

***SALVIA VIRGATA* Jacq. VE  
*SALVIA HALOPHILA* Hedge'NİN  
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN VE  
BİLEŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Bio. Fatih GÖGER**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmakognozi Anabilim Dalı  
Ağustos - 2006**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fatih GÖGER'in "*Salvia virgata* Jacq. ve *S. halophila* Hedge'nin Antioksidan Etkilerinin ve Bileşimlerinin Belirlenmesi" başlıklı Farmakognozi Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi ..... tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: .....	.....
Üye	: .....	.....
Üye	: .....	.....

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü  
Prof.Dr. Yasemin YAZAN

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## **SALVIA VIRGATA Jacq. VE SALVIA HALOPHILA Hedge’NİN ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN VE BİLEŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Bio. FATİH GÖGER**

**Anadolu Üniversitesi**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakognozi Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç.Dr. Müberra KOŞAR**

**2006**

Bu tez kapsamında Lamiaceae familyasında aynı gruba dahil olan *Salvia halophila* Hedge (endemik) ve *S. virgata* Jacq.’nın toprak üstü kısımlarından elde edilmiş farklı polaritelerdeki ekstraların antioksidan aktiviteleri ve kimyasal bileşimleri incelenmiştir. Soxhlet ekstraksiyonuyla hekzan, etilasetat, metanol ve %50 metanol ekstraları hazırlanmıştır. Ayrıca Clevenger ile uçucu yağlarından kurtarılmış sulu ekstresi de incelenmiştir. Ekstrelerin antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikal süpürücü etkileri,  $\beta$ -karoten-linoleik asit birlikte oksidasyonunu ve linoleik asit peroksidasyonunun inhibe etmeleri incelenmiştir. Ayrıca ekstraların indirgeme kapasiteleri ile spektrofotometrik (toplam fenol, toplam flavonoid, toplam flavonol) ve kromatografik (YBSK, GC/MS, GC/FID, LC/MS) olarak kompozisyonları da belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Salvia halophila*, *Salvia virgata*, Antioksidan Aktivite, Kromatografi

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

### DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE COMPOSITIONS OF *SALVIA VIRGATA* Jacq. VE *SALVIA HALOPHILA* Hedge

Bio. FATİH GÖGER

Anadolu University  
Graduate Institute of Health Science  
Department of Pharmacognosy

Supervisor: Assos.Prof.Dr. Müberra KOŞAR

2006

The antioxidant activity and chemical composition of *Salvia halophila* Hedge and *S. virgata* Jacq. Which belong to the same group in the family Lamiaceae were investigated. Hexane, ethyl acetate, methanol and 50% methanol extracts were prepared by Soxhlet extraction. In addition, the essential oilfree water extracts obtained by Clevenger distillation were also analysed. Antioxidant activity of the extracts were determined using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) radical scavenging activity,  $\beta$ -carotene-linoleic acid co-oxidation assay and linoleic acid peroxidation assay. In addition, the reduction power and chemical composition of extracts were analysed by spectrophotometric (total phenol, total flavonoids, total flavonols) and chromatographic (HPLC, GC/MS, GC/FID, LC/MS) techniques.

Keywords: *Salvia halophila*, *Salvia virgata*, Antioxidant Activity,  
Chromatography

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince sabır ve anlayışla, maddi ve manevi desteğini benden hiç esirgemeyen, değerli bilgilerini bana aktaran, danışman hocam, Doç.Dr Müberra KOŞAR'a

Tez çalışmamı Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yapmama imkan sağlayan ve tecrübe ve bilgileriyle bana her zaman yardımcı olan Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. K.Hüsnü Can BAŞER'e ve desteğini her zaman arkamda hissettiğim hocam Prof. Dr. Neş'e KIRIMER'e,

Çalışmalarım sırasında GC/MS analizlerimi gerçekleştiren Yard. Doç. Dr Temel ÖZEK'e,

Arazi çalışmalarımda benden yardımını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye,

Çalışmalarım sırasında manevi desteğini ve bilgilerini esirgemeyen Dr. Ecz. Zeynep TUNALIER ve deneysel çalışmalarımda yardımcı olan arkadaşlarım Ecz. Aykut Bora GÜRSU ve Ecz. Şengül GÖKMEN'e,

*Salvia halophila*'nın toplanması sırasında bana yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Yüksel KAN'a,

*Salvia virgata*'nın toplanmasında bana yardımcı olan Ecz. Mustafa Günar GÜNEŞ'e,

LC/MS analizlerimin alınmasında yardımcı olan Araş. Gör. Erol ŞENER (AUBİBAM)'e ,

Tüm çalışmalarım sırasında her türlü manevi desteği gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı üyelerine,

Eskişehir'de geçirdiğim bu dört yıl boyunca benden maddi ve manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım,

Fatih GÖGER

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI .....	3
2.1. Botanik Özellikler .....	3
2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası .....	3
2.1.2. <i>Salvia</i> cinsi .....	3
2.1.2.1. <i>Salvia halophila</i> Hedge .....	4
2.1.2.2. <i>Salvia virgata</i> Jacq. ....	5
2.2. Farmakopelerde Kayıtlı Olan <i>Salvia</i> Türleri .....	6
2.3. <i>Salvia</i> Türlerinin Kullanımı .....	7
2.4. <i>Salvia</i> Türlerinin Türkiye’de Etnofarmakognozideki Yeri .....	7
2.5. <i>Salvia</i> Türlerinin Kimyasal Bileşimleri .....	9
2.5.1. <i>Salvia</i> türlerinde bulunan fenolik asitler .....	9
2.5.2. <i>Salvia</i> türlerinde bulunan polifenoller .....	11
2.6. Ülkemizde Yetişen <i>Salvia</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Kimyasal Çalışmalar .....	12
2.7. <i>Salvia</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları .....	12
2.8. Antioksidanlar .....	21
2.8.1. Oksijen .....	22
2.8.2. Reaktif oksijen türleri (ROS) .....	23
2.8.2.1. Serbest oksijen radikalleri .....	24
2.8.2.2. Serbest olamayan oksijen radikali .....	27

2.8.3. Reaktif azot türleri (RNS) .....	28
2.8.3.1. Serbest azot radikali .....	28
2.8.3.2. Serbest olmayan azot radikali .....	29
2.8.4. Oksidatif stres .....	29
2.8.5. Lipit peroksidasyonu .....	30
2.8.6. Antioksidan maddeler .....	32
2.8.6.1. Antioksidan savunma mekanizması .....	33
2.8.7. Gıdalarda kullanılan antioksidanlar .....	37
2.8.8. Oksidasyon ve hastalıklar .....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	39
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyaller, Kimyasal Maddeler ve Gereçler .....	39
3.1.1. Bitkisel materyal .....	39
3.1.2. Kimyasal maddeler .....	39
3.2.3. Kullanılan aletler .....	39
3.2. Deneysel Çalışma .....	40
3.2.1. Ekstrelerin hazırlanışı .....	40
3.2.2. Kompozisyon analizleri .....	40
3.2.2.1. Toplam fenol miktar tayini .....	40
3.2.2.2. Toplam flavonoit miktar tayini .....	41
3.2.2.3. Toplam flavonol miktar tayini .....	41
3.2.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile fenolik bileşiklerin analizi .....	41
3.2.2.5. Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ve gaz kromatografisi (GC/FID) ile apolar bileşiklerin analizi .....	42
3.2.2.6. Sıvı kromatografisi/kütle spektrometrisi (LC/MS) ile hekzan ekstresinin analizi .....	43
3.2.3. Hekzan ekstrlerinin analizleri .....	44
3.2.4. Antioksidan aktivite çalışmaları .....	46
3.2.4.1. İndirgeme gücünün belirlenmesi .....	46
3.2.4.2. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH <sup>•</sup> ) radikalini	

süpürücü etki tayini .....	46
3.2.4.3. Linoleik asit peroksidasyonunu inhibe edici etki tayini	47
3.2.4.4. $\beta$ -karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini .....	47
4. BULGULAR .....	49
4.1. Ekstrelerin Hazırlanışı, Spektrofotometrik ve Kromatografik Kompozisyon Analizleri .....	49
4.2. Hekzan ekstrelerinin bileşimlerinin belirlenmesi .....	57
4.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları .....	64
4.3.1. İndirgeme gücünün belirlenmesi .....	64
4.3.2. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH <sup>•</sup> ) radikalini süpürücü etki tayini .....	64
4.3.3. Linoleik asit peroksidasyonunu inhibe edici etki tayini .....	67
4.3.4. $\beta$ -karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini .....	72
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	74
KAYNAKLAR .....	82
ÖZGEÇMİŞ .....	98



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı	6
2.2. Oksijenin indirgenmesi	23
2.3. Hidroksil radikali ile alkol etkileşimi	25
2.4. Karbon radikali ile oksijenin birleşmesi	25
2.5. İki karbon radikali arasındaki radikal olmayan molekül oluşumu	25
2.6. Hidroksil radikaliyle H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çıkartılması sonucu lipid peroksidasyonunun başlatılması	25
2.7. Hidroksil radikalleri ile klor iyonlarının etkileşimi	26
2.8. Süperoksit anyon radikallerinin dismutasyon reaksiyonu	26
2.9. Organik peroksitlerin demir(II) iyonları ile bozulması	27
3.1. Mikro distilasyon-tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (MSD-HS-SPME) yönteminde kullanılan cam aparey ve SPME enjektörünün kullanım prensibi	45
4.1. <i>S. halophila</i> ekstralarının YBSK kromatogramları	52
4.2. <i>S. virgata</i> ekstralarının YBSK kromatogramları	54
4.3. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstralarından tanımlanan ve miktarları belirlenen fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları	56
4.4. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> hekzan ekstralarının MSD-HS-SPME yöntemi sonucunda elde edilen GC/MS kromatogramları	58
4.5. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> hekzan ekstralarının BF <sub>3</sub> ile türevlendirilmesi sonucunda elde edilen GC/MS kromatogramları	58
4.6. <i>S. halophila</i> hekzan ekstrasının LC/MS analizi sonucu alınan toplam iyon kromatogramı	61
4.7. <i>S. virgata</i> hekzan ekstrasının LC/MS analizi sonucu alınan toplam iyon kromatogramı	62
4.8. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstralarının ve standartların demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme kapasitesi	65
4.9. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstralarının ve standartların DPPH <sup>•</sup> radikalini süpürme kapasitesi	66
4.10. Linoleik asit oksidasyonunda <i>S. halophila</i> ekstralarının ve standartların etkileri	68
4.11. Linoleik asit oksidasyonunda <i>S. virgata</i> ekstralarının ve standartların etkileri	69
4.12. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstralarının ve standartların linoleik asit peroksidasyonunda MDA oluşumuna etkileri	71
4.13. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstralarının ve standartların β-karoten/linoleik asit peroksidasyonuna etkileri	73
5.1. DPPH <sup>•</sup> radikali ile hidrojen verici fenolik bileşiklerin reaksiyon mekanizması	77

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. Ülkemizde yetişen <i>Salvia</i> türleri ile yapılmış kimyasal çalışmalar	13
2.2. Reaktif oksijen türleri	23
2.3. Reaktif azot türleri	28
4.1. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> 'dan elde edilen ekstrelerin verimleri	49
4.2. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstrelerinin toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam flavonol miktarları	50
4.3. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstrelerinin YBSK analiz sonuçları	51
4.4. YBSK analizlerinde kullanılan standartlara ait kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları	51
4.5. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> 'nın hekzan ekstrelerinin MSD-HS-SPME yöntemi ile elde edilen bileşikleri (GC/MS)	59
4.6. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> 'nın hekzan ekstrelerinin BF <sub>3</sub> ile türevlendirilmesi sonucu elde edilen bileşikleri (GC/FID)	60
4.7. <i>S. halophila</i> hekzan ekstresine ait LC/MS analiz sonuçları	63
4.8. <i>S. virgata</i> hekzan ekstresine ait LC/MS analiz sonuçları	63
4.9. <i>S. halophila</i> ve <i>S. virgata</i> ekstrelerinin 10 saatlik hızlandırılmış oksidasyon sonundaki MDA oluşumunu inhibe etme yüzdeleri	70

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>DPPH•</b>	: 1,1-difenil-2-pikril hidrazil radikali
<b>YBSK</b>	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
<b>GC/MS</b>	: Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometrisi
<b>GC/FID</b>	: Gaz Kromatografisi / Alev İyonlaşma Dedektörü
<b>LC/MS</b>	: Sıvı Kromatografisi / Kütle Spektrometrisi
<b>mg</b>	: miligram
<b>mL</b>	: mililitre
<b>IC<sub>50</sub></b>	: Yüzde ellisini inhibe eden konsantrasyon
<b>%AA</b>	: Yüzde antioksidan aktivite
<b>MSD-HS-SPME</b>	: Mikro distilasyon- tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon
<b>PDMS/DVB</b>	: Polidimetilsiloksan/divinilbenzen
<b>g</b>	: gram
<b>L</b>	: litre
<b>AscAE</b>	: Askorbik asite eşdeğer miktar
<b>GAE</b>	: Gallik asite eşdeğer miktar
<b>RE</b>	: Rutine eşdeğer miktar
<b>m/z</b>	: Kütle/yük oranı
<b>ESI</b>	: Elektron Sprey İyonizasyon
<b>MDA</b>	: Malondialdehit

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye, tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Türkiye Florası'nda 11.000'in üzerinde tür kayıtlıdır. Bunlardan yaklaşık 1000 kadarı halk arasında tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Baytop1999). Halk arasında tıbbi bitkiler en fazla çay formunda tüketilmektedir. Tıbbi çaylar arasında da önemli bir kısmı Lamiaceae (Labiatae) bitkileri oluşturmaktadır. Lamiaceae familyası tüm dünyada uçucu yağları ile en çok tanınan ve çalışılan bitkileri kapsar.

Ülkemizde *Salvia* cinsinin 89 türü ve 94 taksonu doğal olarak yetişmektedir. Bunların 45 taksonu endemiktir (Hedge 1982). *S. fruticosa* Miller, *S. tomentosa* Miller ve *S. aramiensis* Rech. fil. çay olarak halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. *S. fruticosa* "elma" ve bu bitkiden elde edilen uçucu yağ ise "elma yağı" adıyla bilinmektedir. Hem yaprak hem de uçucu yağ Türkiye'nin önemli ihraç ürünlerindedir. 2002 yılında, Türkiye'nin adaçayı yaprak ihracatı 1500 tonun üzerindedir ve 3 milyon US\$ dolar girdi sağlanmıştır. Adaçayı Yağı üretimi ise 300-500 kg dır. *S. officinalis* L. ise tüm dünyada tıbbi amaçla kullanılan *Salvia* türüdür. *S. officinalis* Türkiye'nin doğal bitkisi değildir ve Ege bölgesinde kültürü yapılmaktadır. (Baytop 1999, Başer 2002)

*Salvia* türleri ülkemizde genellikle dahilen mideyi, terlemeyi durdurucu, diüretik ve haricen yara iyi edici olarak genellikle infüzyonları halinde kullanılmaktadır. Ülkemizde yetişen ve halk arasında tedavi amacıyla kullanılan türler şunlardır: *S. fruticosa* (Anadolu adaçayı, Elma çalbası), *S. aethiopis* L. (Yünlü adaçayı), *S. dichroantha* Stapf (Kutnu), *S. forskahlei* L.(Şalba), *S. multicaulis* Vahl (Kürt reyhanı), *S. sclarea* L. (Ayıkulağı, Misk adaçayı, Tüylü adaçayı), *S. tomentosa* (Büyük çiçekli adaçayı), *S. verbenaca* L. (Yabani adaçayı), *S. virgata* (Yılancık), *S. viridis* L. (Yeşil adaçayı). (Baytop1991, Baytop1994, Baytop 1999)

Son yıllarda sentetik antioksidanların insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle bunların yerine kullanılabilir doğal madde arayışı hızla sürmektedir. *Salvia* türleri de bu araştırmaların yoğun olarak sürdürüğü türlerin başında gelmektedir. Tüm dünyada tıbbi adaçayı olarak bilinen ve

kullanılan *S. officinalis*'in antioksidan aktivitesi de çok iyi bilinmekte ve bu amaçla da kullanılmaktadır. *Salvia* türlerinin bu etkilerinden daha çok içermiş oldukları hidroksisinnamik asit türevleri (kafeik ve rozmarinik asitler), flavonoidler (luteolin, apigenin ve glikozitleri) ve diterpenoidleri (karnosol, karnosik asit ve metil karnosol gibi) sorumludur (Deans ve Simpson 2000).

Türkiye florası *Salvia* türleri bakımından da oldukça zengindir. Bu türler arasındaki endemizm oranı da oldukça yüksektir (yaklaşık %50). Bu tez kapsamında Türkiye florasında aynı grupta bulunan, endemik bir tür olan *S. halophila* ve yaygın olarak yetişen ve ayrıca halk arasında kan kanseri tedavisinde dekoksasyonu halinde kullanılan (G. Tümen ve H. Malyer ile sözlü görüşme) *S. virgata* çalışılmak amacıyla seçilmiştir. Her iki tür de Türkiye Florası'nda aynı taksonomik grup içerisinde bulunmaktadır. *Salvia* türleri özellikle son yıllarda antioksidan aktivite araştırmacılarının büyük ilgisini çekmektedir. Farklı ülkelerde farklı türler hem aktivite hem de kimyasal çalışmalarda kullanılmaktadır.

Daha önce grubumuz tarafından gerçekleştirilen ve yayınlanan *Salvia* türlerinin antioksidan aktiviteleri ile ilgili tarama çalışmasında (Bozan ve ark 2002) önemli aktivite gösteren *S. halophila* ve *S. virgata* bitkileri daha detaylı bir araştırma amacıyla tez kapsamında incelenmiştir. Bu iki türün antioksidan etkileri ve bu etkiden sorumlu bileşiklerinin incelenmesi bu tezin amacını oluşturmaktadır. Bu amaçla farklı polaritelerdeki ekstratlar *in vitro* antioksidan aktivite testlerinden 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikal süpürücü etki, linoleik asit peroksidasyonunu engelleyici etki,  $\beta$ -karoten-linoleik asit peroksidasyonunu engelleyici etki testleri yapılmış ve ekstratların indirgeme kapasiteleri de belirlenmiştir. Ayrıca ekstratların antioksidan aktiviteden sorumlu olabilecek fenolik bileşikleri hem spektrofotometrik hem de kromatografik yöntemlerle incelenmiştir.

## 2. KAYNAK TARAMASI

Bu bölümde *Salvia* cinsi ile ilgili botanik, kimyasal, etnofarmakognozik ve farmakolojik araştırmalar özetlenmektedir. Botanik bilgiler Türkiye Florası (Hedge 1982) temel alınarak, diğer bölümler ise çeşitli veri tabanları, literatür bilgileri ve internet kullanılarak derlenmiştir.

### 2.1. Botanik Özellikler

#### 2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası

Başlıca Akdeniz havzasında yayılış gösteren, uçucu yağ taşıyan, bir veya çok senelik otsu bitkiler veya çalılardır. Gövde 4 köşeli, yapraklar basit veya parçalı, dekusat dizilişlidir. Çiçekler yaprakların koltuğunda, sık kümeler halinde bulunur (Hedge 1982). Tıpta ve parfümeride kullanılan birçok uçucu yağın kaynağı olması nedeniyle önemli bir familyadır. Uçucu yağ epiderma üzerindeki salgı tüylerinde bulunur. Başı 8 hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri bu familya için karakteristiktir. Lamiaceae familyası bitkileri halk arasında da oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkiler daha çok çay ya da baharat olarak kullanılırlar. Bu familya bitkileri aynı zamanda ülkemizin önemli ihraç maddeleri arasında da yer almaktadır (Baytop 1999). Ülkemizde bu familyanın uçucu yağları ile ilgili olarak yoğun araştırmalar Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı tarafından yapılmaktadır. Bu familya bitkileri ayrıca son yıllarda antioksidan aktiviteye sahip bitkileri bakımından da araştırma odağı olmuştur. Bu bitkilerden halen dünyada etkisi bilinen ve kullanılan *Rosmarinus officinalis* ve *Salvia* türleridir.

#### 2.1.2. *Salvia* cinsi

Ülkemiz *Salvia* türleri bakımından oldukça zengin bir floraya sahiptir. Yaklaşık 89 tür ve 94 takson Türkiye Florasında kayıtlıdır. Ülkemizdeki endemizm oranı ise %50 civarındadır. Bu cins uçucu yağları bakımından Anadolu

Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı tarafından büyük oranda çalışılmıştır. Bu yapılan çalışmalar sonucunda *Salvia* türleri uçucu yağlarının kompozisyonlarına göre farklı gruplara ayrılmıştır. Tez kapsamında incelenecek olan *S. halophila* ve *S. virgata* Türkiye Florasında aynı grupta (Grup F) bulunmasına rağmen, uçucu yağlarının bileşimlerine göre farklı gruplarda yer almaktadırlar. *S. halophila* oksijenli monoterpenler, *S. virgata* ise seskiterpen hidrokarbonlar bakımından zengin olarak bulunmuştur (Başer 2002)

*Salvia* cinsi, otsu, yarı çalimsı veya çalimsı, çok yıllık, nadiren iki ya da tek yıllık, genellikle kuvvetli aromatik. Gövdeler dik veya yatık, salgı tüylü ve örtü tüylü ya da çıplak. Yapraklar tam, lirat ya da pinnatisekt. Çiçek durumu çeşitli şekillerde düzenlenmiş simozlar şeklinde. Vertisiller birbirlerine uzak ya da yakın, (1-)2-10 (-40) çiçekli. Kaliks çan şeklinde, hunimsi ya da tüpsü, iki dudaklı; üst dudak üç dişli, hemen hemen indirgenmiş ya da hemen hemen tam; alt dudak iki dişli; meyva halinde kaliksler zarımsı, hafif ya da belirgin genişlemiş. Korolla beyaz, sarı, pembe, mavi ya da menekşe rengi, iki dudaklı; üst dudak düzden falkata kadar değişen şekillerde, alt dudak 3 loplu, orta lop geniş, konkav, yan loplar küçük, tüp düz ya da kıvrık, invaginat ya da göbekli (ventricose), halkalı ya da değil, loplu (squamulate) ya da değil. Stamenler 2, filamentler kısa, konnektifler az çok kısa veya çok uzamış, 3 tip ayırt edilir: ya üst ucunda fertil bir teka, alt ucunda daha küçük fertil veya hemen hemen fertil bir teka taşır (A Tipi Stamen) veya alt ucunda çeşitli şekilde steril doku taşır (B Tipi Stamen) ya da stamenler genellikle filament ve konnektifin birleşme yerinde eklemlili veya nadiren böyle değil (C Tipi Stamen). Staminodlar (üst stamen çifti) daima mevcut ve küçük. Stilus 2 loplu. Nutletler çıplak, ovoid, trigonalden dairemsiye kadar değişen şekillerde. Genellikle ıslandığında müsilaj oluşturur (Hedge 1982).

#### **2.1.2.1. *Salvia halophila* Hedge**

Yaklaşık 50 cm boyunda dik gövdeli çok yıllık otsu, üste dallanmıştır. Altta yoğun eglandular (glandular olmayan) veya uzun yumuşak salgı tüylü. Yaprak basit, ovat (yumurtamsı)-oblong(dikdörtgenimsi), 6-9 x 3-4.5 cm boyunda

kalın tesktürlü, üste ve altta yumuşak uzun tüylü, kordat (kalpsi) – trunkat, krenulattan (dalgalı kenarlıdan)-tama kadar; petiyol 4-7 cm dir. Vertisiller 4-6 çiçekli, sık. Brakteler ovat (yumurtamsı)-aküminat (sivri) yaklaşık 6 x 5 mm dir. Pediseller (çiçek sapları) 1-2 mm dir. Kaliks ovoid (yumurta)-infundibular (huni şeklinde), yaklaşık 6-8 mm, uzun yumuşak salgı tüylü, üst dudak üç dişli kısaca mukronat (sert uçlu) meyvede iken recurved (geriye kıvrık) dönmüştür. Korolla beyaz dudaklı koyu leylak renkli 12-17 mm boyunda, tüp üst kısmında genişlemiş, ince demet halinde tüylü, üst dudak falkat (orak şeklinde). Nutletler ovat (yumurtamsı)-trigonat (üç ovüllü), yaklaşık 1.5 x 1 mm çiçeklenme sekizinci ve onuncu aylar arasında. Tuzlu steplerde ve 950-1000 m yüksekliklerde yetişir.

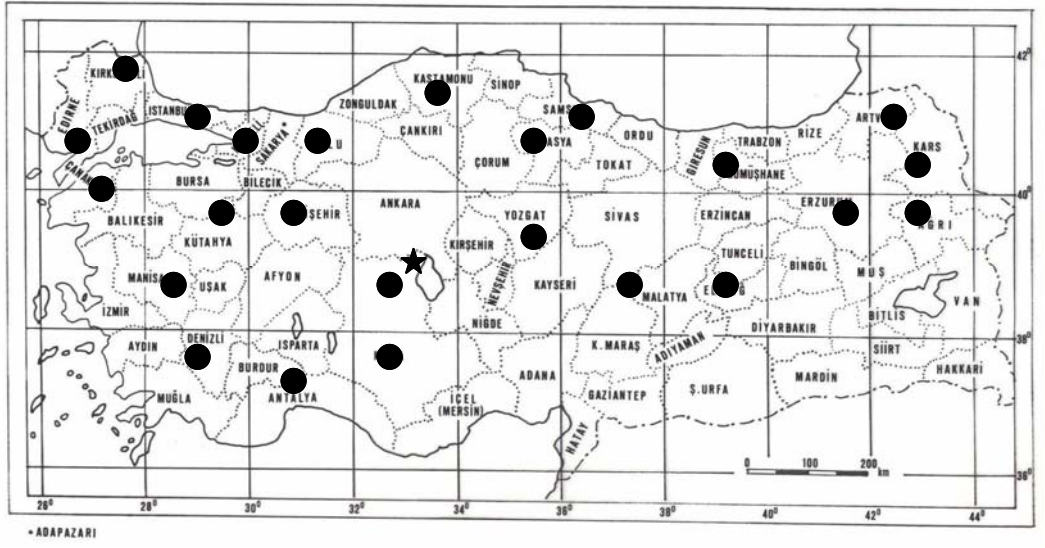
Endemik. İran-Türkiye elementi. *Salvia virgata* ile akraba olmasına rağmen seyrek gelişimi, kalın yaprakları ve geç çiçeklenme zamanı ve farklı kromozom sayıları nedeniyle *S. virgata* dan ayrılır (Hedge 1982).

#### **2.1.2.2. *Salvia virgata* Jacq.**

Bitki çok yıllık gövdeler dik, (10-)30-100 cm yukarıya doğru çok dallanmış ya da dallanmamış, indumentum (tüy örtüsü) çeşitli, pilozdan tometoza kadar glandular veya eglandular. Yapraklar basit gövde üzerinde sıralanmış veya nadiren tabanda rozet yapraklarla sınırlı, ovat-oblongdan geniş ovata kadar 5-30 x 2-15 cm çok sayıda sapsız salgı organı eglandullar-piloz, tabanda kordat, yüzeyi hafif pürüzlü, kenarda krenat, serrat'tan düze kadar; petiol 1-15 cm. çiçek durumu ± ince ikincil dalları olan genişçe dallanmış bir panikula, vertisiller 2-6 çiçekli, belirgin nadiren yoğunlaşmış. brakteler ovat-aküminat, 4-8 x 3.5-6 mm. Pediseller (çiçek sapları) 1-2.5 mm kaliks tubullar, kampanulat, 6-10 mm, meyvede 10-12 mm ve kaliks üst dudağı belirgin geriye kıvrık ve bisulkat (iki oluklu) glandular veya eglandular-piloz korolla menekşe mavisinden leylak rengine kadar, nadiren beyaz, 12-15 mm, korolla tüpü 7-9 mm şişkin pulcuklu değil; üst dudak falkat. Stamenler B tipi nutletler yuvarlakça trigonat, ovoit 2.5 x 2 mm  $2n=16$ , çiçeklenme zamanı mayıs-eylül.

Yetiştirme yeri fundalık, ağaçlık, meralar, açık tarlalar, yol kenarları ve benzeri yerler. 0-2300 m yüksekliklerde yayılış gösterirler (Hedge 1982).





★ *S. halophila*; ● *S. virgata*

Şekil 2.1. *S. halophila* ve *S. virgata*'nın Türkiye'deki dağılışı

## 2.2. Farmakopelerde Kayıtlı Olan *Salvia* Türleri

*Salvia* türleri tüm dünyada hem baharat olarak hem de tıbbi amaçla uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanımına paralel olarak pek çok farmakopede hem yaprakları hem de preparatları kayıtlıdır. British Herbal Pharmacopoeia (BHP)'nin 1983 ve 1996 baskılarında kayıtlıdır *S. officinalis* yaprağı kayıtlıdır. BHP 1996 da standardize yaprak tozu da yer almaktadır (British Herbal Pharmacopoeia 1996). Alman Farmakopesi'nin 1999 basımında *S. triloba* yaprakları ve tentürü kayıtlıdır (Deutsches Arzneibuch 1999). *S. officinalis* aynı zamanda Avusturya, Fransa, Macaristan, İsviçre ve Çekoslovakya farmakopelerinde yer almakta ve İsviçre farmakopesinde *S. officinalis* ve *S. triloba* uçucu yağları da kayıtlıdır (Reynolds 1996) Ülkemizin de 1994 yılından beri resmi farmakopesi olan Avrupa Farmakopesi'nde ise *S. officinalis* yaprakları drog olarak kayıtlıdır (European Pharmacopoeia 1999).

### 2.3. *Salvia* Türlerinin Kullanımı

*Salvia*, Latince kökenli olan *salvare* veya *salvere* (tedavi) sözcüğünden türemiştir (Kintzios 2000). *Salvia* türleri halk arasında yaygın olarak ve genellikle çay olarak kullanılmaktadır. Bu cinsin ülkemizde kullanılan türleri aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

### 2.4. *Salvia* Türlerinin Türkiye’de Etnofarmakognozideki Yeri

*S. aethiopsis* L. (Yünlü adaçayı): Türkiye’de yaygın bir tür olan bu bitkinin yaprak ve çiçek durumları midevi ve uyarıcı olarak antik çağdan beri tanınmaktadır (Baytop 1999). Bolu: Dörtdivan, Yukarısayık yöresinde Kızıllık adıyla bilinir ve merhem halinde yara iyileştirici olarak kullanılır (Sezik ve ark 1997, Sezik ve Yeşilada 1999, Eröz 2001).

*S. aramiensis* Rech fil.: (Dağçayı): Hatay yöresinde çay halinde midevi olarak kullanılır (Baytop 1991).

*S. aucheri* Benth var. *canescens* Boiss. et Heldr. (Zeytin yapraklı adaçayı): Mersin bölgesinde çay halinde kullanılır (Baytop 1994).

*S. chrysophylla* Stapf : Isparta, Sütçüler Beydili yöresinde Bozçavla olarak bilinir ve herbası dekoksasyon halinde romatizmaya karşı kullanılır. Lapa haline getirilen herbası ağırlı bölgeye uygulanır (Sezik ve Yeşilada 1999, Eröz 2001).

*S. cryptantha* Montbert et Aucher ex Benth (Van’da karaot, diğer isimleri kara şalba, kara şapla, kara şalva): Doğu bölgelerimizde bitkinin yaprakları tekstil boyası olarak kullanılır (Baytop 1994). Afyonkarahisar, Şuhut, Karacaören yöresinde yakışalbası olarak bilinir ve infüzyon halinde mide rahatsızlıklarında ve dekoksasyon halinde yara antiseptiği olarak kullanılır (Honda ve ark 1996). Çiçekli dalları ve yaprakları Orta Anadolu’da çay şeklinde kullanılır (Baytop 1991, Eröz 2001).

*S. dichroantha* Stapf: Kayseri, Develi, Büyükkünye yöresinde yağlıkara olarak bilinir mide ve karın ağrılarına karşı çay halinde içilir, kutnu olarak da bilinir (Sezik ve ark 2001, Baytop 1994). Niğde bölgesinde yaprakları haricen yara ve çibanların tedavisinde kullanılır (Baytop 1999, Eröz 2001).

*S. forskahlei* L. (Şalba): Çay olarak kullanılır (Baytop 1994).

*S. fruticosa* Miller (Syn. *S. triloba*): Anadolu adaçayı, adaçayı, boz şapla, boz şalba, elma çalbası olarak bilinir Güneybatı Anadolu'da doğal olarak yetişir. Yaprakları çay şeklinde tüketilir. Yapraklarından elde edilen uçucu yağına "elma yağı" denir ve ihraç ürünüdür (Baytop 1994). Yaprakları solunum yolları antiseptiği olarak çay veya gargara olarak kullanılır, yara iyi edici özelliği vardır (Baytop 1991). Muğla yöresinde almiya çalbası olarak bilinir ve bebeklerde kabızlığa karşı bebek emzirilmeden önce meme başlarına sürülerek kullanılır (Honda ve ark 1996, Eröz 2001).

*S. grandiflora* : Afyonkarahisarda ada çayı olarak bilinir ve dişleri kuvvetlendirici olarak kullanılır (Honda ve ark 1996).

*S. multicaulis* Vahl (Kürt reyhanı): Yaprakları doğu bölgelerimizde yara iyi edici olarak kullanılır (Baytop 1999) ve koku verici olarak tütün içine katılır (Baytop 1994, Eröz 2001).

*S. nemorosa* L. (Kara ot, şalba): Erzurum yöresinde gemdaş olarak bilinen bitkinin kesiklerde kan dindirici olarak herba tozu kullanılır; Artvin yöresinde ise gemtaş olarak bilinir (Sezik ve ark 1997, Sezik ve Yeşilada 1999).

*S. sclarea* L. (Ayıkulağı, misk adaçayı, tüylü adaçayı): Çiçekli dalları veya yaprakları midevi, kabız, terlemeyi azaltıcı ve yatıştırıcı olarak, infüzyon (%5) halinde kullanılır (Baytop 1999, Baytop 1994). Uçucu yağı parfümeride kullanılır (Akgül 1993). Isparta yöresinde dişi sığır kuyruğu adıyla bilinir ve güneş çarpmasında kullanılır (Yeşilada ve ark 1995). Mersin'de paskulak denen bitkinin taze çiçekleri ile hazırlanan infüzyon siğillere karşı kullanılır (Yeşilada ve ark. 1993, Yeşilada ve ark 1995, Eröz 2001).

