.03
SM-F	AD	51.06± 0.49
SB-M	AD	37.66± 0.01
SB-R	AD	66.03± 0.17
SB-S	AD	12.34± 0.69
SB-L	AD	27.68± 0.34

çizelge 4.10. Ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları[a] (a: 200mg/ml; b: standart madde; AD: aktif değil) (devamı)

Örnekler	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
SB-F	AD	AD
SSp-M	AD	52.88± 0.17
SSp-R	AD	62.09± 0.61
SSp-S	AD	76.62± 2.41
SSp-L	AD	81.22± 1.67
SSp-F	AD	49.76± 0.74
Galantamin[b]	87.65± 0.10	81.87 ± 0.81

4.5. LC-MS/MS Sonuçlarının Kemometrik Analizi

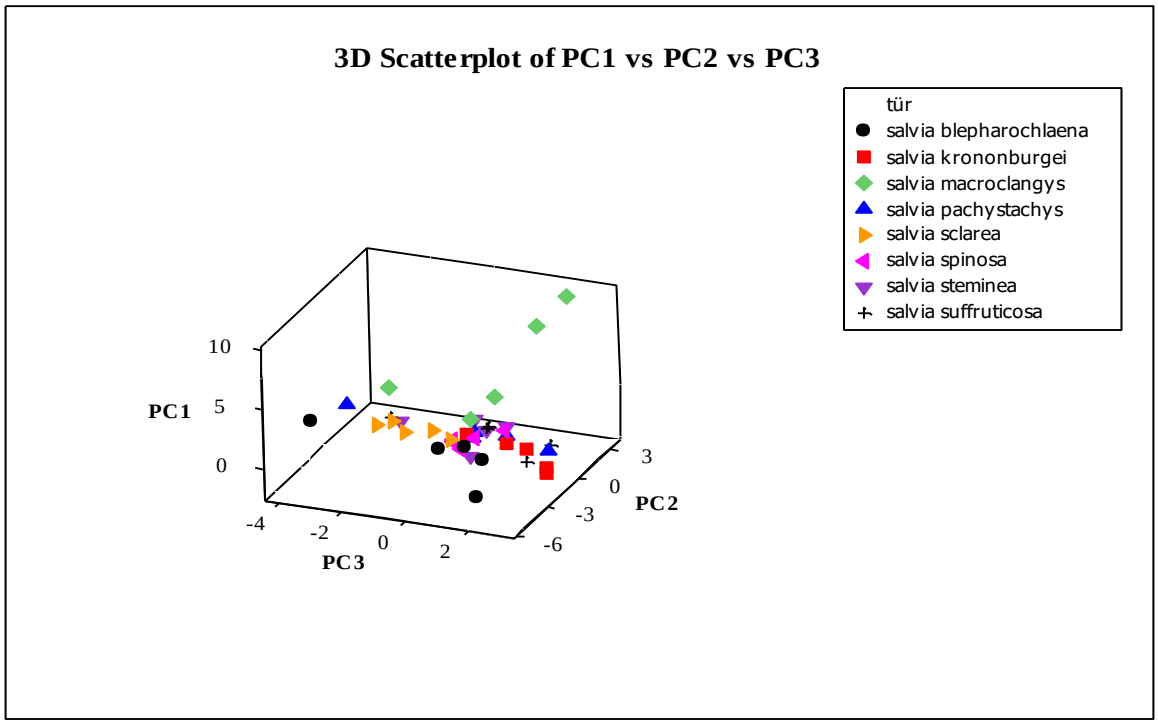
Çalışmada kullanılan 8 *Salvia* türünün 28 fenolik bileşenine ilişkin çoklu değişken analizi, temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) teknikleri kullanılarak sınıflandırılmıştır. İlk iki temel bileşen toplam varyansın % 33.00'ını, ilk on temel bileşen varyansın % 84,40' ını açıklamaktadır. PCA analizi sonucunda Eigenvalue (özdeğer) 1'in üstünde 10 değer elde edilmiş olup ilk on temel bileşen varyansı % 84.4 oranında açıklamaktadır (çizelge 4.11.).

çizelge 4.11. *Salvia* örneklerine ait temel bileşenlerin loading, eigenvalue, varyans ve kümülatif varyans değerleri

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Hesperidin	-0.006	0.004	0.069	-0.014	0.037	0.203	-0.300	0.377	0.271	0.159
p-coumaric acid	0.024	-0.107	-0.331	0.169	0.345	0.170	0.165	0.075	-0.094	0.131
Gallic acid	-0.008	-0.067	0.031	-0.153	0.273	0.048	-0.052	-0.609	0.380	0.191
Caffeic acid	0.035	-0.368	0.019	-0.047	-0.198	0.176	-0.064	-0.043	-0.191	-0.025
Vanillic acid	-0.008	-0.322	0.189	0.238	-0.073	0.237	-0.060	0.025	-0.126	0.045
Salicylic acid	0.340	-0.047	0.072	0.226	-0.024	0.014	-0.028	0.198	0.231	-0.142
Quinic acid	-0.079	0.155	-0.242	0.178	-0.413	0.166	-0.063	-0.117	0.033	0.284
4-OH-Benzoic acid	0.136	-0.019	0.241	0.154	-0.037	0.169	0.464	-0.243	0.133	0.126
tr-Ferulic acid	0.077	-0.294	-0.072	0.217	0.210	-0.245	-0.159	0.140	-0.106	0.136
Chlorogenic acid	0.323	0.196	0.048	0.037	-0.115	0.047	-0.084	-0.025	-0.065	-0.108
Rosmarinic acid	0,109	-0,163	-0,389	-0.130	-0.297	0.046	0.071	0.004	0.064	-0.062
Protocatechuic acid	0.187	-0.356	0.101	-0.026	-0.042	0.188	-0.130	-0.155	0.195	0.006
Cinnamic acid	-0.111	0.116	-0.179	0.072	0.369	0.248	-0.203	0.125	-0.124	0.349

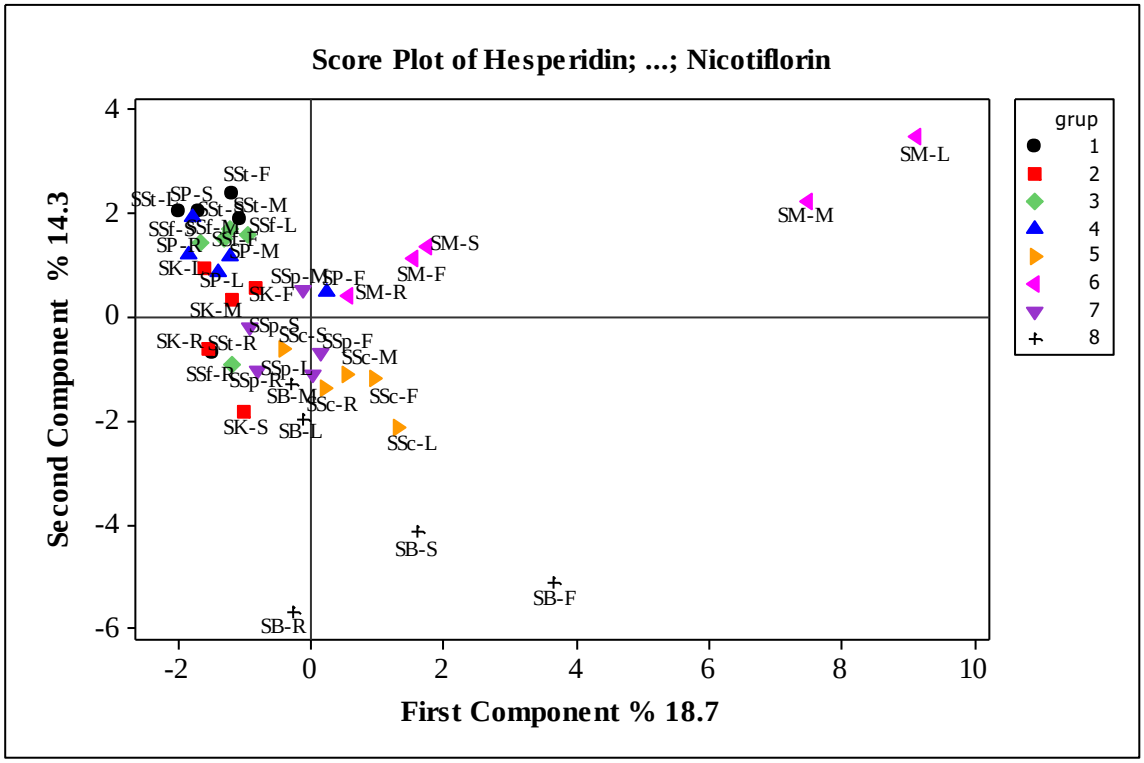
çizelge 4.11. *Salvia* örneklerine ait temel bileşenlerin loading, eigenvalue, varyans ve kümülatif varyans değerleri (devamı)

Değişken	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Sinapinic acid	0.007	-0.314	-0.047	-0.016	0.035	-0.080	0.314	0.197	0.088	0.303
Fumaric acid	-0.046	0.054	-0.145	-0.042	0.331	0.455	-0.007	-0.003	0.207	-0.354
Vanillin	-0.071	-0.209	0.318	0.192	-0.113	0.378	-0.009	-0.042	-0.110	-0.064
Malic acid	0.019	0.135	-0.316	-0.104	-0.188	0.412	-0.018	0.104	0.119	-0.084
Naringenin	0.380	0.117	0.053	0.025	0.092	0.048	0.135	0.129	-0.089	0.162
Rutin	-0.251	0.241	0.128	0.322	-0.020	0.081	0.184	0.020	0.023	-0.016
Quercetin	0.384	0.173	0.083	0.016	-0.033	0.072	0.023	0.042	-0.086	0.135
Quercitrin	-0.253	0.210	0.182	0.299	-0.050	0.091	0.149	0.108	-0.007	0.152
Apigenin	0.322	0.185	-0.033	0.089	0.197	-0.006	0.094	-0.205	-0.037	0.133
Chrysin	0.045	-0.095	-0.151	-0.186	0.031	0.051	0.588	0.228	0.019	-0.131
Liquiritigenin	-0.051	0.048	0.138	0.037	-0.081	-0.162	0.002	0.253	0.667	0.053
Isoquercitrin	0.375	0.157	0.090	-0.017	-0.043	0.053	-0.152	0.071	-0.040	-0.012
Cosmosiin	0.033	0.019	-0.374	0.301	-0.262	-0.090	-0.017	-0.210	0.101	0.206
Rhoifolin	0.111	-0.210	-0.187	0.397	0.086	-0.158	-0.069	0.031	0.155	-0.100
Nicotiflorin	0.005	0.048	-0.132	0.418	0.097	-0.100	0.008	-0.130	-0.002	-0.510
Eigenvalue	**5.2285**	**4.0077**	**2.9618**	**2.5722**	**2.1068**	**1.7518**	**1.5964**	**1.3036**	**1.0907**	**1.0127**
Variance (%)	**18.7**	**14.3**	**10.6**	**9.2**	**7.5**	**6.3**	**5.7**	**4.7**	**3.9**	**3.6**
Cumulative (%)	**18.7**	**33.0**	**43.6**	**52.8**	**60.3**	**66.5**	**72.2**	**76.9**	**80.8**	**84.4**



Şekil 4.4. Three way PCA (PC1-2-3-) scores plot graphic of *Salvia samples* • *Salvia blepharochlaena,* ■ *Salvia krononburgei,* ♦ *Salvia macroclangys,* ▲ *Salvia pachystachys,* ► *Salvia sclarea,* ◄ *Salvia spinosa,* ▼*Salvia steminea,* + *Salvia suffruticosa*

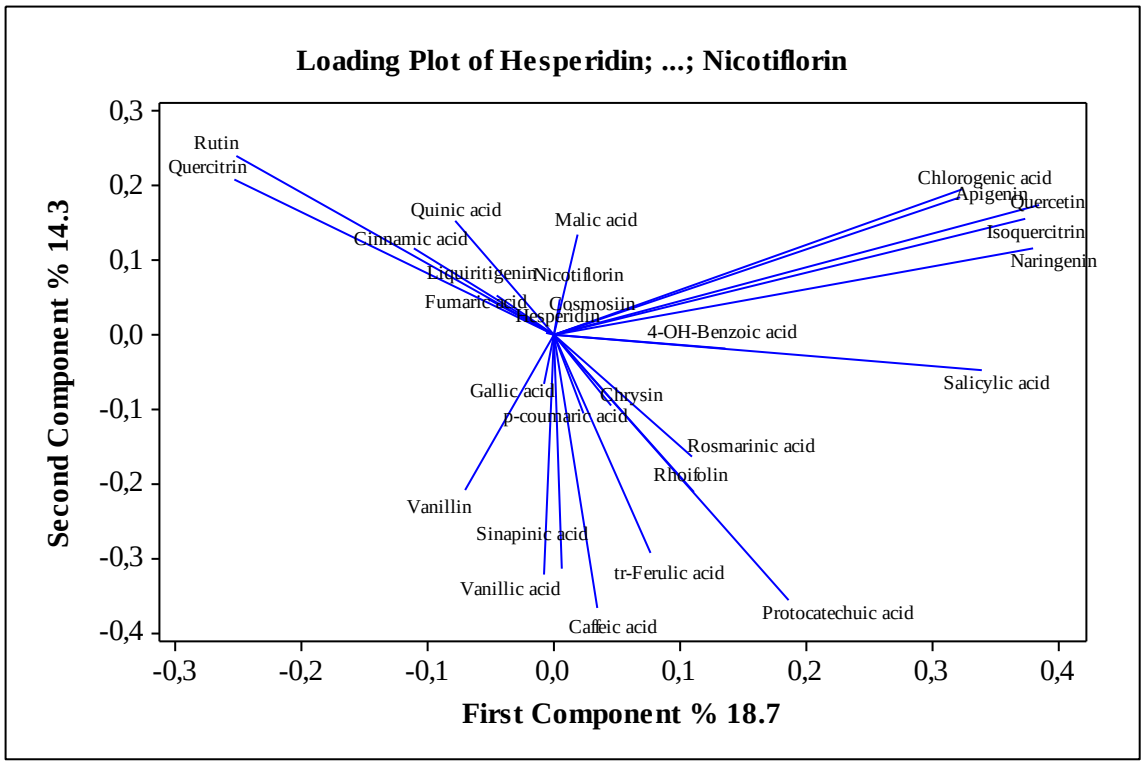
Şekil 4.4 dikkate alındığında aynı türe ait örneklerin özellikle *Salvia macroclangys , Salvia krononburgei, Salvia sclarea ve Salvia blepharochlaena* türlerinin gruplar oluşturduğu görülmektedir.



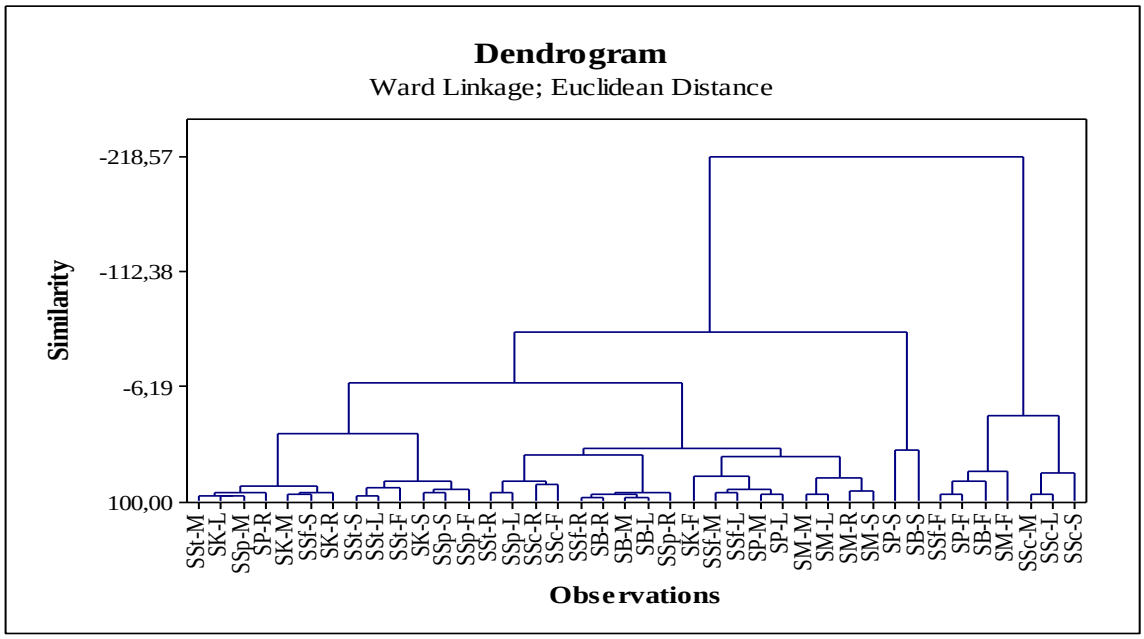
Şekil 4.5. *Salvia* türlerine ait PC1 ve PC2 skor grafiği • *Salvia steminea* , ■ *Salvia krononburgei,* ♦ *Salvia suffruticosa,*▲ *Salvia pachystachys,* ►*Salvia sclarea,* ◄ *Salvia macroclangys,* ▼ *Salvia spinosa,* + *Salvia blepharochlaena*

Şekil 4.5' te salvia türlerinin 28 fenolik madde için yapılan temel bileşen analizi sonucu elde edilen skor grafiği görülmektedir. Oluşan gruplar *Salvia* türlerini ifade etmektedir. Şekil 4.6' da ise analize ilişkin loading grafiği yer almaktadır. Iki grafik birlikte değerlendirildiğinde klorojenik asit, apigenin, kersetin, izokersitrin, naringenin, 4-OH benzoic asit ve salisilik asit gibi fenolik bileşenlerin SM-M ve SM-L örnekleri başta olmak üzere tüm *salvia macroclangys* türlerinde baskın olarak görüldüğü belirlenmiştir. *Salvia blepharochlaena* türlerine ait örneklerden SB-S, SB-F ve SB-R örneklerinde krisin, rosmarinik asit, rhoifolin, protokateşik asit, ferrulik asit, kafeik asit, kumarik asit, vanilik asit, sinapinik asit, gallik asit ve vanillin gibi fenolik bileşenler baskın olarak görülmektedir. Aynı zamanda bu fenolik bileşenler *salvia sclarea* türlerinde de yüksek oranda belirlenmiştir. *Salvia steminea, salvia pachystachys*

türlerindeki baskın fenolik bileşenler ise rutin, kersitrin, kinik asit, fumarik asit, liquiritigenin, cinnamic acid, hesperidin'dir.



Şekil 4.6. *Salvia* türlerine ait PC1 ve PC2 loading grafiği



Şekil 4.7. Euclidean uzaklığı (distance) ve Ward Linkage metodu ile elde edilen dendogram sonuçları

Şekil 4.7’ de de hiyerarşik kümeleme analizi sonucu elde edilen Dendogram yer almakatadır. HCA analizi öklit uzaklığı ve ward metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz LC-MS/MS cihazından elde edilen verilere uygulanmıştır. HCA analizi sonucunda 5 grup oluşmuştur. Gruplar içinde yer alan örnekler aşağıda listelenmiştir.

1. Grup : SSc-M, SSc-L VE SSc-S
2. Grup : SSf-F, SP-F, SB-F, SM-F
3. Grup : SP-S, SB-S
4. Grup : SM-S, SM-R, SM-L, SM-M, SP-L, SP-M, SSf-L, SSf-M, SK-F, SSp-R, SB-L, SB-M, SB-R, SSf-R, SSc-F, SSc-R, SSp-L, SSt-R
5. Grup: SSp-F, SSp-S, SK-S, SSt-F, SSt-L, SSt-S, SK-R, SSf-S, SK-M, SP-R, SSp-M, SK-L VE SSt-M

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Özellikle ülkemizin doğu bölgesinde yetişen 8 *Salvia* türü toplanıp herbaryum örnekleri oluşturulmuştur (çizelge 3.1.). Daha sonra bu türlerin çiçek, yaprak, dal ve kök kısımları ayrılarak gölgede kurutulmuştur. Ayrıca bu kısımlardan mix oluşturulmuştur. Daha sonra 8 türün 5 kısmının etanol ekstreleri hazırlanmıştır. Hazırlanan 40 ekstrenin verimlerine baktığımızda genel olarak ekstre verimleri birbirine yakın olmakla beraber çiçek ekstrelerinin verimlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (çizelge 3.2.).

Hazırlanan ekstrelerin total fenolik flavonoid içeriği sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak hesaplandı. Sonuçlara baktığımızda genel olarak hem fenolik hem de flavonoid içerik bakımından kök ve yaprak kısımlarından hazırlanan ekstrelerin daha zengin olduğu tespit edildi. Tüm ekstreler arasında fenolik içerik bakımından SSp-R (283.43±8.83) ekstresinin flavonoid içerik bakımından ise SSf-M (53.81±0.39) ekstresinin en zengin olduğu tespit edildi. Genel olarak çalışılan *Salvia* türlerinin fenolik içerik bakımından oldukça zengin olduğu, bu nedenle gıda katkı maddesi olma potansiyellerinin olduğu söylenebilir.

Çalışılan 8 türün 40 ekstresi LC-MS/MS ile fenolik asit ve flavonoid içerik bakımından taranmıştır. Genel olarak çalışılan türlerin fenolik asit içeriği bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir. Özellikle tüm türlerin antioksidan özellikleri yüksek olan hesperidin, kaffeik asit, rozmarinik asit, apigenin ve cosmosiin bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir. Hesperidin bakımından SP-S (39260.44±1028.62), kaffeik asit bakımından SSt-R (1491.03±52.78), rozmarinik asit bakımından SSc-L (28206.65±2011.13), fumarik asit bakımından SSc-S (13072.88±162.10), apigenin bakımından SM-L (2758.53±179.31) ve cosmosiin bakımından ise SSp-F (16020.98±956.45) en zengin içeriğe sahip olduğu tespit edildi. Total fenolik bakımından zengin tespitedilen ekstrelerin yine LC-MS/MS sonuçlarına göre antioksidan potansiyeli yüksek olan bileşiklerce zengin çıkması bu türlerin gıda katkı maddesi olma potansiyelini arttırmaktadır.

Çalışılan 8 türün 40 ekstresinin 4 yönteme göre (DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi, β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi, ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi ve Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Yöntemi)

antioksidan potansiyelleri belirlendi. Genel olarak çalışılan tüm ekstrelerin 4 yönteme göre de oldukça aktif olduğu tespit edildi. β-karoten-linoleik asit yönteminde *Salvia staminea* türünün, DPPH yöntemine göre *S. blepharochlaena* türünün, ABTS ve CUPRAC yöntemlerine göre ise yine *S. blepharochlaena* türünün daha aktif olduğu tespit edildi. Total fenolik içerik ile antioksidan yöntemler arasında paralel bir korelasyon olduğu tespit edildi.

