

FARKLI ZAMANLARDA HASAT EDİLEN
***SALVIA SCLAREA* L. BİTKİSİNİN**
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Yüksek Lisans Tezi

Sevde Nur İZOL

Eskişehir 2021

**FARKLI ZAMANLARDA HASAT EDİLEN *SALVIA SCLAREA* L. BİTKİSİNİN
BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Sevde Nur İZOL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Temmuz 2021

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Sevde Nur İZOL'un "Farklı Zamanlarda Hasat Edilen *Salvia sclarea* L. Bitkisinin Biyolojik Aktivite Çalışması" başlıklı tezi 16/06/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

ÖZET

FARKLI ZAMANLARDA HASAT EDİLEN *SALVIA SCLAREA* L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Sevde Nur İZOL

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2021

Danışman: Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Tez kapsamında ülkemizde yetişen *Salvia sclarea* türünün farklı zamanlarda hasat edilmiş toprak üstü kısımlarının hekzan, metanol ve etil asetat ile hazırlanmış ekstreleri maserasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Elde edilen ekstreler, ekstre verimleri ve toplam fenolik madde miktarı belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Clevenger apereyi ile uçucu yağ elde edilmiş ve sonuçlar Gaz kromatografisi/Kütle spektrofotometrisi ile aydınlatılmıştır. Uçucu yağa ait ana bileşenlerin linalol, linalil asetat, karyofilen oksit, sklareol ve spatulenol olduğu görülmüştür. Ekstrelerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH• süpürücü etki ve ABTS•⁺ yöntemleri kullanılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Antikandidal aktivitenin belirlenebilmesi için metanollü ekstre ve uçucu yağ kullanılmış, etkinlik açısından karşılaştırma yapılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Salvia sclarea*, Antioksidan, Antikandidal, Uçucu yağ.

ABSTRACT

BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF PLANT *SALVIA SCLAREA* L. HARVESTED AT DIFFERENT TIMES

Sevde Nur İZOL

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, July 2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Within the scope of the thesis, extracts of the above-ground parts of *Salvia sclarea*, which grows in our country, which were harvested at different times, prepared with hexane, methanol and ethyl acetate were prepared by maceration method. Extracts, extract yields and total phenolic content were determined and compared. Essential oil was obtained with the Clevenger apparatus and the results were elucidated by Gas Chromatography/Mass Spectrophotometry. The main components of the essential oil were found to be Linalol, linalyl acetate, caryophyllene oxide, sclareol and spathulenol. To determine the antioxidant activities of the extracts, DPPH[•] scavenging effect and ABTS^{•+} methods were used and the results were evaluated. In order to determine the anticandidal activity, methanolic extract and essential oil were used, and a comparison was made in terms of effectiveness

Keywords: *Salvia sclarea*, Antioxidant, Anticandidal, Essential oil.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca desteğini benden esirgemeyen, her konuda yardımcı olan danışman hocam sayın Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ'a

Bitki materyallerini yetiştiren ve bu materyallerin toplanmasında ve tesliminde bana yardımcı olan sayın Muammer ŞEN ve sayın Merve ŞEN'e,

Tezimin uçucu yağ bileşenlerinin GK/KS analizlerinin yorumlanmasını, yoğunluğuna rağmen büyük bir içtenlikle yapan sayın Prof. Dr. Betül DEMİRCİ hocama,

Antikandidal aktivite çalışmalarında bilgisi ile bana yol gösteren sayın Prof. Dr. Gökalp İŞCAN hocama,

Antioksidan aktivite çalışmalarında büyük bir sabır ve özveri ile bana kıymetli vaktini ayıran sayın Doç. Dr. Fatih GÖGER hocama,

Laboratuvar çalışmam süresince ihtiyaç duyduğum anda desteğini benden esirgemeyen Araş. Gör. Burak TEMİZ ve Araş. Gör. Gözde ÖZTÜRK hocalarıma,

Tez yazımım sırasında desteğini benden esirgemeyen canım arkadaşım Ceyda Afşin BERDANOĞLU'na,

Ve bu günlere gelmemde desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, beni her konuda cesaretlendiren anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

| | |
|---|------|
| JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI..... | iii |
| ÖZET..... | iv |
| ABSRTACT..... | v |
| TEŞEKKÜR..... | vi |
| ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ..... | vii |
| STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES..... | viii |
| İÇİNDEKİLER..... | ix |
| GÖRSELLER DİZİNİ..... | xi |
| TABLolar DİZİNİ..... | xii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | xiv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | xvi |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİGİLER..... | 11 |
| 2.1. Botanik Özellikleri..... | 11 |
| 2.2. <i>Salvia</i> Türleri İçin Genel Olarak Yapılmış Kimyasal Çalışmalar..... | 11 |
| 2.2.1. <i>S. sclarea</i> L..... | 12 |
| 2.2.1.1 <i>S. sclarea</i> uçucu yağları üzerinde yapılmış çalışmalar..... | 14 |
| 2.2.2. Uçucu yağlar..... | 25 |
| 2.2.2.1. Uçucu yağların kimyasal yapısına göre sınıflandırılması..... | 26 |
| 2.2.2.2. <i>S. sclarea</i> uçucu yağındaki bazı kimyasal bileşimi..... | 29 |
| 2.3. <i>S. sclarea</i> Türünün Biyolojik Aktiviteleri..... | 33 |
| 2.3.1. Antioksidan aktivite..... | 33 |
| 2.3.2. Antimikrobiyal etkinlik..... | 36 |
| 2.3.3. Antifungal etkinlik..... | 38 |
| 3. YÖNTEM..... | 41 |
| 3.1. Bitki Materyali..... | 41 |

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar..... | 42 |
| 3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler..... | 42 |
| 3.2.2. Kullanılan cihazlar..... | 43 |
| 3.3. <i>S. sclarea</i> Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması..... | 43 |
| 3.4. Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini..... | 46 |
| 3.4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini..... | 46 |
| 3.5. Antioksidan Aktivite Tayini..... | 47 |
| 3.5.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH*) süpürücü etki tayini..... | 47 |
| 3.5.2. 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS* ⁺) süpürücü etki tayini..... | 48 |
| 3.6. Gaz Kromatografisi/ Kütle spektrofotometresi (GK/KS) ile Uçucu Yağ Miktar Tayini..... | 49 |
| 3.7. Antikandidal Aktivite..... | 50 |
| 4. BULGULAR..... | 51 |
| 4.1. Ekstraksiyon verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarı..... | 51 |
| 4.2. Antioksidan Aktivite Tayini..... | 53 |
| 4.2.1. DPPH* anti-radikal etki..... | 53 |
| 4.2.2. ABTS* ⁺ radikal katyon renksizleştirme kapasitesi..... | 55 |
| 4.3. GK ve GK/KS ile Uçucu Yağ Analiz Sonuçları..... | 57 |
| 4.4. Antikandidal Aktivite..... | 61 |
| 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA..... | 64 |
| KAYNAKÇA..... | 69 |
| ÖZGEÇMİŞ | |

GÖRSELLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Görsel 1.1. Walahfrid Strabo'nun Hortulus'u..... | 3 |
| Görsel 1.2. <i>Salvia sclarea</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı..... | 10 |
| Görsel 2.1. İzopren (2-metilbüta 1,3 dien)..... | 26 |
| Görsel 3.1. <i>Salvia sclarea</i> 'nın kurumaya bırakılmış yaprakları, (A) , <i>S. sclarea</i> çiçeekte (B)..... | 41 |
| Görsel 3.2. <i>Salvia sclarea</i> 'nın çiçekli kısımlarının kurutulması..... | 41 |
| Görsel 3.3. Elde edilen ekstrenin rotavapor yardımıyla çözücüsünden ayrılması (A-B), Ekstreler (C), Fraksiyonlu maserasyon için drogların kurutulması (D)..... | 45 |
| Görsel 3.4. Dilüe edilen numune ekstreler..... | 47 |
| Görsel 3.5. DPPH* testi için hazırlanan numuneler..... | 48 |
| Görsel 3.6. <i>Salvia sclarea</i> 'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağ eldesi..... | 50 |
| Görsel 4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini için hazırlanan örnekler..... | 52 |
| Görsel 4.2. DPPH radikalini süpürücü etki için hazırlanan örnekler..... | 53 |
| Görsel 4.3. ABTS*+ testi için hazırlanan örnekler ve renk değişimi..... | 55 |
| Görsel 4.4. <i>Salvia sclarea</i> uçucu yağı..... | 58 |
| Görsel 4.5. Metanol ekstresi ve uçucu yağların kandidalar üzerinde ki aktivitesi. | 63 |

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tablo 1.1. | Türkiye'nin <i>Salvia</i> türleri ve buldukları coğrafi bölgeler..... | 7 |
| Tablo 2.1. | Üç <i>Salvia</i> türünün uçucu yağlarının kimyasal yapısı..... | 15 |
| Tablo 2.2. | İsrail ve Rusya'dan toplanan <i>S. sclarea</i> L. uçucu yağının kimyasal bileşimleri..... | 16 |
| Tablo 2.3. | İspanyol kaynaklı <i>S. sclarea</i> yağının kimyasal bileşimi (%)..... | 16 |
| Tablo 2.4. | Yunanistan kaynaklı <i>S. sclarea</i> uçucu yağının bileşimi (%)..... | 17 |
| Tablo 2.5. | İtalya'daki <i>S. sclarea</i> uçucu yağının bileşimi (%)..... | 18 |
| Tablo 2.6. | Fransa kaynaklı <i>Salvia</i> türlerinin kimyasal bileşimi (%)..... | 18 |
| Tablo 2.7. | Hidrodistilasyon ve ko-distilasyon yöntemi ile elde edilen <i>S. sclarea</i> uçucu yağının kimyası..... | 19 |
| Tablo 2.8. | Uruguay kaynaklı <i>S. sclarea</i> türünün farklı dönemlerde hasat edilmiş uçucu yağının kimyasal..... | 19 |
| Tablo 2.9. | Buhar distilasyonu ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağ yüzdelerinin..... | 20 |
| Tablo 2.10. | Tacikistan'da <i>S. sclarea</i> bitkisinin uçucu yağ bileşimi..... | 21 |
| Tablo 2.11. | <i>S. sclarea</i> ve <i>Salvia verticillata</i> subsp. <i>verticillata</i> uçucu yağının bileşimi..... | 22 |
| Tablo 2.12. | Tunceli'den toplanan <i>S. sclarea</i> uçucu yağının bileşimi..... | 22 |
| Tablo 2.13. | <i>S. sclarea</i> bitkisinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi..... | 23 |
| Tablo 2.14. | Beyrut'tan ve Taaneyel'den toplanan <i>S. sclarea</i> türünün uçucu yağ analizi..... | 24 |
| Tablo 2.15. | <i>S. sclarea</i> L. uçucu yağının kimyasal bileşimi (%)..... | 24 |
| Tablo 2.16. | Uçucu yağların izopren birim sayısına göre sınıflandırılması..... | 27 |
| Tablo 3.1. | Çalışılan tür, toplama zamanı, toplanma yeri, kod..... | 42 |
| Tablo 3.2. | Elde edilen ekstraların verimi (%)..... | 45 |
| Tablo 4.1. | <i>Salvia sclarea</i> 'nın farklı çözücülerle hazırlanmış ekstre verimler ve toplam fenolik madde miktarı..... | 51 |
| Tablo 4.2. | Ekstrelerin serbest radikal üzerinden hesaplanan inhibe değerleri..... | 54 |
| Tablo 4.3. | Ekstrelerin mM TEAC değerleri..... | 57 |
| Tablo 4.4. | SS1A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)..... | 58 |

| | <u>Sayfa</u> |
|--|---------------------|
| Tablo 4.5. SS2A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)..... | 59 |
| Tablo 4.6. SS3A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)..... | 59 |
| Tablo 4.7. SS4A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)..... | 60 |
| Tablo 4.8. SS5A'nın uçucu yağ analizi , %1 ve üzeri (%)..... | 60 |
| Tablo 4.9. SS6A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)..... | 61 |
| Tablo 4.10. Antikandidal aktivite sonuçları..... | 62 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa</u> |
|-------------|---|
| Şekil 2.1. | Linalol ve Linalil asetat..... 28 |
| Şekil 2.2. | Mirsen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.3. | Osimen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.4. | Kamfen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.5. | Limonen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.6. | Pinen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.7. | Simen, C ₁₀ H ₁₆ 29 |
| Şekil 2.8. | Geraniol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.9. | Geranil aseton, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.10. | Karvakrol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.11. | Linalol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.12. | Linalol oksit, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.13. | Nerol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.14. | 1,8-Sineol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.15. | Terpineol, C ₆ H ₁₈ O..... 30 |
| Şekil 2.16. | β – Burbonen, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.17. | Elemen, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.18. | Germakren-D, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.19. | α –Humulen, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.20. | Karyofilen, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.21. | Kopaen, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.22. | α-Kubaben, C ₁₅ H ₂₄ 31 |
| Şekil 2.23. | Ödesmol, C ₁₅ H ₂₄ O..... 31 |
| Şekil 2.24. | Spatulenol, C ₁₅ H ₂₄ O..... 32 |
| Şekil 2.25. | Sklareol, C ₂₀ H ₃₈ O ₂ 32 |
| Şekil 2.26. | Linalil asetat, C ₁₂ H ₂₀ O ₂ 32 |
| Şekil 2.27. | Geranil asetat, C ₁₂ H ₂₀ O ₂ 32 |
| Şekil 2.28. | Neril asetat..... 32 |
| Şekil 4.1. | Gallik asit standardına göre kalibrasyon eğrisi ve denklemi..... 52 |
| Şekil 4.2. | Ekstrelerin IC ₅₀ değerlerini gösteren sütun grafiği..... 54 |

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Şekil 4.3. Trolox standardına göre çizilen kalibrasyon eğrisi ve denklemi... | 56 |
| Şekil 4.4. Kullanılan ekstrelerin elde edilen denkleme göre Trolox'a karşılık gelen mM miktarları..... | 56 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | | |
|--------------------|---|---|
| α | : | Alfa |
| β | : | Beta |
| δ | : | Delta |
| A | : | Akdeniz Bölgesi |
| ABTS ^{•+} | : | 2-2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) |
| BHT | : | Bütillenmiş Hidroksitoluen |
| BHA | : | Butillenmiş Hidroksianisol |
| DA | : | Doğu Anadolu Bölgesi |
| DPPH [•] | : | 1,1-Difenil 2-pikrilhidrazil |
| DMSO | : | Dimetilsülfoksit |
| FDA | : | Gıda ve İlaç Dairesi |
| FEMA | : | Federal Acil Durum Yönetim Kurumu |
| GA | : | Güneydoğu Anadolu Bölgesi |
| GSK-KS | : | Gaz-Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi |
| GK | : | Gaz Kromatografisi |
| GK-KS | : | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi |
| GRAS | : | Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan |
| İA | : | İç Anadolu Bölgesi |
| K | : | Karadeniz Bölgesi |
| M | : | Marmara Bölgesi |
| MFK | : | Minimum Fungisidal Konsantrasyonları |
| MIK | : | Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon |
| PG | : | Propil Galat |
| ROS | : | Reaktif Oksijen Türü |
| SDA | : | Sabouraud Dekstroz Agar |
| TBH | : | Tertbutilhidrokinon |
| TPC | : | Toplam Fenolik İçeriği |
| TAK | : | Toplam Antioksidan Kapasite |
| TEAC | : | Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adaçayı en eski zamanlardan beri önemli bir şifalı bitki olmuştur. Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Salvia* L. türlerini tarihte ilk olarak Romalılar M.Ö. 753- M.S. 476 yılları arasında tıbbi olarak kullanmaya başlanmış ve elde ettikleri verileri İngilizlere aktarmışlardır (Arıhan, 2003).

Hipokrat uterus alanındaki problemler için bir çare olarak adaçayını kullanmıştır. Orta Çağ'da Hildegard Von Bingen ve Paracelsus gibi tanınmış şifacılar kolik, diş ağrısı, soğuk algınlığı veya ateş gibi çeşitli rahatsızlıklar için adaçayını kullanmıştır. Eski Mısır'da kadınların verimliliğini artırmak için kullanılmıştır. Yılan sokmaları ve kötü ruhların yok edilmesine karşı etkili olduğu düşünülmüştür.

Salvia L. bitkisi, Romalılar, Plinius, Dioscorides ve Galen'in eserlerinde de tanımlanmıştır. Eserlerinde *Salvia* L. bitkisini kasılmalar, öksürük, ses kısıklığı, doğum sancıları ve ülser için tavsiye etmişlerdir. Hangi adaçayı türünün kullanıldığı o dönem için bilinmemektedir (Wabner ve Beiner, 2012).

Hipokrat, adaçayının kanama ve menstürasyon üzerindeki olumlu etkileri için bir takım çalışmalar yapmıştır. Adaçayının eski Mısır'da mide rahatsızlıklarını, diş ağrısını ve astımı tedavi etmek için kullanıldığı muhtemeldir. Ebers Papirüs'ünde (M.Ö 1500) kaşıntı için kullanıldığı kayıt altına alınmıştır (Arıhan, 2003).

1555 yılında Hieronymus Bock: "Adaçayı, zengin ve yoksullar için mutfakta ve mahzenlerde kullanılan bir bitkidir. Direk adaçayı kullanılarak hazırlanmış şarap veya şarapta haşlanmış bitki, karın bölgesindeki ağrıyı hafifletir (genişlemiş dalak), karaciğeri ve rahmi ısıtır, duyuları hızlandırır ve kadın hastalıklarına yardımcı olur (adet kanaması). Aynı zamanda bitki soğuk algınlığı, grip ve romatizma tedavisinde yardımcı olur, kendi başına sarhoş edici etkisi yoktur. Bitki dizanteride bağırsakları temizlemek için kullanılabilir. Suda haşlanmış adaçayı, yaraları ve ısırıkları temizler ve iyileştirir, zehirli ısırıkların tedavisine yardımcı olur, kan akışını engeller ve kötü ülserleri temizler, kabukları iyileştirir. Dişleri taze adaçayı yapraklarıyla ovalamak onları sağlam ve temiz tutar. Şarapta haşlanarak gargara olarak kullanılan adaçayı boğaz ağrısını yatıştırır" şeklinde adaçayının önemini belirtmiştir (Hoffmann, 1991).

Güçlü kokulu bitkiler genellikle ritüel ve koruyucu amaçlar için kullanılmıştır. Adaçayı yüksek dereceli büyümlü bir bitki olarak kabul edilmiş ve sigara içenler tarafından kullanılan bir bitki olmuştur. Yaygın olarak bulunan adaçaylarının yanı sıra,

özellikle Meksika'da kutsal sayılan ve halüsinojenik özelliklere sahip olan *Salvia divinorum* bu amaçla kullanılmaktadır.

16. yüzyılda İtalya'da, göze giren yabancı cisimlerin çıkarılması için tohumun göz içine yerleştirildiği belgelenmiştir. Yabancı cisim tohumun mukusuna yapışmış ve böylelikle gözden kolaylıkla çıkarıldığı tecrübe edilmiştir. Ayrıca adaçayının sinir sistemi üzerindeki etkileri de o tarihte bilinmekteydi. Yakılan adaçayı yapraklarının kokusu kişilerde gevşeme sağladığı ve daha yüksek dozlarda öforik durumlara yol açtığı için yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Ayrıca bitkinin afrodizyak etkilerinin kuvvetli olduğu düşünülüp bu amaç içinde kullanıldığı kayıt altına alınmıştır (Daems, 1993).

Eskilere ait bir takım sözler bile adaçayının ne denli önemli olduğunu vurgulamaktadır. 13. yüzyıldan itibaren “Bahçesinde adaçayı yetişen bir adam nasıl ölebilir?” cümlesi kullanılmış, daha sonra bir şair “Adaçayını kim kullanırsa ölümü görmez.” demiştir. Tarih boyunca bilinen ve kullanılan en yaygın adaçayı türü *Salvia officinalis*'tir.

Latince “*Salvare*” fiili “kurtarmak, korumak” anlamına gelmektedir. En sık kullanılan bu adaçayının ismi ise iyileştiren, kurtaran bitki anlamındaki *Salvia salvatrix*'ten gelmektedir. Avrupa'da çok yaygın bir şekilde kullanılmaya başlayan *Salvia officinalis* türünün önemi 16. yüzyıldan sonra daha da artmış ve dönemin bitki bilimcileri tarafından büyük ilgi görmüştür (Kunzlé, 1947).

Eski tarihlerden beri kullanılan adaçayı İspanya ve Fas'ta da halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmış ve bitki bilimciler tarafından “salima” ya da “asphacus” gibi isimlerle güvenli olduğu vurgulanmıştır. Dioscorides, Leiden Üniversitesinin duvarına el yazısı ile Arapça adaçayı anlamına gelen “Ju'abah” yazısının yazdırmıştır. Adaçayının kanıtlanmış etkileri dönemin Fransız Kralı XIV. Louis tarafından da kabul edilmiş ve taze bitkiden hazırlanan çayı tüketmiştir. Reichenau adasındaki manastırdan Abbot Walahfrid Strabo'nun (838-849) “*Hortulus şiiiri*”nde *Salvia sclarea* ayrı bir bölümde “*Sclarega*” olarak geçmektedir.

Keşiş; taze, yemyeşil, geniş yapraklı, dik dallı çiçeklerinden oluşan bitkiyi gördüğü gibi tasvir etmiş ancak bitkinin iyileştirici gücünden bahsetmemiştir (Stoffler, 1978).

17. SCLAREGA

275 Hic umbrosa novos inter sclarega virores
Stipite praevalido assurgens, ramosque comasque
Altius extollit: quae quamvis rarius ulli
Quaesita auxilio medicorum paene putetur
Effugisse manus, dulci tamen indita caldae
280 Et vires et odorati fermenta saporis
Praestat, eam iuxta hortensis non extima costi
Silva latet stomachique moras ventremque salubri
Provocat auxilio radice munere coctae.

Görsel 1.1 *Walahfrid Strabo'nun Hortulus'u*

Hieronymus Bock (1539), adaçayını Dioscorides gibi tanımlamış ve mide şikayetlerinde, eklem şişliklerinde kullanmıştır. Afrodizyak etkisinin yanı sıra jinekolojik olarak yeni endikasyonlar eklemiş ve *Salvia sclarea*'yı infertilitede ve doğum eylemini uyarıcı/doğuma teşvik etmek amacıyla kullanmıştır (Dantz ve Uffenbach, 2017).

1688'de Augsburg'dan Paullini, adaçayı üzerine 414 sayfalık kapsamlı bir monograf yazmıştır.

1738'de Petrus Hotton'un "Thesaurus Phytologicus" yayınlanmıştır. Bu yayında *S. sclarea* bitkisini tanımlamış ve 1678'deki Verzascha gibi şarap ile karıştırıldığında büyük kasılmalara yol açtığını belirtmiştir. Yayında bahsedilen endikasyonların çoğu Hildegard Von Bingen'dekilere benzer: mideyi güçlendirme, antispazmotik, solunum yolundaki mukusa karşı kullanımının olduğu görülmektedir (Hotton, 2017).

Arnold de Villanova bir annenin şikayetlerini şöyle anlatmıştır: "Şarap ile birlikte kullanılan *S. sclarea* bitkisi doğumu teşvik etmiş ve doğum sonrasında aşırı kan akışını durdurmuştur. Bu bağlamda, H. Trago, Hieronymus Bock tarafından hazırlanan bitki kitabından alıntı yaparak, annelere doğum sonrasında temizlik için oturma banyosunu önermiştir. Hotton'a göre ise, *S. sclarea* kadınlardaki akıntılar ve infertilitede olduğu gibi menstrasyon döngüsünü düzenlemek için de kullanmıştır (Gruyter, 2014).

Philipp Lorenz Geiger 1839 yılında farmastik botanik üzerine yazdığı ders kitabında bitkiyi tanımlamış ve bileşenlerini listelemiştir. Bitkinin kullanımına dair açıklamalarda bulunan Geiger, bitkinin güçlendirici ve antispazmotik etkiye sahip olduğunu hem haricen hem de dahilen kullanılabileceğini açıklamıştır.

1868’de François-Joseph Cazin tarafından “Yerli tıbbi bitkiler üzerinde pratik ve mantıklı inceleme” adlı yayında *S. sclarea*’nın mide ve bağırsaklar üzerindeki antispazmodik ve dekonjestan etkilerden bahsetmiştir (Fournier, 1947).