*S. tomentosa* Miller (Büyük çiçekli adaçayı): yaprakları tıbbi adaçayı yaprağı yerine kullanılır (Baytop 1999). Ayrıca *S. fruticosa* Miller türü gibi de kullanımı mevcuttur (Baytop 1994). İnfüzyon veya dekoksasyon halinde çay gibi hazırlanıp, aç karnına içilir. Bilecik, Söğüt yöresinde Şabla olarak bilinir ve romatizma ağrılarına karşı banyo suyuna katılarak kullanılır, Afyon'da çay halinde karın ağrısına karşı kullanılır (Sezik ve Yeşilada 1999, Honda ve ark 1996, Eröz 2001, Fujita ve ark 1995).

*S. verbenaca* L. (Yabani adaçayı): Yaprakları Misk adaçayı gibi kullanılsa da etki ve koku olarak zayıftır. Tohumlarından elde edilen müsilaj Doğu ülkelerinde göz hastalıklarına karşı kullanılır (Baytop 1999).

*S. verticillata* L.: Erzurum yöresinde dadırak, İkizdere-Rize’de kara ot olarak bilinir (Baytop 1994), Bitlis, Sibek, Arıdağ yöresinde de hart olarak bilinir dekoksasyon halinde nezle ve soğuk algınlığında kullanılır (Sezik ve Yeşilada 1999, Tabata ve ark 1994, Eröz 2001).

*S. virgata* Jacq. : Yılcık olarakda bilinir (Baytop 1994) Yapraklar haricen yara iyileştirici olarak kullanılır” (Baytop 1999). Ayrıca Bursa ve Balıkesir yöresinde dekoksyonu halinde kan kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (G. Tümen ve H. Malyer ile sözlü görüşme).

*S. viridis* L. (Syn. *S. horminum* L.) (Yeşil adaçayı, adaçayı): Kullanılışı misk adaçayı gibidir (Baytop 1999, Eröz 2001).

## **2.5. *Salvia* Türlerinin Kimyasal Bileşikleri**

*Salvia*’ların en önemli etken maddelerini terpenoitler, uçucu yağlar ve polifenoller oluşturmaktadır (Kintzios 2000). Antioksidan aktiviteden fenolik bileşikler sorumlu olduğundan bu başlık altında *Salvia*’larda bulunan polifenoller konusuna ağırlık verilmiştir. Terpenoitlerinin ve uçucu yağlarının fizyolojik özelliklerine *Salvia* türleri üzerinde yapılmış biyolojik ve fizyolojik çalışmalar başlığı altında değinilmiştir.

### **2.5.1. *Salvia* türlerinde bulunan fenolik asitler**

*Salvia* sulu ekstrelerinin ana bileşenlerini polar fenolik asitler oluşturmaktadır. Bu fenolik asitlerden pek çoğunun *S. miltiorrhiza*, *S. chinensis* ve *S. yunnanensis* den izole edilip yapıları aydınlatılmıştır. *Salvia* türlerinde rastlanan fenolik asitlerin başlıcası kafeik asit türevlerinden olan rosmarinik asit olmakla beraber 4-Hidroksibenzoik asit (Wang ve ark 2000), 3,4-di hidroksibenzoik asit (protokateşik asit), 3-metoksi-4- hidroksibenzoik asit (vanillik asit) (Lu ve Foo 2002) ve 2,4-dimetoksibenzoik asit (Topçu ve ark

1995), hekzil 4-hidroksibenzoat ve 6,7-dihidroksikumarin (eskuletin) (Ulubelen ve Tuzlacı 1990a) ve 7-metoksikumarin (herniarin) (Lu ve Foo 2002) gibi fenolik asitlere de rastlanmaktadır.

*Salvia* türlerinde bulunan fenolik asitler kimyasal olarak gruplandırılırsa kafeik asit türevleri ve fenolik glikozitleri olmak üzere iki çeşittir. Kafeik asit türevleri de kendi içinde monomerler, dimerler, trimerler, tetramerler ve oligomerler olmak üzere 5'e ayrılmaktadır.

Kafeik asit monomerlerine, kafeik asit ile birlikte ferulik asit (Cuvelier ve ark 1994), izoferulik asit (Ai ve Li 1992), tartarik asit (Lu ve Foo 2002) ve klorojenik asit örnek olarak verilebilir.

Kafeik asit dimerlerinin en önemlisi rosmarinik asittir (Cuvelier ve ark 1994, Lu ve Foo 2002) ve bu bileşik *Salvia* türlerinde antioksidan etkiden sorumlu asıl bileşik olarak belirlenmiştir (Cuvelier ve ark 1994). Rosmarinik asit ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır; hücre kültürlerinde üretilme çalışmaları (Morimoto ve ark 1994), kimyasal sentezi (Lu ve Foo 2002), sıçanlarda biyolojik aktivitesi (Nakazawa ve Ohsawa 1998) gibi.

Kafeik asit trimerleri grubunda litospermik asitle beraber salvianolik asitlerin bir kısmına da rastlanır. Litospermik asitlerin metil esterlerinde yüksek oranda setbest radikal süpürücü etkiye rastlanmıştır bu etkinin askorbik asitten daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Kang ve ark 1997). Benzer etkilerin bu grubun diğer önemli üyesi olan salvianolik asitlerden salvionelik asit A da bulunduğu belirtilmiştir (Lu ve Foo 2002).

Kafeik asit tetramerleri aynı zamanda rosmarinik asit dimerleri de olmaktadır. Salvianolik asit B, L, yunnaneik acid, ve sagerinik asitler bu grupta yer almaktadır. Bu asitlerden salvianolik asit B litospermik asit olarak da bilinmekte ve *Salvia* türlerinde potasyum, magnezyum, amonyum tuzları halinde oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Salvianolik asit E'ye *Salvia* türlerinden sadece *S. miltiorrhiza*' da rastlanmıştır (Lu ve Foo 2002).

Kafeik asit oligomerleri sınıfında sadece yunnaneik asit A ve B bulunmaktadır (Lu ve Foo 2002).

Ayrıca *Salvia* türlerinde fenolik asitlerin glikozit formları da bulunmaktadır. En çok rastlanan fenolik asit glikozitleri rosmarinik asit-3-glikozit ile *cis*- ve *trans*-kumarik asitlerin oluşturduğu glikozitlerdir (Lu ve Foo2002).

### 2.5.2. *Salvia* türlerinde bulunan polifenoller

*Salvia* türlerinin içerdiği polifenollerle ilgili yapılan çalışmalar flavonoidleri, antosiyaninleri ve proantosiyanidinleri kapsamaktadır.

Flavonoidlere *Salvia* türlerinde oldukça sık rastlanmaktadır (Ulubelen ve Tuzlacı 1990a). Flavonoidler bitkide flavonlar, flavonoller ve glikozitleri halinde bulunmaktadır. 6-hidroksi flavonoller bu cins için taksonomik önem taşırlar ve *Salvia* türleri için karakteristiktir (Thomas-Barberan ve Wollenveber 1990).

Flavonoidlerin çoğunluğunu luteolin ve apigenin flavonolleri ve bunların 6-hidroksi türevleri oluştururlar. *Salvia*'ların yapraklarında flavonollerin metil esterlerine de sıklıkla rastlanmaktadır. *S. yosgadensis* de diğer *Salvia* türlerinden farklı olarak apigenin-4-metil eter (acacetin) (Topcu ve ark 1996b) ve luteolin-3-metil eter (chrysoeriol) ile 4-metil eter (diosmetin)'e de rastlanmaktadır (Topcu ve ark 1995). 6-hidroksi-apigenin (scutellarein) sadece *Salvia* ekstrelerinde bulunmaktadır. 6-hidroksi-apigenin-6,7-dimetileter (cirsimaritin)'nin yüksek orandaki antimikrobiyal etkisi, hispidulin'in ise antihepatotoksik etkileri bilinmektedir (Adzet ve ark 1988, Lu ve Foo 2002, Santos-Gomez ve ark 2002).

*Salvia*'larda bulunan flavonollerin çoğunluğunu kamferol ve kersetin flavonolleri oluşturur. Bu flavonollerden kersetine sadece *S. dorrii*'de rastlanmıştır (Lu ve Foo 2002).

Flavon glikozitleri *Salvia*'larda sıklıkla bulunan glikozitlerdir ve apigenin-7-glikozit ve luteolin-7-glikozit bu glikozitlerin başlıcasını oluşturmaktadır. Apigenin ve luteolin glikozitleri de kendi içlerinde karşılaştırılacak olursa luteolin glikozitlerinin *Salvia* türlerinde rastlanma oranı apigenin glikozitlerinden daha fazladır. Flavon ve flavonol aglikonlarında olduğu gibi burada da 6-hidroksi-flavon glikozitleri *Salvia* türleri için karakteristik bir önem taşımaktadır (Lu ve Foo 2001, 2002).

Antosiyaninlere *Salvia* çiçeklerinde bol miktarda rastlanır (Lu ve Foo 2002). *Salvia*'ların antosiyaninleri ilk olarak Willstater ve Bolton tarafından 1916 yılında incelenmiş ve salvianin pigmenti izole edilmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu pigmentin yapısı ile ilgili araştırmalar tekrar edilmiş ve yapısı kesin olarak belirlenmiştir. *Salvia*'larda yapılan araştırmalar çiçeklerde bulunan kırmızı ve pembe renklerden pelargonidin, mavi renklerden delphinidin, menekşe ve ara renklerden ise siyanidin antosiyaninlerinin sorumlu olduğunu göstermiştir (Lu ve Foo 2002).

Proantosiyanidinler kondanse tanenler olarak da bilinmektedir ve *Salvia*'larda salvitanin olarak adlandırılmışlardır. *Salvia* preparatlarında tanen bulunması istenmez bu yüzden poliamit kolon kullanarak veya jel filtrasyon teknikleri ile ortamdaki uzaklaştırılmalıdır. *Salvia*'larda salvitaninler olarak adlandırılan tanenlerin olduğu bilinmesine rağmen bu maddeler üzerinde çok fazla çalışma yapılmamış ve yapıları tam olarak aydınlatılmamıştır (Lu ve Foo 2002).

## **2.6. Ülkemizde Yetişen *Salvia* Türleri Üzerinde Yapılmış Kimyasal Çalışmalar**

Ülkemizde yetişen *Salvia* türleri ile pek çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar genellikle terpenoit bileşiklerin izolasyonu ve uçucu yağ çalışmalarıdır. Bu çalışmalar Çizelge 2.1'de verilmiştir. Bu çalışmaların bir kısmı (1999 sonuna kadar) Türkiye Florası'nın 11. cildinde yer almıştır (Güner ve ark 2000).

## **2.7. *Salvia* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları**

### *Antimikrobiyal ve antiviral etki*

*Salvia* türleri ile yapılan antimikrobiyal çalışmalardaki sonuçlar, kullanılan *Salvia* türüne, kullanılan mikroorganizmanın hassasiyetine ve test edilen bileşiğin türüne göre farklılıklar göstermektedir. *S. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. triloba* gibi uçucu yağ oranı yüksek *Salvia* türlerinde, uçucu yağlarında bulunan monoterpenlere bağlı olarak yüksek oranda antibakteriyel etkiler görülmektedir.

Çizelge 2.1 Ülkemizde yetişen *Salvia* türleri ile yapılmış kimyasal çalışmalar

<b>Bitki adı</b>	<b>İncelenen kimyasal grup</b>	<b>Kaynak</b>
<i>Salvia adenocaulon</i> P.H. Davis	Uçucu yağ	Tanker ve ark. 1993
<i>Salvia aethiopsis</i> L.	Flavonoit	Ulubelen ve Uygur 1976
	Uçucu yağ	Tanker ve ark. 1993
<i>Salvia albimaculata</i> Hedge & Hub.-Mor., E*	Flavonoit	Meriçli ve ark 1987
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1985
<i>Salvia amplexicaulis</i> Lam.	Hidrokarbon	Ulubelen ve Brieskorn 1977
<i>Salvia aramiensis</i> Rec. fil.	Uçucu yağ	Şarer 1987, Demirci ve ark 2002
<i>Salvia argentea</i> L.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia aucheri</i> Bent. var. <i>aucheri</i>	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993, Kürkcüoğlu ve ark 2002
<i>Salvia aucheri</i> Bent. var. <i>canescens</i> Boiss. et Heldr.	Diterpen	Tan ve ark 1993
	Organik asit	Tan ve ark 1993
	Triterpen	Tan ve ark 1993
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1985, Tanker ve ark 1993, Kürkcüoğlu ve ark 2002, Özcan ve ark 2002a ve 2002b
<i>Salvia aytachii</i> M.Vural et N.Adiguzel	Uçucu yağ	Başer ve ark 1997
<i>Salvia blepharochlaena</i> Hedge et Hub.-Mor.	Uçucu yağ	Demirci ve ark 2003 Tanker ve ark 1993
<i>Salvia bracteata</i> Banks & Sol	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia cadmica</i> Boiss, E	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia caespitosa</i> Montbret & Aucher ex Benth, E	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993, Başer ve ark 1995b, Demirci ve ark 2003
<i>Salvia candidissima</i> Vahl.	Diterpen	Ulubelen ve Topçu 1992, Topçu ve ark 1995
	Flavonoit	Topçu ve ark 1995
	Uçucu yağ	Bayrak ve Akgül 1987
<i>Salvia candidissima</i> ssp. <i>candidissima</i> Hedge	Diterpen	Ulubelen ve ark 1997b
<i>Salvia candidissima</i> ssp. <i>occidentalis</i> Hedge	Diterpen	Ulubelen ve ark 1992b
	Uçucu yağ	Şarer 1983
<i>Salvia cedronella</i> Boiss.	Uçucu yağ	Tümen ve ark 1998
<i>Salvia ceratophylla</i> L.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia chrysophylla</i> Stapf, E	Uçucu yağ	Şarer 1987
<i>Salvia cilicica</i> Boiss & Kotschy	Lignan	Konuklugil 1996
	Diterpen	Tan ve ark 2002
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia cryptantha</i> Montbret et Aucher ex Benth.	Uçucu yağ	Başer ve ark 1995a, Akgül ve ark 1999, Tepe ve ark 2004
	Diterpen	Ulubelen ve ark 1987
	Triterpen	Ulubelen ve Topçu 1987
	Steroid	Ulubelen ve Topçu 1987
<i>Salvia cyanescens</i> Boiss. & Bal.	Flavonoit	Kökdil ve ark 1997
	Mono-, di-, seski-terpenler	Kökdil ve ark 1997
<i>Salvia dichroantha</i> Stapf, E	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
	Diterpen	Kawozoe ve ark 1999



<i>Salvia divaricata</i> Montbret et Aucher ex Bentham	Uçucu yağ	Demirci ve ark 2003
	Diterpen	Ulubelen ve ark 1992d
<i>Salvia euphratica</i> Montbret et Aucher ex Bentham	Diterpen	Ulubelen 1989a
<i>Salvia euphratica</i> Montbret et Aucher ex Bentham var. <i>euphratica</i>	Uçucu yağ	Başer ve ark 1995, Başer ve ark 2005
<i>Salvia euphratica</i> Montbret et Aucher ex Bentham var. <i>leiocalcina</i>	Flavanoit	Ulubelen ve Tuzlacı 1990a
	Triterpen	Ulubelen ve Tuzlacı 1990a
<i>Salvia forskahlei</i> L.	Diterpen	Ulubelen 1996
	Organik asit	Ulubelen 1996
<i>Salvia Frigida</i> Boiss.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia fruticosa</i> ( <i>S. triloba</i> ) Miller.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1976, Bayrak ve Akgul 1987, Koşar ve ark 2005
	Diterpen	Ulubelen 1990
	Flavonoit	Ulubelen ve ark 1968
	Steroid	Ulubelen ve Topçu 1987
	Triterpen	Ulubelen ve Topçu 1987
<i>Salvia glutinosa</i> L.	Uçucu yağ	Kaya ve ark 2003, Tanker ve ark 1993
	Steroid	Topçu ve ark 1997b
	Triterpen	Topçu ve ark 1997b
<i>Salvia heldreichiana</i> Boiss. ex Bentham ( <i>S. russegeri</i> )	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993, Şarer 1982
	Diterpen	Ulubelen ve ark 1995
<i>Salvia hypargeia</i> Fisch.&Mey.	Uçucu yağ	Demirci ve ark 2003, Tanker ve ark 1993,
<i>Salvia kronenburgii</i> Rech. fil.	Triterpen	Topçu ve ark 2004
<i>Salvia limbata</i> C.A.Meyer	Uçucu yağ	Kurkcuoglu ve ark 2005
	Diterpen	Topçu ve ark 1996a
<i>Salvia longipedicellata</i> Hedge	Uçucu yağ	Demirci ve ark 2003, Tanker ve ark 1993
	Diterpen	Ulubelen 1990
	Flavonoit	Ulubelen ve Tuzlacı 1990a
	Triterpen	Ulubelen ve Tuzlacı 1990a
<i>Salvia microstegia</i> Boiss. & Bal.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
	Diterpen	Ulubelen ve Topçu 1991
	Flavonoit	Sukal ve ark 1995
<i>Salvia montbretii</i> Bentham	Diterpen	Ulubelen ve Topçu 1992
<i>Salvia multicaulis</i> Vahl.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
	Diterpen	Ulubelen ve ark 1998
	Triterpen	Ulubelen ve ark 1998
<i>Salvia napifolia</i> Jacq.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
	Diterpen	Ulubelen ve ark 1995a
<i>Salvia nemorosa</i> L.	Diterpen	Ulubelen ve ark 1994
	Mono terpenoid	Takeda ve ark 1997
	Steroid	Ulubelen ve ark 1994b
	Triterpen	Ulubelen ve ark 1994b
<i>Salvia pachystachys</i> Trautv.	Diterpen	Ulubelen ve Tuzlacı 1990b
<i>Salvia pinnata</i> L.	Triterpen	Ulubelen ve Topçu 1984
	Flavonoit	Ulubelen ve Topçu 1984
<i>Salvia pisidica</i> Boiss & Heldr. ex Bentham, E	Uçucu yağ	Şarer 1998
	Steroid	Ulubelen ve Topçu 1987
	Triterpen	Ulubelen ve Topçu 1987

<i>Salvia pomifera</i> L.	Diterpen	Topçu ve ark 1994, Ulubelen ve Topçu 1992
	Uçucu yağ	Baser ve ark 1993, Tanker ve ark 1993
	Triterpen	Topçu ve ark 1994
<i>Salvia potentillifolia</i> Boiss. & Heldr. ex Benth, E	Steroid	Ulubelen ve Topçu 1987
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
	Triterpen	Ulubelen ve Tuzlacı 1987
<i>Salvia recognita</i> Fisch. & Mey., E	Uçucu yağ	Şarer 1984
	Diterpen	Tan ve ark 1998
	Triterpen	Ulubelen ve Tan 1999
<i>Salvia reeseana</i> Hedge & Hub.-Mor., E	Uçucu yağ	Şarer 1987
<i>Salvia sclarea</i> L.	Diterpen	Ulubelen ve ark 1997a
	Triterpen	Ulubelen ve ark 1994a
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia staminea</i> Montbret et Aucher ex Benth.	Triterpen	Topçu ve ark 2003
	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia suffruticosa</i> Montbret et Aucher ex Benth.	Uçucu yağ	Şarer 1987
<i>Salvia syriaca</i> L.	Uçucu yağ	Başer ve ark 1996
<i>Salvia tchihatcheffii</i> (Fisch & Mey.) Boiss, E	Diterpen	Topçu ve ark 1997a
	Uçucu yağ	Şarer 1980
<i>Salvia tomentosa</i> ( <i>S. grandiflora</i> ) Miller	Diterpen	Ulubelen ve Miski 1981
	Flavonoit	Ulubelen ve ark 1984
	Uçucu yağ	Şarer 1980, Bayrak ve Akgül 1987
<i>Salvia verbenaca</i> L.	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia vermifolia</i> Hedge & Hub.-Mor	Uçucu yağ	Nacar ve İlçim 2002
<i>Salvia verticillata</i> L.	Organik asit	Sönmez ve ark 1997
	Diterpen	Sönmez ve ark 1997
<i>Salvia verticillata</i> ssp. <i>amasiaca</i> (Freyn & Bornm.) Bornm	Uçucu yağ	Tanker ve ark 1993
<i>Salvia virgata</i> Jacq.	Diterpen	Ulubelen 1989b
	Flavonoit	Ulubelen ve Ayanoğlu 1976
	Steroid	Ulubelen ve Topçu 1987
	Triterpen	Ulubelen ve Ayanoğlu 1976
<i>Salvia viridis</i> L.	Triterpenoit	Ulubelen ve ark 1977
<i>Salvia wiedemannii</i> Boiss., E	Diterpen	Topçu ve Ulubelen 1990, 1991
<i>Salvia yosgadensis</i> Freyn & Bornm, E	Uçucu yağ	Şarer 1988
	Seskiterpen	Topçu ve ark 1996b
	Diterpen	Topçu ve ark 1996c
	Flavonoit	Topçu ve ark 1996b

\*E, endemik

(Baricevic ve Bartol 2000, Delamare ve ark 2007). Gram-pozitif bakterilerde bu yağlara karşı direnç, gram-negatif bakterilerden daha fazla olmuştur. *Salvia* uçucu yağlarının ağız içi florasında bulunan *Fusobacterium nucleatum*,

*Peptostreptococcus anaerobius*, *Protonema denticola* gibi bakterilere karşı etkili olduğu gözlenmiştir. *Bacillus subtilis* gibi bazı bakterilere karşı uçucu yağın etki gösterebilmesi için bileşimindeki 1,8-sineol, *p*-simen, kafur gibi maddelerin yüksek oranlarda bulunması gerekmektedir (Baricevic ve Bartol 2000). *Salvia stenophylla*, *Salvia repens* ve *Salvia runcinata* ekstrelerinde antimikrobiyal etkiye rastlanırken uçucu yağlarında bu etki zayıf olarak bulunmuştur (Kamatou ve ark 2005). *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) ve *Salvia multicaulis* (Vahl) ekstreleri ve uçucu yağları üzerinde yapılan araştırmalarda sonuç tam tersi olarak gözlenmiş bu bitkilerin ekstreleri antibakteriyel aktivite göstermezken uçucu yağlarında bu etkiye rastlanmıştır (Tepe ve ark 2004). Benzer sonuçlar *Salvia tomentosa* için de geçerlidir (Tepe ve ark 2005).

*Salvia officinalis*, *S. tomentosa* ve *S. triloba* uçucu yağları ile Brezilyalı bilim adamlarının yaptığı çalışmalar da yukarıda bahsedilen etkileri doğrulamaktadır. 1,8-sineol'ce zengin bu iki yağda da *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophilla*, *A. sobria*, *Clebsiella oxytoca* bakterilerine karşı antibakteriyel etki göstermiştir (Haznedaroğlu ve ark 2001, Delamare ve ark 2007).

*Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağlarla yapılan antifungal aktivite çalışmalarında çeşitli funguslara karşı değişik sonuçlar alınmıştır. *Salvia triloba* ve *Salvia lavandulifolia* uçucu yağlarının *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Candida albicans*, ve *Fusarium* türü funguslara karşı aktivitesi denenmiş ve etkili olmadıkları gözlenmiştir. Buna karşılık aynı uçucu yağların *Alternaria alternata* ve *Aspergillus parasiticus*'a karşı güçlü fungustatik etkileri olduğu görülmüş ve aynı bitkilerden elde edilen ekstreler ile yapılan çalışmalarda uçucu yağın gösterdiği yüksek orandaki antifungal etkiye ekstrelerde rastlanmamıştır (Baricevic ve Bartol 2000).

*Salvia plebeia* uçucu yağında da antifungal etkilere rastlanmıştır (Baricevic ve Bartol 2000).

Bazı *Salvia* türlerinde uçucu yağlar antimikrobiyal etkiler göstermezken bitkiden elde edilen ekstrelerde antimikrobiyal etkilere rastlanmıştır. *S. apiana* uçucu yağı, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Staphilococcus aureus* gibi bakterilere ve *Candida albicans* gibi funguslara karşı etki göstermezken aynı

bitkinin diterpen asit fraksiyonu bu mikroorganizmalara karşı etkili olmuştur (Baricevic ve Bartol 2000).

*S. officinalis* metanol ekstresi ile yapılan çalışma sonuçlarına göre ise gram-pozitif bakterilere karşı aktif bulunurken gram-negatif bakterilere karşı aktif olmadığı görülmüştür (Baricevic ve Bartol 2000).

*S. palaestina*'dan elde edilen sirsimaritin adlı flavonoiti gram-pozif ve negatif bakterilere karşı yüksek oranda aktivite göstermiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

*S. triloba* uçucu yağının ve *S. officinalis* sulu ve alkollü ekstrelerinin HSV (*Herpes simplex* virus tip 1) e karşı antiviral etkileri bulunduğu belirlenmiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

*S. officinalis*'ten elde edilen kafeik asit dimerlerinin HIV-1 virüsüne karşı yüksek oranda antiviral etkiler göstermiştir (Bailly ve ark 2005). *Salvia* Türlerinin ana bileşiklerinden olan rosmarinik asitte yüksek oranda antiviral etkiler göstermektedir (Petersena ve Simmonds 2003, Pereira ve ark 2005).

#### Kardiovasküler ve renal etki

*Salvia*'ların kardiovasküler sistem üzerinde etkili olduğu bilinmektedir ve özellikle Çin'de bu konularla ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Uzun yıllardan beri bu amaçla kullanılmakta olan *S. miltiorrhiza* kökleri günümüzde de Çin modern tıbbında aynı amaçlar için preparatları halinde kullanılmaktadır. *S. miltiorrhiza* kökleri özellikle trombositlerin agregasyonunu azaltarak kanın akıcılığını artırır ve böylece miyokardiyal enfaktüs riskini de azaltmış olur. *S. miltiorrhiza* kökleri Çin'de "Danshen" olarak bilinmektedir (Takahashi ve ark 2002).

*S. miltiorrhiza* Çin'de özellikle kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. *S. miltiorrhiza* köklerinin hücrel kolesterol biyosentezini engelleyici etki yaptığı, damar genişletici ve tansiyon düşürücü etkileri olduğu aynı etkilerini bu bitkiden elde edilen litospermik asit B'nin gösterdiği belirtilmiştir. Bitkinin kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda da etkili olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Bu etkiden fenolik bileşikler sorumludur. *S. miltiorrhiza* su ekstresi ile yapılan *in vivo* deneylerde, ekstre verilen hayvanların üre miktarlarında artış gözlenmiştir. Her ne kadar kardiyovasküler aktiviteler *S.*

*miltiorrhiza* üzerinde yoğunlaşmışsa da yapılan *in vivo* çalışmalar *S. officinalis*'inde aynı etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Baricevic ve Bartol 2000).

*Antioksidan, antiinflamatuvar ve sitotoksik etki*

Hüresel membranlar doymamış yağ asitlerince zengindir bu durum bu membranları oksidatif saldırılara açık hale getirmektedir. *Salvia*'ların yapısında bulunan karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitin antioksidan etkilere sahip olmasına rağmen ursolik ve oleanolik asitin bu etkiyi göstermediği bilinmektedir (Lima ve ark 2004, Baricevic ve Bartol 2000). *S. miltiorrhiza* su ekstrelerinin ana bileşeni olan danshensu ve salvionolik asitin yüksek oranda antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Ding ve ark 2005). Rosmarinik asitin de antioksidan aktivitesi bildirilmiştir (Petersena ve Simmonds 2003, Pereira ve ark 2005). *Salvia* türlerinin antioksidan aktivite çalışmaları ile bölümümüzde de çalışma yapılmış *S. chrysophylla*, *S. cilicica*, *S. halophila*, *S. fruticosa*, *S. cryphanta*, *S. sclarea*, *S. palaestina* antioksidan aktiviteleri bakımından pozitif kontrol olan BHT ile karşılaştırılmıştır ve *S.chrysophylla* serbest radikal süpürücü etkisi bakımından BHT den yüksek çıkmıştır (Bozan ve ark 2002). Benzer bir çalışmada *S. fruticosa* ekstreleri antioksidan etkileri bakımından incelenmiş, YBSK analizleri sonucunda karnosik asit, karnosol, rosmanol, kafeik asit, bileşenleri bulunmuş ve bu bileşikler antioksidan etkiden sorumlu olarak gösterilmişlerdir (Matsingou ve ark 2003). *S. officinalis*'in apolar ekstrelerinde polar ekstrelerine oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye rastlanmıştır (Miura ve ark 2002). Ayrıca antioksidan etkisinden yapısında bulunan kafeik asit, rosmarinik asit, karnosik asitin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Bors ve ark 2004, Santos-Gomes ve ark 2002). Aynı bitkinin yüksek oranda antioksidan etkiye sahip olması sebebiyle yapılan bazı antioksidan aktivite çalışmaların da pozitif kontrol olarak kullanılmış ve diğer bitkilerden elde edilen sonuçlar *S. officinalis* ile karşılaştırılmıştır (Miliuskas ve ark 2004). Bölümümüz de yapılan bir çalışmada *S. officinalis*'in bu yüksek orandaki antioksidan etkisini doğrulamaktadır (Koşar ve ark 2005a). *Salvia* türleri ve antioksidan aktivite denilince akla gelen ilk tür, Çin'de geleneksel olarak kullanılan 700 bitkinin içinde de yer alan ve antioksidan etkisinin çok yüksek olduğu yapılan çalışmalar ile de kanıtlananan *S. plebeia*'dır (Gu ve Weng 2001).

Bitki içinde “Lizhicao” olarak bilinir ve bitkinin antioksidan özelliklerinden  $\beta$ -sitosterol, 2-hidroksi-5-metoksi brokhonin ve koniferil aldehitin sorumlu olduğu gösterilmiştir (Weng ve Wang 2000). Bitki ile en son yapılan çalışma yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemeye yönelik olmuştur ve bitkiden izole edilen 6-metoksi-luteolin-7-glikozit’in yağ asitlerinin bozulmasını yüksek konsantrasyonlarda  $\alpha$ -tokoferolden daha iyi engellediği görülmüştür (Ai-Li ve Chang-Hai 2006). Çin modern tıbbında preparatlarında kullanılan bir başka *Salvia* türü de *S. miltiorrhiza*’dır ve bu bitki de yüksek oranda antioksidan aktiviteye sahiptir (Zhao ve ark 2006).

*S. aethiopsis* köklerinden elde edilen etiopin ile yapılan antienflamatuar etki araştırmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan ve antienflamatuar olarak bilinen aspirin, ibuprofen, proksikam kadar etkili olduğu bulunmuştur. Aynı maddenin analjezik özellikleri de kayıtlıdır. *Salvia* türlerinin ana bileşenlerinden olan rosmarinik asitin de antienflamatuar aktivitesi bildirilmiştir (Petersena ve Simmonds 2003).

*S. canariensis*’den elde edilen galdosol’ün tümör oluşumunu önleyici etkileri bulunmuş fakat aynı maddenin yüksek oranda sitotoksik olduğu bildirilmiştir. (Baricevic ve Bartol 2000)

*S. miltiorrhiza* ekstrelerinin X-ışını radyasyonundan koruyucu etkileri bildirilmiş ve bu bitkiden elde edilen tanşinone adlı maddelerin insan tümör hücrelerini yok ettiği buna karşılık bazı sitotoksik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

*S. przewalskii* var. *mandarinorum*’dan elde edilen pirzavakinon adlı bileşiğin de akciğer kanseri oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

#### *Antimutajenik etki*

*Salvia* ekstrelerinin kansere yol açan mutajenleri de baskıladığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

#### *Peptik-antiülser etki*

*Salvia*’lardan elde edilen salvionik asit A’nın mide asit sekresyonunu ve strese dayalı gastrit lezyonlarını azalttığı bildirilmiştir. *Salvia triloba* da antiülserojenik etkiler görülmüştür (Sayed ve ark 2006).

#### Antispazmodik etki

*Salvia*'larda antispazmodik etkilere özellikle uçucu yağlarında rastlanmıştır. Bu etkilere uçucu yağda bulunan pinen, borneol, kamfor gibi maddelerin neden olduğu belirtilmiştir (Baricevic ve Bartol 2000).

#### Hipoglisemik etki

*S. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *S. triloba*, *S. aegyptiaca* üzerinde yapılan farmakolojik çalışmalar bitkilerin güçlü hipoglisemik etkileri olduğunu ortaya koymaktadır. *S. triloba* su ekstreleri Ortadoğu ülkelerinde aynı amaçla kullanılmaktadır. Çok yaygın kullanımı olan *Salvia officinalis* üzerinde yapılan hipoglisemik aktivite çalışmalarında bu bitki ekstrelerinin kan glikoz seviyesini yükseltmede başarılı olurken uçucu yağının aynı oranda başarılı olmadığı görülmüştür (Eidi ve ark 2005).

#### Hepatoprotektif etki

*S. miltiorrhiza* metanol ekstresi ve aynı bitkinin köklerinden elde edilen su ekstresinin hepatoprotektif etkileri olduğu ve bu etkinin salvionik asit A'dan ileri geldiği, ayrıca *Salvia*'larda bulunan litospermik asit B'den türeyen litospermat B'nin de benzer etkileri olduğu bildirilmiştir (Baricevic ve Bartol 2000, Lin ve ark 2006). *S. plebeia* da Taiwan'da geleneksel olarak hepatit tedavisinde kullanılmaktadır (Baricevic ve Bartol 2000).

#### İnsektisit özellikleri

Aromatik bitkiler ve özellikle bu bitkilerin uçucu yağlarının haşere ve parazitlere karşı kullanması son zamanlarda önem kazanmıştır. *Salvia* cinsi bitkileri bu alanda oldukça etkili sonuçlar ortaya koymaktadır (Baricevic ve Bartol 2000, Pavela 2004, 2005).