Ayrıca SSt-R, SK-R, SSf-R, SSc-L ve SB-R ekstrelerinin antioksidan özelliği yüksek olan rozmarinik, kaffeik ve fumarik asitlerce SP-F ekstresinin hesperidin, rosmarinik asit, fumarik asit, apigenin ve cosmosiin bakımından ve SB-F ekstresinin ise kaffeik asit, rozmarinik asit, fumarik asit, apigenin ve cosmosiin bakımından zengin olması bu ekstrelerin yüksek antioksidan özelliklerinin bu bileşiklerden kaynaklandığı söylenebilir.

Çalışılan 8 türün 40 ekstresinin antikolinesteraz aktiviteleri asetil ve bütiril kolinesteraz yöntemlerine göre belirlenmiştir. Çalışılan ekstrelerin tümü asetilkolinesteraz yönteminde aktivite sergilemezken bütirilkolinesteraz yönteminde ise orta yüksek aktivite gösterdikleri tespit edildi. Bütirilkolinesteraz yönteminde *S. spinosa* türünün yüksek bir potansiyeli olduğu belirlendi. Özellikle bu türün SSp-L ekstresinden galantamine (81.87 ± 0.81) yakın bir aktivite (81.22± 1.67) gösterdiği tespit edildi.

Salvia türlerinin 28 fenolik bileşenine ilişkin çoklu değişken analizi, temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Iki grafik birlikte değerlendirildiğinde klorojenik asit, apigenin, kersetin, izokersitrin, naringenin, 4-OH benzoic asit ve salisilik asit gibi fenolik bileşenlerin SM-M ve SM-L örnekleri başta olmak üzere tüm *S. macroclangys* türlerinde baskın olarak görüldüğü belirlenmiştir. *S. blepharochlaena* türlerine ait örneklerden SB-S, SB-F ve SB-R örneklerinde krisin, rosmarinik asit, Rhoifolin, protokateşik asit, ferrulik asit, kafeik asit, kumarik asit, vanilik asit, sinapinik asit, gallik asit ve vanillin gibi fenolik bileşenler baskın olarak görülmektedir.

Bu tez çalışmasında 8 *Salvia* türünün 5 yöntemle antioksidan potansiyeli ve 2 yöntemle de antikolinesteraz aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca LC-MS/MS cihazı ile 37 bileşen açısından taranmış ve sonuçlar kemometrik olarak incelenmiştir. Bu türlerin

hem fenolik içerik bakımından zengin olması hem de antioksidan özelliklerinin yüksek olması bu türlerin gıda takviyesi olarak kullanılabileceklerini ortaya koymaktadır.

6. KAYNAKLAR

Acar, J., 1998. Fenolik Bilesikler ve Dogal Renk Maddeleri, ***Gıda Kimyası***, pp. 435-452, Hacettepe Üniversitesi yayınları, Ankara

Adsersen, A., Kjølbye, A., Dall, O., Jager, A.K., 2007, Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase İnhibitory Compounds from Corydalis cava, Schweigg. &Kort, ***Journal of Ethnopharmacology***, 113, 179–182.

Akbar, A., Tariq M., Nisa, M., 1985. Pharmacological studies on *Salvia haematodes* Wall. ***Acta Trop***. 42 (4), 371–374

Altınısık, M. 2001 *Serbest radikaller* 2000-2001 yılı sunuları. http://www.mustafaaltinişik.org.uk

Alzheimer A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allg Z Psychiat 1907; 64: 146-8.

Alzheimer A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. Z Ges Neurol Psychiatr 1911; 4: 356-385 animal products and microbial sources. ***Antioxidants in Food, Practical Applications, J***

Anonymus, 1994. *Salviae folium* (Salbeiblaetter), Bundesanzeiger Nr. 90/1985, Bundesanzeiger Nr. 50/1990. In *Verffentliche Monographien.* Bekanntmachung her die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln. Entwurf der Aufberetung-kommission für den humanmedi zinischen Bereich, phytotherapeutische Therapie-richtungund Stoffgruppe (Kommission E), Bundesinstitut fr Arzneimittel undMedizinprodukte Berlin, pp. 464.

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. ***Analyst***, 2002, 127: 183-198.

Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 2004, 52: 7970-7981.

Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Celik SE. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. ***Microchimica Acta***, 2008, 160: 413-419.

Arnao MB. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. ***Trends in Food Science & Technology***, 2000, 11: 419-421.

Asadi S, Khodagholi F, Ghahremanzamaneh M, et al. Chemical Composition Analysis, Antioxidant, Antiglycating Activities and Neuroprotective Effects of S. choloroleuca, S. mirzayanii and S. santolinifolia from Iran. ***American Journal Of Chinese Medicine*** [serial online]. June 2011;39(3):615.

Bahadori M, Asghari B, Bahadori S, et al. Salvia nemorosa L.: A novel source of bioactive agents with functional connections. *LWT* - ***Food Science And Technology*** [serial online]. January 1, 2017;75:42-50.

Bahadori M, Valizadeh H, Asghari B, Dinparast L, Moridi Farimani M, Bahadori S. Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of Salvia spinosa L. ***Journal Of Functional Foods*** [serial online]. October 1, 2015;18(Part A):727-736.

Bahadori M.B., M. Mirzaei Cytotoxicity, antioxidant activity, total flavonoid and phenolic contents of *Salvia urmiensis* Bunge and *Salvia hydrangea* DC. ex Benth Research ***Journal of Pharmacognosy***, 2 (2015), pp. 27–32

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES). Erişim Tarihi: 12.05.2017Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8040,

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES) Erişim Tarihi: 12.05.2017.Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8063,

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES). Erişim Tarihi: 12.05.2017 Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8068,

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) Updates and improvements of Turkish Plants. Data Service (TÜBİVES). Erişim Tarihi: 12.05.2017 Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8073,

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011) Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES). Erişim Tarihi: 12.05.2017 Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8082,

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011).Updates and improvements of Turkish Plants Data Service Erişim Tarihi: 12.05.2017 (TÜBİVES).Erişim:http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8086.

Bakis, Y., Babac, M. T., & Uslu, E. (2011). Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES). Erişim Tarihi: 12.05.2017 Erişim: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=8112,

Bansal, V., Malviya, R., Pal, O. P. ve Sharma, P. K. (2010). High performance liquid chromatography: A short review. ***Journal of Global Pharma Technology***, 2(5), 22-26.

Başer, K., H., C., Kırımer N., 2006. Essential Oils of Lamiaceae Plants of Turkey. ***Acta Horticulturae***, 723, 163–171

Baytop, T. 1984.Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)İstanbul Üniversitesi yayınları No:3255-Eczacılık fakültesi no 40

Baytop, T. 1999. Bitkileri ile Tedavi İlaveli 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri**,** İstanbul, Sayfa: 81-177.

Ben Farhat M, Landoulsi A, Chaouch-Hamada R, Sotomayor J, Jordan M. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of Salvia species growing in different habitats. ***Industrial Crops And Products*** [serial online]. n.d.;49:904-914. Available from: Science Citation Index, Ipswich, MA. Accessed December 20, 2016

Benabadjı, S.H., Wen, R.; Zheng, J., Dong, X.C., Yuan, S.G., 2004, Anticarcinogenic and Antioxidant Activity of Diindolylmethane Derivatives, ***ActaPharmacologica Sinica***, 25 (5), 666-671.

Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. ***Analytical Biochemistry***, *239:* 70-76.

Bera D, Lahiri D, Nag A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. ***J. Food Engineering***, 74: 542-545.

Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G. 1993. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Sicilian Aromatic Plants. ***Flavour and FragranceJournal***, 8, 331–337.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. ***Nature***, *181:* 1199-1200.

Boligon et al., Med chem 2014, 4(7), 517-522

Bommer S, Klein P, Suter A. First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes. ***Adv Ther*** 2011 Jun;28(6):490–500.

Brand-Williams, W., Cavalier, M. E. and Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. ***Food Science and Technology***, 28(1): 25-30.

Buchanan, B.B., Schurmann, P., Decottignies, P.T., Lozano, R.M. 1994. Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine. ***Archives of Biochemistry and Biophysics***,*314:* 257-260.

Cankurtaran M, Arıoğul S. Alzheimer Haslatığı Risk Faktörleri. In:Arıoğul S, ed. Geriatri ve Gerontoloji**.** 1. Basım Ankara: MN Medialve Nobel; 2006: 953-968.

Cankurtaran M, Arıoğul S. Alzheimer hastalığı ve tedavisinde yenilikler. ***Turkiye Tıp Dergisi Dahili Tıp Bilimleri*** 2002; 9(3): 128-136

Clifford, M.N. 1986. Phenol–protein interactions and their possible significance for astringency. In G.G. Birch and M.G. Lindley (eds), Interaction of Food Components. Elsevier Applied Science, pp. 143–164. London.

Colovic MB, Krstic DZ, Lazarevic-Pasti TD, Bondzic AM, Vasic VM. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. ***Current Neuropharmacology***, 2013, 11: 315-335.

Coyle J, Kershaw P (2001) Galantamine, a cholinesteraseinhibitor that allosterically modulates nicotinic reseptors: effects on the course of Alzheimer's disease. ***Biol Psychiatry,*** 49:289-299.

Cragg, G.M., Newman, D.J. 2005 International collaboration in drug discovery and development from natural sources. ***Pure. Appl. Che***. 77: 1923–1942.

Culhaoglu B, Yapar G, Dirmenci T, Topcu G. Bioactive constituents of Salvia chrysophylla Stapf. ***Natural Product Research*** [serial online]. n.d.;27(4-5):438-447. Available from: Science Citation Index, Ipswich, MA. Accessed December 19, 2016.

Cummings JL. Alzheimer's Disease. NEJM 2004; 351: 56-67.

Çam, M. ve Hısıl, Y., 2003. Gıdalardaki Flavonoidler ve ÖnemLeri. 3. Gıda Mühendisligi Kongresi, Ankara.

Dapkevicius A., Venskutonis, R., van Beek T.A. ve Linssen J.P.H., 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***, 77: 140-146.

Davis, P. H. ***, Flora of Turkey and The East Aegean Islands***, Vol.7, Edinburgh University Press. Edinburgh, (1982)

Davis, P. H., ***Flora of Turkey and The East Aegean Islands***, Vol. 1-9, Edinburgh University Press. Edinburgh, (1965-1985).

Demirci, B.; Tabanca, N.; Baser, K. H. C. Enantiomeric distribution of some monoterpenes in the essential oils of some *Salvia* species. ***Flavour Fragrance J***. 2002, *17*, 54-58.

Demirci, F., Azaz, A. D., Satıl, F., Kürkçüoğlu, M., BaÇer, K. H. C., 2002, Bazı *Satureja* uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir.

Dinç, E., 2009. Kemometrik İşlem ve Yöntemlerin Analatik Kimyadaki Tipik Uygulamaları, Uygulamalı Kemometri Yaz okulu Notları,

Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. ***Archives of Biochemistry and Biophysics***, 315: 161-169.

Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S. ve İlarslan, R., Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları, (1989).

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı Eğrelti ve Tohumlu bitkiler.Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Ankara, (2000).

Erik, S. ve Tarıkahya, B., Türkiye Florası Üzerine, Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi, Alp Matbaası, Ankara, 17, 139-163, (2004).

Evans DA, Funkenstein H, Albert Ms et al. Prevalence of Alzheimer's Disease in a community population of older persons. ***JAMA*** 1989; 262: 2551-2556.

FAYDAOĞLU E., M. S. (2011). Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu: ***Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi,*** 2011, 11 (1): 52 - 67.

Ferri CP, Prince M, Brayne C., et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. ***Lancet*** 2005; 366: 2112-7.

Fırat, M. (2013) Ferhenga Navên Riwekên Bi Kurdî/Kürtçe Bitki Adları Sözlüğü/Dictionary of Plant Names in Kurdish. Kalkan Ofset, Ankara, 552 pp.

Flamini, G., Cioni, P. L., Morelli, I., & Bader, A. (2007). Essential oils of the aerial parts of three Salvia species from Jordan: Salvialanigera, S. spinosa and S. syriaca. ***Food Chemistry,*** 100, 732–735.

Forouzin F, Jamei R, Heidari R 2015Compositional Analysis and Antioxidant Activity of Volatile Components of Two *Salvia* spp ***Trop J Pharm Res***, November 2015; 14(11): 2013

Fukumoto LR, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 2000, 48: 3597-3604.

Gaitan, E., Lindsay, R.H., Reichert, R.D. *et al.* 1989 Antithyriodic and gioterogenic effects of millet: role of *C*-glycosylflavones. ***J. Clin. Endocrinol. Metab***.,68: 707–714.

Gali-Muhtasib HU, Hilan C, Khater C. Traditional uses of Salvia libanotica (East Mediterranean Sage) and the effects of its essential oils**.** ***J Ethnopharmacol*** 2000; 71:51320.

Gao S, Hendrie HC, Hall KS, Hui S. The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease. ***Arch Gen Psychiatry*** 1998;55(9):809-15.

Gilman S. Alzheimers disease. 1997;40(2):230-45.

Greuter, W., 1988. International Code of Botanical Nomenclature, Koetz Scientific Books, Konigstein, Germany.

Grieve, M.,1984. A Modern Herbal, Savvas Publishing, Eastern Adelaide, Australia

Griffiths, W. J., et al. (2001) Electrospray and tandem mass spectrometry in biochemistry, ***Biochemical Journal***.,**355:** p545.

Grossberg GT. The ABC of Alzheimer's disease: behavioral symptoms and their treatment. ***Int Psychogeriatr***. 2002;14 (Suppl 1):27-49.

Gülçin İ, Oğuz M, Oktay M, Beydemir Ş, Küfrevioğlu Ö. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (Salvia sclarea L.). ***Turkish Journal Of Agriculture And Forestry*** [serial online]. January 1, 2004;28(1):25. Available from: ULAKBİM Ulusal Veri Tabanları (UVT) - ULAKBIM Turkish National Databases, Ipswich, MA. Accessed December 20, 2016.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., (edlr.), (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K.H.C., Flora of Turkey, Volume 11, Edinburgh University Press. Edinburgh, (2000).

Hall III C. 2001. Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes,

Hamidpour, R. , Hamidpour, S. , Hamidpour, M., Shahlari, M. , 2013. Sage: The func-tional novel natural medicine for preventing and curing chronic illnesses. Int. J. Case Rep. Images 4, 671–677 And references cited there in

Harborne J. B., 1988. Phytochemical Methods, A Guıde to Modern Techniques of Plant Analysis, Third Edition, 67, Chapman&Hall, London.

Harborne J. B., 1988. Phytochemical Methods, A Guıde to Modern Techniques of Plant Analysis, Third Edition, 74, Chapman&Hall, London.

Harborne, J. B. 1998: Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis Third Edition, Chapman and Hall, London, 40-41.

Harun YILMAZ, G. K. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yetiştirilmesi DÜZCE: MYO-ÖS 2010- Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu

Hattori H. Elderly depression and depressive state with Alzheimer's disease. Nippon Rinsho 2009;67(4):835- 44.

Hedge, I.C., 1992. A global survey of the Lamiacea, Advencis in Labiatea Science, 7-18.

Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Archives of Internal Medicine, 155(4): 381-386.

Heywood, V. H., 1996, Flowering Plants of the World, P: 239, B.T. Batsford Ltd.,London.

Huang DJ, Ou BX, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry,*** 2005, 53: 1841-1856.

Ibrahim T. Chemical composition and biological activity of extracts from Salvia bicolor Desf. growing in Egypt. Molecules [serial online]. 2012;17(10):11315-11334. Available from: CAB Abstracts, Ipswich, MA. Accessed December 22, 2016.

Iwashina, T. 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. ***Journal of Plant Research***, 113: 287–299.

Jones R. The Dementias. *Clinical Medicine* 2003; 3: 404-408.

Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer's disease. ***FASEB J*** 1991; 5: 278-86.

Kocak M, Sarikurkcu C, Cengiz M, Kocak S, Uren M, Tepe B. Salvia cadmica: Phenolic composition and biological activity. ***Industrial Crops & Products*** [serial online]. July 1, 2016;85:204-212. Available from: ScienceDirect, Ipswich, MA. Accessed December 15, 2016.

Kolak U, Hacıbekiroğlu I, Öztürk M, Özgökçe F, Topçu G, Ulubelen A. Antioxidant and anticholinesterase constituents of Salvia poculata. ***Turkish Journal Of Chemistry*** [serial online]. January 1, 2009;33(6):813. Available from: ULAKBİM Ulusal Veri Tabanları (UVT) - ULAKBIM Turkish National Databases, Ipswich, MA. Accessed December 20, 2016.

Kolak, U., Kabouche, A., Ozturk, M., Kabouche, Z., Topcu, G. and Ulubelen, A., 2009. Antioxidant Diterpenoids from the Roots of *Salvia barrelieri*, ***Phytochem. Anal.***, 20, 320-327.

Lee, A.R., Chang, W.L., Lin, H.C., King, M.L. 1987. Isolation and bioactivity of newtanshinones. ***J. Natural Products****,* 50, 157–61.

LGC: National Measurment System[web page on internet] Erişim:20.02.2015 http://www.rsc.org/images/AMC%20LCMS%20Guide_tcm18-240030.pdf. 48

Lima R, Cardoso M, Andrade M, Guimarães P, Batista L, Nelson D. Bactericidal and Antioxidant Activity of Essential Oils from Myristica fragrans Houtt and Salvia microphylla H.B.K. ***Journal Of The American Oil Chemists' Society (JAOCS)*** [serial online]. March 2012;89(3):523-528.

Liu, F., Ooi, V.E., Chang, S.T. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. ***Life Sciences***, 60 (10): 763-771.

Lleó A, Greenberg SM, Growdon JH. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. ***Annu Rev Med*** 2006;57:513-33.

Mann, J., Davidson R. S., Hobbs J. B., Banthorpe, D. V., Harborne, J. B., 1994. Natural Products, First Edition, pp. 367-369, Pearson Education, London.

Markesbery WR. Oxidative stres hypothesis in AD**.** ***Free Radic Biol Med*** 1997;23(1):134-47.

Miller NJ, Riceevans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel Method For Measuring Antioxidant Capacity And Its Application To Monitoring The Antioxidant Status In Premature Neonates. ***Clinical Science,*** 1993, 84: 407-412.

Miller, H. E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. ***Journal of American Oil Chemists' Society***, 48, 9

Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Sampietro, A.R., Vattuone, M.A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of *Propolis* from several regions of Argentina. ***Journal of Ethnopharmacology****,* 71, 109–114

Moţ A, Silaghi-Dumitrescu R, Sârbu C. Original Research Article: Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV–vis spectroscopic data. ***Journal Of Food Composition And Analysis*** [serial online]. June 1, 2011;24(8th International Food Data Conference: Quality food composition data, key for health and trade):516-522. Available from: ScienceDirect, Ipswich, MA. Accessed July 13, 2017.

Nawar WW. 1985. Lipids. ***Food Chemistry***, OR Fennema (ed), pp. 139-244, Marcel

Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger Principles of Biochemistry, Çeviri, Kılıç, N. (2005) Biyokimyanın İlkeleri, 3. Baskı, s.146, Palme Yayıncılık, Ankara.

Newall, C. A., Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. 1996. ***A guide for Health-care Professionals,*** London

Nickavar B, Rezaee J, Nickavar A. Effect-Directed Analysis for the Antioxidant Compound in Salvia verticillata. ***Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*** [serial online]. Winter2016 2016;15(1):241-246.

Oguz, A., 2008. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Gaziosmanpasa Üniversitesi Fen BilimLeri Enstitüsü Gıda Mühendisligi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 2008.

Orhan I, Senol F, Dogan M, et al. Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (Salvia) species with their total phenol and flavonoid contents. ***Industrial Crops & Products*** [serial online]. January 2013;41:21-30. Available from: Academic Search Complete, Ipswich, MA. Accessed December 21, 2016

Orhan I, Senol F, Ozturk N, Akaydin G, Sener B. Profiling of in vitro neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. ***Food Chemistry*** [serial online]. June 1, 2012;132:1360-1367.

Orhan, İ.,Şener, B., Choudhary, M.I., Khalıd, A., 2004, Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants, ***Journal of Ethnopharmacology,*** 91, 57–60

Oyama Y, Chikahisa L, Ueha T ve ark. (1996) Ginkgo biloba extract protects brain neurons against oxidative stress induced by hydrogen peroxide. ***Brain Res***, 712:349-352.

Özgen M, Reese RN, Tulio AZ, Scheerens JC, Miller AR. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2 '-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 2006, 54: 1151-1157.

Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M.E., Topçu, G., 2007, Antioxidant Activity of Stem and Root Extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An Edible Medicinal Plant, ***Food Chemistry,*** 103, 623–630.

Peana, A. and Satta, M. 1992. Effects of the essential oil from *Salvia desoleana* and *Salvia sclarea* on the CNS. ***Ars Pharmaceutica,*** 33 (1–4), 458–461.

Perrin, D.D., Dempsey, B. 1974. Buffers for pH and Metal Ion Control, John Wiley, New York.

Petersen M., M.S.J. Simmonds (2003) Molecules of interest: Rosmarinic acid. ***Phytochemistry*** 62, 121-125

Pokorny, N Yanislhlieva and M Gordon (eds), pp. 169-219, Woodhead Publishing Ltd. Cambridge

Prior RL, Wu XL, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 2005, 53: 4290-4302.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. ***Free Radical Biology and Medicine,*** 26, 1231-1237

Reddy VP, Zhu X, Perry G, Smith MA. Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. ***J Alzheimers Dis*** 2009;16(4):763-74.

Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. 2002. Oxidation. Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology, Marcel Dekker Inc., pp. 335-542. New York.

Saad, B. , Said, O. , 2011. Greco-Arab and islamic herbal Medicine, traditional Systems, Ethics, Safety, Efficacy, and regulatory issues. Wiley, New Jersey And references cited there in . Sandra, V-K. , Biljana,

Safaei-Ghomi J, Masoomi R, Jookar Kashi F, Batooli H. Bioactivity of the Essential Oil and Methanol Extracts of Flowers and Leaves of Salvia sclarea L. from Central Iran. ***Journal Of Essential Oil-Bearing Plants*** [serial online]. May 18, 2016;19(4):885-896.

Sallam A, Mira A, Ashour A, Shimizu K. Acetylcholine esterase inhibitors and melanin synthesis inhibitors from Salvia officinalis. Phytomedicine [serial online]. September 15, 2016;23(10):1005-1011.

Singleton, V. L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. Method Enzimology, **299**, 152–178.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. 1998. Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia.

Slinkard, K. ve Singleton, V. L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. ***American Journal of Enology and Viticulture***, 28, 49–55.

Snyder, L. R., Kirkland,J. J., Glajch,J. L. 1997. Practical HPLC Method Development, 2nd ed., Wiley-Interscience, New York .