Joseph Roques ise 19. yüzyılın sonuna doğru belgelenen kadın histeri ve infertilitede bir uygulama alanını ve yine tohumun İtalya’da oftalmolojide kullanımını açıklamıştır. Ancak bu sefer yabancı bir cisimi çıkarmak için değil, lens opaklığını tedavi etmek için kullanıldığını göstermiştir (Poletti, 1978).

20. yüzyılda da bitkiye ait bilgiler bulunmaktadır. Heinz A. Hoppe’nin 1951 yılında, *S. sclarea*’nın parfümeri endüstrisinde ve kozmetikte kullanılan bir uçucu yağ olduğunu ilk kez açıklamıştır. Paul-Victor Fournier’in 1947’deki “Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France” yayınında bitkinin uyarıcı, antispazmodik, emanagog (menstruasyon teşvik edici) etkilerinin yanı sıra antibakteriyel ve antiseptik özellikleri olduğunu da açıklamıştır. Fournier ayrıca baş ağrısı veya epilepsi için burun uygulaması olarak taze sıkılmış bitkinin suyu veya bitkinin toz haline getirilerek kullanılabileceğini açıklamıştır (Dantz ve Uffenbach, 2017).

Aldo Poletti 1978 yılında aşağıdaki açıklamayı yapmıştır: “*S. sclarea*, daha zayıf bir biçimde de olsa bir bilgenin tüm özelliklerine sahiptir. Mide üzerindeki uyarıcı ve tonik etkileri özellikle değerlidir ve ayrıca terlemeyi önleyici, antispazmodik ve emanagog bir etkiye sahiptir. Dışarıdan uygulandığında, bakterisidal ve yara iyileşmesi etkisine olumlu bir şekilde yardımcı olur ” (Poletti, 1978).

Özetle bakacak olursak bitki tarihte aşağıdaki endikasyonlarda kullanılmıştır:

- ✓ Şarap ve bira lezzetlendirmek için,
- ✓ Oftalmolojide gözdeki yabancı cisimleri çıkarmanın yanı sıra iltihaplanma durumlarında,
- ✓ Afrodisyak etkisinden dolayı jinekolojide,
- ✓ İnfertiliteye karşı,
- ✓ Adet regülasyonunu sağlamak, doğum ve kanamayı durdurmak için,
- ✓ Yaraları iyileştirmek,
- ✓ Antibakteriyel, antiseptik olarak,
- ✓ İltihaplı diş etlerini güçlendirmek,
- ✓ Vücuttaki ödemi uzaklaştırmak,
- ✓ Solunum sistemindeki mukusu uzaklaştırmak,

- ✓ Mide şikayetlerini hafifletmek
- ✓ Baş ağrısı, zehirlenme,
- ✓ Kalbi güçlendirmek,
- ✓ Epilepsi,
- ✓ Ter önleyici etki,
- ✓ Parfümeri ve kozmetik alanında,
- ✓ Tüberküloz hastaları için tonik olarak kullanımı kayıt altına alınmıştır.

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası bitkileri dünya üzerinde Amerika, Afrika, Asya kıtalarında geniş bir yayılım gösterdiği gibi Akdeniz Bölgesi'nde de fazla sayıda tür bulunmaktadır (Özhatay, 2000).

Ballıbaba familyası sıklıkla hoş kokulu ve aromatik bitkilerden oluşmaktadır. Bu özelliğinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayisinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Ceylan, 1987).

Salvia türleri Lamiaceae familyasına ait dünya üzerinde birçok yerde yayılım gösteren özellikle Akdeniz ikliminin ve tropik iklimin yaşandığı bölgelerde dağılım gösteren bir bitki türüdür (İpek, 2015). Altıncı en büyük angiosperm ailesi olan Lamiaceae, 245'ten fazla cins ve 7.886 tür içermekte ve dünya çapında dağılım göstermektedir. Türkiye'de 346'sı endemik olmak üzere 782 adet Lamiaceae taksonu bulunmaktadır (%44,2 endemizm oranı). Tür sayısına göre Türkiye'de 271'i endemik olmak üzere 603 Lamiaceae türü bulunmaktadır (%44,9 endemizm oranı). 19'u endemik olmak üzere 23 hibrit tür bulunmaktadır (%82 endemizm oranı). *Salvia* üzerinde yapılmış birçok araştırma sonucunda bu cinsin 945 tür sayısına sahip olduğu bilinmektedir (Celep ve Dimerci, 2017).

Orta ve Güney Amerika'da 500'e yakın türün, Batı Asya'da 200'e yakın türün ve Doğu Asya'da ise 100 yakın türün bulunduğu bilinmektedir (Walker, 2007). Anadolu toprakları *Salvia* için önemli bir çeşitlilik merkezidir ve Türkiye 58 tanesi endemik olmak üzere 107 *Salvia* türüne ev sahipliği yapmaktadır (Celep ve Dimerci, 2017).

Türkiye'de doğal olarak yetişen *Salvia fruticosa*, *Salvia cryptantha*, *Salvia multicaulis*, *S. sclarea* ve *Salvia tomentosa* türlerinin ticareti yapılmakta ve bu ihracat yıllara göre değişim göstermektedir (İpek ve Gürbüz, 2010). Türkiye'deki *Salvia* türlerinin %54'ü endemiktir. Bu türün ülke içindeki dağılımı ise 30 tür ile Ege ve Akdeniz Bölgesi, 65 tür ile İç Anadolu Bölgesi, Doğu Anadolu Bölgesi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi, 12 tür ile Karadeniz ve Marmara Bölgesi olarak belirlenmiştir (Celep

ve Dimerci, 2017). Tablo 1.1’de Türkiye sınırları içinde yer alan *Salvia* türleri coğrafi bölgeleri ile birlikte belirtilmiştir.

Yapılan bu çalışmanın esas konusu olan *S. sclarea* Türkiye’de Marmara Bölgesi, Doğu Karadeniz Bölgesi, Ege Bölgesi, Akdeniz Bölgesi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi, İç Anadolu Bölgesi, Doğu Anadolu Bölgesinde yayılış göstermektedir. Bu tür Türkiye’de var olan türler arasında endemik değildir.

Tablo 1.1 Türkiye'nin *Salvia* türleri ve buldukları coğrafi bölgeler

| SALVIA TÜRLERİ | Endemik | Coğrafi Bölge |
|---|---------|---------------|
| <i>Salvia adenocaulon</i> P. H. Davis. | + | A |
| <i>Salvia adenophylla</i> Hedge & Hub.- Mor. | + | A |
| <i>Salvia aethiopsis</i> L. | - | M-K-E-DA-A |
| <i>Salvia albimaculata</i> Hedge & Hub.- Mor. | + | A |
| <i>Salvia amplexicaulis</i> Lam | - | M |
| <i>Salvia anatolica</i> Hamzaoğlu & A. Duran | + | İA |
| <i>Salvia aramiensis</i> Rech.f. | - | E-A |
| <i>Salvia argentea</i> L. | - | DA |
| <i>Salvia aristata</i> Aucher ex. Benth. | - | DA |
| <i>Salvia atropatana</i> Bunge | - | GA |
| <i>Salvia aucheri</i> Benth. var. <i>aucheri</i> | + | A |
| <i>Salvia aytachii</i> Vural & N. Adıgüzel | + | K-İA |
| <i>Salvia ballsiana</i> (Rech.f.) Hedge | + | İA-GA |
| <i>Salvia blepharochlaena</i> Hedge & Hub.-Mor. | + | İA-A |
| <i>Salvia brachyantha</i> (Bordz.) Pobed. | - | K-DA-GA |
| <i>Salvia bracteata</i> Banks & Sol. | - | M-İA-A |
| <i>Salvia cadmica</i> Boiss. var. <i>cadmica</i> -var. <i>bozkiriensis</i> F.Celep & Dogan | + | K-E-A |
| <i>Salvia caespitosa</i> Montbr. & Auch. | + | K-İA-A |
| <i>Salvia candidissima</i> Vahl subsp. <i>Candidissima</i> - subsp. <i>occidentalis</i> Hedge | - | K-İA-A-GA |
| <i>Salvia cassia</i> G. Samuelsson ex Rech.f. | - | GA |
| <i>Salvia cedronella</i> Boiss. | + | E-A |
| <i>Salvia ceratophylla</i> L. | - | K-İA-A-GA |
| <i>Salvia cerino-pruinosa</i> Rech. var. <i>cerino-pruinosa</i> | + | DA |
| <i>Salvia chionantha</i> Boiss. | + | DA |
| <i>Salvia chrysophylla</i> Stapf | + | A |
| <i>Salvia cilicica</i> Boiss. & Kotschy | + | A |
| <i>Salvia cryptantha</i> Montbret & Aucher ex Bentham | + | İA-GA |
| <i>Salvia cyanescens</i> Boiss. & Bal. | + | K-İA-A |

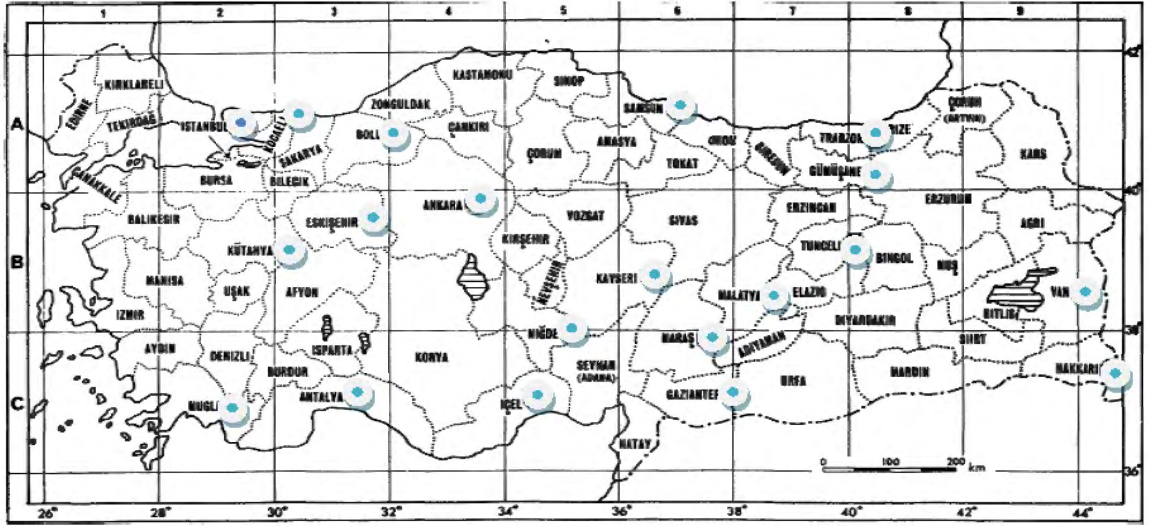
Tablo 1.1. (Devam) Türkiye'nin *Salvia* türleri ve buldukları coğrafi bölgeler

| | | |
|--|---|------------|
| <i>Salvia divaricata</i> Montbr. & Auch. | + | K-İA |
| <i>Salvia ekimiana</i> | + | İA |
| <i>Salvia eriophora</i> Boiss. & Kotschy ex Boiss. | + | GA |
| <i>Salvia euphratica</i> Montbr. & Auch. var. <i>euphratica</i> - var. <i>leiocalycina</i> (Rech.) Hedge | + | DA |
| <i>Salvia forskahlei</i> L. | - | DA |
| <i>Salvia freyniana</i> Bornm. | + | M-K |
| <i>Salvia frigida</i> Boiss. | + | İA |
| <i>Salvia fruticosa</i> Mill. | + | K-İA-DA-A |
| <i>Salvia glutinosa</i> L. | + | M-K-GA |
| <i>Salvia halophila</i> Hedge | + | İA-A |
| <i>Salvia haussknechtii</i> Boiss. | - | İA |
| <i>Salvia hedgeana</i> Dönmez | - | DA |
| <i>Salvia heldreichiana</i> Boiss. ex DC. | - | İA-A |
| <i>Salvia huberi</i> Hedge | + | K |
| <i>Salvia hydrangea</i> DC. ex Benth. | + | K-DA |
| <i>Salvia hypargeia</i> Fisch. & Mey. | + | K-İA-A |
| <i>Salvia indica</i> L. | + | GA |
| <i>Salvia kronenburgii</i> Rech.f. | + | DA |
| <i>Salvia kurdica</i> Boiss. & Hohen. ex Benth. | - | DA |
| <i>Salvia limbata</i> C.A.Mey. | + | K-DA |
| <i>Salvia longipedicellata</i> Hedge | - | DA |
| <i>Salvia macrochlamys</i> Boiss. & Kotschy ex Boiss. | - | DA |
| <i>Salvia macrosiphon</i> Boiss. | - | GA |
| <i>Salvia marashica</i> A. İlçim, F. Celep & Doğan | + | GA |
| <i>Salvia microstegia</i> Boiss. & Bal. | - | K-DA-İA |
| <i>Salvia modesta</i> Boiss | + | İA |
| <i>Salvia montbretii</i> Benth. | - | GA |
| <i>Salvia multicaulis</i> Vahl | - | K-İA-DA-GA |
| <i>Salvia napifolia</i> Jacq. | - | M-E-İA-A |
| <i>Salvia nemorosa</i> L. | - | K-DA-DA |
| <i>Salvia palestina</i> Benth. | - | M |

Tablo 1.1. (Devam) Türkiye'nin *Salvia* türleri ve buldukları coğrafi bölgeler

| | | |
|--|---|----------------|
| <i>Salvia pilifera</i> Montbr. & Auch. | + | DA |
| <i>Salvia pinnata</i> L. | - | M-E-A |
| <i>Salvia pisidica</i> Boiss. & Hohen. ex Benth. | + | E-A |
| <i>Salvia poculata</i> Nabelek | - | DA-GA |
| <i>Salvia pomifera</i> L. | - | E-A |
| <i>Salvia potentillifolia</i> Boiss. & Hohen. ex | + | A |
| <i>Salvia pseudeuphratica</i> Rech. | + | İA |
| <i>Salvia quezelii</i> Hedge & Afzal-Rafii | + | A |
| <i>Salvia recognita</i> Fisch. & Mey. | + | K-İA-A |
| <i>Salvia reeseana</i> Hedge & Hub.-Mor. | + | K |
| <i>Salvia rosifolia</i> Sm. | + | K-DA |
| <i>Salvia russellii</i> Benth. | - | M-İA-GA |
| <i>Salvia sclarea</i> L. | - | M-K-A-GA-DA-İA |
| <i>Salvia sericeo-tomentosa</i> Rech. f. var. <i>sericeo-tomentosa</i> -var. | + | GA |
| <i>hatayica</i> F. Celep & Doğan | | |
| <i>Salvia smyrnaea</i> Boiss. | + | GA |
| <i>Salvia spinosa</i> L. | - | E-A |
| <i>Salvia staminea</i> Montbr. & Auch. | - | K-A-DA |
| <i>Salvia suffruticosa</i> Montbr. & Auch. | - | K-İA-GA |
| <i>Salvia syriaca</i> L. | - | K-İA-A-GA |
| <i>Salvia tobeyi</i> Hedge | + | K |
| <i>Salvia tomentosa</i> Mill. | - | K-E-A |
| <i>Salvia trichoclada</i> Benth. | - | DA |
| <i>Salvia verbenaca</i> L. | - | M-K-E-A |
| <i>Salvia vermifolia</i> Hedge & Hub.-Mor. | + | İA |
| <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>verticillata</i> | - | K-DA |
| <i>Salvia virgata</i> Jacq. | - | M-K-İA-A-GA-DA |
| <i>Salvia viridis</i> L. | - | M-K-E-DA-A |
| <i>Salvia viscosa</i> Jacq. | - | M-K-E-İA-A |
| <i>Salvia wiedemannii</i> Boiss. | + | GA |
| <i>Salvia xanthocheila</i> Boiss. ex Benth. | - | K-İA |
| <i>Salvia yosgadensis</i> Freyn & Bornm. | + | DA |

** A-Akdeniz Bölgesi DA- Doğu Anadolu Bölgesi E- Ege Bölgesi GA- Güneydoğu Anadolu Bölgesi
İA-İç Anadolu Bölgesi K-Karadeniz Bölgesi M- Marmara Bölgesi



Görsel 1.2 *Salvia sclarea*'nın Türkiye'deki yayılışı (Aydoğan, 2006).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Özellikleri

S. sclarea, Lamiacea familyasına ait olan ve uçucu yağ ihtiva eden iki ya da daha az ömrü olan bitkidir. Kök 15-70 cm uzunluğunda kazık kök biçimindedir. Kökün üst kısmı kahverengi sert bir kabukla kaplıdır. Gövde kısmı 50-100 cm'ye kadar uzayabilmektedir. Gövde dik bir şekilde yukarıya doğru yükselir ve üst kısımlarına doğru dallanan bir yapıya sahiptir. Gövde net bir şekilde 4 köşelidir ve tüylü bir yapısı vardır. Bu tüyler bitkin sap kısmına gri-yeşil bir renk vermektedir. Yapraklar basit ve geniştir. Salgı bezleri hem alt epidermiste hem de üst epidermiste bulunmaktadır. Yaprığın orta kısmında tek bir damar vardır. Yaprak kenarları krenattır. Yaprak sapı 3-9 cm uzunluğundadır. Yaprak sapı üzerinde de salgı hücreleri bulunmaktadır. Çiçeklenme panikülat, çiçekler zigomorfik simetriktir. Çiçekler bitki üzerinde dikey olarak düzenlenir ve vertisillarlarda 2-6 çiçek bulunur. Pedisel 2-3 mm uzunluğundadır. Kaliksin üst dudağı tridentat, mukronat ve alt dudağı bidentattır. Kaliks çok sayıda salgı tüyüne sahiptir. Üst dudak leylak, alt dudak krem renklidir. Korolla 20-30 mm uzunluğundadır. Korolla tüpünün alt kısmı kare şeklindedir. Korolla'nın üst dudağında iki lobül vardır ve falkata şeklindedir. Filamant 10-15 mm uzunluğunda ve anter 2-4 mm uzunluğundadır. Stigma bifurkat ve 15-35 mm uzunluğundadır. Brakteler membranöz, ovat, akuminat ve leylak rengi renklidir ve 15-35 x 10-25 mm'dir. Stamenler B tipidir. Meyve türü nutlettir. Tohum açık kahverengi renkte ve trigonoz gibi yuvarlaktır. Türler 2000 m yükseklikte, kayalık, magmatik yamaçlar, karışık yaprak dökken ve iğne yapraklı ormanlık alanlarda ve tarla, yol kenarlarına dağılmıştır. Çiçek açma zamanı Haziran-Ağustos arasındadır (Özdemir ve Şenel, 1999).

2.2. *Salvia* Türleri İçin Genel Olarak Yapılmış Kimyasal Çalışmalar

Salvia L. türleri üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen bileşikler; fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler, fenilpropanoidler, naftakinonlar, antrakininler), terpenler, kateşik tanenler, sabit yağlar, amino asitler, proteinler, lektinler ve müsilağdan oluşmaktadır.

Bugüne kadar yapılmış çalışmalardan elde edilen veriler neticesinde *Salvia* türlerinin en önemli etken madde grubunu terpenler oluşturmaktadır. İkinci etkinliği yüksek grup ise flavonoidlerdir. Terpenlerin bu kadar önemli olmasının sebebi kullanım alanının çok yaygın olması özellikle parfümeri, kozmetik, kimyasal temizlik

ürünlerinde, tıpta ve farmasötik ürünlerin hazırlanmasında çokça tercih edilmesidir (Babacan vd., 2014).

Monoterpenler ve bazı seskiterpenler *Salvia* türlerinin genel olarak uçucu yağını oluşturmaktadır. Diterpenler yönünden zengin olan bu tür abietan, hipargenin, sklareol, salvigenolit, izotanşinon gibi etken bileşikleri içermektedir.

S. sclarea üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda en çok rastlanan terpen bileşikleri şu şekildedir;

Oksijensiz monoterpenler; Kamfen, limonen, mirsen, *cis* β -osimen, *trans* β -osimen, α -pinen, β -pinen, α -terpinolen, p-simen

Oksijenli monoterpenler; Geraniol, geraniol aseton, karvakrol, linalol, linalol oksit, nerol, 1,8-sineol, terpineol

Alifatik Alkoller; *cis*-3-hekzen-1-ol, 1-Okten-3-ol

Diterpenler; Sklareol

Seskiterpenler; β -burbonen, γ -elemen, germakren-D, α -humulen, karyofilen, kopaen, α -kubeben, ödesmol, paçulan, spatulenol

Esterler; Linalil asetat, geranil asetat, neril asetat (Aydoğan, 2006).

2.2.1. *S. sclarea* L.

Yaygın olarak misk adaçayı olarak bilinen *S. sclarea*, geniş geleneksel kullanımlara sahiptir. Son yıllarda birçok bitkinin iyileştirici gücüne büyük önem verilmektedir. Etnofarmakognozik çalışmalar, bitkilerin özelliklerinin ve fitoterapide uygulanabilirliklerinin değerlendirilmesine yöneliktir (Leung, 1989).

Son çalışmalar, bitki uçucu yağ fraksiyonlarının analjezik, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri, virolojik değerlendirmeler ve genotoksik özellikler ve bunların yağın kimyasal bileşimi ile ilişkisi olduğunu bildirmiştir. Özellikle ilgi çekici olan ise, bitkilerden elde edilen antioksidanlardır çünkü bu bileşikler oksidatif stresin neden olduğu kanser, kalp hastalıkları, yaşlanma gibi hastalıkların etkilerinin ortadan kalkmasını sağlamaktadır. Bu şekilde kullanımının büyük önem taşıdığı bitkilerden biri ise *Salvia sclarea*'dır. *Salvia* türünün en popüler bitkilerinden biri olan *S. sclarea* tıbbi ve kozmetik amaçla, beslenme sektöründe, temizlik endüstrisinde, bitkisel ilaç hammaddesi olarak, peyzaj gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Vincenzi ve Mancini, 1994).

Tarih boyunca çeşitli topluluklar tarafından hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. *S. sclarea* dünya üzerinde ekimi yapılan kıymetli bir aromatik bitkidir ve bitkiden elde edilen uçucu yağ ise “*Clary sage*” isimi ile tanınmaktadır. Bu isim Latince “*clarus*” kelimesinin “*clary*” olarak yıllar içinde değişmesi ile meydana gelmiştir. “*Clarus*” kelimesi Latince ‘parlak, aydınlık’ anlamına gelmektedir (Kutlu, 2015). Ülkemizde *S. sclarea* “misk adaçayı” “ayıkulağı”, “tüylü adaçayı” isimleri ile bilinmektedir (Doğanoğlu vd., 2006).

Misk adaçayı, salvinolon, salvipizon, asetilsalvipizon, sklerapinon ve sklareol gibi biyoaktif bileşiklere sahiptir. Ek olarak, *Salvia* türlerinin temel bileşeni salvianolik asittir. *S. sclarea* en yaygın *Salvia* türlerinden biridir (Ulubelen vd., 1997).

ABD’de, FDA *Salvia sclarea*’yı kullanım ve tüketim için güvenli kabul etmiş ve FEMA tarafından ise genel olarak güvenli olduğu belirtilerek baharat veya aromatik olarak kullanımını onaylamıştır (Boelens, 1997).

İsrail devleti 2006 yılından bu yana *S. sclarea*’nın kullanımını gıda endüstrisinde yaygınlaştırmıştır. Tara Milko Endüstrileri (İsrail’deki Coca Cola grubunun bir parçası) çocukların tükettiği çikolatalı sütlerin Omega-3 miktarını arttırmak için *S. sclarea*’dan elde edilen yağı kullanmışlardır. Yine İsrail gıda şirketlerinden olan Elit ve B&D, orijinal ürünlerini Omega-3 bakımından zenginleştirmek için *S. sclarea*’nın tohumlarından elde edilen yağı kullanmışlardır (Stark vd., 2004).

Bitki antispazmodik, balzamiktir ve mide sindirim güçlükleri için kullanılmıştır. İyi sonuçlarla böbrek hastalığının tedavisinde de kullanılmıştır. Tohumların müsilajı tümörlerde kullanılmıştır. Dikenleri ve kıymıkları çıkarmak ve iltihabı azaltmak için soğuk adaçayı ekstresi kullanılmıştır. Toz haline getirilmiş kökler baş ağrısını hafifletmek için enfiye olarak kullanılmıştır. Bu bitki yerel Jamaikalılar tarafından ülserlerin temizlenmesi için ve ayrıca göz iltihabının tedavisi için kullanılmıştır. Hindistan cevizi yağında kaynatılmış yaprakların akrep sokması için faydalı kabul edilmiştir (Grieve, 1984).

