



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***Salvia pseudoeuphratica* BİTKİSİNİN SEKONDER
METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, ANTİOKSİDAN VE
ANTI-ALZHEİMER AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE
LC-MS/MS VE GC-MS İLE KİMYASAL İÇERİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Evin AYGÜN TUNCAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DIYARBAKIR- 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***Salvia pseudoeuphratica* BİTKİSİNİN SEKONDER
METABOLİTLERİNİN SAFLAŞTIRILMASI, ANTIOKSİDAN VE
ANTI-ALZHEİMER AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE
LC-MS/MS VE GC-MS İLE KİMYASAL İÇERİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Evin AYGÜN TUNCAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DIYARBAKIR- 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Evin AYGÜN TUNCAY'ın hazırladığı “*Salvia pseudoeuphratica* Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin Saflaştırılması, Antioksidan Ve Antialzheimer Aktivitelerinin Belirlenmesi Ve LC-MS/MS ve GC-MS İle Kimyasal İçeriklerinin İncelenmesi” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 08/07/2019

Danışman Doç. Dr. Mehmet BOĞA

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Prof. Dr. Ufuk KOLAK
Üye Doç. Dr. Mehmet BOĞA
Üye Doç Dr. M. Hüseyin ALKAN

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../20.. tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

.../.../....

Evin AYGÜN TUNCAY

İmza



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda destek veren, tez çalışmam sırasında uygun ortam sağlayan ve yönlendiren, desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, danışman hocam Doç.Dr. Mehmet BOĞA'ya bana olan güveni ve desteği için teşekkür ederim.

Tezin her aşamasında ve özellikle yapı aydınlatma konusundatecrübesini ve bilgisini bizden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ufuk KOLAK'a teşekkür ederim. Yine yapı aydınlatma konusunda tecrübesini bizden esirgemeyen ve tezimin bir parçası olduğu 114Z801 nolu projenin Danışmanı olan Prof.Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarında bana yardımcı olan, yol gösteren ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr.Abdulselam ERTAŞ hocama teşekkür ederim.

Bitki materyallerini toplama ve teşhis konusunda destek veren Sayın Arş. Gör. Mehmet FIRAT'a teşekkür ederim.

Tezin Botanik kısmı için Dr.Öğr. Üyesi Serpil DEMİRCİ KAYIRAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince benden desteğini esirgemeyen aileme ve eşim Eyyüp TUNCAY'a, anlayışları için çocuklarım Eymen Renas, Ahmed Zana TUNCAY'a teşekkür ederim.

Çalışmalarında yardımcı olan arkadaşlarım Esra YARIŞ, Hilal SARUHAN FİDAN, İsmail YENER, Serap TEMEL, Mehmet Hayri ÖZÇELİK ve Aladdin KAYA'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, maddi desteğiyle projenin gerçekleştirilmesinde çok büyük katkısı olan TÜBİTAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma Tübitak tarafından desteklenmiştir. Proje No: 114Z801

İÇİNDEKİLER

ONAY.....	
Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
BEYAN.....iv	
TEŞEKKÜR.....v	
ii	
KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ.....xii	
ŞEKİL DİZİNİ.....xiv	
RESİM	
DİZİNİ..... Hata! Yer	
işareti tanımlanmamış.	
TABLO DİZİNİ.....xviii	
1.1. ÖZET.....1	
1.2. ABSTRACT.....3	
2.GİRİŞ VE AMAÇ.....5	
3. GENEL BİLGİLER.....7	
3.1 Botanik Bilgiler.....7	
3.1.1. Labiatae(Lamiaceae) familyası.....7	
3.1.2 <i>Salvia</i> L. cinsi.....7	
3.1.3. <i>Salvia pseudeuphratica</i> Rech. f.....8	
3.2. <i>Salvia</i> Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanım Alanları.....8	
3.3. <i>Salvia</i> Türleri ile İlgili Yapılan Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....10	
3.4.Sekonder Metabolitler.....35	
3.4.1.Terpenler.....37	
3.4.1.1.Monoterpenler.....38	
3.4.1.2.Seskiterpenler.....40	
3.4.1.3.Diterpenler.....40	

3.4.1.4.Triterpenler	44
3.4.2.Steroidler	45
3.4.3. Fenolik Bileşikler	46
3.4.4.Flavonoitler	46
3.4.5. Yağ asitleri	47
3.5.Antioksidanlar	48
3.5.1.Antioksidan aktivite tayin metodları.....	49
3.6.Alzheimer hastalığı	49
3.6.1.Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibitörleri ve etki mekanizmaları	50
3.7.LC-MS/MS	50
3.8.LC-MS/IT-TOF	50
3.9.GC/MS.....	51
4. GEREÇ VE YÖNTEM	52
4.1. Bitkisel Materyaller	52
4.2. Ekstrelerinin Hazırlanması.....	53
4.3. Toplam Fenolik ve Flavonoit Miktar Tayini.....	54
4.4.Antioksidan Tayin Yöntemleri.....	56
4.4.1. β -Karoten renk açılım yöntemi	56
4.4.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi	57
4.4.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi	57
4.4.4. CUPRAC yöntemi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi)	57
4.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi.....	58
4.5.1. Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE) Aktivite Testi.....	58
4.5.2. Butirilkolinesteraz enzimi (BChE) aktivite testi	58
4.6. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar	58
4.7. GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Çalışma Şartları	62
4.8. HPLC-IT-TOF-MS Çalışma Şartları.....	62
4.9. Kromatografik Yöntemler	63
4.9.1. Sütun Kromatografisi	63
4.9.2. İnce Tabaka Kromatografisi.....	63

4.9.3. Preperatif HPLC	64
4.10. Spektroskopik Yöntemler	64
4.10.1. Infra-Red Spektroskopisi (IR)	64
4.10.2. Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR)	64
4.10.3. Kütle spektroskopisi	64
5. BULGULAR	65
5.1. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları	65
5.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları	66
5.2.1. <i>Salvia pseudephatica</i> türünün petrol eteri, kloro form ve etanol ekstralarının antioksidan aktivite sonuçları	66
5.2.2. <i>Salvia pseudephatica</i> ekstresinin fraksiyonlandırılması ve bu fraksiyonların antioksidan aktivite sonuçları	67
5.2.3. İzole edilen saf maddelerin antioksidan aktivite sonuçları	73
5.3. Antikolinestrez Aktivite Sonuçları	74
5.3.1. <i>Salvia pseudephatica</i> ekstralarının antikolinestrez aktiviteleri	74
5.3.2. İzole edilen ve yapısı aydınlatılan bazı bileşkinlerin asetilkolinesteraz ve butirikolinesteraz enzim aktiviteleri	75
5.4. <i>Salvia pseudephatica</i> Türünün Çeşitli Ekstrelerinin ve Kısımlarının LC MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi	75
5.5. GC-MS ile Yağ Asidi Analiz Sonuçları	78
5.6. HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları	79
5.7. Saf Madde İzolasyonu ve Saf Maddelerin Yapı Tayini	83
5.7.1. Rozmarinik asit	84
5.7.2. Apigenin	90
5.7.3. Fumarik asit	96
5.7.4. Kafeik asit	99
5.7.5. 4-Hidroksi benzoik asit	104
5.7.6. 7-Asetil royleanon	109
5.7.7. β -Sitosterol	116
5.7.8. Ferruginol	125
5.7.9. Inuroyleanol	133

5.7.10. 6,7-Dehidroroyleanon.....	139
5.7.11. Ursolik asit.....	149
5.7.12. Oleanolik asit.....	155
5.7.13. Salvianolik asit A.....	162
5.7.14. Bis-(2-etil heksil benzen 1,2 dikarboksilat).....	168
5.7.15. Stigmasterol.....	174
5.7.16. Bis(2-etilhek zil) tereftalat.....	180
5.7.17. Pisiferal.....	187
5.7.18. Sugiol.....	194
5.7.19.12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen.....	201
5.7.20. 12-demetilmultikaulin.....	209
5.7.21. Salvipison.....	217
6.TARTIŞMA	225
7. SONUÇ	230
8. KAYNAKLAR.....	231
9. ÖZGEÇMİŞ	245
10. ORJİNALLİK RAPORU	247

KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
APT	: Attached proton test
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FCR	: Folin Ciocalteu fenol reaktifi
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
HMBC	: Heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	: Heteronuclear multiple quantum coherence
IR	: Infrared spektroskopisi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
O ₂ [•]	: Süperoksit radikali
OH [•]	: Hidroksil radikali
ORAC	: Oksijen radikalini absorplama kapasitesi
Q	: Kersetin
QEs	: Kersetine eşdeğer
RO [•]	: Alkoksi radikalleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
s	: Saat
TMS	: Tetrametilsilan

TOC	: α -Tokoferol
TOSC	: Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi
TRAP	: Toplam radikal tutma parametresi
Tween-40	: Polioksietilensorbitan monopalmitat
UV	: Ultraviyole spektroskopisi
SP-KE(Karışık)	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün çiçek, yaprak, dal ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi
SP-KK (Karışık)	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün çiçek, yaprak, dal ve kök kısımlarından hazırlanan kloroform ekstresi
SP-PE	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün çiçek, yaprak, dal ve kök kısımlarından hazırlanan petrol eteri ekstresi
SP-TÜE	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi
SP-KE	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün toprak altı (Kök) kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi
SPE-Ç	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün çiçek kısmından hazırlanan etanol ekstresi
SPE-Y	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün yaprak kısmından hazırlanan etanol ekstresi
SPE-D	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün dal kısmından hazırlanan etanol ekstresi
SPE-K	: <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün kök kısmından hazırlanan etanol ekstresi

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Sekonder metabolitlerin oluşumu	36
Şekil 2. Terpen bileşiklerinin oluşumu	37
Şekil 3. Asiklik monotерpenler	38
Şekil 4. Monosiklik monotерpenler	39
Şekil 5. Bisiklik monotерpen örnekleri	39
Şekil 6. Seskiterpen örnekleri	40
Şekil 7. Monosiklik diterpen A Vitamini	41
Şekil 8. Bisiklik Diterpen Forskolin	41
Şekil 9. Trisiklik diterpenler Örnekleri	42
Şekil 10. Tetrasiklik Diterpen Bulyanin	43
Şekil 11. Triterpen Örnekleri	44
Şekil 12. <i>Salvia</i> Türlerinden Elde Edilen Bazı Triterpenlerin Yapısı	44
Şekil 13. Steroitlerin iskelet yapısı	45
Şekil 14. Kolesterol	45
Şekil 15. Flavonoit iskeletleri	47
Şekil 16. Toplam fenolik ölçü eğrisi	55
Şekil 17. Toplam flavonoit ölçüm eğrisi	56
Şekil 18. <i>S. pseudeuphratica</i> Türünün Toprak Üstü Kısımlarının Fraksiyonlandırılması	69
Şekil 19. <i>S. pseudeuphratica</i> Türünün Kök Kısımlarının Fraksiyonlandırılması	70
Şekil 20. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün çeşitli ekstrelerinin ve kısımlarının LC-MS/MS analiz kromatogramı	77
Şekil 21. <i>Salvia pseudeuphratica</i> ekstrelerinin sırasıyla total, pozitif ve negatif HLC-IT-TOF-MS kromatogramları	79
Şekil 22. Rozmarinik Asit	84
Şekil 23. Rozmarinik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	86
Şekil 24. Rozmarinik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	87
Şekil 25. Rozmarinik asit LC-MS-IT-TOF kromatogramı	88
Şekil 26. Rozmarinik asit bileşiğinin IR spektrumu	89
Şekil 27. Apigenin	90
Şekil 28. Apigenin bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	92
Şekil 29. Apigenin bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	93
Şekil 30. Apigenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	94
Şekil 31. Apigenin bileşiğinin IR spektrumu	95
Şekil 32. Fumarik Asit	96
Şekil 33. Fumarik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	97
Şekil 34. Fumarik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	98
Şekil 35. Kafeik asit	99
Şekil 36. Kafeik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	100
Şekil 37. Kafeik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	101
Şekil 38. Kafeik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	102

Şekil 39. Kafeik asit bileşiminin IR spektrumu	103
Şekil 40. 4-Hidroksi benzoik asit	104
Şekil 41. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiminin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	105
Şekil 42. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiminin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	106
Şekil 43. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	107
Şekil 44. 4-Hidroksibenzoik asit bileşiminin IR spektrumu	108
Şekil 45. 7-Asetil royleanon	110
Şekil 46. 7-Asetil royleanon bileşiminin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz) ..	111
Şekil 47. 7-Asetil royleanon bileşiminin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	112
Şekil 48. 7-Asetil royleanon bileşiminin GC-MS kromatogramı	113
Şekil 49. 7-Asetil royleanon bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	114
Şekil 50. 7-Asetil royleanon bileşiminin IR spektrumu	115
Şekil 51. β-sitosterol	116
Şekil 52. β-Sitosterol bileşiminin ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	118
Şekil 53. β-Sitosterol bileşiminin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	119
Şekil 54. β-Sitosterol bileşiminin HMBC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	120
Şekil 55. β-Sitosterol bileşiminin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	121
Şekil 56. β-Sitosterol bileşiminin APT spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	122
Şekil 57. β-Sitosterol bileşiminin GC-MS kromatogramı	123
Şekil 58. β-Sitosterol bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	124
Şekil 59. Ferruginol	125
Şekil 60. Ferruginol bileşiminin ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	127
Şekil 61. Ferruginol bileşiminin ¹³ C-NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz) ...	128
Şekil 62. Ferruginol bileşiminin HMBC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	129
Şekil 63. Ferruginol bileşiminin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	130
Şekil 64. Ferruginol bileşiminin GC-MS kromatogramı	131
Şekil 65. Ferruginol bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	132
Şekil 66. Inuroyleanol	133
Şekil 67. Inuroyleanol bileşiminin ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	135
Şekil 68. Inuroyleanol bileşiminin ¹³ C-NMR (APT) Spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	136
Şekil 69. Inuroyleanol bileşiminin GC-MS spektrumu	137
Şekil 70. Inuroyleanol bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	138
Şekil 71. 6,7-Dehidroroyleanon	139
Şekil 72. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiminin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	141
Şekil 73. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiminin ¹³ C NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	142
Şekil 74. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiminin APT spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz) ...	143
Şekil 75. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiminin HMBC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz) 144	

Şekil 76. 6,7-Dehidroroyleanon Bileşiğinin HQBC Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	145
Şekil 77. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiğinin GC-MS spektrumu.....	146
Şekil 78. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	147
Şekil 79. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiğinin IR spektrumu	148
Şekil 80. Ursolik Asit.....	150
Şekil 81. Ursolik asit bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	152
Şekil 82. Ursolik asit bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz).....	153
Şekil 83. Ursolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	154
Şekil 84. Oleanolik asit	156
Şekil 85. Oleanolik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	158
Şekil 86. Oleanolik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	159
Şekil 87. Oleanolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı.....	160
Şekil 88. Oleanolik asit bileşiğinin IR spektrumu.....	161
Şekil 89. Salvianolik asit A.....	163
Şekil 90. Salvianolik Asit A bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz) ..	165
Şekil 91. Salvianolik Asit A bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	166
Şekil 92. Salvianolik Asit A bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	167
Şekil 93. Bis-(2-etil hekzil)benzen-1,2 dikarboksilat.....	168
Şekil 94. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	170
Şekil 95. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	171
Şekil 96. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	172
Şekil 97. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin IR spektrumu.....	173
Şekil 98. Stigmasterol	175
Şekil 99. Stigmasterol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	177
Şekil 100. Stigmasterol bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	178
Şekil 101. Stigmasterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı.....	179
Şekil 102. Bis(2-etilhekzil) tereftalat	180
Şekil 103. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	182
Şekil 104. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin APT spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	183
Şekil 105. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin GC-MS spektrumu	184
Şekil 106. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı... ..	185
Şekil 107. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin IR spektrumu.....	186
Şekil 108. Pisiferal	187
Şekil 109. Pisiferal Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	189
Şekil 110. Pisiferal Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	190
Şekil 111. Pisiferal Bileşiğinin GC-MS Spektrumu.....	191

Şekil 112. Pisiferal Bileşiğinin LC-MS-IT-TOF Kromatogramı	192
Şekil 113. Pisiferal Bileşiğinin IR Spektrumu (Etanol)	193
Şekil 114. Sugiol	194
Şekil 115. Sugiol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	196
Şekil 116. Sugiol bileşiğinin APT spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	197
Şekil 117. Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-1	198
Şekil 118. Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-2	199
Şekil 119. Sugiol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	200
Şekil 120. 12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen	201
Şekil 121. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	203
Şekil 122. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	204
Şekil 123. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin HMQC Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	205
Şekil 124. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin GC-MS Spektrumu	206
Şekil 125. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin LC-APCI-MS Spektrumu (Pozitif mod)	207
Şekil 126. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı.....	208
Şekil 127. 12-demetilmultikaulin	209
Şekil 128. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	211
Şekil 129. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	212
Şekil 130.12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin HMQC Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	213
Şekil 131. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin GC-MS Spektrumu	214
Şekil 132. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin LC-APCI-MS Spektrumu (Negatif mod)	215
Şekil 133. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin LC-MS-IT-TOF Kromatogram.....	216
Şekil 134. Salvipison.....	217
Şekil 135. Salvipison Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz).....	219
Şekil 136. Salvipison Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	220
Şekil 137. Salvipison Bileşiğinin HMQC Spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	221
Şekil 138. Salvipison Bileşiğinin GC-MS Spektrumu	222
Şekil 139. Salvipison Bileşiğinin LC-MS-IT-TOF Kromatogramı	223

RESİM DİZİNİ

Resim 1. Toplanan <i>Salvia pseudeuphratica</i> 'nın fotoğrafları	53
Resim 2. <i>Salvia pseudeuphratica</i> bitkisinin toprak üstü ve altı ekstrelerinin kolonu	68



TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Antioksidanların sınıflandırılması	48
Tablo 2. <i>Salvia pseudeuphratica</i> Bitkisinin Toplanma Yerleri Ve Herbaryum Numaraları.....	52
Tablo 3.Ön Biyolojik Aktivite Deneşlerinde, LC-MS/MS ile Fenolik Madde Analizi İçin, İzolasyon Çalışmaları İçin, Yağ asidi analizi için Kullanılacak <i>Salviapseudeuphratica</i> 'dan Hazırlanan Ekstrelerin Verimleri	54
Tablo 4.LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler	60
Tablo 5.LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (Devam).....	61
Tablo 6.Çalışılan <i>Salvia pseudeuphratica</i> Türlerinin Çeşitli Kısımlarının Farklı Ekstrelerinin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları ^a	65
Tablo 7. <i>Salvia pseudeuphratica</i> ekstrelerinin β -Karoten-Linoleik asit, DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal aktivite sonuçları ^a	66
Tablo 8. <i>Salvia pseudeuphratica</i> ekstrelerinin CUPRAC aktivite sonuçları ^{a,b}	67
Tablo 9. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün toprak üstü ve kök etanol ekstrelerinin fraksiyonları, elde edildikleri çözücü sistemleri, miktarları ve antioksidan aktiviteleri (IC ₅₀) ^a	71
Tablo 10. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün toprak üstü ve kök etanol ekstresinin fraksiyonlarının CUPRAC aktiviteleri ^a	72
Tablo 11. Elde Edilen ve Yapısı Aydınlatılan Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteleri ^a	73
Tablo 12. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları ^a	74
Tablo 13.Elde edilen ve yapısı aydınlatılan bazı bileşiklerin asetil- ve butirilkolinesteraz enzim aktiviteleri ^a	75
Tablo 14. <i>S. pseudeuphratica</i> 'nın Çeşitli Ekstrelerinin ve Kısımlarının LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi.....	76
Tablo 15. 2015-2016-2017 yıllarında toplanan <i>Salvia pseudeuphratica</i> örneklerinin yağ asidi bileşimi.....	78
Tablo 16. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları	80
Tablo 17. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları (Devam) .	81
Tablo 18. <i>Salvia pseudeuphratica</i> türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları (Devam) .	82
Tablo 19. Yapısı Aydınlatılan Bileşikler.....	83
Tablo 20. Rozmarinik asit bileşiminin NMR değerleri.....	85
Tablo 21. Apigenin Bileşiminin NMR Değerleri.....	91
Tablo 22.Fumarik asit bileşiminin NMR değerleri	96
Tablo 23. Kafeik asit bileşiminin NMR değerleri.....	99
Tablo 24. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiminin NMR değerleri.....	104
Tablo 25. 7-Asetil royleanon Bileşiminin NMR Değerleri.....	110
Tablo 26. β -sitosterol bileşiminin NMR değerleri	117
Tablo 27. Ferruginol bileşiminin NMR değerleri	126
Tablo 28. Inuroyleanol bileşiminin NMR değerleri.....	134
Tablo 29. 6,7-dehidroroyleanon Bileşiminin NMR Değerleri	140
Tablo 30. Ursolik asit bileşiminin NMR değerleri.....	151