Strack, D., Wray V. 1992 Anthocyanins. In J.B. Harborne (ed.), The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. Chapman & Hall, London, pp. 1–22.

Suh YH, Checler F 2002 Amiloid precursor protein, presenilins, and α-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. Pharmacol Rev, 54: 469-525.

Taneli B, Sivrioğlu Y, Taneli T. Alzheimer diease. In: H Aydın, İT Uzbay eds. Gülhane Psychopharmacology Symposium. 1. Basım. Ankara: Gülhane Military Medical Academy Printing Office; 1999: 31-80.

Taylor, M.J. ve Richardson, T. 1980. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin, ***Journal of Food Science***, *45:* 1223-1227.

Topcu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. ***Journal of Natural Products***, 69, 482–487.

Tosun M, Ercisli S, Sengul M, Ozer H, Polat T, Ozturk E. Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Eight Salvia Species from Turkey. ***Biological Research*** [serial online]. 2009;42(2):175-181.

Tubaro, F., Ghiselli, A., Rapuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F. 1998. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. ***Free Radical Biology & Medicine,*** 24: 1228-1234.

UÇAR, N., 2004, Muscari bourgaei Baker Türü Üzerinde Bazı FitokimyasalAraştırmalar, Yüksek Lisans, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Ulger Z, Arıoğul S. Demans ve tedavisi. ***Turkiye Tıp Dergisi Geriatri ozel Sayısı***, 2005, basım asamasında

Ulubelen, A., Sönmez, U., Topcu, G., Johansson, C.B.,1996. An abietane diterpene and two phemolics from *Salvia forskahlei*. ***Phytochemistry*, 42 (1),** 145–147 University Press, London.

Uyanık, A., 2008. Analitik Kimyacılar için İstatistik ve Kemometri, 254-259.

Vareltzis K, Koufidis D, Gavriilidou E, Papavergou E, Vasiliadou S. 1997.Effectiveness of natural rosemary (Rosmarinus officinalis) extract on the stability offilleted and minced fish

during frozen storage. Z Lebensm Unters Fors ch A, 205: 93-96.Vol. 10,Edinburgh University Press. Edinburgh, (1988).

Wang XP, Ding HL. Alzheimer's disease: epidemiology, genetics, and beyond. Neurosci Bull 2008;24(2):105-9.

Watson, L., and Dallwitz, M.J., 1978, The Families of Flowering Plants, Oxford

Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U. ve Locke, S. 1985. Quantitative measurement of the total peroxyl radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. ***FEBS Letters***, 187: 33-37.

WHO: Regulatory Situation of Herbal Medicines-A Worldwide Review, World , Geneva, (1998).

Williamson J, Goldman J, Marder KS. Genetic aspects of Alzheimer disease. ***Neurologist*** 2009;15(2):80-6.

Wold S, Sjostrom M. Chemometrics, present and future success. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1998, 44: 3-14

Yamaguchi, F., Yoshimura, Y., Nakazawa, H., Ariga, T., 1999, Free radical scavengingactivity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H2O2/NaOH/DMSO system, ***Journal of the Agricultural and Food Chemistry,*** 47, 2544-2548.

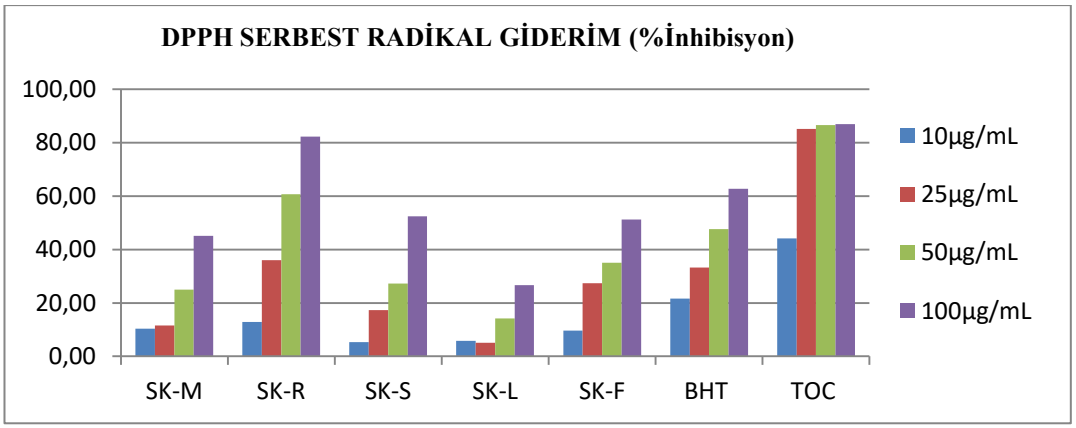
Yamantürk, P. 2000. Alzheimer Hastalığı, Sendrom, *12*, 72-81.

Yavuz BB, Arıoğul S. Yaslıda demans, risk faktorleri ve tedavisi. Cep Tıp Geriatri serisi Nöropsikiyatri, 2005, basım aşamasında

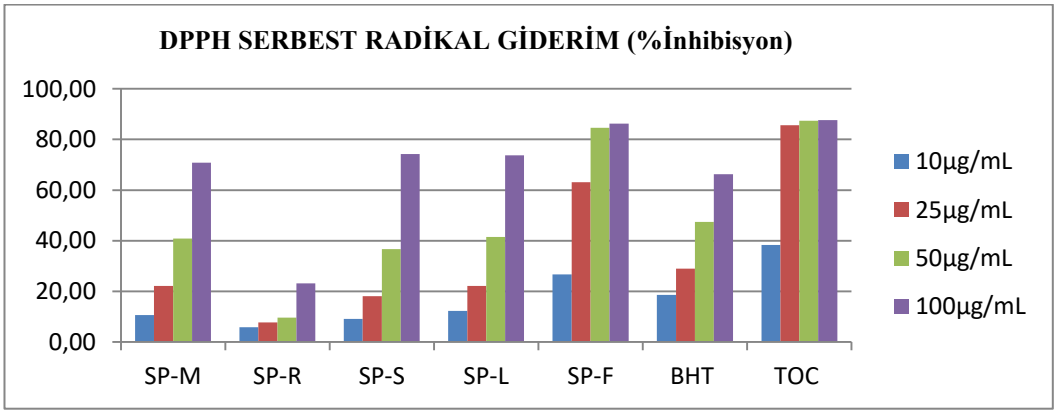
Young, I, S., and Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease**.** ***J. Clin. Pathol***. 54: 176-186

Zhang Y.F., Kang H.B., Li B.L., Zhang R.M. 2012. Positive effects of soy isoflavone food on survival of breast cancer patients in China. ***Asian Pac J Cancer Prev***.,13:479–482.

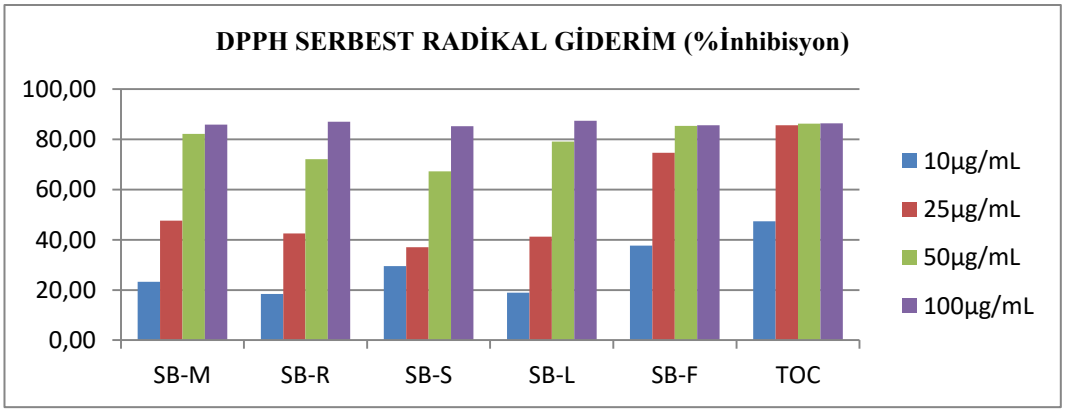
Zotou, A. 2012, An overview of recent advances in HPLC instrumentation, Central European ***Journal of Chemistry***, 10 (3): 554-569.



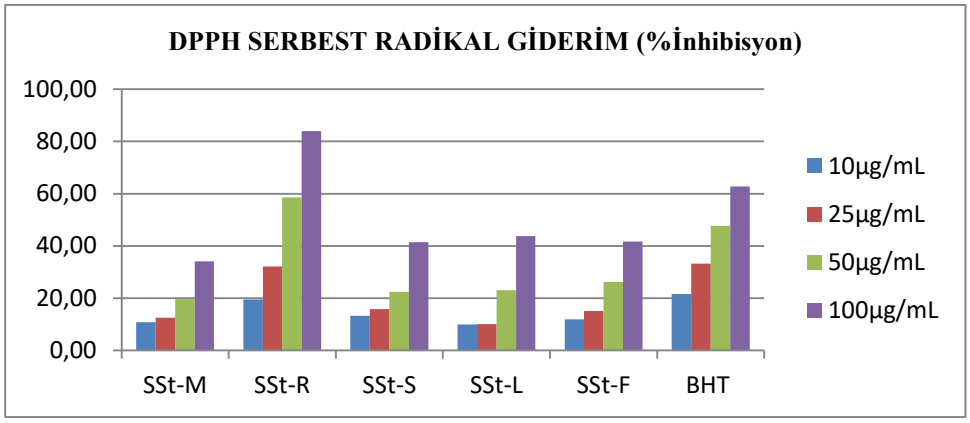
Ek 1. *S. kronenburgii* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



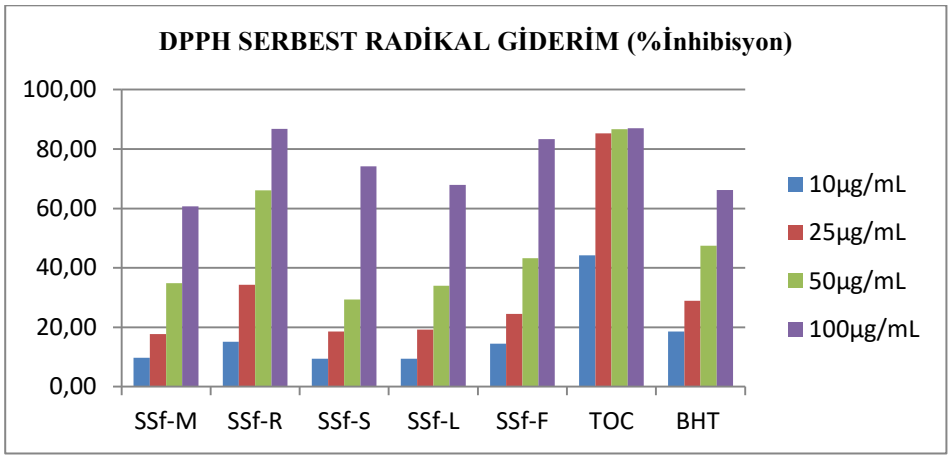
Ek 2. *S. pachystachys* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



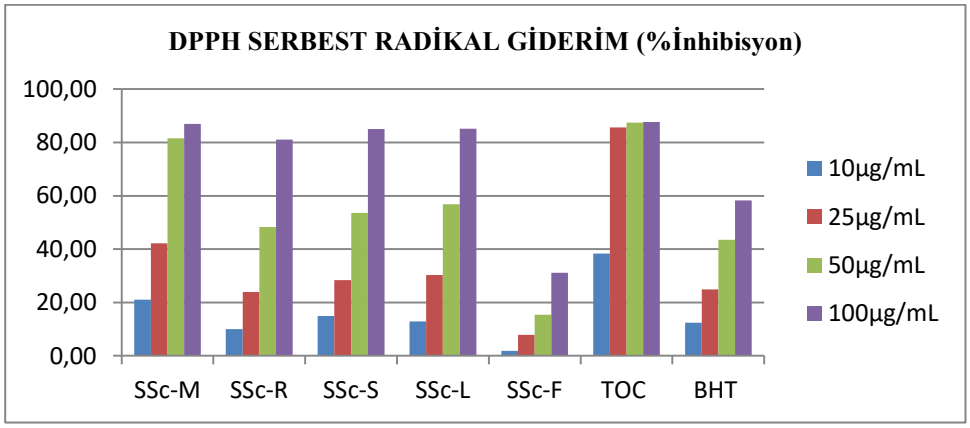
Ek 3. *Salvia blepharochlaena* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



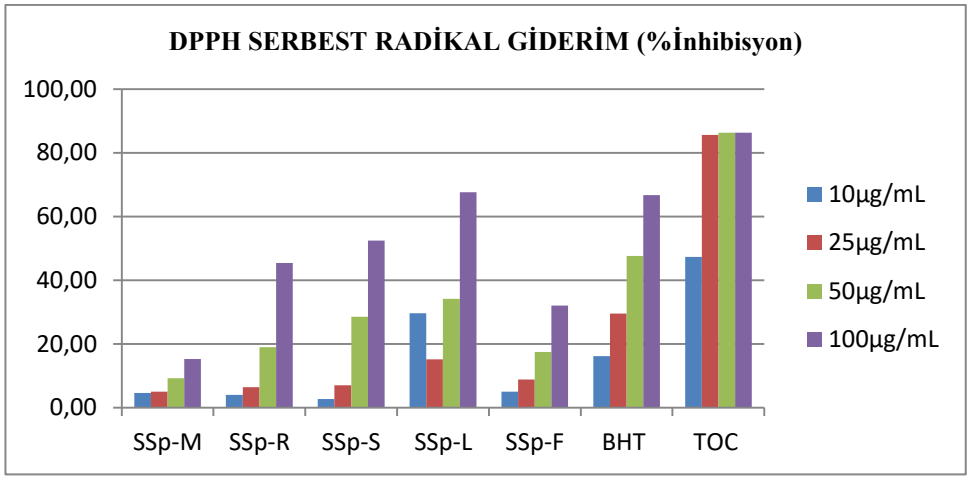
Ek 4. *Salvia staminea* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



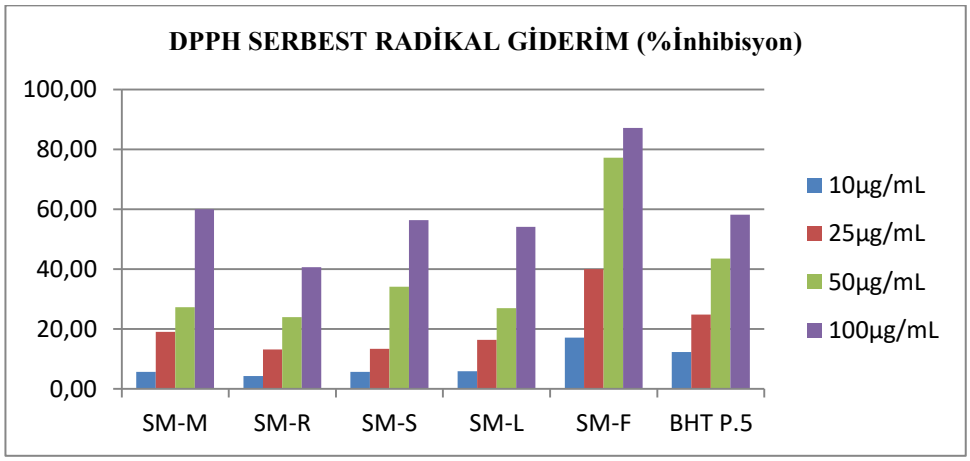
Ek 5. *Salvia suffruticosa* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



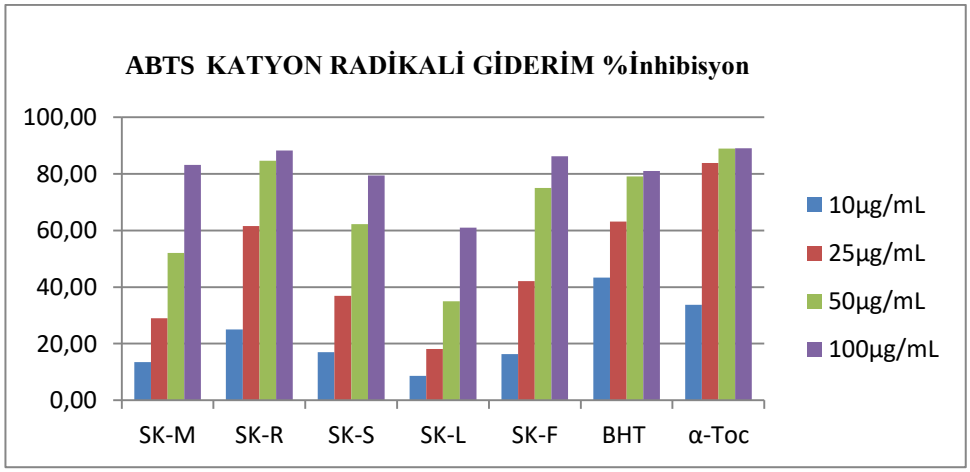
Ek 6. *Salvia sclarea* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



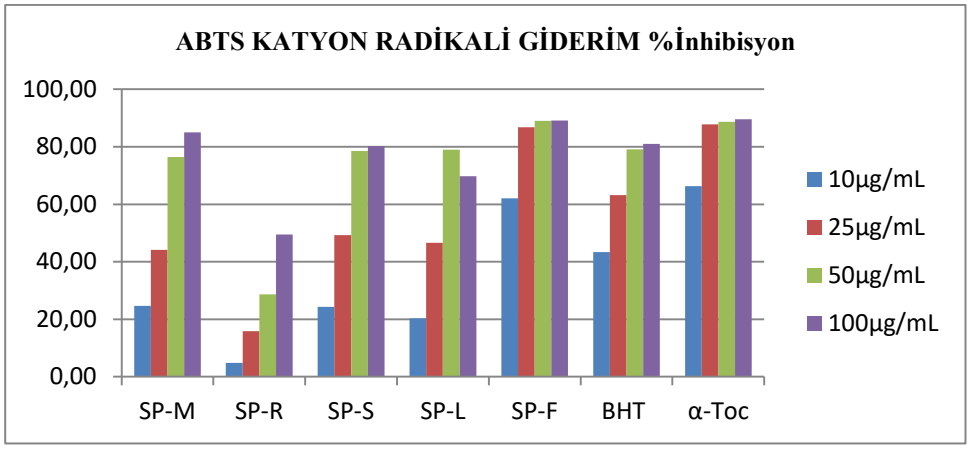
Ek 7. *Salvia spinosa* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



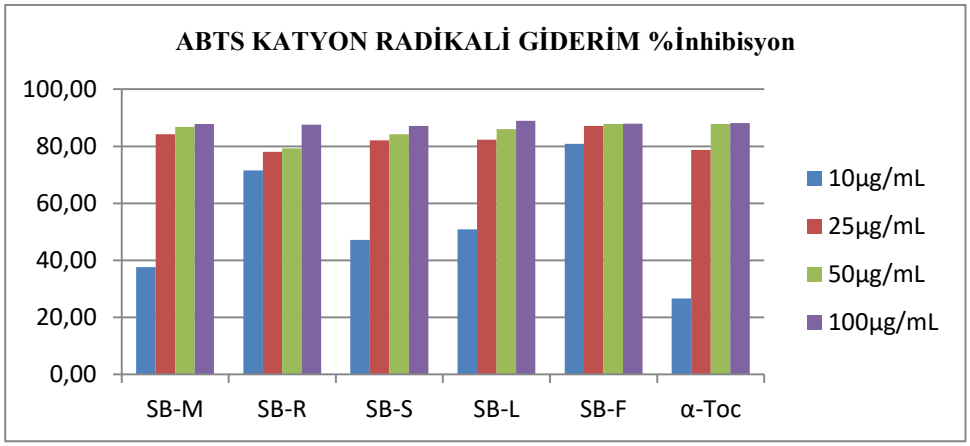
Ek 8. *Salvia macrochlamys* türünün DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



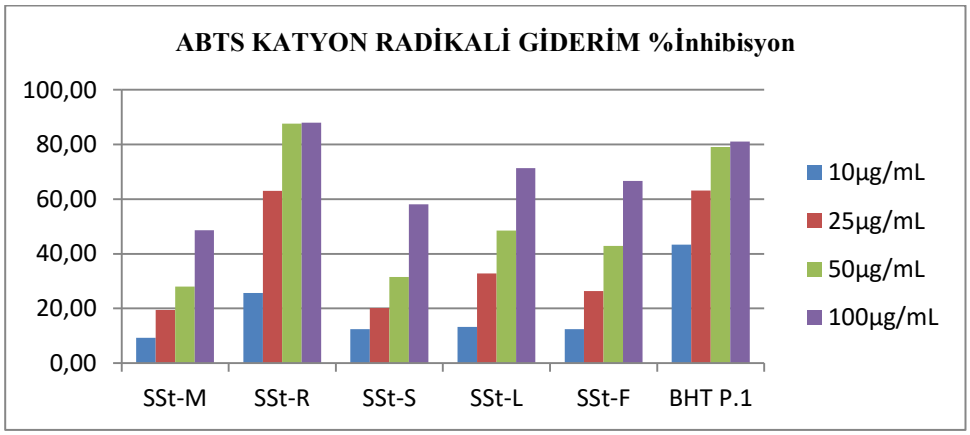
Ek 9. *Salvia kronenburgii* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



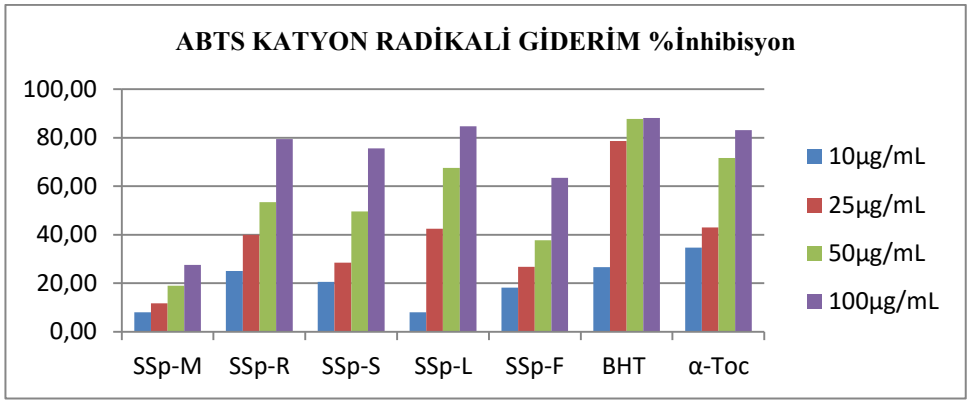
Ek 10. *Salvia pachystachys* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