S. sclarea’dan elde edilen uçucu yağ, aromaterapide kullanımı nedeniyle artan ilgi görmektedir. Korku, paranoya ve sanrılar dahil olmak üzere anksiyete durumlarını hafifletmeye yardımcı olan beyin talamusu üzerinde hareket ettiği söylenmektedir (Kintzios, 2000). Hassas kişilerde öforik etkisi olan iyi bir rahatlatıcı yağ olarak kabul edilir ve uykusuzluğun tedavisine yardımcı olabilir (Hoffmann, 1991). Yağ ayrıca antidepresan, antiseptik, antispazmodik, büzücü, gaz giderici ve deodorant özellikleri

için kullanılmıştır. Toksik olmayan doğası nedeniyle, uçucu yağ gıda endüstrisinde bir koku bileşeni ve bir tatlandırıcı olarak kullanılmıştır (Tisserand, 2014).

Bitki türevleri önemli bir doğal ürün kaynağıdır ve çeşitli hastalıkların yeni tedavileri olarak kabul edilir. Çok çeşitli yapısal ve biyolojik özelliklere sahiptirler. Çeşitli ülkelerin geleneksel tıbbında önemli bir rol oynamışlardır. *S. sclarea* L., Türkiye’de yaklaşık 945 türe sahip ve 58 taksona endemik 107’e yakın türle temsil edilen Lamiaceae familyasının önemli bir cinsidir (Celep ve Dimerci, 2017). *S. sclarea* yerel olarak “Paskulak” olarak bilinir. Türkiye, dünyada *Salvia* türlerinin ihracatı ve kullanımı açısından önemli bir ülkedir. *Salvia* türleri tıpta bitki çayı olarak mide ağrıları, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı gibi en sık rastlanan hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Antiseptik, antibakteriyel, antibiyofilm, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antitümoral, sitotoksik, spazmolitik, antikonvülsan, antimikrobiyal ve gaz giderici aktiviteler göstermektedir (Tofana, 2016).

Günümüzde mikroorganizmalarda antibiyotik direncinin artmasıyla birlikte etkili alternatifler bulmak bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada *S. sclarea* L.’nin antimikrobiyal, antifungal aktiviteleri farklı biyolojik yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır.

2.2.1.1. *S. sclarea* uçucu yağları üzerinde yapılmış çalışmalar

Salvia cinsi, Lamiaceae familyasının en büyük cinslerinden biridir ve tüm dünyaya yayılmış 945’den fazla türle temsil edilmektedir (Celep ve Dimerci, 2017). *Salvia* cinsinin çok sayıda türü, parfümeri ve kozmetik alanında sıklıkla kullanılmaktadır (Senatore, 2006). *Salvia* eski zamanlardan beri halk hekimliğinde kullanılmaktadır (Lu ve Fo, 2002).

Biyolojik olarak aktif bileşikleri tanımlamaya yönelik kapsamlı farmakognozik araştırmalara tabii tutulmuştur. Geleneksel bitkisel tıpta bitki antispazmodik, gaz giderici ve östrojenik bir ajan olarak kullanılır. Aromaterapide stres, astım, sindirim ve adet problemlerinin tedavisinde etkili bir gevşetici olarak kullanıldığı ve ayrıca antiinflamatuvar, antitümoral, antitüberküloz ve genotoksik aktivitelere sahip olduğu bildirilmektedir (Verma, 2010). *Salvia* esansiyel yağlarının antimikrobiyal, antioksidan, antikolinestaz, bilişsel performansın ve ruh halinin iyileştirilmesi, işle ilgili stresin azaltılması, antimitojenik, antikanser, antiinflamatuvar gibi bir takım önemli aktiviteleri bulunmaktadır. *Salvia* uçucu yağlarının farmakolojik etkileri, monoterpen

hidrokarbonlar, oksijenli monoterpenler, seskiterpen hidrokarbonlar, diterpenler, izoprenoid bileşikler ve oksijenli seskiterpenler olarak kategorize edilebilen 100'den fazla aktif bileşiğin varlığına dayanmaktadır (Baytop, 1986).

Sharopov (2015) yılında yapmış olduğu çalışmada Almanya, Heidelberg'deki üç *Salvia* türünden elde edilen uçucu yağı, gaz-sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (GSK-KS) ile analiz etmiştir. *S. sclarea*'nın uçucu yağında linalil asetat (%36,3) ana bileşenler olarak bulunmuştur. Tablo 2.1'de *S. sclarea* türünün diğer türler ile karşılaştırılması görülmektedir. Sonuç olarak, *S. officinalis* ve *S. sclarea* uçucu yağlarının birbirine *S. discolor*'dan daha fazla benzediği görülmektedir (Sharopov, 2015).

Tablo 2.1. Üç *Salvia* türünün uçucu yağlarının kimyasal yapısı

| Bileşim | <i>S. discolor</i> (%) | <i>S. officinalis</i> (%) | <i>S. sclarea</i> (%) |
|--------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Linalol | 3,00 | 0,36 | 23,47 |
| α -Terpinol | - | 0,47 | 8,12 |
| Linalil asetat | - | 0,17 | 36,33 |
| Neril asetat | - | - | 1,05 |
| Geranil asetat | - | - | 2,30 |
| Spatulenol | - | 0,25 | 0,18 |
| Karyofilen oksit | 0,30 | - | 1,11 |
| α -Ödesmol | - | - | 1,22 |
| Manool | - | 0,71 | 1,01 |
| Sklareol | - | - | 14,62 |

Elnir (1991), *S. sclarea*'nın İsrail ve Rusya'daki türleri üzerinde bir çalışma yapmıştır. Çiçeklenmenin başladığı ve bittiği dönemlerde toplanan örnekler Clevenger cihazında distile edilerek GK ve GK-KS yöntemleriyle analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 2.2'de görülmektedir. İsrail'den toplanan *S. sclarea* geranial ve neral içermektedir. Çiçeklenmenin başlangıç döneminde geranial ve neral oranının miktarı %18,7 iken, çiçeklenmenin son döneminde geranial ve neral miktarı toplamda %30,7 olarak belirlenmiştir. Rusya'dan toplanan türde ise az miktarda geranial ve neral miktarda bulunmuştur. Bu türde linalol ve linalil asetat büyük bir miktarı kapsamaktadır (Elnir, 1991).

Tablo 2.2. İsrail ve Rusya'dan toplanan *S. sclarea* L.uçucu yağının kimyasal bileşimleri

| Bileşikler | Çiçeklenmenin | | Çiçeklenmenin | | Çiçeklenmenin | |
|------------------------------|---------------|--------|---------------|-----------|---------------|------------|
| | başlangıç | dönemi | son dönemi | başlangıç | dönemi | son dönemi |
| | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) |
| Mirsen | - | - | - | 1,0 | - | 1,4 |
| <i>trans</i> β -Osimen | - | - | - | 1,1 | - | 1,4 |
| Linalol | 0,9 | - | 1,7 | 23,6 | - | 31,0 |
| Linalil asetat | - | - | 0,6 | 44,6 | - | 34,4 |
| Neral | 7,5 | - | 11,3 | - | - | - |
| α -Terpineol | - | - | 0,3 | 8,2 | - | 9,9 |
| Germakren-D | 10,4 | - | 1,4 | 4,1 | - | 3,3 |
| Neril asetat | 1,6 | - | 3,0 | 2,1 | - | 2,4 |
| Geranial | 11,2 | - | 19,4 | - | - | - |
| Geranial asetat | 36,0 | - | 36,8 | 4,5 | - | 4,8 |
| Nerol | 5,2 | - | 7,4 | 1,5 | - | 1,9 |
| Geraniol | 24,5 | - | 15,7 | 4,4 | - | 5,5 |

Torres (1997), İspanya'dan toplamış olduğu *S. sclarea*'nin su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın, GK ve GK-KS yöntemi ile analiz etmiştir, sonuçlar Tablo 2.3'de gösterilmiştir. Yapılan araştırmada elde edilen uçucu yağın içindeki en yüksek etken bileşiklerin linalol (%32,9), α -terpineol (%5,6), linalil asetat (%16,85) ve germakren- D (%7,57) olduğu ortaya çıkmıştır (Torres, 1997).

Tablo 2.3. İspanyol kaynaklı *S. sclarea* yağının kimyasal bileşimi (%)

| Bileşikler | <i>S. sclarea</i> |
|---------------------|-------------------|
| Germakren-D | 7,57 |
| Valensen | 2,84 |
| Spatulenol | 0,12 |
| Mirsen | 1,61 |
| Geraniol | 1,12 |
| Linalil asetat | 16,85 |
| Geranil asetat | 1,62 |
| β -Karyofilen | 4,80 |
| Linalol | 32,97 |
| α -Terpineol | 5,63 |
| α -Kadinol | 1,10 |
| Bornil asetat | 1,11 |
| Sklareol | 0,45 |

Yunanistan’da yapılan bir çalışmada *S. sclarea*’nın toprak üstü kısımları distile edilerek elde edilen uçucu yağ GK ve GK-KS yöntemiyle analiz edilerek analiz sonucunda etken bileşikler belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 2.4’te görülmektedir. Elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri linalol, α -terpineol, linalil asetat, geraniol, geranil asetat, nerol, neril asetat ve sklareol olduğu görülmektedir (Souleles ve Argyriadou, 1997).

Tablo 2.4. Yunanistan kaynaklı *S. sclarea* uçucu yağının bileşimi (%)

| Bileşikler | % |
|-----------------------------|------|
| α -Terpineol | 15,1 |
| Geranil format | 1,25 |
| Geranial | 2,15 |
| Neril asetat | 5,2 |
| Geranil asetat | 7,5 |
| Nerol | 5,5 |
| Geraniol | 6,5 |
| Karyofilen oksit | 1,5 |
| Hidroksi linalol | 1,2 |
| <i>trans</i> -Linalol oksit | 1,1 |
| β -ödesmol | 1,5 |
| Linalol | 17,2 |
| Linalil asetat | 14,3 |
| β -Karyofilen | 1,2 |
| Neral | 1,5 |
| Sklareol | 5,2 |
| Manoil | 2,5 |
| Spatulenol | 0,2 |

Peana vd. (2012) İtalya’dan toplamış oldukları *S. sclarea* uçucu yağını GK-KS ve GK yöntemlerini kullanılarak etken bileşiklerini tayin etmişlerdir. Uçucu yağın α -terpineol, α -terpinil asetat’ın en yüksek düzeyde rastlanan etken bileşikler olmuştur. Analiz sonuçları Tablo 2.5’te gösterilmiştir (Peana vd., 2012).

Tablo 2.5. İtalya'daki *S. sclarea* uçucu yağının bileşimi (%)

| Bileşik | % |
|---------------------------|------|
| Linalol | 2,6 |
| α -Terpineol | 47,4 |
| Limonen | 1,0 |
| 1.8-sineol | 1,5 |
| Neril asetat | 2,1 |
| Geranil asetat | 1,3 |
| Germakren-D | 1,6 |
| α -Terpinil asetat | 22,1 |

Fransa'da yetişen *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. lavandulifolia* türlerinin çiçek ve yaprakları Clevenger cihazı ile distile edilerek, elde edilen uçucu yağlar GK-KS yöntemi ile analiz edilmiş ve elde edilen veriler Tablo 2.6'da gösterilmiştir (Foray, 1999).

Tablo 2.6. Fransa kaynaklı *Salvia* türlerinin kimyasal bileşimi (%)

| Bileşik | <i>S. officinalis</i> | <i>S. sclarea</i> | <i>S. lavandulifolia</i> |
|---------------------|-----------------------|-------------------|--------------------------|
| α -Pinen | 0,7 | - | 2,5 |
| Kamfen | 0,5 | - | 4,0 |
| β -Pinen | 1,0 | - | 1,2 |
| Limonen | 0,3 | - | 1,9 |
| 1,8-Sineol | 11,7 | - | 25,5 |
| Linalol | - | 10,7 | 0,5 |
| α -Tuyon | 65,5 | - | - |
| β -Tuyon | 15,4 | - | - |
| Kafur | 2,63 | - | 39,0 |
| Linalil asetat | - | 81,1 | 10,2 |
| β -Karyofilen | 1,4 | 1,0 | 1,1 |
| Germakren-D | - | 2,0 | - |

Hidrodistilasyon, aromatik bitkilerden uçucu yağ izolasyonu için ana yöntemdir. Kararsız uçucu yağlar için bu yöntem uygun değildir. İzole edilmiş uçucuların kalitatif ve kantitatif bileşiminde önemli farklılıklar bulunmuştur. Yapılan iki farklı yöntemde elde edilen sonuçların farklılığı Tablo 2.7'de belirtilmiştir. Ko-distilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağ, hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağdan farklı sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Mirsen ve linalil asetat oranlarında artış gözlenmiştir.

Linalol ve α -terpineol miktarı hidrodistilasyon yöntemi ile daha fazla olduğu görülmüştür (Jerković, 2003).

Tablo 2.7. Hidrodistilasyon ve ko-distilasyon yöntemi ile elde edilen *S. sclarea* uçucu yağının kimyasal bileşimi

| Etken Bileşikler | <i>Salvia sclarea</i> | |
|------------------------------|-----------------------|----------------|
| | Hidrodistilasyon | Ko-distilasyon |
| Mirsen | 8,4 | 10,20 |
| Limonen | 2,1 | 2,7 |
| <i>cis</i> - β -Osimen | 1,9 | 2,8 |
| α -Kopaen | 1,0 | - |
| Linalol | 16,6 | 6,0 |
| Linalil asetat | 21,2 | 33,4 |
| Kalaren | 1,0 | 1,3 |
| β -Karyofilen | 1,7 | 2,1 |
| α -Terpineol | 7,6 | - |
| β -Kubeben | 4,5 | 6,4 |
| Neril asetat | 4,1 | 3,4 |
| Geranil asetat | 7,3 | 6,7 |
| Nerol | 1,7 | - |
| Geraniol | 3,8 | - |
| β -Ödesmol | 1,0 | 0,9 |
| Tetradekanoil asit | - | 2,7 |

Lorenzo (2004), Uruguay'da yetişen misk adaçayının yetiştirilmeye uygunluğu açısından gerekli değerlendirmeleri yapmış ve tam çiçeklenme ve erken tohum olgunluk aşamalarında hasat edilen bitkinin çiçekleri ve yapraklarından elde edilen uçucu yağları, buhar distilasyonu ile elde ederek ve GK ve GK-KS ile analiz etmiştir. Analiz sonuçları Tablo 2.8'de belirtilmiştir (Lorenzo, 2004).

Tablo 2.8. Uruguay kaynaklı *S. sclarea* türünün farklı dönemlerde hasat edilmiş uçucu yağının kimyasal bileşimi (%)

| Bileşikler | 2000 | 2001 |
|---------------------|------|------|
| Mirsen | 1,6 | 1,4 |
| (<i>E</i>)-Osimen | 1,1 | 1,0 |
| Linalil asetat | 48,1 | 46,6 |
| Ylangen | 1,1 | 1,2 |
| Neril asetat | 1,2 | 1,1 |

Tablo 2.8. (Devam) Uruguay kaynaklı *S. sclarea* türünün farklı dönemlerde hasat edilmiş uçucu yağının kimyasal bileşimi (%)

| | | |
|--------------------------|-----|------|
| α -Kopaen | 1,1 | 1,8 |
| β -Burbonen | 2,5 | 2,5 |
| (E)- β -Karyofilen | 2,9 | 4,4 |
| Germakren-D | 8,2 | 11,8 |
| Bisiklogermakren | 1,0 | 1,1 |
| Sklareol | 1,3 | 1,1 |

Macaristan’da yapılan bir çalışmada buhar distilasyonu ile üretilen uçucu yağ ve bitkinin taze hasat edilmiş ince kesilmiş çiçekli tepelerinden süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağ GK ve GK/KS ile analiz edilmiştir. Damıtılmış yağda linalol, mirsen, *p*-simen, α -terpineol, neril asetat ve geranil asetat konsantrasyonu süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen yağdan daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağda sklareol bileşiğine rastlanmıştır. Sonuçlar Tablo 2.9’da belirtilmiştir (Ronyai, 1999).

Tablo 2.9. Buhar distilasyonu ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağ yüzdelerinin karşılaştırılması (%)

| Etken Bileşik | Buhar distilasyonu | Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu |
|--------------------------|--------------------|--------------------------------|
| | Uçucu Yağ(%) | Uçucu yağ(%) |
| Mirsen | 1,1 | 1,0 |
| <i>p</i> -simen | 1,5 | 0,1 |
| Linalol | 14,9 | 0,9 |
| α -Terpineol | 6,0 | - |
| Linalil asetat | 10,3 | 8,2 |
| Manoil oksit | 2,8 | 3,6 |
| 13-epi-manol | 5,7 | 3,2 |
| 13(16),14-labdedien-8-ol | - | 3,0 |
| Dokosan | 3,2 | 1,2 |
| Sklareol | - | 50,0 |
| Neril asetat | 2,7 | 0,2 |
| Trikosan | 4,0 | 2,7 |
| Geranil asetat | 5,5 | 0,5 |
| Tetrakosan | 4,7 | 2,5 |
| Heksatriakontan | 7,4 | 5,5 |

Sharopov ve Setzer (2012), yapmış olduğu çalışmada, Tacikistan'da yabancı olarak yetişen *S. sclarea* L.'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ, su distilasyonu ile elde edilmiş ve gaz kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir (Sharopov ve Setzer, 2012). Sonuçlar Tablo 2.10'da gösterilmiştir.

Tablo 2.10. Tacikistan'da *S. sclarea* bitkisinin uçucu yağ bileşimi (%)

| Bileşik | % |
|------------------|------|
| Linalol | 12,5 |
| Nerol | 1,1 |
| Linalil asetat | 39,2 |
| Sklareol | 1,2 |
| β -Kubeben | 0,6 |
| Neril asetat | 1,9 |
| α -Kopaen | 1,0 |
| Karyofilen | 2,4 |
| Germakren-D | 11,4 |
| Spatulenol | 0,2 |
| Bisiklogermakren | 1,2 |
| Geranil asetat | 3,5 |
| Karvakrol | 1,3 |

S. sclarea L. örnekleri Mayıs 2010'da çiçeklenme döneminde 1400 m rakımda, Ovacık (Tunceli-Türkiye) ve *Salvia verticillata* L. subsp. *verticillata* örnekleri Haziran 2009'da Baskil'de (Elazığ) 1380 m rakımda çiçeklenme döneminde toplanmıştır. GK ve GK-KS ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 2.11'de gösterilmiştir.

Türkiye'den toplanan iki *Salvia* türünün (*S. sclarea* ve *Salvia verticillata* L. subsp. *verticillata*) toprak üstü kısımlarının uçucu yağları sırasıyla %0,4 ve %0,3 yağ verimiyle hidrodistilasyonla elde edilmiştir. *S. sclarea*'nın ana bileşenleri spatulenol (%19), karyofilen oksit (%15,5), linolil asetat (%11,3) ve linalol (%8,5) iken, *S. verticillata* subsp. *verticillata* germakren-D (%13,8), spatulenol (%10) ve limonen (%4,5), 1,8-sineol (%4,5) olarak analiz edilmiştir. Ek olarak, spatulenol hem *S. sclarea* hem de *Salvia verticillata* subsp. *verticillata* iken, diğer ana bileşenlerde benzerlik görülmemiştir (Dogan vd., 2015).

Tablo 2.11. *S. sclarea* ve *Salvia verticillata* subsp. *verticillata* uçucu yağının bileşimi

| Etken bileşikler | <i>Salvia sclarea</i> | <i>Salvia verticillata</i> sups. <i>verticillata</i> |
|---------------------|-----------------------|--|
| β -Pinen | - | 2,8 |
| α -Terpinen | - | 1,3 |
| <i>p</i> -Simen | - | 1,1 |
| Limonen | - | 4,5 |
| Sabinen | - | 2,1 |
| 1,8-Sineol | - | 4,0 |
| Linalol | 8,5 | - |
| α -Terpineol | 4,5 | 0,4 |
| Linalil asetat | 11,3 | - |
| Lavandul izobutan | 1,5 | - |
| β -Karyofilen | 1,8 | 1,8 |
| Germakren-D | 0,7 | 13,8 |
| Bisiklogermakren | 0,5 | 3,3 |
| Spatulenol | 19,0 | 10,0 |
| Karyofilen oksit | 15,5 | 1,7 |
| α -Ödesmol | 2,2 | 1,7 |

Babacan vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada Tunceli, Munzur Vadisi'nden toplanan bitkinin uçucu yağ bileşimi değerlendirilmiştir. *S. sclarea*'nın toprak üstü kısımlarının uçucu yağı hidrodistilasyon ile elde edilmiştir ve GK ve GK-KS ile analiz edilmiştir. Bitkiye ait uçucu yağda en çok belirlenen bileşenleri, karyofilen oksit (%24,1), sklareol (%11,5), spatulenol (%11,4), 1H-nafto (2,1,6) pıran (%8,6) ve β -karyofilen (%5,1) olarak tayin edilmiş ve Tablo 2.12'de gösterilmiştir (Babacan vd., 2014).

Tablo 2.12. *Tunceli'den toplanan S. sclarea* uçucu yağının bileşimi

| Bileşikler | % |
|-----------------------------------|------|
| α -Kopaen | 4,0 |
| β -Elemen | 1,5 |
| β - Karyofilen | 5,1 |
| Germakren-D | 1,3 |
| 1H-sikloprop - ϵ -azulen | 1,0 |
| 1,5 epoksi salvia-4(14)en | 1,2 |
| Spatulenol | 11,4 |
| Karyofilen oksit | 24,1 |
| Salvia-4-(14) en-1one | 1,1 |

Tablo 2.12. (Devam) *Tunceli'den toplanan S. sclarea uçucu yağının bileşimi*

| | |
|------------------------|------|
| Ledol | 1,2 |
| Ylangen | 1,1 |
| γ -Selinen | 1,1 |
| Karyofilen II | 1,1 |
| Vulgarol-A | 1,2 |
| Sklareol | 11,5 |
| 1H-Nafto (2,1,6) piran | 8,6 |

Sepahvand vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada elde edilen uçucu yağ, gaz kromatografisi ile incelemiştir. Sonuçlar Tablo 2.13'te gösterilmiştir. Verilere göre *S. sclarea* uçucu yağının, esas olarak terpenoid olmayan, seskiterpen hidrokarbonlar, monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli seskiterpenlerin kompleks bir karışımı olduğu görülmüştür. Uçucu yağda en çok bulunan iki bileşen,%27,6 ile linalol ve %2,7 ile linalil asetat olarak belirlenmiştir. Ayrıca, uçucu yağında bulunan başlıca seskiterpen hidrokarbonlar sırasıyla %16,6, %10 ve %3,3 ile *trans*-karyofilen, germakren-D, bisiklogermakren, karyofilen oksit (%2,9) ve spatulenol (%1,6) olarak belirlenmiş (Sepahvand vd., 2014).

Tablo 2.13. *S. sclarea bitkisinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşimi*

| Bileşikler | % |
|--------------------------------|-------|
| <i>cis</i> -Osimen | 1,399 |
| β - <i>trans</i> -Osimen | 11,83 |
| 1-oktanol | 1,978 |
| Linalol | 27,6 |
| Linalil asetat | 2,667 |
| α -Kopaen | 1,504 |
| <i>trans</i> -Karyofilen | 16,58 |
| α -Humulen | 1,027 |
| Germakren-D | 9,989 |
| Bisiklogermakren | 3,312 |
| α -Farnesen | 1,133 |
| Spatulenol | 1,576 |
| Karyofilen oksit | 2,857 |
| Simen | 1,51 |
| Sklareol | 0,293 |

Raafat ve Habib (2018) yapmış olduğu çalışmada Beyrut ve Taanayel'den toplanan *S. sclarea*'nın fitokimyasal analizleri yapılmıştır. Beyrut'ta *S. sclarea*'nın fitokimyasal analizlerinde verim %1,35 iken, Taanayel'den toplanan bitkinin verimi %1,51 olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda, GK-KS yöntemi ile elde edilen bileşikler Tablo 2.14'te gösterilmiştir. Beyrut'tan toplanan bitkinin linalol açısından daha zengin olduğu fakat Taanayel'den toplanan bitkinin linalil asetat bakımından daha zengin olduğu görülmüştür (Raafat ve Habib, 2018).