#### Toksisite çalışmaları

*Salvia* türleri ister inhalasyon yoluyla kullanılsın ister dahilen alınsın yüksek dozlarda merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkiler yapabilir. *Salvia* cinsinin bu özellikleri yüzyıllardır bilinmektedir. Son yıllarda araştırmalar halüsinojenik etkileri olan *S. divinorum* üzerine yoğunlaşmıştır ve halüsinojenik etkiden Salvinoin A sorumlu bulunmuştur (Ruiz ve ark 2006). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda 0.3 g/kg dozda uçucu yağ verilen hayvanlarda olumsuz

etkiler görülmezken, doz 0.5 g/kg'a çıkartıldığında merkezi sinir sisteminde olumsuzluklar görülmeye başlanmış verilen doz 1.25 g/kg'a çıkartıldığında ise ölümcül olmuştur. Uçucu yağın bu toksik etkisi tuyon, kamfor gibi keton türevi terpenoitlerinden ileri gelmektedir. Bu nedenle uçucu yağların dahilen alınmaması tavsiye edilmektedir. *S. lavandulifolia*'nın içeriğinde yüksek miktarda bulunan sabinil asetatdan dolayı hamilelerde çocuk düşürücü etkileri olabilmektedir. Bu nedenle *Salvia* cinsi preparatları ve ham drog hamilelikte dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır (Baricevic ve Bartol 2000).

## 2.8. Antioksidanlar

Moleküler oksijen, aerobik organizmalar için gerekli olduğu kadar bu organizmalar için uygun koşullar sağlandığında tehlikeli de olabilmektedir. Oksijeni keşfeden Priestley ve Scheele ile oksidasyon olayını keşfeden Lavoisier da oksijenin bu tehlikeli durumundan söz etmişlerdir. Her üç bilim adamı da oksijenin hem hayatın kendisi olduğunu hem de hayatın yine aynı oksijen tarafından yok edildiğini belirtmişlerdir (Gilbert ve Colton 1999). Soluduğumuz havanın %21 ini oluşturan oksijen solunum olayı sonucunda mitokondrilerde bulunan elektron taşıma sistemlerinde (ETS) birtakım enzimsel olaylar ve indirgenme reaksiyonları ile suya çevrilmekte ve zararsız hale getirilmektedir (Cadenas ve Davies 2000). Tüm bu olaylar sonucunda elde edilen enerji de bize hayat vermektedir. Peki ama oluşan su toksik olmadığına göre oksijeni bu kadar tehlikeli yapan sebep nedir, niçin oksijen miktarındaki en ufak değişimler hayati sonuçlar doğurmaktadır? Vücudumuzdaki elektron taşıma sistemleri mükemmel değildir ve bazı durumlarda oksijen suya kadar indirgenmeden ortamdaki uzaklaşır ve henüz reaksiyonunu tam olarak gerçekleştirememiş olan bu oksijen yarım bıraktığı bu reaksiyonu her türlü hücre materyalle tamamlama eğilimine girerek çok tehlikeli bir hal alan reaktif türleri oluşturur (Eberhardt 2001). Oksijenin bu şekilde davranması oksijen paradoksu olarak adlandırılmıştır (Scandalios 1997).

Normal şartlar altında oksijenin bu şekilde davranmasına karşılık vücut kendi antioksidan savunma sistemini geliştirmiştir. Antioksidan savunma sistemi



olarak adlandırılan bu sistemin çalışması pek çok endojen ve eksojen faktöre bağlı olan kompleks bir sistemdir. Reaktif türler, oksidatif saldırılara uğrama eğilimleri yüksek olan lipitler, proteinler, DNA ve karbonhidratlar gibi pek çok hücre organeli ile reaksiyona girerler (Bachmayer 2004).

Eğer oksidasyon olaylarını kontrol eden bu savunma sistemi zayıflarsa veya dengeler antioksidan sistem aleyhine dönerse oksidasyon süreci kontrolü kaybederek hastalık oluşturacak seviyelere erişebilir (örn. damar sertliği, kanser, karaciğer rahatsızlıkları v.b.) (Yokoyama 2004, Davies 2004).

Günümüzde yapılan çalışmaların amacı bu oksidatif süreci geciktirmek veya durdurmaktır. Yapılan çalışmalarda, düzenli olarak sebze meyve tüketilmesinin *in vivo* ortamda bu savunma sistemini güçlendirdiği, bu etkilere yapılarında bulunan fenolik bileşiklerin neden olduğu, çay, kırmızı şarap gibi fenolik bileşiklerce zengin olan besinlerin tüketilmesinin antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini ayrıca aynı etkinin bitkisel kökenli vitaminlerden E ve C'nin tüketilmesiyle de elde edilebileceğini göstermiştir. Bu besinlerin biyoyararlanımları, metabolizmaları ve diğer bileşiklere olan etkileri günümüzün başlıca araştırma konularıdır (Bachmayer 2004).

### **2.8.1. Oksijen**

Detayları tam olarak bilinmese de dünya üzerinde hayatın 3 milyar yıldan beri devam ettiği düşünülmektedir. İlk meydana gelen canlının güneş ışığını kullanarak fotosentez yaptığı ve atık ürün olarak da oksijen molekülünü oluşturduğu düşünülmektedir. Yine aynı görüşe göre oksijenin bugünkü seviyesine ulaşması için 30 milyon yıl geçmesi gerekmiştir (Larson 1997). Anaerob organizmaların bir kısmı buldukları ortamı korurlarken bir kısımda yavaş yavaş oksijenli ortamlara geçiş yaptılar. Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar oksijen kaynaklı radikalleri oluşturmaya başladılar bununla eş zamanlı olarak da oluşan bu serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere bu canlılarda antioksidan savunma sistemleri gelişti. Artık oksijen kullanan organizmalar elektron taşıma sistemleri sayesinde besinlerden daha fazla enerji

elde etmeye başladılar ve çok hücreli organizmaların oluşmasının önünü açmış oldular (Cadenas ve Davies 2000).

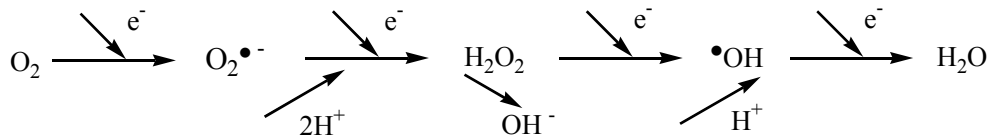
Daha önceden de belirtildiği gibi suya kadar indirgenmiş oksijenin hiçbir tehlikesi olmamasına rağmen oksidasyon sürecinde kullanılan oksijenin yaklaşık %2-5 lik bir kısmı elektron taşıma sisteminde, sitokrom oksidazın katalizlediği reaksiyonlarla, tam olarak suya indirgenmeden ortamdaki uzaklaşır (Urso ve Clarkson 2003, Sacke ve Blumberg 2001). Bu durumdaki oksijen moleküllerinin son orbitalinde eşleşmemiş bir elektron bulunur ki bu durumda oksijen atomik formu itibariyle aynı zamanda bir serbest radikal özelliği taşır (süperoksit radikali veya hidroksil radikali).

### 2.8.2. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Reaktif oksijen türleri, doğada radikal veya radikal olmayan formlarında bulunabilir

Çizelge 2.2. Reaktif oksijen türleri

Radikal türler	Radikal olmayan türler
Moleküler oksijen, O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Süperoksit, O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Hipokloröz asit, HOCl
Hidroksil, <sup>•</sup> OH	Ozon , O <sub>3</sub>
Peroksil, RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Singlet oksijen, <sup>1</sup> Δg
Alkoksil, RO <sup>•</sup>	Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>
Hidroksiperoksil, HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	



Şekil 2.2. Oksijenin indirgenmesi (O<sub>2</sub><sup>•-</sup> : süperoksit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : hidrojen peroksit, <sup>•</sup>OH : hidroksil radikali)

O<sub>2</sub> in ilk elektronla indirgenmesinin ardından süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) oluşur. İkinci elektronun ve 2H'nin eklenmesinden sonra ise süperoksit anyon radikali hidrojen peroksit'e dönüşür (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Hidrojen peroksit'e üçüncü elektronun eklenmesiyle de çok reaktif olan hidroksil radikali (<sup>•</sup>OH) meydana gelir ve ortama bir OH<sup>-</sup> iyonu salınır. Son olarak dördüncü elektronun eklenmesiyle de su molekülü oluşur (Şekil 2.1) (Uysal 1998, Halliwell 2002).

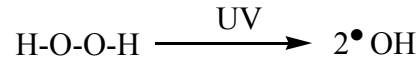
### 2.8.2.1. Serbest oksijen radikalleri

Elektronlar atom ve moleküllerde orbital denilen yapılar içinde bulunurlar ve her orbital maksimum iki elektron taşır (Halliwell 2001). Serbest radikaller son orbitallerinde eşleşmemiş elektron içeren ve bu nedenle de çok fazla reaktif özellik gösteren moleküllerdir. Serbest radikaller oksijen türevi veya azot türevi serbest radikaller olabilir ve normal fizyolojik şartlarda insan ve hayvan metabolizmalarında üretilir (Fang ve ark 2002).

#### Hidroksil radikali

Hidroksi radikaller (<sup>•</sup>OH) hücre içinde bulunan hemen hemen her tip molekülle (şekerler, amino asitler, fosfolipidler, DNA ve organik asitler gibi) hızlı bir biçimde etkileşime girerler. *In vivo* ortamda hidroksil radikali 3 yolla oluşur.

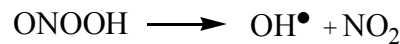
a) UV ışınlarıyla oluşan, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'deki O-O bağının homolitik fizyonu ile



b) Fenton reaksiyonu: Hidrojen peroksidin transistion metallere reaksiyona girmesi sonucu oluşur.



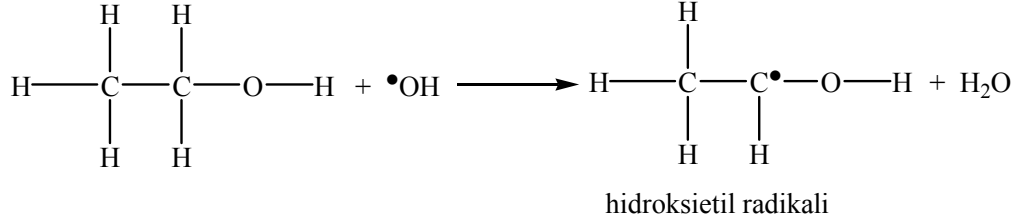
c) Peroksinitrit radikalinin bozulmasıyla



Hemen hemen tüm moleküller <sup>•</sup>OH ile çok çabuk reaksiyona girer. Hidroksil radikali reaksiyonları üç ana başlık altında özetlenebilir. Bunlar hidrojen verilmesi, eklenmesi ve elektron transferi olarak özetlenebilir. Bu reaksiyonlar sonucu radikal olmayan bir türle, serbest radikal etkileşimi değişik serbest

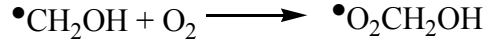
radikaller oluşturur. Genellikle oluşan bu yeni radikaller orjinal radikale eşit veya daha az reaktif özellik gösterirler (Bachmayer 2004).

Hidroksil radikalının alkollerle reaksiyonu, hidrojen verilmesine bir örnek olabilir. Hidroksil radikali bir hidrojen atomunu tutar ve su oluşur, açığa ise paylaşılmamış bir e<sup>-</sup> kalır (Şekil 2.2).



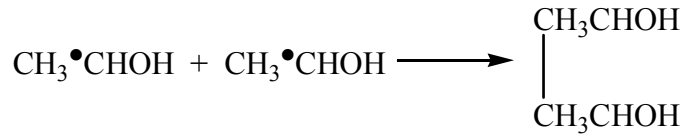
Şekil 2.3. Hidroksil radikali ile alkol etkileşimi

Karbon radikalının daha sonraki etkileşimleriyle başka radikaller oluşur, örn. oksijenle etkileşmesiyle peroksil radikaller oluşur (Şekil 2.3).



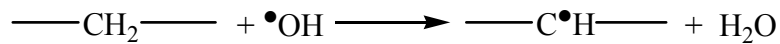
Şekil 2.4. Karbon radikali ile oksijenin birleşmesi

Ortamda karbon ile birleşecek düzeyde oksijen yoksa o zaman iki karbon radikali kendi aralarında birleşerek radikal olmayan bir başka molekülü oluştururlar (Şekil 2.4).



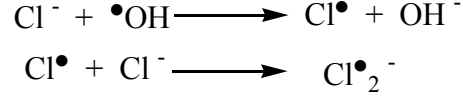
Şekil 2.5. İki karbon radikali arasındaki radikal olmayan molekül oluşumu

•OH radikali ile hidrojen verilmesi ayrıca, canlılar için önemli bir reaksiyon olan lipit peroksidasyonunu da başlatır (Şekil 2.5) (Halliwell 2000).



Şekil 2.6. Hidroksil radikaliyle H çıkartılması ile lipit peroksidasyonunun başlatılması

Hidroksil radikaller ayrıca elektron taşıma sisteminin bir parçası da olabilirler (Şekil 2.6).

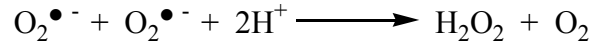


Şekil 2.7. Hidroksil radikalleri ile klor iyonlarının etkileşimi

$\bullet\text{OH}$  radikali ile karbonat iyonu ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) arasındaki reaksiyon çok güçlü oksidan özelliği olan karbonat radikallerini ( $\text{CO}_3\bullet^-$ ) meydana getirir. Bu ise karbonat metabolizmasının çok geniş yer tuttuğu insan organizması için çok önemlidir (Eberhardt 2001).

#### Süperoksit anyon radikali

Süperoksit radikali ( $\text{O}_2\bullet^-$ ), oksijenin bir elektronla indirgenmesi sonucu oluşur ve makrofajlar, nötrofiller, monositler ve euzinofiller gibi fagositik hücreler tarafından meydana getirilir. Bu hücreler vücudu mikroorganizmalara karşı korurken NADPH oksidaz enzimini kullanarak süper oksit radikalini oluştururlar. Sulu çözeltilerde süperoksit radikali hidroksil radikalinden daha az reaktiftir çünkü oluşmasını takip eden kısa süre içinde dismutasyon reaksiyonuna bağlı olarak hidrojen peroksit ve oksijen molekülüne dönüşür (Şekil 2.7).



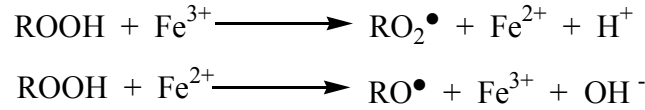
Şekil 2.8. Süperoksit anyon radikallerinin dismutasyon reaksiyonu

Fakat süperoksit radikalinin muhtemel en güçlü kaynağı, aerobik hücrelerde mitokondriler içinde bulunan elektron taşıma sisteminde meydana gelen kaçaklardır. Sistemden çıkan elektronlar moleküler oksijenle birleşerek süperoksit radikalini oluştururlar. Günlük kullanılan oksijenin yaklaşık %1-2 lik bir kısmı elektron taşıma sistemlerinden kaçarak süperoksit radikalini oluşturur. Bu durumda 80 kg lık bir adam günde yaklaşık 215-430 mmol süperoksit radikali oluşturabilir. Mitokondriyal kaynaklı süperoksit üretiminde mitokondri membranında bulunan Fe ve Cu miktarının da ilgisi olduğu düşünülmektedir.

Süperoksit radikalinin diğer bir biyolojik kaynağı ise ksantin oksidaz enzimidir (Cadenas ve Davies 2000, Bachmayer 2004).

#### Peroksil ve alkoksil anyon radikalleri

Organik peroksitlerin bozulmasıyla peroksil (RO<sub>2</sub>•) ve alkoksil (RO•) radikalleri oluşabilir. Bu reaksiyona peroksitlerin geçiş metal iyonları ile olan etkileşimleri (demir(II) iyonları) örnek olarak verilebilir (Şekil 2.8).



Şekil 2.9. Organik peroksitlerin demir (II) iyonlarıyla bozulması

Peroksil ve alkoksil radikali pek çok organik molekülün C-H bağlarını etkileyerek onların parçalanmasını sağlar. Bu durum özellikle lipid peroksidasyonunun çoğalma basamağında önemlidir. (Halliwell 2002, Denisov ve Afanas'ev 2005)

#### **2.8.2.2. Serbest olmayan oksijen radikali**

##### Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) genellikle *in vivo* ortamlarda enzimatik olarak süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen maddelerin oluşturduğu radikal olmayan türlerdir. Süperoksit dismutaz enziminden başka ksantin, urat ve D-aminoasit oksidaz gibi enzim sistemleri tarafından da oluşturulabilir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> moleküler yapısı nedeniyle suya çok benzediği için (H-O-O-H) hücre içine kolaylıkla difüze olabilir. Hidrojen peroksit vücutta fizyolojik olarak çok önemli rollere (mesajcı olarak ve immün sistem hücrelerinde antibakteriyel ajan olarak) sahiptir fakat, ortamda metal iyonları sayısı arttırdığında fenton reaksiyonunun tetikleneceği ve bu reaksiyon sonucunda da hidroksil radikali oluşacağı için tehlikelidir. Ortamdaki demiri kullanması özellikle haem proteinlerinin (hemoglobin, miyoglobin) sayısını azaltmaktadır. Hidrojen peroksit ortamda geçiş elementleri yoksa orta düzeyde bir radikal olarak düşünülebilirken, fenton reaksiyonu sonucu veya hidrojen peroksitin UV ışınlarıyla iki molekül hidroksil

radikaline ayrılması durumunda çok tehlikeli olmaktadır. Yapılan hücre kültürü çalışmalarında ortama hidrojen peroksitle beraber demir iyonlarının konulması sonucu hücrelerde hidroksil radikaline bağlı DNA hasarlarına rastlanmıştır. Hidrojen peroksit idrarda antibakteriyel ajan olarak bulunur ve böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde yardımcı olur. İdrarda bulunan hidrojen peroksit miktarı dietle değişebilse bile aynı zaman da vücutta meydana gelen oksidatif stresinde göstergesidir. (Halliwell 2000, Finkel 1998)

### 2.8.3. Reaktif azot türleri (RNS)

Reaktif oksijen türlerinde olduğu gibi azot türlerinde de radikal olanlar ve olmayanlar vardır (Çizelge 2.3) (Bachmayer 2004).

Çizelge 2.3. Reaktif azot türleri

<b>Radikal olanlar</b>	Nitrik oksit ( $\text{NO}^\bullet$ ), azot dioksit ( $\text{NO}^\bullet_2$ )
<b>Radikal olmayanlar</b>	Nitrik asit ( $\text{HNO}_2$ ), diazot trioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), diazot tetraoksit ( $\text{N}_2\text{O}_4$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), peroksinitrik asit ( $\text{ONOOH}$ ), alkil peroksinitritler ( $\text{ROONO}$ ), nitroksil anyonu ( $\text{NO}^-$ ), nitroksil kationu ( $\text{NO}^+$ ) ve nitril klorit

#### 2.8.3.1. Serbest azot radikali

##### Nitrik oksit

Canlı organizmalarda nitrik oksitin keşfi serbest radikal çalışmalarından önceye dayanır. Nitrik oksitin endotel, beyin, kan hücreleri ve karaciğer gibi pek çok dokuda mesajcı olması gibi önemli fizyolojik rolleri olmasına rağmen kolaylıkla serbest radikal olaylarına katılmaktadır. Nitrik oksitin süperoksit radikaliyle birleşerek peroksinitrit oluşturması onu oksidan olarak çok güçlü hale getirmekte ve pek çok patolojik olaya katılmasını sağlamaktadır. Nitrik oksidin normal şartlarda süperoksit radikaliyle birleşmesi oldukça sınırlıdır, çünkü oluşan süperoksit radikali hücrede yüksek konsantrasyonda bulunan süperoksit dismutaz enzimi tarafından kolaylıkla ortadan kaldırılmaktadır. Patolojik şartlarda ise hem nitrik oksit hem de süperoksit sentezi artmakta ve oluşan süperoksit süperoksit

dismutaz enzimi tarafından kolaylıkla yok edilememektedir ve sonuç olarak peroksinitrit radikali oluşmaktadır. Pek çok hastalığın fizyopatolojisinde, nitrik oksit, süperoksit ve süperoksit dismutaz aktivitesi arasında ilişkinin önemli olduğu ortaya çıkmaktadır (Balabanlı ve ark 1998). Nitrik oksit, hidroksil radikalinden farklı olarak daha az reaktiftir ve vücutta bulunması zorunlu olan bir bileşiktir, fakat fazla bulunması durumunda kendinden daha reaktif türlere dönüşebileceği için tehlikeli olabilmektedir (Damiani ve ark 2000). Nitrik oksit organizmada nitrik oksit sentetaz tarafından üretilmektedir (Denisov ve Afanas'ev 2005).

### **2.8.3.2. Serbest olmayan azot radikali**

#### Peroksinitrit

Peroksinitrit, nitrik oksitten veya süperoksit anyon radikalinden meydana gelmekte ve -SH gruplarını kolaylıkla hasara uğratabilmesi nedeniyle tehlikeli olmaktadır. Peroksinitritin protein yapılarını ve mitokondrial elektron taşıma sistemindeki bazı enzimlerin yapılarını bozduğu, ayrıca DNA da kırılmalara yol açtığı bilinmektedir (Ünal ve ark 1998). Çok çabuk bozularak kendisinden çok daha tehlikeli olabilecek hidroksil radikaline dönüşür

### **2.8.4. Oksidatif stres**

Strain ve Benzie (Bachmayer 2004) oksidatif stresi pro-oksidan olarak şöyle tanımlamışlardır: *Antioksidanların azalmasına bağlı olarak antioksidan savunma sistemi dengesizliği. Oksidatif stres durumlarında oksidan maddeler önemli hücresel materyallerle etkileşime girerek hastalıklara yol açarlar.*

Sağlıklı aerobik organizmalar, antioksidan savunma sistemleriyle denge oluşturacak düzeyde reaktif oksijen ve nitrojen türleri oluştururlar. Açığa çıkan bu reaktif türler antioksidan savunma sistemleri tarafından dengelenmiştir. Fakat bu sistemler çok hassas dengeler üzerinde durmaktadır. Dengelerin oksidasyondan yöne kayması çok kolaydır ve aşağıdaki durumlarda dengeler oksidasyondan yana değişir (Uysal 1998, Sorg 2004, Urso ve Clarkson 2003).



## Eksojen Faktörler

### 1. Diyetsetel

- çok doymamış yağ asitlerince beslenme
- alkol
- hayvansal proteinlerce zengin beslenme
- aşırı demir ve bakır alınması
- az sebze ve meyve yenmesi

### 2. Çevresel

- sigara dumanı
- hava kirliliği (O<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>)
- diğer kirleticiler (Asbest, Pestisitler)
- radyasyon

## Endojen faktörler:

1. Bilinçsiz yapılan veya yetersiz fiziksel egzersiz
2. Stres
3. Yaşlılık
4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (damar tıkanıklığı, kanser, kronik enflamasyon, iskemi gibi)
5. Diyetsetel antioksidanların sağlanmasını olumsuz etkileyen koşullar

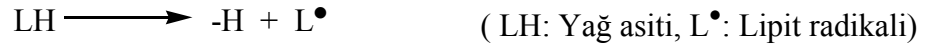
### **2.8.5. Lipit peroksidasyonu**

Yağ asitleri enzimatik, enzimatik olmayan ve serbest radikal kökenli oksidasyon ve radikal kökenli olmayan oksidasyon olmak üzere 4 farklı yol ile okside olurlar ve her oksidasyon mekanizması sonucunda farklı ürünler meydana gelir. Günümüzde araştırmalar daha çok enzimatik ve radikal kökenli olmayan oksidasyon üzerine yoğunlaşmıştır ki bu tür oksidasyona ozon molekülü tarafından başlatılan oksidasyon örnek olarak verilebilir (Niki ve ark 2005). Oksidasyon olayına dirençsiz olan yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleridir (PUFA), doymuş yağ asitleri ise oksidasyona dirençlidirler (Abuja ve Albertini 2001).

Hücre membranlarını oluşturan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu insan vücudunda sıklıkla rastlanan bir durumdur ve oksidasyon olayı başladığı zaman artık kendi kendini tetikler hale gelir ki, bu durum otooksidasyon olarak adlandırılır. Lipit peroksidasyonu asthma, Alzheimer's hastalığı, romatizma, katarakt, şeker hastalığı, karaciğer rahatsızlıkları, kalp hastalıkları ve yaşlanma gibi pek çok hastalığın sebebi olarak görülmektedir. Lipitlerde otooksidasyon 3 safhada meydana gelir (Spiteller 1998).

#### Başlangıç

Lipit peroksidasyonu peroksil, alkoksil veya hidroksil radikali gibi bir serbest radikalın çoklu doymamış yağ asitlerinin metil gruplarından bir hidrojen kopartmasıyla başlar. Doymuş yağ asitleri, kararlı durumlarından dolayı serbest radikallerden çok fazla etkilenmezler. Radikalın, yağın metil grubundan bir hidrojen atomu kopartması ile lipit radikali oluşur (Shahidi ve Nacz 1995).



#### Çoğalma

Lipit radikaline O<sub>2</sub> ilavesi ile lipit peroksil radikali oluşmaktadır



Oluşan lipit peroksil radikali başka yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni lipit radikallerini oluştururken kendisi de lipit hidroperoksidi haline geçer. Lipit peroksil radikalleri sadece yağ asitleri ile etkileşime girmekle kalmaz aynı zamanda karbonhidratlar ve peptitler gibi diğer biyolojik moleküllerle de reaksiyona girerek yapılarını bozarlar (Spiteller 1998)

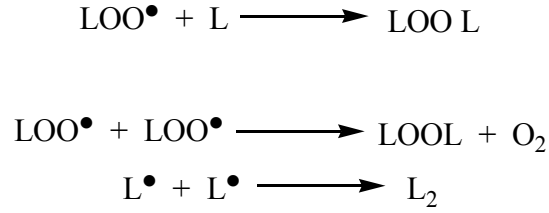


Lipit hidroperoksidi, lipit peroksidasyon olayının ilk oluşan kararlı bileşiğidir (Abuja ve Albertini 2001) ve Fe<sup>+2</sup> ve Cu<sup>+</sup> gibi geçiş elementlerinin

varlığında kolaylıkla bozulabilmektedir. Lipit hidroperoksitleri oksidasyon düzeyini belirlemede de kullanılır. (Spiteller 1998).

### Sonlanma

Sonlanma aşamasında iki serbest radikal birbirleri ile reaksiyona girerek radikal olmayan ürünlere dönüşürler (Bachmayer 2004).



### **2.8.6. Antioksidan maddeler**

Antioksidan kelimesi çeşitli şekillerde kullanıldığı için tanımlaması oldukça zordur ve çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri hücre zarında bulunan lipitleri oksidasyona karşı korumaları olmuştur. Bunun sonucu olarak başlangıçta antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen maddeler olarak tanımlanmışlardır (Yalçın 1998). Gıda kimyası üzerinde çalışan bilim adamları tarafından yapılan bu tanımlamadan sonra daha başka tanımlamalar da yapılmıştır. Halliwell ve ark. antioksidanları düşük konsantrasyonlarda okside edici ajanlarla karşılaştıklarında bu ajanlarla yarışarak substratın oksidasyonunu geçiktiren veya engelleyen maddeler olarak tanımlanmışlardır (Aruoma ve ark 1997).

Antioksidanlar etkilerini başlıca şu şekillerde gösterirler

1. Reaktif oksijen türlerinin enzimsel reaksiyonlar aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi
2. Reaktif oksijen türlerinin baskılama yoluyla engellenmesi
3. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi
4. Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi (Yalçın 1998, Niki ve ark 2005)

Antioksidanlar çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir

- 1) Yapılarına göre
  - a) Enzimler
  - b) Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller
- 2) Kaynaklarına göre
  - a) Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
  - b) Dışarıdan alınanlar (eksojen antioksidanlar)
- 3) Çözünürlüklerine göre
  - a) Suda çözünenler
  - b) Lipitlerde çözünenler
- 4) Yerleşimlerine göre
  - a) Hücre içinde bulunanlar
  - b) Ekstraselüler sıvılarda bulunanlar (Yalçın 1998)

#### **2.8.6.1. Antioksidan savunma mekanizması**

Daha önce de söylendiği gibi oksijen zararlı bir moleküldür. Aerobların hayatta kalabilmelerinin sebebi ise, antioksidan savunma mekanizmalarının işlemesidir.

Bazı hareketli bakteriler oksijenin toksisitesini basit taşıma yolları veya elektron iletim zincir reaksiyonlarında  $O_2^{\bullet-}$  üretimini engelleyerek yok ederler (Bachmayer 2004).

Antioksidan savunma mekanizması şunlardan oluşur:

a) Ajanlar serbest radikalleri ve diğer reaktif türlerini katalitik olarak uzaklaştırırlar. Süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz enzimleri bu kısımda yer alır.

b) Demir, bakır ve haem gibi pro-oksidanların varlığında proteinler yapar. Transferrinler, heptaglobinler, hemopeksinler ve metalloproteinler bu kısımda yer alır.

c) Proteinler farklı mekanizmalarla biyomolekülleri oksidatif hasara karşı korurlar.

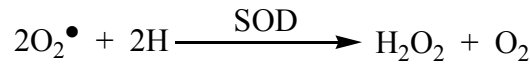
d) Küçük moleküllü ajanlar reaktif oksijen ve reaktif azot türlerini (ROS/RNS) süpürürler. Glutasyon, askorbik asit ve  $\alpha$ -tokoferol örnek olarak verilebilir (Bachmayer 2004).

#### In vivo antioksidan savunma mekanizması

##### Enzimatik antioksidanlar

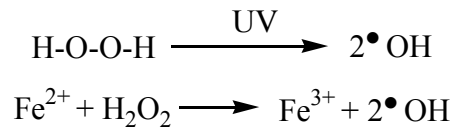
##### Süperoksit dismutaz (SOD)

Hücre membranlarında ve DNA üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak hasar yapan süperoksit anyon radikalinin aerobik organizmalarda ortamdaki uzaklaştırılmasının hayati önemi vardır. Süperoksit anyon radikalinin organizmadan uzaklaştırılması işleminden sorumlu olan süperoksit dismutaz enzimidir. Süperoksit dismutaz enziminin 3 farklı tipi vardır: metal içeren süperoksit dismutaz enzimi (Fe-SOD), manganez içeren süperoksit dismutaz enzimi (Mn-SOD), bakır/çinko içeren süperoksit dismutaz enzimi (Cu,Zn-SOD) (Cheng ve ark 2006) Süperoksit dismutaz enzimi süperoksit anyon radikalini hidrojen peroksit radikaline dönüştürerek etkisiz hale getirir (Bachmayer 2004).



##### Katalaz

Süperoksit anyon radikali süperoksit dismutaz tarafından  $\text{H}_2\text{O}_2$  ye dönüştürülüp etkisiz hale getirilse de bu durumda bir başka tehlike ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen  $\text{H}_2\text{O}_2$  aslında bu haliyle zararsız bir molekül de olsa parçalanıp  $\text{OH}^\bullet$  radikaline kolayca dönüşebildiği için ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir (Halliwell ve ark 2000)

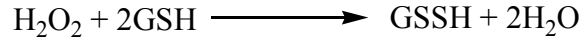


Oluşan  $\text{H}_2\text{O}_2$  katalaz enzimi etkisiyle su ve oksijene parçalanarak ortamdaki uzaklaştırılır. (Huang ve ark 2005)

##### Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) hidrojen peroksidin suya indirgenmesinden sorumlu bir enzimidir ve yapısında selenyum bulunmaktadır.

Glutasyon peroksidaz bu reaksiyon sonucu yükseltgenmiş glutatyona dönüşür (GSSG) (Bachmayer 2004)..



#### Enzimatik olmayan koruma

Enzimatik olmayan antioksidanlar E vitamini, C vitamini, karatenoitler, flavonoitler, fenolik bileşikler gibi pek çok eksojen ve endojen kökenli maddelerdir (Bachmayer 2004).

#### Vitamin E

E vitamini sadece bitkilerde sentezlenebilen ve yağda çözünen 8 çeşit bileşik için kullanılan genel bir isimdir. Bu 8 bileşik tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere 2 anabaşlık altında toplanabilir. Tokoferoller ve tokotrienollerin sınıflandırılması ise eski yunan alfabesine göre yapılmaktadır. En etkili antioksidan bileşik d- $\alpha$ -tokoferoldür.  $\alpha$ -tokoferol yağ asitlerini serbest radikallerin oksidasyonundan koruyan çok güçlü bir ajandır. E vitamini yağda eriyen bir vitamin olması nedeniyle emilmesi için ince barsakta yağın bulunmasına ihtiyaç vardır. İnce bağırsakta yağ bulunmasını ya da absopsiyonunu bozan bazı hastalıklarda ciddi E vitamini eksikliği ortaya çıkmaktadır. (Tanakol 1998). E vitamini'nin zengin olduğu kaynaklar balıklar hariç diğer yağlı besinler, fındık, tahıllar ve yumurta olarak sayılabilir.

#### Vitamin C

C vitamini, askorbik asit olarak da bilinir ve suda eriyebilen önemli bir antioksidandır. Bir çok hayvanda C vitamini sentezlenememektedir. Bu nedenle diyetle dışarıdan alınması gerekmektedir. Eksikliğinde meydana gelen skorbit hastalığı çok eski zamanlardan beri bilinmektedir (Tanakol 1998). Askorbik asit güçlü bir serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir ayrıca kollajen sentezinde de kullanılmaktadır. Askorbik asit, E vitamini ile birlikte Düşük Yoğunluklu Lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engellemektedir. C vitamini bazı durumlarda prooksidan özellik gösterir. Ortamda C vitamini ile birlikte  $\text{Fe}^{+3}$  iyonları da varsa C vitamini bu iyonları  $\text{Fe}^{+2}$  formuna indirger.  $\text{Fe}^{+2}$  iyonları ise hidrojen peroksit ile etkileşime girerek süperoksit radikalinin oluşmasını sağlar ve prooksidan özellik bu şekilde ortaya çıkmış olur (Bachmayer 2004).