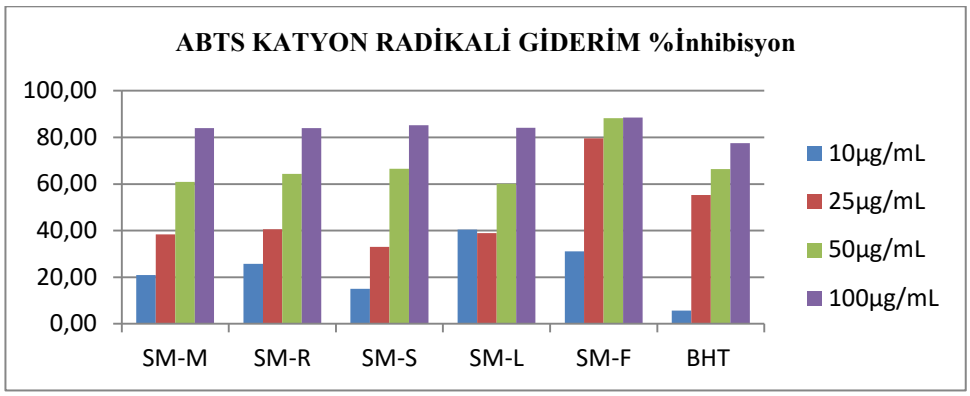
Ek 11. *Salvia blepharochlaena* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



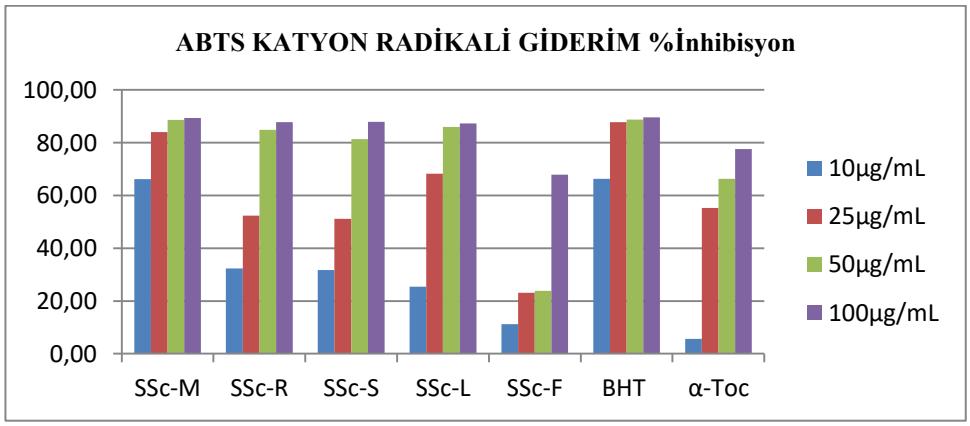
Ek 12. *Salvia staminea* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



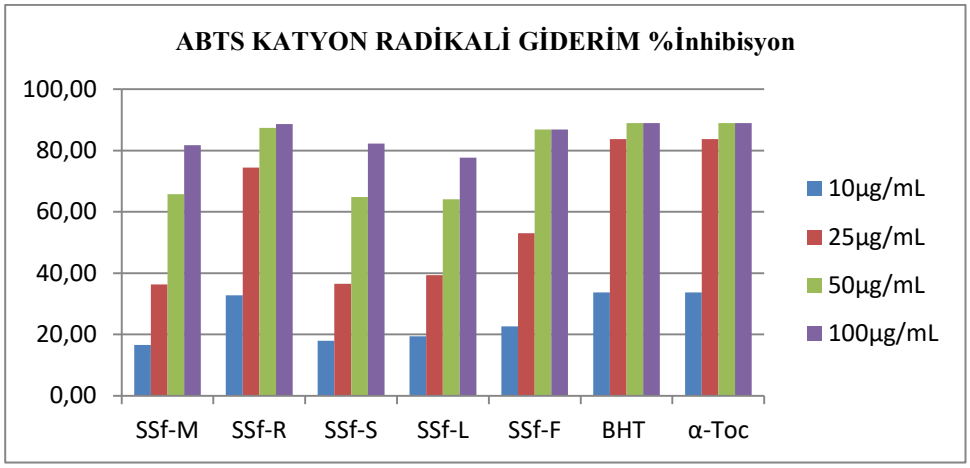
Ek 13. *Salvia spinosa* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



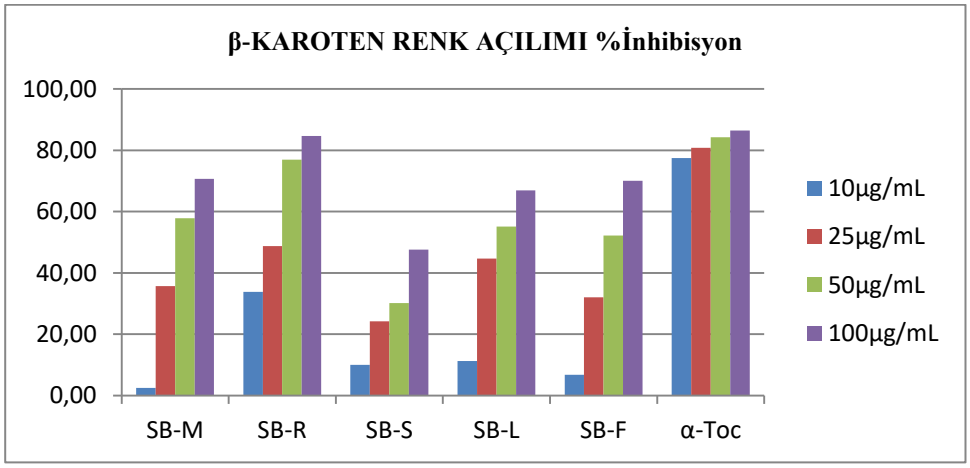
Ek 14. *Salvia macrochlamys* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



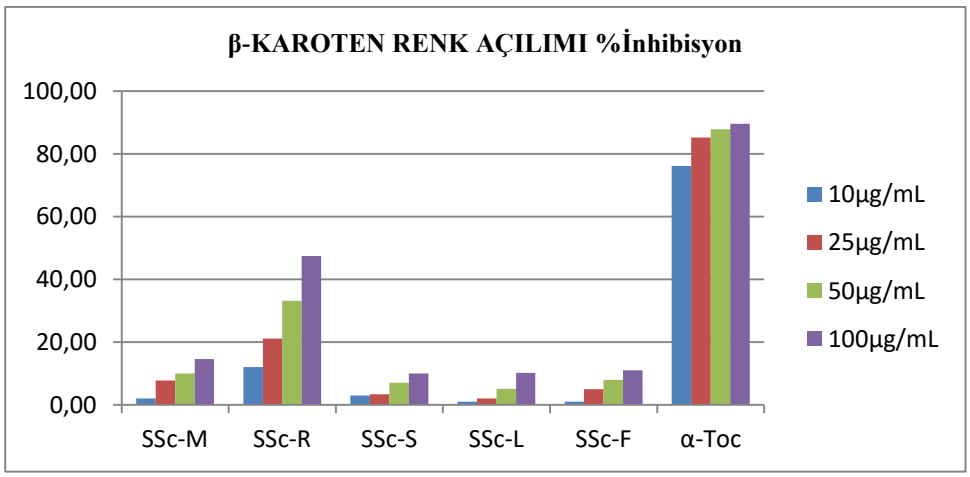
Ek 15. *Salvia sclarea* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



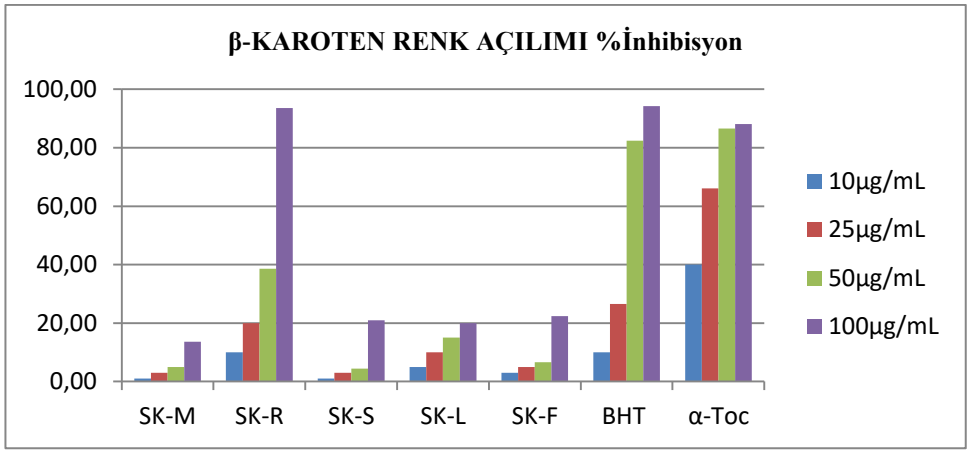
Ek 16. *Salvia suffruticosa* türünün ABTS Katyon Radikali Giderim Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



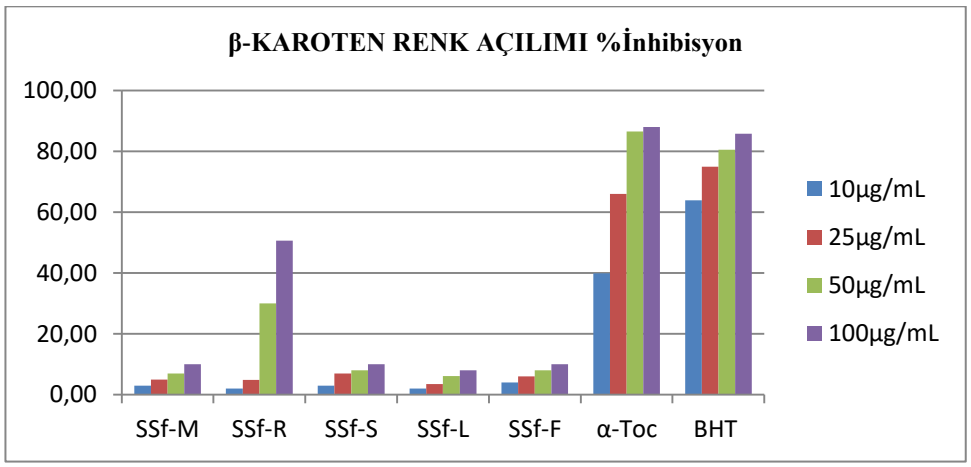
Ek 17. *Salvia blepharochlaena* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



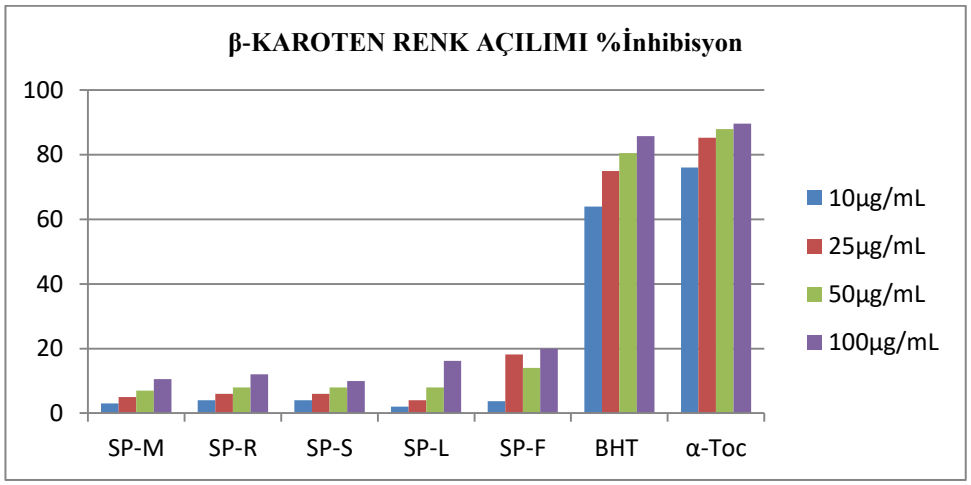
Ek 18. *Salvia sclarea* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



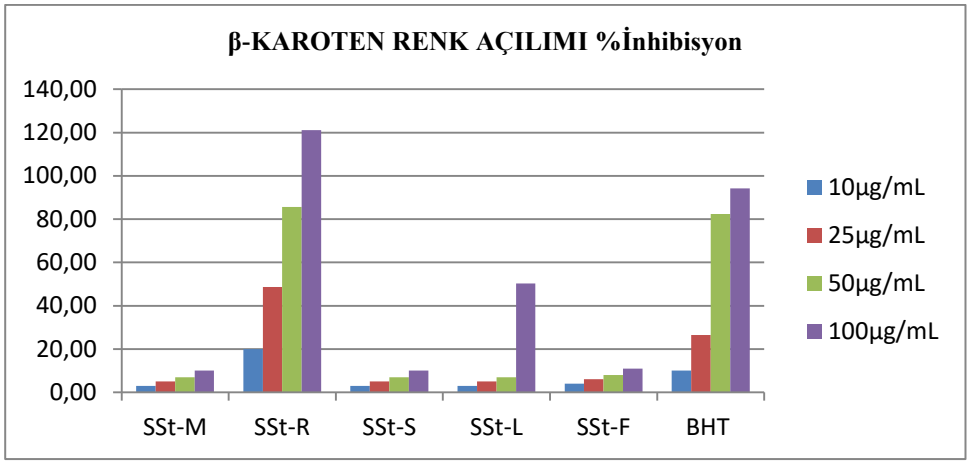
Ek 19. *Salvia kronenburgii* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



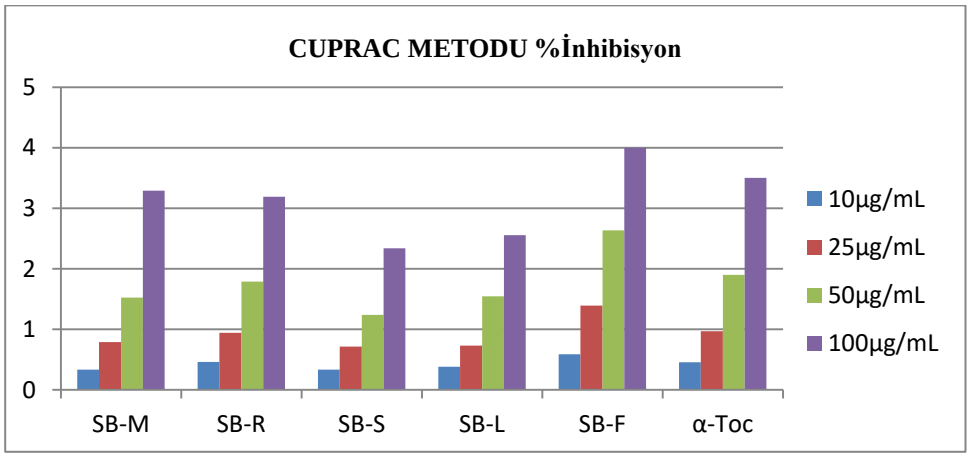
Ek 20. *Salvia suffruticosa* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



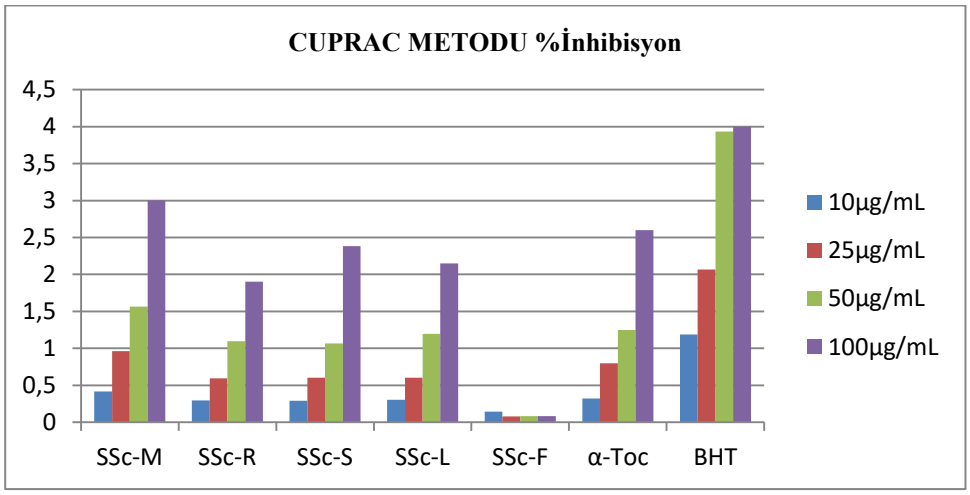
Ek 21. *Salvia pachystachys* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



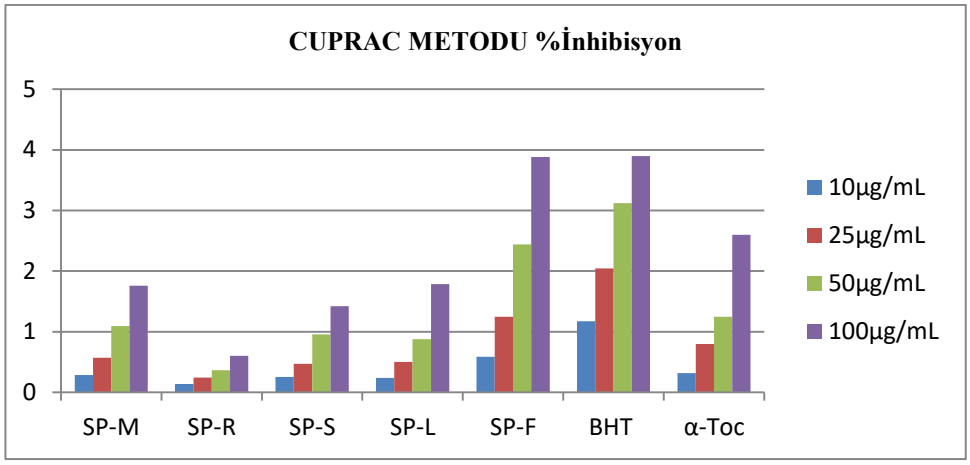
Ek 22. *Salvia staminea* türünün B-Karoten Renk Açılımı Yöntemi %İnhibisyon Grafiği



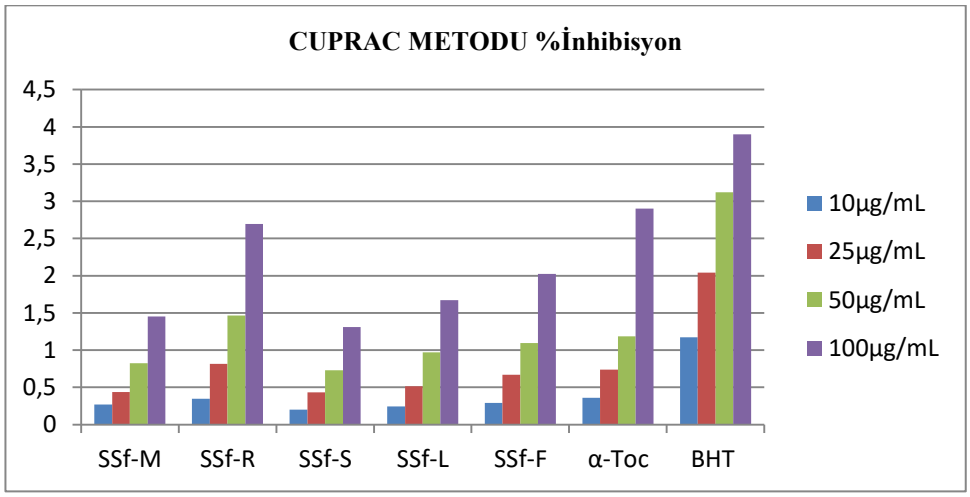
Ek 23. *Salvia blepharochlaena* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



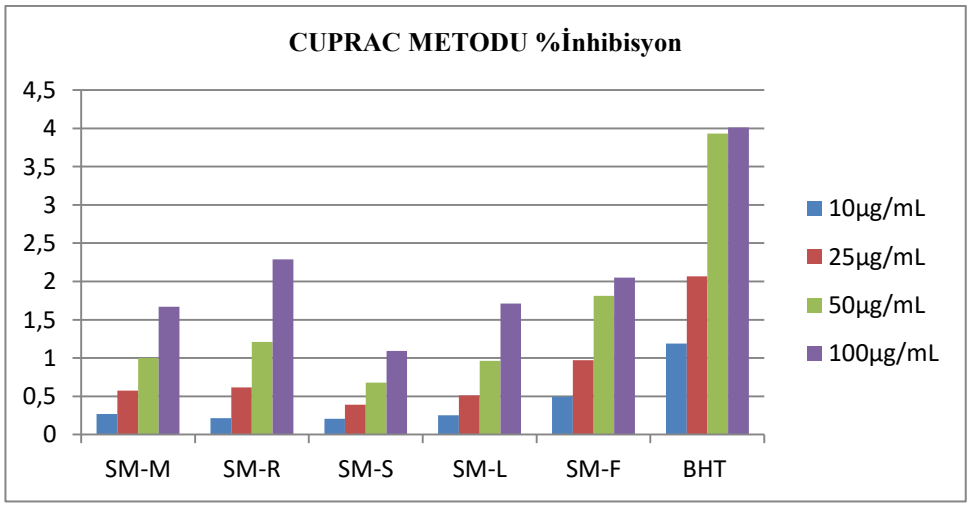
Ek 24. *Salvia sclarea* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



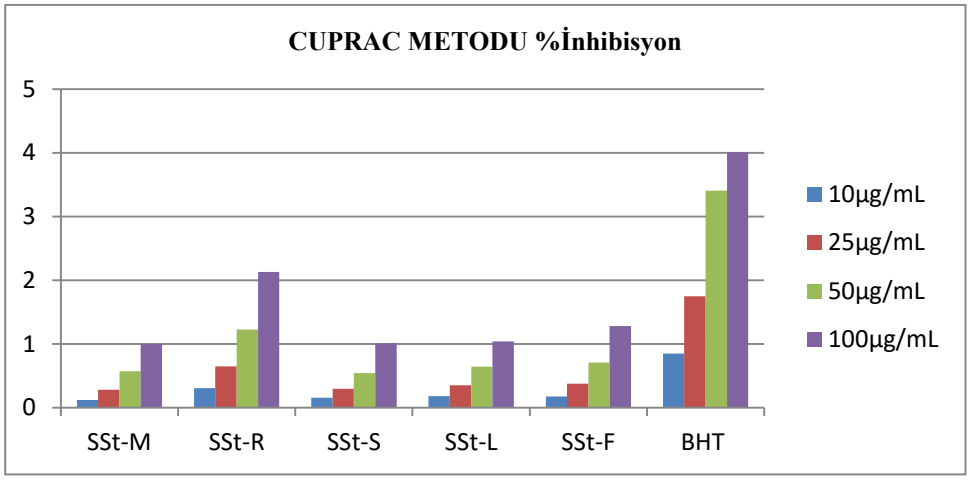
Ek 25. *Salvia pachystachys* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