Tablo 2.14. *Beyrut'tan ve Taanayel'den toplanan S. sclarea türünün uçucu yağ analizi*

| Bileşik | Beyrut | Taanayel |
|------------------|--------|----------|
| Mirsen | 3,0 | 0,63 |
| €-β-osimen | 1,90 | 0,18 |
| Linalol | 38,07 | 10,75 |
| α-Terpineol | 13,40 | 6,45 |
| Nerol | 2,07 | 1,00 |
| Geraniol | 5,67 | 4,40 |
| Linalil asetat | 1,00 | 35,28 |
| Neril asetat | 2,52 | 1,8 |
| Geranil asetat | 4,86 | 3,45 |
| α-Kopaen | 1,1 | 0,9 |
| β-Karyofilen | 1,00 | 2,26 |
| Germakren-D | 2,00 | 10,60 |
| Karyofilen oksit | 1,34 | 0,50 |
| Sklareol | 0,10 | 1,18 |

Dzamic'in (2008) yapmış olduğu çalışmada elde edilen uçucu yağın kimyasal analizinin sonuçları Tablo 2.15'de gösterilmiştir. Ana bileşenler linalil asetat (%52,83), linalol (%18,18), α-pinen (%4,57), 1,8-sineol (%2,29), limonen (%1,55), β-karyofilen (%1,83) ve β-terpineol (%1,19) olarak bulunmuştur (Dzamic, 2008).

Tablo 2.15. *S. sclarea L. uçucu yağının kimyasal bileşimi(%)*

| Bileşikler | % |
|------------|-------|
| α-Pinen | 4,57 |
| β-Mirsen | 1,01 |
| Limonen | 1,55 |
| 1,8-sineol | 2,29 |
| Linalol | 18,18 |

Tablo 2.15. (Devam) *S. sclarea L. uçucu yağının kimyasal bileşimi(%)*

| | |
|---------------------|-------|
| β -Terpineol | 1,19 |
| Linalil asetat | 52,83 |
| β -Karyofilen | 1,83 |
| Spatulenol | 0,13 |
| Sklareol | 0,06 |

2.2.2. Uçucu yağlar

Uçucu yağlar, genellikle aromatik özelliğe sahip bitkilerden distilasyon ve ya presleme (sıkma) yöntemiyle bitkilere ait kök, tohum, meyve, çiçek, yaprak, rizom gibi kısımları kullanılarak elde edilen kuvvetli, hoş kokulu, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, kolaylıkla kristalleşebilme özelliğine sahip, genellikle renksiz, filtre kağıdı üzerinde leke bırakmayan karmaşık bir yapıya sahip karışımdır (Baytop, 1986).

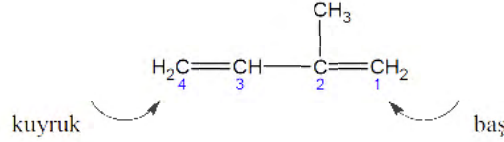
Uçucu yağlar, bitki ve hayvan türlerinin kokulu ve uçucu bileşenleridir. Kimyasal olarak oksijenli türevlerden ve hidrokarbonlardan türetilirler. Bitkinin tamamında veya ağaç kabuğu, yaprak, meyve, kök ve tohum gibi başka herhangi bir kısımda bulunurlar (Biren ve Sheth, 2010).

Karakteristik bir kokuları vardır ve çoğu optik olarak aktiftir. Kolayca oksitlenirler. Alkol, kloroform, eter, aseton ve heksanda çözümler ve suda çözünmezler. Terapötik olarak analjezik, gaz giderici, antihelmintik, antiseptik, anti-irritan gibi aktiviteler sergilerler. Sabun, kozmetik, tütsü çubukları, parfümeri ve gıda maddelerinde de kullanılırlar. Ayrıca pestisit ve böcek ilacı endüstrilerinde de önemli bir rol oynarlar (Arthur,1974).

Buldukları familyanın özelliklerine bağlı olarak uçucu yağlar salgı kanallarında, salgı ceplerinde ve salgı tüylerinde yer alırlar. Uçucu yağın bileşimi, elde edilen kısma, bitkinin türüne, hangi coğrafyada olduğuna, hangi iklimde yetiştiğine, yetiştirilme şekline bağlı olarak değişim göstermektedir (Vincenzi ve Mancini, 1994).

Kolay kristalleşebilme özelliğine sahip olan uçucu yağlar yapılarında terpenlerden ve bunların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Oksijensiz terpenoidler genel olarak uçucu özelliği yüksek olan ve düşük oda sıcaklığında bile sıvı bir formda bulunurlar (Tanker ve Tanker, 1998). Yapısal olarak izopren türevi olup, $(C_3H_8)_n$ ana formülü ile belirlenen terpenler, bitki dünyasında çok geniş bir yer tutmaktadır. Uçucu yağların etken bileşiklerinde bulunan C ve H içeren oksijensiz terpenlere hidrokarbür denmektedir. İçeriğinde oksijen barındıran terpenlere ise terpenoid ve ya izoterpenoid

denilmektedir. Bunlar en basit şekilde alkol, aldehit, ketonları oluşturmaktadır (Tanker ve Tanker, 1998). Terpenoidler bitkiler aleminde sekonder metabolit olarak üretilen bileşiklerin en büyük grubunu temsil etmektedir. Yaklaşık olarak 30.000 kadar terpen yapısı bilinmektedir.



Görsel 2.1. İzopren (2-metilbüta 1,3 dien) (Mammadov, 2014).

Terpenlerin yapıları izopren (2 metil 1-3 butadien) molekülünün baş-kuyruk şeklinde birleşmesi sonucu oluşmuştur. Bu kural ilk olarak “Leopold Ruzicka” tarafından gösterilmiştir (Baytop, 1986).

Uçucu yağlardan terpenler çıkarıldığında bunlara terpen içermeyen uçucu yağ denilmektedir. Uçucu yağlar aromaterapide antiseptik olarak, öksürük ve soğuk algınlığında, yatıştırıcı ajanlarda, cilt tahrişinde, cilt bakımında, yanıklarda, antihelmintik, kuvvetli sedatif, solunum ve sinüs problemlerinde, kas ve dokularda serinletici etki ve besinlerin sindirimine yardımcı olmak amacıyla kullanılmaktadır (Sharopov ve Setzer, 2012).

2.2.2.1. Uçucu yağların kimyasal yapısına göre sınıflandırılması

Doğal sınıflandırma sistemleri, tüm organlardan, dokulardan ve parçalardan gelen kanıtların analizine ve uyumlaştırılmasına dayalıdır. Dış morfolojik çalışmalar tek başına yeterli olmadığı için diğer çalışma dalları, bir taksonun sistematik durumunun ve soyuluşunun doğru değerlendirilmesinde önemli bir değere sahiptir.

Kemotaksonomi, bitkinin sınıflandırılması, kökeni hakkında önemli derecede katkı sağlamıştır. Bu alanın ilerlemesi ile birlikte kimyasal bileşiklerin tespiti için çok daha kapsamlı tekniklerin gelişmesinin önü açılmıştır (Kalia, 2018).

Neden kemotaksonomik sınıflandırmaya gidiyoruz?

- ✓ Bitkilerin kökenine göre sınıflandırılması ve botanikçiler arasında ortaya çıkan anlaşmazlıkların giderilmesi için,
- ✓ Bitkilerin ana etken bileşenlerinin ve yapılarının kayıt altına alınması için,
- ✓ Bitkideki etken bileşiklerin yüzdesi ile türün ve cinsin tespiti için,
- ✓ Biyosentezlerini anlamak için (Atal, 1982).

Tablo 2.16. Uçucu yağların izopren birim sayısına göre sınıflandırılması

| Izopren birimlerinin sayısı | Karbon Sayısı | İsim / Sınıf |
|-----------------------------|-----------------|--------------|
| 1 | C ₅ | Izopren |
| 2 | C ₁₀ | Monoterpen |
| 3 | C ₁₅ | Seskiterpen |
| 4 | C ₂₀ | Diterpen |
| 6 | C ₃₀ | Triterpen |
| 8 | C ₄₀ | Tetraterpen |
| N | C _n | Politerpen |

Çok çeşitli bitki maddeleri, tüm bu tür maddelerin ortak bir kökene sahip olduğunu belirtmek için kullanılan bir terim olan “terpenoid” kelimesiyle kapsamaktadır. Uçucu yağ bileşenlerinden uçucu monoterpenler ve seskiterpenlerden (C₁₀ ve C₁₅) daha az uçucu diterpenlere (C₂₀), uçucu triterpenoidlere ve sterollere (C₃₀) ve karotenoid pigmentlere (C₄₀) kadar çeşitlilik göstermektedir (Setia, 2008).

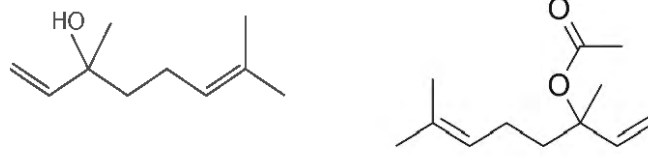
Monoterpenler, en çok bulunan hidrokarbonlardır. Yapılarında iki izopren molekülü bulunur. 140-180°C arasında kaynama noktası aralığına sahiptirler. Yapısında oksijen bulunduran monoterpenlere, monoterpenoid denilmektedir. Asiklik (örnek; Mirsen), monosiklik (örnek; *p*-simen) veya bisiklik (örnek; α -pinen) olabilirler. Bazen uçucu yağın % 90'ını oluştururlar (Badoc ve Lamarti, 2011).

Asiklik monoterpenler; 2,6-dimetikon yapısına sahiptirler. Oksijen içeren bileşikler farmakognozok olarak daha büyük bir öneme sahiptir. Bunlar primer alkol, ester ve aldehit yapıda olabilir. Oksijen bulundurmayan iki adet asiklik monoterpen bulunmaktadır, bunlar mirsen ve osimen'dir (Mammadov, 2014).

Linalol “C₁₀H₁₈O”, bitkilerin, yapraklarından, çiçeklerinden ve kabuklu kısımlarından elde edilen 200'den fazla yağda doğal olarak oluşan bir monoterpendir. İki çeşit linalol vardır: R (-) - linalol (lisareol) ve S (+) - linalol (coriandrol). Bu iki formun rasematına linalol denir. İki enantiyomerin dağılımı farklı bitkilerde değişiklik göstermektedir. Linalol, bitki hammaddelerinden su distilasyonu ve çözücü ekstraksiyonu ile elde edilir veya kimyasal sentezle üretilmektedir (Peana, 2002).

Linalol, linalil asetat içeren birçok bitki, inhalasyon yoluyla alındığında sakinleştirici, stres giderici ve rahatlatıcı etkileri nedeniyle fitoterapi ve aromaterapide hafif yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır (Elisabetsky vd., 1999). *S. sclarea* L. ve *Salvia desoleana* gibi bazı aromatik türlerin de linalol ve linalil asetat içeriklerine atfedilebilen

iyi anti-inflamatuar ve periferel analjezik aktivitelere sahip oldukları bildirilmiştir (Peana, 2002).



Şekil 2.1. Linalol ve Linalil asetat

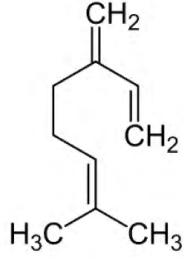
Monosiklik monoterpenler, esasen *p*-mentan iskeletini taşırlar. Bu bileşiklerde iki tane çift bağ bulunmaktadır. Monosiklik monoterpenlerin oksijenli türevleri; sekonder alkol, tersiyer alkol, keton gruplarını taşıyabilirler (Mammadov, 2014).

Bisiklik monoterpenler, $C_{10}H_{16}$ yapısına sahiplerdir ve yapılarında bir tane çift bağ bulundururlar. Oksijen bulunduran bileşikleri sekonder alkol, ester ve keton gruplarına sahiptir. Yapılarına aldıkları H_2 ile üç tane izomer meydana getirirler (Mammadov, 2014).

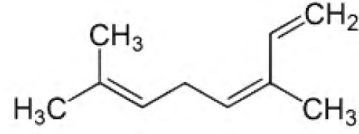
Seskiterpenler, bitkilerin uçucu yağlarının ortak bileşenleridir ve bu nedenle, bu uçucu fraksiyonlara atfedilen farmakolojik özelliklere katkıda bulurlar (Kılıç ve Çarıkçı, 2009). Bu serideki yapısal varyasyonlar, hidrokarbon alkoller ve ketonlar en önemlileri olan monoterpenlerdekiyle aynı niteliktedir. Günümüzde var olan uçucu yağların içinde 3000'e yakın seskiterpen bulunmaktadır. Monoterpenler gibi uçucu özelliğe sahip olan bileşikler daha yüksek kaynama noktasına sahiptirler. Günümüzde parfümeri sanayisinde fazlaca kullanılmaktadır (Allesandra, 2011).

2.2.2.2. *S. sclarea* uçucu yağındaki bazı kimyasal bileşimi

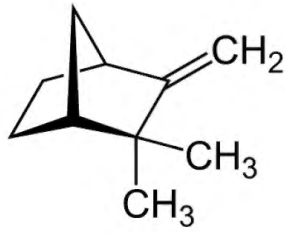
Oksijensiz monoterenler



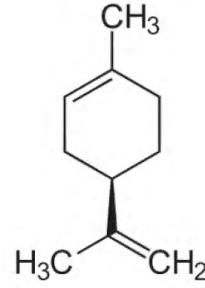
Şekil 2.2. *Mirsen*, $C_{10}H_{16}$



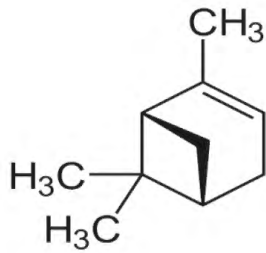
Şekil 2.3. *Osimen*, $C_{10}H_{16}$



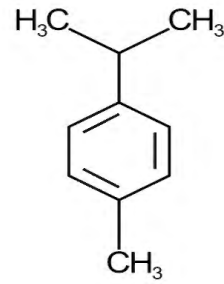
Şekil 2.4. *Kamfen*, $C_{10}H_{16}$



Şekil 2.5. *Limonen*, $C_{10}H_{16}$

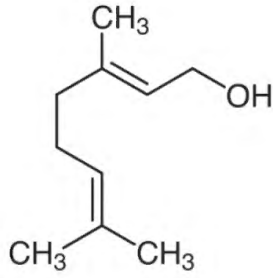


Şekil 2.6. *Pinen*, $C_{10}H_{16}$

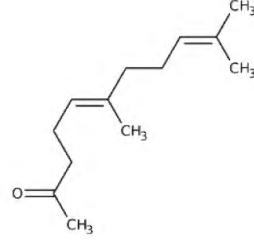


Şekil 2.7. *Simen*, $C_{10}H_{16}$

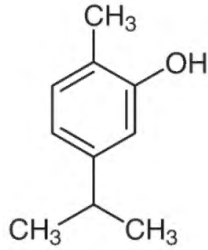
Oksijenli Monoterpenler



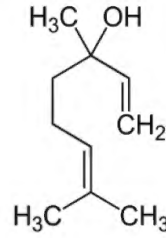
Şekil 2.8. Geraniol, $C_6H_{18}O$



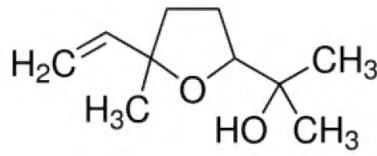
Şekil 2.9. Geranyl aseton, $C_6H_{18}O$



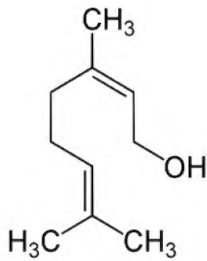
Şekil 2.10. Karvakrol, $C_6H_{18}O$



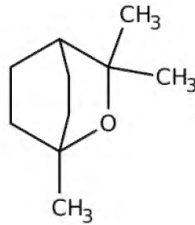
Şekil 2.11. Linalol, $C_6H_{18}O$



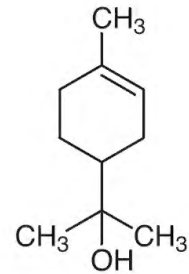
Şekil 2.12. Linalol oksit, $C_6H_{18}O$



Şekil 2.13. Nerol, $C_6H_{18}O$

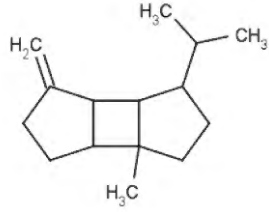


Şekil 2.14. 1,8-Sineol, $C_6H_{18}O$

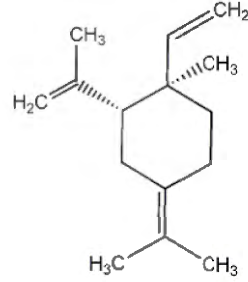


Şekil 2.15. Terpeneol, $C_6H_{18}O$

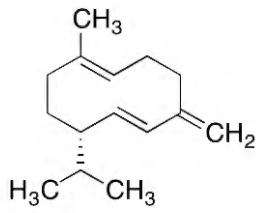
Seskiterpenler



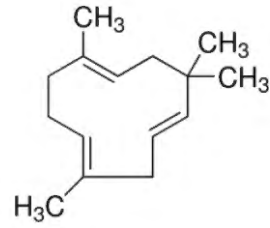
Şekil 2.16. β – Burbonen, $C_{15}H_{24}$



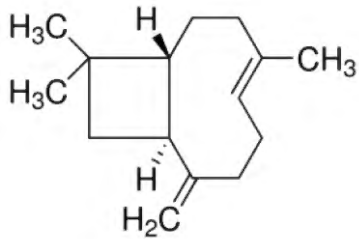
Şekil 2.17. Elemen, $C_{15}H_{24}$



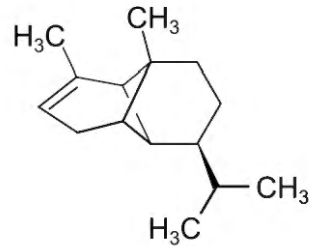
Şekil 2.18. *Germakren-D*, $C_{15}H_{24}$



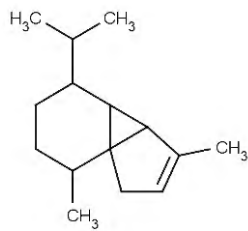
Şekil 2.19. α – Humulen, $C_{15}H_{24}$



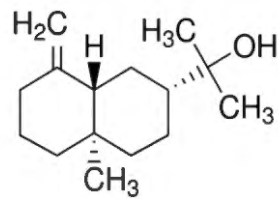
Şekil 2.20. *Karyofilen*, $C_{15}H_{24}$



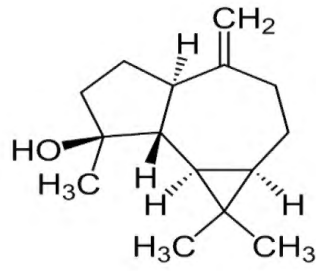
Şekil 2.21. *Kopaen*, $C_{15}H_{24}$



Şekil 2.22. α –Kubaben, $C_{15}H_{24}$

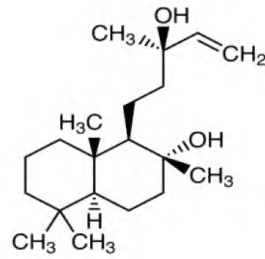


Şekil 2.23. *Ödesmol*, $C_{15}H_{24}O$



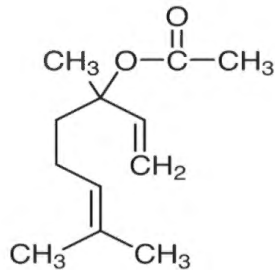
Şekil 2.24. *Spatulenol*, $C_{15}H_{24}O$

Diterpen

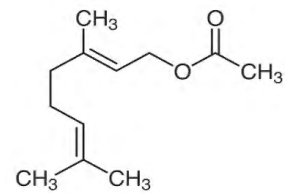


Şekil 2.25. *Sklareol*, $C_{20}H_{38}O_2$

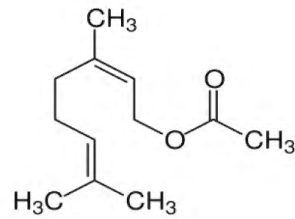
Esterler



Şekil 2.26. *Linalil asetat*, $C_{12}H_{20}O_2$



Şekil 2.27. *Geranil asetat*, $C_{12}H_{20}O_2$



Şekil 2.28. *Neril asetat*, $C_{12}H_{20}O_2$

2.3. *S. sclarea* Türünün Biyolojik Aktiviteleri

2.3.1. Antioksidan aktivite

Gıdaların oksidatif hasara karşı bozulmadan korunması, kalite ve raf ömrü açısından önemli bir amacı temsil etmektedir. Oksidatif hasarın türettiği ürünlerin, gıda üzerinde bozulmaya neden olması, güvenliği azalttığı ve kaliteyi düşürdüğü bilinmektedir. Hücre büyümesinin doğasında bulunan oksijen kullanımı bir dizi reaksiyonunun oluşumuna yol açmaktadır. ROS, süperoksit anyon radikalleri (O_2^-) ve hidroksil radikalleri ($-OH$) gibi moleküllerdir (Gülçin, Büyükokuroğlu ve Oktay, 2003). Bu istenmeyen etkileri sınırlandırmak için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Her iki oksijen türü de enerji üretimi, fagositoz, hücre büyümesi, hücreler arası sinyalleme düzenlenmesi ve biyolojik olarak önemli bileşiklerin sentezinde olumlu bir rol oynamaktadır (Valento, 2002). Oksijen giderme ve soğutma gibi fiziksel işlemlerin yanı sıra, bu oksidasyon işlemlerinin oranlarını düşüren maddelerin kullanımı çok önemli bir rol oynar (Vichi, 2001). Butillenmiş hidroksianisol (BHA) ve butillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi sentetik antioksidanlar çok etkilidir, ancak mutajenik aktiviteye sahip olabilirler (Namiki, 1990). ROS ayrıca çok zarar verici olabilir; hücre zarlarının ve DNA'nın lipidlerine saldırabilirler. ROS tarafından indüklenen oksidasyon, hücre membranının parçalanmasına, membran protein hasarına ve DNA mutasyonuna neden olabilir, bu da birçok hastalığın gelişimini daha da hızlandırabilir. Sonuç olarak, zar lipidlerinin peroksidasyonunu kolayca başlatabilirler. ROS, normal fizyolojik olaylar sırasında sürekli olarak üretilir ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından uzaklaştırılır. Antioksidanlar, aşağıdaki mekanizmalarla hareket edebilirler.

1. Serbest oksijen konsantrasyonlarının azaltılması;
2. Serbest radikalleri temizleyerek zincir başlamasını önleyerek;
3. Radikal oluşumunun başlamasını önlemek için metal iyonları gibi bağlayıcı katalizör görevi görerek,
4. Aktif radikaller tarafından devam eden hidrojen absorpsiyonunu önleyerek (Dorman ve vd., 2003).

Son yıllarda baharat ekstraktları, antioksidan etkinliklerinden dolayı gıda endüstrisinin kullanımı için piyasaya çıkmıştır. Bu bileşiklerin bazılarının antioksidan kapasitesinin, sentetik antioksidanlarıkiyle karşılaştırılmış ve bazen daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır (Cuvelier, 2010). Butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş

hidroksitoluen (BHT), propil galat (PG) ve tertbutilhidrokinon (TBH) gibi sentetik antioksidanlar, piyasaya sürüldüklerinden beri yaygın olarak kullanılmışlardır. Bu etkisinden dolayı yıllardır gıdalarda antioksidan olarak kullanılmaktadırlar. Bununla birlikte, BHT ve BHA'nın yüksek uçuculuk ve yüksek sıcaklıklarda istikrarsızlık gibi bazı fiziksel özellikleri, sentetik gıda katkı maddelerinin kullanımına ilişkin katı mevzuat ve tüketici tercihleri, üreticilerin dikkatini sentetikten doğal antioksidanlara kaydırmıştır (Porter, 1980). Tüketiciler, kimyasal kökenli koruyucularla hazırlanan gıdalardan giderek daha fazla kaçınmaktadır ve bu nedenle, gıdaların yeterince uzun bir raf ömrüne ve gıda kaynaklı patojenik mikroorganizmalara göre yüksek derecede güvenliğe ulaşmak için doğal alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır (Rauha, 2000). Doğal antioksidanlar, hastalıkların önlenmesinde faydalı ajanlar olarak kabul edilmektedir. Serbest radikallerin rolü, birçok insan hastalığının patogeneğinde giderek daha fazla tanınmaktadır. Tüm organizmalar, oksidatif enzimler veya α - tokoferol, askorbik asit, karotenoidler, polifenoller ve glutasyon gibi kimyasallarla serbest radikal hasarına karşı korunmaktadır. Bu nedenle, beslenmede antioksidan alımını artırmak, bu tür oksidatif hasarı en aza indirmenin önemli bir yoludur (Gülçin, 2000).