### Karotenoitler ve ksantofiller

Karotenoitler doğada bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. En önemli karotenoit A vitamininin de ön maddesi olan  $\beta$ -karotenoit'tir. A vitamini retinoit olarak da adlandırılır ve eksikliğinde özellikle çocuklarda körlük ortaya çıkabilmektedir. Dünyadaki 100 000 dolayındaki çocukluk çağı körlüğünden A vitamini eksikliği sorumludur (Tanakol 1998). Karotenoitler güçlü antioksidan özellik gösterirler ve özellikle bitkilerde fotosentez sonucu oluşan singlet oksijeni ortamdan uzaklaştırırlar. Karotenoitlerin oksijenlenmiş türevlerine ksantofiller denir. Ksantofiller antioksidan özellik gösterebilirler de bu etkileri karotenoitler kadar yüksek değildir (Tanakol 1998, Bachmayer 2004).

### Polifenoller

Aromatik halkasında bir ya da daha fazla hidroksil grubu taşıyan maddeler fenolik maddelerdir. Fenolik maddelerin bir araya gelmesi ile polifenolik maddeler oluşur. Doğada bulunan fenolik maddeler karbon sayılarına göre sınıflandırılabilirler. Pirogallol ve floroglüsinol'de olduğu gibi basit fenoller, C6-C0 yapısına, gallik asit ve salisilik asit'te olduğu gibi C6-C1 yapısına, kafeik asit, ferulik asit ve kumarik asit'teki gibi C6-C3 yapısına sahiptirler. Polifenollerden antioksidan etkisi C ve E vitamininden bile daha güçlü olan bir grup vardır ki, bu grup flavonoidler olarak adlandırılır ve C6-C3-C6 yapısına sahiptirler ve bitkilerde genellikle glikozit halinde bulunmaktadır. Flavonoidler serbest radikal süpürücü etkileri yanında metallerle şelat oluşturarak muhtemel serbest radikal oluşumlarının da önüne geçerler. Flavonoidlerin flavanol , flavonol, flavanon ve flavon alt sınıfları vardır. Bunlardan kateşinler flavanol grubuna dahildir ve yeşil çay, siyah çay ve kırmızı şarap başlıca kateşin kaynaklarıdır. Naringenin ve taksifolin flavanon grubuna dahillerdir ve başlıca kaynakları narenciye kabuğu ve turunçgillerdir. Krisin ve apigenin flavon grubuna dahildir ve başlıca kaynaklarını meyvaların kabukları ile kereviz ve maydanoz oluşturmaktadır (Tanakol, 1998, Bachmayer 2004).

### Diğer Düşük Molekül Ağırlıklı Ajanlar

Bilirubin, melatonin, koenzim Q, ürik asit bu gruba dahil antioksidanlardır. Bilirubin lipid peroksidasyonu inhibe eder, süperoksit ve hidroksil radikalini süpürür (Yalçın 1998).

Melatonin lipofilik bir antioksidandır. Kan-beyin bariyerini geçebilme özelliği bulunduğu beyinde de etkili olabilen bir antioksidandır. Toksik etkisine uzun kullanımlarda bile rastlanmamıştır. Prooksidan aktivitesi de yoktur. DNA hasarlarını engellemede çok başarılı olmuştur Yaşlanma ile melatonin üretimi azalır. (Yalçın 1998)

Übikinon lipofilik antioksidandır ve soya yağı ile balık başlıca doğal kaynaklarıdır. En önemli übikinon, übikinon-10 (koenzim-Q) dur. Çok güçlü bir antioksidan değilse de E vitamini gibi güçlü bir antioksidan maddenin rejenerasyonunda rol oynar (Tanakol 1998, Yalçın 1998).

Ürik asitin en önemli özelliği C vitamininin prooksidasyon etkisini baskılamasıdır. Bu özeliğini demir ve bakır iyonlarını bağlayarak yapar. Lipit peroksidasyonunu engelleyici özelliği yoktur (Yalçın 1998).

#### **2.8.7. Gıdalarda kullanılan antioksidanlar**

Gıdalarda bulunan lipitler, özellikle doymamış lipitler, çok çabuk okside olup gıdaların bozulmasına sebep olmaktadır. Gıdalarda antioksidan maddeler kullanılmasının asıl sebebi bu oksidasyonu geciktirerek gıdaların raf ömrünü uzatmaktır (Bachmayer 2004)

##### Sentetik antioksidanlar

BHA (butillenmiş hidrokşianisol), BHT (butillenmiş hidroksi toluen), trolox, propil gallat sentetik antioksidanlardır. Bunlardan BHT ve BHA lipit peroksidasyonunu engellemede başarılıdır. Trolox,  $\alpha$ -tokoferolün suda çözünen formu olarak da düşünülebilir. Propil gallat ise suda çözünen güçlü bir antioksidandır. Sentetik antioksidanlar insanlarda meydana getirdikleri olumsuz özelliklerinden dolayı son zamanlarda bunların yerine kullanılacak alternatif doğal antioksidanlar üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Sebranek ve ark 2005).

##### Doğal antioksidanlar

Gıdalarda koruyucu olarak doğal antioksidanların kullanılması fikri, sentetik antioksidanların toksik etkilerinin ortaya çıkması ile hız kazanmıştır. Fakat sentetik antioksidanlar kadar güçlü antioksidanlar bulmak zordur ve çoğu



zaman doğal antioksidanlar gıdaları korumada tek başlarına yeterli olmamaktadır ve bu sebeple sentetik antioksidanlarla beraber kullanılmaktadırlar. Gıdalarda doğal antioksidan kullanımını kısıtlayan bir başka durum da hoş olmayan veya çok kuvvetli olan tat ve kokularıdır. Bu amaçlarla doğal antioksidan madde arayışında Lamiaceae gibi hoş kokusu ve tadı olan familyalar araştırılmaktadır (Bachmayer 2004).

### **2.8.8. Oksidasyon ve hastalıklar**

#### *Damar sertliği*

Kalp hastalıkları kentlerdeki en önemli ölüm sebeplerinden birisidir. Düşük molekül ağırlıklı lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu sonucu oluşan maddeler damar sertliğine ve buna bağlı olarak da kalp hastalıklarına yol açmaktadır (Tanakol 1998).

#### *Alzheimer hastalığı*

İlk olarak Alman psikolojist Alois Alzheimer tarafından isimlendirilen bu hastalık hafıza kaybı ile karakterizedir. Genellikle yetmişli veya seksenli yaşlarda hastanın günlük kullandığı eşyaları, sürekli kullandığı yolları ve çevresindeki insanları unutmaya başlamasıyla ortaya çıkar. Kadınlarda bu hastalığın görülme olasılığı erkeklerden daha fazladır (Parisea ve ark 2005). Alzheimer hastalığının serbest radikallerle olan ilgisi serbest radikallerin beyin nöronlarına yaptığı hasarlardan dolayıdır ve nöronlarda meydana gelen bu hasarlar Alzheimer hastalığının sebebi olarak görülmektedir (Luchsinger ve Mayeux 2004).

#### *Parkinson hastalığı*

Parkinson hastalığı bir merkezi sinir sistemi hastalığı olup 60 yaşını geçen insanlarda görülme sıklığı artar. Hastalık istemsiz kas hareketleri ile karakterizedir. Parkinson hastalığının sebebi bilinmemekle beraber oksijen radikallerinin sinirler üzerinde yaptığı etkilerin bu hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir (Bachmayer 2004)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Kimyasal Maddeler

##### 3.1.1. Bitkisel materyal

Deneysel çalışmalarda kullanılan *Salvia halophila* Hedge (endemik) Konya: Karaküllük-Eskil arası 1. km, yol kenarı, 934 m, 19.06.2004 tarihinde toplandı (ESSE 14418). *S. virgata* Jacq. ise Eskişehir: Sivrihisar Yavşan yaylası, 1040 m, 07.08.2004 tarihinde toplandı (ESSE 14417). Bitki örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (ESSE)'nda saklanmaktadır.

##### 3.1.2. Kimyasal maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik kalitededir. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi analizlerinde YBSK kalitesinde çözücüler ve standart maddeler kullanılmıştır. Tüm deneylerde kullanılan su ise bidistile sudur.

##### 3.1.3. Kullanılan aletler

Çalkalamalı su banyosu (GL Science)

Rotavapor (Heildolph)

Santrifüj (Eppendorf)

Ultrasonik banyo (Bandalin Sonorex)

Vorteks karıştırıcı (Heildolph)

pH metre (WTW Inolab)

Etüv (Binder)

Liyofilizatör (Lyovac)

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi Cihazı (Shimadzu Prominance)

UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu)

Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (Agilent 5975 GC-MSD ve Agilent 6890N GC/FID)

Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (Agilent LC-MSD Trap SL)

## 3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde *S. halophila* ve *S. virgata* nın topraküstü kısımları üzerinde yapılan ekstraksiyon işlemleri ve ekstrelerde yapılan miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmaları hakkında bilgi verilmektedir.

### 3.2.1. Ekstrelerin hazırlanışı

Bitkisel materyallerin kurutulmuş topraküstü kısımları kaba toz edildikten sonra Soxhlet apareyinde çözücü olarak sırasıyla hekzan, etil asetat, metanol ve %50 metanol kullanılarak 8'er saat süreyle ekstre edildi. Elde edilen ekstreler vakum altında rotavaporda (< 40 °C) yoğunlaştırıldı. Ayrıca bitkilerden Clevenger cihazında uçucu yağlarından arındırılmış su ekstresi de hazırlandı. Elde edilen su ekstresi liyofilize edildi. Tüm ekstreler analiz anına kadar -18 °C'de saklandı.

### 3.2.2. Kompozisyon analizleri

Bitkisel materyallerden hazırlanan ekstreler antioksidan aktiviteden sorumlu fenolik bileşikler bakımından incelendi.

#### 3.2.2.1. Toplam fenol miktar tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenoller gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi (Singleton ve ark 1999) kullanılarak hesaplandı. 6 mL distile su içeren 10 mL ölçekli kap içerisine 100 µL örnek çözeltisi ve 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 1 dakika sonra 1.5 mL %20'lik sulu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilip 10 mL'ye su ile tamamlandı. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanıldı. 2 saat 25 °C'de inkübe edildikten sonra absorbans 760 nm'de ölçüldü ve gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırıldı. Toplam fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Üç paralel deney yapılarak sonuçlar ortalama değerler olarak verildi.

### 3.2.2.2. Toplam flavonoit miktar tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam flavonoit miktarları rutine eşdeğer olarak (RE)  $\text{mg}_{\text{RE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$  olarak hesaplandı (Miliauskas ve ark 2004). 1 mL metanolde hazırlanmış ekstre (10 g/L), 1 mL etanolik alüminyum triklorit (20 g/L) ile karıştırıldı ve 25 mL ye etanol ile seyreltildi. Çözeltilerin absorbanları 20 °C de 40 dakika bekletildikten sonra 415 nm de ölçüldü. Şahit çözelti 1 mL ekstre ve 1 mL asetik asitin 25 mL etanolik çözeltisi olarak hazırlandı. Rutinin kalibrasyon eğrisi etanolde çözülerek aynı şekilde hazırlandı. Bütün ölçümler dört paralel olarak alındı ve ortalama sonuçlar kullanıldı.

### 3.2.2.3. Toplam flavonol miktar tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam flavonol miktarları rutine eşdeğer olarak (RE)  $\text{mg}_{\text{RE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$  olarak hesaplandı (Miliauskas ve ark 2004). Rutinin kalibrasyon eğrisi 0.5-0.015 mg/mL konsantrasyonlardaki etanolik rutin çözeltilerinin 2 mL sinin 2 mL etanolik alüminyum triklorit (20 g/L) ve 6 mL sodyum asetat (50 g/L) ile karıştırılması ile hazırlandı. Çözeltilerin absorbanları 20 °C de 2.5 saat bekletildikten sonra 440 nm de ölçüldü. Aynı işlemler rutin yerine 2 mL ekstre (10 g/L) ile yapıldı. Bütün ölçümler dört paralel olarak alındı ve ortalama sonuçlar kullanıldı.

### 3.2.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile fenolik bileşiklerin analizi

*YBSK çalışma şartları:*

Cihaz : Shimadzu Prominance sıvı kromatografisi sistemi

Dedektör : Shimadzu SPD-M10A<sub>yp</sub> PDA dedektör (200-500 nm arası)

Kolon : Teknokroma C18 analitik kolon (250 x 4.6 mm, 5 µm partikül çapı)

Sıcaklık : 22 C

Akım hızı : 1 mL/dak

Hareketli faz : A) metanol/su/asetik asit (10:88:2, h/h/h)

B) metanol/su/asetik asit (90:8:2, h/h/h)

C) metanol

Gradient akış :

zaman (dak)	hareketli faz A (%)	hareketli faz B (%)	hareketli faz C (%)
0	15	85	0
15	30	70	0
18	40	60	0
30	40	60	0
35	0	100	0
37	0	85	15
48	0	70	30
50	15	85	0

YBSK da ayrılan bileşiklerin tutunma zamanları ve UV spektrumları standartlarla karşılaştırılarak tanımlandı. Her analiz arasında 10 dakika dengeleme zamanı bırakıldı. Bütün standart ve örnek çözeltiler üçer kere analiz edilerek ortalama değerler verildi.

### **3.2.2.5. Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ve gaz kromatografisi (GC/FID) ile apolar bileşiklerin analizi**

*GC/MS-GC/FID çalışma şartları:*

Cihaz : Agilent 5975 GC-MSD sistemi ve Agilent 6890N

GC/FID sistemi

Enjektör sıcaklığı : 250 °C

İnterface : 280 °C

GC dedektör sıcaklığı: 300 °C

Kolon : HP-Innowax FSC kolonu (60 m x 0.25 mm, 0.25 mm film kalınlığı) (Aynı kolon ve analiz şartları Gaz kromatografisi için de kullanıldı)

Taşıyıcı gaz : Azot (0.8 mL/dak)

Sıcaklık programı :

zaman (dak)	Sıcaklık (°C)	Artış programı (°C/dak)
0	60	-
10	60	-
50	220	4
60	220	-
80	240	1
120	240	-

Split oranı : yok (MSD-HS-SPME için, 40:1 oranında)

Kütle aralığı :  $m/z$  35-550 (70 eV)

Tanımlama : Uçucu bileşenlerin kütle spektrumları Uçucu Yağ Bileşenleri Başer Uçucu Yağ Bileşikleri Kütüphanesi, Adams Kütüphanesi ve MassFinder Kütüphanesi kullanılarak, ayrıca tutunma indeksleri karşılaştırılarak aydınlatıldı. Ayrılan bileşiklerin relatif yüzde miktarları ise FID kromatogramlarından alan değerleri kullanılarak hesaplandı.

### 3.2.2.6. Sıvı kromatografisi/kütle spektrometrisi (LC/MS) ile hekzan ekstresinin analizi

#### *LC/MS Çalışma Şartları*

Cihaz : Agilent LC-MSD Trap SL

Kolon : Teknokroma C18 analitik kolon (250 x 4.6 mm, 5 µm partikül çapı)

Sıcaklık : 40 °C

Akım hızı : 0.7 mL/dak

Hareketli faz : metanol (%2 asetik asit)

Kütle aralığı :  $m/z$  100-550

Kurutma sıcaklığı : 350 C

Nebulizer basıncı : 40 psi

Kurutma gazı : 9 mL/dak

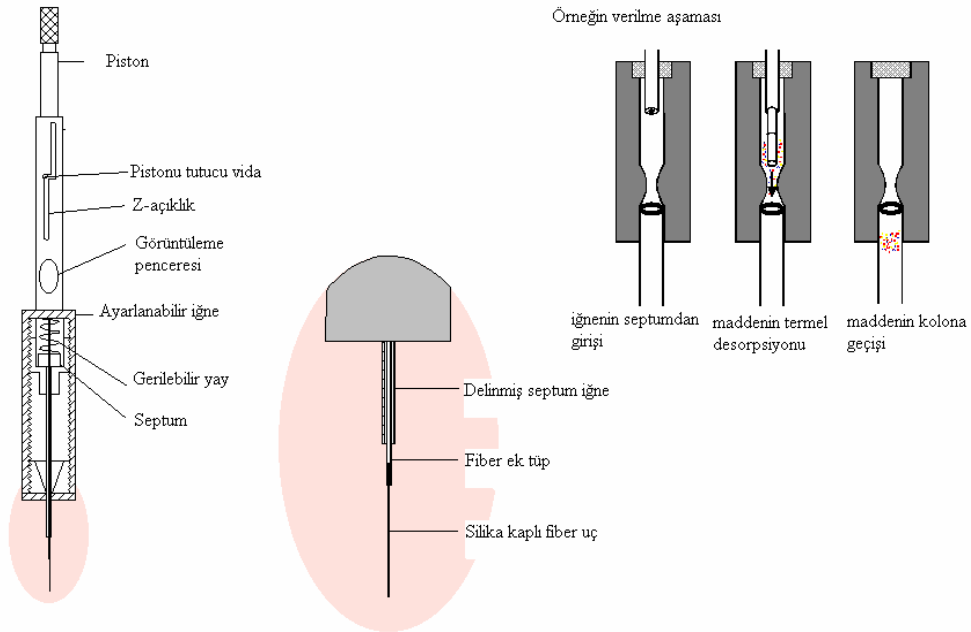
Kapiler voltaj : 4 kV  
İyonlaştırma turu : ESI +, - (eşzamanlı)

### 3.2.3. Hekzan ekstralarının analizi

*S. halophila* ve *S. virgata*'dan elde edilen hekzan ekstralarının kompozisyonlarının GC-MS-GC/FID sistemi kullanılarak belirlenmesi amacıyla iki farklı yöntem kullanıldı. Öncelikle ekstraların içerisindeki uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla ekstralar mikro distilasyon- tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (MSD-HS-SPME) yöntemine tabi tutuldu. Ekstre distile su içerisinde 10 dak süre ile kaynatıldı ve su buharı ile sürüklenen uçucu bileşenler polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) dolgu materyalli mavi tip SPME ucunda (Supelco) tutuldu. Daha sonra bu uçta absorbe olan maddeler doğrudan GC/MS sistemine enjekte edildi (Şekil 3.1).

Ayrıca ekstraların içerisindeki yağ asitlerini belirlenmesi amacıyla ekstralar borontriflorür ile türevlendirildi. Bu amaçla 50 mg ekstre 5 mL 0.5 N metanollü NaOH çözeltisi ile karıştırıldı. Bu karışım geri çeviren soğutucu altında sıcak su banyosu üzerinde 15 dakika ısıtıldı. Daha sonra 5 mL %14'lük BF<sub>3</sub> ilave edildi ve 2 dakika daha kaynatıldıktan sonra 5 mL *n*-hekzan ilave edilip 1 dakika bekletildi. Daha sonra karışım su banyosundan alınıp soğumaya bırakıldı. Soğuyan karışım 25 mL'lik balon jøjeye alındı ve hacme doymuş NaCl çözeltisi ile tamamlandı. Ağzı kapatılarak yavaşça karıştırıldı. Fazların tam olarak ayrılması beklendi ve üstteki berrak kısım GC/MS ve GC/FID sistemlerine eş zamanlı olarak enjekte edildi (Sarıçoban 2001).

Ayrıca bu ekstralar Sıvı Kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi (LC/MS) sistemi ile analiz edildi. Bu amaçla numuneler ters faz sıvı kromatografisinde ayrıldıktan sonra Elektron Sprey İyonizasyon (ESI) tekniği ile iyonlaştırıldı ve kütle spektrumları alındı. Analizler sırasında eşzamanlı olarak hem pozitif hem de negatif modda ölçüm alındı.



Şekil 3.1. Mikro distilasyon- tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (MSD-HS-SPME) yönteminde kullanılan cam apaney ve SPME enjektörünün kullanım prensibi



### 3.2.4. Antioksidan aktivite çalışmaları

#### 3.2.4.1. İndirgeme gücünün belirlenmesi

Ekstrelerin demir(III)' ü indirgeme kapasiteleri Oyaizu 1986 yöntemine göre yapıldı. 1 mL ekstre çözeltisi 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH 6.6) ve 2.5 mL %1 lik potasyum hekzasiyanoferrat çözeltisi ile karıştırıldı. 50 C de 30 dakika inkübe edildikten sonra 2.5 mL %10 luk trikloro asetik asit (TCA) ilave edildi ve karışım 10 dakika santrifüj edildi. Son olarak, 2.5 mL üst kısım 2.5 mL su ve 0.5 mL %0.1 lik FeCl<sub>3</sub> ilave edilip karıştırılarak 700 nm de absorbansları okundu. Ekstrelerin indirgeme güçleri askorbik asite eşdeğer olarak (AscAE) mmol askorbik asit/g örnek olarak verildi (Dorman ve ark 2003). Büyük AscAE değeri zengin indirgeme kapasitesini göstermektedir. Tüm analizler dört paralel olarak yapıldı ve ortalama değerler olarak verildi.

#### 3.2.4.2. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikalini süpürücü etki tayini

Ekstrelerin DPPH<sup>•</sup> radikalini süpürücü etkileri Gyamfi ve ark.'nın metoduna 1999 göre yapıldı. Tris-HCl tamponu (50 mM, pH 7.4) içerisinde hazırlanmış 50 µL ekstre çözeltisi 450 µL Tris-HCl tamponu (50 mM, pH 7.4) ve 1 mL 0.1 mM metanolde hazırlanmış 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil çözeltisi (DPPH<sup>•</sup>) ile karıştırıldı. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı ve pozitif kontroller (BHT, askorbik asit) kullanıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra absorbanslar 517 nm de okundu. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı. IC<sub>50</sub> değerleri nonlineer regresyon eğrileri kullanılarak (Sigma Plot 2001 version 7.0, SPSS Inc., Chicago, IL) hesaplandı. Değerler dört paralel deneyin ortalaması olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100$$

### 3.2.4.3. Linoleik asit peroksidasyonunu inhibe edici etki tayini

**Tiyosiyanat metodu:** Lipit oksidasyonunun inhibe edilmesinin *in vitro* olarak belirlenmesi amacıyla bu yöntem kullanıldı (Llorach ve ark 2002). Reaktifler taze olarak hazırlandı. Reaksiyon karışımı (2.525 mL) etanolde hazırlanmış linoleik asit (%2.5) (0.25 mL), 50 mM sodyum fosfat tamponu, pH 7 (1 mL), etanol (0.25 mL), distile su (0.9 mL), örnek (0.1 mL) ve hızlandırıcı olarak 1.8 mM AAPH (25 µL) içerecek şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı ağzı kapalı tüplere konup karıştırıldı ve 50 °C lik etüvde 10 saat inkübe edildi. Her 2 saatte bir 30 µL reaksiyon karışımı 2910 µL etanol içerisine alındı ve 30 µL amonyum tiyosiyanat (3.86 M) ilave edildi. Daha sonra 30 µL demir(II) klorür ilave edilip 3 dakika sonra 500 nm de absorbans okundu. Spektrofotometre numune içermeyen reaktif karışımına karşı sıfırlandı. Pozitif standart olarak BHT ve askorbik asit kullanıldı. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Kontrol absorbansı olarak 10 saat sonundaki absorbans kullanıldı. Değerler dört paralel deneyin ortalaması olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - (\text{Abs}_{\text{örnek}} - \text{Abs}_{\text{kontrol}} \times 100)$$

**Tiyobarbitürik Asit (TBA) Metodu:** Demir (II) tiyosiyanat metodunda kullanılan reaksiyon karışımı 10 saat sonunda oluşan MDA miktarının belirlenmesi amacıyla TBA deneyinde kullanıldı (Llorach ve ark 2002). 1 mL reaksiyon karışımı 1 mL trikloroasetik asit (TCA, %2.8) ve 1 mL tiyobarbitürik asit (TBA, %1) ile karıştırılıp ağzı kapatılarak 90 °C lik su banyosunda 20 dakika inkübe edildi. 10 dakika buz banyosunda soğutulduktan sonra 2 mL *n*-butanol ilave edilip vorteks ile karıştırıldı. 5 dakika 3000 rpm’de santrifüj edildikten sonra absorbans 532 nm de *n*-butanol’e karşı okundu. Değerler dört deneyin ortalaması olarak verildi.

### 3.2.4.4. β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini

Ekstrelerin antioksidan aktivitesi β-karoten soldurma deneyine göre yapıldı (Oomah ve Mazza 1996, Velioğlu ve ark 1998). Kısaca, 1 mL β-karoten

(0.2 mg/ml kloroform içerisinde) içerisinde linoleik asit (40 mg) ve Tween 20 (400 mg) bulunan kap içerisine ilave edildi. Kloroform azot altında yoğunlaştırıldı. 50 ml distile su ilave edildi ve hızla çalkalandı. Kontrol, örnek ve standart konulmadan aynı prosedür ile hazırlandı. Kontrol ve örneklerin şahitleri ise  $\beta$ -karotensiz olarak hazırlandı. Tüm numunelerin örnekleri 470 nm de spektrofotometrede ölçüldü. Sonra örnekler termal otooksidasyon için 50 °C de 105 dakika su banyosunda bekletildi.  $\beta$ -Karatoten'in solma derecesi 15 dakikalık periyotlarla örnek alınarak izlendi. Antioksidan aktivite sonucu üç deneyin ortalaması olarak verildi (Oomah ve Mazza 1996, Velioglu ve ark 1998).

$$AA\% = [1 - (Ab^0_{\text{örnek}} - Abs^{105}_{\text{örnek}}) / (Ab^0_{\text{kontrol}} - Abs^{105}_{\text{kontrol}})] \times 100$$

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ekstrelerin Hazırlanışı, Spektrofotometrik ve Kromatografik Bileşim Analizleri

*Salvia halophila* ve *S. virgata* bitkilerinin topraküstü kısımları sırasıyla hekzan, etil asetat, metanol ve %50 metanol ekstraları hazırlandı. Ayrıca bitkilerin Clevenger cihazında yağı alındıktan sonra kalan sulu kısmı liyofilize edildi. Bütün ekstralar hem antioksidan aktivite analizlerinde hem de kompozisyon analizlerinde kullanıldı. Elde edilen ekstre verimleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi her iki bitkiden elde edilen %50 metanol ve su ekstralarında en yüksek verim elde edilmiştir. En düşük ekstre verimleri ise etil asetat ekstralarında bulunmuştur. Soxhlet ekstraksiyonu sonucu *S. halophila*’nın toplam ekstre verimi (269.2 mg/g) *S. virgata*’nın veriminden (198 mg/g) daha yüksek olarak bulunmuştur. Her iki bitkiden elde edilen su ekstralarının verimleri arasında fark görülmemiştir (151-152 mg/g).

Çizelge 4.1. *S. halophila* ve *S. virgata*’dan elde edilen ekstraların verimleri

Ekstre	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>
hekzan (A)	12.4*	21.5
etil asetat (B)	3.6	12.5
metanol (C)	71.2	45.0
%50 metanol (D)	182.0	119.0
<b>toplam</b>	<b>269.2</b>	<b>198.0</b>
su (E)	151.0	152.0

\* mg<sub>ekstre</sub>/g<sub>drog</sub>

Ekstrelerin toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam flavonol miktarları deneysel kısımda verilen yöntemler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Toplam fenol miktarları gallik asite, toplam flavonoit ve toplam flavonol miktarları ise rutine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.2’de verilmiştir. Her iki bitkiden elde edilen %50 metanol ekstralarının fenolik bileşenlerce en zengin ekstre olduğu bulunmuştur. Toplam fenol miktarları bakımından *S. halophila* ekstraları %50 metanol > etil asetat > metanol > su > hekzan olarak sıralanırken, *S. virgata* ekstraları ise %50 metanol > metanol > su > etil asetat > hekzan olarak sıralanmaktadır. Toplam flavonoit miktarları

bakımından *S. virgata* ekstrelerinin *S. halophila* ekstrelerinden daha zengin olduğu Çizelge 4.2’de görülebilir. Her iki bitki de flavonol içeriği bakımından fakir olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrelerinin toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam flavonol miktarları

Ekstre	Toplam fenol <sup>a</sup>		Toplam flavonoit <sup>b</sup>		Toplam flavonol <sup>c</sup>	
	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>
(A)*	29.21±0.64	28.31±0.58	0.18±0.24	0.81±0.09	0.15±0.00	0.02±0.00
(B)	98.97±0.77	64.47±1.04	1.27±0.31	0.10±0.02	-	0.02±0.00
(C)	73.21±0.99	133.79±0.79	2.65±0.06	6.53±0.11	-	-
(D)	106.70±1.51	212.30±0.43	6.28±0.08	3.57±0.05	-	-
(E)	58.46±0.44	116.22±0.84	3.64±0.21	3.87±0.06	0.01±0.00	0.01±0.00

\* (A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstreleri; <sup>a</sup> mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>; <sup>b</sup> mg<sub>RE</sub>/g<sub>ekstre</sub>; <sup>c</sup> mg<sub>RE</sub>/g<sub>ekstre</sub>

Ekstrelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) sistemi ile yapılan analizlerinde PDA dedektör kullanılmış ve miktar tayinleri benzoik asit türevleri için 280 nm’de, hidrokisisinnamik asit türevleri için 320 nm’de ve flavonoitler için ise 360 nm’de yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3’de verilmiştir. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrelerine ait YBSK kromatogramları sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de ve aydınlatılmış bileşiklere ait kimyasal yapılar ise Şekil 4.3’de verilmiştir.

Ekstreler içerisinde gallik asit, *p*-OH-benzoik asit, kafeik asit, *o*-kumarik asit, rosmarinik asit, luteolin-7-*O*-glikozit ve luteolin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Gallik asit, *p*-OH-benzoik asit 280 nm de, kafeik asit, *o*-kumarik asit, rosmarinik asit 320 nm de, luteolin-7-*O*-glikozit ve luteolin 360 nm de analiz edilmişlerdir. Ekstrelerin içerisindeki tanımlanan bu bileşiklerin miktarları standart maddelerden hazırlanan kalibrasyon eğrileri (Çizelge 4.4) kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir. Maddelerin tanımlanmasında hem tutunma zamanları hem de UV spektrumları kullanılmıştır.