Tablo 31. Oleanolik asit bileşiminin NMR değerleri	157
Tablo 32. Salvianolik asit A bileşiminin NMR değerleri.....	164
Tablo 33. Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin NMR değerleri .	169
Tablo 34. Stigmasterol bileşiminin NMR değerleri	176
Tablo 35. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiminin NMR değerleri.....	181
Tablo 36. Pisiferal Bileşiminin NMR Değerleri	188
Tablo 37. Sugiol bileşiminin NMR değerleri.....	195
Tablo 38. 12-hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen Bileşiminin NMR Değerleri	202
Tablo 39. 12-demetilmultikaulin Bileşiminin NMR Değerleri	210
Tablo 40. Salvipison Bileşiminin NMR Değerleri.....	218



***Salvia pseudeuphratica* Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin Safılaştırılması, Antioksidan ve Antialzheimer Aktivitelerinin Belirlenmesi ve LC-MS/MS ve GC-MS ile Kimyasal İçeriklerinin İncelenmesi**

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Evin AYGÜN TUNCAY

Danışmanı: Doç.Dr. Mehmet BOĞA

Anabilim Dalı: Analitik Kimya

1.ÖZET

Amaç: Ülkemiz birçok iklim koşullarını barındırması nedeniyle bitkilerin çeşitliği açısından zengindir. Dünya genelinde çay olarak tüketilen bitkiler ve baharat ticaretinde söz sahibi ülkelerden biri olmasının yanısıra satışı yapılan bitkiler çeşitleri içerisinde en üst sırada Lamiaceae (Labiatae) familyasının yer alması dikkat çekmektedir. Aynı zamanda tıbbi etkileri açısından önemli bir yeri olan Lamiaceae bitkileri ülkemiz için önemlidir. Bu bitkilerin içerdikleri aktif maddelerin farmakolojik etkileri nedeniyle halk arasında senelerdir kullanılmıştır ve bugüne kadar gelmiştir. Bu sebeple ilk kez incelenecek olan *Salvia pseudeuphratica* türünün kimyasal içeriklerinin ve etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada *S. pseudeuphratica*'nın kloroform ve etanol ekstraktları hazırlandı, antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktiviteleri araştırıldı. Ekstrelerin kimyasal profili ışığında preparatif HPLC ve diğer klasik kromatografik yöntemlerin kullanılması ile sekonder metabolitler saflaştırılarak yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı. İzole edilen bileşiklerin antioksidan aktivitesi belirlenmesi sonrasında antikolinesteraz enzim aktivitesi de belirlenmiştir. Ayrıca bitkinin yaprak, dal, çiçek, kök ve bunların karışımından hazırlanan etanol ekstraktları LC-MS/MS ile bazı bileşiklerin miktar tayini yapılmıştır ve bu türün tüm kısımlarının petrol eteri ekstresi hazırlanarak GC-MS/MS ile yağ asidi profili belirlenmiştir.

Bulgular: Sonuç olarak *S. pseudeuphratica* bitkisinin toprak altı ve üstü kısımlarından hazırlanan aktif etanol ekstraktlarından 21 farklı bileşik elde edilmiştir.

Sonuç: Böylece kimyasal içerikleri ve yukarıda belirtilen aktiviteleri ilk kez incelenen *S. pseudeuphratica* türünden elde edilen sonuçlar bilim dünyasına kazandırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *S. pseudeuphratica*, izolasyon, antioksidan, enzim aktivitesi, LC-MS/MS, GC-MS/MS.

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 114Z801)



Isolation of Secondary Metabolites from *Salvia pseudeuphratica*, Determination of Antioxidant and Antialzheimer Activities and Investigation of Chemical Contents by LC-MS / MS and GC-MS

Student's Surname and Name: AYGÜN TUNCAY Evin

Adviser of Thesis: Assoc. Prof. Dr. Mehmet BOĞA

Department: Analytical Chemistry

1. ABSTRACT

Aim: Turkey due to take place in the middle of different climates, and is rich in plant species and variety diversity. It is one of the leading countries in the exportation of tea plants and spices worldwide and it is interesting to note that Lamiaceae (Labiatae) family is the first place among the traded species. In addition, Lamiaceae plants, which have an important place in alternative medicine, are an important family for our country. High biological and pharmacological activities of species belonging to this family have been known for years. Therefore, it is aimed to determine the chemical contents and activities of *Salvia pseudeuphratica* species which will be examined for the first time.

Material and Method: In this study, chloroform and ethanol extracts of *S. pseudeuphratica* were prepared and the antioxidant, anticholinesterase, antityrosinase and antiurease enzyme activities were investigated in the light of the chemical profile of the extracts, the secondary metabolites were purified by the use of preparative HPLC and other classical chromatographic methods and the structures were analyzed by spectroscopic methods. After determining the antioxidant activity of the isolated compounds and anticholinesterase enzyme activities were also determined. In addition, prepared ethanol extracts of leaves, branches, flowers, roots and whole parts of the plant were analysed for quantifying some compounds by LC-MS/MS and petroleum ether extract of the plant were prepared and fatty acid profile of the plant was determined by using GC-MS/MS.

Results: As a result, 21 different compounds were obtained from active ethanol extracts prepared from root and aerial parts of *S. pseudeuphratica*.

Conclusion: Thus, the chemical contents and the above-mentioned activities of the *S. pseudeuphratica* species examined for the first time the results are brought to the scientific world.

Key words: *Salvia pseudeuphratica*, isolation, antioxidant, enzyme activity, LC-MS / MS, GC-MS / MS.

This study was supported by TUBITAK (Project No: 114Z801).



2.GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkiler geçmişten günümüze insanoğlunun birçok ihtiyacını karşılamak için kullanılmıştır. Hastalıkların tedavisinde de etkin bir şekilde kullanılmıştır. Bu amaçla yapılan ilaçlar gelişmiş ülkelerde yaşayan kırsal toplumların kültür ve geleneklerinde önemli bir yere sahiptir. Modern tıbbın günümüzdeki kadar gelişmediği zamanlarda, insanlar tabiatta doğal olarak yetişen bitkileri kullanmışlardır (1).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yaptığı araştırmalara göre dünya üzerindeki birçok insanın sağlık ile ilgili sıkıntılarını ilk etapta bitkisel kaynaklı ilaçlarla geçirmeye çalıştıkları belirlenmiştir. Aynı zamanda, gelişmiş ülkelere bakıldığında reçeteye satılan ilaçların yaklaşık % 25'ini bitki içerikli etken maddeler oluşturmaktadır (2).

Yaklaşık 30 yıl öncesinden başlayan tıbbi değeri olan bitkilerin kullanım alanlarına yenilerin eklenmesi ile bunların değer kazanması, bitkilerin kullanım talebinin artmasına neden olmuştur. Bu artışın günümüzde yıllık 60 milyar dolarlık bir bütçeyi bulduğu düşünülmektedir (3).

Tedavi maksatlı kullanılan birçok bitki içinde en sık kullanılanlardan biri *Salvia* türleridir. İçlerinde bulunan etkin maddelerden dolayı farklı biyolojik etkilere sahiptir. *Salvia*' lar farklı etkinlik gösteren birçok madde barındırmaktadırlar. Bu nedenle *Salvia* türleri dünden bugüne halk arasında antialzheimer, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antikanser özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, *Salvia pseudeuphratica*'nın, kloroform ve etanol ekstraktları hazırlanarak antioksidan, antikolinesteraz enzim aktivitelerinin araştırılması ve yine ekstraktların kimyasal profili ışığında preparatif HPLC ve diğer klasik kromatografik yöntemlerin kullanılması ile sekonder metabolitler saflaştırılarak, izole edilen bileşiklerle organik kimyaya yeni ürünler kazandırılmasını mümkün hale getirmek, saflaştırılmış olan bu sekonder metabolitlerin antioksidan aktivitesi belirlenmesi sonrasında antikolinesteraz enzim aktivitelerini belirlemek, ayrıca LC-MS/MS ile bazı flavonoid ve fenolik bileşiklerin miktarsal hesaplamalarının yapılması amacıyla bu türün dal, yaprak, çiçek, kök ve bunların karışımından etanol ekstraktları

hazırlanmıştır ve de bunlara ek olarak GC-MS/MS ile yağ asidi profilinin belirlenmesi amacıyla bu türün tüm kısımlarının petrol eteri ekstresi hazırlanmıştır.



3. GENEL BİLGİLER

3.1 Botanik Bilgiler

3.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası

Dünyada Lamiaceae familyası yaklaşık olarak 220 cins ve 4000 civarında türe sahip olmasına ilaveten kekik, nane gibi birçok faydalı bitkiyi içeren bir familyadır(4,5).

Otsu veya çalimsı, çoğunlukla salgılı ve aromatik bitkilerdir. Gövde dört köşeli veya yuvarlaktır. Yapraklar kulakçık taşımaz, tam bazen parçalı, daima karşılıklı dizilişlidir. Çiçek durumu uç kısımda veya yaprakların koltuğunda kümeler halinde (verticillatrumlar) yer alır. Çiçek durumu başak, salkım, başçık veya küme şeklindedir. Çiçekler iki eşeyli, veya verimsiz erkek (verimli dişi) şeklindedir. Brakteler yapraklardan belirgin olarak farklı, veya yaprağa benzer; brakteol eksik veya mevcuttur. Kaliks 5 loblu, alt kısım 1,2, 3 dişli, veya kaliks aktinomorf; damarlar 5-20 adettir. Korolla birleşik, zigomorf ve iki dudaklı, genellikle belirgin iki dudaklı, üst dudak oraksı, düz veya eğri, 3 loblu alt dudak (labellum); nadiren alt dudak indirgenmiş veya 5 loblu, ya da 1 üst ve 4 alt loblu, ya da korolla aktinomorftur. Stamenler korollaya yapışık, 4 adet ve didinam, veya 2 adet (staminodlar mevcut); üstteki çift alttakilerden daha kısa; anterler 1 veya 2 tekali, paralel veya farklı, nadiren (*Salvia* cinsi) uzatılmış bağlarla ayrılmıştır. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, ve 4 ovüllü, 4 lobludur. Sıtülüs ginobazik, nadiren değil, üst kısımda kısa iki parçalıdır. Meyve 4 kuru nutlet, musilajlı veya değildir.

3.1.2. *Salvia* L. Cinsi

Ülkemiz *Salvia* türleri bakımından oldukça zengin bir floraya sahiptir. Yaklaşık 89 tür ve 94 takson Türkiye florasında kayıtlıdır. Ülkemizdeki endemizm oranı %50 civarındadır.

Bitki kimyası çalışmalarında *Salvia* türlerinde flavonoitler ve fenolik bileşiklerin dışında diterpenler ve triterpenleride bolca barındırdığı tespit edilmiştir (6-8). *Salvia* türleri geçmişten bugüne tüberküloz, bronşit, soğuk algınlığı, menstüral

bozukluklar ve sindirim bozuklukları gibi birçok hastalıktan korunmak ve aynı zamanda tedavi olmak amacıyla kullanılmıştır (9).

3.1.3. *Salvia pseudeuphratica* Rech. f.

Aromatik çok yıllık odunsu bitkilerdir. Gövde yükselici, dik, glandsız yünümsü tüylü, 20-30 (-35) cm, tabanda dallanmış, verimsiz sürgünlüdür. Yapraklar tam, oval-dirtgönesi, 1.5-4 x (0.8-)1-3.5 c boyutlarında, tabadan küçük yan loblar eksik, beyaz yünsü sapsız salgı tüylü, yaprak kenarları testere şeklinde dişli, saplar (7-)10-20 cmm uzunluktadır. Çiçek durumu dallanmamış, nadiren dallanmış, salgısız yünsü tüylerle kaplıdır; Çiçek kümeleri (vertisillastrum) 4-16 çiçeklidir. Brakteler üst çiçek kümelerinde geniş oval, kaliksten kısa, 5-15 (-25) x 4-10 (-16) mm, yünsü tüylü, grimsi, alt kısımdakiler yaprağa benzer, brakteol taşımaz. Pediseller 2-4(-5) mm, salgısız yünsü tüylüdür. Kaliks koyu morumsu renkli, salgısız yıldızsı kılsı tüylü, geniş çan şeklinde, meyvede kaliks zarımsı, çiçekte 10-15 x 10-16 mm, meyvede (12-)15-20 x (12-)15-25 mm, genişlemiş ve uzamış haldedir. Korolla morumsu-mavi renkli, 15-20 mm, alt dudağın dış kısmı tüylü; tüpler 10-15 mm, boğaz kısmında hafif geriye kıvrık ve genişlemiş, halkalı, üst dudak düzgündür. Stamenler 2 adet, filamentler 2.8-4.7 (-5.2) mm, verimli anterler çıplak, 1.8-2.9 mm, verimsiz anterler 0.9-1.3 mm; üst tekalar 1.6-3 mm, alt tekalaer (0.8-)1-2(-2.3) mm, Sitalus (15-)17-23 mm'dir. Yetilme ortamı: Kalkerli kayalıklar, taşlı yamaçlar, kuru alanlar, yol kenarları, 70- 900 metre arası yükseltilerde. Çiçeklenme ayı mayıs ayı, meyve verme ayı ise hazirandır.

3.2. *Salvia* Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasındaki Kullanım Alanları

Salvia türlerinde bulunan sekonder metabolitler sayesinde bu türlerin birbirinden farklı birçok biyolojik aktivite gösterdikleri görülmüştür. Örneğin antioksidan, antibakteriyal, antinörodejeneratif, antiinflamatuvar, immünomodifikasyon, kalp koruyucu gibi etkileri sayesinde ilaç, kozmetik veya gıda sanayiinde potansiyel doğal bir kaynaktır (10).

Halk arasında kullanımı da çeşitlilik göstermektedir. Gaz sancılarının giderilmesi, cilt problemlerinin tedavi edilmesi, cinsel güçsüzlüğün giderilmesi, romatizmal hastalıkların tedavisi gibi farklı kullanım alanları mevcuttur.

Ülkemizde kullanılan bazı türlerin halk arasında kullanımları;

S. aethiopsis L. (Yünlü adaçayı): Türkiye’de yaygın bir tür olarak bulunmaktadır. Bu bitkinin yaprak ve çiçek durumları ise uyarıcı ve midevi olarak antik çağlardan bu yana bilinmektedir (11). Bolu: Yukarısayık, Dörtdivan yöresinde Kızıllı kadı ile bilinmekte ve merhem olarak yaraları iyileştirici olarak kullanılmaktadır (12-14).

S. aramiensis Rech fil.: (Dağçayı): Çay halinde Hatay yöresinde midevi amaçlı kullanılmaktadır (15).

S. cryptantha Montbert et Aucher ex Bentham (Van’da karaot, diğer isimleri kara şalba, kara şapla, kara şalva): Yurdumuzun doğusunda bitkinin yaprakları tekstilde boyamaamacıyla kullanılmaktadır (16). Afyonkarahisar, Şuhut, Karacaören yöresinde yakışalbası adıyla bilinmekte olup infüzyon halinde mide rahatsızlıklarında ve dekoksasyon halinde yara antiseptiği olarak kullanılmaktadır(17). Yaprakları ve çiçekli dalları Orta Anadolu bölgesinde çay olarak kullanılmaktadır (15,18).

S. dichroantha Stapf: Kayseri, Develi, Büyükkünye yöresinde yağlıkara ve kutnu adlarıyla bilinmekte olup karın ve mide ağrılarına karşı çay şeklinde kullanılır (19, 20). Niğde bölgesinde yaprak kısmı çıbanların ve haricen yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (12, 14).

S. fruticosa Miller (Syn. *S. triloba*): Elma çalbası, adaçayı, Anadolu adaçayı, boz şalba, boz şapla adlarıyla bilinir. Anadolu’nun güneybatısında doğal bir şekilde yetişmektedir. Yapraklarının çayı hazırlanarak tüketilmektedir. Yapraklarından elde edilen uçucu yağına “elmayağı” denmekte olup ve ihraç edilmektedir (19).Gargara ve çay olarak solunum yolları için antiseptik özelliği bulunmasından dolayı kullanılır ve yaralara iyi gelmektedir (18). Bebeklerde kabızlık problemine karşı emzirilmeden önce meme ucuna sürülerek kullanılabilir. Muğla yöresinde adı ‘Almiya Çalbası’dır (11, 21).

S. multicaulis Vahl (Kürt reyhanı): Yurdumuzun doğusunda yaralar için kullanılır (11), koku verdiği için de tütüne konulur (14,19).

3.3.Salvia Türleri ile İlgili Yapılan Kimyasal ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Zengin ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada üç *Salvia* türünün (*S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var. *leiocalycina* ve *S. verticillata* subsp. *amasiaca*) diklorometan, metanol ve su ekstralarının kimyasal karakterizasyonu ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Kimyasal karakterizasyon için HPLC-UV-ESI-MS cihazı ile metanol ekstralarının fenolik bileşenleri kalitatif ve kantitatif analizi yapılmıştır. Analizi yapılan ekstralarda özellikle *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisinde rozmarinik asit miktarı oldukça yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. ABTS katyon radikali giderim, ferrik (FRAP), kuprik (CUPRAC) indirgeme gücü, DPPH serbest radikal giderim, fosfomolibden ve metal kelat antioksidan yöntemleri, kolinesteraz, tirozinaz, amilaz, glukozidaz, lipaz ve elastaz enzim inhibisyon yöntemleri, A-549 ve MCF-7 hücre hatlarında sitotoksik aktivite gibi biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisinin su ekstresi güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Enzim inhibisyon yönteminde ise çalışılan bitkilerin diklorometan ekstraları metanol ve su ekstralarından daha yüksek etki gösterdikleri belirlenmiştir. *S. euphratica* var. *leiocalycina* diklorometan ekstresi sitotoksik etkiye gösterdiği tespit edilmiştir (22).

Pereira ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Salvia greggii* A. Gray, *Salvia elegans* Vahl. ve *Salvia officinalis* L. bitkilerinin dekoksasyonları antioksidan özellikleri ve diyabet ve obezite ile ilgili olan, α -amilaz ve pankreatik lipaz enzim inhibisyonları incelenmiştir. Ayrıca, çalışılan üç bitkinin dekoksasyonlarının fenolik profillerinin belirlenerek antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ile ilişkilendirilmiştir. *Salvia elegans* bitkisinin dekoksasyonu DPPH serbest radikali, NO radikali, O_2^- radikali süpürücü ve Fe^{3+} indirgeme etkisi açısından en aktif antioksidan özellik göstermesinin yanısıra çalışılan bitkiler arasında α -glukozidaz enzimine karşı en etkili inhibitör özellik göstermiştir. *S.elegans*'ın *S. greggii* ve *S.officinalis* bitkilerinden daha yüksek aktivitesinin olması yüksek oranda içerdiği kafeik asit ve türevleriyle ilgili olduğu belirtilmiştir. Buna karşılık *S. officinalis* dekoksasyonunun ksantin oksidaz enzimini iyi inhibe edici özelliğinin içerdiği apigenin, scutellarein ve luteolin bileşiklerinin glikosidik formlarından kaynaklandığı belirlenmiştir (23).

Fırında kurutma, dondurarak kurutma ve gölgede kurutma metodları kullanılarak kurutma metodlarının *Salvia absconditiflora* bitkisinin fenolik profili ve biyolojik aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Antioksidan aktiviteler fosfomolibden, DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC ve metal şelatlama aktivitesi yöntemleri ile taranmıştır. Enzim inhibisyon etkileri, kolinesterazlar (BChE, AChE), tirozinaz, α -amilaz ve α -glukosidaza enzimlerine karşı değerlendirilmiştir. Kurutma yöntemlerinin kimyasal bileşeni ve biyolojik özellikleri etkilediği bulunmuştur. En yüksek toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içerik sırasıyla gallik aside eşdeğer olarak 99.33 mg/g ekstre ve rutine eşdeğer olarak 46.88 mg/g ekstre değerleriyle gölgede kurutma metodunda bulunmuştur. HPLC cihazı ile yapılan fenolik bileşik miktar tayininde ana fenolik bileşiğin rozmarinik asit olduğu ve gölgede kurutmada en yüksek miktarda olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek oranda toplam biyoaktif bileşikler içeren ve en güçlü antioksidan özellikleri gösteren ekstre, gölgede kurutma metoduyla elde edilen ekstrede olduğu belirlenmiştir (24).