Özellikle Lamiaceae familyası, antioksidan özellikleriyle iyi bilinen çok sayıda bitki içermektedir. Bunların arasında *Salvia* türleri yaygın olarak kullanılmış ve antioksidan bileşenlerinin çoğu günümüzde tanımlanmıştır. *Salvia* türleri genellikle antibakteriyel, antiviral, antioksidatif, antidiyabetik, kardiyovasküler, antitümör ve antikanser gibi çoklu farmakolojik etkileriyle bilinir (Loizzo, 2007). Antioksidan etkilerin esas olarak fenolik bileşiklerden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Das, Pereira 1990). Adaçayı ekstraktlarında tanımlanan başlıca fenolik bileşikler, rosmarinik asit, karnosik asit, salvianolik asit ve bunların türevleri karnosol, rosmanol, epirosmanol, rosmadial ve metil karnosattır (Lu ve Fo, 2001). Lamiaceae familyasının en geniş türü *Salvia* bitkisel çay olarak ve gıda aroması için olduğu kadar kozmetik, parfümeri ve ilaç endüstrilerinde de kullanılmaktadır (Chalchat, 1998).

Babacan vd. (2014) yapmış olduğu çalışma sonucunda Tunceli'den toplanan *S. sclarea*'nın toplam antioksidan kapasitesini test etmek için, bitkinin etanollü ekstresi, değerlendirilen tüm örnekler arasında en yüksek toplam antioksidan etkinliği göstermiştir (Babacan vd., 2014).

Adaçayı ekstraktlarında tanımlanan başlıca fenolik bileşikler, rosmarinik asit, karnosik asit, salvianolik asit ve bunların türevleri olan karnosol, rosmanol,

epirosmanol, rosmadial ve metil karnosattır. Aromatik halka üzerinde orto dihidroksil gruplarına sahip olan karnosol ve karnosik asit, iyi peroksil ve hidroksil radikalleri süpürücü aktivitelere sahiptir. Hidroksil radikallerinin oluşumunu inhibe ederler ve metalleri şelatlaştırırlar ancak sadece karnosik asitin H₂O₂'yi temizlediği görülmektedir. Lu'ya göre salvianolik asit, DPPH* ve süperoksit anyon radikallerini temizleme kapasitesine sahip olduğunu vurgulamaktadır (Lu ve Fo, 2001).

Gülçin (2004), yapmış olduğu çalışmada, bitkinin aseton ve kloroform ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri tiyosiyanat yöntemleriyle belirlenmiştir. İnkübasyon sırasında linoleik asit emülsiyonunda oluşan peroksit miktarları, 500 nm'de absorbans ölçülerek spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Her iki ekstrakt da lipid peroksidasyonuna karşı etkili inhibitör aktivite seviyeleri göstermiştir. Bu ekstraktların antioksidan aktivitesi, α -tokoferolden daha yüksek bulunmuştur. Bitki ekstraktlarının numuneleri ile hiçbir ekstrakt numunesinin bulunmadığı kontrol arasında önemli bir fark görülmüştür. *S. sclarea*'nın kloroform ekstresi, aseton ekstresinden daha güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. *S. sclarea* ve tokoferolün kloroform ve aseton ekstraktlarının peroksidasyonundaki inhibisyon yüzdesi şu sırayı takip etmiştir: *Salvia sclarea*'nın kloroform ekstresi > *Salvia sclarea*'nın aseton ekstresi > α -tokoferol (Gülçin, 2004).

İndirgeyici yeteneğin ölçülmesi için, Oyaizu yöntemini (1986) kullanarak bitki ekstraktları ve standart antioksidanlar, α -Tokoferol, Quercetin ve BHA örneklerinin varlığında Fe⁺³/Fe⁺² dönüşümünü araştırılmış ve antioksidan aktivite ile ilişkilendirilmiştir. Deneyde kloroform ve aseton ekstraktları istatistiksel olarak benzer indirgeme yeteneklerine sahip olduğu görülmüş fakat hem ekstraktlar hem de kontrol arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Gülçin, 2004).

Tulukçu (2009), yapmış olduğu bir çalışmada Konya'dan toplanan misk adaçayının metanolik ekstraktının *in vitro* ortamda antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri üzerindeki mevsimsel değişimin etkisini incelenmiştir. Sonuçlar, gün ortasında toplanan bitki ekstraktlarının daha yüksek seviyelerde fenolik içerik içerdiğini ve günün diğer saatlerinde toplanan bitkilere kıyasla daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. 2005 ve 2006 yıllarında toplanan bitkilerin metanolik ekstraktları arasında fenolik içerik ve antioksidan aktiviteleri açısından fark bulunmamıştır (Tulukçu, 2009).

Tofana (2016), yapmış olduğu çalışmada, *Salvia sclarea*, *Salvia lavandulifolia*, *Salvia officinalis* ‘Purpurascens’, *Salvia officinalis* ‘Tricolor’ ve *Salvia officinalis* ‘Icterina’dan maserasyon ile elde edilen metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Antioksidan kapasite, DPPH (1,1-difenil-2 pikrilhidrazil) radikal yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, incelenen *Salvia* türlerinin yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve iyi bir doğal antioksidan kaynağı olarak kabul edilebileceği gözlemlenmiştir. *Salvia officinalis* ‘Tricolor’, en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir (Tofana, 2016).

Sepahvand vd.(2014) yapmış olduğu çalışmada, *S. sclarea*’nın antioksidan kapasitesi, bilinen bir antioksidan olarak BHT'nin aktivitesi ile karşılaştırılarak DPPH radikal süpürme yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bitki uçucu yağının antioksidan kapasitesi, kullanılan sentetik antioksidandan daha yüksek çıkmıştır. Bu nedenle, *S. sclarea* uçucu yağının antioksidan özellikleri, yiyeceklerin korunmasında ve ayrıca Alzheimer bozuklukları gibi önemli ve yaygın nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere birçok hastalığın patofizyolojisi ile ilişkili oksidatif hasarın önlenmesinde yararlı bir rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Sepahvand vd., 2014).

2.3.2. Antimikrobiyal etkinlik

Gıda endüstrisinin gelişmesi, beraberinde bir takım sağlık sorunlarını ortaya çıkarmış, gıda kaynaklı hastalıkların artış göstermesi ile birlikte bağışıklık sistemi düşük kişileri, kronik hastalığı olan insanları olumsuz anlamda etkilenmesine neden olmuştur (Şengün ve Öztürk, 2018). Dünya sağlık örgütü yapmış olduğu çalışmada her yıl 600 milyon kişinin temiz ve doğru olmayan gıdaları tüketmesiyle hasta olduğunu ve yarım milyona yakın insanın ise bu sebepten hayatını kaybettiğini açıklamış ve gıda kaynaklı ölümlerin % 30’luk kısmını 5 yaş ve altındaki çocukların oluşturduğunu bildirmiştir (Dayı ve Beyhan, 2020). Artan nüfus ile tüketilerin besinlerin artması ile raf ömrünü uzatmak, patojen bakterilerin üremesini engellemek amacıyla, kimyasal sentetik ya da yarı sentetik, maddelerin kullanılması yaygınlaşmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda sentetik maddelerin yerini doğal antimikrobiyaller almış ve bu bileşenleri içeren ürünlerin kullanımında ciddi bir artış gözlenmiştir (Cesoniene, 2014).

Baharatlar ve uçucu yağlar gıda endüstrisi tarafından gıdaların raf ömrünü uzatmak için doğal ajanlar olarak kullanılmaktadır. Patojenik bakterileri azaltmak veya ortadan kaldırmak ve gıda ürünlerinin genel kalitesini artırmak için çeşitli bitki ve

baharat bazlı antimikrobiyaller kullanılmıştır. Bitki kökenli antimikrobiyaller, çiçek, tomurcuk, tohum, yaprak, dal, ağaç kabuğu, meyve ve bitki köklerinden elde edilen aromatik ve uçucu yağlardır. Bunlardan bazıları kekik, karanfil, tarçın, sarımsak, kişniş, biberiye, limon otu, adaçayı ve vanilindeki bileşenler gibi antimikrobiyal etkiye sahiptir. Zencefil, karabiber, kırmızı biber, kimyon ve köri tozu gibi diğer baharatlar daha düşük antimikrobiyal özellikler göstermiştir (Holley ve Patel, 2005).

Bitkilere ait uçucu yağlardan türetilen doğal antimikrobiyal ajanlar, gıda muhafazasında yüzyıllardır tanınmakta ve kullanılmaktadır. Uçucu yağlar ve baharatlar ilk Mısırlılar tarafından kullanılmış ve daha sonra yüzyıllar boyunca Çin ve Hindistan gibi Asya ülkelerinde kullanılmaya devam etmiştir. Hindistan'da karanfil, tarçın, hardal, sarımsak, zencefil ve nane gibi baharatların bir kısmı hala alternatif sağlık ilaçları olarak uygulanmaktadır. Uçucu yağ üretimi, Arabistan'da 9. yüzyılda ortaya çıkan daha modern teknolojilerin başlamasıyla, 2000 yılı aşkın bir süredir Uzak Doğu'ya kadar etkilerini götürmüştür.

Bununla birlikte, bu süre zarfında, uçucu yağların tıbbi uygulamaları, lezzet ve aroma kullanımlarının yanında yerini almayı başarmıştır (Burt, 2004).

Baharatların çoğu doğu kökenlidir; ancak bazıları gıda aroması ve tıbbi amaçlar için kullanılan kırmızı biber, tatlı biber, yenibahar ve vanilya gibi baharatlar yeni dünyanın keşfedilmesinden sonra tanınmıştır (Schelz vd., 2006). Ticari olarak üretilen bitki kökenli antimikrobiyaller en yaygın olarak buhar distilasyonu ve su distilasyonu yöntemleriyle elde edilir. Uçucu yağ bileşenlerinin biyomühendisliği ayrıca daha fazla ticari ürün sağlamaktadır (Burt, 2004). Kekik, biberiye, adaçayı, fesleğen, zerdeçal, zencefil, sarımsak, hindistan cevizi, karanfil, rezene gibi yenilebilir, tıbbi bitkiler ve baharatlar tek başına veya diğer koruma yöntemleriyle birlikte başarıyla kullanılmaktadır (Schelz vd., 2006).

Bitki ekstraktları ve baharatları, tat ve aromaya katkıda bulunmanın yanı sıra mikroorganizmalar üzerinde de etkinliği kanıtlanmıştır. Gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak için veya çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal ajan olarak doğrudan veya dolaylı etkiler göstermektedirler. Örneğin; *Listeria monocytogenes* gibi Gram pozitif patojenlere karşı da etkili olması, tarçın yağının şarbon basilinin sporlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermesine dair ilk bilimsel çalışmalar 1880'de yapılmıştır. 1910'larda yapılan çalışmalarda tarçın ve hardalın elma püresinde koruyucu etkinliği olduğu görülmüştür. Yine bu dönemlerde yenibahar, defne

yaprağı, kimyon, kişniş, kekik, biberiye adaçayı gibi baharatların bakteriostatik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Kwon vd., 2008).

Küçük vd.(2019) yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea*'nın metanollü ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. *S. sclarea* ekstraktının MİK değerleri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Bacillus subtilis* NRRL B478, *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Enterococcus faecalis* kullanılarak belirlenmiştir. Tüm MİK değerleri *Enterococcus faecalis* ATCC 51299'un diğer test mikroorganizmalarından daha dirençli olduğunu göstermiştir (Küçük, Soyer ve Tunalı, 2019).

Sepahvan vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada bitkinin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Mikroorganizma panelinde *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853, *Proteus vulgaris* ATTC 8427, *Klebsiella pneumoniae* ATTC 500706 ve *Listeria monocytogenes* ATTC 1298, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Candida albicans* test edilmiştir. MİK ve MBK, mikro sıvı seyreltme yöntemine göre hesaplanmıştır. Tüm bakteriler Pastor Enstitüsü'nden (Tahran, İran) alınarak teste tabii tutulmuştur (Sepahvand vd., 2014).

S. sclarea'nın toprak üstü kısımlarının uçucu yağı antimikrobiyal aktivitesi açısından taranmıştır. Uçucu yağ, *P. aeruginosa* dışında test edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Uçucu yağın hemen hemen tüm hassas mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivitesi, yüksek konsantrasyonda monoterpen varlığına bağlanmaktadır. Bu *in vitro* çalışma, bitkinin uçucu yağının etkili antibakterisidal etkisini açıkça ortaya koymuş ve bu doğal, hoş ve çevre dostu ürünün yiyecek ve suda koruyucu olarak serbestçe kullanılmasını destekleyecek nitelikte bir çalışma olduğunu ortaya koymuştur (Sepahvand vd., 2014).

2.3.3. Antifungal etkinlik

Antifungallerin toksisite, aktivite spektrumu, güvenlik ve farmakokinetik özellikler açısından çeşitli dezavantajları vardır. Mevcut antifungal ajanlara dirençli suşların ortaya çıkışı, fungal proteinlerin, lipidlerin ve hücre duvarının biyosentezini hedefleyen farklı etki mekanizmalarına sahip yeni ilaçlar geliştirilmeye çalışılmıştır (Perfect, 2016).

Uçucu yağlar, fungal inhibisyon için en umut verici doğal ürünlerden birini temsil etmektedir. Aslında, farklı bitkilerden elde edilen birçok uçucu yağ, yoğun antifungal özellik sergilemiştir (Hu, 2007).

Antimikrobiyal özellikleri nedeniyle birçok uçucu yağ, mikrobiyal bozulmanın kontrolü, gıda kalitesi ve güvenliğinin korunması ve raf ömürlerinin uzatılması için kullanılmaktadır (Fratianni, 2010).

Uçucu yağlar, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından “Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan” (GRAS) olarak sınıflandırılır, bu nedenle zararlı değildir ve doğal kökenleri nedeniyle tüketiciler tarafından “sentetik” ajanlardan daha fazla kabul görmektedir (Edris, 2007). Uçucu yağın antimikrobiyal veya antifungal aktivitesi, yüksek lipofilik yapıları ve düşük moleküler ağırlıkları nedeniyle hücre zarını bozabilen, hücre ölümüne neden olan veya gıda bozulmasından sorumlu olan üremeyi engelleyen terpenlerin/terpenoidlerin özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Wu, 2008).

Birçok çalışma, *Salvia* türlerinin antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Yıldırım ve arkadaşları etanol, metanol, hekzan ve sulu adaçayı (*Salvia* sp) ekstralarının patojen mantar *E. nigrum*'a karşı olduğunu araştırmaları sonucunda göstermişlerdir (Yıldırım vd., 2010). Çalışma sonucunda, *S. sclarea*'nın etanolik yaprak ekstraktı ile değiştirilen SDA (Sabouraud dekstroz agar) ortamında *E. nigrum*'un miselyal büyümesinin oldukça önemli yüzde inhibisyonunun gözlemlendiğini ve en düşük aktivitenin bitkinin sulu ekstraktında gözlemlendiğini ortaya koymuştur (Babacan vd.,2014).

Küçük vd. (2019) yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea*'nın metanollü ekstresinin antifungal etkinliği incelenmiştir. Çalışmada *Candida albicans* ATCC 90028 ve *Candida krusei* ATCC 6258 için 750 µg/mL belirlenmiştir. Sonuçlara göre *S. sclarea* bitki ekstraktı maya suçlarına karşı öldürücü etki göstermiştir (Küçük vd., 2019).

Dzamic (2008), yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea* uçucu yağının 18 mikromiset ve *Candida albicans* mayası üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Elde edilen minimum intibe edici (MIK) ve minimum fungisidal konsantrasyonları (MFK) kayıt altına alınmıştır. Mikrodilüsyon yöntemine dayalı olan testlerde, uçucu yağ 2,5-25 µl/ml konsantrasyon ile fungisidal özellik sergilemiştir. 25 µl/ml'lik bir konsantrasyon'da *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* türleri ile *Trichoderma viride* karşı fungisidal aktivite göstermiştir. Çalışma sonucunda uçucu yağın fungistatik ve fungisidal

etkinliğinin olduğu gözlenmiştir. Fakat önceden yapılmış bir takım çalışmalar ile yapılan karşılaştırmalar bu aktivitenin uçucu yağın kimyasal bileşimi ile değişebileceğini göstermiştir. *S. sclarea* yağında var olan linalil asetat ve Linalol varlığıyla antifungal aktivite arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Dzamic, 2008).

Sepahvand vd. (2014) yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea* bitkisinin *Candida albicans* üzerinde çalışması yapılmış ve sonucunda inhibe edici etkisi olduğu görölmüştür (Sepahvand vd., 2014).

Hristova (2013) yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea* uçucu yağının, beş farklı *Candida* türü üzerinde çalışması yapılmıştır. Çalışmanın sonunda elde edilen sonuçlara göre *C. albicans* (MIK 210 µg/ml, MFK 402 µg/ml), *C. tropicalis* (MIK 768 µg/ml, MFK 768 µg/ml) türlerinin klinik izolatlarına karşı antifungal aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Hristova, 2013).

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

S. sclarea (Lamiaceae) 2018, 2019, 2020 yıllarında Konya-Beyşehir çevre yolu üzerindeki “Temmuz Organik Çiftliği”nden Ecz. Muammer Şen tarafından toplanmıştır.



(A)



(B)

Görsel 3.1. *Salvia sclarea*'nin kurumaya bırakılmış yaprakları, (A) , *S. sclarea* çiçeğe (B)



Görsel 3.2. *Salvia sclarea*'nin çiçekli kısımlarının kurutulması

Tablo 3.1. Çalışılan tür, toplama zamanı, toplanma yeri, kod

| Çalışılan Tür | Toplanma Zamanı | Toplanma Yeri | Kod |
|--|-----------------|---|-----|
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçek açtıktan sonraki dönem | 28.05.2018 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS4 |
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçek açmadan önceki dönem | 31.05.2019 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS1 |
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçek açtıktan sonraki dönem | 08.06.2019 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS2 |
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçekler | 08.06.2019 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS3 |
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçek açtıktan sonraki dönem | 18.05.2020 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS5 |
| <i>Salvia sclarea</i> Çiçekler | 01.06.2020 | Konya-Beyşehir Temmuz Organik Çiftliği | SS6 |

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

| | |
|--|---------------|
| 2-2'- Azino-bis(3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit (ABTS) | Sigma-Aldrich |
| Dimetilsülfoksit (DMSO) | Merck |
| 1'1 Difenil 2-pikrilhidrazil (DPPH) | Merck |
| Etil Asetat | Sigma-Aldrich |
| Etanol | Sigma-Aldrich |
| Hekzan | Sigma-Aldrich |
| Folin Ciocalteu's Reagent | Sigma-Aldrich |
| Gallik asit | Sigma |
| Metanol | Merck |
| Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃) | Merck |
| Throlex | Merck |

3.2.2. Kullanılan cihazlar

| | |
|-------------------|-------------------------|
| Clevenger cihazı | |
| Çalkalayıcı | IKA KS 269 Basic |
| Hassas terazi | Mettler Toledo –MS 204S |
| Mikroplak okuyucu | BioTek Power Wave XS |
| Liyofilizatör | Labconco |
| Santrifüj | Labconco |
| Ultrasonik banyo | BANDELİN Sonorex |
| UV-Spektrometre | Shimadzu PharmaSpec-700 |
| Rotavapor | Buchi |
| Vortex | Heildoph reaxtop |

3.3. *S. sclarea* Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Hekzan, etil asetat ve metanollü ekstrelerin hazırlanma aşamaları; Gölge bir ortamda kurutulmuş *Salvia sclarea*'nın yaprak ve çiçekleri (25 gram) kabaca öğütülerek ilk olarak 200 ml hekzan ile mekanik çalkalayıcıda 24 saat masere edilmiştir. 24 saatin sonunda maseratlar süzülerek bitkilerin üzerine 200 ml hekzan konularak yeniden mekanik çalkalayıcıda 24 saat masere edilmiştir. Bu işlem toplamda 3 kere tekrar edilmiştir. İşlem sonunda elde edilen toplam ekstreler filtreden geçirilmiş ve (SS5E, SS6E) rotavaporda, 40 °C'de çözücüsünden uzaklaştırılmıştır. Ekstrelerin verimi hesaplandıktan sonra, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

Hekzan ile masere edilen bitki çözücünden ayrıldıktan sonra kurumaya bırakılmış, kuruduktan sonra üzerlerine 200 ml etil asetat konularak mekanik çalkalayıcıda 24 saat masere edilmiştir. 24 saatin sonunda maseratlar süzülerek bitkilerin üzerine yeniden 200 ml etil asetat konularak yeniden 24 saat ekstre edilmiştir. Bu işlem toplamda 3 kere tekrar edilmiştir. İşlem sonunda elde edilen toplam ekstreler filtreden geçirilmiş ve (SS5F, SS6F) rotavaporda, 40 °C'de çözücüsünden uzaklaştırılmıştır. Ekstrelerin verimi hesaplandıktan sonra, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

Etil asetat ile masere edilen bitki çözücünden ayrıldıktan sonra kurumaya bırakılmış, kuruduktan sonra üzerlerine 200 ml metanol konularak mekanik çalkalayıcıda 24 saat masere edilmiştir. 24 saatin sonunda maseratlar süzülerek bitkilerin üzerine yeniden 200 ml metanol konularak yeniden 24 saat ekstre edilmiştir. Bu işlem toplamda 3 kere tekrar edilmiştir. İşlem sonunda elde edilen toplam ekstreler filtreden geçirilmiş ve (SS5G, SS6G) rotavaporda, 40 °C'de çözücüsünden

uzaklaştırılmıştır. Ekstrelerin verimi hesaplandıktan sonra, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

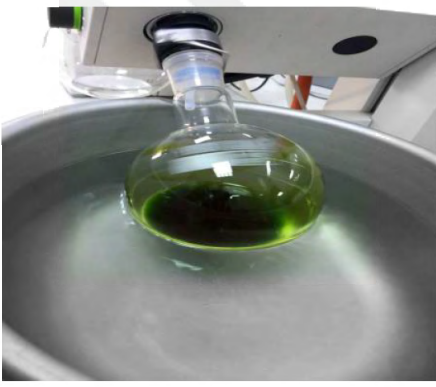
Metanollü ekstrenin hazırlanması (Antikandidal aktivite tayini için); Bitkinin yaprak ve çiçekli kısımları (10 gram) 150 ml susuz metanol ile 24 saat ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler (SS5C, SS6C) filtreden geçirilerek rotavaporda 40 °C'de çözücüsünden uzaklatılmıştır. Ekstrelerin verimi hesaplandıktan sonra, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

İnfüzyon hazırlanması; Bitkinin yaprak ve çiçek kısımları (10 gram) toz haline getirildikten sonra ayrı ayrı 100 ml sıcak su üzerine konularak ağzı kapatılmış ve soğuyuncaya kadar beklenmiştir. Karışım süzöldükten sonra -20 °C'de dondurulmuş ve liyofilize edilmiştir. Bitkinin sulu ekstrelerinin (SS5D, SS6D) verimi hesaplandıktan sonra, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

Uçucu yağın elde edilmesi; Bitkinin yaprak ve çiçekli kısımları (50 gram) kabaca öğütölerek Clevenger apareyinde 3 saat su distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmeye çalışılmıştır. Distilasyon işlemi bitince elde edilen uçucu yağların (SS1A, SS2A, SS3A, SS4A, SS5A, SS6A) miktarı az olduğu için hekzanla alınmış ve verim hesabı yapılamamıştır. Elde edilen uçucu yağlar, deney anına kadar +4 °C buzdolabında saklanmıştır.