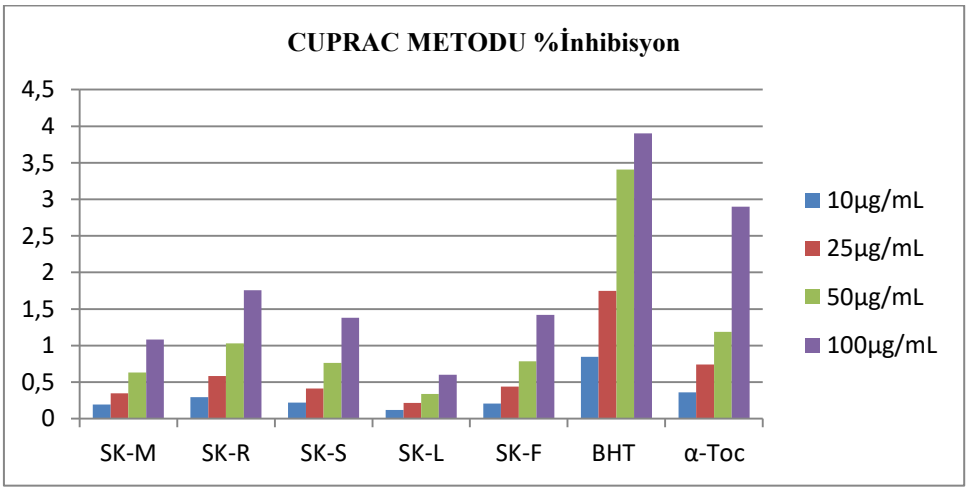
Ek 26. *Salvia suffruticosa* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



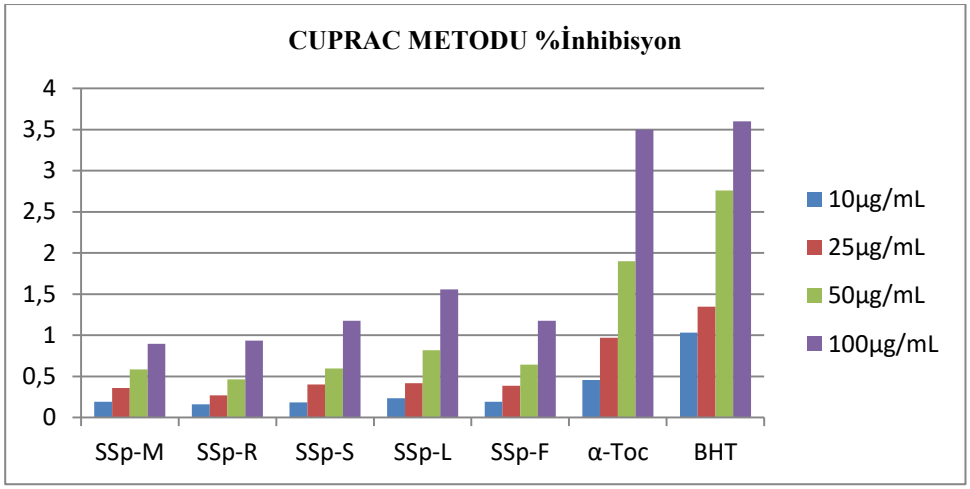
Ek 27. *Salvia macrochlamys* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



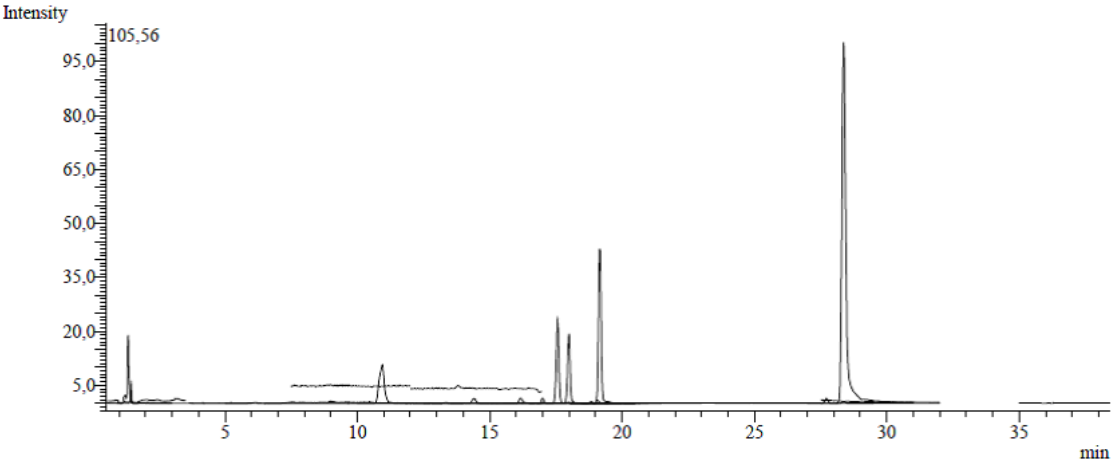
Ek 28. *Salvia staminea* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



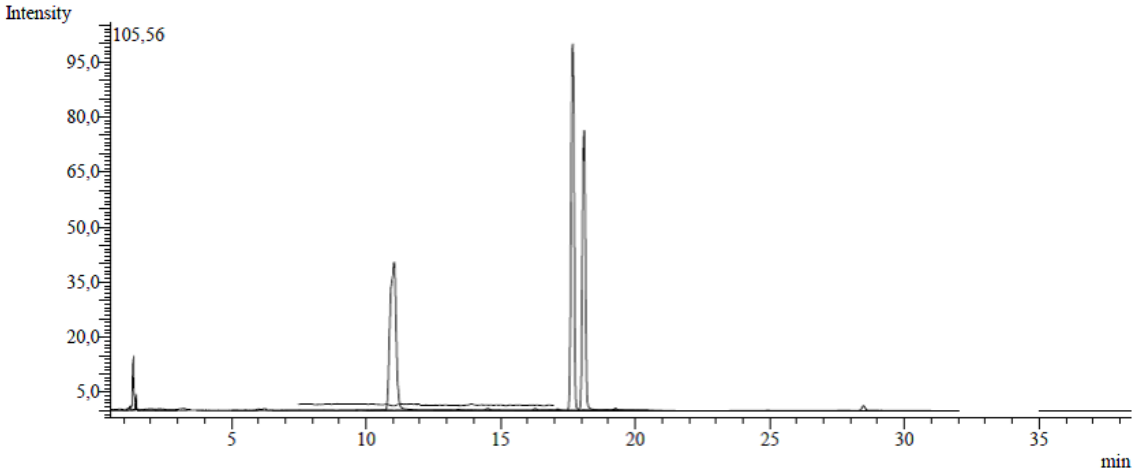
Ek 29. *Salvia kronenburgii* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



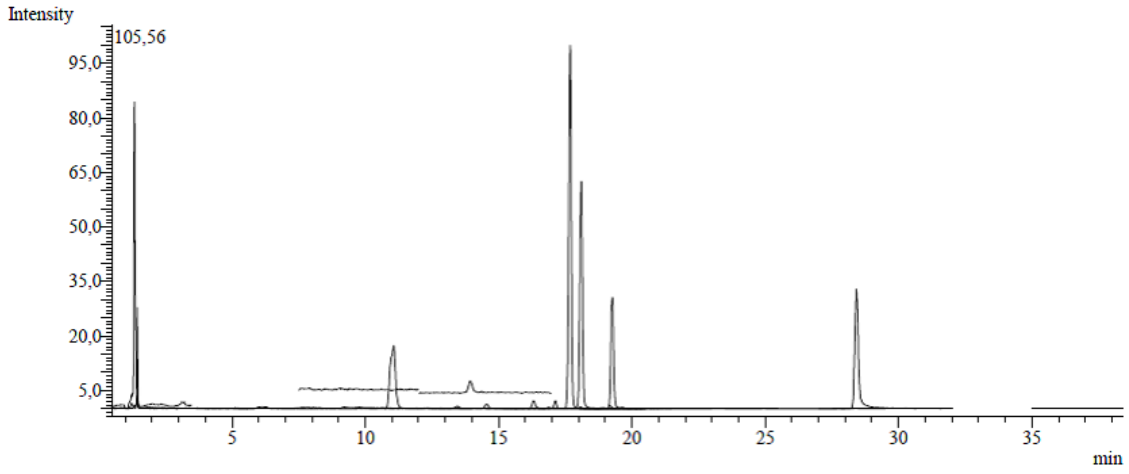
Ek 30. *Salvia spinosa* türünün CUPRAC Metodu %İnhibisyon Grafiği



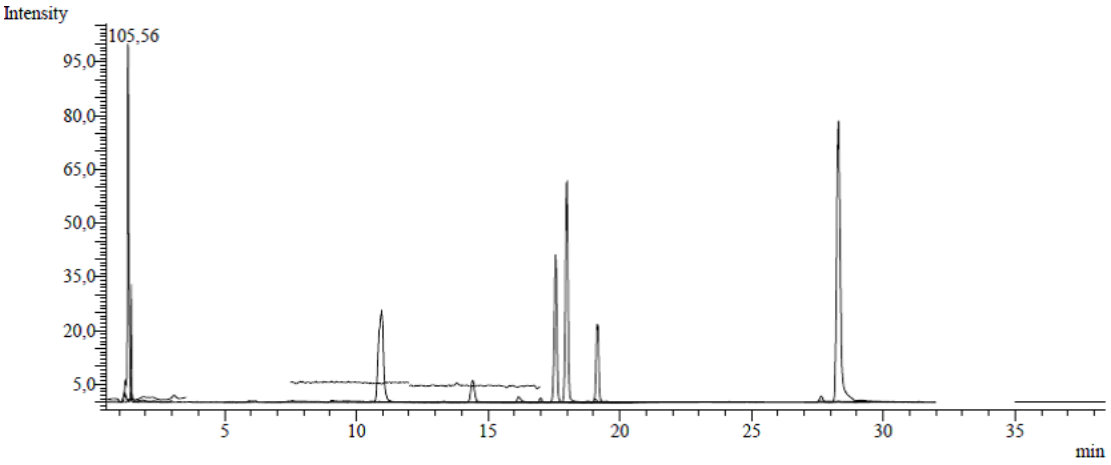
Ek 31. SSt-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



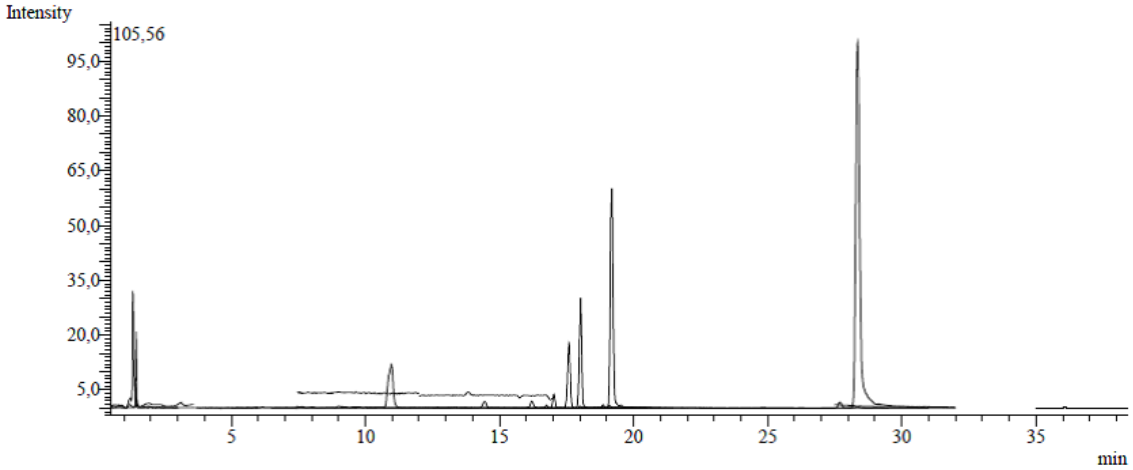
Ek 32. SSt-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



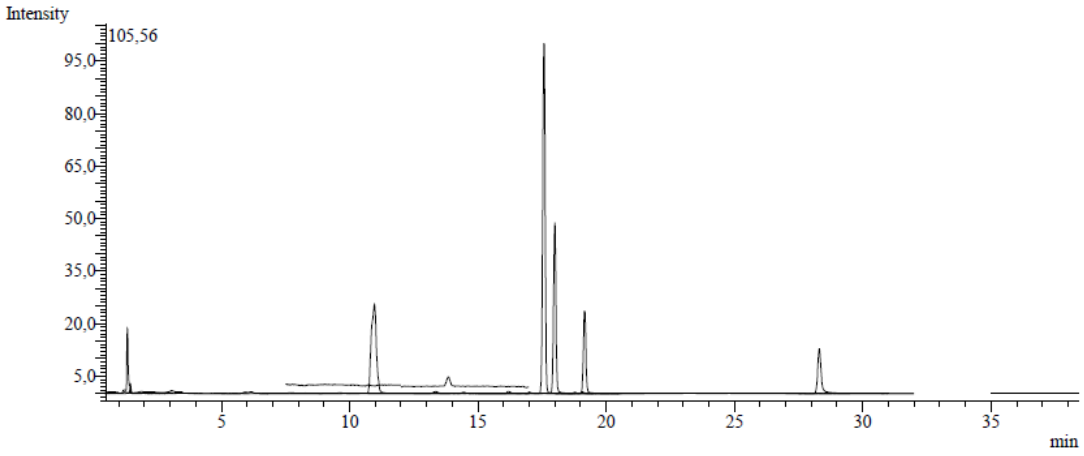
Ek 33. SSt-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



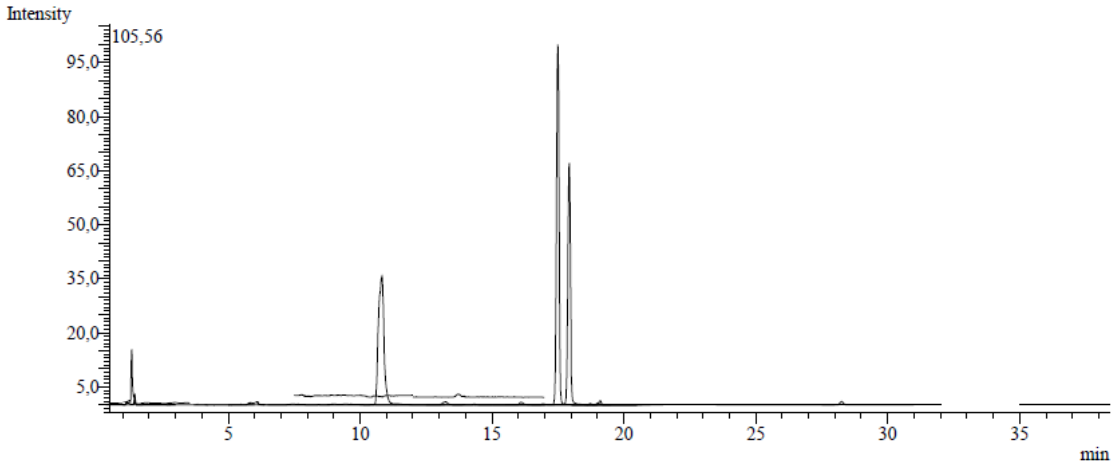
Ek 34. SSt-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



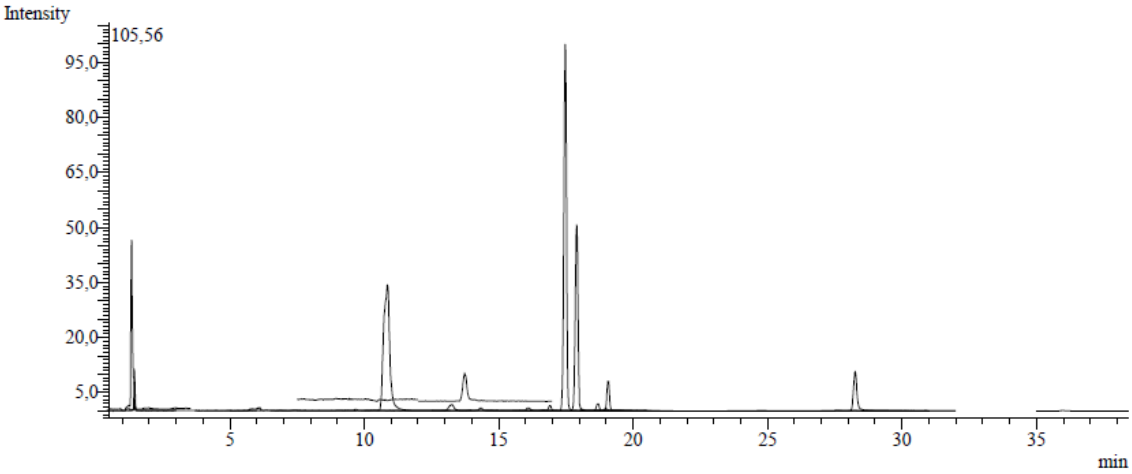
Ek 35. SSt-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



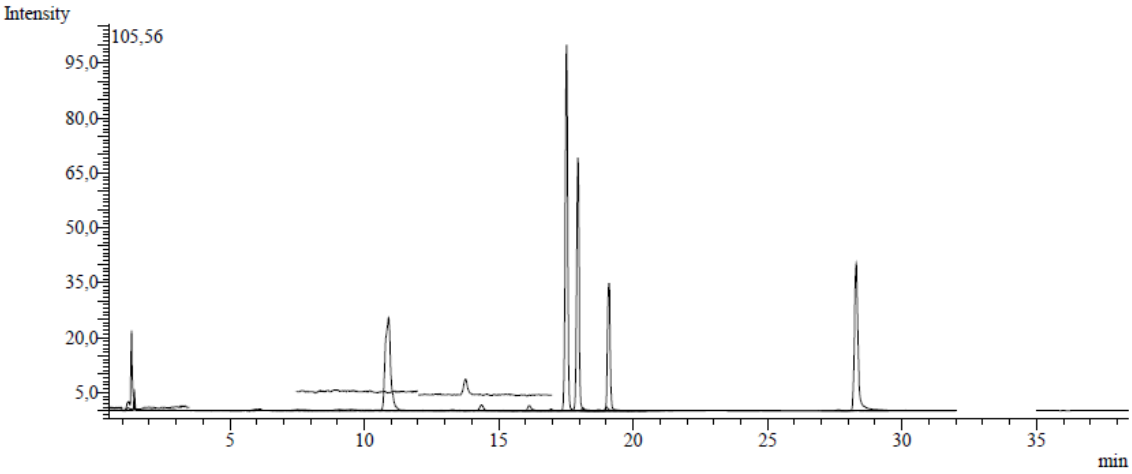
Ek 36. SK-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



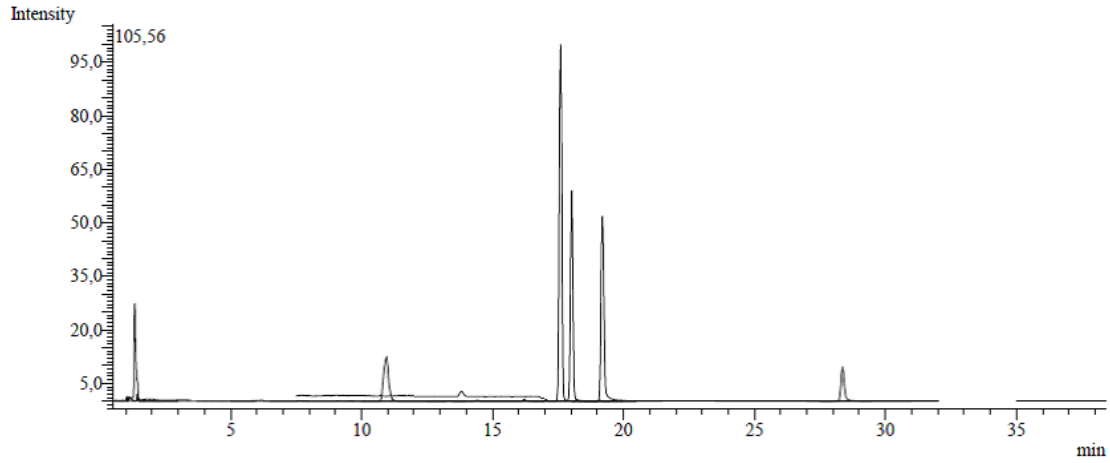
Ek 37. SK-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



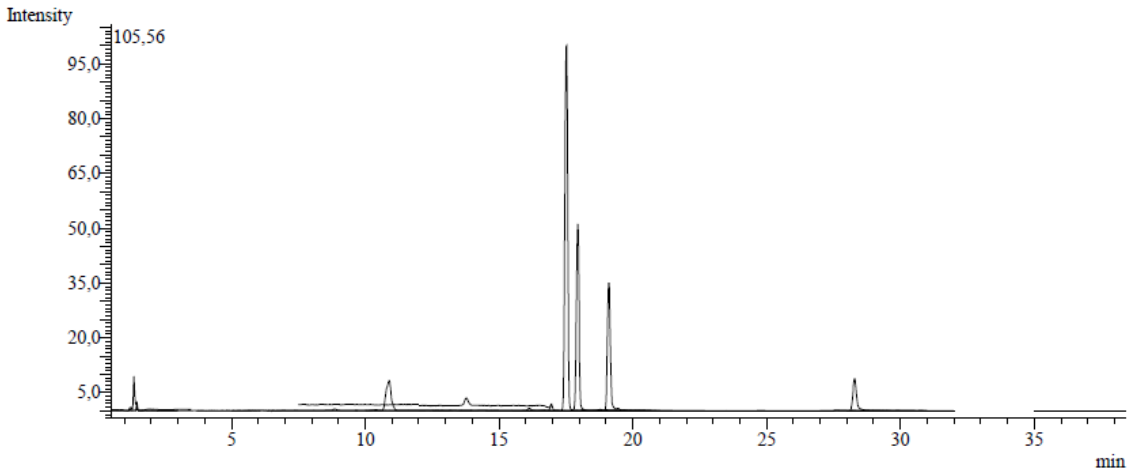
Ek 38. SK-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



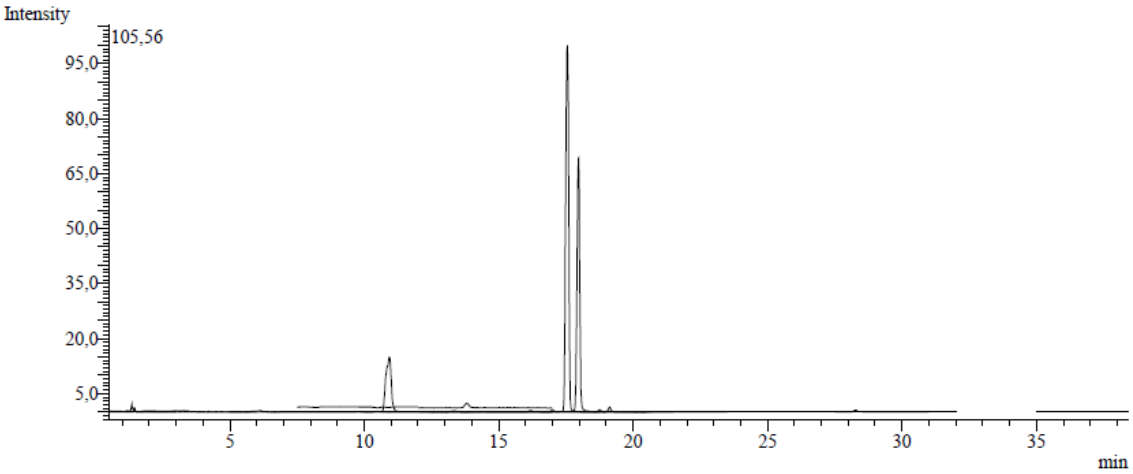
Ek 39. SK-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