Salvia aegyptiaca'nın toplama bölgelerine bağlı olarak polifenolik içerik ve antioksidan kapasitelerdeki değişiklikler incelenmiştir. Enfida ve Chott Meriem'den toplanan *Salvia aegyptiaca*'da Folin-Ciocalteu prosedürüne göre toplam polifenolik içerikleri sırasıyla, gallik aside eşdeğer olarak 79.67 ve 77.91 mg/g kuru bitki bulunmuştur. HPLC cihazı ile yapılan fenolik bileşik analizi sonuçlarına göre metil karnosat (416.29–4052.24 μ g/g kuru bitki), rozmarinik asit (562.46-1172.24 μ g/g kuru bitki) ve apigenin-7-glukozit (512.96–774.02 μ g/g kuru bitki) bileşikler *S.aegyptiaca* bitkisinin ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir. Chott Meriem bölgesinden toplanan *S. aegyptiaca*'nın metanol ekstresi DPPH (IC₅₀: 29.62 μ g/mL), ABTS 22198.48 μ M troloksa eşdeğer/mg ekstre) ve FRAP (155.34 mM Fe (II)/mg ekstre) gibi antioksidan aktivite yöntemlerinde en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir (25).

Salvia cassia Samuelss ex. Rech. Fil bitkisinin ham etanol ekstresinin ve ayrıca ham etanol ekstresinden elde edilen diklorometan ve su ekstresinin antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca toplam fenolik ve flavonoid içerikleride incelenmiştir. Lipid peroksidasyon inhibisyonu, metal bağlama kapasitesi ve toplam flavonoid içerik yöntemlerinde diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite

gösteren diklorometan ekstresinin içerik analizi yapılmıştır. GC-MS analizi sonucuna göre toplam 30 uzun zincirli hidrokarbon bileşikleri belirlenmiştir. (26).

S. cassia Sam. ex Rech.f. bitkisinin toprak üstü kısımlarının petrol eteri, kloroform, etanol, infuzyon ve dekoksasyonunun antibakteriyal, antimikobakteriyal ve antifungal aktiviteleri ile toprak üstü kısmının uçucu yağ içerikleri ve aktif örneklerin kimyasal bileşenleri belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, metisillin dirençli *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyal etkileri belirlenmiştir. Beş farklı *Mycobacterium tuberculosis* bakterilerine karşı antimikobakteriyal aktiviteleri belirlenmiş ve iki farklı dermatofit olan *Trichophyton mentagrophytes* var. *erina* ve *Microsporum gypseum* ve *Candida parapsilosis*, *C. albicans* ve *C. Krusei* türlerine karşı antifungal aktiviteleri belirlenmiştir. Uçucu yağ içeriği GC-FID ve GC-MS analizleri ile yapılmıştır. Uçucu yağ *B. Subtilis*' e karşı 0.3µL/mL değerinde çok iyi, *S. aureus*, metisillin dirençli *S. aureus* ve *E. Faecalis* bakterilerine karşı 0.6 µL/mL değerinde iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bütün ekstreler 50-400 µg/mL minimum inhibisyon konsantrasyonlarında antimikobakteriyal ve antifungal aktivite göstermiştir. Uçucu yağ ekstresi bütün mikobakteri türlerine, dermatofitlere ve *Candida* türlerine karşı 0.1-6.25 µL/mL minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri ile en aktif ekstrelerdir. Uçucu yağın bu oldukça iyi aktivitesi içeriğindeki yüksek oranda bulunan karyofiller oksitten (22.3%) kaynaklandığı belirtilmiştir (27).

Salvia ballotiflora bitkisinin toprak üstü kısımlarından 11 diterpen izole edilmiştir. Bunlardan 4 icetexane ve bir abietan diterpen ilk defa bulunmuştur. Yapıları ¹H- and ¹³C-NMR spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir. İzole edilen diterpenlerin çoğu sulforhodamine B yöntemi kullanılarak altı farklı kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif, farelerde TPA ile indüklenmiş kulak ödemi testi ile antiinflammatuar ve DPPH indirgeme yöntemine göre radikal süpürücü etkileri incelenmiştir. İnsan glioblastoma hücresine ve insan akciğer kanserine karşı sırasıyla IC₅₀(µM)= 0.08±0.003 ve 0.05±0.003 değerlerini gösteren pozitif kontrol olan adriamisin standardı ile karşılaştırıldığında elde edilen diterpenlerden a nastomosine ve 7α-acetoxy-6,7-dihydroicetexone bileşiklerinin antiproliferatif etkileri insan glioblastomahücresine karşı sırasıyla IC₅₀(µM)=0.27±0.08 ve 1.40±0.03, insan

akciğer kanserine karşı IC50 (μM) = $0.0.46\pm 0.05$ ve 0.82 ± 0.06 olarak belirlenmiştir. 7 α -asetoksi-6,7-dihidroicetexon ve konasiton bileşikleri uyarılmış kulak ödeminde sırasıyla 37.4 ± 2.8 ve $25.4 \pm 3.0\%$ ($1.0 \mu\text{mol/kulakta}$) değerleriyle önemli ölçüde azalma görülmüştür. 6,7,11,14-tetrahidro-7-okso-icetexon bileşiğinin antioksidan analiz yöntemi sonucunda tek aktif diterpenoit olduğu belirlenmiştir (28).

Trikloroasetik asit (TCA) ile indüklenmiş karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı *Salvia miltiorrhiza*'nın koruyucu rolü araştırılmıştır. Yirmi sekiz yetişkin Wister albino erkek sıçanı 4 eşit gruba ayrılmıştır. 1.grup kontrol görevi görürken, 2. grup kg başına 200 mg SM ekstresi ile, 3.grup günlük sonda yoluyla kg başına 50 mg TCA ile, 4.grup kg başına 200 mg SM ekstresi ve günlük kg başına 50 mg TCA ile iki ay boyunca beslenmiştir. TCA uygulanan hayvanlar arasında normal kontrol grubuna kıyasla karaciğer fonksiyonu, böbrek fonksiyonu ve MDA (malondialdehit) düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. SM'nin günlük oral uygulaması, TCA ile tedavi edilen hayvanlar arasında gözlenen çoğu biyokimyasal değişikliği normalleştirmiştir. Histopatolojik olarak, TCA uygulanan grubun karaciğerinde ve böbreklerinde daha fazla miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu, nekrotik hücreler ve birkaç fibroblast gözlenmiştir. Sonuç olarak, *Salvia miltiorrhiza* ekstresinin uygulanmasının karaciğer ve böbrek hasarını azalttığı ve koruduğu görülmüştür (29).

Salvia miltiorrhiza'nın farmakolojik etkilerinin altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak için, doğal ortamda yetişen 50 farklı *S. miltiorrhiza* bitkisinin örneklerindeki kimyasal profiller ile antioksidan aktiviteler arasındaki ilişki in vitro olarak incelenmiştir. Bu çalışmada ultra-performans sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi kullanılarak yapılan analizle 12 fenolik asit ve 5 tanshinon bileşikleri ve farklı kaynaklı çeşitli kimyasal profiller elde edilmiştir. Temel bileşen analizinde (PCA) ve küme analizinde, kriptotansinon, tanshinon IIA ve dihidrotanshinon I gibi tanshinonlar, PC1 analizinde baskın iken, fenolik asitler olan danshensu, salvianolik asitler A ve B ve litospermik asit PC2 analizinde daha baskındırlar. Tüm bileşenlerin farklı konumlardaki *S. miltiorrhiza* bitkilerinin kimyasal markerları olarak optimize edilebilir ve *S. miltiorrhiza* kalite analizleri için uygun olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca antioksidan aktivitelerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek için yapılan DPPH ve ABTS aktivite testleri sonucunda, *S. miltiorrhiza* bitkisi ekstreleri arasında

sırasıyla 32.24 ve 23.39 mg/mL ortalama ile büyük farklılıklar gösterdikleri belirtilmiştir. Özellikle, ortalama IC₅₀ değerlerini aşan örneklerin daha yüksek fenolik asit içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Kafeik asit, danshensu, rozmarinik asit, litospermik asit ve salvianolik asit B maddelerinin antioksidan aktiviteye önemli katkılarda bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, incelenen bitki türlerinde fenolik bileşiklerin baskın antioksidan bileşenler olduğu bulunmuştur. Bu bitkilerin potansiyel doğal antioksidan kaynağı ve kimyasal koruyucu ajanlar olabileceği belirtilmiştir (30).

Polonya ve Kırım yarımadası gibi farklı habitatlarda yetişen *Salvia officinalis* ve *Salvia sclarea* bitkilerinin kimyasal bileşimindeki fenolik bileşiklerinin farklılıkları incelenmiştir. Bu bitkilerden fenolik bileşiklerin ultrasonik ekstraksiyonu için deneysel olarak en uygun çözücü metanol seçilmiştir. Toplam fenolik içerik ve DPPH radikal süpürücü aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Çalışılan bitkilerdeki toplam fenolik içerik gallik asite eşdeğer olarak 63.9-134.4 mg/g bitki değerleri arasında bulunmuştur. En yüksek antiradikal aktivite, *S. sclarea* bitkisinin varyetelerinin metanol fraksiyonlarında belirlenmiştir. Fenolik bileşiklerin analizi için ekstraktların HPLC-DAD yöntemi ile 17 ticari standart bileşiğin alıkonma süresi ile karşılaştırılarak analizler yapılmıştır. Kırım Yarımadası'nda toplanan bitkilerin, Polonya'da toplanan bitkilerden daha fazla fenolik asit olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, Polonya adaçayı çeşitlerinin daha fazla flavonoit içerdiği bulunmuştur (31).

Salvia officinalis, geleneksel Cezayir tıbbında, oral ve vajinal mantar hastalığı da dahil olmak üzere çeşitli mikrobiyal enfeksiyonları tedavi etmek için sıklıkla kullanılır. Cezayir'in Annaba kentinde toplanan *S. officinalis*'in bitkisinin toprak üstü kısımları heksan, aseton, metanol ve su olmak üzere dört çözücü ile maserasyonla ekstrakte edilmiştir. Tüm ekstreler *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. parapsilosis* gibi farklı *Candida* türlerine karşı in vitro olarak test edilmiştir. Biyofilm oluşturan *C. albicans*' a karşı antibiyofilm aktivite rehberli fraksiyonlama yapılmıştır. Metanol çözücüsüyle maserasyon yoluyla büyük ölçekli bir ekstre hazırlandıktan sonra mobil faz olarak n-heksan, etil asetat, metanol ve asetik asitten oluşan ve giderek artan polar karışımlar kullanılarak bir silika jel kolonu üzerinde toplamda 150 fraksiyon elde edilmiştir. En aktif iki ana fraksiyona HPLC ile daha ileri ayırmalar yapılmıştır. NMR ve kütle spektrometresi ile yapıları aydınlatılan karnosol ve 12-metoksi-trans-

karnosik asit iki ana aktif bileşik olarak izole edilmiştir. Yüzde elli biyofilm inhibe edici konsantrasyon (BIC_{50}) değerlerine göre (94 μ M ve 314 μ M), 12-metoksi-trans-karnosik asidin karnosolden daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışma geleneksel kullanımı olan adaçayının *Candida*'nın neden olduğu çeşitli mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımını desteklemektedir (32).

Fenolik asit ve flavonoit içeriği yüksek olan *Salvia officinalis* bitkisi, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan bir bitkidir. Enflamasyon birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır ve oksidatif stres yoluyla hasara neden olabilmektedir. Lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı deneysel inflamasyon modelinin *Salvia officinalis*'in oluşturduğu anti-enflamatuvar ve antioksidan aktivitesini etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada 4-5 aylık 42 dişi Wistar albino cinsi sıçan altı gruba ayrılmıştır. Üç gruba intraperitoneal olarak 1 mg/kg LPS uygulanmıştır. Tedavi gruplarına LPS enjeksiyonundan yirmi dört saat sonra, 10 ve 30 mg/kg *S. officinalis* ekstresi oral yoldan verilmiştir. 18F-florodeoksi-D-glukoz-pozitron emisyon tomografisi (18FDG-PET) taraması ile iltihabın durumunu belirlemek için akciğer ve hepatik 18F-floro-deoksi-D-glukoz (18F-FDG) alımı hesaplanmıştır. Antioksidan enzim aktiviteleri ve nitrik oksit (NO) malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, akciğer ve karaciğer 18F-FDG alımının inflamasyon grubunda kontrol grubundan daha yüksek olduğu bulunmuştur. Eritrosit ve tüm doku örneklerinde (karaciğer, akciğer ve böbrek) MDA düzeylerinin tedavi gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Enflamasyon grubunun karaciğer, akciğer, böbrek dokularındaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz, eritrosit SOD ve CAT aktiviteleri *S. officinalis* ile tedavi edilen gruplardan anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. *S. officinalis*'in sıçanlarda LPS kaynaklı enflamasyon ve oksidatif stres üzerinde faydalı etkileri olduğu görülmüştür (33).

Akdeniz bölgesinde *S. officinalis* bitkisi geleneksel yemeklerde rutin bir şekilde kullanılmaktadır. *S. officinalis* yapraklarının etanol ekstresi ve ince tabaka kromatografisi ile izole edilen bir spotun murin miyelom hücreleri üzerine biyolojik etkileri 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür testleri testi ile araştırılmıştır. İzole edilmiş nokta aynı zamanda sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) teknikleri ile izole

edilen spotun ana bileşeni karnosik asidin bir metil türevi olan metil karnosat olduğu belirlenmiştir. *S. officinalis* ekstresinin murin miyelom hücreleri üzerinde biyolojik etkiye sahip olduğunu ve kanserin önlenmesi ile ilgili daha fazla araştırmanın yapılması için metil karnosatın ilginç bir molekül olarak tanımlandığı belirtilmiştir (34).

Salvia pachyphylla Epling ex Munz bitkisinin toprak üstü kısmının beş ekstresinin antioksidan, antimikrobiyal, antiproliferatif ve enzim inhibe edici özellikleri belirlenmiştir. Etil asetat ekstresinin en yüksek antioksidan, en iyi ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi ve bunun yanı sıra en iyi inhibe edici aktivite gösterdiği belirlenmiştir. n-Heksan ve dikloromean ekstreleri gram pozitif bakterilere karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca yine her iki ekstrenin, kadınlarda çok yaygın olan üç kanser hücre hattına karşı diğer ekstrele göre daha yüksek antiproliferatif aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Metanol ve su ekstralarının daha az etkin olduğu gözlenmiştir (35).

S. plebeia'nın önemli biyolojik aktivitelerden sorumlu flavonoit ve fenolik bileşimi UPLC-DAD-QTOF/MS cihazı kullanılarak kantitatif olarak incelenmiştir. UV-spektrumları ve kütle fragmentlerine dayanılarak toplam 16 flavonoit, 10 flavon ve 6 flavanon halinde sınıflandırılmıştır. Apigenin, luteolin, hispidulin, nepetin, gibi flavonoitler ve bazı flavanonların flavonoit yapısının 5 ve 7 konumunda glikoz ile glikozillenmiş olduğu tespit edilmiştir. 6-hidroksiluteolin 7-O-glikozid (2,452.7 mg/100 g kuru ağırlık), hispidulin 7-O glikozit (2,281,0 mg/100 g kuru ağırlık) ve nepetin 7-O-glikozit (2,220,6 mg/100 g kuru ağırlık) olmak üzere üç ana flavon yapısı belirlenmiştir. Hidroksil ve metoksi gruplarını içeren altı flavanon belirlenmiş ve bunların arasında, 5,7,3',4'-tetrahidroksi-6-metoksiflavanon 7-O-glukozit'in en yüksek seviyeye sahip olduğu görülmüştür (938.3 mg/100g kuru ağırlık). *S. plebeia*'nın data verilerine dayanarak iki hidroksi flavanon glikozit olan, 5,6,7,3',4'-pentahidroksiflavanon 7-O-glukozit ve 5,6,7,4'-tetrahidroksiflavanon 7-O-glukozit'in yeni tanımlanmış bileşikler olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonda rozmarinik asit olduğu belirtilmiştir. Bunların dışında *S. plebeia* bitkisinde apigenin, 5,6,7,4'-tetrahidroksiflavanon, luteolin, luteolin 5-O-glukozid (galuteolin), luteolin 7-O-glukozid (cynaroside), 6-hidroksi luteolin, 6-Hidroksiluteolin 7-O-glukozid, nepetin (6-metoksiluteolin), nepetin 7-O-glukozid (nepitrin), cirsimaritin (4',5-

Dihidroksi-6,7-dimetoksiflavon), jaceosidin (4',5,7-trihidroksi-3',6-dimetoksiflavon), eupatilin (5,7-dihidroksi-3',4',6-trimetoksiflavon), eupatorin(3',5-dihidroksi-4',6,7-trimetoksiflavon), neocafhispidulin (4',5,9,10-tetrahidroksi-6-metoksi-12-metilkroman [2,3-h] flavon), scutellarein(6-hidroksiapigenin),sorbifolin (scutellarein 7-metil eter), pectolarigenin (6-metoksiacetin), hispidulin (6-metoksiapigenin), hispidulin 7-O-glukozid (homoplantagin), hispidulin 7-O-glukouronid (hispiduloside), hispidulin 7-O-(6''-O-asetil)glukozid, (6''-O-asetilhomoplantagin), eriodictyol, 6-metoksinarigenin, 6-metoksinarigenin 7-O-glukozid, 5,7,4'-trihidroksi-6-metoksiflavanon 7-O-glukozid (naasalvinin A), filifolin (5,7,3',4'-tetrahidroksi-6-metoksiflavanon), 5,7,3',4'- tetrahidroksi-6-metoksiflavanon 7-O-glukozid (naasanone), kuersetin, isoramnetin, 2'-hidroksi-5'-etoksibiochanin A bileşiklerinin varlığı da belirlenmiştir (36).

Anjiyogenez, malign tümör ilerlemesinde ve gelişmesinde önemli bir rol oynar. Suudi Arabistan ve Ürdün'de yetişen Lamiaceae familyasına ait 18 bitkinin metanol ekstresi, dolaylı olarak hücre büyümesi veya hücre ölümünü değerlendirmeyi hedefleyen hücre kültürü esasına dayanan bir ilaç duyarlılığı testi olan MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyumbromid) testi ve sıçan aort halkası analizleri kullanılarak sitotoksik ve anti-anjiyojenik aktiviteleri açısından incelenmiştir. İndirek anti-anjiyojenik mekanizmaların katılımında insan endotel hücrelerinde ekstrelerin sitotoksik aktivite göstermediği tespit edilmiştir. *Salvia samuelssonii* bitkisinin de içinde olduğu dört farklı bitkinin seçici anti anjiyojenik etkilerinin olduğu belirtilmiştir (37).

Salento'da (Güney İtalya) yetişen *Salvia officinalis*, *Salvia clandestina*, *Salvia fruticosa* ve *Salvia sclarea* bitkilerinin fitokimyasal profillerinden GC-MS ile 50 adet bileşik belirlenmiştir. Uçucu yağlar elde edilemeyen *S. clandestina* bitkisi hariç, diğer türlerde oksijenli monoterpenleri (kamfor % 2.13-9.16) ve seskiterpen hidrokarbonları (karyofilen % 4.65-18.33; humulen % 1.87 -% 1.12 -%) bulunmuştur. HPLC ESI/MS-TOF ile analiz edilen fenolik profil sonucunda, *S. clandestina* bitkisinin zengin bir dansensu kaynağı (4.76 mg / g kuru ağırlık) olduğu ve *S. sclarea* bitkisinin de rozmarinik asit (15.57 mg/g kuru ağırlık) açısından zengin olduğu belirlenmiştir. Kemometrik çalışma olan PCA (iki değişkenli istatistiksel analiz) analizi ile *Salvia*'lardan elde edilen fenolik bileşiklerin profillerinin, *S.*

fruticosa ve *S. officinalis* bitkileri arasındaki benzerlik gösterdikleri, ayrıca *S. clandestina* ve *S. sclarea* bitkileri de karakteristik benzerlik gösterdikleri belirtilmiştir. PCA analizi ile uçucu yağ açısından üç verimli türün uçucu yağ profilleri arasında farklılıklar olduğu açık bir şekilde tespit edilmiştir. Toplanan bitkilerden elde edilen ekstraların DPPH, ABTS, FRAP ve süperoksit anyon süpürücü aktivitesi testleriyle yapılan antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu belirtilmiştir (38).