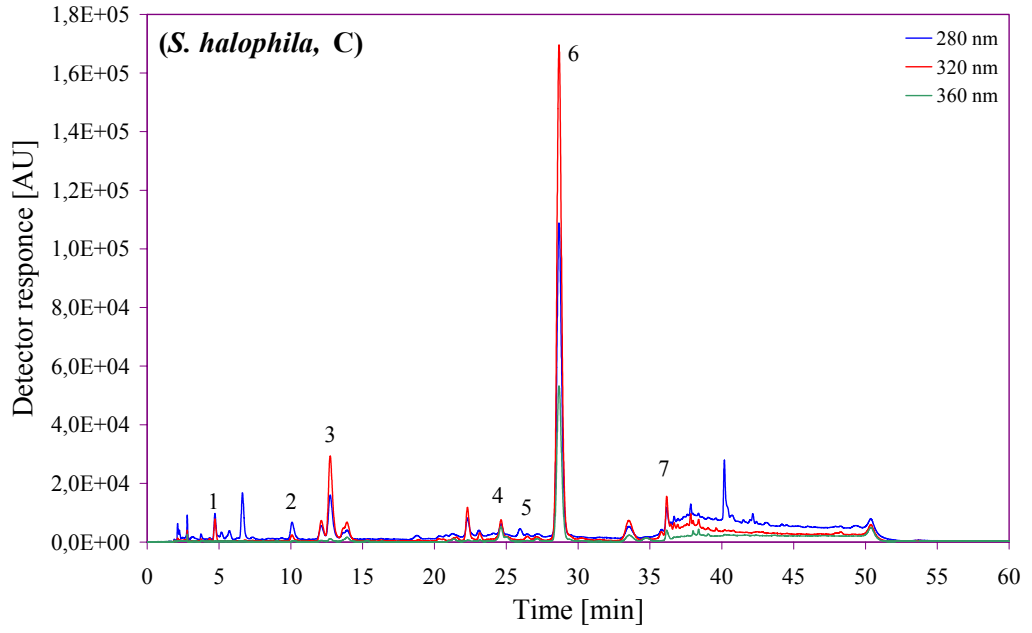
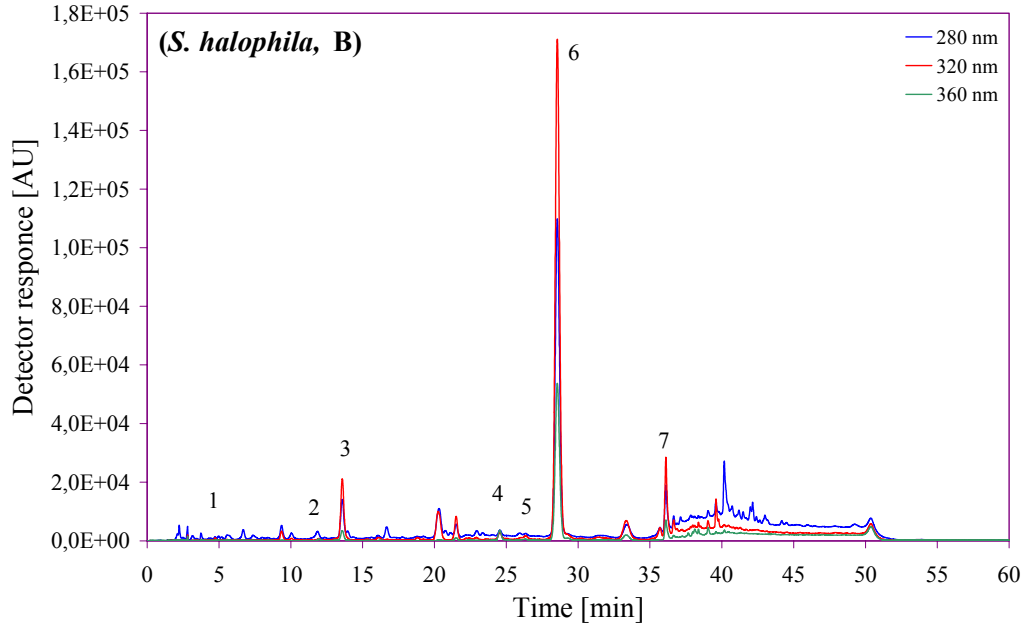
Çizelge 4.3. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrelerinin YBSK analiz sonuçları

	Ekstreler*				
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)
<i>S. halophila</i>					
gallik	-	eser	0.53 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.06 ± 0.00
<i>p</i> -OH-benzoik	-	0.48 ± 0.01 <sup>&amp;</sup>	1.38 ± 0.01	7.46 ± 0.30	1.27 ± 0.02
kafeik	-	1.56 ± 0.09	0.21 ± 0.00	2.39 ± 0.07	1.21 ± 0.01
<i>o</i> -kumarik	-	0.73 ± 0.04	0.70 ± 0.05	6.37 ± 0.24	1.26 ± 0.01
rozmarinik	-	48.90 ± 2.12	38.59 ± 0.22	27.14 ± 0.89	5.98 ± 0.05
luteolin-7- <i>O</i> -glikozit	-	0.32 ± 0.02	0.45 ± 0.01	2.32 ± 0.09	0.86 ± 0.00
luteolin	-	0.46 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.04 ± 0.00
<i>S. virgata</i>					
gallik	-	eser	0.41 ± 0.03	1.29 ± 0.07	0.83 ± 0.03
<i>p</i> -OH-benzoik	-	0.03 ± 0.01	eser	0.46 ± 0.04	0.11 ± 0.02
kafeik	-	0.48 ± 0.04	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.04	1.35 ± 0.11
<i>o</i> -kumarik	-	0.83 ± 0.04	10.78 ± 0.25	7.63 ± 0.47	1.34 ± 0.02
rozmarinik	-	4.48 ± 0.13	59.75 ± 1.66	48.49 ± 2.84	23.23 ± 0.43
luteolin-7- <i>O</i> -glikozit	-	0.15 ± 0.01	0.69 ± 0.02	0.47 ± 0.03	0.23 ± 0.01
luteolin	-	0.06 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.58 ± 0.02

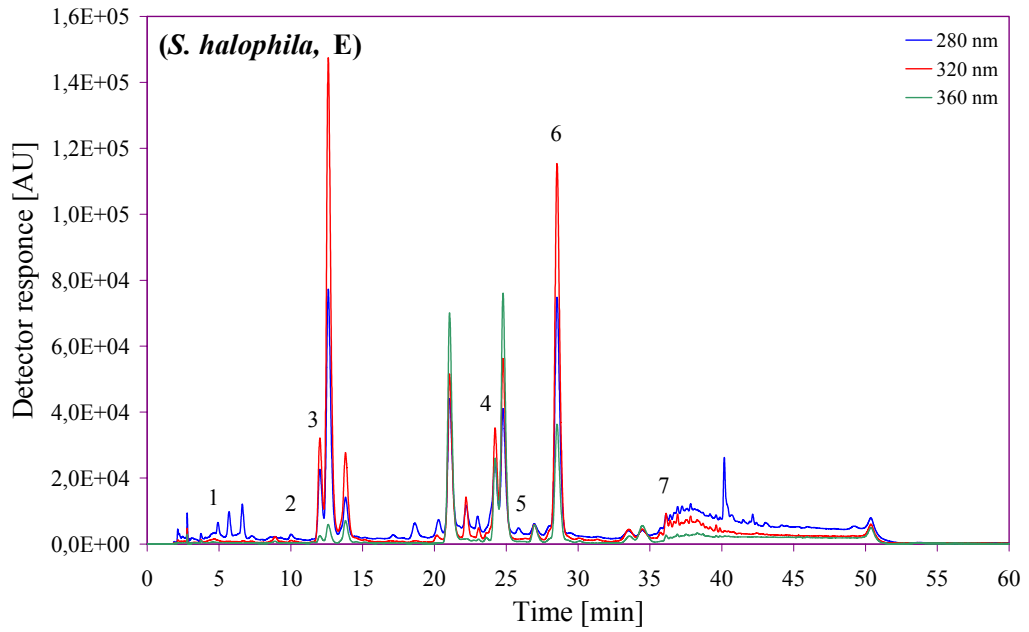
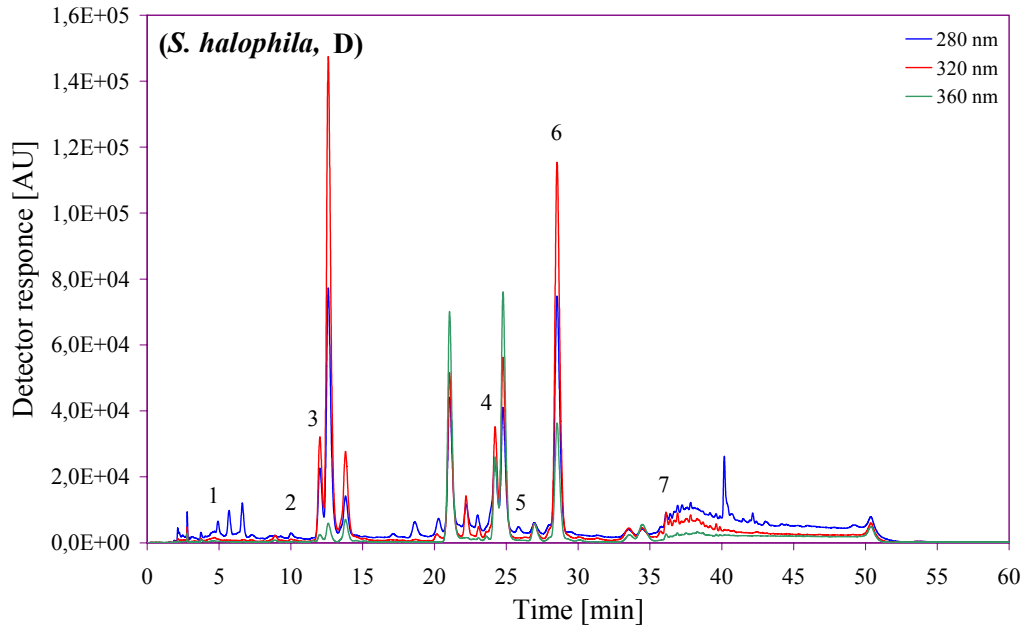
\* (A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstreleri; <sup>&</sup>mg/g, Ort ± SD

Çizelge 4.4. YBSK analizlerinde kullanılan standartlara ait kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları

Bileşik	Kalibrasyon denklemi [y = ax + b]	Korelasyon katsayısı [r]	Konsantrasyon aralığı [mg/mL]
gallik asit	y = 3.10 <sup>7</sup> x + 6078	0.9994	0.001-0.700
<i>p</i> -OH-benzoik asit	y = 1.10 <sup>7</sup> x + 15674	0.9969	0.001-0.700
kafeik asit	y = 5.10 <sup>7</sup> x + 4571	0.9995	0.001-0.700
<i>o</i> -kumarik asit	y = 3.10 <sup>6</sup> x + 5876	0.9983	0.001-0.700
rozmarinik asit	y = 2.10 <sup>7</sup> x + 8037	0.9995	0.001-0.700
luteolin-7- <i>O</i> -glikozit	y = 4.10 <sup>7</sup> x + 3218	0.9993	0.001-0.700
luteolin	y = 5.10 <sup>7</sup> x + 663	0.9999	0.001-0.700

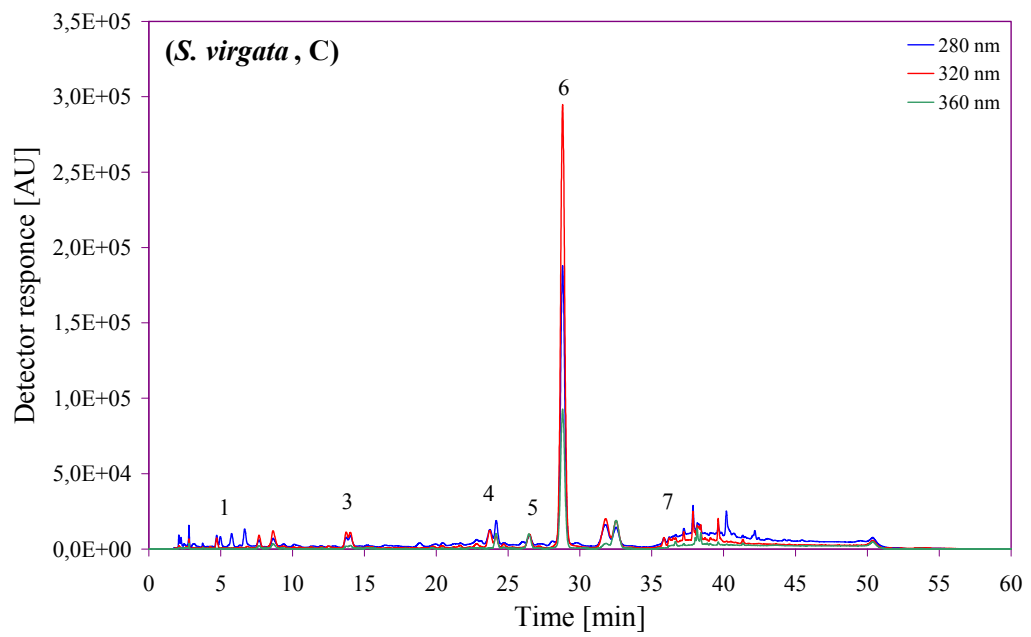
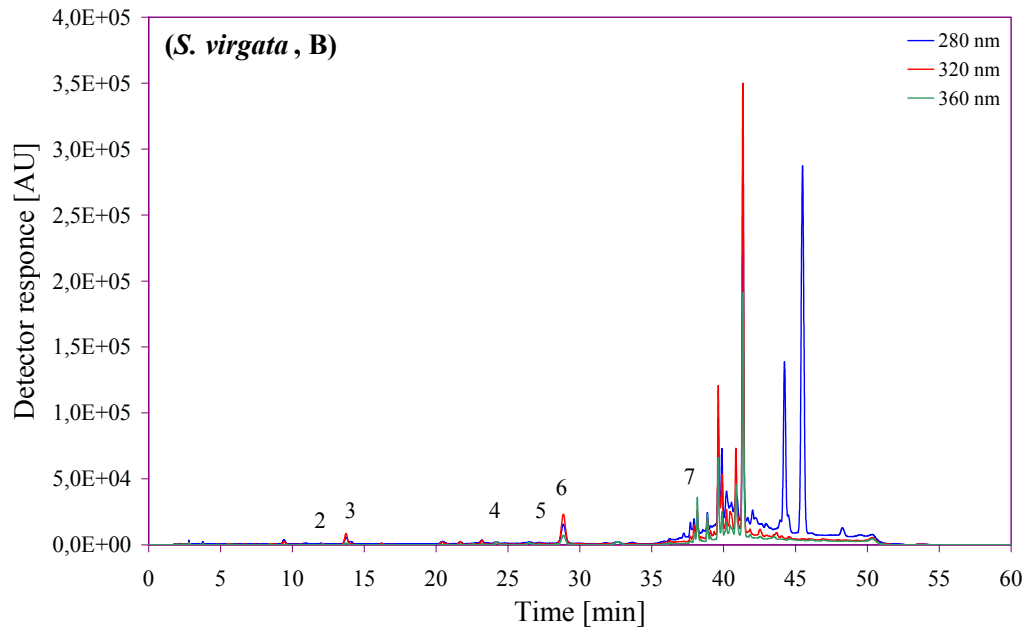


Şekil 4.1. *S. halophila* ekstralarının YBSK kromatogramları (1, gallik asit; 2, *p*-OH-benzoik asit; 3, kafeik asit; 4, luteolin-7-*O*-glikozit; 5, *o*-kumarik asit; 6, rozmarinik asit; 7, luteolin)

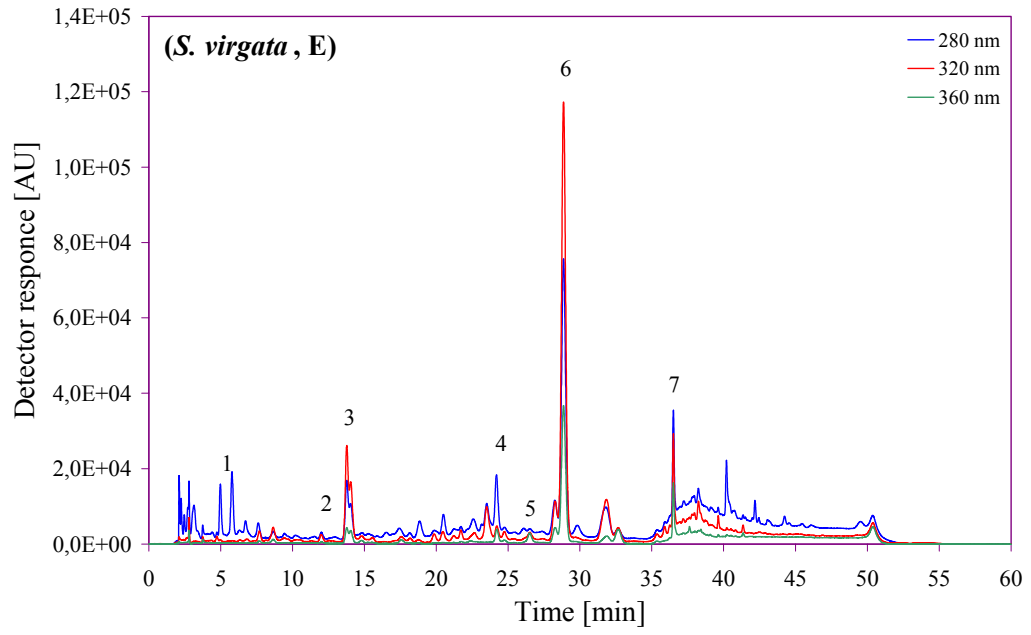
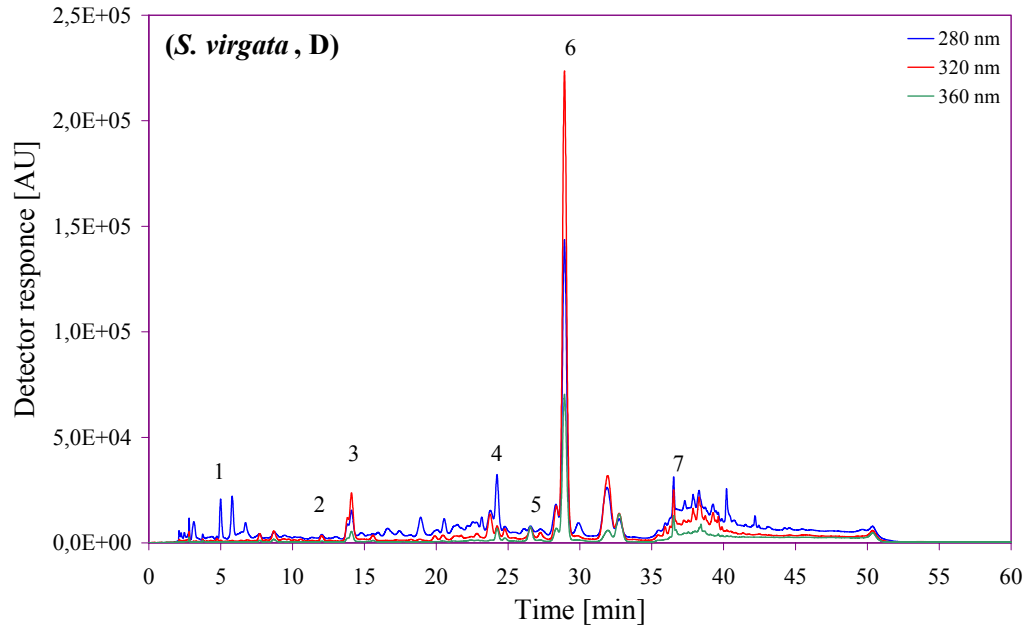


Şekil 4.1 (Devam). *S. halophila* ekstrelerinin YBSK kromatogramları (1, gallik asit; 2, *p*-OH-benzoik asit; 3, kafeik asit; 4, luteolin-7-*O*-glikozit; 5, *o*-kumarik asit; 6, rozmarinik asit; 7, luteolin)

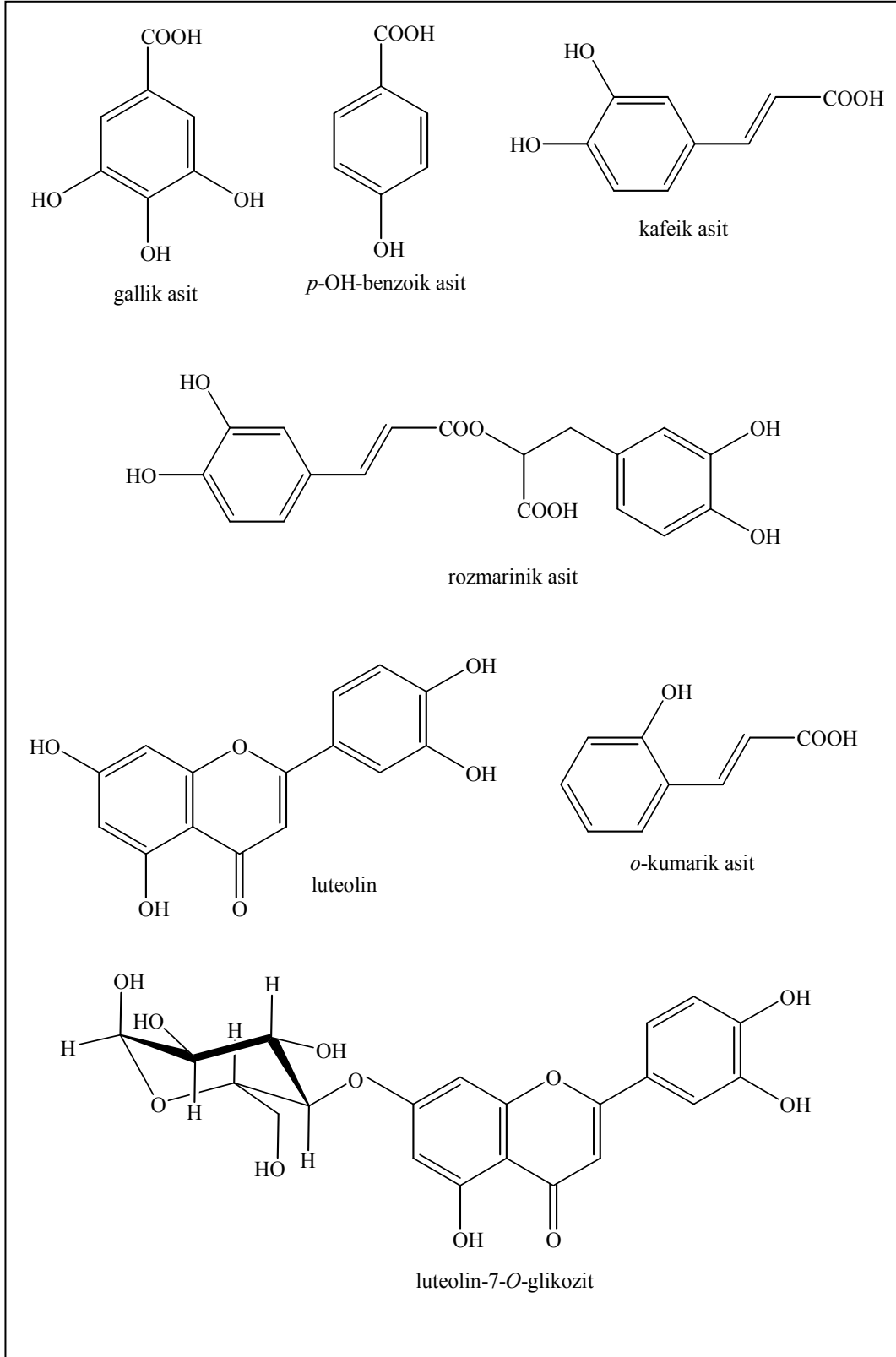




Şekil 4.2. *S. virgata* ekstralarının YBSK kromatogramları (1, gallik asit; 2, *p*-OH-benzoik asit; 3, kafeik asit; 4, luteolin-7-*O*-glikozit; 5, *o*-kumarik asit; 6, rozmarinik asit; 7, luteolin)



Şekil 4.2 (Devam). *S. virgata* ekstrelerinin YBSK kromatogramları (1, gallik asit; 2, *p*-OH-benzoik asit; 3, kafeik asit; 4, luteolin-7-*O*-glikozit; 5, *o*-kumarik asit; 6, rozmarinik asit; 7, luteolin)



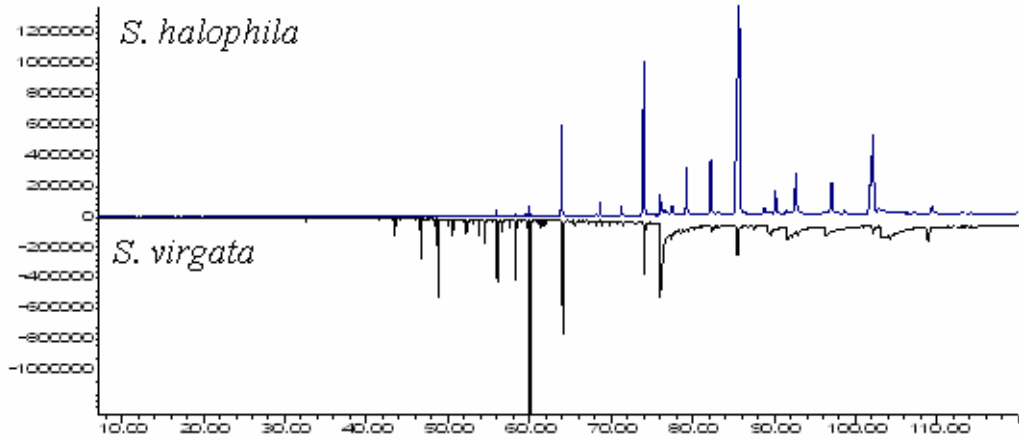
Şekil 4.3. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstralarında tanımlanan ve miktarları belirlenen fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları

*Salvia halophila* ile yapılan YBSK analizleri sonucunda Çizelge 4.3'deki sonuçlar değerlendirildiğinde, etilasetat ekstresinin fenolik bileşikler bakımından zengin olduğu bulunmuştur. *S. halophila* ekstrelerinde hekzan ekstresi dışında ana bileşik olarak rozmarinik asit tespit edilmiştir. Kafeik asit ise ekstrelerde bulunan ikinci ana hidroksisinnamik asit türevidir. Metanol ve sulu metanol (%50) ekstrelerinin diğer ekstrele göre daha fazla flavonoit taşıdığı belirlenmiştir.

*S. virgata* ekstrelerinin YBSK analizi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Bu ekstrelerde de hekzan ekstresi dışında rozmarinik asit ana bileşendir. Hidroksisinnamik asit türevi olan *o*-kumarik asit ise ikinci ana bileşik olarak tespit edilmiştir. Metanol, %50 metanol ve su ekstreleri flavonoitleri bakımından diğer ekstrelerden daha zengin olarak bulunmuştur.

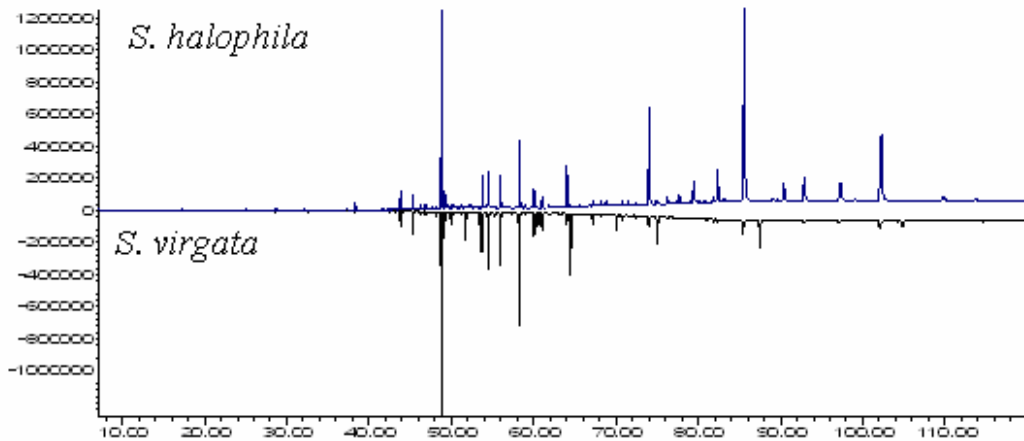
#### **4.2. Hekzan Ekstresinin Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi**

Aktivite deneylerinde yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenen hekzan ekstresinin içerdiği uçucu bileşikler, yağ asitleri ve diğer apolar bileşikler ayrı ayrı incelenmiştir. Bu amaçla öncelikle ekstrelerin içerdiği uçucu bileşiklerin belirlenmesi mikro distilasyon- tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (MSD-HS-SPME) tekniği ile yapılmıştır. Burada su buharı ile sürüklenen uçucu bileşenler polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) dolgu materyalli mavi tip SPME ucunda tutulmuş ve doğrudan GC/MS sistemine enjekte edilmiştir. Her iki ekstreye ait GC/MS kromatogramları Şekil 4.4'de ve tanımlanan bileşenlere ait relatif miktarlar (%) Çizelge 4.5'de verilmektedir. Bu analizler sonucunda *S. halophila* ve *S. virgata*'nın hekzan ekstrelerinin ana bileşikler bakımından birbirlerinden farklı olduğu gözlenmiştir. *S. halophila*'da hentriakontan, tritriakontan ve nonakosan ana bileşiklerken, *S. virgata*'da hegzadekanoik asit, fitol, heptakosan yüksek oranda bulunmuştur. Ayrıca *S. virgata*'da karyofilen türevi seskiterpen bileşiklere rastlanırken bu bileşikler *S. halophila*'da bulunmamaktadır.



Şekil 4.4. *S. halophila* ve *S. virgata*'nın hekzan ekstrlerinin MSD-HS-SPME yöntemi sonucunda elde edilen GC/MS kromatogramları

Hekzan ekstrleri ayrıca  $\text{BF}_3$  ile türevlendirilmiş ve yağ asitleri yapılan GC/MS analizleri sonucunda belirlenmiştir. Türevlenmiş ekstrler eşzamanlı olarak hem GC/MS'e hem de GC/FID sistemlerine enjekte edilmiştir. Her iki bitkinin hekzan ekstrlerine ait GC/FID kromatogramları Şekil 4.5'de ve tanımlanan bileşiklere ait relatif miktarlar (%) Çizelge 4.6'da verilmiştir. Alınan sonuçlara göre her iki ekstre profil olarak benzerlik göstermekte sadece madde miktarları olarak değişim göstermektedir. *S. halophila*'da hentriakontan, triatriakontan ve nonakosan ana bileşenler olarak bulunurken, *S. virgata*'da metil linoleat ve hentriakontan yüksek oranda bulunmaktadır.



Şekil 4.5. *S. halophila* ve *S. virgata*'nın hekzan ekstrlerinin  $\text{BF}_3$  ile türevlendirilmesi sonucunda elde edilen GC/MS kromatogramları

Çizelge 4.5. *S. halophila* ve *S. virgata*'nın hekzan ekstralarının MSD-HS-SPME yöntemi ile elde edilen bileşikleri (GC/MS)

RTI	Bileşik	<i>S. halophila</i> [%]	<i>S. virgata</i> [%]
1612	β-karyofilen	-	0.200
1933	tetradekanal	-	0.095
2001	izokaryofilen oksit	-	0.081
2008	karyofilen oksit	-	0.886
2041	2-pentadekanon	-	0.048
2131	hekzahidrofarnesil aseton	-	1.675
2226	metil palmitat	0.034	3.118
2287	8,13-epoksi-15,16-dinorlabd-12-en	-	0.360
2300	triakosan	-	0.753
2316	karyofilladienol-I	-	0.268
2380	dihidroaktinidiolit	0.041	0.783
2400	tetrakosan	-	0.184
2431	metil stearat	-	0.835
2467	metil elaidat	-	1.036
2498	metil linoleat	-	1.318
2500	pentakosan	0.238	3.889
2530	fıtil asetat	-	0.677
2583	metil linolenat	0.081	3.984
2597	1-oktadekanol	0.035	-
2600	hekzakosan	0.171	0.631
2622	fıtol	0.510	<b>15.943</b>
2639	metil araşidat	-	0.357
2670	miristik asit	-	0.601
2700	heptakosan	6.000	<b>10.436</b>
2800	oktakosan	0.733	0.463
2900	nonakosan	<b>15.201</b>	5.620
2931	hekzadekanoik asit	2.497	<b>21.696</b>
3000	triakontan	3.079	-
3100	hentriakontan	<b>38.686</b>	3.837
3151	oktadekanoik asit	-	1.290
3200	oleic asit	-	2.748
3290	linolenik asit	-	5.658
3300	tritriakontan*	<b>15.997</b>	-
	<b>Toplam</b>	<b>88.303</b>	<b>89.740</b>

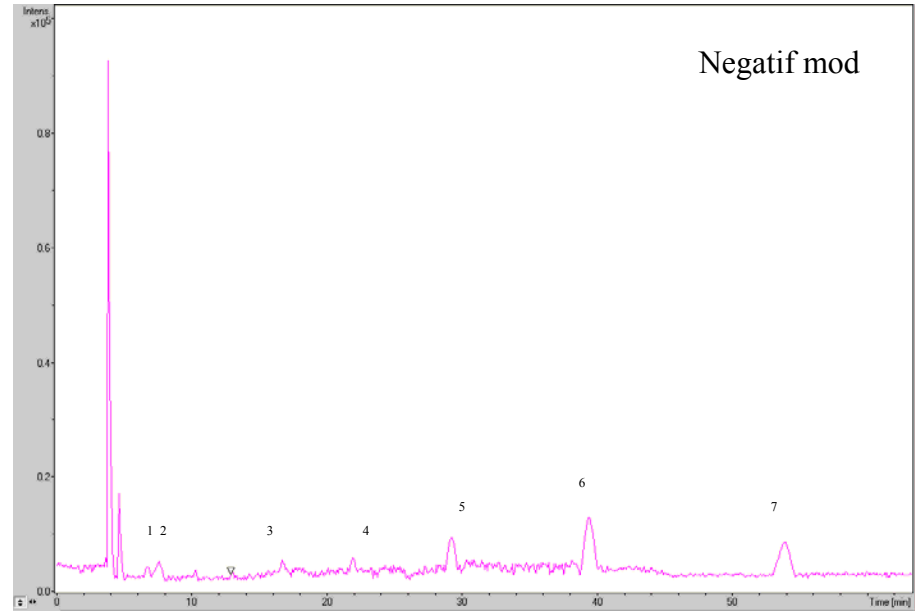
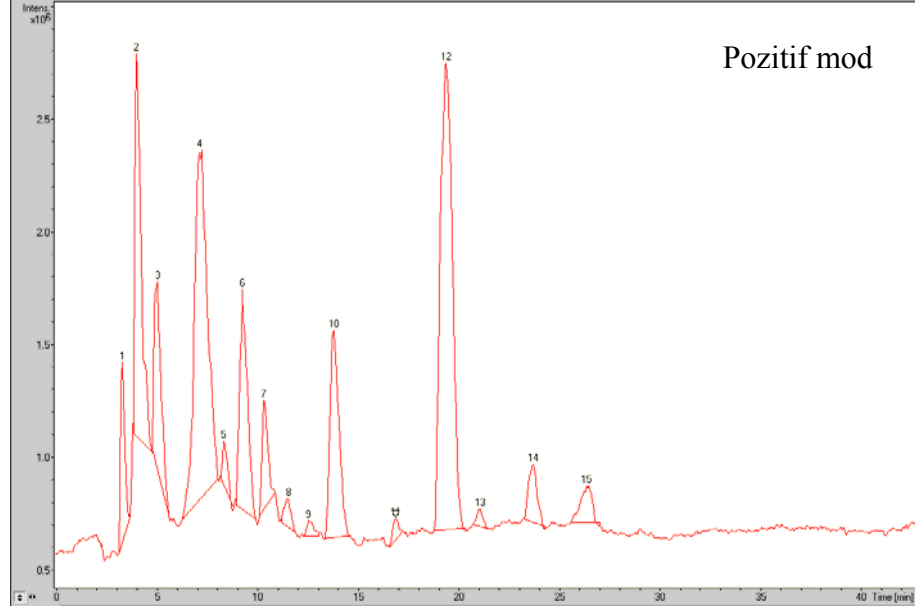
\* Wiley kütüphanesindeki spektrum benzerliğinden bulunmuştur.  
RTI: Relatif Tutunma İndisi, *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır.