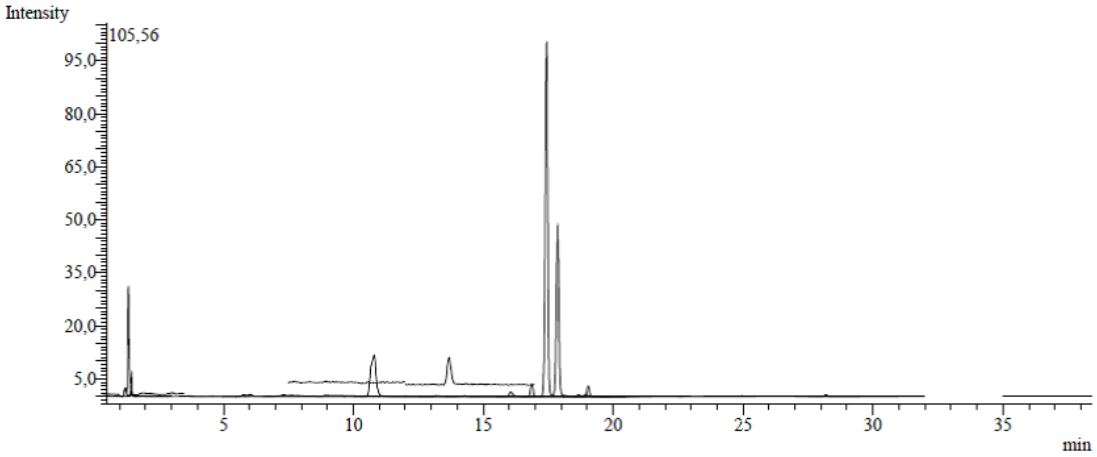
Ek 40. SK-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



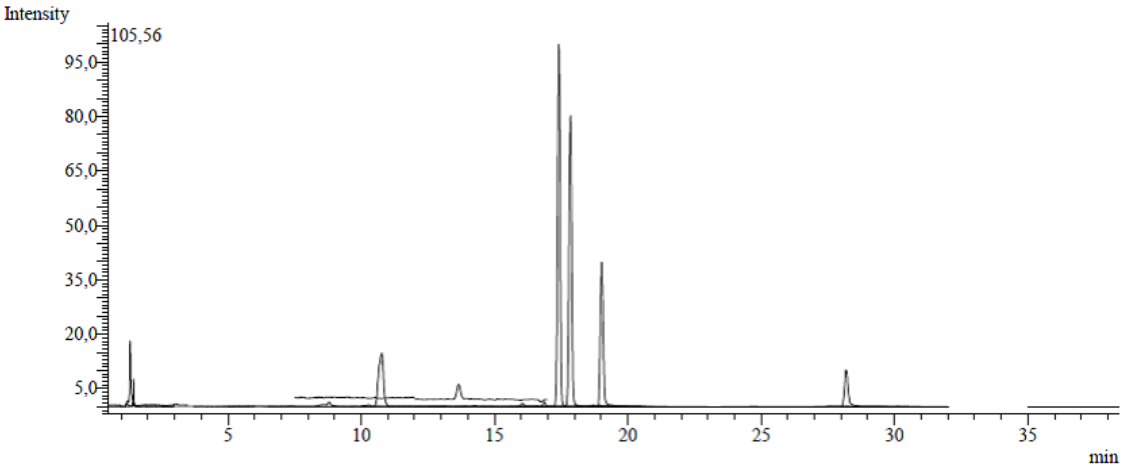
Ek 41. SSf-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



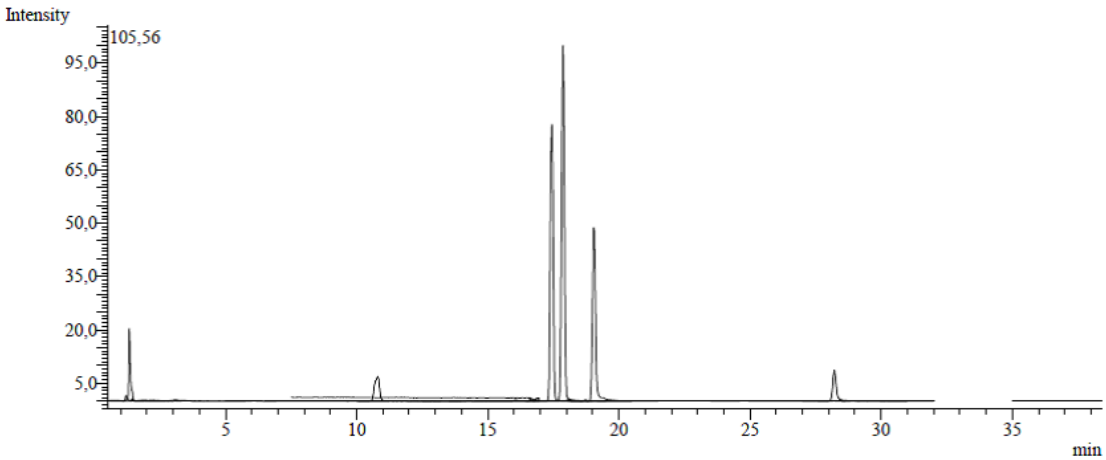
Ek 42. SSf-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



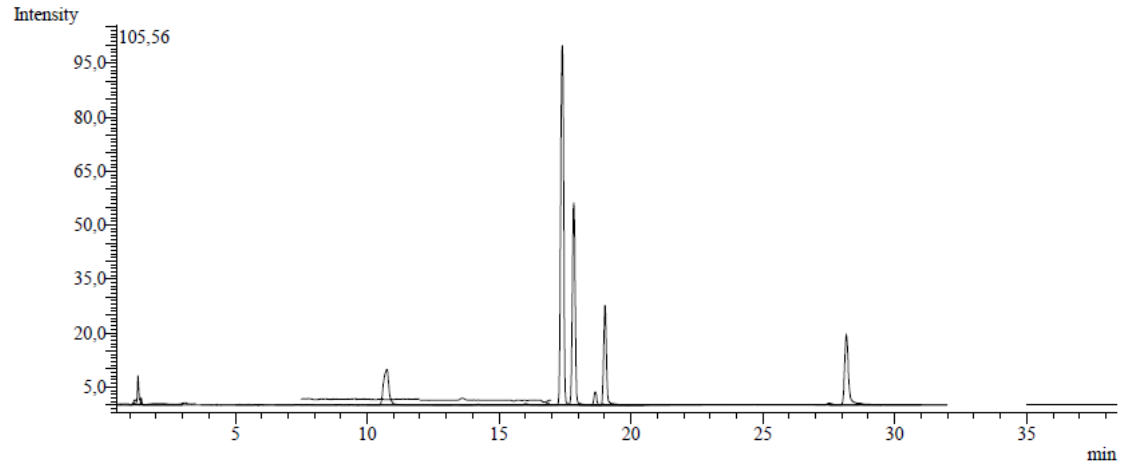
Ek 43. SSf-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



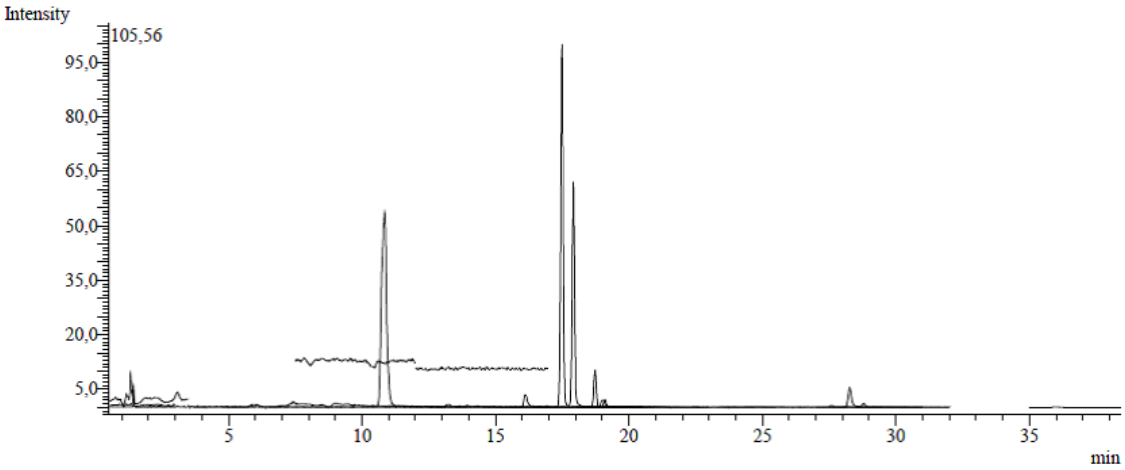
Ek 44. SSf-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



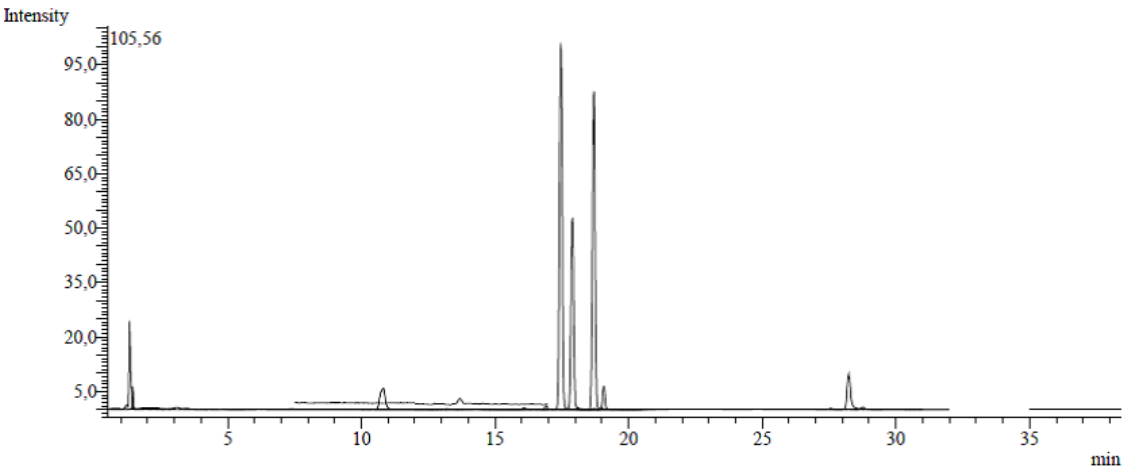
Ek 45. SSf-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



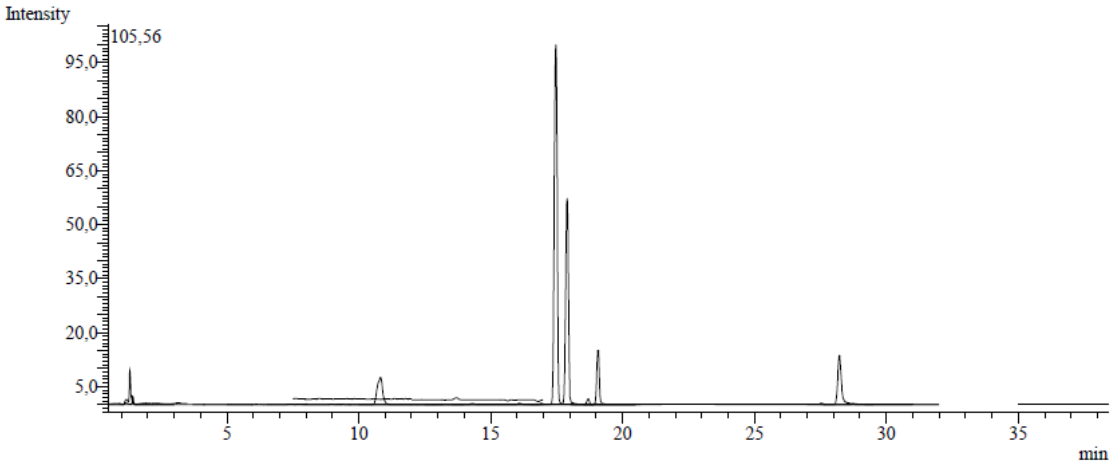
Ek 46. SP-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



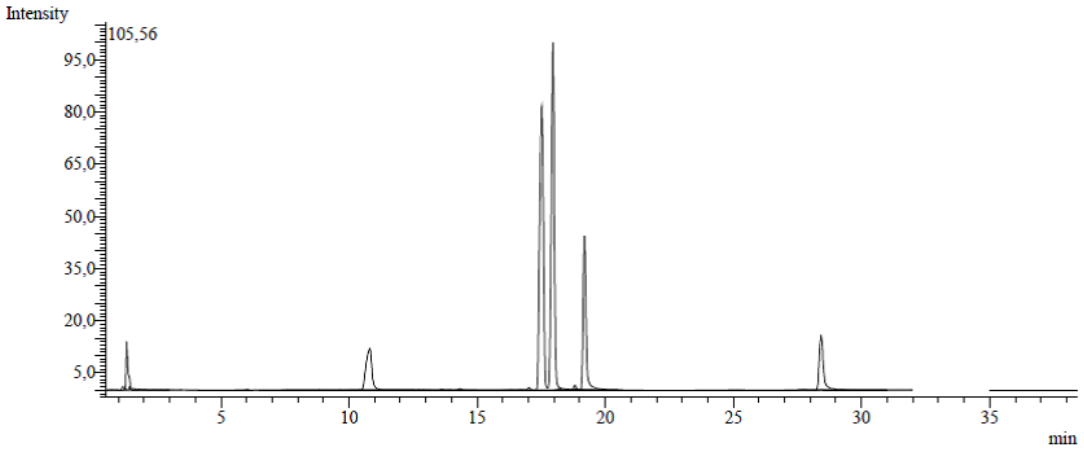
Ek 47. SP-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



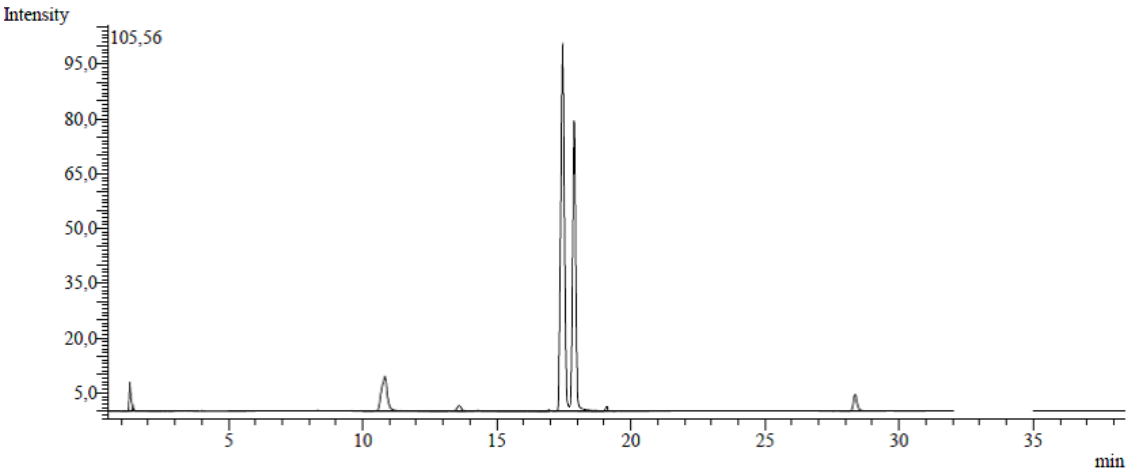
Ek 48. SP-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



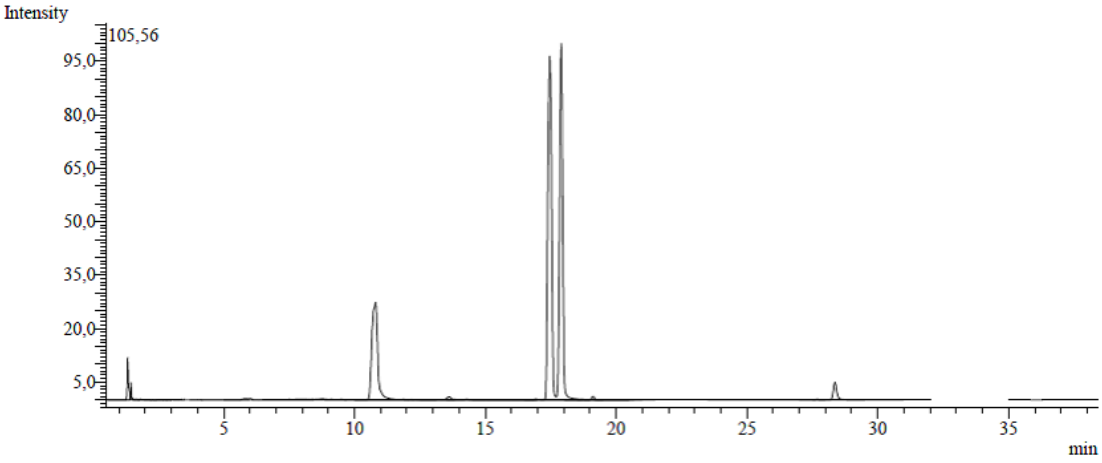
Ek 49. SP-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



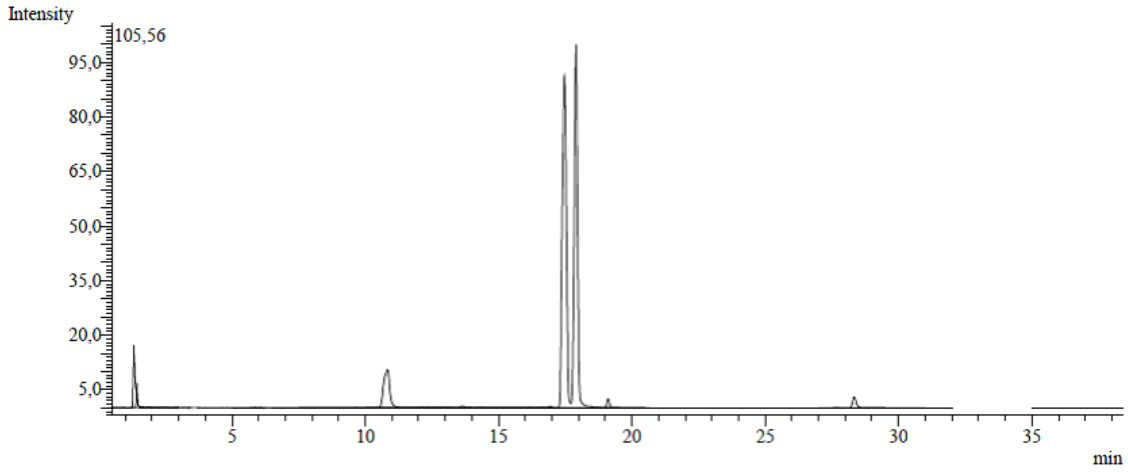
Ek 50. SP-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



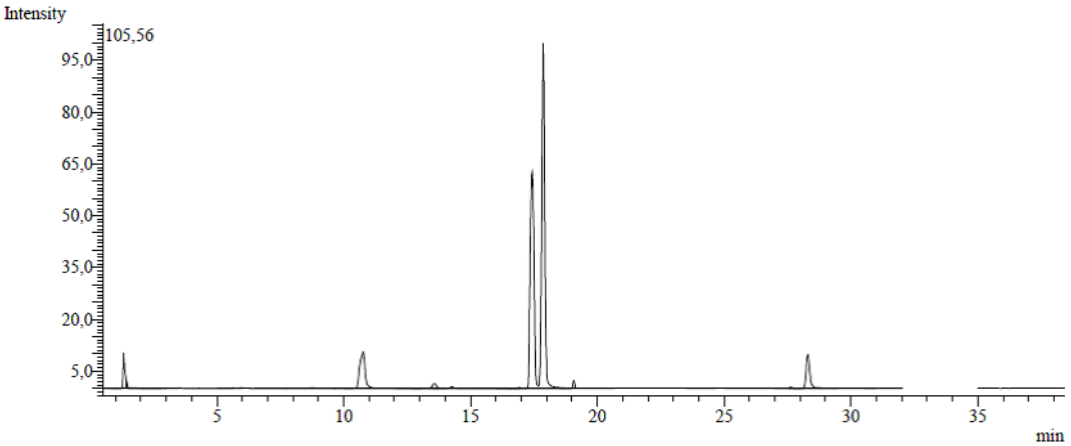
Ek 51. SSc-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



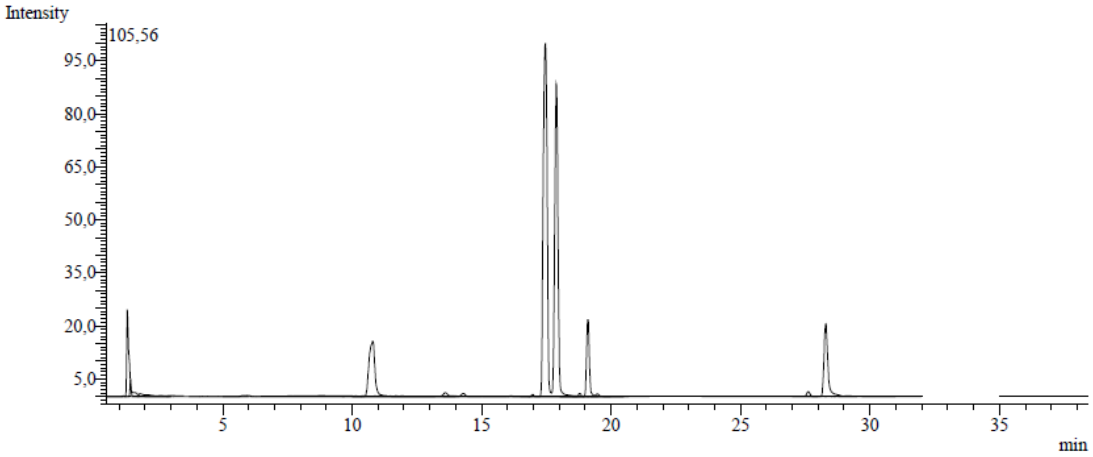
Ek 52. SSc-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