Salvia suffruticosa, Lamiaceae familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. Birçok *Salvia* türü şifalı bitkiler olarak kullanılmıştır. *S. suffruticosa*'nın tıbbi potansiyellerine rağmen, fitokimyasal profili veya biyolojik özellikleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada bitkinin toprak üstü kısmının uçucu yağının ve ekstresinin kimyasal bileşenleri ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Bitkinin uçucu yağı gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi cihazı kullanılarak analizi yapılmıştır. Uçucu yağ analizinde baskın bileşik grubunun seskiterpen hidrokarbonlar olduğu ve β -kardiyofilen (% 27,35), bisiklojermakren (% 22,15), germakren-D (% 9,49) ve β -farnesen (% 9,08) bileşiklerinin ana bileşenler olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin metanol ve petrol eteri ekstraları kolon kromatografisi yöntemiyle izolasyon çalışmaları yapılmış ve farklı durağan fazlarla kolon kromatografisi kullanılarak bileşiklerin metanol ve petrol eter fraksiyonlarından lupeol, β -sitosterol, stigmasterol, kafeik asit ve 1-feruloil- β -D-glikopiranoz bileşikleri izole edilmiştir. Kafeik asit ise IC_{50} : 12.1 ± 1.2 $\mu\text{g/mL}$ değeriyle en güçlü radikal giderim aktivitesini göstermiştir (39).

Salvia viridis L. Akdeniz tıbbında kullanılan tek yıllık bir bitkidir. *S. viridis*'in topraküstü kısımlarının sulu (kaynatma ve infüzyon) ve su-etanol (20:80 v/v) ekstraları elde edilerek fenolik profilleri belirlenmiş ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Polifenol profili, UPLC-DAD/ESI-MS cihazı ile çalışılmıştır. Ek olarak, test edilen ekstradaki toplam polifenol içeriği, Folin-Ciocalteu testi kullanılarak UV-Vis spektrofotometrisi ile belirlenmiştir. Antioksidan etki ise FRAP, DPPH, ABTS, süperoksit radikal giderim ve TBARS yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Su-etanol ekstresi toplam fenolik içerik açısından en yüksek içeriği vermiştir. UPLC-DAD/ESI-MS ekstralarının analizleri sonucunda tanımlanmış dört flavonoit, sekiz feniletanoit ve yedi fenolik asit olmak üzere

toplam 19 fenolik bileşik belirlenmiştir. Ekstrelerde rozmarinik asit baskın olan fenolik asit, verbascoside baskın feniletanoid ve örneğe bağlı olarak apigenin glukuronid veya metiluteolin glukuronid baskın flavonoit bileşikler tespit edilmiştir. Hem infüzyonun hem de su-etanol ekstresinin yüksek polifenol seviyesinin varlığını göstermesi yüksek antioksidan aktivitesinin olmasına neden olmaktadır. Bu sonuçlar *S. viridis*'in zengin bir fenolik kaynağı olduğu ve oksidatif stresi azaltma potansiyelinden dolayı diyet uygulamalarında kullanılabileceği belirtilmiştir (40).

Salvia discolor, *S. officinalis* ve *S. sclarea* bitkilerinin metanol ekstrelerinin antioksidan, antiinflamatuvar, sitotoksik aktiviteleri ve toplam fenolik ve flavonoit içerikleri incelenmiştir. Ekstrelerin kimyasal bileşenleri, UV-DAD detektörlü HPLC cihazı ile analiz edilmiştir. *Salvia* türlerinin topraküstü kısımlarından elde edilen ekstrelerin ana bileşeninin rozmarinik asit (% 0.2-61.1) olduğu bulunmuştur. Topraküstü kısımlarının metanol ekstrelerinin bileşimi kök ekstresininkinden oldukça farklı olduğu görülmüştür. 100 g taze bitkiden elde edilen ekstrelerin toplam flavonoit ve fenolik içerikleri değerleri sırasıyla kafeik asit eşdeğeri (CAE) olarak 658.3-1805.9 mg ve kuersetin eşdeğeri (QE) olarak 13.0-184.9 mg arasında değişiklik göstermektedir. En yüksek DPPH radikal giderim etkisi IC_{50} :21.6 g/mL değeri ile *S. sclarea* ekstresi için gözlenirken, IC_{50} :53.0 g/mL değeri ile *S. discolor* ekstresi bütün ekstreler arasında en yüksek ABTS katyon radikal giderim aktivitesi göstermiştir. Tüm *Salvia* ekstreleri, sırasıyla ortalama 25.3-65 g/mL ve 34.5-89.8 g/mL IC_{50} değerleri ile insan T lenfoblast lösemisine (CCRF-CEM) ve adriamisine dirençli lösemiye (CEM / ADR 5000) karşı belirgin sitotoksik etki göstermiştir. *S. officinalis* ekstresi 138.5 g / mL IC_{50} değeri ile insan meme adenokarsinomuna (MCF-7) karşı nispeten güçlü bir etki gösterdiği belirlenmiştir (41).

12 tanesi Türkiye'ye endemik olmak üzere 14 *Salvia* türü ile yapılan çalışmada B2 vitaminleri, mineralleri, toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *Salvia* türlerinde B2 vitamini tayini, bir lazer kaynaklı floresan (LIF) dedektörü kullanarak hızlı ve hassas bir kılcal elektroforez tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Tüm örneklerin 0.165-1.19 mg/100 g arasında değişen B2 vitamini içerdiği belirlenmiştir. İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) ile her *Salvia* numunesinde on beş element (Ca, K, Na, Mg, Fe, Mn, Zn, Li, Cu, Co, Al, V, Sr, Sn ve Ni) içerdiği belirlenmiştir. *Salvia* örneklerinin toplam

fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak gallik asite eşdeğer (GAE) olarak 11.8-119 mg/g arasında değişen miktarlarda bulunmuştur. Toplam fenolik içerik açısından en yüksek oranda *S. heldreichiana* bitkisinin etkili olduğu görülmüştür. Antioksidan aktiviteleri, DPPH radikal giderim aktivitesi ve FRAP yöntemleri ile değerlendirilmiştir ve en yüksek antioksidan aktiviteyi DPPH ve FRAP yöntemine göre sırasıyla %24.5 inhibisyon ve 9.37 g Fe(II)/100 g kuru bitki değerleriyle *S. heldreichiana* bitkisinin gösterdiği tespit edilmiştir (42).

Salvia türlerinin bitkisel preparatlarının asetilkolinesteraz (AChE) ve butilkolinesteraz (BuChE) aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisi, Alzheimer hastalığı olan hastalarda bozulmuş kolinerjik fonksiyonların ve bilişsel performansın düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. *Salvia* türlerinin ve bileşenlerinin bu işlevsel rolü, ilaçla ilgili bitki araştırmalarında *Salvia* bitkisini değerli kılmıştır. Türkiye'de yetişen on *Salvia* türünden elde edilen uçucu yağların in vitro kolinesteraz etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Uçucu yağların içeriği, sırasıyla gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile karakterize edilmiştir. Sonuçlar, uçucu yağların hepsinin, AChE inhibe edici aktivite sergilediğini göstermiştir. *S. pseudoeuphratica*, *S. hydrangea* ve *S. divaricata* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar sırasıyla $IC_{50} = 26.00 \pm 2.00$, 40.0 ± 4.00 , 64.68 ± 4.16 $\mu\text{g/mL}$ değerleriyle en güçlü AChE inhibe edici etkiyi göstermiştir. AChE ve BuChE'ye karşı test edilen *Salvia* uçucu yağları arasında en yüksek inhibe edici aktiviteyi *S. pseudoeuphratica*'nın uçucu yağı göstermiştir. Elde edilen sonuçlar *Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağların önemini arttırmakta ve Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisi için *Salvia* türlerinin kullanılmasını desteklemektedir (43).

Salvia amplexicaulis Lam. bitkisinin su, etanol, metanol, etil asetat ve diklorometan ekstralarının biyolojik aktivitelerinin ve kimyasal bileşimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır. HPLC analizi, en fazla miktarda polifenol içeriği ve bu polifenolün %40 tan fazlasını oluşturan bileşikler olan kamferol glikozitleri sırasıyla metanol, etanol ve su ekstralarında bulunduğu belirlenmiştir. Bitkinin etanol ekstresi ABTS aktivitesinde en yüksek aktivite görülürken, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, demir indirgeme gücü (FRAP) ve β -karoten antioksidan yönteminde su ekstresi en güçlü antioksidan etkiyi göstermiştir. Bitkinin metanol ve su ekstraları DPPH radikallerini standart olarak kullanılan BTH bileşiğinden daha etkili bir

şekilde nötralize etmiştir (sırasıyla 15.1 µg/mL, 15.8 µg/mL, 17.9 µg/mL). Bu antioksidan aktivite ekstrelerdeki yüksek miktardaki kamferol glikozitlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür (44).

Salvia sclarea L. bitkisi geleneksel olarak yaygın hastalıkların tedavisinde ve gıda ürünü şeklinde kullanılmıştır. Yapılan çalışmada *Salvia sclarea*'nın etil asetat, su ve metanol ekstrelerinin fitokimyasal bileşenleri ile beraber antioksidan etkileri de belirlenmiştir. Ayrıca ekstrelerin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz ve tirozinaza enzimlerine karşı inhibitör etkileri de araştırılmıştır. Metanol ekstresi yüksek fenolik ve flavonoit içeriği göstermiştir (sırasıyla 81.78 mg gallik asit eşdeğeri/g ekstre, 40.59 mg rutin eşdeğeri /g ekstre). *Salvia sclarea*'nın rozmarinik asitçe zengin olduğu ters faz kolon ve diod array dedektörlü HPLC analizi ile belirlenmiştir. Bitkinin su ekstresi α -amilaz'a karşı düşük intihibör aktivite gösterirken α -glukozidaz'a karşı en yüksek ativiteyi göstermiştir (sırasıyla 0.19 ve 18.24 mmol acarboz eşdeğeri/g ekstre). Deneysel sonuçlar sadece su ekstresinin anlamlı derecede tirozinaz inhibisyonu sağladığını göstermiştir (8.86 mg Kojik asit eşdeğeri/g ekstre). Modelleme çalışmaları, quercetin'in, iki hidrojen ve bir pi-pi bağıyla tirozinaza bağlandığı belirlenmiştir (45).

Salvia officinalis L. (Sage) bitkisinin uçucu yağının Wistar farelerinde alloxan kaynaklı diyabet üzerindeki etkisi ilk kez araştırılmıştır. Uçucu yağ analizi GC-FID ve GC-MS ile yapılmıştır. Uçucu yağ analizinde bileşenlerin oksijenli monoterpenler (%56.32), hidrokarbonlu monoterpenler (%15.00) ve hidrokarbonlu seskiterpenler (%14.70) den oluştuğu belirtilmiştir. Uçucu yağın sırasıyla $IC_{50} = 38$ µg/mL ve $IC_{50} = 52$ µg/mL değerleriyle α -amilaz ve lipaz enzimlerini inhibe edici aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir. İn vivo deneylerinde serum α -amilaz ve lipaz aktivitelerinin sırasıyla % 46.6 ve % 32.1 oranında azaldığı görülmüştür. Bitkinin uçucu yağının glisemiyi % 60 oranında azalttığı ve karaciğerde depolanan glikojen seviyesini % 43.7 oranında azalttığı ölçülmüştür. Bitkinin uçucu yağı ile diyabet tedavisi, serum AST (% 35), ALT (% 79) ve LDH (% 43) aktivitelerini azaltarak karaciğer fonksiyonunu önemli ölçüde korumuştur. Elde edilen sonuçlar, *Salvia officinalis* bitkisinin uçucu yağının hipoglisemiyi ve obeziteyi önleyici etkilere sahip olduğunu bu nedenle gelecekteki diyabet tedavisinde değerli bir tamamlayıcı olabileceğini kanıtlamıştır (46).

Salvia miltiorrhiza içerdığı yüksek miktardaki biyoaktif bileşenlerden dolayı, Asya'da tıbbi amaçlar için yaygın olarak 1000 yıldan fazla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, bu biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için basit ve hızlı bir ultrason destekli sıvı ekstraksiyonu (5 dk) uygulanmıştır. Ekstreler pozitif ve negatif elektrosprey iyonlaştırmasıyla birlikte UHPLC-MS/MS kullanılarak analiz edilmiştir. Sekiz analit, 6 dakikalık çalışma süresi boyunca 2.2 dakika içerisinde çoklu reaksiyon izleme (MRM) modunda UHPLC-MS/MS ile ayrılmıştır. Farklı *Salvia miltiorrhiza* çeşitlerinin farklı kısımlarındaki salvianolik asit ve tansinonların konsantrasyonu sırasıyla 6.4 ile 382.1 mg/g ve 0.03 ile 31.7 mg/g arasında bulunmuştur. *Salvia miltiorrhiza* bitkisinin çiçeği ve sapında / yaprağında bulunan tanshinon bileşiklerini UHPLC-MS/MS cihazı ile karakterize eden ilk rapor olduğu belirtilmiştir (47).

Diyabetik nefropati (DN), kontrolsüz yüksek kan şekeri nedeniyle oluşan diyabet komplikasyonudur. *Salvia miltiorrhiza*'nın, mekanizmaların belirsiz olmasına rağmen, böbrek hasarını önleme kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir. *S. miltiorrhiza*'nın metabolizma ve moleküler mekanizmaların düzenlenmesi yoluyla diyabetik nefropati hasarını iyileştirip iyileştirmede ve nasıl iyileştirdiğini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada SD sıçanlarına % 0.5 glukoz-su eşliğinde yüksek glukoz / yüksek yağ diyeti verilmiştir. Üç hafta sonra, diyabetik nefropati modeli için sıçanlara üç gün boyunca her gün 30 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon yapılmıştır. Biyokimyasal indikatörlerin, plazmanın metabolitlerinin, ürün ve böbrek dokusunun analizi yapılmıştır. Daha sonra renal doku ve glomerüler mesangial hücreleri western blot analizi ile incelenmiştir. Sonuçlar, *S. miltiorrhiza* bitkisinin ekstrelerinin, anormal glikolipid metabolizmasının neden olduğu böbrek hasarını ve düzenini iyileştirdiğini göstermiştir. Serum, idrar ve böbrek dokularındaki metabolitler önemli ölçüde değişmiştir. İlgili metabolik yollar esas olarak fosfolipid, araşidonik asit ve pirimidin metabolizmalarını içermektedir. *S. miltiorrhiza*, renal dokuda ve yüksek glukoz kaynaklı glomerüler mesangial hücrelerinde wnt4, β -katenin ve TGF- β 'nin ekspresyon seviyelerini nispi derecede inhibe etmiştir (48).

Mikrodalga ısıtma işlemlerinin farklı güçlerde (0,180,360,720,900 watt) chia (*Salvia hispanica*) tohum yağının kalite özellikleri üzerindeki etkileri araştırılan çalışmada mikrodalga fırında ısıtılan chia tohumu yağının linoleik asit içerikleri

sırasıyla % 19.21 (900W) ve % 21.17 (kontrol) arasında değişmiştir. Isıtılmış chia tohumu yağlarının linoleik asit içerikleri % 66.84 (900W) ve % 68.71 (kontrol) arasında değişmiştir. Chia yağı numunelerinin α -tokoferol ve β - tokoferol içerikleri sırasıyla 47.71 mg/100g (900W) ve 51.17 mg/100g (kontrol) ile 62.58 mg/100g (900W) ve 67.81mg/100g (kontrol) arasında değişmiştir. Chia tohumu yağlarının kafeik asit içeriği ise 0.27 mg/100g (900W) ve 3.84 mg/100g (kontrol) arasında değişirken rozmarinik asit içeriklerinin ise 1.32 mg/100g (900W) ve 3.17 mg/100g (kontrol) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sonuç, chia yağının kimyasal yapılarındaki değişimi yansıtılarak genel olarak, chia yağının biyoaktif bileşenlerinde kayıp olmasını önlemek için, chia tohumlarının mikrodalgada kavrulması sırasında çok dikkat edilmesi sonucuna varılmıştır (49).

Geleneksel (hidrodistilasyon ve soxhlet ekstraksiyonu) ve modern ekstraksiyon teknikleri (süper-kritik akışkan-ayırıştırma-SFE) ile elde edilen adaçayının (*Salvia officinalis*) bitkisel tozunun uçucu yağ ve lipid ekstralarının kimyasal profili belirleyip yapay sinir ağları kullanarak SFE sürecinin optimizasyonu sağlanmıştır. Farklı SFE basıncında (100-300 bar), sıcaklıkta (40-60°C) ve CO₂ akış hızında (0.2-0.4 kg/s) elde edilen lipid ekstralarının kimyasal profili, geleneksel tekniklerle elde edilen esansiyel yağ ve lipid ekstralarıyla karşılaştırılmıştır. Tüm örneklerde en bol bulunan bileşiklerin oksijenli monoterpenler (kafur, thujone ve eucalyptol), seskiterpenler (viridifloral) ve diterpen polifenoller (epirosmanol) olduğu görülmüştür. SFE, monoterpen verimi ve geleneksel tekniklerle karşılaştırıldığında seçicilik açısından önemli avantajlar sağlamıştır. SFE yöntemi ile çalışılarak elde edilen lipid ekstralarının antioksidan aktivitesi FRAP ve DPPH testi ile belirlenmiş ve yüksek basınç ve sıcaklıkta elde edilen ekstraları yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (50).

Mısır *Salvia officinalis* bitkisinin uçucu yağlarının GC ve GC-MS kullanılarak metabolik profili, bitkinin sulu ekstrenin (AESO) üreaz (jack been ureases) enzimine karşı anti enzimatik özelliği, toplam fenolik içeriği (TPC) incelenmiştir. Bitkinin uçucu yağlarının ana bileşenleri 1,8-sineol (% 15,4), oksijenli seskiterpen viridifloral (%7,1), nonakosan (%3,1), kafur (%3) ve pentakosan (%2,4) bileşikleri olduğu tespit edilmiştir. TPC içeriğinin 37.1 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru bitki materyali olduğu saptanırken, AESO ilk kez anti üreaz aktivitesi çalışılmış olup IC₅₀ 1.65 mg/ml

değerinde olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, üreaz üreten patojenlerin indüklediği hastalıkları tedavi etmek için yararlı üreaz inhibitörlerinin geliştirilmesinde küratif ajan olarak, fenolik içerik bakımından zengin AESO'nun faydalı olabileceğini belirtmektedir (51).

Chia tohumları (*Salvia hispanica* tohumları), sağlık özellikleri nedeniyle gıda üreticileri ve tüketiciler arasında artan bir ilgi kazanmaktadır. Chia tohumlarının asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörler özelliklerini belirlemek için yapılan çalışmada tohumları renklendirilmiş tohum etanol ekstresinin AChE ve BChE'ye karşı en iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kersetin ve izokersetin yanı sıra protokateşik, hidroksibenzoik ve kumarik asitler ve ekstrelerin AChE ve BChE inhibitör aktiviteleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Polifenol bakımından zengin olan *S. hispanica* tohum ekstresi kolinesteraz aktivitelerini inhibe edici özelliğinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanımları için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır (52).

Diabet hastaları ısrarcı ve iyileşmeyen yaralardan muzdariptir. *Salvia* türleri geleneksel olarak yara ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılmaktadır. İki endemik takson olan *S. kronenburgii* Rech f. (SK) ve *S. euphratica* Montbret, Aucher & Rech.f.var. *euphratica* (SE) bitkilerinin topraküstü kısımlarının in vivo koşullarda yara iyileşme potansiyeli, in vitro koşullarda ise antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile toplam flavonoit ve fenolik içeriği belirlenmiştir. Bitkilerin etanol ekstreleri iki farklı konsantrasyonda (%0.5 ve %1 (ağırlık/ ağırlık)) streptozosin kaynaklı diyabetik sıçanlar üzerinde kesik ve eksizyon yara modellerinde 7 ve 14. günler boyunca biyomekanik, biyokimyasal, histopatolojik, makroskopik ve genotoksik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. %0.5 ve %1 (ağırlık / ağırlık) konsantrasyonlarında SK merhemi ve %1 (ağırlık / ağırlık) konsantrasyonunda SE merhemi sırasıyla % 99.9, % 99.5 ve % 99.7 iyileşme göstermiştir. Eksizyon yaraları için %1 (ağ / ağ) konsantrasyondaki SK ve SE merhemleri % 99.4 ve insizyon yaraları için % 99.2 iyileşme gösterirken, Fito sırasıyla % 98.9 ve % 98.5 iyileşme göstermiştir. SK ve SE merhemlerinin kullanılmasından sonraki 7. ve 14. günlerde artan epitelizasyon, anjiyogenez ve azalmış dermal inflamasyon belirlenmiştir. 7. günde SE merhemi ve 14. günde SK merhemi kontrolle karşılaştırıldığında benzer oranda DNA oksidatif hasarını azaltmıştır. Antimikrobiyal aktivite *Bacillus subtilis*,

Escherichia coli, *Aeromonas hydrophila*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e karşı broth mikro dilüsyon testi ve resazurin mikro dalgalı yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir. Referans ilaçlar olarak Fito, Ampisilin, Ethambutol, Isoniazid ve Flukonazol kullanılmıştır. Test edilen her iki bitkinin de referans ilaçlar olan Ampisilin, Isoniazid ve Ethambutol (MİK:125,0.97 ve 1.95 µg/ml değerleri, sırasıyla) bileşikleriyle karşılaştırıldığında, *A. baumannii*'ye (MİK:62.5 µg / ml) karşı daha büyük antibakteriyal aktiviteye ve SE'nin ise *M. tuberculosis*'e (MİK:0.24 g / ml) karşı daha fazla antimikobakteriyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki ekstrenin antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik ve flavonoid içerikleri sırasıyla DPPH serbest radikal süpürme deneyi, Folin-Ciocalteu ve Al₃ (NO₃)₃ yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir. SE ve SK bitkilerinin antioksidan kapasiteleri sırasıyla % 87.08 ve %72.17 olarak tespit edilmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ise sırasıyla, 76.21 µg GAE / mg, 43.43 µg QE / mg ve 41.81 µg GAE / mg, 33.62 µg QE / mg olarak ölçülmüştür. SK ve SE bitkileri yararlılaşmasında güçlü etkilere sahipken, SK bitkisinin hem 7. hem de 14. günde SE bitkisinden daha etkili olduğu bulunmuştur (53).