Çizelge 4.6. *S. halophila* ve *S. virgata*'nın hekzan ekstralarının BF<sub>3</sub> ile türevlendirilmesi sonucu elde edilen bileşikleri (GC/FID)

RTI	Bileşik	<i>S. halophila</i> [%]	<i>S. virgata</i> [%]
1815	metil laurat	0.095	-
2020	metil miristat	0.250	0.516
2226	metil palmitat	2.701	7.407
2255	metil palmitoleat	0.201	0.395
2431	metil stearat	0.739	2.712
2467	metil elaidat	0.793	3.870
2498	metil linoleat	0.574	3.620
2583	metil linolenat	1.935	<b>11.184</b>
2622	fitol	0.988	3.797
2639	metil araşidat	0.479	2.373
2700	heptakosan	4.087	4.019
2800	oktakosan	0.683	-
2838	metil behenat	0.440	1.338
2900	nonakosan	<b>11.373</b>	5.474
3000	triakontan	2.837	-
3100	hentriakontan	<b>32.572</b>	<b>10.835</b>
3195	bilinmeyen	3.969	-
3300	Triakontan*	<b>16.831</b>	8.140
	<b>Toplam</b>	<b>81.547</b>	<b>65.680</b>

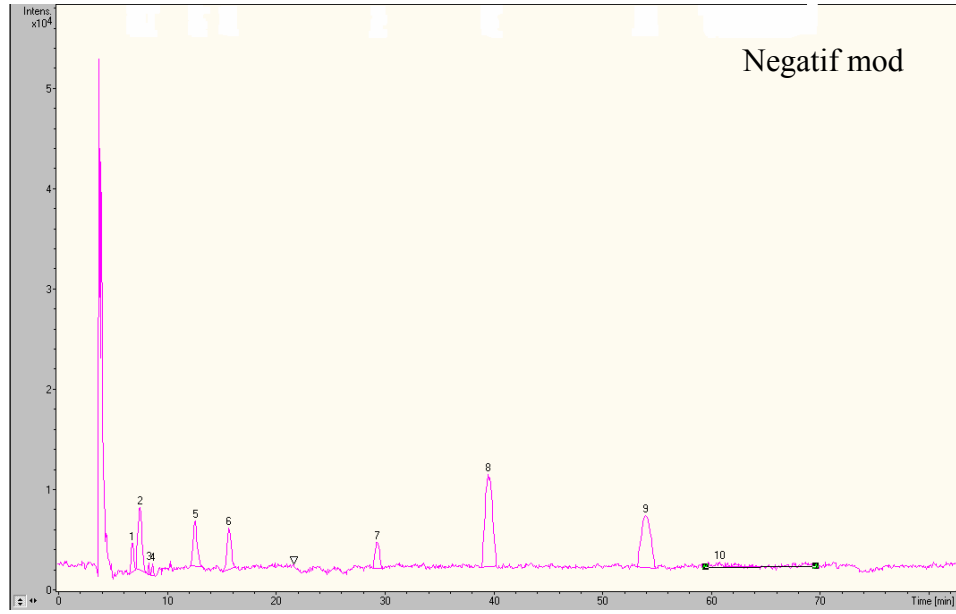
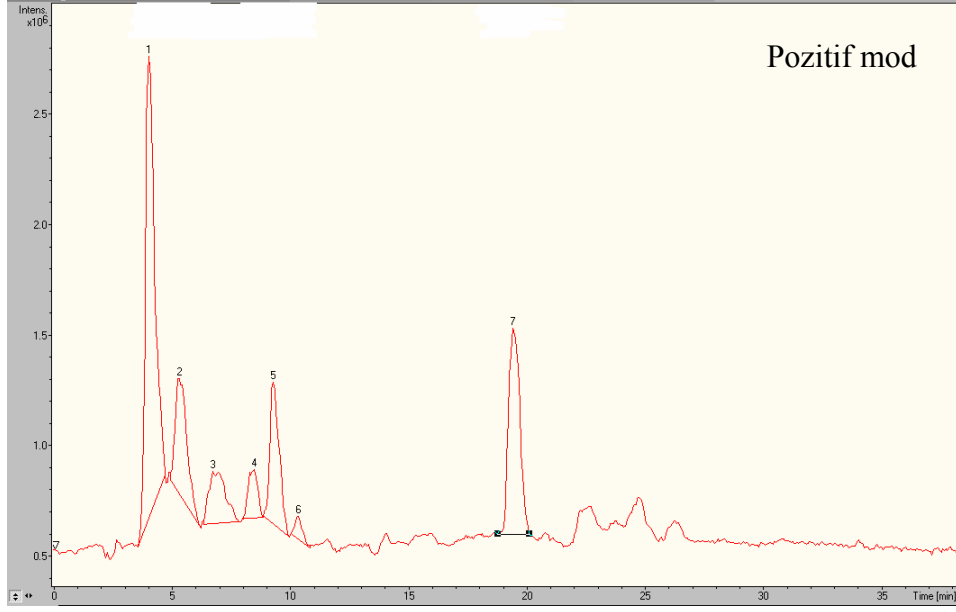
\* Wiley kütüphanesindeki spektrum benzerliğinden bulunmuştur.  
RTI: Relatif Tutunma İndisi, *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır.

Hekzan ekstraları içerisindeki diğer apolar bileşiklerin belirlenmesi amacıyla LC/MS analizleri yapılmıştır. Burada maddeler Elektron Sprey İyonlaşma yöntemi kullanılmış ve ölçümler eşzamanlı olarak hem pozitif hem de negatif formda alınmıştır. Buradan alınan *S. halophila* hekzan ekstresine ait pozitif ve negatif formda alınan toplam iyon kromatogramları Şekil 4.6'da, *S. virgata*'ya ait olanlar ise Şekil 4.7'de verilmiştir. Kromatogramlarda bulunan piklere ait MS değerleri ise Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Bu MS değerlerine göre *S. halophila*'da pozitif moddaki 12 nolu pikin ve *S. virgata*'da pozitif moddaki 7 nolu pikin  $\alpha$ -tokoferol olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.6. *S. halophila* hekzan ekstresinin LC/MS analizi sonucu alınan toplam iyon kromatogramı





Şekil 4.7. *S. virgata* hekzan ekstresinin LC/MS analizi sonucu alınan toplam iyon kromatogramı

Çizelge 4.7. *S. halophila* hekzan ekstresine ait LC/MS analiz sonuçları

Pozitif [M+H] <sup>+</sup>		Negatif [M-H] <sup>-</sup>	
Pik (Rt)	Ana fragmanlar (m/z)	Pik (Rt)	Ana fragmanlar (m/z)
1 (3.2)	517	1 (6.8)	247, 281, 312, 374, 524
2 (4)	228, 262, 288, 454, 476, 513	2 (7.6)	247, 314, 374, 526
3 (5.1)	380, 446, 483, 504, 541	3 (16.8)	375
4 (7)	89, 103, 471, 485, 512	4 (22)	425
5 (8.5)	-	5 (29.3)	457
6 (9.5)	548	6 (39)	489
7 (10.5)	496	7 (53.8)	522
8 (11.5)	489, 523		
9 (12.7)	523		
10 (13.9)	492, 505		
11(16.9)	418, 481		
<b>12 (19.5)</b>	<b>430</b>		
13 (21.1)	461, 496		
14 (23.7)	431, 529		
15 (25.9)	465, 533		

Rt, tutunma zamanı (dak); m/z, kütle/yük oranı

Çizelge 4.8. *S. virgata* hekzan ekstresine ait LC/MS analiz sonuçları

Pozitif [M+H] <sup>+</sup>		Negatif [M-H] <sup>-</sup>	
Pik (Rt)	Ana fragmanlar (m/z)	Pik (Rt)	Ana fragmanlar (m/z)
1 (4.1)	228, 262, 288, 454, 476, 513, 527	1 (6.9)	223, 247, 282, 320, 384, 412, 459, 527
2 (5.5)	331, 380, 462, 495	2 (7.5)	250, 322, 384, 526
3 (7.1)	89, 103, 118, 144, 165, 190, 278, 303, 339, 360, 380, 407, 435, 471, 482, 519	3 (8.3)	294, 388, 459, 500, 527
4 (8.4)	89, 103, 118, 144, 408, 427, 470, 491, 505	4 (8.7)	203, 221, 247, 285, 325, 384, 489
5 (9.4)	89, 103, 548	5 (12.7)	274, 259, 388, 410, 501, 524
6 (10.4)	89, 103, 118, 144, 166, 190, 225, 303, 390, 408, 479, 495, 523, 548	6 (15.6)	206, 387, 442
<b>7 (19.5)</b>	<b>430</b>	7 (29.4)	205, 281, 384, 414, 457, 501
		8 (39.6)	383, 489
		9 (54)	298, 384, 522

Rt, tutunma zamanı (dak); m/z, kütle/yük oranı

### 4.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

#### 4.3.1. İndirgeme gücünün belirlenmesi

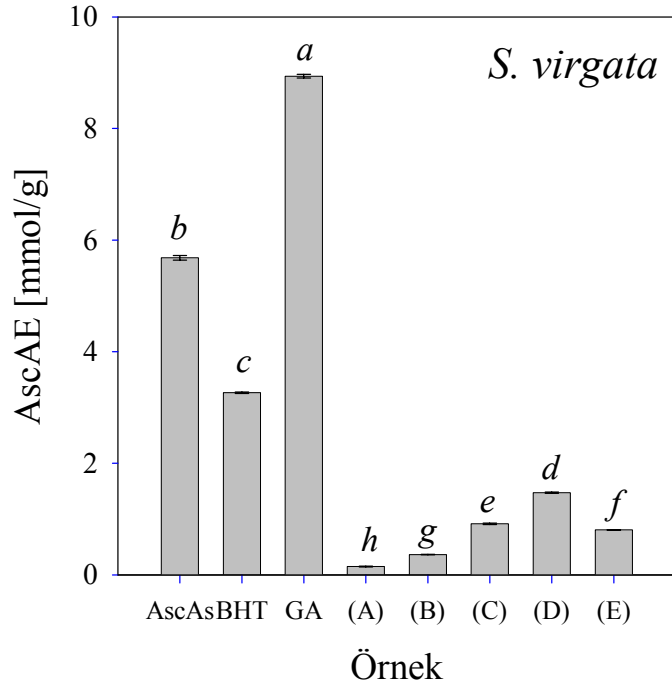
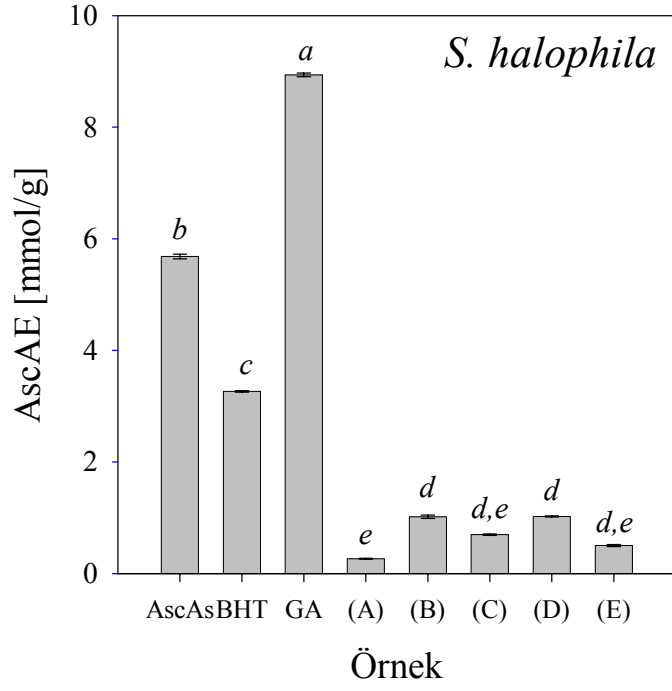
Maddelerin indirgeme güçleri ile antioksidan aktivite arasında genellikle doğrusal bir bağlantı vardır. Bu nedenle indirgeme kapasitesinin belirlenmesi o maddenin antioksidan aktivitesi hakkında bilgi verebilir. Bu amaçla *S. halophila* ve *S. virgata* türlerinden elde edilen ekstrelerin ve standartların demiri indirgeme kapasiteleri incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.8'de verilmiştir. Burada verilen sonuçlar askorbik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

*Salvia halophila* ekstreleri ile yapılan deneyler sonucunda hiçbir ekstre pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit, BHT ve gallik asit kadar aktif bulunmamıştır. Etilasetat ve %50 metanol ekstrelerinin demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme güçleri istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) benzer bulunmuştur.

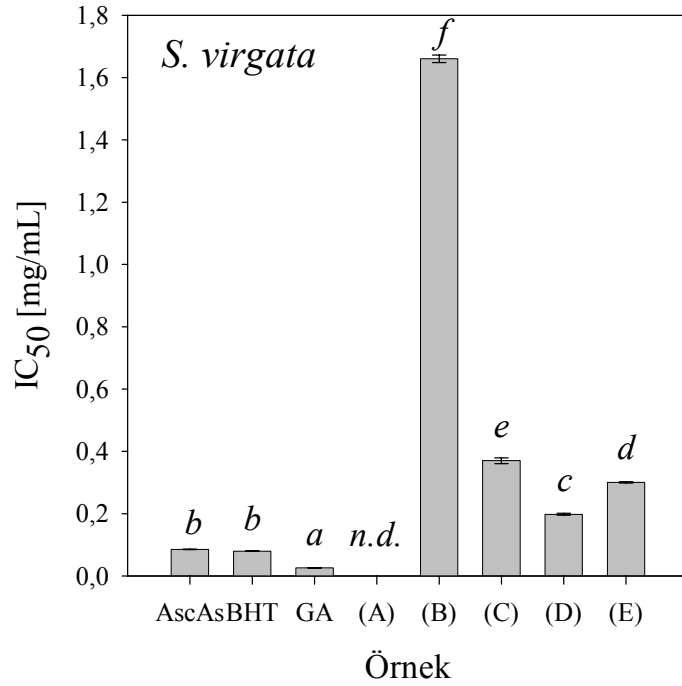
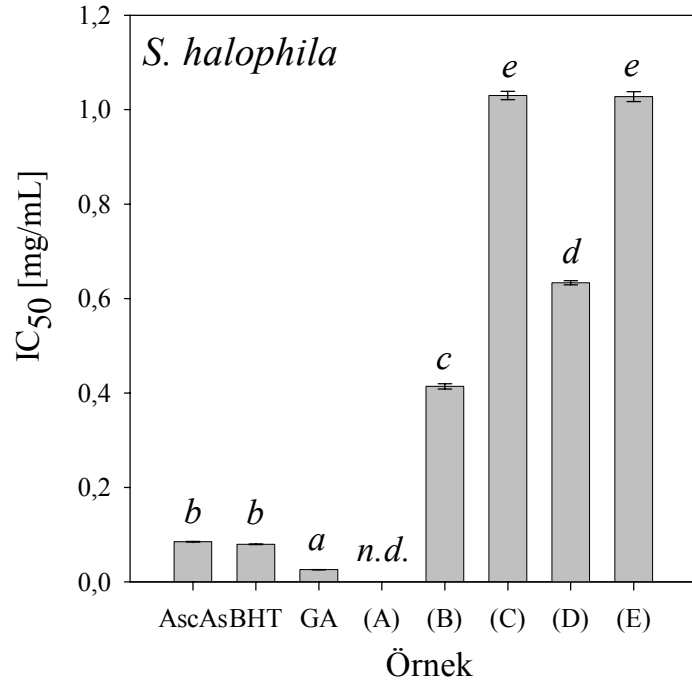
*S. virgata*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrelerin hiçbirisinin demir(III) ü indirgeme gücü pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit, BHT ve gallik asit kadar yüksek bulunamamıştır (Şekil 4.8). Metanol ekstresinin demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme gücü istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) en yüksek olarak bulunmuştur.

#### 4.3.2. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikalini süpürücü etki tayini

Vücuttan zararlı ve hastalık yapıcı radikallerin uzaklaştırılması oldukça önemlidir. Bu amaçla azot merkezli stabil bir radikal olan DPPH<sup>•</sup> radikali kullanılmıştır. Bütün ekstreler DPPH<sup>•</sup> radikalini fizyolojik pH da konsantrasyona bağlı olarak süpürmüşlerdir. IC<sub>50</sub> değerleri, radikalin %50'sini süpürebilecek gerekli konsantrasyon olarak tanımlanır. Ekstrelerin IC<sub>50</sub> değerleri hazırlanan doğrusal olmayan eğriler kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstralarının ve standartların demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme kapasiteleri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstraları; AscAE, askorbik asit eşdeğer miktarı; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen;  $p < 0.05$ ]



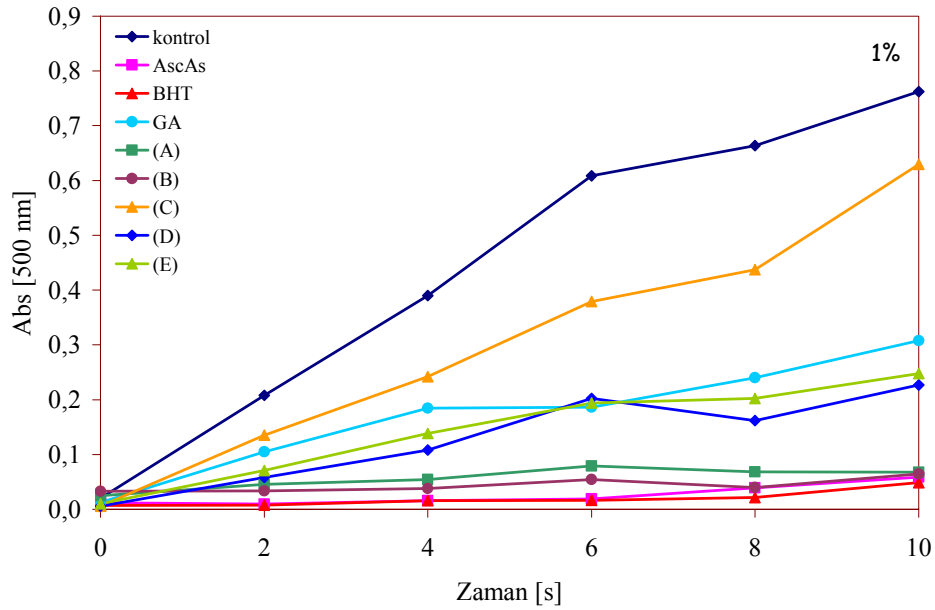
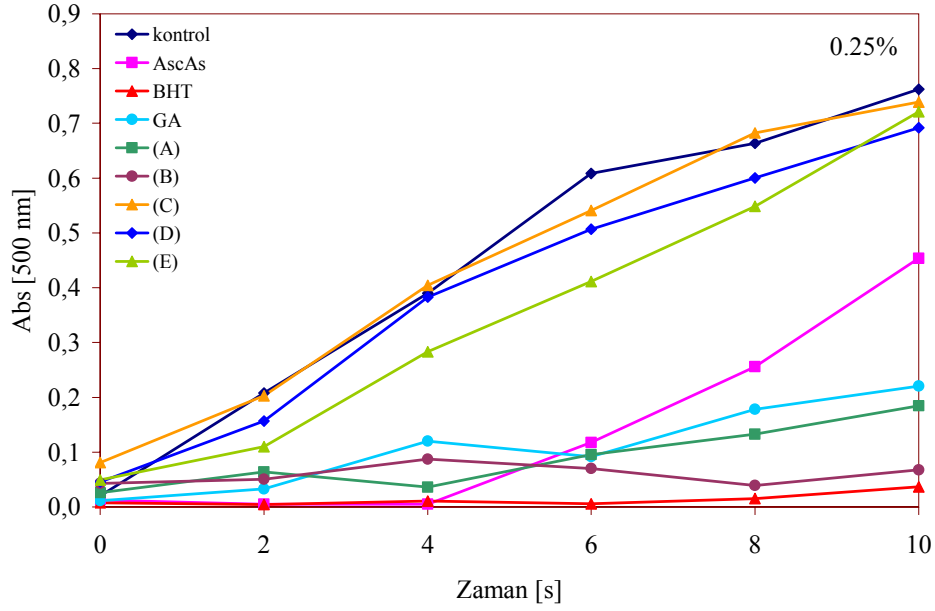
Şekil 4.9. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstralarının ve standartların DPPH• radikalini süpürme kapasiteleri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstraları; AscAs, askorbik asit; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen;  $p < 0.05$ ]

*S. halophila* ve *S. virgata* ekstreleri ile yapılan çalışmalar sonucunda hekzan dışındaki tüm ekstrelerin fizyolojik pH da süpürücü etki gösterdikleri belirlenmiştir. Şekil 4.9'a göre, *S. halophila*'nın etilasetat ve %50 metanol ekstreleri diğerlerine göre daha aktif olarak bulunmuştur. *S. virgata* ekstrelerinden ise %50 metanol ekstresi en aktif ekstre olarak tespit edilmiştir. Bununla beraber, her iki bitkiden elde edilen hiçbir fraksiyon pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit, BHT ve gallik asit kadar etkili bulunmamıştır. *S. halophila* ekstrelerinin DPPH• radikal süpürücü aktiviteleri şöyle sıralanabilir: etilasetat > %50 metanol > metanol ≈ su. Bu etki sırası *S. virgata* ekstrelerinde ise; %50 metanol > su > metanol > etil asetat şeklindedir.

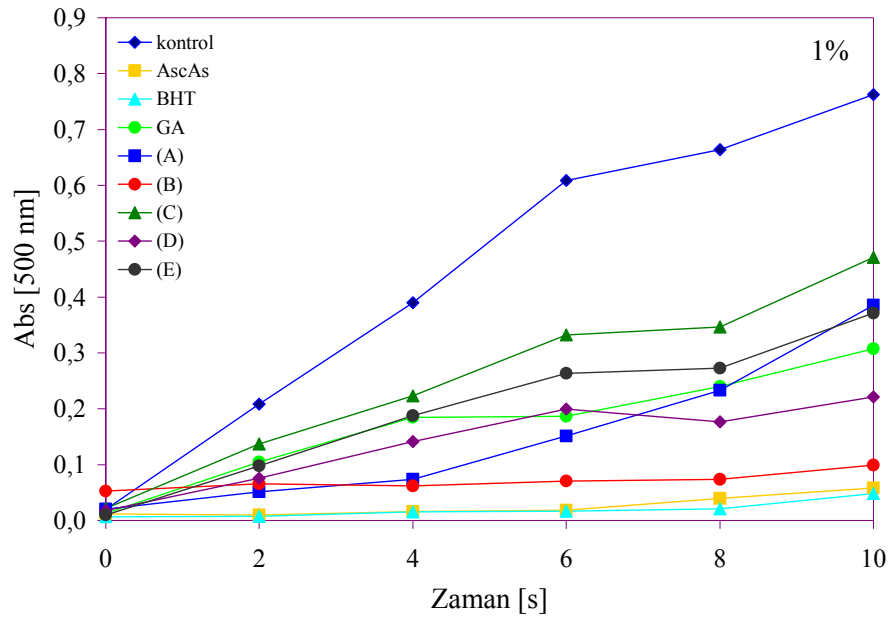
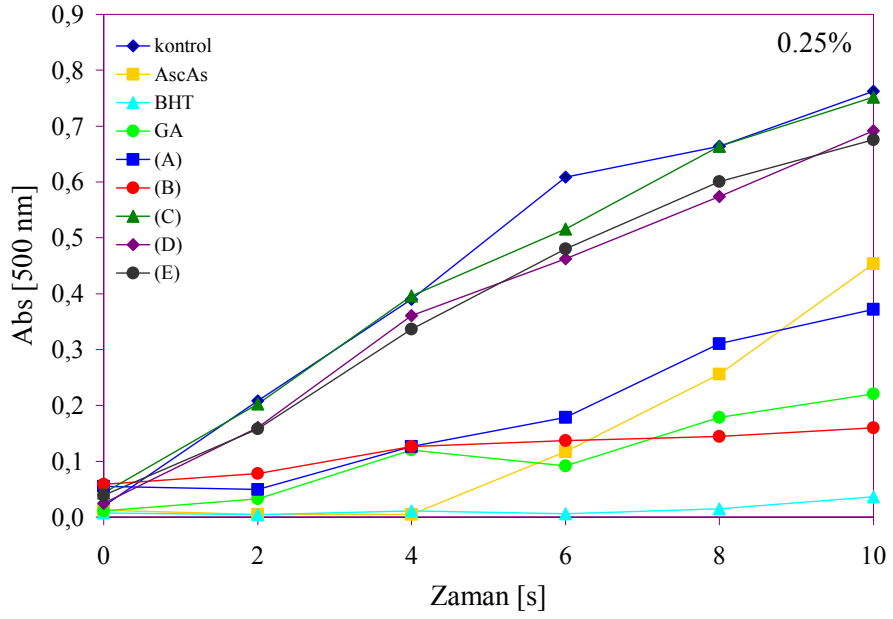
### 4.3.3. Linoleik asit peroksidasyonunu inhibe edici etki tayini

Hem gıdaların korunmasında hem de hücrelerin korunmasında lipidlerin oksidasyonunun engellenmesinin önemi büyüktür. Bu amaçla hem gıdalarda hem de hücre duvarlarında en fazla bulunan doymamış yağ asidi olan linoleik asidin oksidasyonunun engellenmesine dayalı olarak geliştirilen bu metotta, %0.25 ve %1 konsantrasyonda hazırlanan ekstreler kullanılmıştır. Linoleik asit peroksidasyonu üzerine ekstrelerin etkileri hızlandırılmış oksidasyon testi ile yapılmıştır. Deney sonucunda alınan bozunma eğrileri zamana bağlı olarak *S. halophila* için Şekil 4.10 ve *S. virgata* için Şekil 4.11'de verilmiştir. Ayrıca ekstrelerin 10 saat sonundaki linoleik asit peroksidasyonunu hangi oranda inhibe ettikleri ise yüzde olarak Çizelge 4.9'da verilmiştir. *S. halophila*'nın hekzan ve etilasetat ekstreleri lipidik sistemde her iki konsantrasyonda da aktif olarak bulunurken, *S. virgata*'nın etilasetat ekstresi her iki konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Her iki bitkinin bu aktif ekstreleri ayrıca pozitif kontrol olan BHT'ye eşdeğer aktiviteye sahip olarak bulunmuştur. *S. halophila* ekstrelerinin aktiviteleri şöyle sıralanabilir: %0.25'lik konsantrasyonda, etilasetat > hekzan > metanol ≈ %50 metanol ≈ su; %1'lik konsantrasyonda ise, etilasetat ≈ hekzan > %50 metanol ≈ su > metanol. *S. virgata* ekstrelerinin aktivite sırası ise %0.25'lik konsantrasyonda etilasetat > hekzan > su ≈ %50 metanol > metanol,

%1'lik konsantrasyonda ise etilasetat > %50 metanol > su ≈ hekzan > metanol şeklindedir.



Şekil 4.10. Linoleik asit oksidasyonunda *S. halophila* ekstralarının ve standartların etkileri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstraları; AscAs, askorbik asit; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen]



Şekil 4.11. Linoleik asit oksidasyonunda *S. virgata* ekstrelerinin ve standartların etkileri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstreleri; AscAs, askorbik asit; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen]



Çizelge 4.9. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstralarının 10 saatlik hızlandırılmış oksidasyon sonundaki MDA oluşumunu inhibe etme yüzdeleri

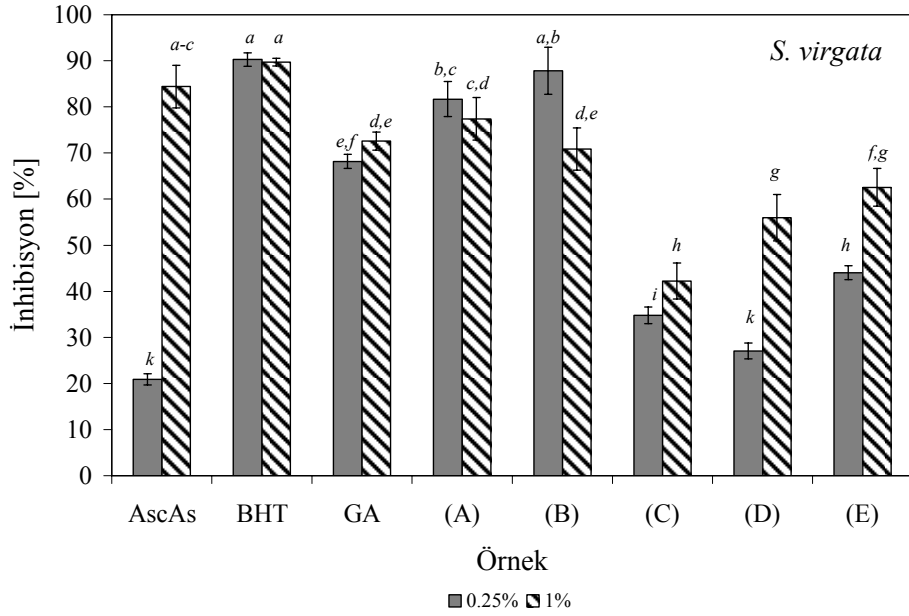
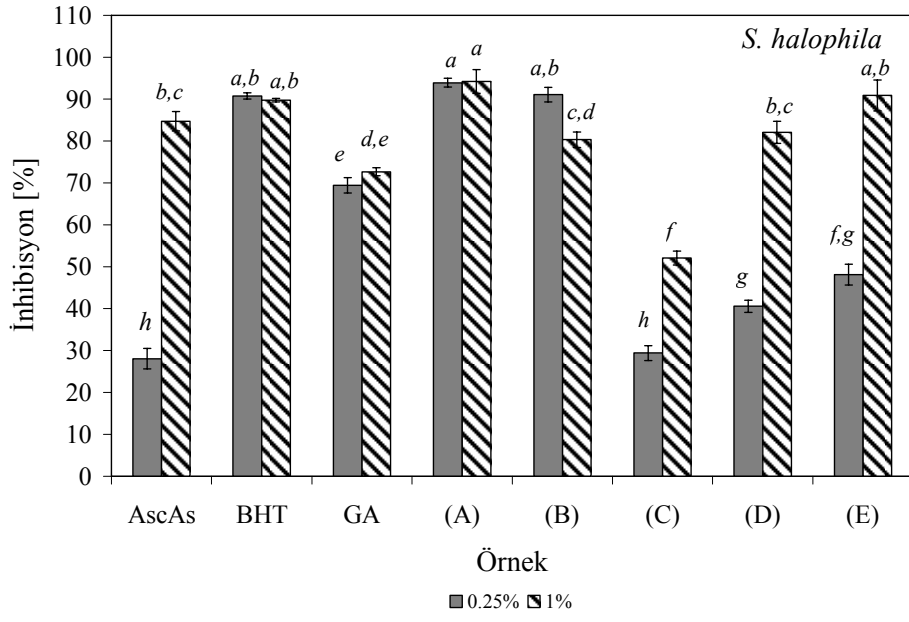
Örnekler	%0.25'lik konsantrasyon		%1'lik konsantrasyon	
	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>	<i>S. halophila</i>	<i>S. virgata</i>
BHT	<b>94.93 ± 0.26</b>	<b>94.93 ± 0.26</b>	<b>93.63 ± 0.24</b>	<b>93.63 ± 0.24</b>
Askorbik asit	40.84 ± 1.39	40.84 ± 1.39	<b>92.32 ± 0.90</b>	<b>92.32 ± 0.90</b>
Gallik asit	<b>70.79 ± 0.63</b>	<b>70.79 ± 0.63</b>	59.57 ± 2.35	59.57 ± 2.35
(A)*	<b>76.20 ± 1.54</b>	52.07 ± 2.02	<b>91.12 ± 0.24</b>	49.43 ± 1.49
(B)	<b>91.30 ± 1.02</b>	<b>79.39 ± 1.71</b>	<b>88.85 ± 1.66</b>	<b>87.04 ± 1.21</b>
(C)	11.81 ± 0.41	5.95 ± 0.23	18.06 ± 0.60	41.48 ± 1.26
(D)	9.85 ± 0.33	15.04 ± 0.29	<b>70.18 ± 1.77</b>	<b>70.94 ± 1.73</b>
(E)	4.05 ± 0.19	14.49 ± 0.64	67.56 ± 1.17	48.66 ± 1.52

\* (A),hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstraları

#### ***Malondialdehit (MDA) değerinin ölçümü (TBA metod)***

Linoleik asitin oksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan bu testte, MDA, linoleik asit oksidasyonu sonucunda oluşturulmuş ve TBA ile reaksiyona sokularak oluşan oksidasyon derecesi belirlenmiştir. Yukarıda 10 saat süre ile okside edilen linoleik asit çözeltisi kullanılmıştır. Bu 10 saatlik oksidasyon sonucunda ekstraların etkileri % inhibisyon değerleri olarak hesaplanmış ve Şekil 4.12'de verilmiştir.

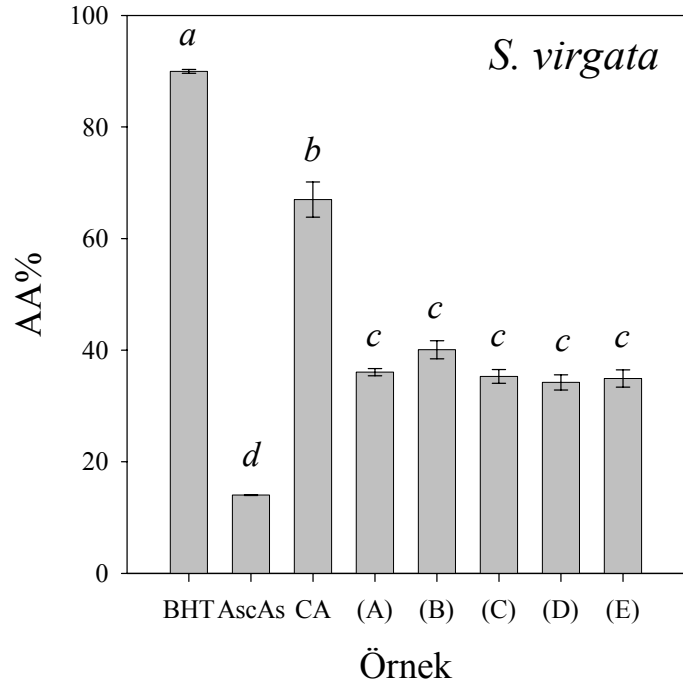
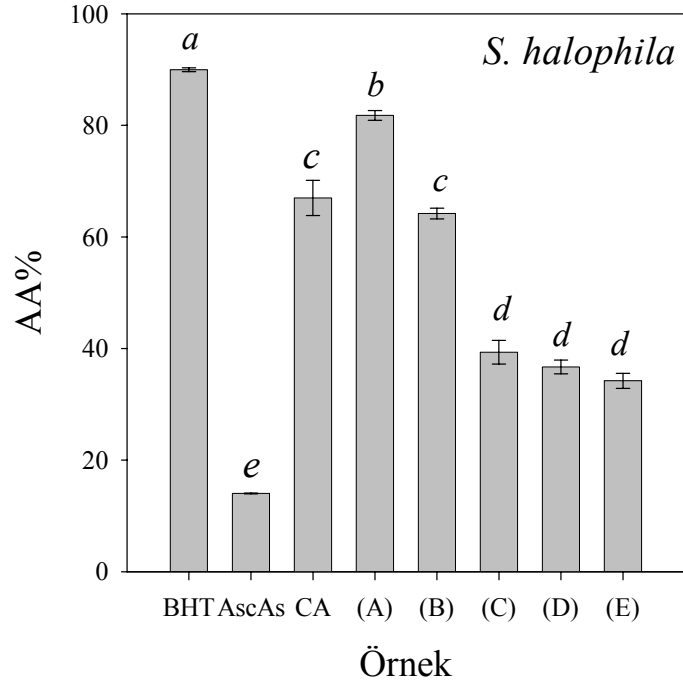
*S. halophila* ekstralarını içeren linoleik asit çözeltilerinin TBA deneyi sonucunda, tiyosiyanat deneyi ile aynı sonuçları verdiği bulunmuştur. Burada da hekzan ve etilasetat ekstraları en etkili bileşikler olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, %50 metanol ve su ekstralarının de MDA oluşumunu dolayısıyla linoleik asit peroksidasyonunu %1 konsantrasyonda engellediği gösterilmiştir. *S. virgata* ise hekzan ve etilasetat ekstraları ile MDA oluşumunu en fazla engellemiştir. Sulu metanol ve su ekstraları de %1'lik konsantrasyonda linoleik asiti oksidasyona karşı korumuştur.