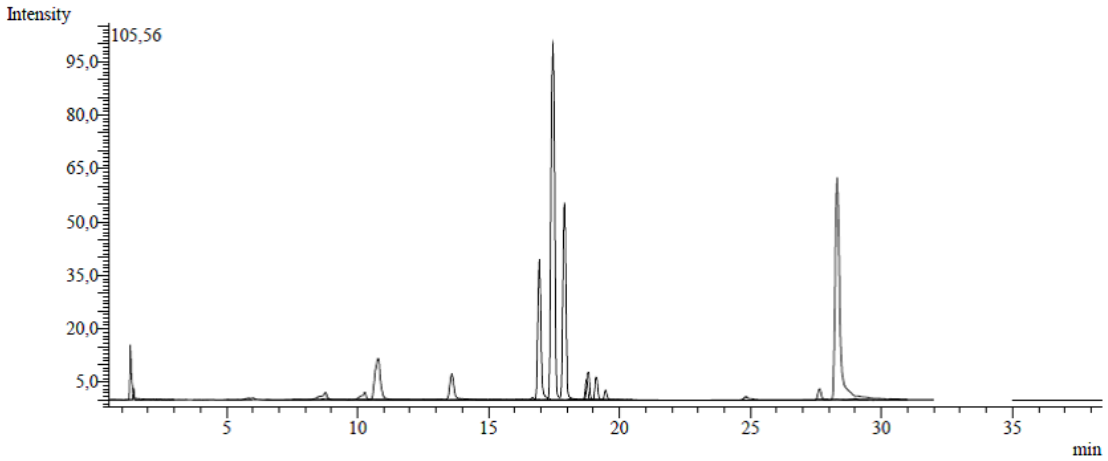
Ek 53. SSc-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



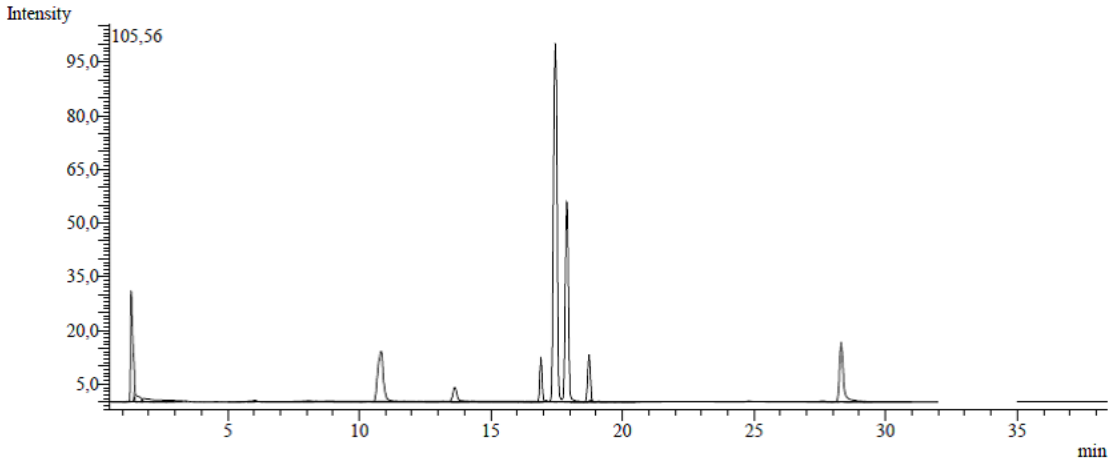
Ek 54. SSc-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



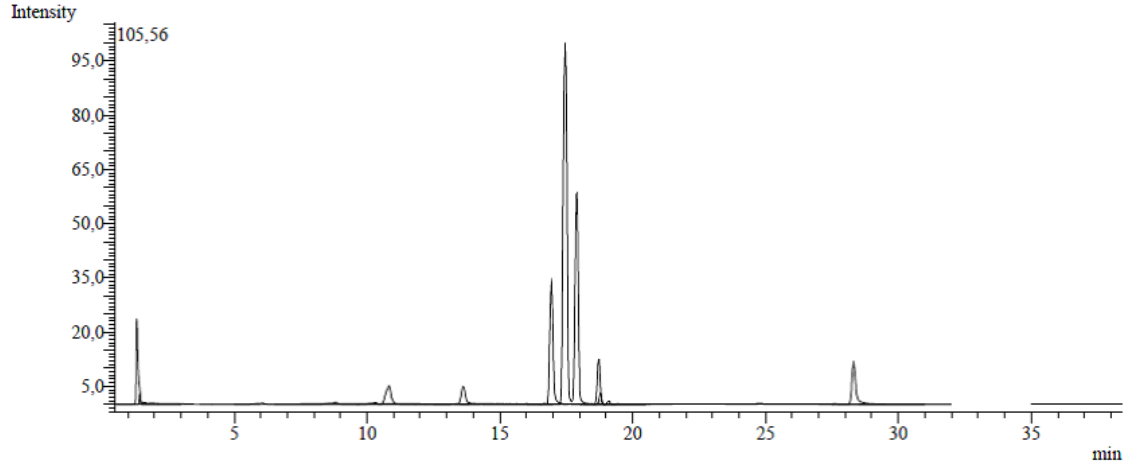
Ek 55. SSc-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



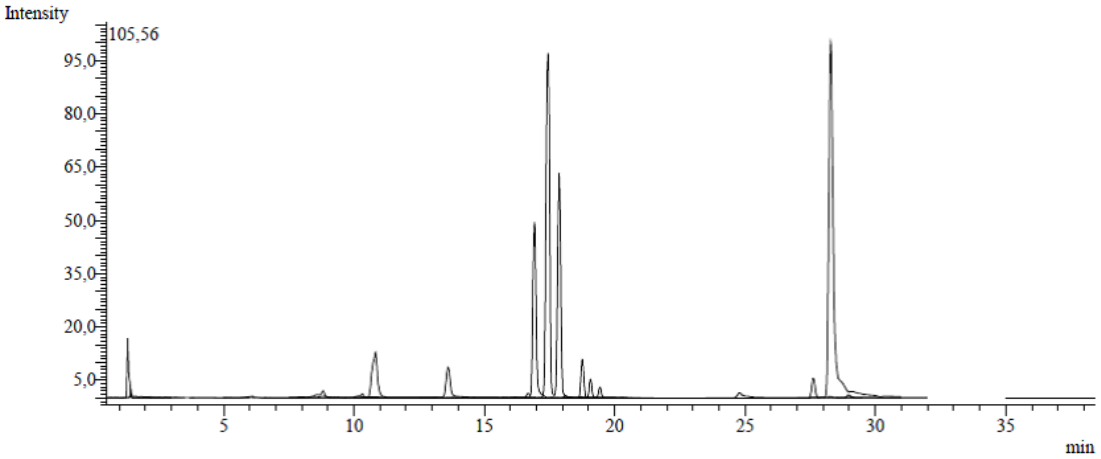
Ek 56. SM-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



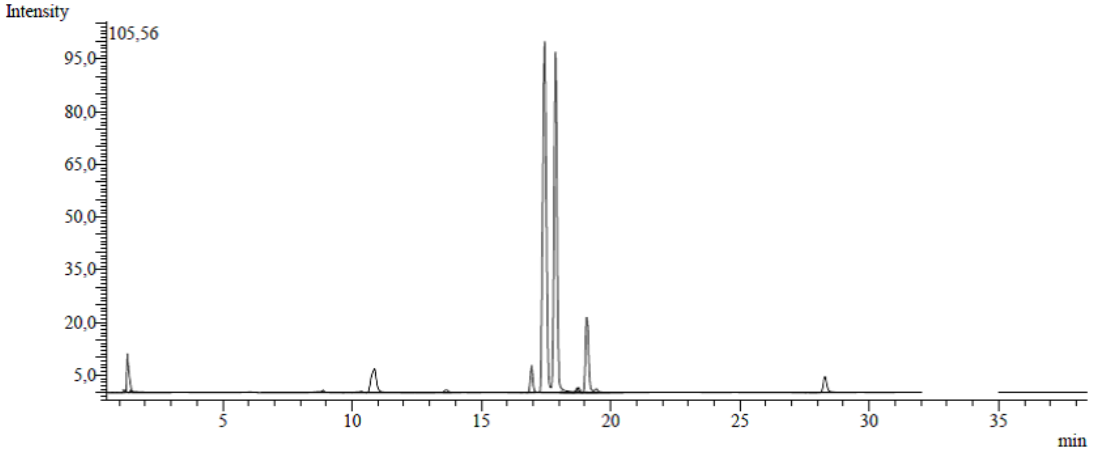
Ek 57. SM-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



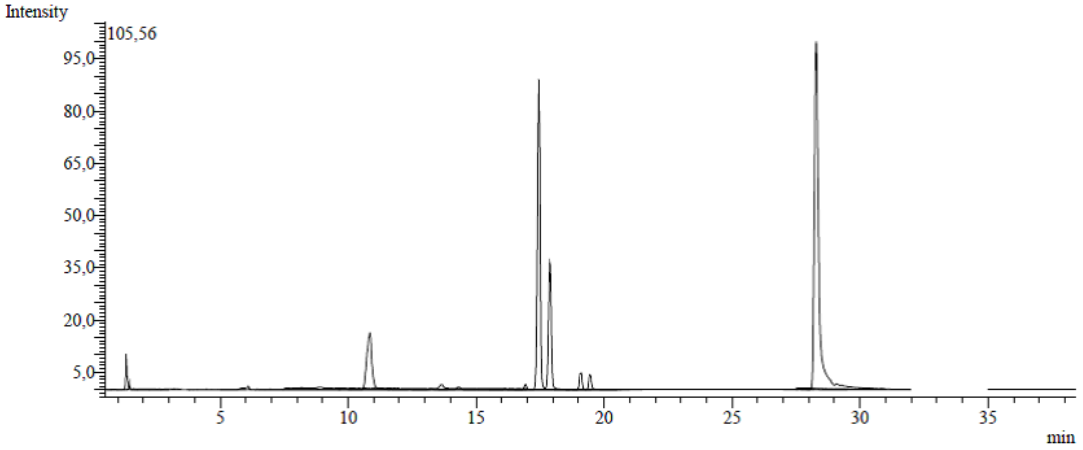
Ek 58. SM-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



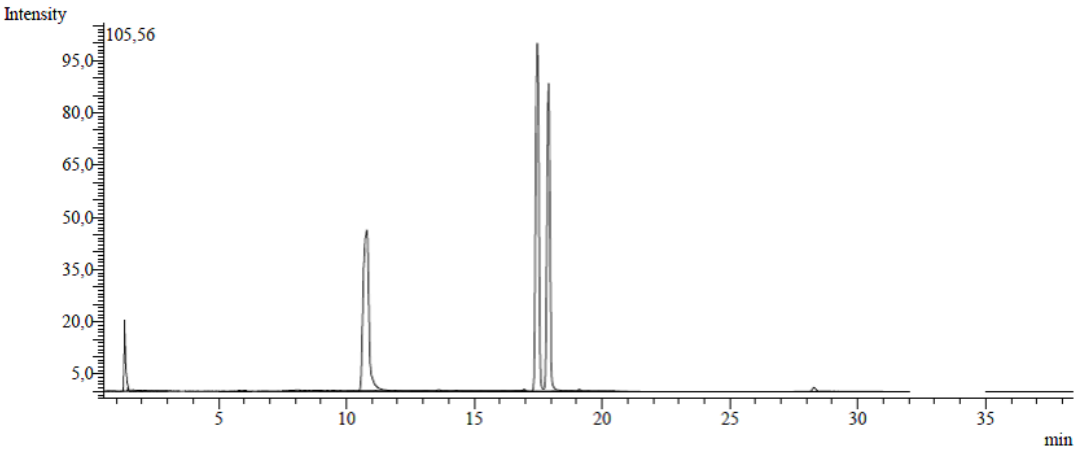
Ek 59. SM-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



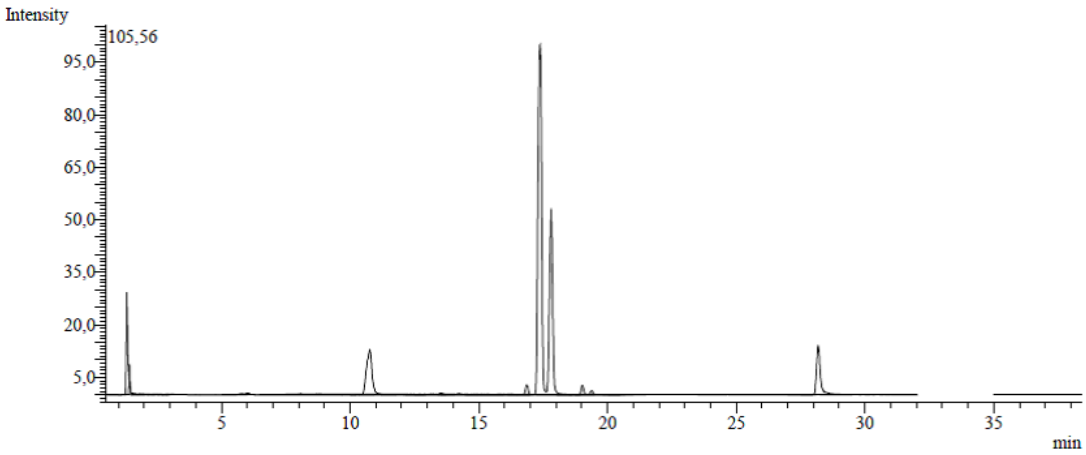
Ek 60. SM-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



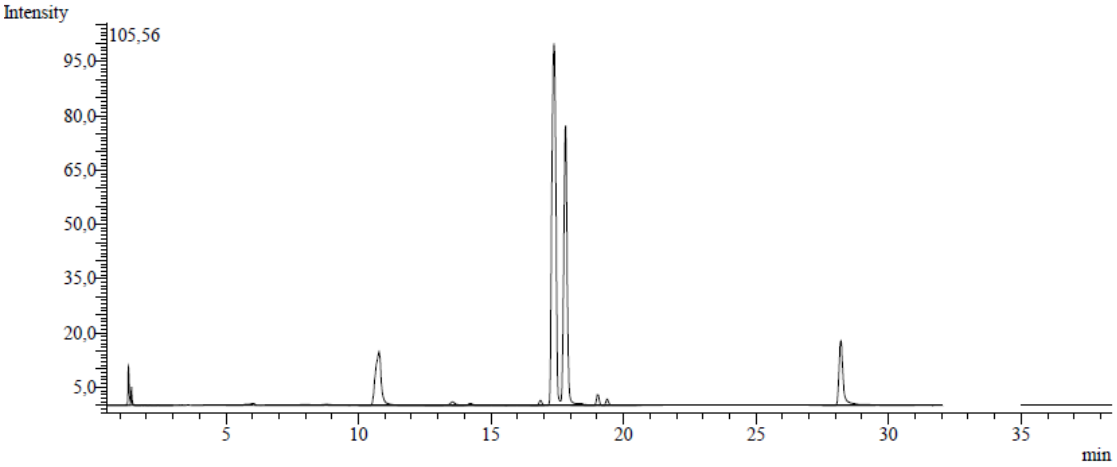
Ek 61. SSp-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



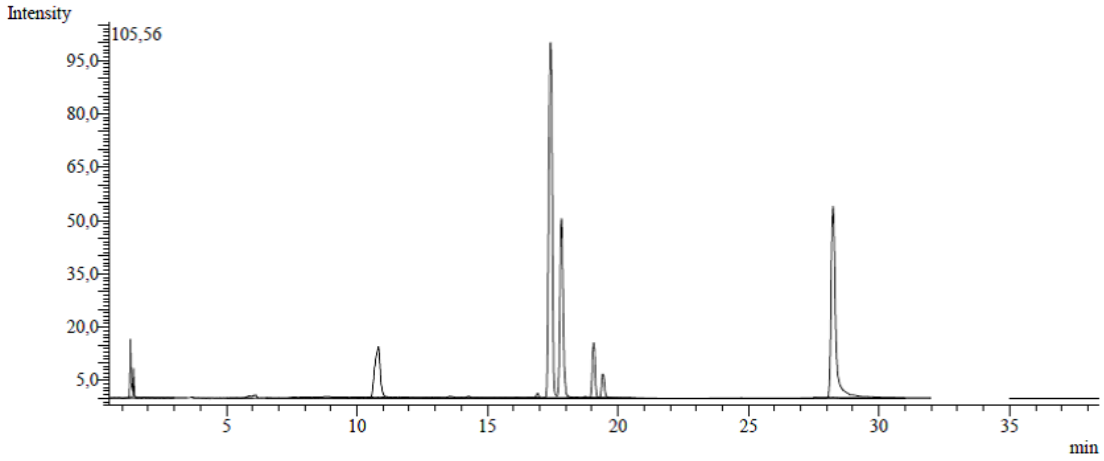
Ek 62. SSp-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



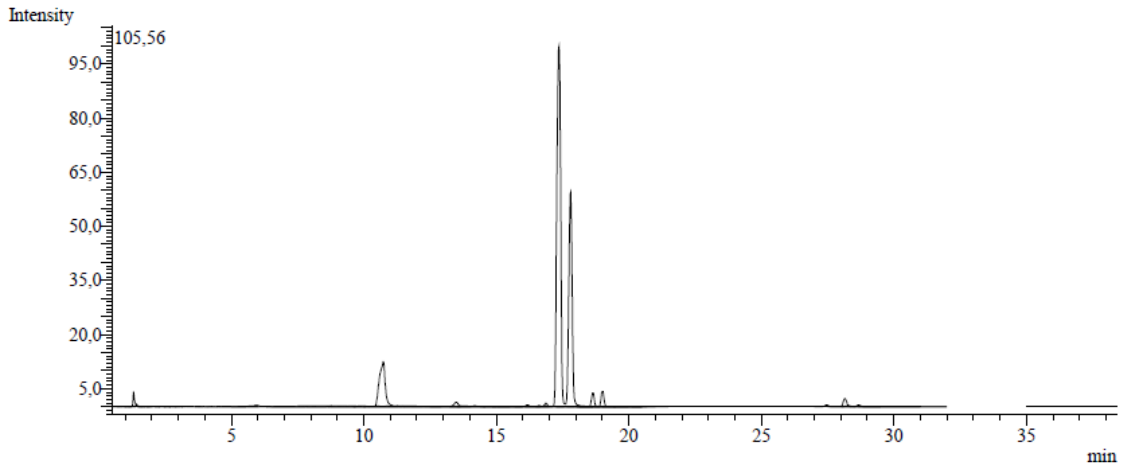
Ek 63. SSp-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



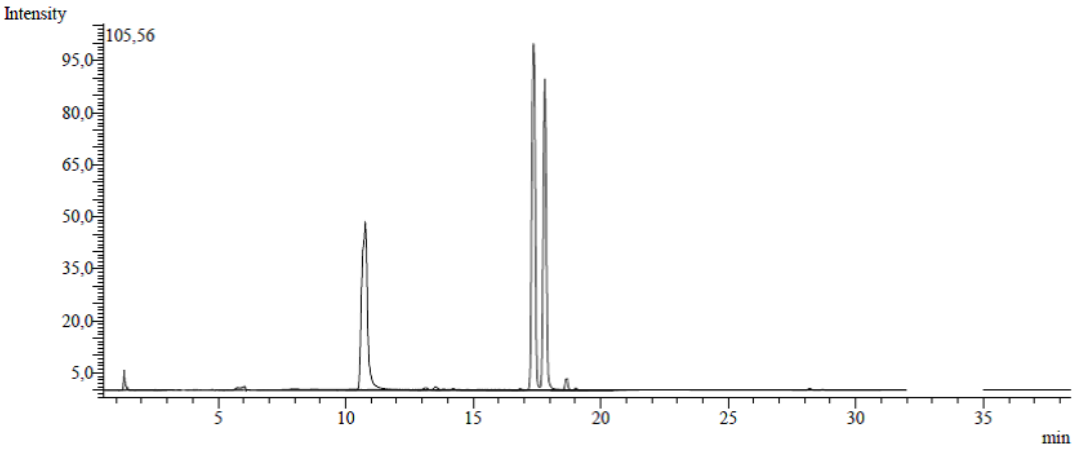
Ek 64. SSp-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



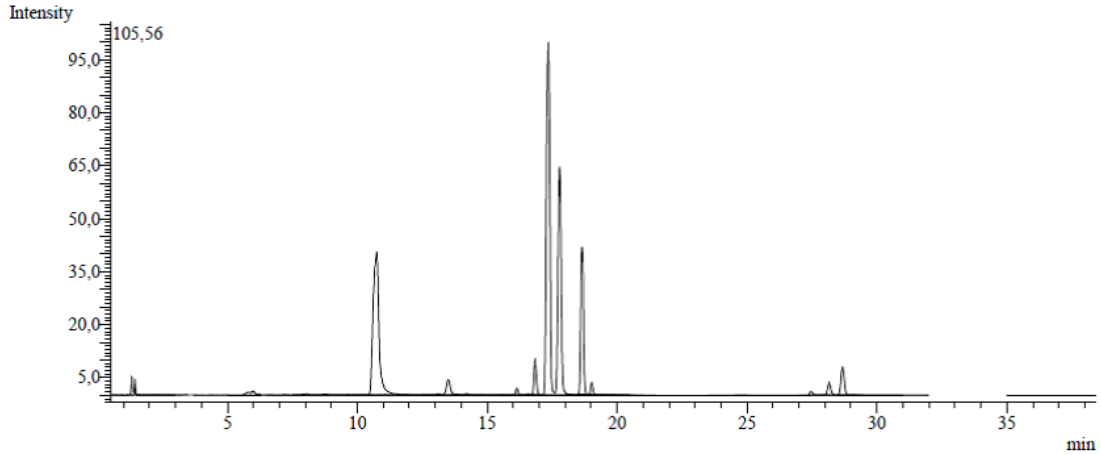
Ek 65. SSp-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



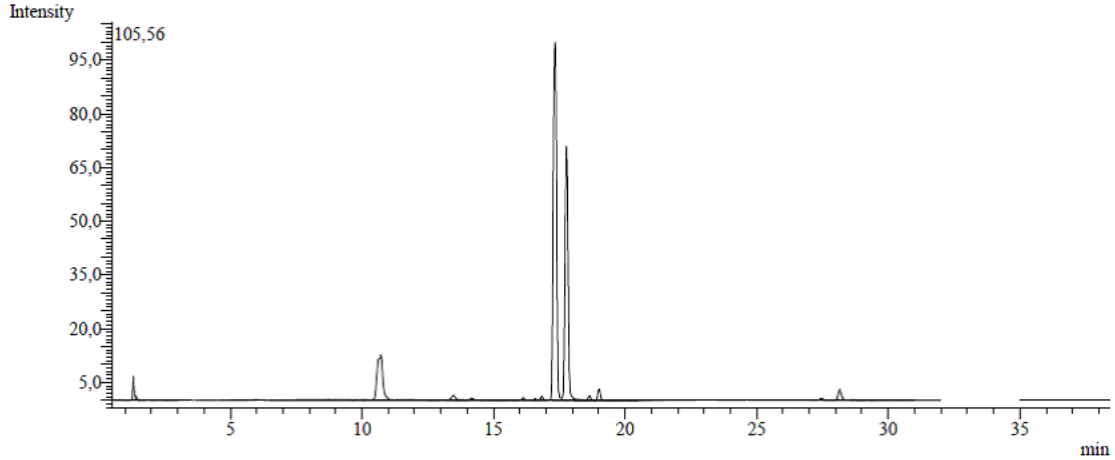
Ek 66. SB-M ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