Salvia cinsi halk arasında karın ağrısı, soğuk algınlığı, mide bulantısı gibi alternatif tedavi yöntemleri arasında popülerlik kazanan bitkilerdir. *Salvia modesta* Boiss. bitkisinin 3 ekstresinin (diklorometan, metanol ve su (kaynatma)) polifenolik içeriğinin belirlenmesi ile birlikte antioksidan ve enzim inhibisyonuna dayalı biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. *S. modesta* bitkisinin güçlü antioksidan kaynağı olduğu belirtilmiştir. Metanol ekstresi yüksek tirozinaz inhibisyonunu gösterirken, diklorometan ekstresi en etkili butirilkinesteraz ve α-glukozidaz inhibitörü etkisini göstermiştir. En bol miktarda bulunan fenolik bileşiğin 5390 µg /g ekstre değerinde rozmarinik asit olduğu tespit edilmiştir. *S. modesta*'nın oksidatif stresi ve komplikasyonlarını engellemek için yeni antioksidan ve enzim inhibitörleri kaynağı olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (54).

S. fruticosa ve *S.lanigera* ekstrelerinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri analiz edilmiştir. Doğal olarak yetişen bitkilerden elde edilen diklorometan, etil asetat, metanol, etanol ve su ekstreleri, HPLC-DAD cihazı kullanılarak özellikle alkol ve su ekstrelerinde fenolik asitlerin ve flavonoid

bileşiklerin analizi yapılmıştır. DPPH, ABTS, FRAP, β -karoten ağartma (β -CB) antioksidan analiz yöntemleri kullanılarak ekstrelerin toplam fenolik asitler ve flavonoit içerikleri ile antioksidan aktiviteleri, spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. *S.fruticosa* ekstreleri, tüm aktivite yöntemlerinde, özellikle etanol ekstresi DPPH yönteminde IC_{50} , 29.55 μ g/ml ve β -CB yöntemindeki %85.11 inhibisyon değerleriyle daha güçlü aktivite göstermiştir. Etanol ve su ekstrelerinin fitoterapide geniş kullanımları nedeniyle daha ileri araştırmaları yapılmıştır. Ekstrelerin, mikrodilüsyon metodu kullanılarak 11 bakteriye (altı gram negatif ve altı gram pozitif) ve yedi mantara karşı antimikrobiyal aktivite taraması yapılmıştır. Özellikle gram-pozitif bakterilere karşı, etanol ekstreleri su ekstrelerinden daha güçlü aktivite göstermiştir. *Trichophyton mentagrophytes*, *S.lanigera* bitkisinin su ekstresine en duyarlı olduğu görülmüştür (MİK, minimal inhibitör konsantrasyon ve MFC, minimal fungusid konsantrasyon, 8 mg/ml). İnsan karsinoma hücre dizisi olan HCT-116 üzerindeki MTT testi ile yapılan sitotoksik aktivite yönteminde sadece *S.fruticosa*'nın etanol ekstresinin belirli bir aktivite gösterdiği (IC_{50} , 375.96 μ g/ml) belirlenmiştir. Ekstrelerin anti-nörodejeneratif aktivite testlerinde, ekstreler tirozinaz aktivite testinde standart olarak kullanılan kojik aside (% 33.93-51.81) göre daha iyi etki göstermişlerdir (%55.26-74.66). Ekstrelerin asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivitesi standart galantamin ile karşılaştırıldığında daha az etki gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara ek olarak *S.fruticosa* ve *S.lanigera*, bir dizi biyolojik aktiviteye sahip umut verici doğal bileşiklerin kaynağı olduğunu ifade edilmiştir (55).

Meksika'da "pipiloixochitl" veya "sabanito" olarak da bilinen *S. sessei* Benth erizipela (yılancık) tedavisi için geleneksel tıpta kullanılan bir bitkidir. Bugüne kadar, bitkinin toprak üstü kısımlarından sadece royleanon tipi diterpen bileşiğinin izole edildiği belirtilmiştir ancak literatür taramalarına göre bu bitkiden elde edilen ekstrelerin ve bileşiklerin farmakolojik aktivitesi üzerine çalışmalar yapılmadığı görülmüştür. Bu çalışmada *S. sessei* Benth bitkisinin topraküstü kısımlarının organik ekstreleri ve izole edilen sessein ve izosessein izomerlerinin anti-enflamatuar, antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Anti-enflamatuar aktivite testinde hekzan ekstresi (%40.55 \pm 0.5), diklorometan ekstresi (%56.01 \pm 1.1) ve metanol ekstresi (%66.05 \pm 0.3) ve ayrıca izole edilen sessein (%79.85 \pm 3.5) ve

isosessein (%54.36±1.7) inhibisyon gösterdikleri belirlenmiştir. Ekstreler arasında metanol ekstresi en yüksek inhibisyon gösterirken, izole edilen bileşiklerden sessein, aynı dozda standart bileşik ile benzer bir etki gösterdiği (%75.24±% 2.4) tespit edilmiştir. Hekzan ekstresi *Staphylococcus haemolyticus*'a karşı, metanol, diklorometan ekstreleri ve sessein bileşiği *Staphylococcus haemolyticus*, *S.hominis*, *E. faecalis* bakterilerine karşı, sessein bileşiği *Escherichia coli*' ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca izosessein bileşiği *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermis* ve *S. pyogenes* gibi erysipela hastalığı ile ilgili bakterilere karşı aktivite göstermiştir. DPPH, ABTS ve FRAP antioksidan yöntemlerinde ekstreler arasında en büyük antioksidan kapasitesini gösteren ekstre metanol ekstresi, izole edilen bileşikler de ise, sessein bileşiği olduğu belirlenmiştir (56).

Bazı *Salvia* türleri, terapötik etkileriyle ilgili bilimsel olarak dikkati üzerine çekmiştir, ancak *Salvia viridis* L. bitkisinin köklerinin farmakolojik potansiyeli hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu çalışmada *S. viridis* bitkisinin kökünün mikrodalga yardımıyla, maserasyon, süperkritik sıvı ekstraksiyonu, soxhlet ve ultrasonik yöntemler gibi farklı metodlarla elde edilen etanol ekstrelerinin fitokimyasal bileşenleri, enzim inhibisyon potansiyeli ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Ultrasonik yöntemle elde edilen *S. viridis* etanolik kök ekstresi en yüksek toplam fenolik (111.41 mg gallik asite eşdeğer) ve flavonoid (23.46 mg rutine eşdeğer) bileşen içerdiği belirlenmiştir. Ultrasonik yöntemle elde edilen *S. viridis* etanolik kök ekstresi en yüksek radikal süpürücü etkiyi (sırasıyla DPPH ve ABTS analizleri için 240.00 ve 302.85 mg troloks eşdeğeri TE/g) değerleriyle ve indirgeyici aktiviteleri (sırasıyla CUPRAC, FRAP ve fosfomolibden yöntemleri için 970.74, 704.27 mg TE/g ve 2.84 mmol TE/g) değerleriyle göstermiştir. Ekstrelerin kimyasal profilleri HPLC-MS / MS ile araştırılmış ve süper kritik akışkan yöntemiyle elde edilen ekstrenin kimyasal profili diğer ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen ekstrelerden farklı olduğu belirlenmiştir. *S.viridis*'in kök etanol ekstresinin Alzheimer hastalığı (asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz), diyabet (α -amilaz, α -glukozidaz) ve cilt hiperpigmentasyon bozuklukları (tirozinaz) ile ilgili anahtar enzimler üzerindeki inhibe edici etkisi ilk defa yapılmıştır (57).

İklim değişikliği, sekonder metabolitlerin coğrafi dağılımını derinden etkiler ve bitkilerin coğrafi göçüne neden olur. *Salvia miltiorrhiza* bitkisinin farklı iklimsel faktörlerin aktif madde birikimi üzerine etkisini araştırmak için doğu ve batı Çin'de enlemesine bir meyil boyunca uzanan on sekiz farklı ekolojik bölgeye aynı türden fideler dikilmiştir. Altı aktif bileşen içeriği ile on iklim faktörü arasındaki korelasyon, ilişkilerini netleştirmek için incelenmiştir. İklim faktörlerinin sadece aktif madde içeriğini düzenlemediği aynı zamanda bileşimlerini belirgin şekilde etkilediği ve Çin'de bu aktif bileşenlerin spesifik coğrafi dağılıma yol açtığı tespit edilmiştir. Ana iklim faktörleri hava sıcaklığı, yağış, atmosferik buhar basıncı ve güneşlenme süresini içermektedir. Aşırı iklim koşullarının aktif bileşenlerin üzerindeki etkisi göz ardı edilmemelidir. Bu çalışmanın bulguları ile çiftçilerin gelecekte bilimsel olarak uygun ekim bölgelerini seçmelerine yardımcı olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma, tıbbi bitkilerde değişen ekolojik faktörlere göre sekonder metabolit yanıtlarının araştırılması için yenilikçi bir fikir sunmaktadır (58).

Salvia cinsi yapısal olarak çeşitli terpenoidlerin değerli bir kaynaktır. *Salvia reuterana* ile yapılmış olan bu çalışmada iki yeni labdan diterpen olan, 6 β , 14 α -dihidroksi-15-asetoksisklareol ve 14 α , 15-dihidroksi sklareol, bitkinin toprak üstü kısmından izole edilmiştir. 6 β , 14 α -dihidroksi-15-asetoksisklareol ve 14 α , 15-dihidroksi sklareol bileşikleri MCF-7 ve HeLa hücre hatlarına karşı inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar *S.reuterana*'nın zengin bir labdan diterpenoid kaynağı olduğunu göstermiştir. Bu bileşikler *Salvia* türlerinde oldukça nadir olup, ancak Lamiaceae'nin diğer cinslerinde sıklıkla bulunmaktadır. *S. reuterana*, bu diterpenoidlerin yeni bir kaynağı olarak görülmektedir (59).

Salvia L., tıbbi değeri yüksek, Lamiaceae familyasının geniş bir cinsidir. Çalışma, İran'ın 27 yabancı *Salvia* türünden 41 popülasyonunda beş biyoaktif fenolik bileşiğin (rozmarinik asit, karnosik asit, kafeik asit, salvianolik asit A ve B) tanımlanması ve belirlenmesi için basit ve güvenilir bir HPLC-UV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Temel bileşen analizi (PCA) tekniği fenolik bileşik profillerine göre türler arasındaki farklılaşmayı incelemek için kullanılmaktadır. Çalışılan *Salvia* türlerinde fenolik bileşiklerin dağılım şekillerinde ve içeriklerinde belirgin intra- ve interspesifik değişiklikler gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda yaprakların köklere oranla daha fazla miktarda fenolik bileşik bulunduğu

görülmüştür. *S. verticillata* bitkisinin yapraklarında en yüksek rozmarinik asit (41.53 ± 0.88 mg / g kuru ağırlık) ve sonrasında salvianolik asit A (8.10 ± 0.35 mg / g kuru ağırlık) bileşikleri bulunmuştur. *S. syriaca* ve *S. sharifii*'nin yaprakları sırasıyla salvianolik asit B (54.47 ± 2.00 mg/g kuru ağırlık) ve karnosik asit (34.05 ± 1.18 mg/g kuru ağırlık) bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (60).

Salvia miltiorrhiza'nın kurutulmuş kökü (Danshen), Çin'de yaygın olarak kullanılan en popüler geleneksel bitkisel ilaçlardan biridir. Son zamanlarda, Çin'de insan bağışıklığını güçlendirerek hastalıkları önlemek için sağlığa fayda sağlayan fonksiyonel bir çay olarak kullanılmıştır. İmmün ayarlayıcı aktiviteye sahip sekonder metabolitlerin araştırılması yapıldığı bu çalışmada 6 yeni diterpenoid (Salmiltiorin A, B, C, D, E ve F bileşikleri) ve 20 bilinen diterpen bileşikleri izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler arasında salmiltiorin C, R0-09-0680, miltirone ve 2α -asetoksisugiol bileşikleri 2.50 ile 40 μ M arasındaki konsantrasyonlarda HMy2.CIR'nin proliferasyonu ile lenfositler üzerinde koruyucu bir etki gösterirken oysaki bileşikler salmiltiorin B, danshenol A, 15-epi-danshenol A, tanshinone I, tanshinone IIA, (-)danshexinkun A bileşikleri hücre çoğalmasını konsantrasyona bağlı bir şekilde inhibe etmiştir (61).

Salvia cinsinin birçok taksonu bitkisel içeceklerde, gıda aromalarında, kozmetik ürünlerinde ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır. *Salvia eriophora* yapraklarının kimyasal bileşikleri, LC-MS/MS cihazı ile belirlenmiştir. Salvigenin (158.64 ± 10.8 mg/kg), fumarik asit (123.09 ± 8.54 mg/kg) ve kuersetagetin- 3,6- dimetileter (37.85 ± 7.09 mg/kg) bileşikleri etanol ekstresinin majör bileşikleri olarak saptanırken fumarik asit (555.96 ± 38.56 mg/kg), kaffeik asit (103.62 ± 20.51 mg/kg) ve epikateşin (83.19 ± 8.43 mg/kg) bileşikleri ise su ekstresinin ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, *S. eriophora*'nın asetilkolinesteraz (AChE), α -amilaz (AM), butirilkolinesteraz (BChE) ve α -glikosidaz (AG) enzimlerine karşı enzim inhibisyonu çalışılmıştır. AChE, BChE, AG ve AM enzimleri, *S. eriophora* su ekstresi (WES) ve *S. eriophora* metanol ekstresi (MES) tarafından çok kuvvetli bir şekilde inhibe edilmiştir (62).

Her ne kadar Türkiye'den bazı *Salvia* türlerinde sekonder metabolitler üzerinde karşılaştırmalı analizler bildirilmiş olsa da, halüsinojenik kimyasalları tam olarak

taranmamıştır. 40 *Salvia* türünün psikoaktif bileşenler olan Salvinorin A ve salvinorin B bileşenlerinin LC – MS/MS analizi yapılmıştır. *Salvia* türlerinin çok azı (*S. taniita*, *S. cryptantha* ve *S. glutinosa*) nispeten yüksek seviyelerde salvinorin A içermiştir (sırasıyla, $212.86 \pm 20.46 \mu\text{g/g}$, $51.50 \pm 4.95 \mu\text{g/g}$ ve $38.92 \pm 3.74 \mu\text{g/g}$). Ayrıca salvinorin B bileşiği *S. Adenocaulon*, *S. cryptantha* ve *S. potentillifolia* türlerinde sırasıyla $768.78 \pm 75.90 \mu\text{g/g}$, $402.24 \pm 39.71 \mu\text{g/g}$ ve $2351.99 \pm 232.22 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Türkiye'deki 40 *Salvia* türünün psikoaktif bileşenleri, salvinorin A ve salvinorin B psikoaktif bileşenler açısından taranmasının ilk sonucu bu çalışmada alınmıştır (63).

Kıbrıs'ta doğal olarak yetişen *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge bitkisinin topraküstü kısımlarından, bir yeni ve bir bilinen asetofenon, bir megastigman glikozit, beş fenolik türev, iki kafeik asit oligomeri, üç flavonoit, iki lignan, iki triterpen asit, bir monoterpen glikozit ve iki yağ asidi olmak üzere yirmi bileşik izole edilmiştir. 4-hidroksi-asetofenon, 4-O-(3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoil)- β -D Glikopiranosid bileşikleri ilk kez doğal olarak bu çalışmada elde edilmiştir (64).

Salvia miltiorrhiza'nın kökleri (“Danshen”), Çin bitkisel tıbbında yüzyıllardır kullanılmaktadır. Maddenin aktif bileşenlerinin tam yapısı bilinmemekle birlikte, örneklerden elde edilen ekstrelerde büyük miktarda tansinon bileşiği bulunmaktadır. Son yıllarda, tanshinonların, esterlenmiş ilaçların biyolojik aktivitesini modüle etme kabiliyetine sahip, güçlü insan karboksilesteraz (CE) inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada enzimlerin geri dönüşümsüz daha aktif inhibitörleri ayrıca bulunmuştur. Tansinon bileşikleri saflaştırılmış, yapıları belirlenmiş ve bunların anhidrit türevleri sentezlenmiştir. Bu bileşikler son derece etkili inhibitörlerdir ve hem in vitro hem de hücre kültürü sistemlerinde insan CE'lerini etkisiz hale getirebilir ve esterleşmiş ilaç oseltamivirin metabolizmasını düzenleyebilmektedir. Sadece tansinonlarla gözlenen geçici inhibisyon değil aynı zamanda anhidritlerle etkileşimden ortaya çıkan uzun geri dönüşümsüz inhibisyondan dolayı Danshen ekstrelerinin ester kemotipini ihtiva eden ilaçlarla birlikte uygulanması minimize edilmelidir (65).

Salvia cinsi geleneksel tıp, parfüm, gıda ve farmasötik endüstrisinde kullanımlarında dolayı ekonomik öneme sahiptirler. *Salvia urmiensis* Bunge. 'in

çeşitli ekstraları ve uçucu yağları, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz, nörodejenerasyon ile bağlantılı enzimler ve α -amilaz ve α -glukosidaza karşı (diyabet mellitusta; DM) inhibe edici aktiviteleri açısından taranmıştır. Ayrıca bitkinin yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri de belirlenmiştir. Test edilen örnekler orta ile yüksek anti-diyabetik potansiyel ($IC_{50} = 8-145 \mu\text{g/mL}$) ve orta derecede antikolinesteraz aktivitesi ($IC_{50} = 44-892 \mu\text{g/mL}$) göstermiştir. Yaprakların uçucu yağı, etil linoleat (% 19), metil heksadekanoat (%17) ve metil linoleat (%7.5) gibi ester bileşikler açısından zengin olduğu belirlenmiştir. Çiçeklerin uçucu yağının ana bileşiği 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (%55.7) olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre *S. urmiensis* bitkisi fonksiyonel gıdalar ve farmasötikler için değerli bir kaynak olarak düşünülebilir olduğu belirtilmiştir (66).

Fenolik asitler, biyolojik aromatik sekonder bitki metabolitleri, bitkiler aleminde yaygın olarak dağılmaktadır. Sekonder metabolitler olarak fenolik asitlerin biyolojik öneminden dolayı fenolik asitlerin belirlenmesi için analitik yöntemlerin geliştirilmesi çok önemlidir. Bu çalışmada, Türkiye'den *Salvia pocalata* Nab'in metanol ekstresinde, kafeik asit, fumarik asit, p-kumarik asit, sirinjik asidi ve t-ferulik asit bileşikler için basit, hızlı bir LC-MS/MS yöntemi geliştirilerek miktarları sırasıyla $88,69 \pm 6,48$, $1095,16 \pm 101,53$, $57,43 \pm 4,25$, $10,23 \pm 2,35$ ve $169,34 \pm 15,44 \mu\text{g/g}$ ekstre bulunmuştur (67).