Şekil 4.12.. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrlerinin ve standartların linoleik asit peroksidasyonunda MDA oluşumuna etkileri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstrleri; AscAs, askorbik asit; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen;  $p < 0.05$ ]

#### 4.3.4. $\beta$ -karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini

$\beta$ -karoten-linoleik asit beraber oksidasyon deneyinde amaç yine lipid peroksidasyonunun derecesinin ölçülmesidir. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrelerinin  $\beta$ -karoten-linoleik asit oksidasyonunu engelleme dereceleri Şekil 4.13'de verilmiştir. Şekil 4.13'de görülebileceği gibi, her iki bitkiden de elde edilen tüm ekstralar belli oranlarda inhibitör aktivite göstermiştir. *S. halophila* ekstrelerinin aktivite sırası BHT > (A) > CA  $\approx$  (B) > (C)  $\approx$  (D)  $\approx$  (E) > AscAs ( $\approx$ , istatistiksel olarak eşdeğer,  $p < 0.05$ ) iken, *S. virgata* ekstrelerinin aktiviteleri ise BHT > CA > (A)  $\approx$  (B)  $\approx$  (C)  $\approx$  (D)  $\approx$  (E) > AscAs olarak sıralanmıştır. Bu test ortamında *S. halophila*'dan elde edilen etilasetat ekstresi sitrik asit ile benzer aktivite göstermiştir. Ayrıca yine *S. halophila*'dan elde edilen petrol eteri ekstresi sitrik asitten fazla ve BHT'ye ise yakın etkili olarak bulunmuştur. *S. virgata* ekstreleri ise belli oranda etkili olmalarına rağmen hiç birisi pozitif kontrol olan BHT ve sitrik asite eşdeğer aktivite gösterememiştir. Bu deney sisteminde askorbik asitin prooksidan etkili olduğu bulunmuş ve bu sonuç Siddhuraju ve Becker (2003) ile paralellik göstermiştir.



Şekil 4.13. *S. halophila* ve *S. virgata* ekstrelerinin ve standartların  $\beta$ -karoten/linoleik asit peroksidasyonuna etkileri [(A), hekzan; (B), etilasetat; (C), metanol; (D), %50 metanol; (E), su ekstreleri; AscAs, askorbik asit; GA, gallik asit; BHT, butillenmiş hidroksitoluen;  $p < 0.05$ ]

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Salvia* Lamiaceae familyasının en yaygın cinslerinden birisidir ve pekçok ülkenin farmakopesinde yer almaktadır. Literatürde *Salvia* türleri ile yapılmış çok sayıda kimyasal ve aktivite çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmalar *Salvia* türlerinin içermiş oldukları maddelerin izolasyonu, yapı tayinleri ve hem bu maddelerin hem de ekstrelerin etki çalışmalarını kapsamaktadır (Adzet ve ark, 1988, Cuvelier ve ark 1994, Ho ve ark 2000, Weng ve Wang 2000, Gu ve Weng 2001, Lu ve Foo 2002, Miura ve ark 2002, Pizzale ve ark 2002, Santos-Gomes ve ark 2002, Matsingou ve ark 2003, Bors ve ark 2004, Miliauskas ve ark 2004, Koşar ve ark 2005a, Ai-li ve Chang-Hai 2006, Tepe ve ark 2005, Zhao ve ark 2006) . Ayrıca *Salvia* türleri ile ilgili olarak hem ülkemizde hem de dünyada yoğun olarak uçucu yağ çalışmaları da yapılmaktadır. Ülkemizdeki bu uçucu yağ çalışmalarını yoğun olarak Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı gerçekleştirmektedir (Başer ve ark 1995a, 1995b, Başer ve ark 1997, Başer ve ark 1998, Tümen ve ark 1998, Kürkcüoğlu ve ark 2002, Demirci ve ark 2003, Başer ve ark 2005, Koşar ve ark 2005b, Kürkcüoğlu ve ark 2005).

Bu tez kapsamında *S. halophila* ve *S. virgata*'nın *in vitro* antioksidan etkileri ve etkiden sorumlu fenolik bileşikleri kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Bu amaçla bitkiden Soxhlet ekstraksiyonu ile hekzan, etilasetat, metanol ve %50 metanol ekstreleri hazırlanmıştır. Ayrıca Clevenger distilasyonu ile yağlarından kurtarılmış su ekstresi de yine aynı bitkilerden hazırlandı. Bu ekstreler hem *in vitro* antioksidan aktivite testlerinde hem de kalitatif ve kantitatif kompozisyon analizlerinde kullanıldı.

*S. halophila*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin verimleri 3.6- 182.0 mg/g aralığında ve %50 metanol > su > metanol > hekzan > etilasetat sırasıyla değişmektedir. *S. virgata*'dan ise 12.5- 152.0 mg/g verim aralığında elde edilen ekstrelerin sıralanışı ise şöyledir: su > %50 metanol > metanol > hekzan > etilasetat. Bu sonuçlardan da görülebileceği gibi *S. virgata*'nın ekstre verimleri daha yüksektir. *S. virgata*'da en yüksek verim su ekstresinden (152 mg/g) alınırken *S. halophila*'da ise %50 metanol ekstresindedir (182 mg/g). *S. virgata*'nın özellikle Bursa civarında halk arasında kan kanserinde dekoksasyonu halinde

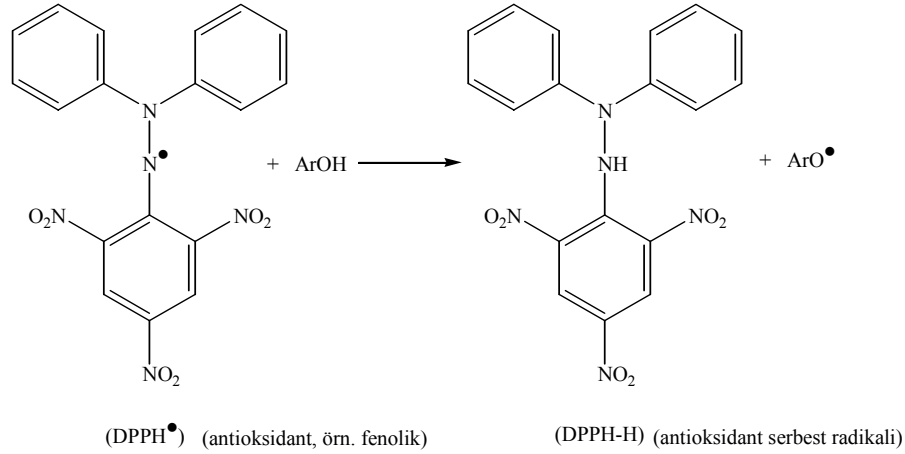
kullanıldığı kaydedilmiştir. Burada da en yüksek verim yine su ekstresinden alınmıştır. *S. halophila*'da en yüksek verime sahip olan %50 metanol ekstresi aynı zamanda en yüksek toplam fenol (106.70 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) ve toplam flavonoid (6.28 mg<sub>RE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) miktarlarına da sahip olarak bulunmuştur. *S. virgata*'da da en yüksek toplam fenol içeriği yine %50 metanol ekstresinde (212.30 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) bulunmuştur. Ayrıca metanol (133.79 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) ve su (152 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) ekstreleri de yüksek oranda fenolik madde içermektedir. Toplam flavonoid miktarı ise *S. virgata*'da en fazla metanol ekstresinde (6.53 mg<sub>RE</sub>/g<sub>ekstre</sub>) bulunmuştur.

Ekstreler üzerinde yapılan YBSK analizleri sonucunda tüm ekstrelerde tanımlanan fenolik bileşikler içerisinde rozmarinik asit ana madde olarak tespit edilmiştir. Toplam rozmarinik asit miktarı elde edilen ekstre toplamında *S. halophila* için 114.63 ± 0.92 mg/g, *S. virgata* için ise 112.72 ± 0.79 mg/g olarak bulunmuştur. Rozmarinik asit miktarı bakımından iki tür çok farklı bulunmamıştır. Ayrıca ekstrelerde kafeik ve *o*-kumarik asit gibi hidroksisinnamik asitler de bulunmaktadır. Ekstrelerin içerisinde UV spektrumlarına göre flavonoid glikozitlerinin aglikonlara göre daha yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Ekstrelerde toplam luteolin-7-*O*-glikozit miktarı *S. halophila* için 3.09 ± 0.03 mg/g, *S. virgata* için 1.31 ± 0.01 mg/g olarak bulunmuştur. Yapılan literatür taramalarında rozmarinik asitin *Salvia* türlerinde ana bileşen olarak bulunduğu ve antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiğin de rozmarinik asit olduğu derlenmiştir. Ayrıca karnosik asit, karnosol ve türevlerinin de *Salvia* türlerinde değişen oranlarda bulunduğu ve aktiviteden sorumlu bileşikler arasına girdiği literatürde kayıtlıdır (Cuvelier ve ark 1994, Adzet ve ark 1998, Wang ve ark 1998, Ho ve ark 2000, Lu ve Foo 2002, Miura ve ark 2002, Pizzale ve ark 2002, Matsingou ve ark 2003, Koşar ve ark 2004). Ayrıca *Salvia* türlerinde bulunan flavonoidlerden en yaygın olanlarının luteolin ve apigenin ve bunların glikozitleri oldukları ve bunlardan da luteolinin glikozitlerinin bulunma sıklığının apigenine göre daha fazla olduğu da bilinmektedir (Lu ve Foo 2002).

Ekstrelerin demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme kapasitesi hidrojen verme kapasiteleri olarak değerlendirilir (Yıldırım ve ark 2000). İndirgeme kapasitesi radikal zincir reaksiyonlarının başlangıç safhasında oldukça önemlidir (Yıldırım ve ark 2000). Literatürde, sulu ekstrelerin demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme

kapasiteleri ile antioksidan aktiviteleri arasında yüksek korelasyon bulunmasına (Dorman ve ark 2003, 2004, Koşar ve ark 2005) rağmen, bunun her zaman doğru olmadığı kayıtlıdır (Yıldırım ve ark 2000). Ekstrelerin demir(III)'ü demir(II)'ye indirgeme gücü test edilmiştir. Sonuçlar askorbik asite eşdeğer olarak hesaplanmış (AscAE) ve bu değerler kullanılmıştır. AscAE değeri büyüdükçe aktivite de artmaktadır. *S. halophila* ekstrelerinin indirgeme kapasiteleri  $0.264 \pm 0.019$ -  $1.024 \pm 0.021$  mmol/g AscAE değerlerinde ve en aktif ekstre de %50 metanol ekstresi ( $1.024 \pm 0.021$  mmol/g AscAE) olarak bulunmuştur. Bu ekstre aynı zamanda en fazla toplam fenolü ve en fazla flavonoiti de içermektedir. *S. virgata* da ise ekstrelerin indirgeme kapasiteleri  $0.150 \pm 0.013$  –  $1.472 \pm 0.024$  mmol/g AscAE arasında değişmektedir. Bu bitkide de yine en fazla toplam fenolik madde içeriğine sahip olan %50 metanol ekstresinin demir(III)'ü indirgeme kapasitesi en fazla olarak bulunmuştur ( $1.472 \pm 0.024$  mmol/g AscAE). Yüksek aktiviteye sahip her iki %50 metanol ekstresi yine yüksek oranda rozmarinik asit içermektedir. Fenolik asitler ve flavonoidler doğal antioksidanlar olarak bilinirler. Fenolik asitler, özellikle hidroksisinnamatlar, antioksidan aktivitelerini hidrojen vererek gösterirler (Rice-Evans ve ark 1996, Gu ve Weng 2001). Hidroksisinnamatlar sınıfında yer alan rozmarinik asit ve türevleri, çok güçlü DPPH<sup>•</sup>- radikal süpürücü bileşikler olarak bilinirler (Lu ve Foo 2002). Bu tez kapsamında incelenen ekstrelerin bir kısmında rozmarinik asit bir kısmında ise flavonoidler ana bileşenler olarak görülmektedir. Fenolik asitler ve flavonoidler polar çözücülerde çözünürler ve polar sistemlerde güçlü aktivite gösterirler. Demir(III)'ü indirgeme reaksiyonu ve DPPH<sup>•</sup> radikal süpürücü etki testleri polar ortamlarda yapılmaktadır. Bu nedenle de bu bileşiklerce zengin fraksiyonlar bu deney sistemlerinde etkili olarak bulunmuşlardır.

1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikali, 517 nm de maksimum absorbans veren stabil bir radikaldir. Antioksidan özellikli maddeler tarafından elektron ve hidrojen atom transferi ile DPPH<sup>•</sup> radikalinin hidrazin türevlerine indirgendiğinde absorbans düşer (Şekil 5.1) (Bachmayer 2004).



Şekil 5.1. DPPH• radikali ile hidrojen verici fenolik bileşiklerin reaksiyon mekanizması

Ekstrelerin azot merkezli stabil bir radikal olan DPPH• radikalini süpürme kapasiteleri fizyolojik pH da incelenmiş ve sonuçlar IC<sub>50</sub> değerleri olarak (mg/mL) verilmiştir. IC<sub>50</sub> değeri küçüldükçe aktivite artmaktadır. Her iki bitkiden de elde edilen hekzan ekstreleri çözünürlük problemi nedeniyle bu polar deney sisteminde test edilememiştir. *S. halophila* ekstrelerinin IC<sub>50</sub> değerleri 0.414 ± 0.020 – 1.030 ± 0.05 mg/mL arasında değişmektedir. Etilasetat ekstresi 0.414 ± 0.020 mg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile en aktif ekstre olarak bulunmuştur. Bu ekstrenin demir(III)'ü indirgeme kapasitesi de yüksektir (1.018 mmol/g AscAE). En az aktiviteye ise metanol ekstresi (1.030 ± 0.05 mg/mL) göstermiştir. *S. virgata* ekstrelerinin ise DPPH• radikalini süpürme etkileri, %50 metanol (0.198 ± 0.006 mg/mL) > su (0.300 ± 0.04 mg/mL) > metanol (0.370 ± 0.019 mg/mL) > etilasetat (1.660 ± 0.024 mg/mL) olarak sıralanmaktadır. *S. halophila*'da en aktif olarak bulunan etilasetat ekstresi *S. virgata*'da ise en aktif olarak bulunmuştur. *S. halophila*'nın etilasetat ekstresi en yüksek rozmarinik asit içeriğine sahipken (48.90 ± 2.12 mg/g), *S. virgata*'nın etilasetat ekstresi ise en az rozmarinik asit içermektedir (4.48 mg/g). Buradan ana bileşik olan rozmarinik asit miktarı ile DPPH• radikalini süpürme etkisi arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermektedir. *Salvia* türleri doğal antioksidan kaynağı olarak bilinirler ve bu amaçla yaygın olarak kullanılırlar. Güçlü radikal süpürücü etkiden kafeik asit türevleri, karnosik asit, karnosol ve türevleri sorumlu olarak bilinmektedir (Lo ve Foo 2002, Pizzale ve ark 2002). Flavonoitler DPPH• radikal süpürücü etki



bakımından daha zayıf etkilidirler. Ayrıca flavonoidlerde glikozit formlarının ve derecelerinin radikal süpürücü aktiviteyi düşürdüğü literatürde kayıtlıdır (Ho ve ark 2000, Lu ve Foo 2002). Ayrıca *S. officinalis* ile yapılan eş zamanlı YBSK-DPPH• türevlendirme yöntemiyle yapılan çalışmada rozmarinik asit ve karnosik asit ile türevlerinin güçlü DPPH• radikal süpürücü etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir (Koşar ve ark 2004).

Yağların oksidasyonu gıdalardaki oksidatif bozulmanın ve insan vücudundaki hücrel organellerin fizyolojik fonksiyonlarının kaybının en önemli nedenidir (Yamamoto ve Niki 1991). Potansiyel antioksidanlar olarak besin maddelerinin ve membran fosfolipitlerinin *in vitro* olarak değerlendirilmesi için en kullanışlı model sistemleri fosfolipitlerdir. Bu amaçla sentetik antioksidanlar serbest radikalleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Hidroksil radikali başta olmak üzere, fizyolojik olarak benzer reaktif oksijen türleri *in vivo* zincir reaksiyonlarında bozulmayı başlatır ve pek çok hastalığın oluşumunda rol oynar (Chatterjee ve Agarwal 1988).

Ekstrelerin linoleik asit peroksidasyonunu engelleme kapasiteleri hızlandırılmış oksidasyon uygulanarak denenmiş ve oluşan peroksitler FeCl<sub>2</sub> ve amonyum tiyosiyanat reaktifleri ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Ayrıca linoleik asitin oksidasyonu sırasında oluşan malondialdehit (MDA) miktarı da tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmüştür. *S. halophila*'da rozmarinik asit miktarı en yüksek olan (48.90 ± 2.12 mg/g) etil asetat ekstresi %0.25'lik konsantrasyonda, hem linoleik asit peroksidasyonunu hem de MDA oluşumunu %91.3 oranında engellemiştir. *S. virgata* da ise rozmarinik asit miktarı en yüksek olan metanol ekstresi (59.75 ± 1.66 mg/g) linoleik asitin oksidasyonunu %0.25'lik konsantrasyonda %5.94, %1'lik konsantrasyonda ise %41.5 gibi düşük bir oranda engellemiştir. Bu da bize ekstrelerde bulunan bileşiklerin birbirleri arasında sinerjistik veya antagonistik etkilerinin olduğunu göstermektedir. Genel olarak bakıldığında linoleik asitin oksidasyonu sırasında oluşan peroksitlerin ve MDA'nin miktarlarının birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. Hidroksisinnamik asit türevleri lipit peroksidasyon deneylerinde hidrofilik bileşiklerden daha etkili lipofilik bileşikler olarak bilinirler (Cuvelier ve ark 1994, Wang ve ark 1998, Miura ve ark 2002, Pizzale ve ark 2002).

Hücre membranlarında bulunan lipitler linoleik asit ve araşidonik asit gibi oksidasyona oldukça müsait doymamış yağ asitleri bakımından zengindirler (Braca ve ark 2003, Liyana-Pathirana ve Shahidi 2006). Bu nedenle, bu tez kapsamında incelenen *Salvia* ekstrelerinin antioksidan etkileri taranırken doymamış yağ asitli deney ortamlarının kullanılması önemlidir. Bu amaçla en çok kullanılan deney modellerinden birisi  $\beta$ -karoten-linoleik asit beyazlama testidir (Koleva ve ark 2002). Bu emülsiyon bazlı sistemde, linoleik asitten hidrojen çıkması sonucu oluşan pentadienil serbest radikalının yüksek konjugasyona sahip olan  $\beta$ -karotene hücum etmesi sonucu reaksiyon emülsiyonunun renginin açılması esastır (Amarowicz ve ark 2004). Örneklerin  $\beta$ -karotenin renginin açılmasını inhibe etmesi ya da geciktirmesi serbest radikal süpürücü etkiyi yani antioksidan etkiyi düşündürebilir (Liyana-Pathirana ve Shahidi 2006).

Her iki bitkiden de elde edilen ekstrelerin tümü belli oranda  $\beta$ -karoten-linoleik asit oksidasyonunu engellemişlerdir. Ama en yüksek aktiviteyi %81.8'lik oranla *S. halophila*'dan elde edilen hekzan ekstresi göstermiştir. Aynı bitkinin etilasetat ekstresi de %64.2 oranında inhibisyon göstermiştir. Diğer tüm ekstrelerin inhibisyon oranı oldukça yakındır (%34.21-40.1). En aktif olarak bulunan *S. halophila* hekzan ekstresinin bileşiminde bulunan maddelerin belirlenmesi amacıyla üç farklı analiz yapılmıştır. Öncelikle hekzan ekstresi olması nedeniyle içerdiği uçucu bileşiklerin belirlenmesi amacıyla mikro distilasyon- tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyon (MSD-HS-SPME) yöntemi denendi. Burada su buharı ile sürüklenen uçucu bileşenler polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) dolgu materyalli mavi tip SPME ucunda absorbe edildi. Bu absorbe olan bileşikler doğrudan GC/MS sistemine enjekte edildi ve sonuçlar relatif yüzdeler olarak alındı. *S. halophila*'nın içerdiği bileşenlerin %88.3'ü ve *S. virgata*'nın ise %89.7'si tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre *S. halophila*'nın ana bileşenleri hentriacontan (%38.7), tritriakontan (%16.0) ve nonakosan (%15.2) olarak belirlenmiştir. Diğer yandan *S. virgata*'nın ana bileşenleri ise farklılık göstermekte ve hegzadekanoik asit (%21.7), fitol (%15.9) ve heptakosan (%10.4) olarak sıralanmaktadır. Ayrıca *S. virgata*'da karyofilen türevi seskiterpen hidrokarbonlara da rastlanmıştır. Bu bulgularımız literatürle de uyum göstermiştir (Başer 2002).

Hekzan ekstralarının kompozisyonlarının belirlenmesi amacıyla ikinci olarak BF<sub>3</sub> (borontriflorür) ile türevlendirme yapılmıştır. Bu türevlendirme sonucunda GC/MS sisteminde yağ asitleri ve alkanlar bulunmuştur. GC/FID sonuçlarına göre *S. halophila*'nın %81.6'sı aydınlatılmışken *S. virgata*'da bu oran % 65.7'de kalmıştır. *S. halophila*'da ana bileşikler yine hentriakontan (%32.6), tritriakontan (%16.8) ve nonakosan (%11.4) olarak bulunmuştur. *S. virgata*'da ise bileşim metil linoleat (%11.2), hentriakontan (%10.8) ve tritriakontan (%8.1) olarak değişmiştir.

Hekzan ekstralarının (özellikle *S. halophila*) lipit peroksidasyonunu oldukça yüksek oranda inhibe etmesi nedeniyle bu ekstralar içerisindeki antioksidan aktiviteli bileşiklerin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla yapılan analizlerden uçucu bileşenler ve yağ asitleri belirlendikten sonra LC/MS analizi de yapılmıştır. LC/MS analizlerinde Elektron Sprey İyonlaştırma (ESI) yöntemi kullanılmıştır. ESI yöntemi oldukça hafif iyonlaşma yapmaktadır. Bu amaçla alınan spektrumlarda fragmanlar tam olarak belirlenememektedir. Bu analiz sonucunda 430.7 gerçek kütesine sahip bir pik belirlenmiştir. Hafif iyonlaşma yöntemi nedeniyle fragmanlarına tam olarak ayıramadığı için yapısı tam olarak verilememektedir. Bu pik *S. halophila* ekstresinde *S. virgata* ekstresinden daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu ekstralarla yapılan aktivite çalışmaları sonucunda elde edilen lipit peroksidasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmedi ve dolayısıyla oluşacak MDA miktarını düşürmesi nedeniyle ve literatür karşılaştırması sonucunda bu pikin  $\alpha$ -tokoferol (M<sup>+</sup> 430.7) olabileceği düşünülmektedir (Kalman ve ark 2003). Ayrıca yapılan literatür taramalarında *Salvia* türlerinde yüksek aktiviteye sahip diterpenlerin de bulunduğu kayıtlıdır. Fakat bu diterpenlerin LC/MS analizlerinde genellikle kimyasal iyonlaştırma yöntemi kullanılmıştır. Bu nedenle literatür değerleri ile burada elde edilen *m/z* değerleri tam olarak karşılaştırılamamıştır. Bu ekstralar içerisinde ESI yöntemi ile iyonlaştırılan maddelere ait fragmanlar bulgular kısmında verilmiştir. Bu konudaki çalışmalarımız devam etmektedir.

Porter (Porter 1993) ve Frankel ve ark. (Frankel ve ark 1994)'nin öne sürdüğü polar paradoksa göre, apolar antioksidanlar emülsiyonlarda yüksek antioksidan etki gösterirler çünkü, lipit:hava ara yüzeyinde bulunurken, polar

antioksidanlar ise sulu fazda daha seyreltik olarak bulunurlar ve daha az aktivite gösterirler. Koleva ve ark (2002) *Sideritis* türleri üzerinde yaptıkları çalışmalarda, çalışma ortamı ve polarite düzeyi arasındaki benzer etkilerin bulunduğunu göstermişlerdir.

*Salvia* türleri bakımından oldukça zengin bir floraya ve endemizm oranına sahip olan ülkemizde bu türlerin aktiviteleri ile ilgili çalışmalar çok fazla değildir. Bu tez kapsamında incelenen *S. halophila* ve *S. virgata* antioksidan etkileri ve bu etkiden sorumlu bileşikler bakımından ilk kez kapsamlı olarak incelenilmiştir. Buradan elde edilen sonuçlara göre *S. halophila*'nın apolar sistemlerde, *S. virgata*'nın ise polar sistemlerde daha aktif olduğu bulunmuştur. Bu aktiviteden sorumlu olan bileşikler üzerinde ise yapılan analizler sonucunda rozmarinik asitin aktiviteden sorumlu olabilecek önemli bileşikler arasında bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca  $\alpha$ -tokoferol olabileceği düşünülen bir madde de hekzan ekstraları içerisinde tespit edilmiştir. Bu ekstralar içerisindeki aktiviteden sorumlu olabilecek diğer maddeler üzerindeki çalışmalarımız ise devam etmektedir.

Endemik bir tür olan *S. halophila*'nın ve halk arasında kan kanserinin tedavisinde kullanılan *S. virgata*'nın antioksidan aktivitelerinin değerlendirilebilecek düzeyde olduğu bu tezin sonucu olarak belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- ABUJA, P.M. and ALBERTINI, R., *Methods for Monitoring Oxidative Stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins, Clinica Chimica Acta*, **306**, 1–17 (2001).
- ADZET, T., CANIGUERAL, S., IGLESIAS, J., *A Chromatographic Survey of Polyphenols from Salvia species, Biochemical Systematic Ecology*, **16**, 29-32 (1988).
- AI, C.B. and LI, L.N., *Salvianolic acids D and E: Two new depsides from Salvia miltiorrhiza, Planta Medica*, **58**, 197–199 (1992).
- AI-LI, J. and CHANG-HAI, W., *Antioxidant Properties of Naturel Components from Salvia Plebeia on Oxidative Stability of Ascidian Oil, Process Biochemistry* **41**, 1111-1116 (2006).
- AKGÜL, A., *Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, No: 15, Ankara, 1993.
- AKGÜL, A., ÖZCAN, M., CHIALVA, F., MONGUZZI, F., *Essential Oil of Four Turkish Wild Growing Labiatae Herbs: Salvia crypthanta Montör et Auch, Satureja cuneifolia Ten., Thymbra spicata L. and Thymus cilicicus Boiss. et Bal. Journal of Essential Oil Research*, **11**, 209-214 (1999).
- AMAROWICZ, R., PEGG, R.B., RAHIMI-MOGHADDAM, P., BARL, B., WEIL, J.A. *Free-Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Selected Plant Species from the Canadian Prairies, Food Chemistry*, **84**, 551–562 (2004).
- ARUOMA, G. I., SPENCER, J.P.E., WARREN, Q.D., JENNER, P., BUTLER, P., HALLIWELL, B., *Characterization of Food Using Commercial Garlic Antioxidants, Illustrated and Food Chemistry*, **60**, 149-156 (1997)
- BACHMAYER, O., *Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Culinary Herbs, Yüksek Lisans Tezi*, University of Helsinki, Division of Pharmacognosy, Helsinki, Finland, 2004.
- BAILLY, F., QUEFFELEC, C., MBEMBA, G., MOUSCADETB, J.F., COTELLEA, P., *Synthesis and HIV-1 Integrase Inhibitory Activities of Caffeic Acid Dimers Derived from Salvia officinalis, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**, 5053–5056 (2005).
- BALABANLI, B., TÜRKOZAN, N., POLAT, M., AKMANSU, M., *Radyasyonun Oluşturduğu Serbest Radikal Aracılıklı Karaciğer Harabiyetinin Nitrik Oksit Yoluyla İncelenmesi, Klinik Gelişim*, **11**, 402-403 (1998).

BARICEVIC, D. and BARTOL, T., *The Biological/Pharmacological Activity of the Salvia Genus*, In. Sage, Kintzios, S.E. (Ed.), pp.143-184, Harwood Academic Publishers, 2000.

BAŞER, K.H.C., *Aromatic Biodiversity Among the Flowering Plant Taxa of Turkey*, *Pure Appl. Chem.*, **74**, 527-545 (2002).

BAŞER, K.H.C., ÖZEK, T., KIRIMER, N., TÜMEN, G., *The Essential Oil of Salvia pomifera L.*, *Journal of Essential Oil Research*, **5**, 347-348 (1993).

BAŞER, K.H.C., BEİS, S.H., ÖZEK, T., *Composition of the Essential Oil of Salvia cryptantha Montbret et Aucher ex*, *Journal of Essential Oil Research*, **7**, 113-114 (1995a).

BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., ÖZEK, T., SARIKARDEŞOĞLU, S., *The Essential Oil of Salvia caespitosa Montbret et Aucher ex Benth.* *Journal of Essential Oil Research*, **7**, 229-230, (1995b).

BAŞER, K.H.C., DEMİRÇAKMAK, B., ERMİN, N., *The Essential Oil of Salvia syriaca L*, *Journal of Essential Oil Research*, **8**, 105-106 (1996).

BAŞER, K.H.C., DUMAN, H., VURAL, M., ADIGÜZEL, N., AYTAÇ, Z., *The Essential Oil of Salvia aytachii*, *Journal of Essential Oil Research*, **9**, 489-490 (1997).

BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., Z. AYTAÇ., *Composition of the Essential Oil of Salvia euphratica Montbret et Aucher ex Benth.* *Flavour and Fragrance Journal*, **13**, 63-64 (1998).

BAŞER, K.H.C., *Index to Chemical Plants Turkish Chemical Contents in Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, in: GÜNER, A., ÖZHAYAT, N., EKİM, T., BAŞER, K.H.C., Vol 11, 539-542, University Press, Edinburgh, 2000.

BAŞER, K.H.C., DEMİRCİ, B., YILDIZ, B., *Composition of the Essential Oil of Salvia euphratica Montbret et Aucher ex Benth.* *Journal of Essential Oil Research*, **17**, 47-48 (2005).

BAYRAK, A. and AKGÜL, A., *Compositions of Essential Oil of Turkish Salvia species*, *Phytochemistry*, **26**, 846, (1987).

BAYTOP, A., *Türkiye’de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler*, *Doğa TU Eczacılık D.*, **1**, 76-88, 1991.

BAYTOP, T., *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*, Türk Dil Kurumu Yayınları No: 578, Ankara, 1994.

BAYTOP, T., *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, Nobel Tıp Kitapevleri, İkinci Baskı, 1999.

BORS, W., MICHELL, C., STETTMAIER, K., LU, Y., FOO, L.Y., *Antioxidant Mechanism of Polyphenolic Caffeic Acid Oligomers, Constituents of Salvia officinalis*, *Biol Res*, **37**, 301-311 (2004).

BOZAN, B., ÖZTÜRK, N., KOŞAR, M., TUNALIER, Z., BAŞER, K.H.C., *Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Eight Salvia Species*, *Chemistry of Natural Compounds*, **38**, 198-200 (2002).

BRACA, A., POLITI, M., SANOGO, R., SANOU, H., MORELLI, I., PIZZA, C., DE TOMMASI, N., *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Wild and Cultivated Sclerocarya birrea (Anacardiaceae) Leaves*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6689-6695 (2003).

British Herbal Pharmacopoeia, *Salvia*, British Herbal Medicine Association, Great Britain, pp.185-186, 1983.

British Herbal Pharmacopoeia, Sage leaf, British Herbal Medicine Association, Great Britain, p.164, 1996.

CADENAS, E. and DAVIES, K.J., *Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress and Aging*, *Free Radical Biology And Medicine*, **29**, 222-230, (2000).

CHATTERJEE, S.N. and AGARWAL, S., *Liposomes as a Membrane Model for Study of Lipid Peroxidation*, *Free Radical Biology & Medicine*, **4**, 51-72 (1988).

CHENG, W., TUNG, Y.H., LIU, C.H., CHEN, J.C., *Molecular Cloning and Characterisation of Cytosolic Manganese Superoxide Dismutase (Cytmn-SOD) from the Giant Freshwater Prawn Macrobrachium rosenbergii*, *Fish & Shellfish Immunology*, **20**, 438-449 (2006).

CUVELIER, M.E., BERSSET, C., RICHARD, H., *Antioxidant Constituents in sage (Salvia officinalis)*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 665-669 (1994).

DAMIANI, E., KALINSKA, B., CANAPA, A., CANESTRARI, S., WOZNIAK, M., OLMO, E., GRECI, U., *The Effects of Nitroxide Radicals on Oxidative DNA Damage*, *Free Radical Biology & Medicine*, **28**, 1257-1265 (2000).

DAVIES, M.J., *The Oxidative Environment and Protein Damage*, *Biochimica & Biophysica Acta*, **1703**, 93-109 (2004).

DEANS, S.G. and SIMPSON, E.J.M., *Antioxidants from Salvia officinalis, in Sage*, Kintzios, S.E. (Ed.), pp. 185-192, Harwood Academic Publishers, 2000.

DELAMARE, A.P.L., MOSCHEN-PISTORELLO, I., ARTICO, L., ATTI-SERAFINI, L., ECHEVERRIGARAY, S., *Antibacterial Activity of the Essential Oils of Salvia officinalis L. and Salvia triloba L. Cultivated in South Brazil*, *Food Chemistry*, **100**, 603-608 (2007).

DEMİRCİ, B., BAŞER, K.H.C., TÜMEN, G., *Composition of the Essential Oil of Salvia aramiensis Rech. Fil. Growing in Turkey, Flavour Fragrance Journal*, **17**, 23-25 (2002).

DEMİRCİ, B., BAŞER, K.H.C., YILDIZ, B., BAHÇECİOĞLU, Z., *Composition of the Essential Oils of Six Endemic Salvia Species from Turkey, Flavour and Fragrance Journal*, **18**, 116-121 (2003).

DENISOV, E.T. and AFANAS'EV, I.B., *Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology*, p.4, 21, Taylor & Francis Group, USA, 2005.