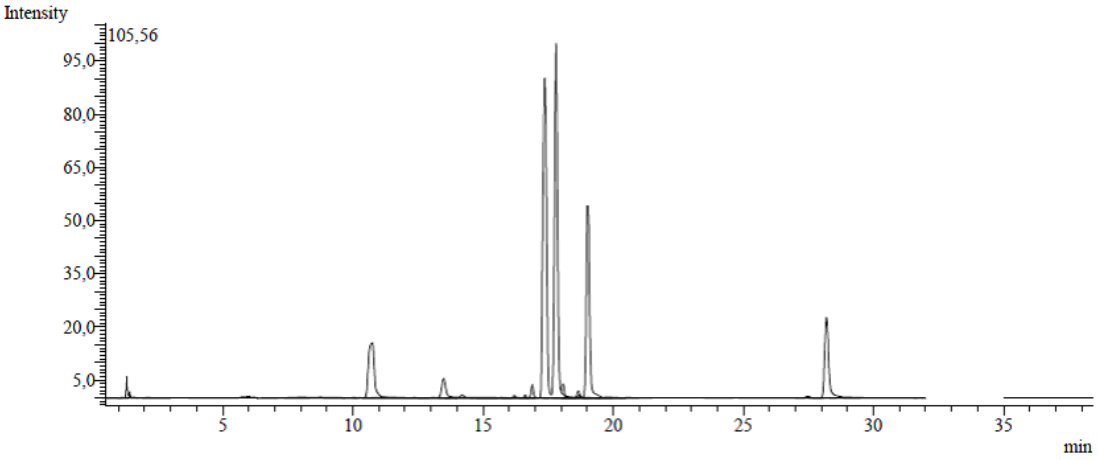
Ek 67. SB-R ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



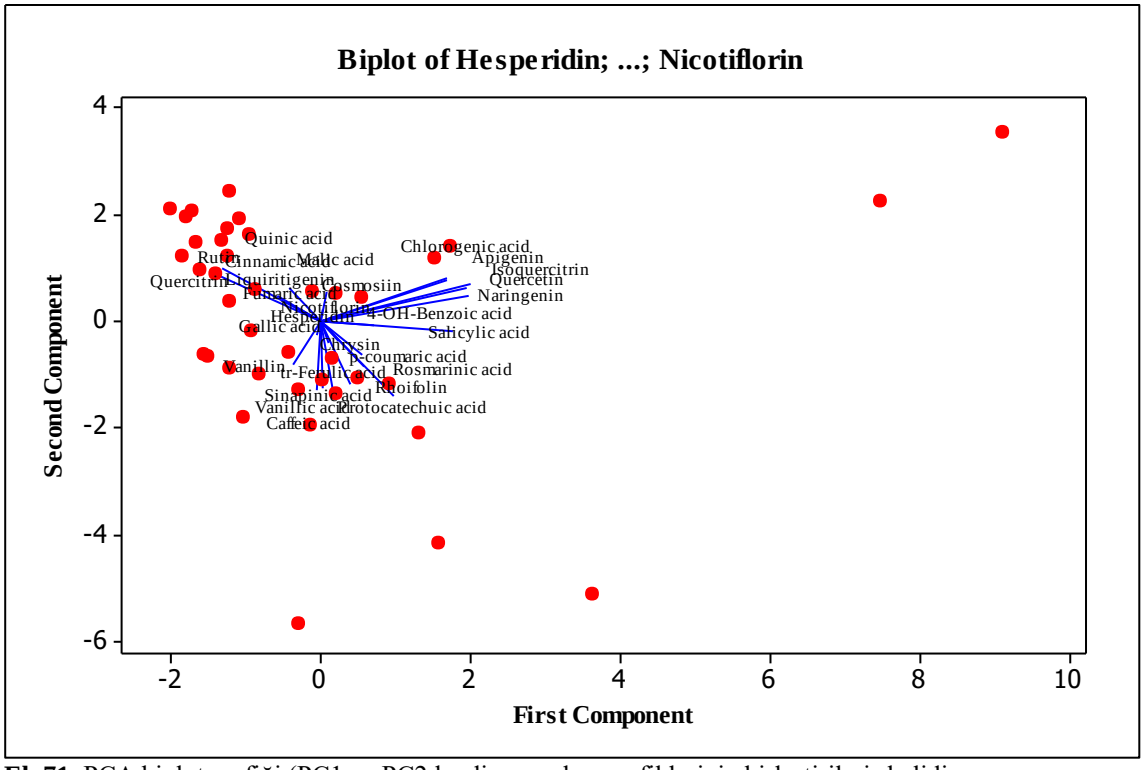
Ek 68. SB-S ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 69. SB-L ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 70. SB-F ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Ek 71. PCA biplot grafiği (PC1 ve PC2 loading ve skor grafiklerinin birleştirilmiş halidir

grup	Kod	pc1	pc2	pc3	pc4	pc5	pc6	pc7	pc8	pc9	pc10
1	SSt-M	-1,07637	1,886436	0,571764	0,84626	0,804958	-1,33764	1,178686	-0,16192	-0,6287	-0,54345
1	SSt-R	-1,4812	-0,69067	0,237985	1,11663	-1,13979	1,639892	-0,20896	-0,38627	-1,17942	-0,02422
1	SSt-S	-1,68869	2,052655	-0,09886	1,773921	0,585473	0,958112	0,196067	-0,43602	0,017527	-2,30011
1	SSt-L	-1,98182	2,071925	-2,87833	0,938163	4,23081	2,756948	-0,61123	1,229182	-1,15405	1,54405
1	SSt-F	-1,19908	2,3995	-0,62268	1,986668	1,866569	0,064022	0,415515	-0,49545	-0,37609	-1,48246
2	SK-M	-1,1885	0,349305	1,714957	0,410893	-0,51442	-0,06734	0,493246	-0,72398	-0,28108	-0,14751
2	SK-R	-1,54953	-0,62355	2,666461	0,513829	-1,01834	0,918675	0,764328	-0,67435	-0,61573	0,108384
2	SK-S	-1,01046	-1,82565	3,025512	2,427401	-0,86109	3,71797	0,619646	-0,33706	-0,10023	-0,39759
2	SK-L	-1,59672	0,960352	0,860052	0,281429	0,310274	-1,36621	0,096606	0,294671	-0,66533	0,126231
2	SK-F	-0,8454	0,590019	-0,24503	1,017755	-2,10609	0,562316	0,987305	-0,87499	0,412658	0,723059
3	SSf-M	-1,2289	1,725707	-0,01481	1,896543	-0,30491	-1,59783	0,35218	-0,60833	-0,16525	-1,75807
3	SSf-R	-1,19793	-0,89768	2,091982	0,431633	-1,17716	-0,31649	0,617467	-0,17407	-0,36891	0,321471
3	SSf-S	-1,6541	1,455245	2,070565	0,359233	-1,29159	-1,73879	0,257345	1,888395	4,364848	0,178482
3	SSf-L	-0,94202	1,613669	0,063505	0,64967	-0,01091	-0,27113	0,132865	0,406878	0,174471	0,098846
3	SSf-F	-1,31876	1,511186	-3,00742	0,755953	-2,70879	-0,04033	0,341488	-0,62092	0,292438	2,164471
4	SP-M	-1,22855	1,196996	-0,22463	0,457388	0,285954	-0,59919	0,022104	0,339611	-0,54772	1,468338
4	SP-R	-1,83533	1,218326	2,105563	-0,00086	-0,12447	-1,56813	0,816441	-0,21359	-0,55147	0,358801
4	SP-S	-1,78779	1,926506	0,548066	0,176024	0,661542	2,052812	-1,84597	2,683654	1,516355	0,974662
4	SP-L	-1,39729	0,8805	-0,17616	0,118303	0,037866	-1,12149	0,521669	0,681451	-0,35728	0,810773
4	SP-F	0,233413	0,504031	-4,0222	-0,34001	-2,95077	0,133987	-1,06171	-1,09985	-0,31314	0,94139
5	SSc-M	0,523141	-1,09672	-0,77801	-1,63852	-0,44989	-0,21804	0,831631	0,283915	0,117405	-0,85416
5	SSc-R	0,215275	-1,3618	-0,13901	-1,84748	-0,41497	0,269762	-0,26023	-0,21231	-0,42414	-1,5288
5	SSc-S	-0,40405	-0,59392	-1,84142	-2,26081	0,047955	1,374876	-0,4898	0,261491	0,57087	-2,08184
5	SSc-L	1,315815	-2,12409	-2,18093	-2,38047	0,256345	0,424558	4,758441	1,704581	0,278328	-0,61068
5	SSc-F	0,939999	-1,1748	-2,01015	-1,17069	0,627176	0,874478	3,153893	0,855957	0,311189	0,561124
6	SM-M	7,493943	2,237646	1,500578	0,052194	-0,01788	0,396267	-0,20851	0,171839	-0,20596	-0,24523
6	SM-R	0,567218	0,433801	-0,06373	-1,62122	-0,63447	0,183716	-1,47543	0,730836	-0,04252	-0,91838
6	SM-S	1,750267	1,389497	0,348717	-1,3587	-0,13354	0,067134	-2,20066	1,1731	0,020175	-0,98146
6	SM-L	9,123188	3,505918	2,036858	0,395739	0,227777	0,368185	0,706936	-0,0982	-0,69966	1,08529
6	SM-F	1,541402	1,151642	-2,91726	-0,4744	-3,2955	0,447588	-1,47167	-0,87969	0,10713	-0,35829
7	SSp-M	-0,10709	0,551206	0,915214	-0,94103	1,060227	-1,52767	-0,19901	-0,81728	-0,68471	0,145715
7	SSp-R	-0,80925	-1,01374	0,06251	-1,90828	-0,64076	-1,29823	-1,15386	0,122356	-1,23552	-0,6736
7	SSp-S	-0,92117	-0,18792	-0,4293	-1,79257	1,706369	0,692311	-1,62168	-0,63641	0,132762	-0,31887

Ek 72. *Salvia* örneklerine ait temel bileşenlerin skor değerleri

grup	Kod	pc1	pc2	pc3	pc4	pc5	pc6	pc7	pc8	pc9	pc10
7	SSp-L	0,037996	-1,11128	-0,16666	-1,65951	1,864484	-0,14337	-0,08683	-2,18818	1,098823	0,353198
7	SSp-F	0,156955	-0,69577	0,418349	-1,51147	2,710444	0,166181	0,048625	-4,27562	2,181477	1,056863
8	SB-M	-0,29193	-1,2965	0,284934	-1,36809	0,513923	-2,03573	-0,79245	0,66659	-0,70673	0,51115
8	SB-R	-0,27765	-5,68087	2,104918	0,192998	-0,91913	0,725351	-0,47098	0,37839	-1,43887	0,938022
8	SB-S	1,600956	-4,15736	1,797256	-0,44688	0,248355	0,980004	-1,55027	0,680516	1,266352	0,528284
8	SB-L	-0,12953	-1,95717	-0,32105	-0,36541	1,437886	-2,75919	-0,82653	1,195581	-1,14116	0,941766
8	SB-F	3,649519	-5,12258	-3,28811	6,287764	1,230075	-1,76835	-0,77672	0,165512	1,020869	-0,71564

Ek 72. *Salvia* örneklerine ait temel bileşenlerin skor değerleri (devamı)

No	Analitler	RT[a]	Ana İyon(m/)[b]	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R²[c]	RSD%[d]	
								Aynı Gün	Farklı Günler
1	Kumarin	17.40	147.05	91.0-103.2	Poz	y=33.64×-89700	0.994	0.01306	0.01239
2	Hesperidin	12.67	610.90	303.1-465.1	Poz	y=1340.27×-43769	0.998	0.00945	0.01126
3	p-Kumarik asit	11.53	162.95	119.3-93.3	Neg	y=3199.20×+13002	0.992	0.01820	0.01727
4	o-kumarik asit	15.45	162.95	119.4-93.3	Neg	y=1219.34×-10915	0.999	0.02730	0.02566
5	Gallik asit	3.00	168.85	125.2-79.2	Neg	y=226.76×+38152	0.998	0.01601	0.01443
6	Kafeik asit	8.80	178.95	135.2-134.3	Neg	y=3963.32×+178156	0.998	0.01454	0.01469
7	Vanilik asit	8.57	166.90	152.3-108.3	Neg	y=35.84×-12097	0.999	0.00528	0.00619
8	Salisilik asit	11.16	136.95	93.3-65.3	Neg	y=5286.26×+309192	0.989	0.01016	0.01242
9	Kinik asit	1.13	190.95	85.3-93.3	Neg	y=41.06×+10671	0.996	0.00259	0.00274
10	4-OH-benzoik asit	7.39	136.95	93.3-65.3	Neg	y=409.03×+112079	0.998	0.01284	0.01538
11	Ferulik asit	12.62	192.95	178.3	Neg	y=80.45×-31782	0.997	0.00708	0.00619
12	Klorojenik asit	7.13	353.15	191.2	Neg	y=781.36×-18697	0.998	0.00058	0.00076
13	Rozmarinik asit	14.54	359.00	161.2-197.2	Neg	y=909.67×-201692	0.994	0.02014	0.01751
14	Protokateşik asit	4.93	152.95	108.3	Neg	y=297.75×+30590	0.995	0.01236	0.01296
15	Sinnamik asit	25.61	147.00	103.15-77.3	Neg	y=9.06×-12403	0.996	0.00648	0.00816
16	Sinapinik asit	12.66	222.95	208.3-149.2	Neg	y=141.96×-73294	0.992	0.01446	0.01517
17	Fumarik asit	1.48	115.00	71.4	Neg	y=64.99×-11592	0.997	0.00536	0.00460
18	Vanilin	10.87	151.00	136.3-92.2	Neg	y=446.10×+70934	0.998	0.00696	0.00793
19	Pirokatekol	6.48	109.00	108.35-91.3	Neg	y=30.61×+14735	0.996	0.01313	0.01339
20	Malik asit	1.23	133.00	115.2-71.3	Neg	y=316.95×-42041	0.999	0.00477	0.00527
21	Sirinjik asit	9.02	196.95	182.2-167.3	Neg	y=42.33×-52547	0.996	0.01049	0.01345
22	Hesperetin	31.76	300.95	164.2-136.2	Neg	y=876.67×+48916	0.997	0.03209	0.02605
23	Naringenin	30.68	270.95	151.2-119.3	Neg	y=4315.1×+178410	0.995	0.02054	0.02019
24	Rutin	12.61	609.05	300.1-271.1	Neg	y=561.91×-16879	0.997	0.00473	0.00624
25	Kersetin	28.17	300.90	151.2-179.2	Neg	y=1198.48×+480562	0.990	0.01589	0.01360
26	Kersitrin	16.41	447.15	301.1-255.1	Neg	y=339.39×+38910	0.999	0.01528	0.02320
27	Apigenin	31.43	268.95	117.3-151.2	Neg	y=4548.36×+295252	0.990	0.02304	0.02204
28	Krisin	36.65	252.95	143.3-119.4	Neg	y=2032.13×+95593	0,993	0.00490	0.00630

Ek 73. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (aRT: Alıkonma zamanı, bAna iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2))

No	Analitler	Lineerite Aralığı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L)[e]	Geri Kazanım (%)		U[f]
				Aynı Gün	Farklı Günler	
1	Kumarin	1000-20000	208.4/228.4	0.99947	1.00081	0.0237
2	Hesperidin	25-1000	3.4/4.2	1.01733	1.01263	0.0262
3	p-Kumarik asit	25-1000	7.3/9.1	1.00617	1.01224	0.0516
4	o-kumarik asit	25-1000	24.4/31.1	0.98344	0.99061	0.0513
5	Gallik asit	250-10000	95.5/106.9	1.00004	1.00454	0.0282
6	Kafeik asit	25-1000	18.4/22.4	1.00917	0.98826	0.0354
7	Vanilik asit	1000-20000	122.2/139.7	1.00093	1.04095	0.0508
8	Salisilik asit	25-1000	5.0/6.5	1.00989	0.99013	0.0329
9	Kinik asit	250-10000	75.8/79.4	1.00288	0.98778	0.0082
10	4-OH-benzoik asit	250-10000	33.2/38.1	0.99662	1.00058	0.0289
11	Ferulik asit	250-10000	36.6/42.0	0.99987	1.00289	0.0494
12	Klorojenik asit	25-1000	6.2/8.1	1.00806	0.99965	0.0069
13	Rozmarinik asit	100-5000	6.6/8.8	0.99206	1.03431	0.0713
14	Protokateşik asit	100-5000	28.2/31.4	0.99404	1.01070	0.0411
15	Sinnamik asit	5000-20000	821.8/859.7	1.00051	0.99927	0.0143
16	Sinapinik asit	250-10000	78.7/86.1	1.00164	0.99962	0.0281
17	Fumarik asit	100-5000	28.1/34.5	0.99748	0.99867	0.0124
18	Vanilin	250-10000	44.3/53.1	0.99679	0.99611	0.0280
19	Pirokatekol	1000-20000	261.1/278.4	0.99987	0.99936	0.0235
20	Malik asit	250-10000	55.3/67.5	1.01266	0.99836	0.0113
21	Sirinjik asit	1000-20000	212.5/233.3	0.99922	0.99977	0.0238
22	Hesperetin	25-1000	5.6/6.9	0.98850	0.99435	0.0562
23	Naringenin	25-1000	5.4/6.4	0.99883	1.01002	0.0521
24	Rutin	25-1000	5.5/6.5	1.00994	0.98017	0.0159
25	Kersetin	100-5000	23.3/28.9	0.98470	1.00103	0.0543
26	Kersitrin	100-5000	22.0/25.2	0.99726	1.00620	2.0079
27	Apigenin	25-1000	5.4/6.3	1.01444	1.01331	0.0650
28	Krisin	25-1000	5.4/6.2	1.00338	1.00437	2.0083

Ek 73. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (aRT: Alıkonma zamanı, bAna iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) (devamı)

No	Analitler	RT[a]	Ana İyon(m/)[b]	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R[2c]	RSD%[d] Aynı Gün	Farklı Günler
29	Likiritigenin	25.62	254.95	119.3-135.1	Neg	y=2384.96×+59141	0,996	0.01849	0.01738
30	İzokersitrin	13.42	463.00	300.1-271.1	Neg	y=803.23×+4981	0,999	0.00682	0.00515
31	Apigetrin	16.59	431.00	268.2-239.2	Neg	y=1775.55×+91121	0,993	0.01797	0.01607
32	Roifolin	16.11	577.05	269.2-211.1	Neg	y=237.15×+11887	0,999	0.00747	0.01528
33	Nikotiflorin	14.68	593.05	285.1-255.2	Neg	y=498.38×+79274	0,991	0.00737	0.00875
34	Fisetin	19.30	284.95	135.2-121.3	Neg	y=547.46×+274791	0,991	0.00557	0.00820
35	Luteolin	28.27	284.75	133.2-151.2	Neg	y=3272.65×+150557	0,997	0.00575	0.00696
36	Mirisetin	18.72	317.00	179.2-151.3	Neg	y=583.55×+205727	0,999	0.00652	0.00711
37	Kamferol	31.88	284.75	255.1-117.3	Neg	y=26.29×+87558	0,992	0.01436	0.01070

Ek 73. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (aRT: Alıkonma zamanı, bAna iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) (devamı)

No	Analitler	Lineerite Aralığı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L)[e]	Geri Kazanım (%) Aynı Gün	Farklı Günler	U[f]
29	Likiritigenin	25-1000	5.5/6.6	1.00333	0.99957	0.0341
30	İzokersitrin	25-1000	5.4/6.3	1.00594	1.00722	0.0133
31	Apigetrin	25-1000	5.4/6.1	1.01394	1.00419	0.0597
32	Roifolin	100-5000	23.1/27.9	1.01046	1.01739	0.0941
33	Nikotiflorin	100-5000	22.4/25.5	1.02558	1.00970	0.0276
34	Fisetin	250-10000	54.4/61.4	0.99877	1.00031	0.0148
35	Luteolin	25-1000	5.4/6.5	1.00772	0.99524	0.0174
36	Mirisetin	250-10000	53.2/57.2	0.99982	1.00042	0.0126
37	Kamferol	1000-20000	206.6/214.3	0.99971	0.99851	0.0209

Ek 73. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (aRT: Alıkonma zamanı, bAna iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), cR2: Belirleme katsayısı, dRSD: Bağıl standart sapma, eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, f U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) (devamı)

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Hava

Soyadı : BATIBAY

Adres : Osmangazi Mah.Toki Evleri FG/24A Sarıçam/ADANA

Tel : 05384534906

E-posta : havabatibay@gmail.com

Doğum Yeri : DİYARBAKIR/Merkez

Doğum Tarihi : 16/10/1988

İŞ BİLGİLERİ

2016 -Devam Çukurova Üniversitesi Mühendislik- Mimarlık Fakültesi Kimyagerlik

İş Tel: 03223386060 dahili 127

EĞİTİM BİLGİLERİ

2014-Devam Dicle Üniversitesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim dalı Yüksek lisans

Bazı *Salvia* (Adaçayı) Türlerinin Biyolojik ve Kimyasal Yönden İncelenmesi

2008-2013 Dicle Üniversitesi Kimya Lisans (dönem ikinciliği ile mezun)

2003-2006 Diyarbakır Fatih Lisesi

KURS/SERTİFİKA

Analitik Validasyon ve Kalibrasyon Sertifikası Mayıs 2011

MEB Onaylı A1 ve A2 İngilizce Sertifikası

BİLGİSAYAR ve YABANCI DİL BİLGİSİ

Orta derecede İngilizce biliyorum. Word, Power point, Excell gibi Microsoft Office Programlarını iyi derecede kullanabiliyorum.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	HAVA BATIBAY
ÖĞRENCİ NO	14803004
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2016/2017
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	Bazı *Salvia* (Adaçayı) Türlerinin Biyolojik ve Kimyasal Yönden İncelenmesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	159
BENZERLİK ORANI	%23
RAPORLAMA TARİHİ	20/07/ 2017

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 159 sayfalık kısmına ilişkin, 20/07/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 23'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

☒ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☐ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

H. Bat

Hava BATIBAY

20/07/2017
Prof. Dr. Berrin ZİYADANOGULLARI
Tez Danışmanı

20/07/2017
Prof. Dr. Ömer YAVUZ
Anabilim Dalı Başkanı