Salvia trichoclada Benth (Lamiaceae) bitkisinin topraküstü kısımlarının metanol ekstresi, biyoaktif uçucu olmayan sekonder metabolitleri çalışılmış ve dokuz bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin lupeol, lupenon, gloşidon, monoginol A, oleanolik asit, ursolik asit, β -sitosterol, apigenin-7-O-ramnozid ve rozmarinik asit olduğu belirlenmiştir. Bir lupan triterpen olan gloşidon bileşiği bir *Salvia* türü ve Lamiaceae familyasından ilk defa bu çalışmada izole edilmiştir. Ekstrenin ve izole edilmiş bileşiklerin antioksidan etkinlikleri, lipit peroksidasyon aktivite (β -karoten yöntemi) ve DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Antikolinesteraz aktiviteleri, hem asetilkolinesteraz (AChE) hem de bütirikolinesteraz enzimlerine karşı Ellman metodu ile araştırılmıştır. Lupeol, gloşidon, oleanolik asit, ursolik asit, apigenin-7-O-ramnozid

ve rozmarinik asit bileşikleri hemen hemen bütün konsantrasyonlarda oldukça yüksek antikolinesteraz aktivitesi göstermiştir. Bunlar arasında, bir flavon glikozit olan apigenin-7-O-ramnozid en yüksek ve seçici AChE inhibe edici aktivite sergilemiştir. Gloşidon'un izole lupanlar arasında en aktif olduğu bulunmuştur, bu da standart bileşik galantamin yakın bir aktivite göstermiştir. Test edilen tüm bileşikler arasında rozmarinik asit en yüksek antioksidan ve iyi antikolinesteraz aktiviteyi göstermiştir (68).

Salvia (Lamiaceae) cinsine ait bitkilerin çok çeşitli biyolojik özelliklere sahip oldukları bilinmektedir. Bu çalışmada *Salvia sclareoides* Brot. bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraların kimyasal bileşimleri, toksisiteleri, biyoaktiviteleri ve in vitro gastrointestinal koşullar altında stabiliteyi araştırılmıştır. Süperkritik akışkan ekstrenin bileşimi GC ve GC-MS ile belirlenirken, infüzyon bileşenlerinin tanımlanması HPLC-DAD ve LC-MS cihazları ile yapılmıştır. Her iki ekstrenin (0-2 mg/mL) in vitro sitotoksitesi, MTT analizi ile Caco-2 hücre hatlarında değerlendirilmiştir. Antienflamatuar ve antikolinesteraz aktiviteyi, siklooksijenaz-1 ve asetilkolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu ile belirlenirken, β -karoten/linoleik asit testi ve DPPH testleri antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için kullanılmıştır. İnfüzyon ekstresi, siklooksijenaz-1 enzimini ($IC_{50} = 271.0 \mu\text{g/mL}$) ve asetilkolinesteraz ($IC_{50} = 487.7 \mu\text{g/mL}$) enzimlerini inhibe ederken, DPPH ($IC_{50} = 10.4 \mu\text{g/mL}$) ve β -karoten/linoleik asit ($IC_{50} = 30.0 \mu\text{g/mL}$) yöntemlerinde güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Nöroprotektif, antienflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip bir biyoaktif içerik kaynağı olan *S. sclareoides* bitkisinin infüzyon ekstresi in vitro sindirimden sonra bileşiminde ve biyoaktivitelerinde önemli değişiklikler gözlenmemiştir (69).

Fitocoğrafik çeşitliliğin, tıbbi bitkilerde sekonder metabolitlerin regülasyonu üzerinde aşağı yukarı etkisi vardır. *Salvia miltiorrhiza*'daki ikincil metabolitler üzerindeki çevresel faktörlerin Çin'in doğal habitatlarında farklı topografik koşullar ile etkileri analiz edilmiştir. Kemotipik varyasyon, topraktaki mikro besinlerden ziyade iklim faktörleriyle de bağlantılı olmuştur. Veriler, tanşinonların fenolik asitlerle karşılaştırıldığında ekolojik faktörlerdeki değişikliklerden etkilenme ihtimalinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Tanşinon içeriği, yıllık güneş

ışığı süresi ile pozitif korelasyon gösterirken (korelasyon katsayıları 0,379 ile 0,730, $p < 0,01$ ile 0,05) yıllık ortalama sıcaklıkla (korelasyon katsayıları -0.358 ile -0.718, $p < 0,01$ ile 0.05 arasında) ve yıllık ortalama yağışla (korelasyon katsayıları -0.425 ile -0.679, $p < 0,01$ arasında) negatif korelasyon göstermektedir. Salvianolik asit B (korelasyon katsayıları -0.137, 0.084, 0.19), kafeik asit (korelasyon katsayıları -0.336, 0.246, 0.216, $p < 0,05$) ve rozmarinik asit'te (korelasyon katsayıları -0.518, 0.475, 0.493, $p < 0,01$) tersi durum bulunmuştur. Mikro besinler arasında, Ba, Al ve Mg toprak konsantrasyonları tanşinon içeriği ile pozitif korelasyon gösterirken, ancak Pb tanşinon içeriği ile negatif korelasyon sergilemiştir. Toplam N ve K, çoğu fenolik asit üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Ba, salvianolik asit B (korelasyon katsayısı -0.281) ve rozmarinik asit (korelasyon katsayısı -0.367, $p < 0,05$) üzerinde belirgin bir şekilde negatif ve doğrudan etkiler göstermiştir. Toplanan örnekler arasında *S. miltiorrhiza*'nın elit kemotipi, tanşinonlar ve fenolik asitler gibi endüstriyel olarak uygulanabilir sekonder metabolitlerin miktarlarına fito-coğrafik koşulların korelasyonunu ifade etmektedir. Bu durum fitocoğrafik bölgelere benzer alanlarda ticari talepleri karşılamak ve bu endüstriyel mahsulün tarımsal kalkınması için tarım uygulamalarını teşvik etmek, yüksek metabolit üreten numunelerin sahaya özel olarak keşfedilmesine yardımcı olmaktadır (70).

Çince de Dansen diye geçen (DS) ve *S. miltiorrhiza* Bunge'nin kurutulmuş kökü veya rizomu olan *S. miltiorrhiza* Radix et Rhizoma bitkisinin ana bileşenlerinin fenolik asit ve diterpen olduğu belirlenmiştir. Çince'de Honghua (HH) diye geçen, *Carthamus tinctorius* L.'nin kurutulmuş çiçeği olan Carthami Flos genellikle flavonoitler, yağ asitleri, uçucu yağlar ve polisakaritlerden oluştuğu belirlenmiştir. DS, HH ve bitki çiftinin, koroner kalp hastalıklarını, kronik kalp yetmezliğini, hipertansiyonu, adet bozukluklarını, serebrovasküler hastalıkları ve diğer kardiyovasküler hastalıkları tedavi etmek için kullanılabileceği bununla birlikte kanı aktive ederek tıkanıklığı engelleyebileceği görülmüştür. Ren ve ark. kardiyovasküler hastalıklarda antioksidan aktivite ile pıhtılaşmayla ilgili fibrinolitik sistem arasındaki ilişkiyi araştırarak antioksidan enzim aktivitesi azaldığında fibrinoliz aktivitesinin zayıfladığı sonucunu elde etmişlerdir. Khullar ve ark. hipertansif hastalarda glutatyon gibi antioksidan maddelerde önemli bir azalma olduğunu bildirmiştir. Yaptıkları bu çalışmanın amacı, DH bitkisel çiftindeki aktif bileşiklerin 1,1-difenil-2-

trinitrofenilhidrazin (DPPH) indirgeme yöntemine göre radikal süpürücü etkilerinin incelenmesidir. İlk olarak, DH bitkisel çiftinin farklı oranlardaki su ekstraları (DS: HH= 1: 0, 0: 1, 1: 1, 2: 1,3: 1, 5: 1, 1: 5, 1: 3 ve 1: 2) hazırlanmıştır. Daha sonra DH bitkisel çiftin ve tekli ilaçların DPPH üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. DH ekstraktlarının kimyasal analizi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi uygulanmıştır. Tek ilaçlarla karşılaştırıldığında, bitkisel çiftlerin ekstralarının DPPH'ye göre daha yüksek temizleme oranına sahip olduğu bulunmuştur. DH bitki çiftinin ekstraktındaki 18 potansiyel aktif bileşik olduğu tahmin edilmiştir ve bunlardan 13'ü LC-MS analizi ile tanımlanmıştır. DH bitkisel çiftinden sekiz saf bileşiğin antioksidan aktiviteleri, pozitif kontrol ilacı olarak Vitamin C ve DPPH indirgeme yöntemi ile kanıtlanmıştır. Bunlar arasında danshensu dahil altı bileşik, protokateşik asit, kafeik asit, klorojenik asit, rutin ve salvianolik asit A'nın yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (71).

Salvia thomasii'nin (Güney İtalya) uçucu yağ profilini araştırmak ve bu taksonomik birimin *S. fruticosa* ile ilişkisini değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Hidrodistillasyon ile elde edilen uçucu yağ, gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Ana bileşenlerin β -pinen, viridiflorol, 1,8-sineol, kafur, α -pinen ve trans-karyofillen olduğu bulunmuştur. Yağ, DPPH, FRAP ve β -karoten yöntemleri kullanılarak potansiyel antioksidan aktivitesi için analiz edilmiştir. Esansiyel yağın nöroprotektif etkisini taramak için asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibe edici aktivite analizleri kullanılmıştır. Zayıf morfolojik farklılıkları ve açık coğrafi ayrımı göz önüne alarak, İtalyan bitkisini alt türler düzeyinde *Salvia fruticosa* Mill subsp. *thomasii* (Lacaita) Brullo, Guglielmo, Pavone & Terrasi olarak ele almayı önermektedir (72).

Gaz kromatografisi ile belirlendiği üzere Murcia'da (İspanya) yetiştirilen *Salvia lavandulifolia* (Vahl) bitkisinden elde edilen esansiyel yağlarının (SIEOs) bileşimini tarif edilmektedir. Bağlı ve mutlak konsantrasyonlar, kiral bileşiklerin enantiyomerik oranları ve in vitro antioksidan, antienzimatik ve antimikrobiyal aktiviteler belirlenmiştir. SIEO'ların ana bileşenleri kafur, 1,8 sineol, kampen ve α -pinen ve ana enantiyomerler (+) - kafur ve (-) - kampfen olarak bulunmuştur. SIEO-3, ORAC,

DPPH, ABTS ve azaltıcı güç yöntemlerinde en yüksek etkinliği gösterirken SIEO-1 ise en yüksek şelatlama gücünü göstermiştir. Lipoksijenaz ve asetilkolinesteraz aktivitesi tüm SIEO'lar tarafından inhibe edilebilir ancak lipoksijenaza karşı en aktif bireysel bileşikler bornil asetat ve limonen olup asetilkolinesteraza karşı 1,8-sineol olduğu belirlenmiştir. SIEO'lar ve bazı bireysel bileşikler *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmaları inhibe etmiştir (73).

Bitkilerden elde edilen doğal ürünler, atalardan beri dünya çapında çok çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. *Salvia* (Sage) cinsinin bitkilerinin çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Özellikle, bazı *Salvia* türleri geleneksel tıpta, *Trypanosoma*, *Leishmania* ve *Plasmodium* cinsi gibi protozoan parazitlerinin neden olduğu hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Bilimsel çalışmalar, bu bitkilerden izole edilmiş çeşitli bileşenlerin bu patojenlere karşı etkinliğini göstermiştir (74).

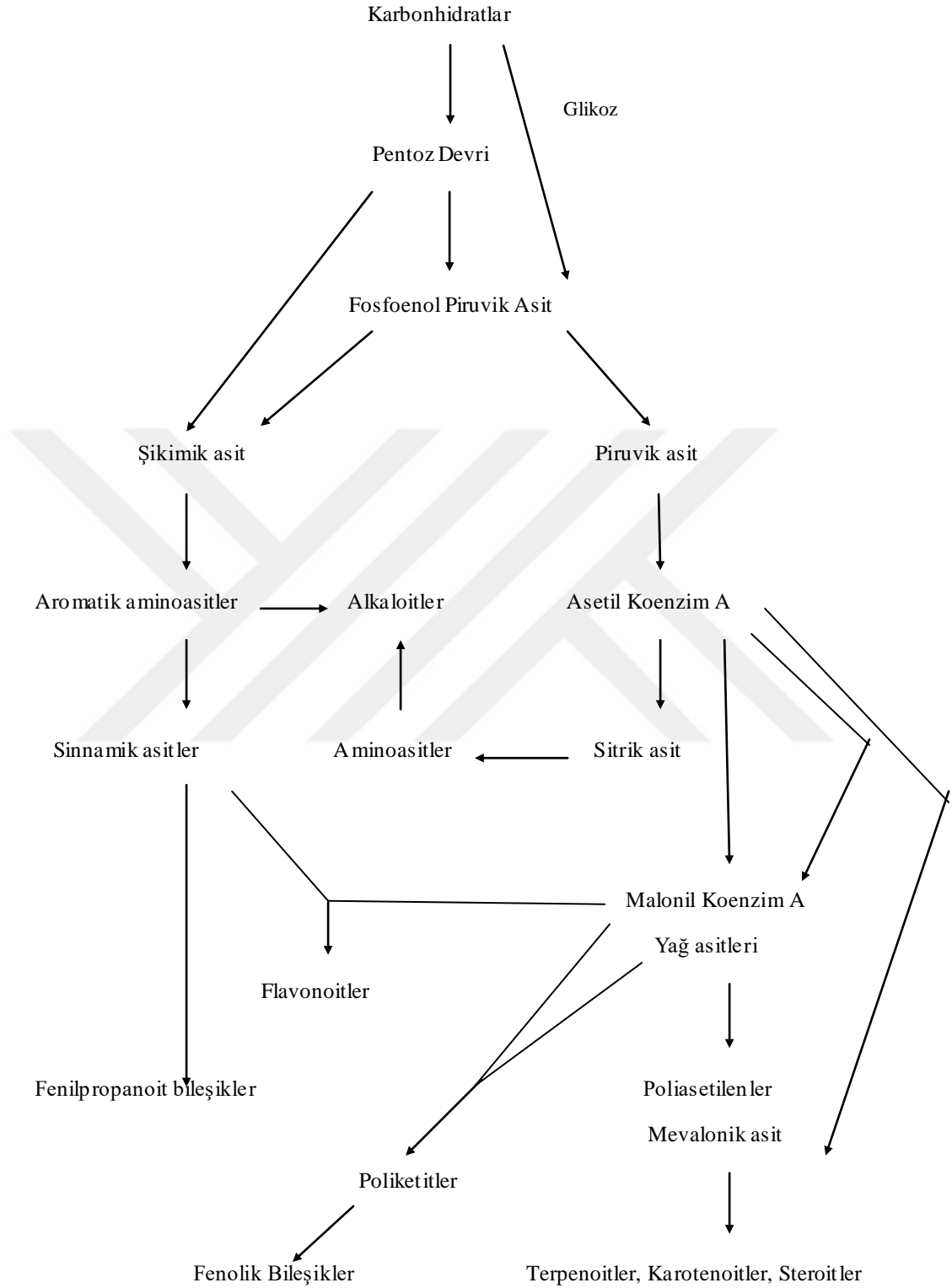
3.4. Sekonder Metabolitler

Bitkilerin hayati fonksiyonlarını yerine getirebilmek için gerekli olan lipitler, aminoasitler, şekerler ve yağlar gibi primer metabolitlerden enzimatik yolla oluşan (75) ve bitkinin savunma mekanizmasında yer alan sekonder metabolitler ilaç etken maddeleri olarak önemli yere sahiptir (76).

Klorofil+ CO₂ + Güneş Işığı

Fotosentez

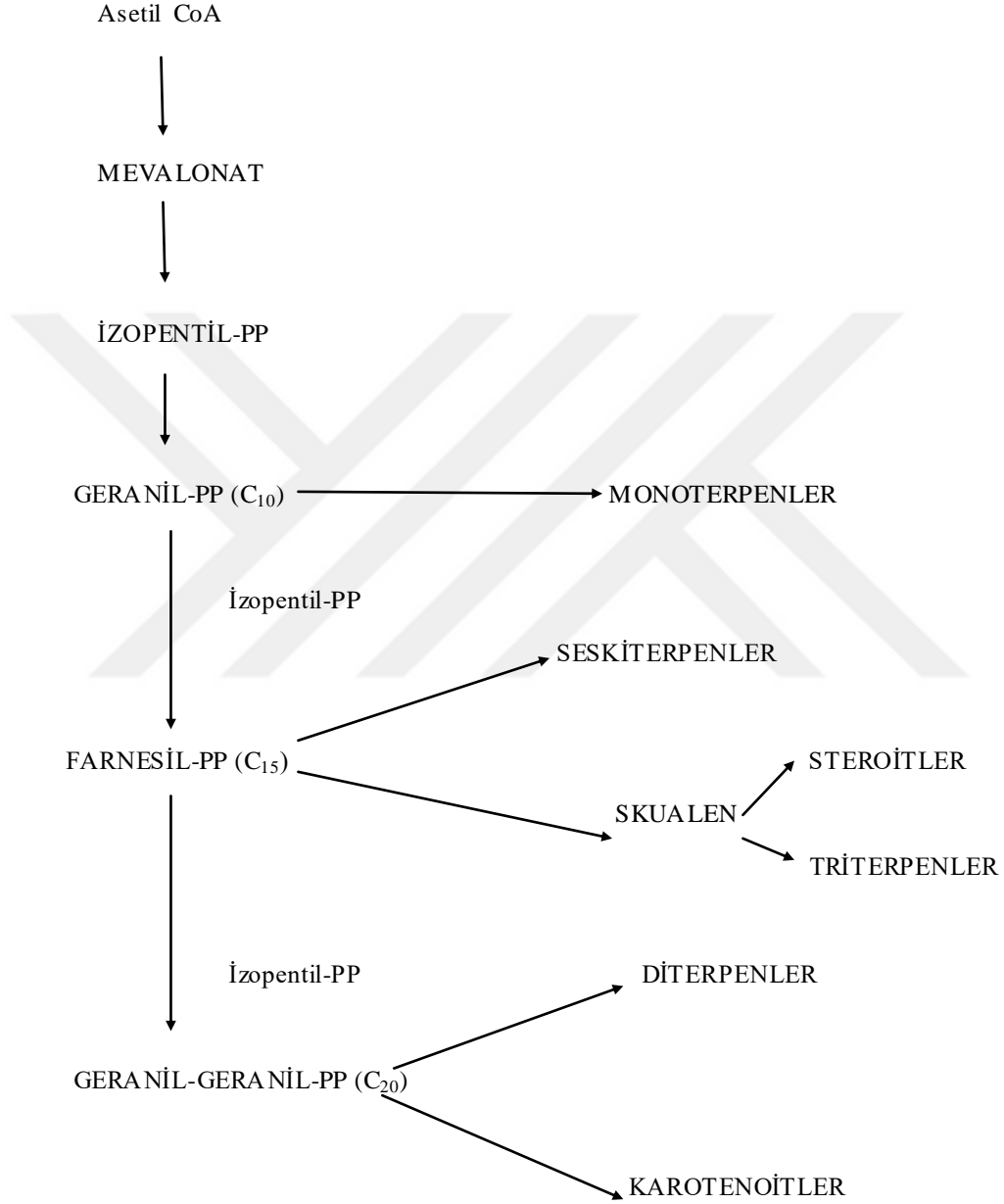




Şekil 1. Sekonder metabolitlerin oluşumu

3.4.1 Terpenler

Doğal ürünlerin büyük bir kısmını terpenler oluştururlar (77). Terpenler sadece hidrokarbon içerebildikleri gibi oksijen içeren alkol, asit, keton ve aldehit grubunda içerirler. İçerdikleri gruplara göre isimlendirilirler. Örneğin oksijen içeren terpenler terpenoit olarak adlandırılır. *Salvia* bitkisinin temel bileşenlerinden biridir.