Tablo 3.2. Elde edilen ekstrelerin verimi (%)

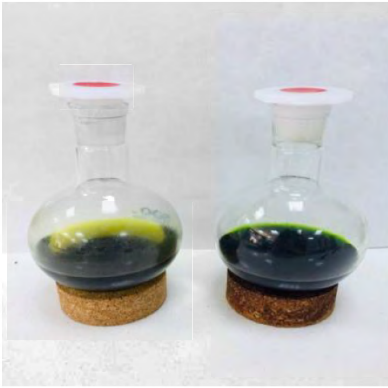
| Kullanılan Çözücü | Ekstre | % Verim |
|------------------------|--------|---------|
| Hekzan | SS5E | 2,28 |
| | SS6E | 3,56 |
| | SS5F | 4,2 |
| Etil Asetat | SS6F | 3,36 |
| | SS5G | 4,72 |
| Metanol | SS6G | 4,96 |
| | SS5C | 12,8 |
| Metanol (Antikandidal) | SS6C | 5 |
| | SS5D | 7,56 |
| Distile Su | SS6D | 8,92 |



A



B



C



D

Görsel 3.3. Elde edilen ekstrenin rotavapor yardımıyla çözücüsünden ayrılması (A-B), Ekstreler (C), Fraksiyonlu maserasyon için drogların kurutulması (D)

3.4. Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini

3.4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Folin–Ciocalteu testi, toplam fenolik içeriği (TPC) belirlemeyi amaçlayan iyi bilinen bir yöntemdir. Folin-Ciocalteu testi, bitki kaynaklı gıdalardaki ve biyolojik örneklerdeki toplam polifenolik içeriği ölçmek için klinik ve beslenme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem başlangıçta proteinleri analiz etmek için tasarlanmıştı, ancak daha sonra şaraptaki fenolik bileşenleri analiz etmek için Singleton, Orthofer ve Lamuela Raventos (1999) tarafından benimsenmiş, ardından gıda ve bitki özlerinin antioksidan değerlendirilmesi için rutin bir test haline gelmiştir (Singleton, Orthofer, Raventos, 1999).

Folin-Ciocalteu testi gıda ve içeceklerin yanı sıra bitki ekstraktlarındaki polifenollerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Folin-Ciocalteu testi toplam fenol madde miktarını ölçmek için resmi bir prosedür olarak benimsenmiştir (Blainski ve Lopen, 2013).

İlk olarak ana ekstreten alınan 20 mg ekstre 2 ml metanol içerisinde çözülmüş, karışımın homojenitesinin sağlanabilmesi için vortex kullanılmıştır. Bitkiden (SS5, SS6) hazırlanan farklı polariteye sahip 10 mg/ml konsantrasyona sahip ekstraktlar ve gallik asit metanolde çözülmüştür. Deneyin yapılacağı plağa ilk önce 1560 µl su konulmuş üzerine 20 µl ekstraktlardan (SS5D, SS6D, SS5E, SS6E, SS5F, SS6F, SS5G, SS6G) ve 100 µl Folin- Ciocalteu reaktifi eklenerek 2-3 dakika beklenmiştir. Son olarak reaksiyonun başlaması için 300 µl Na₂CO₃ ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Deney sonunda absorban 760 nm’de okunmuştur.

Aynı işlem gallik asit’in 7 farklı konsantrasyonu (1 mg/ml, 0,7 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,07 mg/ml, 0,05 mg/ml) için de uygulanmış, ölçümler metanole karşı yapılmıştır. Gallik asitten elde edilen sonuçlara göre kalibrasyon eğrisi çizilmiş elde edilen denkleme göre toplam fenol madde miktarı gram ekstrede miligram gallik asite eşdeğer (mg GAE/g ekstre) olacak şekilde hesaplanmıştır. Deneyler üç tekrar olacak şekilde yapılmıştır.



Görsel 3.4. Dilüe edilen numune ekstreler

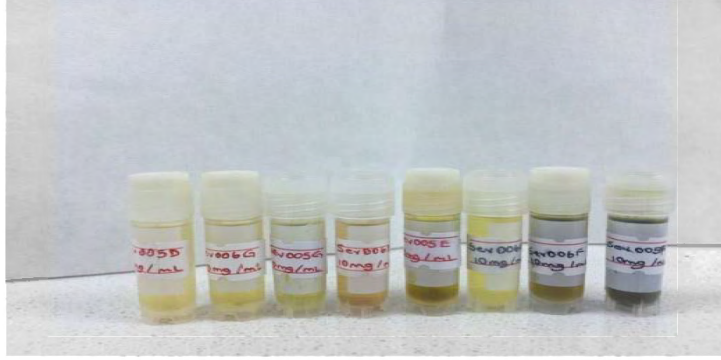
3.5. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.5.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH•) süpürücü etki tayini

Antioksidanlar sağlığı koruyucu faktör olarak önemli bir rol oynamaktadır. Bileşiklerin serbest radikal süpürücü ve hidrojen verici olarak hareketlerini test etmek için yaygın olarak kullanılan DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin kullanımı ile sağlanmakta ve aktioksidan aktiviteyi değerlendirmek için DPPH•'ın indirgenme durumu gözlenmektedir (Goyal ve Tailor, 2014). Tek elektronu olan serbest radikal 517 nm'de en yüksek absorbands değerini göstermektedir. Antioksidan maddeler serbest radikal olan DPPH• ile reaksiyona girdiğinde DPPH•'ın absorbands değeri azalır ve renk sarıya dönmeye başlar. Daha fazla renk giderme yeteneği, indirgeme yeteneği ile alakalıdır. Bu yöntem herhangi bir ilacın ya da etken maddenin serbest radikal süpürme aktivitesini değerlendirmek için kabul gören bir metot olmuştur (Warrier, Ramankutty, Nambiar, 2002).

Bitkiden elde edilen 20 mg ekstre üzerine 2 ml metanol ilave edilerek 10 mg/ml konsantrasyona sahip ekstreler elde edilmiştir. Standart olarak gallik asit 0,1 mg/ml çözeltisi ve kontrol olarakta metanol kullanılmıştır. Deney için 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plak kullanılmıştır. Öncelikle ilk satırdaki kuyucuklara sırasıyla 200 µl MeOH (metanol)'de çözülmüş çözülmüş numuneler (SS5D, SS6D, SS5E, SS6E, SS5F, SS6F, SS5G, SS6G) aktarılmıştır. Daha sonra diğer kuyucuklara çok kanallı pipet yardımıyla 100 µl MeOH ilave edilmiştir. İlk kuyucuktan alınan 100 µl numune aşağıya doğru 8 seri seyretme işlemi uygulanmıştır. Seyreltilmiş numuneler üzerinde son olarak 100 µl DPPH• reaktifi eklenerek 30 dk boyunca oda sıcaklığındaki karanlık bir ortamta bekletilmiştir. Sonuçlar, mikro plak okuyucuda UV absorbands değeri 517 nm'de okunmuştur. Deneyler üç tekrar olacak şekilde yapılmıştır.

Sonuçlar SigmaPlot programı ile hesaplanıp, değerlendirilmiştir. Radikal inhibisyon aktivitesi $\%DPPH^{\bullet} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$ şeklinde inhibisyon konsantrasyon denklemi kullanılarak hesaplanmıştır.



Görsel 3.5. DPPH[•] testi için hazırlanan numuneler

3.5.2. 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki tayini

ABTS^{•+} testi ilk olarak Miller, Diplock ve Evans (1993) tarafından toplam antioksidan kapasiteyi (TAK) ölçmek için kullanılan basit ve kullanışlı bir yöntem olarak geliştirilmiştir. Test, antioksidanların 2,2 -azinobis(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonik asit) (ABTS^{•+}) kararlı radikal katyonu, 734 nm'de maksimum absorpsiyona sahip mavi-yeşil bir kromoforu nötralize etme kapasitesini ölçmektedir. 734 nm absorbansta ani bir düşüş olarak ölçülen mavi-yeşil rengin renk değişikliğinin derecesi, reaksiyon süresine, asıl antioksidan aktiviteye ve numune konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Miller vd., 1993).

Standart çözelti olarak E vitamininin su içinde çözünebilen formu Troloks (6 hidroksi 2,5,7,8 tetrametilkroman 2 karboksilik asit) kullanılmış ve *S. sclarea*'dan hazırlanan ekstreler ile eşdeğer hesabı yapılmıştır. Öncelikle 7 milimolar (mM) ABTS^{•+} ve 2.5 mM sodyum persülfat K₂S₂O₈ ile karıştırılarak 12-16 saat karanlık ve oda sıcaklığındaki bir ortamda bekletilmiş ve mavi/yeşil renkli radikalın oluşumu sağlanmıştır. Çalışma öncesinde hazırlanması gereken bu reaktif, 734 nm'de 0,700 - 0,800 olacak biçimde etanol çözeltisi ile seyreltilerek antioksidan testi için hazır hale getirilmiştir.

Deney için ekstrelerin 1 mg/ml ve 0,1 mg/ml konsantrasyonlarındaki numuneler (SS5D, SS6D, SS5E, SS6E, SS5F, SS6F, SS5G, SS6G) kullanılmıştır. Son olarak standart olarak kullanılan 3 mM Troloks 10 farklı konsantrasyona seyreltilerek (3 mM, 2,5 mM, 2 mM, 1,5 mM, 1 mM, 0,5 mM, 0,25 mM, 0,125 mM, 0,02 mM, 0,01 mM)

hazırlanmıştır. 0,1 mg/ml gallik asit ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Kör kontrol olarak ise metanol çözeltisi kullanılmıştır. Hem bitki ekstraterinden hazırlanan numuneler hem de standart çözeltilerden 10 µl plak kuyucuklarına sıra ile konularak üzerinde 990 µl ABTS^{•+} reaktifinden eklenmiştir. 15 dakika boyunca karanlık bir ortamda bekletilerek 734 nm’de absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Deney sonunda Troloks eşdeğer antioksidan kapasite miktarının hesaplanması için kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Elde edilen denkleme göre numunelerin % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Deneyler üç tekrar olacak şekilde yapılmıştır.

3.6. Gaz Kromatografisi/ Kütle spektrofotometresi (GK/KS) ile Uçucu Yağ Miktar Tayini

Clevenger aparatında su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın analizi GK/KS sistemi ile analiz edilmiştir. Agilent 5975 Gaz kromatografisi/ Kütle spektrofotometri (GK/KS) sistemi, HP-Innowax (60 m × 0,25 mm ; 0,25 µm film kalınlığı) polar kolon ve taşıyıcı gaz olarak ise helyum (0,8 ml/dk akış hızı) kullanılmıştır. Enjeksiyon portu sıcaklığı 250 °C’dir. 70 eV elektron enerjisi ile 35-450 m/z kütle ağırlığındaki maddelerin analizleri gerçekleştirilmiştir. 60 °C’ de 10 dk, 4 °C/dk artışla 220 °C’ye, 220 °C’de 10 dk, 1 °C/dk artışla 240 °C’ye yükselen toplam 80 dakikalık sıcaklık programı uygulanmıştır. Değerlendirme yapılırken “Başer Uçucu Yağ Kütüphanesi” ve GK/KS, Mass Finder 4.0 Kütüphane tarama yazılımları kullanılmıştır (Öztürk, 2017). Madde miktarı, alev iyonlaşma dedektöründen elde edilen piklerin altında kalan alanın hesaplanmasıyla elde edilmiştir.



Görsel 3.6. *Salvia sclarea* 'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağ eldesi

3.7. Antikandidal Aktivite

Antikandial etkinin belirlenmesinde kısmen modifiye edilmiş CLSI (eski ismiyle NCCLS) M27-A2, sıvı mikro dilüsyon protokolü kullanılmıştır (Pfaller, 2002) Protokolden farklı olarak ekstreler saf DMSO'da çözülmüş ve farklı konsantrasyon aralıklarında seyreltilmiştir. Standart antifungaller ve ekstreler steril DMSO içinde çözümlenerek kullanılmıştır. Standart antifungal ajan olarak ketokonazol ve amfoterisin-B kullanılmıştır. 96 kuyucuklu plakada 1 sütun üreme kontrolü olarak, bir sütun da sterilizasyon kontrolü olarak ayrılmıştır. 37 °C'de gecelik inkübasyon sonunda resazurin sodyum tuzundan (100 µg/ml, steril distile su içinde) kuyucuklara 20 µl pipetlenmiş, 3 saat ek inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda canlılık olan kuyucuklar pembe renge dönüşmektedir. Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri (µg/ml) olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Ekstraksiyon Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarı

Tez süresinde çalışılan *S. sclarea*'dan hazırlanan farklı polaritelere sahip ekstrelerin verim hesapları kuru bitki üzerinden % olarak hesaplanmıştır. Bitkiye ait ekstraksiyon verimleri %2,28 g (SS5E) ve %12,8 g (SS5C) arasında değişmektedir. En düşük verimin hekzanlı çözücü ile en yüksek verimin metanollü çözücü ile olduğu görülmüştür.

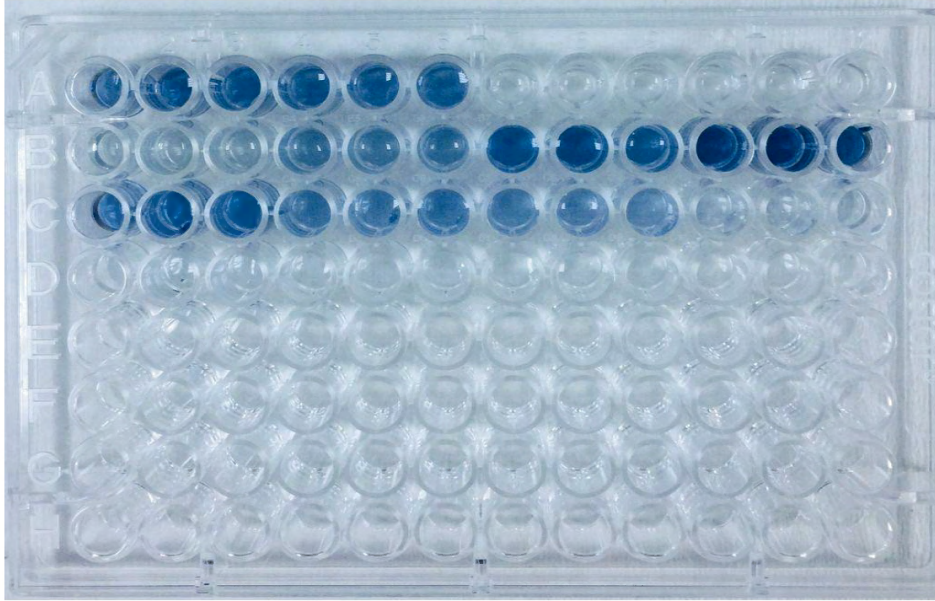
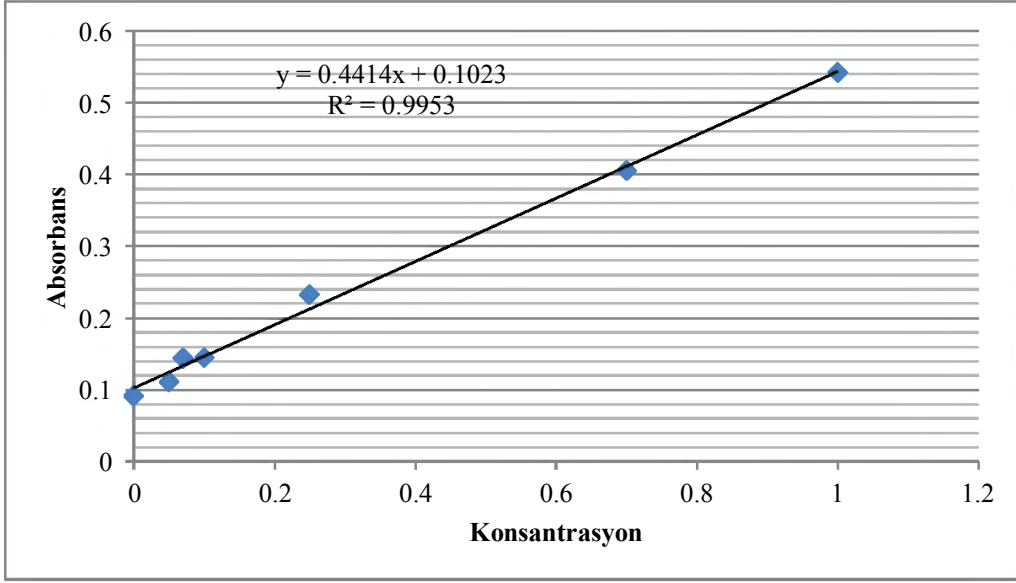
Deneyler için hazırlanan farklı polariteye sahip ekstrelerin toplam fenol madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak meydana gelen reaksiyondaki mavi renkli karmaşık oluşuma bakılarak tayin edilmiş sonuçlar kayıt altına alınmıştır. Sonuçları yorumlayabilmek için gallik asit eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.1.). Elde edilen eğri denklemine göre ekstrelerin içerdiği toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır.

Veriler incelendiğinde; en yüksek oranda toplam fenolik madde içeren ekstrenin metanollü ekstre olduğu gözlemlenmiştir. SS6G %79,37 mg GAE/g ekstre ile tabloda belirtilmiştir. En düşük toplam fenolik madde içeren ekstrenin ise hekzan ekstresi olduğu gözlenmiş, SS5E %15,74 mg GAE/g ekstre ile tabloda belirtilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. *Salvia sclarea*'nın farklı çözücülerle hazırlanmış ekstre verimler ve toplam fenolik madde miktarı

| Ekstre | % Ekstraksiyon Verimi | Toplam Fenolik Madde |
|--------|-----------------------|------------------------------|
| | | Miktarı (mg GAE/g ekstre) |
| SS5D | 7,56 | 45,0876 |
| SS6D | 8,92 | 39,00846 |
| SS5E | 2,28 | 15,74913 |
| SS6E | 3,56 | 36,51639 |
| SS5F | 4,2 | 41,1607 |
| SS6F | 3,36 | 64,00468 |
| SS5G | 4,72 | 59,88899 |
| SS6G | 4,96 | 79,37245 |

Şekil 4.1. Gallik asit standardına göre kalibrasyon eğrisi ve denklemi



Görsel 4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini için hazırlanan örnekler

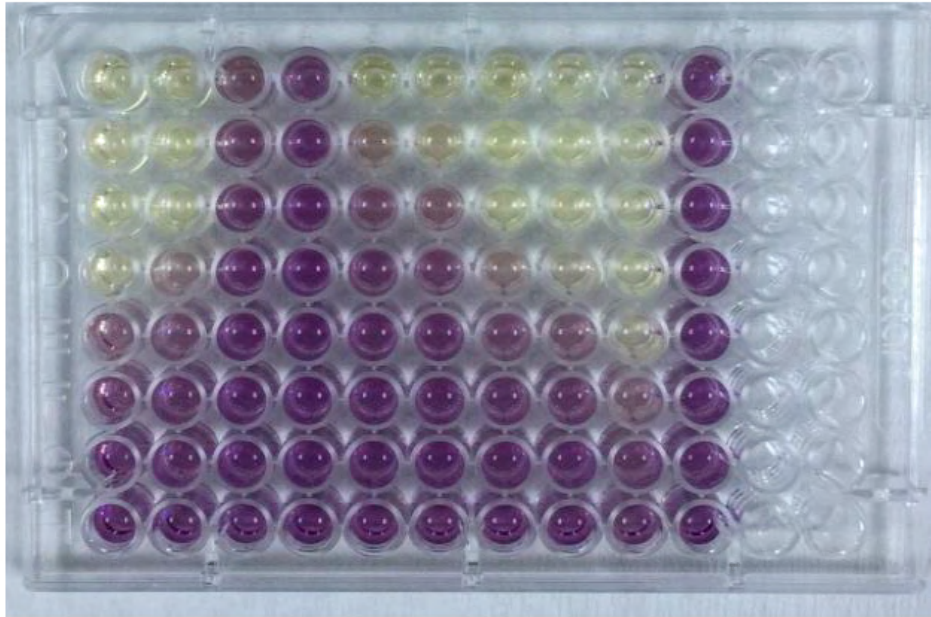
4.2. Antioksidan Aktivite Tayini

4.2.1. DPPH• anti-radikal etki

Bu yöntem ile *S. sclarea*'nın farklı çözücülerde hazırlanmış ekstralarının DPPH• serbest radikali kullanılarak aktivite testi tamamlanmıştır. Sonuçlarda ekstraların anti-radikal aktiviteleri, DPPH %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) olarak hesaplanmıştır. Ekstrelerin serbest radikaller üzerindeki inhibisyon değerleri sütun grafiğinde gösterilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde gallik asitin IC₅₀ değeri 0,004 mg/ml olarak bulunmuştur. Ekstrelerin IC₅₀ değerleri tabloda belirtilmiştir.

Sonuçlara göre ekstralar içinde metanol (SS5G, SS6G) ve su (SS5D ve SS6D) ile hazırlanan ekstraların inhibisyon değerleri hekzan (SS5E ve SS6E) ve etil asetat (SS5F ve SS6F) ile hazırlanan ekstralara göre daha etkin olduğu gözlenmiştir. Ekstrelerin antiradikal etkinliğinin gallik asitten daha düşük bir etkinliğe sahip olduğu gözlenmiştir.

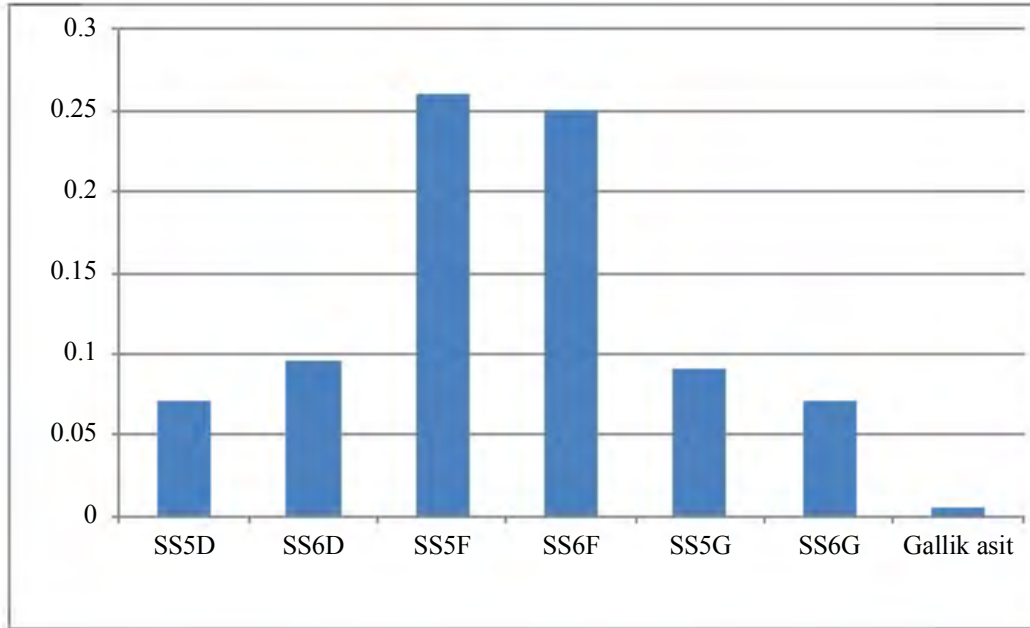


Görsel 4.2. DPPH radikalini süpürücü etki için hazırlanan örnekler

Tablo 4.2. Ekstrelerin serbest radikal üzerinden hesaplanan inhibe değerleri

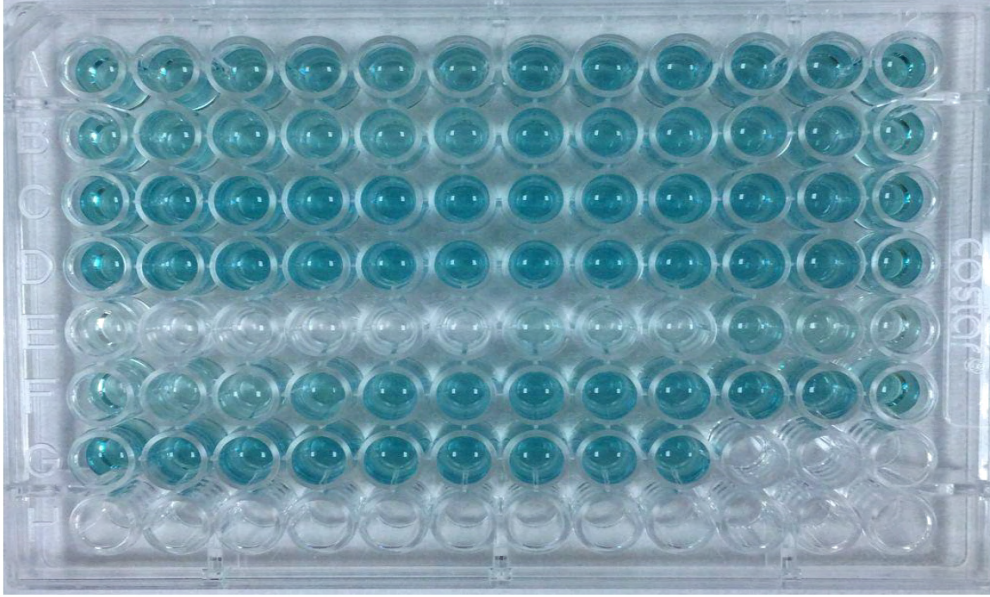
| Ekstre | IC ₅₀ Değerleri (mg/ml) |
|-------------|------------------------------------|
| SS5D | 0,07 |
| SS6D | 0,095 |
| SS5E | >1 |
| SS6E | >1 |
| SS5F | 0,26 |
| SS6F | 0,25 |
| SS5G | 0,09 |
| SS6G | 0,07 |
| Gallik asit | 0,004 |

Şekil 4.2. Ekstrelerin IC₅₀ değerlerini gösteren sütün grafiği



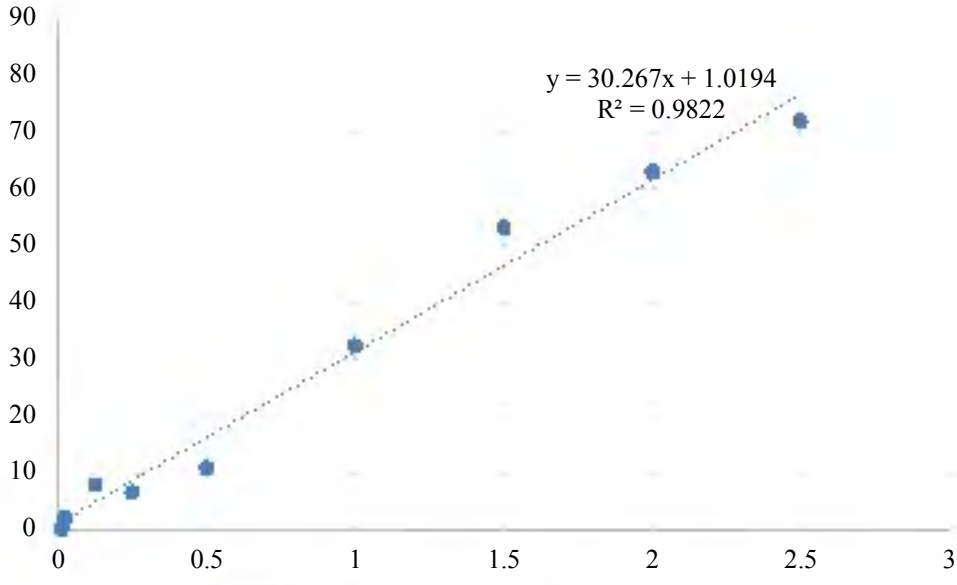
4.2.2. ABTS^{•+} radikal katyon renksizleştirme kapasitesi

Farklı polarite ve konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) testi için, farklı konsantrasyonlara sahip troloksun % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar ile kalibrasyon eğrisi çizilerek hesaplama yapılacak denklem oluşturulmuştur. Elde edilen denklem ile ekstrelere karşılık gelen TEAC değerleri Tablo 4.3’de belirtilmiştir.