Deutsches Arzneibuch (DAB), *Salvia triloba folium*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Germany, 1999.

DING, M., YE, T.Z., ZHAO, G.R., YUAN, Y.J., GUO, Z.X., *Aqueous Extract of Salvia miltiorrhiza Attenuates Increased endothelial Permeability Induced by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* , *International Immunopharmacology*, **5**, 1641–1651 (2005).

DORMAN, H.J.D., KOŞAR, M., KAHLOS, K., HOLM, Y., HILTUNEN, R., *Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from Mentha Species, Hybrids, Varieties, and Cultivars, Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 4563-4569 (2003).

DORMAN, H.J.D., BACHMAYER, O., KOŞAR, M., HILTUNEN, R., *Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Lamiaceae Species Grown in Turkey, Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 762-770 (2004).

EBERHARDT, M.K., *Reactive Oxygen Metabolites: Chemistry and Medical Consequences*, p.1, 24, CRC Press, 2001.

EIDI, M., EIDI, A., ZAMANIZADEH, H., *Effect of Salvia officinalis L. Leaves On Serum Glucose and Insulin in Healthy and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, Journal of Ethnopharmacology*, **100**, 310–313 (2005).

ERÖZ, İ., *Eskişehir Çevresinde Yetişen Bazı Salvia Türleri Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Eskişehir, 2001.

European Pharmacopoeia, *Sage leaf* (Salvia officinalis), Third edition, Suppl. 2, Council of Europe, Strasbourg, France, p.847, 1999.

FANG, Y.Z., YANG, Y.Z., YANG, S., WU, G., *Regulation of Physiological Systems By Nutrients Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition, Nutrition*, **18**, 872– 879 (2002).

FINKEL, T., *Oxygen Radicals and Signaling, Current Opinion in Cell Biology*,



10, 248-253 (1998).

FRANKEL, E.N., HUANG, S.W., KANNER, J., GERMAN, J.B., *Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils Versus Emulsions, Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 1054-1059 (1994).

FUJITA, T., SEZİK, E., TABATA, M., YEŞİLADA, E., HONDA, G., TAKEDA, Y., TANAKA, T., TAKAISHI, Y., *Traditional Medicine in Turkey VII Folk Medicine in Middle and West Black Sea Regions, Economic Botany*, **49**, 406-422 (1995).

GILBERT, D.L. and COLTON, C.A., *Reactive Oxygen Species in Biological Systems*, p.12, 16, Kluwer Academic Publishers, USA, 1999.

GU, L. and WENG, X. *Antioxidant Activity and Components of Salvia plebeia R.Br. – a Chinese herb, Food Chemistry*, **73**, 299-305 (2001).

GYAMFI, M.A., YONAMINE, M., ANIYA, Y. *Free-Radical Scavenging Action of Medicinal Herbs from Ghana Thonningia sanguinea on Experimentally Induced Liver Injuries. General Pharmacology*, **32**, 661-667, (1999).

HALLIWELL, B., *Lipid peroxidation, Antioxidants and Cardiovascular Disease: How Should We Move Forward?, Cardiovascular Research*, **47**, 410–418 (2000).

HALLIWELL, B., *Free Radical Reactions in Human Disease*, In. *Environmental Stressors In Health and Disease*, Fuchs, J. (Ed.), p.3, Marcell Dekker Incorporated, New York, 2001.

HALLIWELL, B., *Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo*, In. *Handbook of Antioxidants*, Cadenas, E., Packer, L. (Eds.), pp.1-46, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 2002.

HALLIWELL, B., CLEMENT, M.V., LONG, L.H., *Hydrogen Peroxide in the Human Body, FEBS Letters*, **486**, 10-13 (2000).

HAZNEDAROGLU, M.Z., KARABAY, N.U., ZEYBEK, U., *Antibacterial Activity of Salvia tomentosa essential oil, Fitoterapia*, **72**, 829-831 (2001).

HEDGE, I.C., *Salvia L.*, in *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, P. H. Davis (Ed.), Vol. 7, 400-460, University Press, Edinburgh, 1982.

HO, C-T., WANG, M., WEI, G-J., HUANG, T-C., HUANG, M-T., *Chemistry and Antioxidative Factors in Rosemary and Sage, Biofactors*, **13**, 161-166 (2000).

HONDA, G., YEŞİLADA, E., TABATA, M., SEZİK, E., FUJITA, T., TAKEDA, Y., TAKAISHI, Y., TANAKA, T., *Traditional Medicine in Turkey VI Folk Medicine in West Anatolia, Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın, Provinces, Journal of Ethnopharmacology*, **53**, 75-87 (1996).

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R.L., *The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **53**, 1841-1856 (2005).

KALMAN, A., MUJAHIT, C., MOTTIER, P., HEUDI, O., *Determination of Alpha Tocopherol Infant by Liquid Chromatography Combined with Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry, Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **17**, 723-727 (2003).

KAMATOU, G.P.P., VILJOEN, A.M., BWALYA, A.B., VAN, Z.R.L., VUUREN, V., LOURENS A.C.U., BAŞER, K.H.C., DEMİRCİ, B., LİNDSEY, K.L, STADEN, J.V., STEENKAMP, P., *The In Vitro Pharmacological Activities and A Chemical Investigation of Three South African Salvia Species , Journal of Ethnopharmacology*, **102**, 382–390 (2005).

KANG, H.S., CHUNG, H.Y., JUNG, J.H., KANG, S.S., CHOI, J.S., *Antioxidant effect of Salvia miltiorrhiza, Archives of Pharmacal Research*, **20**, 496–500, (1997).

KAWAZOE, K., YAMAMOTO, M., TAKAISHI, Y., HONDA, G., FUJITA, T., SEZİK, E., YEŞİLADA, E., *Rearanged Abiatene-type Diterpenes from Salvia dichroantha Stapf, Phytochemistry*, **50**, 493-497 (1999).

KAYA, A., DEMİRCİ, B., BAŞER, K.H.C., *Glandular Trichomes and Essential oils of Salvia glutinosa L, South Africa Journal of Botanic*, **69**, 428-433 (2003).

KINTZIOS, S.E., *Sage*, III ve V, Harwood Academic Publishers, 2000.

KOLEVA, I.I., VAN BEEK, T.A., LINSSEN, J.P.H., DE GROOT, A., EVSTATIEVA, L.N., *Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods, Phytochemical Analysis*, **13**, 8–17 (2002).

KONU KLUGİL, B., *Investigation of Podophylotoxin in Some Plants in Lamiaceae using HPLC, Journal of Faculty of Pharmacy Ankara University*, **25**, 23-27 (1996).

KOŞAR, M., DORMAN, H.J.D., BAŞER, K.H.C., HILTUNEN, R. *An Improved HPLC Post-Column Methodology for the Identification of Free Radical Scavenging Phytochemicals in Complex Mixtures, Chromatographia*, **60**, 635-638 (2004).

KOŞAR, M., DORMAN, H.J.D., HILTUNEN, R. *Effect of an Acid Treatment on The Phytochemical and Antioxidant Characteristics of Extracts from Selected Lamiaceae Species, Food Chemistry*, **91**, 525-533 (2005a).

KOŞAR, M., TUNALIER, Z., ÖZEK, T., KÜRKÇÜOĞLU, M., BAŞER, K.H.C., *A Simple Method to Obtain Essential Oils from Salvia triloba L. and Laurus nobilis L. by Using Microwave-Assisted Hydrodistillation, Zeitschrift Für*

*Naturforsch*, **60**, 501-504 (2005b).

KÖKDİL, G., TOPÇU, G., SÖNMEZ, U., ULUBELEN, A., *Terpenoids and Flavonoids from Salvia cyanescens*, *Phytochemistry*, **46**, 799-780 (1997).

KÜRKÇÜOĞLU, M., BAŞER, K.H.C., DUMAN, H., *Composition of Essential Oils from Two Varieties of Salvia aucheri Benthams Growing in Turkey*, *Journal of Essential Oil Research*, **14**, 241-242 (2002).

KÜRKÇÜOĞLU, M., DEMİRCİ, B., BAŞER, K.H.C., DİRMENCİ, T., TÜMEN, G., ÖZGEN, U., *The Essential Oil of Salvia limbata Growing in Turkey*, *Journal of Essential Oil Research*, **17**, 192-193 (2005).

LARSON, R.A., *Naturally Occuring Antioxidants*, pp.25-50, Lewis Publishers, New York, USA, 1997.

LIMA, C.F. CARVALHO, F., FERNANDES, E., BASTOS, M.L., SANTOS-GOMES, P.C., FERNANDES-FERREIRA, M., PEREIRA-WILSON, C., *Evaluation of Toxic/Protective Effects of The Essential Oil of Salvia officinalis on Freshly Isolated Rat Hepatocytes*, *Toxicology In Vitro*, **18**, 457-465 (2004).

LIN, Y.L., WU, C.H., LUO, M.H., HUANG, Y.J., WANG, C.N., SHIAO, M.S., HUANG, Y. T., *In Vitro Protective Effects of Salvianolic Acid B on Primary Hepatocytes and Hepatic Stellate Cells*, *Journal of Ethnopharmacology*, **105**, 215-222 (2006).

LIYANA-PATHIRANA, C.M. ve SHAHIDI, F., *Antioxidant Properties of Commercial Soft and Hard Winter Wheats (Triticum aestivum L.) and Their Milling Fractions*, *Journal of Science Food and Agriculture*, **86**, 477-485 (2006).

LLORACH, R., ESPIN, J.C., TOMAS-BARBERAN, F.A., FERRERES, F., *Artichoke (Cynara scolymus L.) By-Products as a Potential Source of Health-Promoting Antioxidant Phenolics*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **50**, 3458-3464 (2002).

LU, Y. and FOO, L.Y., *Antioxidant Activity of Polyphenols from Sage (Salvia officinalis)*, *Food Chemistry*, **75**, 197-202 (2001).

LU, Y. and FOO, L.Y., *Polyphenolics of Salvia*, *Phytochemistry*, **59**, 117-140 (2002).

LUCHSINGER, J.A. and MAYEUX, R., *Dietary Factors and Alzheimer's Disease*, *The Lancet Neurology*, **3**, 579-587 (2004).

MATSINGOU, T.C., PETRAKIS, N., KAPSOKEFALOU, M., SALIFOGLU, A., *Antioxidant Activity of Organic Extracts from Aqueous Infusions of Sage*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6696-6701 (2003).

- MERİÇLİ, A.H., MERİÇLİ, F., TANKER, N., KOYUNCU, M., *Constituents of Salvia albimaculata*, *Journal of Pharmacy of University Marmara*, **3**, 53-55 (1987).
- MILIAUSKAS, G., VENSKUTONIS, P.R., VAN-BEEK, T.A., *Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extracts*, *Food Chemistry*, **85**, 231-237 (2004).
- MIURA, K., KIKUZAKI, H., NAKATANI, N., *Antioxidant Activity of Chemical Components from Sage (Salvia officinalis L.) and Thyme (Thymus vulgaris L.) Measured by the oil Stability Index Method*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 1845-1851 (2002).
- MORIMOTO, S., GOTO, Y., SHOYAMA, Y., *Production of Lithospermic Acid B and Rosmarinic Acid in Callus Tissue and Regenerated Plantlets of Salvia miltiorrhiza*, *Journal of Natural Products*, **57**, 817-823 (1994).
- NACAR, S. and İLÇİM, A., *Compositions Essential Oils of Salvia vermifolia from Turkey*, *Pharmaceutical Biology*, **40**, 67-69 (2002).
- NAKAZAWA, T. and OHSAWA, K., *Metabolism of Rosmarinic Acid in Rats*, *Journal of Natural Products*, **61**, 993-996 (1998).
- NIKI, E., YOSHIDA, Y., SAITO, Y., NOGUCHI, N., *Lipid Peroxidation: Mechanisms, Inhibition, and Biological Effects*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **338**, 668-676 (2005).
- OOMAH, B.D. and MAZZA, G., *Flavonoids and Antioxidative Activities in Buckweat*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 1746-1750 (1996).
- OYAIZU, M., *Studies on Products of Browning Reaction: Antioxidative Activity of Products of Browning Reaction*. *Japanes Journal of Nutrition*, **44**, 307-315 (1986).
- ÖZCAN, M., A. AKGÜL, CHALCHAT, J.C., *Volatile Constituents of Essential Oils of Salvia aucheri Benth. var. canescens Boiss. et Heldr. and S. tomentosa Mill. Grown in Turkey*, *Journal of Essential Oil Research*, **14**, 339-341, (2002a).
- ÖZCAN, M., TZAKOU, O., COULADIS, M., *Essential Oil Composition of Turkish Herbal Tea (Salvia aucheri Benth. var. canescens Boiss. & Heldr.)*, *Flavour and Fragrance Journal*, **18**, 325-327 (2002b).
- PARISEA, G., PHILLIPSA, S.M., KACZORC, J. J., TARNOPOLSKY, M.A., *Antioxidant Enzyme Activity is Up-Regulated After Unilateral Resistance Exercise Training in Older Adults*, *Free Radical Biology & Medicine*, **39**, 289-295 (2005).
- PAVELA, R., *Insecticidal Activity of Certain Medicinal Plants*, *Fitoterapia*, **75**, 745-749 (2004).

PAVELA, R., *Insecticidal Activity of Some Essential Oils Against Larvae of Spodoptera littoralis*, *Fitoterapia*, **76**, 691–696 (2005).

PEREIRA, P., TYSCA, D., OLIVEIRA, P., SILVA BRUM, L.C., NASCIMENTO, J.P., ARDENGHI, P., *Neurobehavioral and Genotoxic Aspects of Rosmarinic Acid*, *Pharmacological Research*, **52**, 199–203 (2005).

PETERSENA, M. and SIMMONDS, M.S.J., *Molecules of Interest Rosmarinic acid*, *Phytochemistry*, **62**, 121–125 (2003).

PIZZALE, L., BORTOLOMEAZZI, R., VICHI, S., UBAREGGER, E., CONTE, L.S., *Antioxidant Activity of Sage (Salvia officinalis and S. fruticosa) and Oregano (Origanum onites and O. indercedens) Extracts Related to Their Phenolic Compound Content*, *Journal of Science Food Agriculture*, **82**, 1645–1651 (2002).

PORTER, W.L., *Paradoxical Behaviour of Antioxidants in Food and Biological Systems*. In *Antioxidants, Chemical, Physiological, Nutritional and Toxicological Aspects*, Williams G.M. (Ed.), Princeton Scientific, Princeton, pp. 93–121, 1993.

REYNOLDS, J.E.F., *Sage*, *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, 31. edition, The Royal Pharmaceutical Society, p.1749, 1996.

RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J., PAGANGA, G., *Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids*, *Free Radical Biology & Medicine*, **20**, 933–956 (1996).

RUIZ, M.R., BELTRAN, Y.G., MORA, S., VELIZ, G. D., VIANA, S.B., TORTORIELLO, J., RAMIREZ, G., *Antidepressant and Anxiolytic Effects of Hydroalcoholic Extract from Salvia elegans*, *Journal of Ethnopharmacology*, **107**, 53–58 (2006).

SACHECK, J.M. and BLUMBERG, J.B., *Role of Vitamin E and Oxidative Stress in Exercise*, *Nutrition*, **17**, 809–814 (2001).

SANTOS-GOMES, P.C., SEABRA, R.M., ANDRADE P.B., FERNANDES-FERREIRA, M., *Phenolic Antioxidant Compounds Produced by In Vitro Shoots of Sage (Salvia officinalis L.)*, *Plant Science*, **162**, 981–987 (2002).

SARIÇOBAN, Ş., *Ebenus L. Türlerinin Tohum Yağlarının Yağ Asitlerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, p. 48, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2001.

SAYED, N.H., ERAKY, W., IBRAHIM, M.T., MABRY, T.J., *Antiinflammatory and Ulcerogenic Activities of Salvia triloba Extracts*, *Fitoterapia*, **77**, 333–335 (2006).

SCANDALIOS, J.G., *Oxidative Stress and The Molecular Biology of Antioxidant*

*Defenses*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, p.1, 1997.

SEBRANEK, J.G., SEWALT, V.J.H., ROBBINS, K.L. HOUSER, T.A., *Comparison of a Natural Rosemary Extract and BHA/BHT for Relative Antioxidant Effectiveness in Pork Sausage*, *Meat Science*, **69**, 289–296 (2005).

SEZİK, E., YEŞİLADA, E., TABATA, M., HONDA, G., TAKAISHI, Y., FUJITA, T., TANAKA, T., TAKEDA, Y., *Traditional Medicine in Turkey VIII Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır, Provinces, Economic Botany*, **51**, 195-211 (1997).

SEZİK, E. and YEŞİLADA, E., *Uçucu Yağ Taşıyan Türk Halk İlaçları*, Essential Oils, Kırimer, N., Mat, A. (Eds.) 98-131, Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1999.

SEZİK, E., YEŞİLADA, E., HONDA, G., TAKAISHI, Y., TANAKA, T., TAKEDA, Y., *Traditional Medicine in Turkey X Folk Medicine in Central Anatolia, Journal of Ethnopharmacology*, **75**, 95-111 (2001).

SHAHIDI, F. and NACZK, M., *Food Phenolics Sources Chemistry Effects Applications*, p, 235, Technomic Publishing Company Inc, Pennsylvania, USA, 1995.

SIDDHURAJU, P. and BECKER, K., *Studies on Antioxidant Activities of Mucuna Seed (Mucuna pruriens var utilis) Extract and Various Non-Protein Amino/Imino Acids Through In Vitro Models, Journal of Science Food Agriculture*, **83**, 1517-1524 (2003).

SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTO'S, R.M. *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In Methods in Enzymology*, Packer, L. (Ed.), Vol. 299, pp. 152-315, Academic Press, San Diego, CA, 1999.

SORG, O., *Oxidative Stress: A Theoretical Model or A Biological Reality?*, *Comptes Rendus Biologies*, **327**, 649–662 (2004).

SÖNMEZ, U., TOPÇU, G., ULUBELEN, A., *Constituents of Salvia verticillata*, *Turkish Journal of Chemistry*, **21**, 376-382 (1997).

SPITELLER, G., *Linoleic Acid Peroxidation the Dominant Lipid Peroxidation Process in Low Density Lipoprotein and its Relationship to Chronic Diseases*, *Chemistry and Physics of Lipids*, **95** 105–162 (1998).

SUKAL, Z., HALFON, B., ULUBELEN, A., *Flavonoids of Salvia microgesta*, *Journal of Faculty of Pharmacy Istanbul University*, **31**, 37-39 (1995).

ŞARER, E., *Anadolu'da Yetişen Salvia tomentosa Mill. ve Salvia grandiflora Etling. Uçucu Yağlarının Özellikleri ve İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması*,

*Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **10**, 112 (1980).

ŞARER, E., *Anadolu Salvia'larının Uçucu Yağları Üzerine Araştırmalar*, *Salvia candidissima Vahl. ssp. occidentalis*, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **13**, 146-151 (1983).

ŞARER, E., *Anadolu Salvia'larının Uçucu Yağları Üzerine Araştırmalar II*, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **14**, 94-98 (1984).

ŞARER, E., *Güney ve İç Anadolu Bölgelerinde Yetişen Bazı Salvia Türleri Uçucu Yağları Üzerinde Araştırmalar*, *Doga Tıp ve Eczacılık Dergisi*, **11**, 97 (1987).

ŞARER, E., *Salvia yosgadensis Bornm. Uçucu Yağı Üzerinde Kimyasal Araştırmalar*, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **18**, 38-43 (1988).

ŞARER, E., *Composition of Essential Oil of Salvia pisidica Boiss. Flavour and Fragrance Journal*, **4**, 201-202 (1989).

TABATA, M., SEZİK, E., HONDA, G., YEŞİLADA, E., FUKUI, H., GOTO, K., IKESHIRO, Y., *Traditional Medicine in Turkey III. Folk Medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces*, *International Journal of Pharmacognosy*, **32**, 3-12 (1994).

TAKAHASHI, K., OUYANG, X., KOMATSU, K., NAKAMURA, N., HATTORI, M., BABA, A., AZUMA, J., *Sodium Tanshinone II A Sulfonate Derived from Danshen (Salvia miltiorrhiza) Attenuates Hypertrophy Induced by Angiotensin II in Cultured Neonatal Rat Cardiac Cells*, *Biochemical Pharmacology*, **64**, 745-750 (2002).

TAKEDA, Y., ZHANG, H., MATSUMOTO, T., OTSUKA, H., OOSIO, Y., HONDA, G., TABATA, M., FUJITA, T., SUN, H., SEZİK, E., YEŞİLADA, E., *Megastigmane Glycosides from Salvia nemorosa*, *Phytochemistry*, **44**, 117-120 (1997).

TAN, N., TOPÇU, G., ULUBELEN, A., *A New Aromatic Ester and Other Constituents of Salvia aucheri var canescens*, *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, **29**, 53-57 (1993).

TAN, N., TOPÇU, G., ULUBELEN, A., *Norabitanone Diterpenoids and Other Terpenoids from Salvia recognita*, *Phytochemistry*, **49**, 175-178 (1998).

TAN, N., KALOGA, M., RADTKE, O.A., KIDERLEN, A.F., ÖKSÜZ, S., ULUBELEN, A., KOLODZIEJ, H., *Abietane Diterpenoids and Triterpenoid Acids from Salvia cilicica and Their Antileishmanial Activities*, *Phytochemistry*, **61**, 881-884 (2002).

TANAKOL, R., *Antioksidan Vitaminler: Hastalıkta ve Sağlıkta Önemleri*, *Klinik Gelişim*, **11**, 347-357 (1998).

TANKER, M., ŞARER, E., TANKER, N., *Salvia triloba L. Bitkisinin Uçucu Yağı Üzerinde Gaz Kromatografisi ile Araştırmalar, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **6**, 198-206 (1976).

TANKER, M., TANKER, N., ŞARER, E., ATASU, E., ŞENER, B., KURUCU, S., MERİÇLİ, F., *Results of Certain Investigations on the Volatile Oil Containing Plants of Turkey*, In Başer, K.H.C., Güler, N., (Eds.) *Proceedings of International Congress on Essential Oils for Perfumery and Flavours*, pp. 16-29, Istanbul, Turkey 1993.

TANKER, N., İLİSULU, F., TANKER, M., KOYUNCU, M., *On the Essential Oils of Some Salvia species Growing in South Anatolia, Doğa Bilim Dergisi*, **9**, 358-362 (1985).

TEPE, B., DÖNMEZ, E., ÜNLÜ, M., CANDAN, F., DAFERERA, D., ÜNLÜ, G., POLISSIOU, M., SÖKMEN, A., *Antimicrobial And Antioxidative Activities of The Essential Oils and Methanol Extracts of Salvia cryptantha (Montbret et Aucher ex Benth.) and Salvia multicaulis (Vahl), Food Chemistry*, **84**, 519-525, (2004).

TEPE, B., DAFERERA, D., SÖKMEN, A., SÖKMEN, M., POLISSIOU, M., *Antimicrobial and Antioxidant Activities of The Essential Oil and Various Extracts of Salvia tomentosa Miller (Lamiaceae), Food Chemistry*, **90**, 333-340 (2005).

THOMAS-BARBERAN, F.A. and WOLLENWEBER, E., *Flavonoid Aglycons from the Leaf Surfaces of Some Labiatae Species, Plant Systematics and Evolution*, **173**, 109-118 (1990).

TOPÇU, G. and ULUBELEN, A., *Diterpenoids from Salvia wiedemannii, Phytochemistry*, **29**, 2346-2348 (1990).

TOPÇU, G. and ULUBELEN, A., *Diterpenoids from Salvia wiedemannii, Phytochemistry*, **30**, 2412-2413 (1991).

TOPÇU, G., ULUBELEN, A., ERİŞ, C., *Di-and Triterpenoids of Salvia pomifera, Phytochemistry*, **36**, 743-745 (1994)

TOPÇU, G., TAN, N., ULUBELEN, A., SUN, D., WATSON, W. H., *Terpenoids and Flavonoids From the Aerial Parts of Salvia candidissima, Phytochemistry*, **40**, 501-504 (1995).

TOPÇU, G., SÖNMEZ, U., ERİŞ, C., ÖZGEN, U., *Norsesterterpenes and Diterpenes from the Aerial Parts of Salvia limbata, Phytochemistry*, **43**, 431-434 (1996a).

TOPÇU, G., ULUBELEN, A., TIMOTHY, C., TAO-CHE, C., *Sesterterpenes and Other Constituents of Salvia yosgadensis, Phytochemistry*, **42**, 1089-1092 (1996b)



- TOPÇU, G., ULUBELEN, A., TAM, T. C-M., CHE. C.T., *Norditerpenes and Norsesiterpens from Salvia yosgadensis*, *Journal of Natural Products*, **59**, 113-16, (1996c)
- TOPÇU, G., KARTAL, M., ULUBELEN, A., *Terpenoids from Salvia tchihatcheffii*, *Phytochemistry*, **44**, 1393-1395 (1997a).
- TOPÇU, G., TAN, N., KÖKDİL, G., ULUBELEN, A., *Terpenoids from Salvia glutinosa*, *Phytochemistry*, **45**, 1293-1294 (1997b).
- TOPÇU, G., ALTINER, E.N., GÖZCÜ, S., HALFON, B., AYDOĞMUŞ, Z., PEZZUTO, J.M., ZHOU, B.N., KINGSTON, D.G.I., *Studies on Di- and Triterpenoids from Salvia staminea with Cytotoxic Activity*, *Planta Medica*, **69**, 464-467 (2003).
- TOPÇU, G., TÜRKMEN, Z., ULUBELEN, A., SCHILING, J.K., KINGSTON, D.G.I., *Highly hydroxylated triterpenes from Salvia kronenburgii*, *Journal of Natural Products*, **67**, 118-121 (2004).
- TÜMEN, G., BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., DUMAN, H., *Composition of the Essential Oil of Salvia cedronella Boiss. from Turkey*, *Journal of Essential Oil Research*, **10**, 713-715 (1998).
- ULUBELEN, A., *Euphraticol and Euphracol, Two New Diterpens from Salvia euphratica*, *Journal of Natural Products*, **52**, 1313-1315 (1989a).
- ULUBELEN, A., *New Diterpen from Roots of Salvia virgata*, *Planta Medica*, **55**, 397 (1989b).
- ULUBELEN, A., *New Diterpenoids from Salvia triloba*, *Planta Medica*, **56**, 82-83 (1990).
- ULUBELEN, A., *A New Aromatic Esterand Other Constituents of Salvia aucheri var. canescens*, *Journal of Faculty of Pharmacy Istanbul University*, **29**, 53-57 (1993).
- ULUBELEN, A. and AYANOĞLU, E., *Vergatic acid, a New Pentacyclic Triterpene from Salvia virgata*, *Phytochemistry*, **15**, 309-311 (1976).
- ULUBELEN, A. and BRIESKORN, C.H., *Chemical Study of the Herba of Salvia amplexicaulis*, *Planta Medica*, **31**, 80-82, (1977).
- ULUBELEN, A. and MİSKİ, M., *A New Diterpene Acid from Salvia tomentosa*, *Journal of Natural Products*, **44**, 119-124 (1981).
- ULUBELEN, A. and TAN, N., *Terpenoids from Salvia recognita and S. aethiopsis*, *Sci. Pharm.* **67**, 83-88 (1999).
- ULUBELEN, A. and TOPÇU, G., *Triterpenoids From Salvia pinnata*,

*Phytochemistry*, **23**, 133-134 (1984).

ULUBELEN, A. and TOPÇU, G., *Triterpenic And Streoidal Compounds From the Roots of Five Salvia species*, *Fitoterapia*, **58**, 205-206 (1987).

ULUBELEN, A. and TOPÇU, G., *Abietane Diterpenoids From Salvia microstegia*, *Phytochemistry* **30**, 2085-2086 (1991).

ULUBELEN, A. and TOPÇU, G., *Abietane Diterpenoids From Salvia pomifera*, *Phytochemistry*, **31**, 3949-3951 (1992).

ULUBELEN, A. ve TUZLACI, E., *Terpenoids from Salvia potentifolia*, *Planta Medica*, **53**, 578 (1987).

ULUBELEN, A. and TUZLACI, E., *Flavonoids and Triterpenoids From Salvia euphratica and S. longipedicellata*, *Fitoterapia*, **61**, 185, (1990a).

ULUBELEN, A. and TUZLACI, E., *New Diterpens From Salvia pachystachys*, *Journal of Natural Products*, **53**, 1597-1599 (1990b).

ULUBELEN, A. and UYGUR, I., *Flavonoidal and Other Compounds of Salvia aethiopis*, *Planta Medica*, **29**, 318-320 (1976).

ULUBELEN, A., ÖZTÜRK, S., İŞILDATICI, S., ÖZTÜRK, S., *A New Flavone from Salvia triloba L.* *Journal of Pharmaceutical Sciences* **57**, 1037-1038 (1968).

ULUBELEN, A., MİSKİ, M., JOHANSSON, C., *Salvia tomentosa Bitkisinin Kimyasal ve Farmakolojik İncelenmesi*, *Doğa Bilim Dergisi*, **C.8**, 109-115 (1984).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TEREM, B., *Abietna diterpenoids from the roots of Salvia cryptantha*, *Phytochemistry*, **26**, 1534-1535, (1987).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TAN, N., *Diterpenoids From Salvia candidissima*, *Tetrahedron Letters*, **33**, 7241-7244 (1992a).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TAN, N., *Rearranged Abietane Diterpenes From Salvia candidissima*, *Phytochemistry*, **31**, 3637-3638 (1992b).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TAN, N., LIN, L.J., CORDEL, G.A., *Microstegiol, a Rearranged Diterpene From Salvia microstegia*, *Phytochemistry*, **31**, 2419-2421 (1992c).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TUZLACI, E., *New Diterpenoids From Salvia divaricata*, *Journal of Natural Products*, **55**, 1518-1521 (1992d).

ULUBELEN, A., TOPÇU, G., ERİŞ, C., SÖNMEZ, U., KARTAL, M., KURUCU, S., BOZOK-JOHANSSON, C., *Terpenoids From Salvia sclarea*, *Phytochemistry*, **36**, 971-974 (1994a).

- ULUBELEN, A., TOPÇU, G., SÖNMEZ, U., ERİŞ, C., *Terpenoids From Salvia nemorosa*, *Phytochemistry*, **35**, 1065-1067 (1994b).
- ULUBELEN, A., TOPÇU, G., SÖNMEZ, U., IQBAL, M., *Abietane Diterpenes From Salvia napifolia*, *Phytochemistry*, **40**, 861-864 (1995a).
- ULUBELEN, A., TOPÇU, G., TAN, N., *Diterpenoids From Salvia helderichiana*, *Phytochemistry*, **40**, 1473-1475 (1995b).
- ULUBELEN, A., ÖNMEZ, U., TOPÇU, G., BOZOK, C., *An Abietane Diterpene and Two Phenolics from Salvia forskahlei*, *Phytochemistry*, **42**, 145-147 (1996).
- ULUBELEN, A., SÖNMEZ, U., TOPÇU, G., *Diterpenoids From the Roots of Salvia sclarea*, *Phytochemistry*, **44**, 1297-1299 (1997a).
- ULUBELEN, A., TAN, N., TOPÇU, G., *Terpenoids From Salvia candidissima subsp. candidissima*, *Phytochemistry*, **45**, 1221-1223 (1997b).
- ULUBELEN, A., TAN, N., SÖNMEZ, U., TOPÇU, G., *Diterpenoids and Triterpenoids from Salvia multicaulis*, *Phytochemistry*, **47** 899-901 (1998).
- URSO, M.L. ve CLARKSON, P.M., *Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementatio*, *Toxicology*, **189**, 41-54 (2003).
- UYSAL, M., *Serbest Radikaller, Lipit Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar*, *Klinik Gelişim*, **11**, 336-341 (1998).
- ÜNAL, M., DEMİRYÜREK, A. T., ÇAKICI, İ., KANZIK, İ., *Peroksinitritin Anesteziye Sıçanlarda Aritmojenik etkisi*, *Klinik gelişim*, **11**, 431-433 (1998).
- VELIOĞLU, Y.S., MAZZA, G., OOMAH, B.D., *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4113-4117 (1998).
- WANG, M., KIKUZAKI, H., ZHU, N., SANG, S., NAKATANI, N., HO, C.T., *Isolation and Structural Elucidation of Two New Glycosides from Sage (Salvia officinalis L.)*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 235-238 (2000).
- WANG, M., LI, J., RANGARAJAN, M., SHAO, Y., VOIE, E.J., HUANG, T-C., HO, C-T., *Antioxidative Phenolic Compounds From Sage (Salvia officinalis)*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4869-4873 (1998).
- WENG, X.C. and WANG, W., *Antioxidant Activity Compounds Isolated From Salvia plebeia*, *Food Chemistry*, **71**, 489-493 (2000).
- YALÇIN, A.S., *Antioksidanlar*, *Klinik Gelişim*, **11**, 342-346 (1998).
- YAMAMOTO, Y. and NIKI, E., *Role of Antioxidants in Lipid Peroxidation. In:*

*Membrane Lipid Oxidation*. Vol. 1, pp. 285-301, Carmen Vigo-Pelfrey, 1991.

YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., GOTO, K., IKESHIRO, Y., *Traditional Medicine in Turkey IV. Folk Medicine in the Mediterranean Subdivision*, *Journal of Ethnopharmacology*, **39**, 31-38 (1993).

YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., FUJITA, T., TANAKA, T., TAKAISHI, Y., *Traditional Medicine in Turkey V Folk Medicine in the Inner Taurus Mountains*, *Journal of Ethnopharmacology*, **46**, 133-152 (1995).

YILDIRIM, A., MAVİ, A., OKTAY, M., KARA, A.A., ALGUR, Ö.F., BİLALOĞLU, V., *Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tilia (Tilia argentea Desf ex DC), Sage (Salvia triloba L.), and Black Tea (Camellia sinensis) Extracts*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5030-5034 (2000).

YOKOYAMA, M., *Oxidant Stress and Atherosclerosis*, *Current Opinion in Pharmacology*, **4**, 110-115 (2004).

ZHAO, G.R., XIANG, Z.J., YE, T.X., YUAN Y.J., GUO, Z.X., *Antioxidant Activities of Salvia miltiorrhiza and Panax notoginseng*, *Food Chemistry*, **99**, 767-774 (2006).