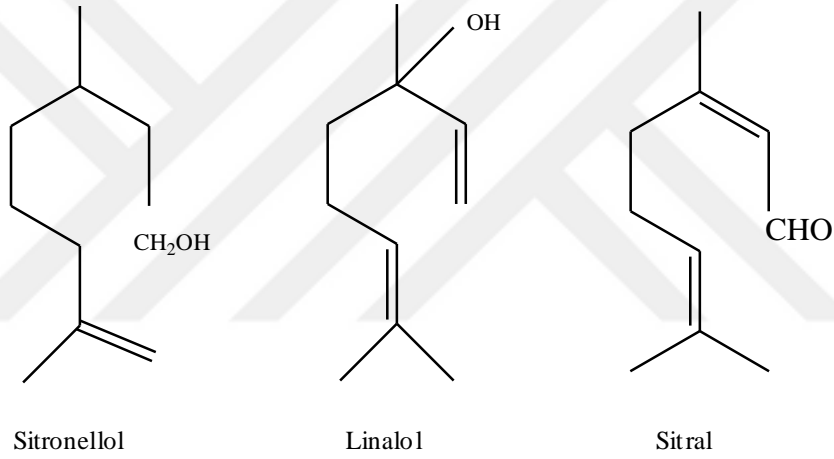
Şekil 2. Terpen bileşiklerinin oluşumu

3.4.1.1. Monoterpenler

İki izopren çekirdeğinden birleşmesiyle oluşan monoterpenlerde otuz sekiz çeşit yapıyla karşılaşmıştır. Monoterpenlerden en çok kullanılan yapılar α -pinen ve β -pinen'dir. Monoterpenlerin farmasötik ve tıbbi özellikleri sebebiyle kullanımı vardır. İçerdikleri bağ sayısı ve halka yapıları gözönüne alınmak üzere üç grupta incelenirler (78).

Asiklik monoterpenler: Düz zincir halindedir ve 3 çift bağ taşırlar. Optikçe aktiflikleri yapılarında taşıdıkları asimetric karbon atomundan kaynaklıdır. Sitral, geraniol örnek verilebilir.

Asiklik monoterpenlerin oksijenli türevleri farmakognozık açıdan daha değerlidir.



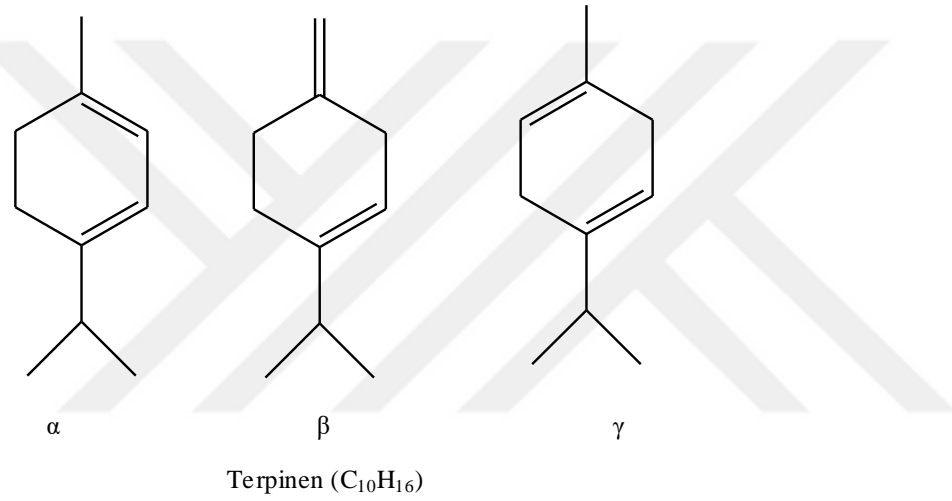
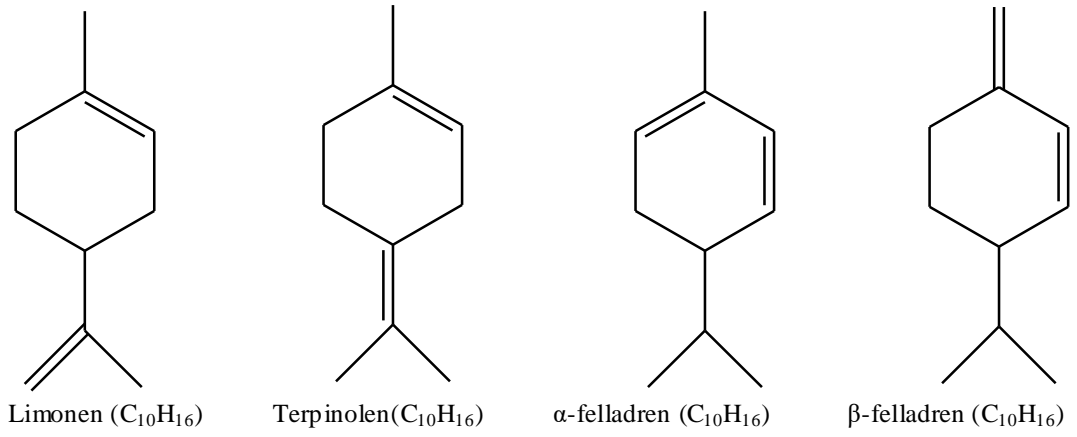
(monoetilenik primer alkol)

(dietilenik tersiyer alkol)

(dietilenik aldehit)

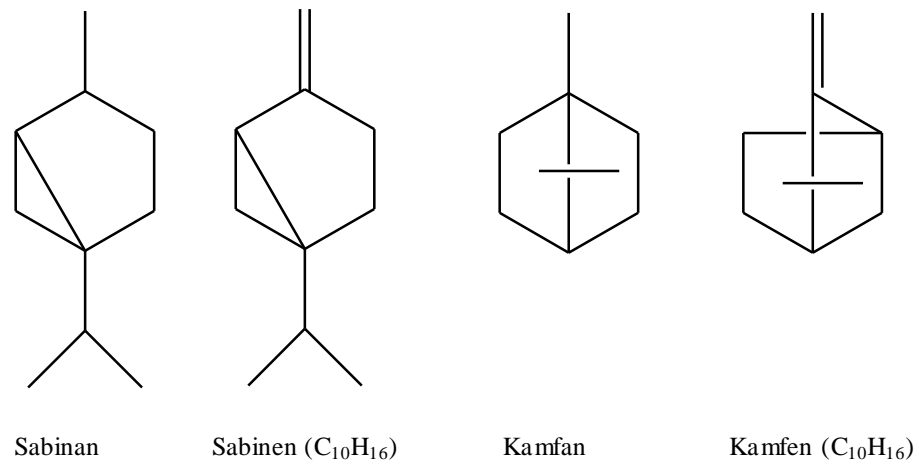
Şekil 3. Asiklik monoterpenler

Monosiklik monoterpenler: Terpinen ve menton örnek verilebilir.



Şekil 4. Monosiklik monoterpenler

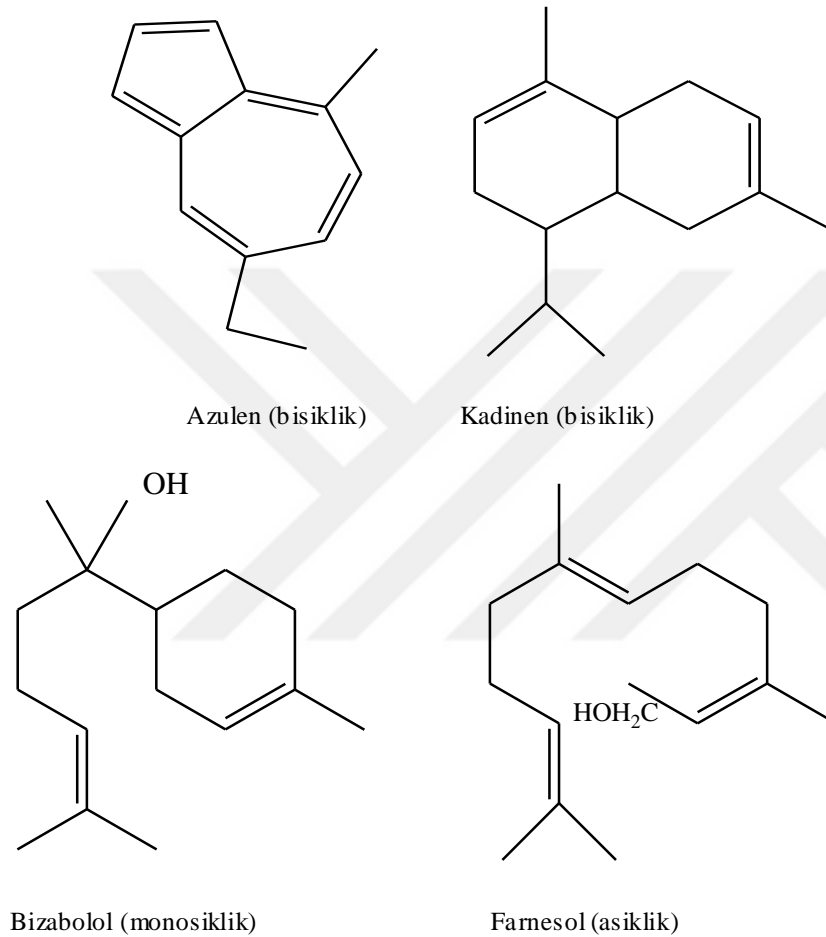
Bisiklik monoterpenler: Kamfen ve sabinen örnek verilebilir.



Şekil 5. Bisiklik monoterpen örnekleri

3.4.1.2. Seskiterpenoiller (C_{15})

Seskiterpenlerin büyük bir kısmı uçucu yağların içeriğinde bulunur ve farmakolojik etkilerinden sorumludur. Fitotoksik ve antimikrobiyal etkilere sahiptirler. Seskiterpen laktonlar temel olarak Astraceae familyasında bulunur. *Salvia* türlerinde nadir olarak bulunurlar. Bunların da asiklik, monosiklik, bisiklik ve oksijenli türevleri bulunur.



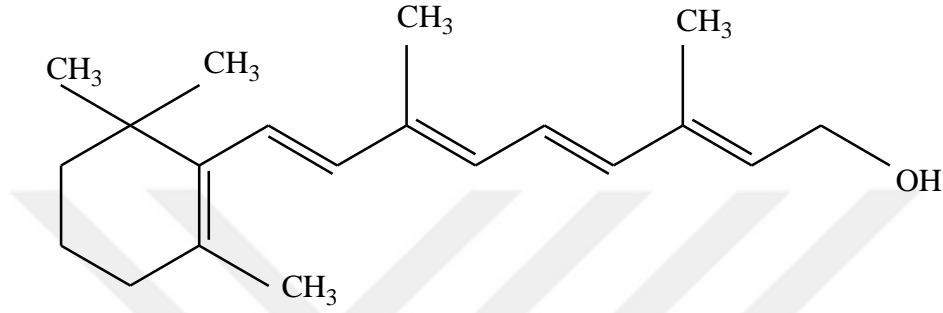
Şekil 6.Seskiterpen örnekleri

3.4.1.3. Diterpenler(C₂₀)

Diterpen kelimesi yalnızca bileşimi C₂₀H₃₂ olan uçucu yağların hidrokarbon bileşenleri için geçerli olmaktadır. Diterpen hidrokarbonları doğal ürünlerde nadiren meydana gelmektedir. Bunun yerine türevleri şeklinde bulunurlar ve bunlar diterpenoitler olarak isimlendirilirler. Bitkiler âleminde yaygın olarak bulunan, 20 C'lu birçok farmakolojik kullanım ve etkiye sahip olan yapılardır. Diterpenler kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi gruplandırılabilir:

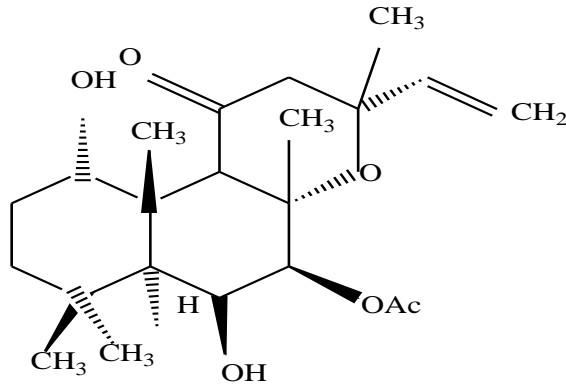
Asiklik diterpenler: Ender bulunan diterpenler olup genellikle deniz ürünlerinden elde edilmektedir. Yeşil algler linear yapıdaki asiklik diterpenler için bir kaynak oluşturmaktadır (79). Osimen, geraniol, farnesol türevleri ve oksepan diterpenler bunlara ait örneklerdendir.

Monosiklik diterpenler: Doğada en fazla bulunan ve en önemli monosiklik diterpen A1 vitamini (Retinol) dir.



Şekil 7. Monosiklik diterpen A Vitamini

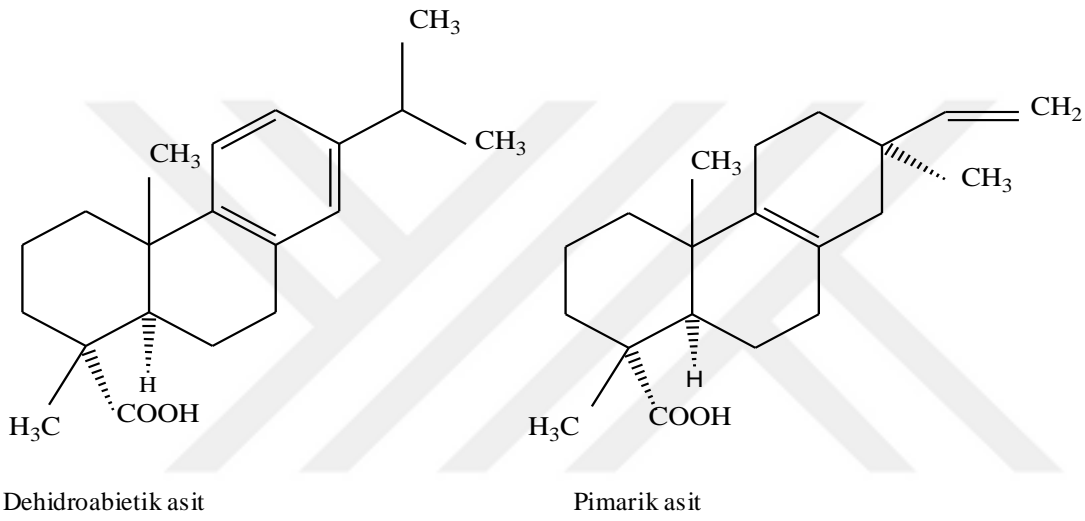
Bisiklik diterpenler: Labdanlar, klerodan ve neoklerodanlar olmak üzere iki grupta incelenirler. Labdanlar özellikle Compositae ve Lamiaceae familyalarındaki bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bunlardan forskolin *Coleus forskohlii* bitkisinden izole edilen ve antihipertensif etkisi saptanmış labdan yapısında önemli bir bisiklik diterpenidir (79). Klerodanlar ve neoklerodanlar başlıca *Teucrium* türleri olmak üzere, *Ajuga* ve *Scutellaria* türlerinden de elde edilen ve insekt etki gösteren bisiklik diterpenlerdir (80).



Şekil 8. Bisiklik Diterpen Forskolin

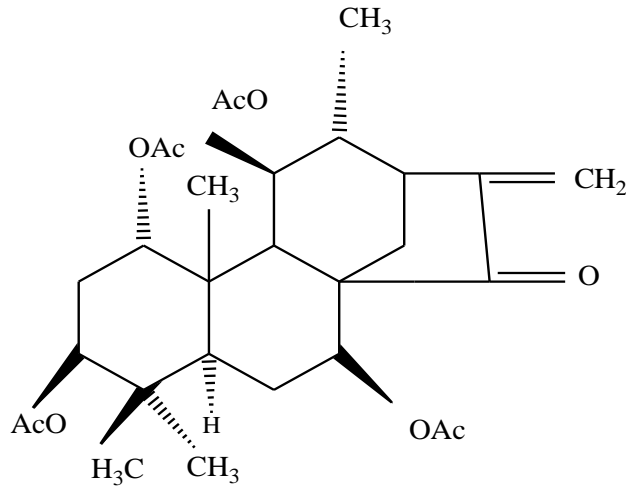
Trisiklik diterpenler: Bu grubun başlıca bileşiklerini abietan ve pimarane diterpenler oluşturur. Fosil reçineleri üzerinde yapılan bir çalışmada büyük miktarda abietan

yapısındaki dehidroabietik asiti içerdiği belirlenmiştir. Böylece bu yapıları içeren bileşikler üzerine antibakteriyel aktivite çalışmaları yapılmış ve bu aktiviteye sahip çok sayıda bileşik izole edilmiştir. Özellikle *Salvia* türleri oksijenli abietanların ve onların türev ürünlerini içeren zengin bir kaynak teşkil etmektedirler (81). Pimarın yapısında trisiklik diterpen olan pimarik asit bileşiği birçok bitkide tespit edilmiştir. Pinaceae reçineleri de pimarın ve abietan yapısında diterpenler bakımından oldukça zengindir (82).



Şekil 9. Trisiklik diterpenler Örnekleri

Tetrasiklik diterpenler: Bu gruba pek çok değişik diterpen girmektedir. Çin geleneksel tıbbında çok geniş bir kullanımı olan *Rabdosia* (Lamiaceae) cinsinden çok sayıda kauren yapısında bileşik izole edilmiştir. Bunlara bulyanın bileşiği örnek gösterilebilir (83).



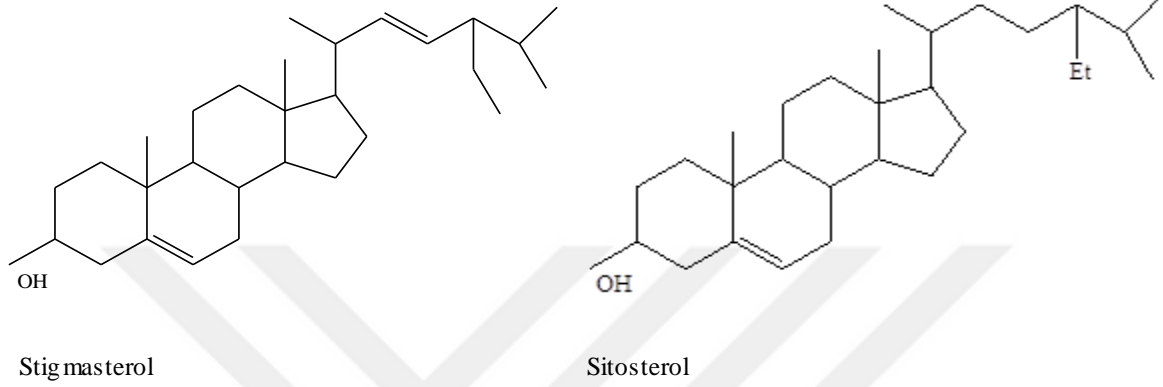
Şekil 10. Tetrasiklik Diterpen Bulyanin

Şimdiye kadar bitkilerden az sayıda beyeren, atiseren ve trakiloban yapısında tetrasiklik diterpen elde edilmiştir. Gibberellinler bitkilerde yaygın olarak bulunan büyümeyi stimüle eden önemli tetrasiklik diterpenlerdir. *Kalmia angustifolia* bitkisinden elde edilen grayanotoksin yapısındaki kalmanol bileşiği kardiyak özellik göstermesi nedeniyle ilgi çekmiştir (79).

Makrosiklik diterpenler: Makrosiklik diterpenler sembran, jatrofan, dafnan, ingenan, takson, fuzikokan, latiran olarak yedi sınıfa ayrılırlar. Tütün yaprak ve çiçeklerinden çok sayıda sembran yapısında makrosiklik diterpen bulunmuştur. *Euphorbia* türlerinden jatrofan ve ingenan yapısında bileşikler elde edilmiştir. Bu cins önemli biyolojik etkinlik gösteren makrosiklik diterpenler açısından zengin bir kaynak oluşturmaktadır. Örneğin *E. kamerunica* bitkisinden elde edilen ingenan yapısındaki ingol esterlerinin sitotoksik etkileri belirlenmiştir (84). Taksonlar ise önemli biyolojik aktiviteler gösteren makrosiklik diterpenler olup özellikle *Taxus* türlerinden elde edilen makrosiklik diterpenlerin bir kısmı alkaloid yapıda olduklarından dolayı kuvvetli antitümör etki göstermiştir. Bunlardan taksol Amerika'da kanser tedavisinde klinikte kullanılmakta olup başarılı sonuçlar elde edilmiştir ve bu nedenle yarı sentez yoluyla da elde edilmektedir (85).