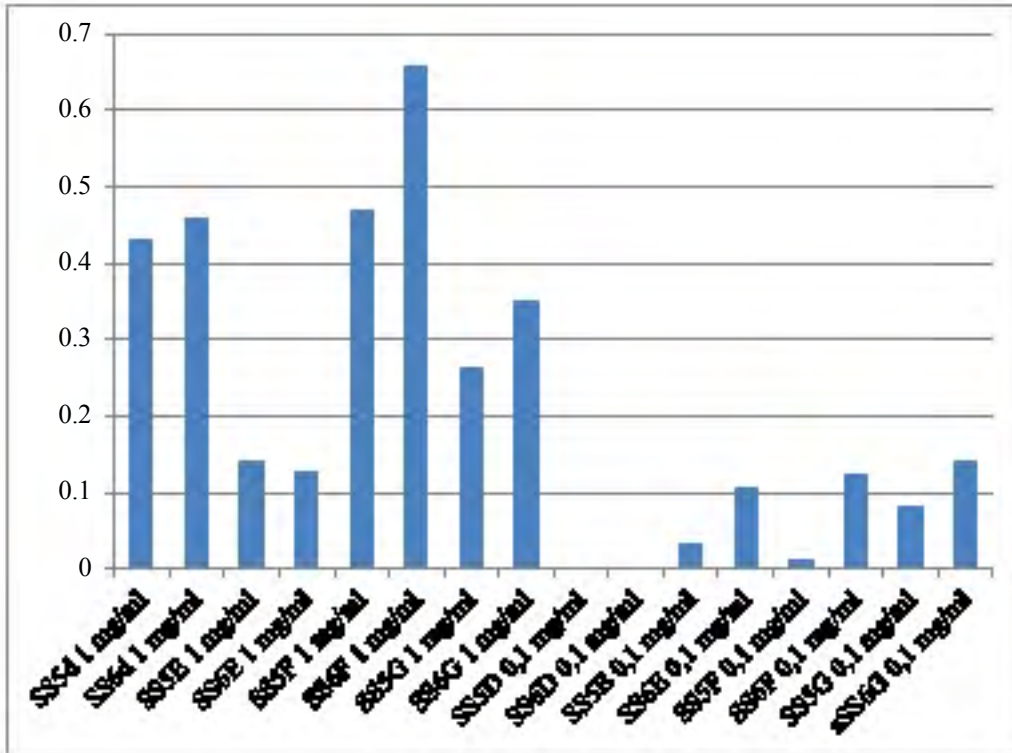


Görsel 4.3. ABTS^{•+} testi için hazırlanan örnekler ve renk değişimi

Şekil 4.3. Trolox standardına göre çizilen kalibrasyon eğrisi ve denklem



Şekil 4.4. Kullanılan ekstrelerin elde edilen denkleme göre Trolox'a karşılık gelen mM miktarları



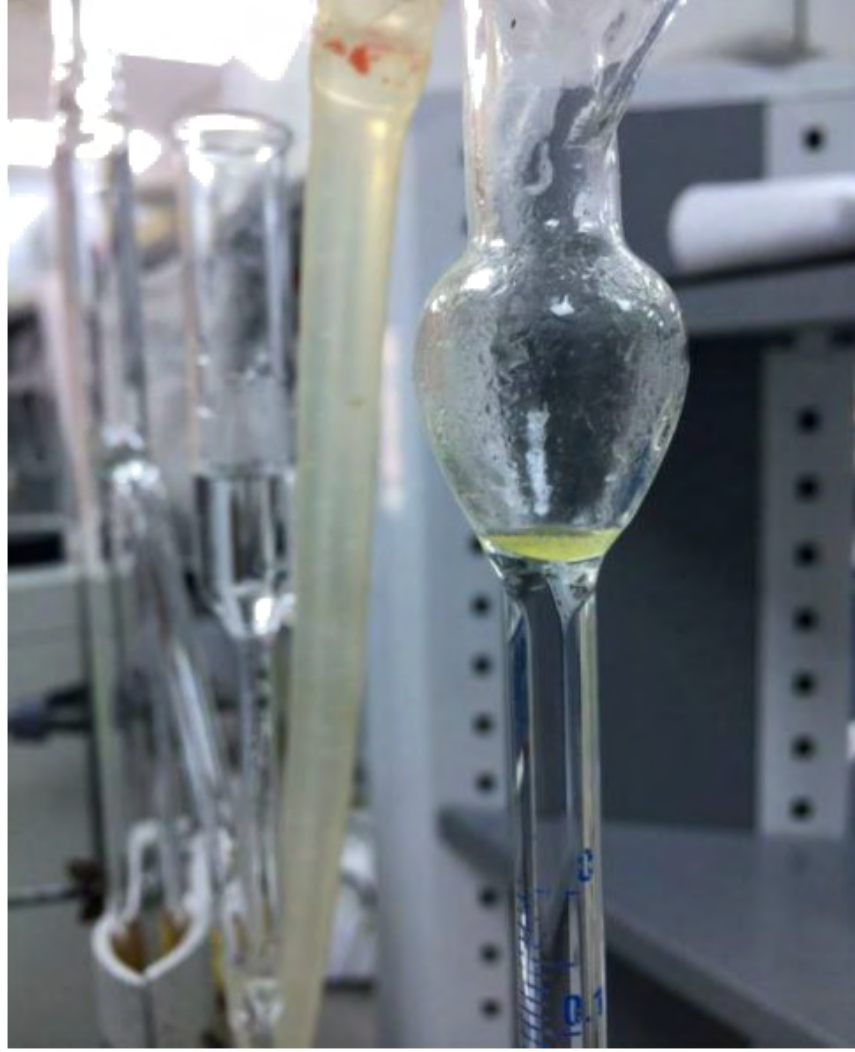
Tablo 4.3. Ekstrelerin mM TEAC değerleri

| Ekstreler | mM Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) (mg/ml) |
|----------------|---|
| SS5D 1 mg/ml | 0,430 |
| SS6D 1 mg/ml | 0,457 |
| SS5E 1 mg/ml | 0,141 |
| SS6E 1 mg/ml | 0,125 |
| SS5F 1 mg/ml | 0,468 |
| SS6F 1 mg/ml | 0,656 |
| SS5G 1 mg/ml | 0,263 |
| SS6G 1 mg/ml | 0,351 |
| SS5E 0,1 mg/ml | 0,0311 |
| SS6E 0,1 mg/ml | 0,105 |
| SS5F 0,1 mg/ml | 0,0126 |
| SS6F 0,1 mg/ml | 0,121 |
| SS5G 0,1 mg/ml | 0,079 |
| SS6G 0,1 mg/ml | 0,146 |

4.3. GK ve GK/KS ile Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

GK/KS ile *S. sclarea*'nın farklı dönemlerde hasat edilmiş droglarının uçucu yağlarının analiz sonuçları tabloda gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda SS1A numunesi %54,25 oranında, SS2A numunesi %70,47 oranında, SS3A numunesi %90,32 oranında, SS4A numunesi %71,79 oranında, SS5A numunesi %75,26 oranında, SS6A numunesi ise %85,26 oranında aydınlatılabilmektedir. SS1A'nın ana bileşeni spatulenol (%16,31), SS2A'nın ana bileşeni spatulenol (%22,41) ve karyofilen oksit (%13,92), SS3A'nın ana bileşenleri linalil asetat (%25,68), linalol (%15,93) ve sklareol (%20,55), SS4A'nın ana bileşeni karyofilen oksit (% 9,1), spatulenol (%8,9) ve sklareol (% 14,51), SS5A'nın ana bileşeni spatulenol (%28,74) ve karyofilen oksit (%13,55), SS6A'nın ana bileşeni linalil asetat (%24,98), linalol (%17,97), sklareol ve spatulenol (% 2,99) olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde farklı dönemlerde toplanan drogun çiçekli kısımlarından elde edilen uçucu yağların ana bileşenlerinin linalol, linalil asetat ve sklareol olduğu gözlemlenmiştir. Yapraklı kısımlardan elde edilen uçucu yağların ana bileşenlerinin ise karyofilen oksit ve spatulenol olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada uçucu yağın %1 ve üzerindeki kısmı aydınlatılmıştır.



Görsel 4.4. *Salvia sclarea* uçucu yağı

Tablo 4.4. *SSIA'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)*

| Bileşen | SSIA (%) |
|-----------------------------------|----------|
| α -Kopaen | 2,12 |
| Karyofilen oksit | 2,4 |
| Spatulenol | 16,31 |
| 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en | 16,02 |
| 4-oxo- α -ylangen | 10,1 |
| Karyofilenol-2 | 7,3 |
| Toplam | 54,25 |

Tablo 4.5. SS2A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)

| Bileşen | SS2A (%) |
|-------------------------------------|----------|
| α -Kopaen | 5,5 |
| β -Karyofilen | 4,03 |
| δ -Kadinen | 1,12 |
| Karyofilen oksit | 13,92 |
| Spatulenol | 22,41 |
| <i>trans</i> - α -Bergamatol | 1,78 |
| 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en | 11,35 |
| Karyofilenol-1 | 1,41 |
| Ödesma-4(15) 7 dien 1-beta ol | 1,81 |
| Karyofilenol-2 | 2,32 |
| Fitol | 1,41 |
| Hekzadekanoik asit | 1,6 |
| Sklareaol | 1,81 |
| Toplam | 70,47 |

Tablo 4.6. SS3A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)

| Bileşen | SS3A (%) |
|--|----------|
| α -Kopaen | 1,71 |
| Linalol | 15,93 |
| Linalil asetat | 25,68 |
| α -Terpineol | 4,56 |
| Neril asetat | 1,62 |
| Geranil asetat | 3,15 |
| Nerol | 0,65 |
| Geraniol | 1,54 |
| Karyofilen Oksit | 3,28 |
| Spatulenol | 4,24 |
| β -Ödesmol | 2,11 |
| 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en | 2 |
| 8- α -13-on-14-en-epilabdone (epimonoiloksit) | 2,2 |
| Manool | 2,3 |
| Sklareol | 20,55 |
| Toplam | 90,32 |

Tablo 4.7. SS4A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)

| Bileşen | SS4A (%) |
|-------------------------------------|----------|
| α -Kopaen | 3,44 |
| β -Karyofilen | 1,8 |
| Germakren D | 1,55 |
| ϵ - β -Lonane | 1,64 |
| Karyofilen oksit | 9,1 |
| Spatulenol | 8,9 |
| 8,13 epoksi (15,16) dinorlabd-12-en | 14,95 |
| Ödesma 4(15)-7-dien- β -ol | 2,25 |
| Fitol | 11,34 |
| Manool | 2,32 |
| Sklareol | 14,51 |
| Toplam | 71,79 |

Tablo 4.8. SS5A'nın uçucu yağ analizi , %1 ve üzeri (%)

| Bileşen | SS5A (%) |
|-------------------------------------|----------|
| α -Kopaen | 4,1 |
| β -Karyofilen | 3,75 |
| Germakren-D | 3,02 |
| Bisiklogermakren | 1,72 |
| 1,5 epoksi solural 4(14) en | 2,45 |
| Karyofilen oksit | 13,55 |
| İzokaryofil hekzaoksit | 1,23 |
| Spatulenol | 28,74 |
| <i>trans</i> - α -Bergamatol | 2,64 |
| 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en | 9,1 |
| Ödesma 4(15)-7-dien 1- β -ol | 1,42 |
| Karyofilenol-2 | 1,6 |
| Hekzadakanoik asit | 1,04 |
| Toplam | 75,26 |

Tablo 4.9. SS6A'nın uçucu yağ analiz sonucu, %1 ve üzeri (%)

| Bileşen | SS6A (%) |
|--|----------|
| Linalol | 17,97 |
| Linalil asetat | 24,98 |
| α -Terpineol | 3,97 |
| Germakren-D | 1,1 |
| Neril asetat | 1,8 |
| Geranil asetat | 3,64 |
| Nerol | 1,05 |
| Geraniol | 2,9 |
| Karyofilen oksit | 1,4 |
| Spatulenol | 2,99 |
| β -Ödesmol | 1,15 |
| 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en | 3,8 |
| 8- α -13-on-14-en-epilabdone (epimonoiloksit) | 1,5 |
| Manool | 2,11 |
| Sklareol | 15,4 |
| Toplam | 85,26 |

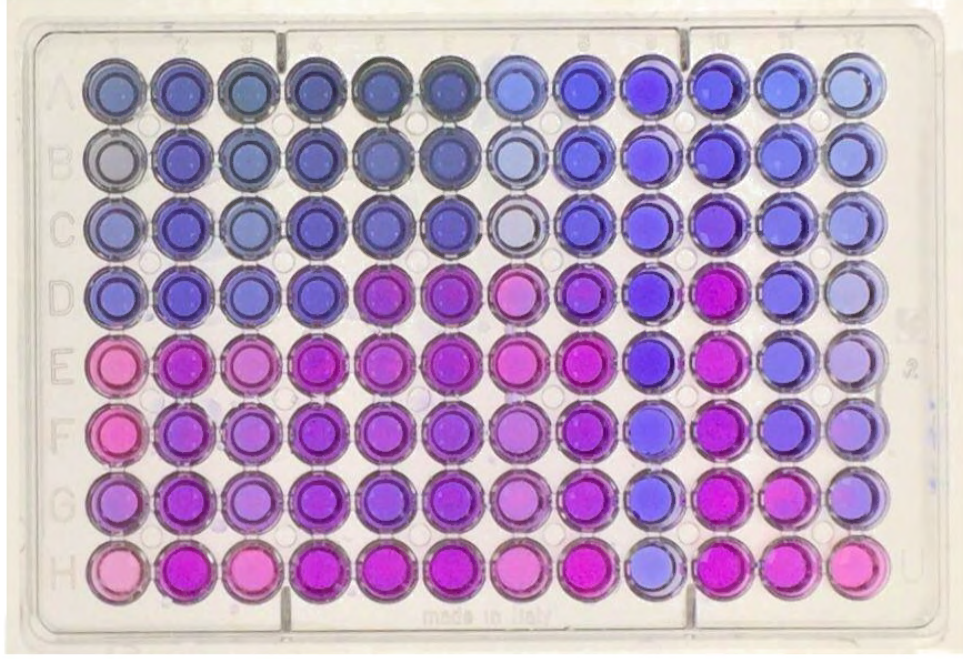
4.4. Antikandidal Aktivite

Antikandidal aktivite sonuçları incelendiğinde *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* NRRL Y-900, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı 4 mg/ml SS5C, 3,2 mg/ml SS6C, 2 mg/ml SS5A ve SS6A ekstrelerinde verdikleri MİK değerleri, 0,008 mg/ml konsantrasyondaki referans olan ketakonazol ve ampisiline karşı MİK değerleri incelediğinde elde edilen sonuçlara göre antikandidal etkinliğinin düşük akvitede olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.10'da belirtilmiştir.

Sonuçlara göre en yüksek antikandidal aktivitenin SS5A ve SS6A dan elde edildiği görülmüştür.

Tablo 4.10. Antikandidal aktivite sonuçları

| <i>Candida</i> Türleri | SS5C MİK (µg/ml) | SS6C MİK (µg/ml) | SS5A MİK (µg/ml) | SS6A MİK (µg/ml) | AMP-B (µg/ml) | KETO (µg/ml) |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| <i>Candida albicans</i> | | | | | | |
| ATCC 10231 | 250 | 400 | 500 | 500 | 0,031 | 0,0625 |
| <i>Candida utilis</i> | | | | | | |
| NRRL Y-900 | 125 | 200 | 62.5 | 62.5 | 0,031 | 0,0625 |
| <i>Candida albicans</i> | | | | | | |
| ATCC 90028 | 500 | 800 | 500 | 500 | 0,0625 | 0,125 |
| <i>Candida tropicalis</i> | | | | | | |
| ATCC 750 | 250 | 200 | 250 | 31,25 | 0,125 | 0,031 |
| <i>Candida parapsilosis</i> | | | | | | |
| ATCC 22019 | 250 | 400 | 500 | 250 | 0,031 | 0,031 |
| <i>Candida krusei</i> | | | | | | |
| ATCC 6258 | 250 | 400 | 250 | 62,5 | 0,125 | 0,250 |



Görsel 4.5. *Metanol ekstresi ve uçucu yağların kandidalar üzerinde ki aktivitesi*

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çağlar boyunca insanoğlu tıbbi bitkileri, beslenmek, hastalıkları tedavi etmek, ilaç hammaddesi elde etmek, yiyeceklerin tüketim ömrünü uzatmak, daha lezzetli besinler elde etmek, hoş koku verici ve halüsinojenik etkileri nedeniyle ruhani ayinlerinde, kozmetik ve bakım gibi alanlarda kullanmışlardır. Artan nüfus ve bilimin gelişmesi ile birlikte var olan kaynaklara alternatif çözüm önerileri aranmış ve doğadaki moleküllerin doğal, yarı sentetik ve sentetik formları üzerinde çalışmalara başlanmıştır.

Dünya genelinde yaygın olarak halen kullanılan bitkilerden ülkemize ait olan endemik tür sayısı %34 olarak tespit edilmiştir (Tofana, 2016). Geniş bir çeşitliliğe sahip olan ülkemiz *Salvia* türleri bakımında da oldukça zengindir. *S. sclarea* L., Türkiye'de 945 türe sahip ve 58 taksona endemik 107 türle temsil edilen Lamiaceae familyasının önemli bir cinsidir (Celep ve Dimerci, 2017).

Tıbbi bitkiler kullanılmadan önce bir uzman tarafından tür teşhisi ve tayini düzgün bir şekilde yapılmalı, gerekli olan farmakognozok incelemeler yapıldıktan sonra bir uzmanın önerdiği doğrultuda kullanılmalıdır.

Bu çalışmada, Lamiaceae familyasına ait *S. sclarea* türünün toprak üstü kısımları incelenmiştir. Çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin toplam fenolik madde miktar tayini ve antioksidan aktivite tayini, türden elde edilen uçucu yağın analizi, yine ekstrelerden ve uçucu yağdan hazırlanan numuneler ile antikandidal aktiviteleri çalışılarak kimyasal ve biyolojik etkinliği incelenmiş ve farklı zamanlarda hasat edilen türün kendi içinde kıyaslaması yapılmıştır.

Türün içerdiği toplam fenolik madde miktar tayini gallik asit eşdeğer olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite tayini olarak, DPPH* ve ABTS*+ yöntemleri kullanılmıştır.

Ekstrelerin ve uçucu yağın antikandidal aktiviteleri *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* NRRL Y-900, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı tayin edilmiştir.

Uçucu yağın analizinde gaz kromatografisi kullanılmış ve farklı zamanlarda toplanan türün içeriğindeki farklılıklar kendi içinde kıyaslanmış ve tespit edilen etken bileşik miktarları aydınlatılmıştır.

Sonuçlara bakıldığında bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan farklı polariteye sahip ekstralarının kuru bitki üzerinden hesaplanan verimlerinin %2,28 - %12,8 arasında olduğu görülmektedir. En yüksek olandan en düşük olana doğru sırasıyla ekstraların verimlerinin SS5C > SS6D > SS5D > SS6C > SS6G > SS5G > SS5F > SS5F > SS6E > SS5E olduğu değerlendirilmiştir.

Çalışılan türe ait Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanmış olan toplam fenolik madde miktar tayinleri ise sırasıyla SS5E < SS6E < SS6D < SS5F < SS5D < SS5G < SS6F < SS6G tespit edilmiştir. En çok fenolik madde içeren ekstrenin metanol (SS6G) ile hazırlanan ekstre olduğu tespit edilmiş, 79,37 mg GAE/g ekstre fenolik madde içerdiği saptanmıştır.

Bitkinin farklı zamanlarda toplanan toprak üstü kısımlarının su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın veriminin düşük olması sebebiyle hesaplaması yapılamamıştır. Türün içerdiği etkili bileşikler dönem ve analiz edilen kısımlar arasında farklılık göstermiştir. Analiz sonucunda %1 ve üzerindeki kısım değerlendirilmiştir.

SS1A'dan elde edilen uçucu yağın %54,25 lik kısmı aydınlatılabilmektedir. Ana bileşenlerinin ise %16,31 ile spatulenol ve %16,02 ile 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en olarak tespit edilmiştir.

SS2A'dan elde edilen analiz sonucunda ise uçucu yağın %70,47 lik kısmı aydınlatılabilmektedir. Ana bileşenlerin ise karyofilen oksit (%13,92) ve spatulenol (%22,41), 8,13 epoksi 15,16 dinorlabd-12 en (%11,35) ve sklareol %1,81 olarak tespit edilmiştir.

SS3A'dan elde edilen uçucu yağın analiz sonucunun %90,32'lik bir kısmı aydınlatılabilmektedir. Ana bileşenlerin linalol %15,93, linalil asetat %25,68 ve %20,55 sklareol olduğu görülmüştür.

SS4A'nın uçucu yağ analiz sonunda %71,79 oranında aydınlatılabilmektedir. Ana bileşenlerin %14,95 (8,13) epoksi 15,16 dinorlabd-12 en ve %14,51 sklareol olduğu tespit edilmiştir.

SS5A'nın uçucu yağ analiz sonucu %75,26 oranında aydınlatılabilmiş ve ana bileşenlerin %28,74 spatulenol, %13,55 karyofilen oksit olarak belirlenmiştir.

SS6A'nın uçucu yağı analiz sonucunda uçucu yağın %85,26'ı aydınlatılabilmiş ve ana bileşiklerin %17,97 linalol, %24,98 linalil asetat ve %15,4 oranında sklareol olduğu tespit edilmiştir.

Bu veriler ışığında bir sene ara ile toplanan türün çiçekli kısımlarından elde edilen uçucu yağın (SS3A, SS6A) analiz sonuçlarında ana bileşenlerin benzer olduğu görülmüştür. Çiçek açtıktan sonraki dönemdeki yaprakların distile edilmesi ile elde edilen uçucu yağların (SS5A SS2A) içerikleri ise benzerlik göstermiş, fakat yine aynı şekilde toplanan SS4A içerik olarak farklılık göstermiştir. Türün çiçek açmadan önce toplanan toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın (SS1A) analiz sonucu SS4A numunesi ile benzerlik göstermiştir.

Türün sahip olduğu ana bileşenlerin linalol, linalil asetat, karyofilen oksit, spatulenol ve sklareol olduğu gözlenmiştir.

Sharopov (2015), yapmış olduğu çalışmada ana bileşenlerin Linalol, linalil asetat ve sklareol olduğu tespit edilmiştir (Sharopov, 2015). Elnir (1991), İsrail ve Rusya'dan topladığı türün ana bileşenlerinin linalol ve linalil asetat olduğu tespit edilmiştir (Elnir, 1991). Tores (1997), İspanyadan topladığı türün ana bileşenlerinin linalol, linalil asetat ve germakren- D olduğu gözlenmiştir (Torres, 1997). Souleles ve Argyriadou (1997), Yunanistan'dan topladıkları türün ana bileşenlerinin linalol ve linalil asetat olduğu gözlenmiştir (Souleles ve Argyriadou, 1997). Peana vd. (2012), İtalya'dan toplamış oldukları türün ana bileşenlerinin α -terpinil asetat, α -terpineol olduğu gözlenmiştir (Peana vd., 2012). Foray (1999), yapmış olduğu çalışmada Fransa'dan toplanan türün ana bileşenlerinin linalol, linalil asetat olduğu gözlenmiştir (Foray, 1999). Lorenzo (2004), Uruguay'da yetişen türün toprak üstü kısımlarının analiz edilmesi sonucunda elde edilen ana bileşenlerin linalil asetat, germakren D, sklareol olduğu tespit etmiştir (Lorenzo, 2004). Ronyani, Macaristan'dan topladıkları türün analiz sonucunda analiz bileşenleri linalol, linalil asetat olarak tespit edilmiştir (Ronyai, 1999). Doğan vd. (2015) yapmış olduğu çalışmada Tunceli'den toplanan türün analiz sonucunda ana bileşenlerin spatulenol, karyofilen oksit, linalil asetat, linalol olduğu gözlenmiştir (Dogan vd, 2015). Babacan vd. (2014), yağmış olduğu çalışmada Tunceli Munzur vadisinden toplanan türün analiz sonucunda karyofilen oksit, sklareol, spatulenol olduğu gözlenmiştir (Babacan vd., 2014).

Çalışmada *S. sclarea*'nın farklı zamanda toplanan örnekleri ile farklı polariteye sahip çözücülerde hazırlanan ekstraların antioksidan potansiyelleri metanol, hekzan ve etil asetat ile hazırlanmış ekstraların DPPH[•] ve ABTS^{•+} yöntemleri kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır.

S. sclarea ile hazırlanan ekstrelerin antiradikal aktivitesini tespit etmek için kullanılan DPPH• radikali süpürücü çalışmasında; bitkiden hazırlanan ekstreler içinde metanol (SS5G, SS6G) ve su (SS5D ve SS6D) ile hazırlanan ekstrelerin inhibisyon değerleri hekzan (SS5E ve SS6E) ve etil asetat (SS5F ve SS6F) ile hazırlanan ekstrelere göre daha etkin olduğu gözlenmiştir. Ekstrelerin antiradikal etkinliğinin gallik asitten daha düşük bir etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır.

Hazırlanan ekstrelerin ABTS•⁺ yöntemiyle trolokse eşdeğer antioksidan kapasitesi hesaplanmış ekstrelerin etkinliği troloxun düşük konsantrasyonlarına denk gelecek şekilde sonuçlanmıştır. Sonuçlar bulgular bölümünde tablo ile ifade edilmiştir.

Babacan, Yıldırım ve Bağcı'nın (2014), yapmış olduğu çalışmada etanol, hekzan, su ile hazırlanan ekstreler içinde etanollü ekstrenin, diğer ekstreler içinde en yüksek antioksidan etkilik sergilediği görülmüştür (Babacan, Yıldırım ve Bağcı, 2014). Lu ve Fo (2001), yapmış olduğu DPPH• antiradikal aktivite testi için altı farklı *Salvia* türü kullanılmıştır. En yüksek antioksidan etkinlik gösteren tür *S. sclarea* olarak belirlenmiştir (Lu ve Fo, 2001). Gülçin (2004), yapmış olduğu çalışmada *S. sclarea*'nın aseton ve kloroform ile hazırlanan ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri standart olarak belirlenen α -tokoferolden daha yüksek bulunmuştur (Gülçin, 2004). Tulukçu (2009), yapmış olduğu çalışmada Konya'dan toplanan *S. sclarea* üzerinde antioksidan çalışmaları yapılmış bitkinin yüksek oranda fenolik madde içerdiği gözlenmiş fakat farklı zamanlarda toplanan türün etkinlik açısından önemli bir fark bulunmamıştır (Tulukçu, 2009).

Candida albicans ATCC 10231, *Candida utilis* NRRL Y-900, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı bitkinin metanollü ekstreleri ve uçucu yağının aktivitesi incelenmiştir. Kontrol olarak ketakonazol ve ampisilin-B kullanılmıştır. Sonuçlara göre; ekstre ve uçucu yağın antikandidal etkinliği, kontrollere göre düşük kalmıştır. Fakat suşlar üzerindeki etkinlikler incelendiğinde ekstrelerin ve uçucu yağın orta düzeyde bir etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Antikandidal aktivitesi en yüksek olanın ise SS6A olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Salvia sclarea*'nın farklı zamanlarda hasat edilmiş toprak üstü kısımlarının su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağında linalol, linalil asetat, spatulenol, karyofilen oksit, sklareol'un en belirgin şekilde yer aldığı görülmüştür. Farklı zamanlarda hasat edilen türün bekledikçe uçucu

yağındaki etken bileşiklerde azalmanın ve değişimin olduğu görülmüştür. Bitkinin metanollü ve sulu ekstresinin hazırlanan diğer eksreler içinde DPPH[•] üzerinden antiradikal aktivite testinde standart olarak gallik asite yakın etkinlik göstermiştir. Ayrıca *S. sclarea*'nın uçucu yağının ve metanollü ekstresinin kandidalar üzerindeki etkisinin kontrole göre düşük olduğu görülmüş ancak genel olarak kandidalar üzerindeki etkinliği incelendiğinde göz ardı edilemeyecek bir etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma, *S. sclarea*'nın daha kapsamlı çalışılması gereken bir tür olduğunu, türün antimikrobiyal etkinlik açısından da detaylı bir şekilde incelenmesinin önünü açmıştır. Ülkemizde doğal olarak yetişen ve terapötik potansiyeli olan *S.sclarea*'nın araştırılması konusu ülkemiz araştırmacıları açısından da önemlidir. Bu nedenle türün potansiyellerinin iyi değerlendirilmesi ve farklı biyolojik aktivitelerinin belirlenerek farmasötik alanda kullanılabilirliği değerlendirilmelidir.

KAYNAKÇA

- Arihan S. (2003). Antik Dönemde Tıp ve Bitkisel Tedavi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi
- Arthur H. R. and Atal C. K. (1974). Triterpenes from *Lithocarpus* species, *Phytochemist*, 13(11), 2551-2557.
- Atal C. and Kapur B. (1982). Cultivation and Utilization of Aromatic Plants. Council of Scientific and Industrial Research, 15-21.
- Aydoğan F. (2006). *S. sclarea* L. Bitkisinin Uçucu Yağ Bileşimi ve Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Araştırmalar, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Malatya, İnönü Üniversitesi.
- Babacan Y. E., Yıldırım N. and Bağcı E. (2014). Essential Oil Composition, Antioxidant and Antifungal Activities of *S. sclarea* L. from Munzur Valley in Tunceli, *Cellular & Molecular Biology*, 60(2), 1-5.
- Badoc A. and Lamarti A. (2011). Chemotaxonomic Evaluation of *Anethum graveolens* L. Dill of various Origins. *Journal of Essential Oil Research*, 3(4), 269-272.
- Baytop T. (1986). Farmakognozi Ders Kitabı . İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 168-170.
- Bertolli A. (2011). *Hypericum* species as Valuable Source of Essential Oils, *Medicinal and aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5(1), 29-47.
- Bhargava V., Patel S. C. and Desai K. S., (2013). Importance of Terpenoids and Essential Oils in Chemotaxonomic Approach, *International Journal of Herbal Medicine*, 1(2), 2321-2187.
- Biren S. and Sheth A. K. (2010). Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1st ed Kindle edition, 280-281.
- Blainski A. and Lopes C. (2013). Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865.
- Boelens M. H. (1997). Chemical and Sensory Evaluation of Three Sage Oils, *Perfumer Flavorist*, 20(3), 23-51.
- Burt S. (2004). Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications In Foods a Review, *International Journal of Food Microbiology*, 93(3), 223-253.

- Celep F. (2010). Morphology, Anatomy, Palynology and Nutlet Micromorphology on the Rediscovered Turkish Endemic *Salvia ballsiana* (Lamiaceae) and Their Taxonomic Implications, *Nordic Journal of Botany*, 28(1), 91-99.
- Celep F., Dimerci T. (2017). Systematic and Biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey, *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4), 14-27.
- Česonienė L. (2014). Antimicrobial activity of *Viburnum opulus* Fruit Juices and Extracts, *J für Verbraucherschutz und Leb*, 9(2), 129-132.
- Ceylan A. (1987). Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler), Ege Üniversitesi. *Ziraat Fakültesi Yayınları*, No:481, Bornova, İzmir, ISBN:975-483-362-1, 225-240.
- Chalchat J. C., Michet A. und Pasquier B. (1998). Study of clones of *Salvia officinalis* L. Yields and Chemical Composition of Essential Oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 13(1), 68–70.
- Cuvelier M. E., Berset C. and Richard H. (2010). Use of a New Test for Determining Comparative Antioxidative Activity of Butylated Hydroxyanisole, Butylated Hydroxytoluene, Alpha and Gamma Tocopherols and Extracts from Rosemary and Sage, *Sciences Des Aliments*, 10(4), 797–806.
- Daems W. F. (1993). Nomina Simplicium Medicinarum et Synonymariis Medii Aevi Collecta. Semantische Untersuchungen zum Fachwortschatz Hoch und Spätmittelalterlicher Drogenkunde Leiden, *Medical History*, 38(2), 227.
- Dantz J. und Uffenbach P. (2017). Kräuterbuch des Uralten und in Aller Welt Berühmtesten Griechischen Scribenten von Pedacii Dioscoridis aus Anazarbos, Frankfurt : K.Köbel Verlag, 1610, 229-230.
- Das N. P. and Pereira T. A. (1990), Effects of Flavonoids on Thermal Autoxidation of Palm Oil: Structure-Activity Relationships. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 67, 255–258.
- Dayı T. ve Beyhan Y. (2020) Korona Virüs Pandemisi: Yeniden Önem Kazanan Gıda Kaynaklı Hastalıklar, Nedenleri ve Önleme Yolları, *Sağlık ve Toplum Özel Sayı-Temmuz*, 175-181.
- Dogan G., Babacan E. and Hayta Ş. (2015). Composition of the Essential Oil of Two *Salvia taxa* (*S.sclarea* and *Salvia verticillata* subsp. *verticillata*) from Turkey, *Natural and Discovery*, 1(3), 62-67.

- Doğanoğlu ., Gezer A. ve Yücedağ C. (2006). Gller Bölgesi-Yenişar bademli Yresinin nemli Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitki Taksonları zerine Araştırmalar, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(1), 66-73.
- Dorman H. J. D., Peltoketo A., Hiltunen R. and Tikkanen M. J. (2003). Characterisation of the Antioxidant Properties of Deodourised Aqueous Extracts from Selected Lamiaceae Herbs, *Chemistry*, 83(2), 255-262.
- Dzamic A. (2008), Composition and Antifungal Activity Of *S. sclarea* L. Essential Oil, *Archives of Biological Sciences*, 60 (2), 233-237.
- Edris A. E. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review, *Phytotherapy Research*, 21(4), 308–323.
- Elisabetsky E., Brum L. F. and Souza D. O. (1999), Anticonvulsant Properties of Linalol in Glutamate-Related Seizure Models, *Phytomedicine*, 6(2),107-113.
- Elnir O. (1991). The Chemical Composition of Two Clary Sage Chemotypes and Their Hybrids. *Flavour and Fragrance Journal*, 6(2), 153-155.
- Foray L. (1999). *In vitro* Cytotoxic Activity of Three Essential Oils from *Salvia* Species, *Journal of Essential Oil Research*, 11(4), 522-526.
- Fournier P. (1947). Dictionnaire des Plantes Mdicinales et Vnneuses de France, Paris, Omnibus Verlag, 79.
- Fратиanni F. (2010). Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils, *Journal of Food Science*, 75(8), 528–535.
- Goyal A. and Tailor C. S. (2014). Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum onyzoides* Linn. Leaves, *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4), 244-249.
- Grieve M. (1984). A Modern Herbal: The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folklore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs and Trees with All Their Modern Scientific Uses.
- Gruyter D. (2014). Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch, Berlin, 289-292.
- Gülçin I. (2000). On the *in vitro* Antioxidative Properties of Melatonin, *Journal of Pineal Research*, 33(3), 167- 171.
- Gülçin I., Bykokuroğlu M. E. and Oktay M. (2003). Antioxidant and Analgesic Activities of Turpentine of *Pinus nigra* Arn. Subsp. *pallsiana* (Lamb.), *Journal of Ethnopharmacology*, 86(1), 51-58.

- Gülçin İ. (2004). Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*S. sclarea* L.), *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, (28)1, 25-33.
- Hoffmann D. (1991). Thorsons Guide to Medical Herbalism-a Comprehensive and Practical introduction, 220-224.
- Holley R. and Patel D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273-292.
- Hotton P. (2017). Thesaurus Phytologicus. Nürnberg, 1738, 403-405.
- Hristova Y. (2013). Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oil of *S. sclarea* L. from Bulgaria Against Clinical Isolates of *Candida* Species J. Bioscience, *Biotechnology and Biochemistry*, 29(3), 39-44.
- Hu Y. (2007). Mechanisms of Antifungal and Anti-Aflatoxicogenic Properties of Essential Oil Derived from Turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*, *Food Chemistry*, 1(220), 1-8.
- İpek A. (2015). Türkiye Florasında Nadir Bulunan Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Araştırılması Doktora Semineri. Ankara: Fen Bilimleri Enstitüsü, 51.
- İpek A. ve Gürbüz B. (2010). Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 30-35.
- Jerković J. and Mastelić I. (2003). Application of Co-distillation with Superheated Pentane Vapour to the Isolation of Unstable Essential Oils, *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 521-526.
- Kalia A. N. (2018). Textbook of Industrial Pharmacognosy, *Navneet Publication*, 201, 132-162.
- Kılıç T. and Çarıkçı S. (2009). Diterpenoids from *Sideritis condensata*. Evaluation of chemotaxonomy of *Sideritis* Species and Insecticidal Activity, *Chemistry of Natural Compounds*, 45(6), 918-920.
- Kintzios S. E. (2020). Sage: The Genus *Salvia*. Harwood Academic Publishers, *Phytochemistry*, 58(6), 987.
- Kunzlé J. (1947). Bonnes et Mauvaises Herbes: Guide Pratique des Plantes Qui Guérissent, Freiburg:Kanisius-Verlag, 54-55.
- Kutlu G. (2015) Misk Adaçayı Tohumlarından Optimum Koşullarda Üretilen Gamin Fizikokimyasal Kompozisyonel, Konformasyonel ve Reolojik Özelliklerinin

- Belirlenmesi, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Küçük S., Soyer P. and Tunalı Y. (2019). Determination of Antimicrobial and Biological Activities of *S. sclarea* L. (Lamiaceae) Extracts, *Journal Of The Turkish Society Chemistry*, 6(1), 15-20.
- Kwon H. A., Kwon D. Y. and Lee J. H. (2008). Evaluation of Antibacterial Effects of a Combination of Coptidis Rhizoma, Mume Fructus and Schizandrae Fructus against *Salmonella*, *International Journal of Food Microbiology*, 127(1-2),180-183.
- Leung A. Y. (1989). Cosmetics Made from Chinese Herb Extrac, *Drug and Cosmetic Industry*, 35-40.
- Loizzo M. R. (2007). Cytotoxic Activity of Essential Oils from Labiatae and Lauraceae Families Against *In vitro* Human Tumor Models, *Anticancer Research*, 27(5A), 3293-3299.
- Lorenzo D., Paz D. and Davies P. (2004). Characterization and Enantiomeric Distribution of Some Terpenes in the Essential oil Of a Uruguayan Biotype of *S. sclarea* L., *Flavour and Fragrance Journal*, 19(4), 303-307.
- Lu Y. and Fo L. (2002). Polyphenolics of *Salvia* a Review, *Phytochemistry*, 59(2), 117-140.
- Lu Y. and Fo L. (2001). Salvianolic acid L. a Potent Phenolic Antioxidant from *Salvia officinalis*, *Tetrahedron Letters*, 42(46), 8223–8225.
- Mammadov R. (2014). Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler, Ankara, Nobel Yayıncılık, 30-33.
- Miller N. J., Diplock A. T. and Evans C. (1993). Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Status In Premature Neonates, *Clinical Science*, 84(4), 407-412.
- Namiki M. (1990). Antioxidants, Antimutagens In Food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(4), 273–300.
- Özdemir C. and Şenel G. (1999). The Morphological, Anatomical and Karyological Properties of *S. sclarea* L., *Türkiye Journal of Botany*, 23(1), 7-18.
- Özhatay N. (2000). Flora of Turkey and East Aegean Islands, *Edinburgh University Press*. 204-206.

- Öztürk G. (2017). Ağız Patojenlerine Etkili Olabilecek Bazı Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimlerinin ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Peana A. T. (2002). Anti-inflammatory Activity of Linalol and Linalyl Acetate Constituents of Essential Oils, *Phytomedicine*, 9(8), 721-726.
- Peana A. T., Moretti D. L. and Juliano C. (2012). Chemical Composition and Antimicrobial Action of the Essential Oils of *Salvia desoleana* and *S. sclarea* *Planta Medica*, 65(8), 752-754.
- Peana A. T. and Moretti D. L. (2002). Pharmacological Activities and Applications of *S. sclarea* and *Salvia desoleana* Essential Oils, *Studies in Natural Products Chemistry*, 26, 391-423.
- Perfect J. R. (2016). Is there an Emerging Need for New Antifungals?, *Expert Opin Emerg Drugs*, 21, 129–131.
- Pfaller M. A. (2002). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard Second Edition, The National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Poletti A. (1978). *Fleurs et Plantes Médicinales*, Editions de la Matze, 297.
- Porter W. L. (1980). Recent Trends In Food Applications of Antioxidants. In *Autoxidation in Food and Biological Systems*, 295-366.
- Raafat K. and Habib J. (2018). Phytochemical Compositions and Antidiabetic Potentials of *S. sclarea* L. Essential Oils, *Journal of Oleo Science*, 67(8), 1015-1025.
- Rauha J. P., Remes S. and Heinonen M. (2000). Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56(1), 3-12.
- Ronyai E. (1999). Comparison of the Volatile Composition of Clary Sage Oil Obtained by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction, *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 69-71.
- Schelz Z., Molnar J. and Hohmann J. (2006). Antimicrobial and Antiplasmid Activities of Essential oils, *Fitoterapia*, 77(4), 279-85.
- Senatore F. (2006). Chemical Composition of the Essential oil of *Salvia microstegia* Boiss. et Balansa growing wild in Lebanon. *Journal of Chromatography*, 1108(2), 276
- Setia S. (2008). A Textbook of Pharmacognosy, *Vikas Publication*, London, 224-238.

- Sepahvand R., Delfan B. and Ghanbarzadeh S. (2014). Chemical Composition, Antioxidant Activity and Antibacterial Effect of Essential Oil of the Aerial Parts of *Salvia sclareaoides*, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1), 491-496.
- Sharopov F. S. (2015). Chemical Compositions of the Essential Oils of Three *Salvia* Species cultivated in Germany, *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 3(2), 26-29.
- Sharopov F. S., Setzer W. N. (2012). *S. sclarea* Essential Oil From Tajikistan, *Records of Natural Products*, 6(1), 75-79.
- Singleton V. L., Orthofer R. and Raventos R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin–Ciocalteu. *Methods Enzymol*, 299, 152–178.
- Souleles C. and Argyriadou N. (1997). Constituents of the Essential Oil of *S. sclarea* Growing Wild in Greece, *International Journal of Pharmacognosy*, 35(3), 218-220.
- Stark A.H., Crawford M. and Reifen R. (2004). An update on: *S. sclarea* oil, The Hebrew University of Jerusalem, Faculty of Agricultural, *Food and Environmental Quality Sciences*, 4(2), 1-53.
- Stoffler H.D. (1978). *Der Hortulus des Walahfrid Strabo Aus dem Kräutergarten des Klosters*, Sigmaringen : Jan Thorbecke Verlag.
- Şengün İ. Y. ve Öztürk B. (2018). Bitkisel Kaynaklı Bazı Doğal Antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 256-276.
- Tanker M. ve Tanker N. (1998). *Farmasötik Botanik*. Ankara: *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*.
- Tisserand R. (2014). *The Art of Aromatherapy*, Churchill Livingstone, London, 25-27.
- Tofana M. (2016). Determination of Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Selected *Salvia* Species, *Bulleti Food Science and Technology*, (73)1, 14-18.
- Torres M. E. (1997). Volatile Constituents of Two *Salvia* Species Grown Wild in Spain, *Journal of Essential Oil Research*, 9(1), 27-33.
- Tulukcu E. (2009). Effect of Collection Time on Biological Activity of Clary Sage (*Salvia sclarea*), *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83(1), 44-49.
- Ulubelen A., Sonmez U. and Topcu G. (1997). Diterpenoids From the Roots of *Salvia sclarea*, *Phytochemistry*, 44, 1297-1299.

- Pernandes E., Carvalho F., Andrade P. B. and Seabra R. M. (2002). Antioxidant Activity of *Hypericum androsaemum* Infusion: Scavenging Activity Against Superoxide Radical, Hydroxyl Radical and Hypochlorous Acid, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(10), 1320-1323.
- Verma R. S. (2010). Chemical Investigation of Decanted and Hydrophilic Fractions of *S. sclarea* Essential Oil. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 17(3), 102-107.
- Vichi S., Eglseer K., Jugl M., and Franz C. (2001). Determination of the Presence of Antioxidants Deriving from Sage and Oregano Extracts Added to Animal Fat by Means of Assessment of the Radical Scavenging Capacity by *Photochemiluminescence Analysis*. *Nahrung/Food*, 45(2), 101-104.
- Vincenzi D. and Mancini (1994). Monographs on Botanical Flavouring Substances Used In Foods. *Fitoterapia-Part III*.
- Wabner D. and Beier C. (2012). *Aromatherapie Grundlagen-Wirkprinzipien-Praxis* München, Elsevier Urban&Fischer Verlag.
- Walker J. B. and Sytsma, K. J. (2007). Staminal Evolution in the Genus *Salvia* Staminal Evolution in the Genus *Salvia* (Lamiaceae): Molecular Phylogenetic Evidence for Multiple Origins of the Staminal Lever, *Annals of Botany*, 100(2), 375-391.
- Warrier P. K., Nambiar V. P. K. and Ramankutty C. (2002). *Indian Medicinal Plants: A Compendium of 500 species*. Kottakkal-India, 19-26.
- Wu X. Z. (2008). Effect of Plagiochin E, an Antifungal Macrocyclic Bis (bibenzyl), on Cell Wall Chitin Synthesis in *Candida albicans*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 12, 1478–1485.
- Yildirim N., Bekler F. M. and Yildirim N. C. (2010). *In vitro* Antimicrobial Evaluation Of Commercial Tea Extracts Against Some Pathogen Fungi and Bacteria. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5(4), 821-827.