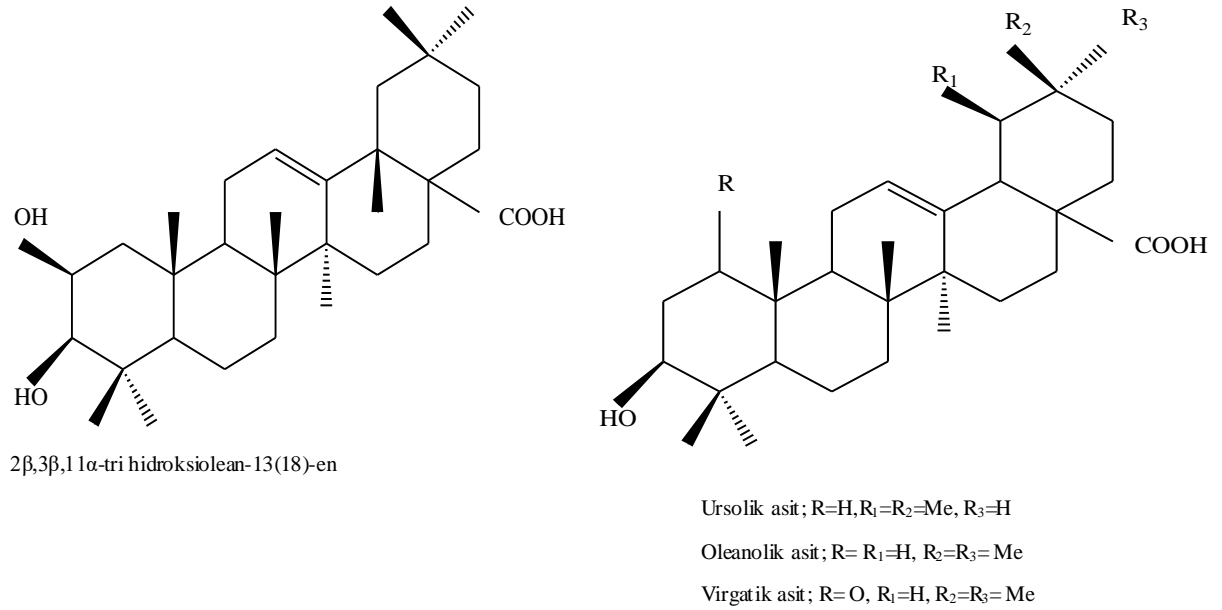
3.4.1.4. Triterpenler

Triterpenler karakterizasyonu zor olan yapılar olup altı izopren çekirdeğinden oluşan, 30 C'lu bileşiklerdir. Triterpenler izolasyonu ana ayırma yöntemlerinden olan TLC ve GLC teknikleridir.



Şekil 11. Triterpen Örnekleri

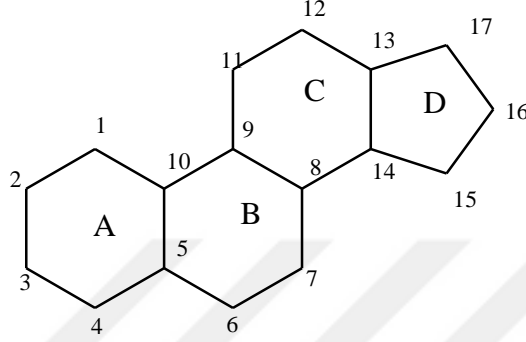
Salvia bitkisinde ursolik asit ve oleanolik asit en yaygın bulunan triterpenoitlerdir ve *S. officinalis* L. bitkisinden elde edilmiştir. Sonrasında yapılan çalışmalarda *S. Virgata* Jacq. bitkisinden elde edilen bileşikler aşağıda verilmiştir.



Şekil 12. *Salvia* Türlerinden Elde Edilen Bazı Triterpenlerin Yapısı

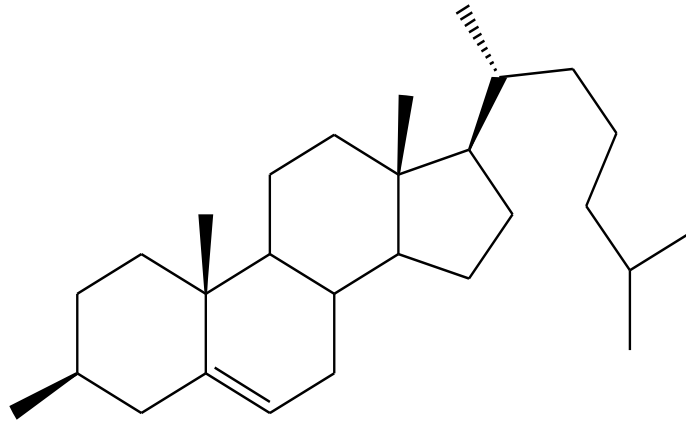
3.4.2.Steroidler

Tüm steroid molekülleri, bir trisiklik aromatik hidrokarbon olan doymuş fenantren türevleridir. Her steroid molekülünün temel yapısı aynı zamanda kaynaşmış bir siklopentan halkası içerir.



Şekil 13. Steroitlerin iskelet yapısı

Bitki kaynaklı steroidler çoğunlukla 5.C'da çifte bağ, 17.C'da yan zincir, 3.C'da OH taşırlar. 3.C'daki hidroksil grubu, halkadaki metillerle dik açı yaptıkları takdirde A ve B halkaları *cis* halinde birleşirler. Yan zincirin konfigürasyonunda ise steroidlerin yapısında çoğunlukla β şeklindedir. C ile D, B ile C halkaları çoğunlukla *trans* olarak kaynaşır (86).



Şekil 14. Kolesterol

3.4.3 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, yapılarında en az bir tane hidroksil grubu taşıyan hoş kokulu bileşikler olup bitkilerin sekonder metabolizma ürünleri olarak gösterilirler. Flavonoidlerin serbest radikalleri yakalama (86), serbest radikal zincirini kırma, bakır, demir gibi elementlerle şelat yapma, trombositlerin toplanarak birleşmesi ve damar sertliğini engellemesi gibi sayabileceğimiz birçok özellikleri bulunmaktadır. Konjüge yapılarının ve hidroksil gruplarının hidrojen verici yapıda olması, bu yapılara antioksidan nitelik kazandırırken radikal oluşumunda etki gösteren ksantinoksidaz, lipoksigenaz enzimleri üzerinde inhibitör etki gösterirler (87-89). Fenolik bileşiklerin ilaçların bileşimine girmeleri, antimikrobiyal etkileri ve bağışıklık sistemi üzerinde güçlendirici etkileri gibi özellikleri belirgindir (90). Fenolik bileşikler sebze ve meyvelerde az miktarlar var olan, benzen halkası bulunduran yapılardır. Bitkisel kaynaklı fenolik bileşikler; fenolik asit ve flavonoid olarak sınıflandırılır. Fenolik asitler; benzoik ve sinamik asitler olarak altı bölüme ayrılırken; en kapsamlı grup olan flavonoidler ise izoantosiyanidinler, lökoantosiyanidinler ve proantosiyanidinler, flavanonlar, flavonlar ve kateşinler olmak üzere 5 alt grupta incelenirler (91). Fenolik bileşikler yapılarındaki karbon atomunun sayısına göre gruplandırılırlar.

3.4.4. Flavonoidler

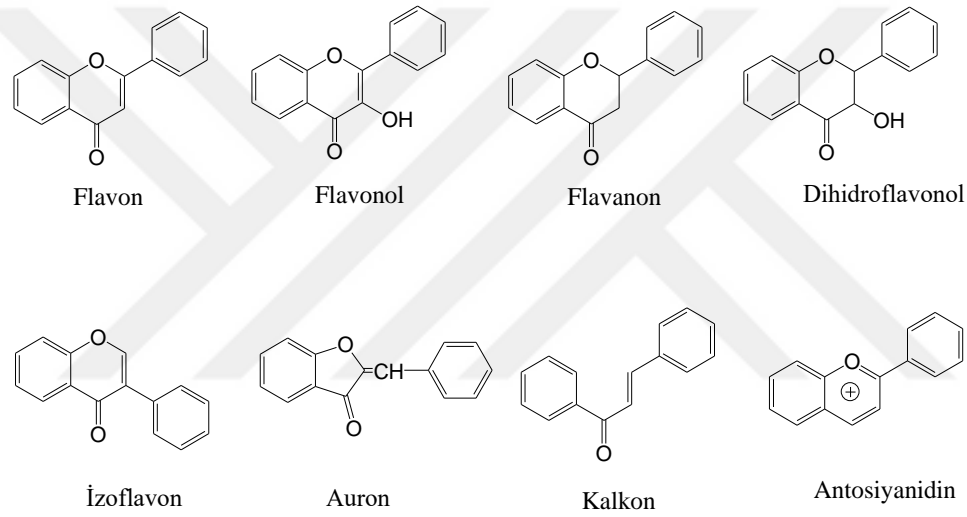
Flavonoidler fenolik bileşikler içindeki en önemli gruptur (92). Bugüne kadar beş binden fazla flavonoid belirlenmiştir. Hısıl ve Çam (93) flavonoidlerin bitkilerin fotosentezle meydana getirdikleri ve yaşamsal fonksiyonları için yaralandıkları karbonhidrat, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden oluştuklarını tespit etmişlerdir. Flavon bileşiklerinin yapısal açıdan antioksidan özelliklerinin nedenleri aşağıda kısaca belirtilen maddelerden olduğu düşünülmektedir (94).

1. Yapı üzerindeki hidroksil grupları, hidrojen vererek redoks reaksiyonuna girebilmektedirler, sonuç olarak bu durum serbest radikaller aleyhine bir durumdur.
2. Heterosiklik, çoklu doymamış ve aromatik bağlardan oluşan yapıları sayesinde dayanıklı bir delokalizasyon düzeni meydana gelir.

3. Metal kelatlama kapasitesi bulunan yapısal grupları aracılığıyla O^{2-} ve OH^- gibi reaktif oksijen çeşitlerinin oluşumunu engelleyebilmektedirler.

Farmasötik olarak önemli kabul edilen bitkilerin birçoğunda flavonoidlerin aktif maddeler olduğu üzerinde durulmaktadır. Bitkilerde çoğunlukla glikozitler halinde bulunan flavonoidler kimyasal stabiliteye sahip bileşiklerdir (94).

Biyosentez araştırmalarından çıkan sonuçlara bakıldığında fenil alanin benzeri aminoasitlerin enzimatik deaminasyonlarından meydana gelen sinamik asit benzeri malonil koenzim A ile birleşerek flavonoidleri oluştururlar. Karbon iskelet yapısı $C_6-C_3-C_6$ gibi olan flavonoidlerin ana iskeleti 15 karbondan oluşur (95).



Şekil 15. Flavonoid iskeletleri

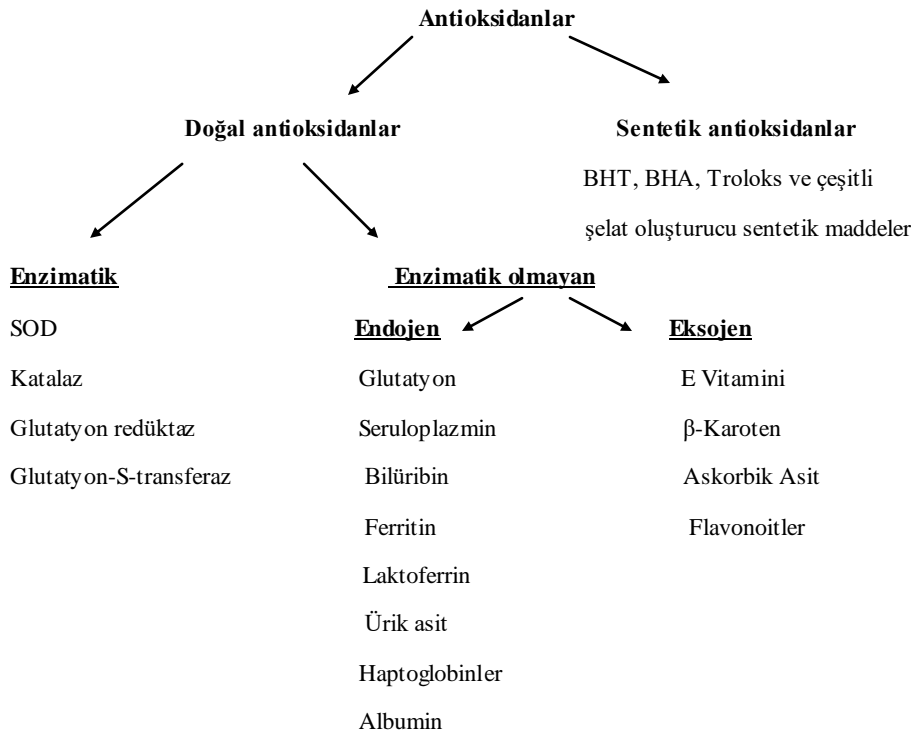
3.4.5. Yağ asitleri

Bir hidrokarbon zinciri içeren karboksilik asitler olan yağ asitleri vücutta iki önemli rol üstlenir; birincisi yapısı çok karışık membran lipidlerinin bir bileşeni olması, ikincisi triaçilgliserol halinde birikerek yağların en önemli yapılarından biri olmasıdır. Doymamış ve doymuş yağ asitleri, şeker türevleri (glikolipitler), uzun zincirli alkoller, gliserol (katı ve sıvı yağlar), fosfor içeren moleküllerle (fosfolipitler) esterleşmiş olarak meydana gelmektedirler.

3.5. Antioksidanlar

Yakın zamanda yapılan araştırmalarda reaktif oksijen ve nitrojenden dolayı oluşan oksidatif stresin romatoid artrit, diyabet, katarakt ve kanser gibi birçok inflamatuvar ve dejeneratif rahatsızlıklara neden olduğu ispatlanmıştır. Canlı sistemler, farklı sebeplerle (UV, kimyasal oksidanlar veya endojen etkenler) yüksek seviyede oluşan serbest radikallerle bu radikallerin temizlenmesinden sorumlu endojen ve dışarıdan alınan antioksidanlar arasında önemli bir denge vardır. Bu dengenin oksidanlar tarafında bozulması durumuna oksidatif stres denir ve bu birçok hastalığın çıkış noktasında yer alır. Endojen antioksidanların yetmediği durumlarda, organizmanın oksidatif stres oluşumunu engelleyebilmesi için eksojen antioksidan olarak desteklenmesi gerekir. Eksojen antioksidanlar genellikle yiyeceklerle, destek ilaçlarla alınabilen etkisinin antioksidan sistemi direkt ya da indirekt olarak gösteren moleküllerdir.

Oksidatif stresin oluşmasını destekleyen reaktif azot ve oksijen türleri gibi yapılarıdır (96).



Tablo 1. Antioksidanların sınıflandırılması

3.5.1. Antioksidan aktivite tayin metodları

Antioksidan aktivitenin belirlenebilmesi için kullanılan metodlardan bazıları aşağıda verilmiştir:

- CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) metodu (97).
- FRAP (Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan gücü) metodu (98).
- Folin Ciocalteu metodu (99).
- TRAP (Toplam radikal tutma parametresi) metodu (100).
- Luminol metodu (101).
- DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) metodu (102).
- DPPH serbest radikali giderim aktivitesi metodu (103).
- β -Karoten renk açılım metodu (104).
- ABTS katyon radikali giderim aktivitesi metodu (105).

3.6. Alzheimer Hastalığı

Alman psikiyatr ve nöropatolog Alois Alzheimer tarafından adlandırılan 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. Alzheimer hastalığının serbest radikallerle olan ilgisi serbest radikallerin beyin nöronlarına yaptığı hasarlardan kaynaklanır ve nöronlarda meydana gelen bu hasarlar Alzheimer hastalığının sebebi olarak görülmektedir. Alzheimerlı insanlarda beynin hippocampus ve neokorteks gibi yüksek zihinsel fonksiyonlarından mesul kısımlarında beyin hücrelerinde β -amiloid plaklar adı verilen protein birikimi olur. Bu değişimler bazı nörolojik hastalıkların yanında hafıza kaybıda görülen fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır.

3.6.1. Asetilkolinesteraz, butiril kolinesteraz inhibitörleri ve etki mekanizmaları

Alzheimer hastalığının öncelikli tedavisi semptomlarına yönelik olup hastalığın hafıza ve bilişsel belirtilerine odaklanılır. İkincil tedavisinde hastalığın ilerleyişiyle ortaya çıkan bunaltı, depresyon, ajitasyon ve uyku bozukluğu gibi belirtilerinin giderilmesini hedefleyerek hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır. Birincil bunama tedavisinde amaç hastalığın bilişsel belirtilerinde iyilik, olmazsa hastalığın gidişatını engellemek, hiç olmazsa yavaşlatmaktır.

ABD’de FDA Alzheimer hastalığının tedavisi için sadece kolinesteraz inhibitörlerini tasdiklemiştir. Kolinesteraz inhibitörlerinden Amerika’da ve Avrupa’da piyasada olan ilaçlar donepezil ve takrin’dir.

3.7. LC-MS/MS

LC / MS sistemleri, geleneksel olarak analiz edilmesi zor olan numunelerin analizini kolaylaştırır. GC/MS’in kullanılabilirliğine rağmen çoğu bileşiğin GC/MS ile analiz edilmesi imkansızdır. LC/MS, kütle spektrometrisinin etkili analitik kullanımından dolayı çok daha fazla sayıda organik bileşiğe hitap eder. Analit moleküllerine çok az ısı verilir veya hiç ısı verilmez, bu nedenle çoğu organik bileşiğe LC ve LC/MS bazlı yöntemler uygulanabilir. Örnek tipleri küçük farmasötik bileşiklerden büyük proteinlere kadar çeşitlilik gösterir. LC/MS ‘in GC/MS’den çok daha yaygın bir yöntem olması büyük, polar, iyonik, termal olarak dengesiz bileşiklerin analizi için uygun olmasından kaynaklanır. Bu bileşiklerin bazıları, GC/MS’e uygun hale getirilebilir. Ancak LC/MS türevlendirme ile zaman alan kimyasal modifikasyon ihtiyacını ortadan kaldırır.

3.8. LC-MS/IT-TOF

Halen piyasada birkaç çeşit LC/MS cihazı bulunmaktadır. Tekli dörtlü ve üçlü dörtlü aygıtlar öncelikle nicel analiz için kullanılırken iyon tuzağı, LC-TOF ve Qq-TOF aygıtları öncelikle nitel analiz için kullanılır. Üçlü dört kutuplular, diğer kütle türlerine kıyasla düşmelerine rağmen, kütle doğruluğu ve çözünürlük açısından spektrometreler nicel analiz için mükemmel araçlardır. Yapıları MS’i desteklemediğinden Qq-TOF cihazlarının MS veya daha üst bir performans

göstermelerinin mümkün olmayışı bir dezavantaj sergilemektedir. Öte yandan, Qq-TOF yukarıda belirtilen cihaz türlerine göre mükemmel çözünürlük ve kütle doğruluğu sunar. Hem bir iyon tuzağının MS yeteneğine hem de bir TOF'un mükemmel çözünürlüğüne ve kütle hassasiyetine sahip olan LCMS-IT-TOF yeni bir tür hibrit kütle spektrometresidir. LCMS-IT-TOF, temel bileşim ve yapısal analizin öngörülmesinde yeni kapılar açar.

3.9. GC/MS

GC/MS, kimyasal karışımlarını analiz etmek için tek bir yöntem oluşturmak için bir araya getirilen iki tekniktir. Gaz kromatografisi bir karışımın bileşenlerini ayırır ve kütle spektroskopisi bileşenlerin her birini ayrı ayrı karakterize eder. İki tekniğin birleştirilmesiyle, birkaç kimyasal içeren bir çözelti hem niteliksel hem de niceliksel olarak değerlendirilebilir.

Karışımındaki bulunan her madde GC kolonundan çıktıktan hemen sonra kütle spektrometrisine girmektedir. Bu aşamada elektron bombardımanına maruz kalan örnek molekülleri parçalanır sonrasında moleküler iyon meydana gelir. Sonuç olarak bu kısımda kütle spektrumu elde edilir. Bu sayede, orijinal karışımında bulunan her bir bileşenin ayrılıp kütle spektrumlarının kaydedilmesi oldukça önemli bir avantajdır. GC/MS yönteminin karışımları ayırma ve her bileşenin yapısı hakkında bilgi sağlama yeteneği onu analitik, organik sentez ve adli tıp laboratuvarlarının vazgeçilmez aracı haline getirmiştir (106).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Bitkisel Materyaller

Salvia pseudeuphratica (Resim 1) yapılan arazi taramalarında "B7 Elazığ: Kaban ile Maden arası, Keban' a 5 km kala, Kayalık-taşlık kalkerli yamaçlar, 890 m, 38°46'57" N, 38°46'15" E, 14 Temmuz 2015, M. Fırat 32584(VANF)" lokasyonunda, bitkiden 5 kg alınarak gölgede kurutulmuş ve herbaryum örnekleri M.Fırat dubletleri ile Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumuna (VANF) konmuştur.

2015 yılında ilk arazisinde toplanan *Salvia pseudeuphratica* türü 2016 ve 2017 yılında da aynı lokaliteden 300'er gram toplandı (Tablo 2).

Tablo 2. *Salvia pseudeuphratica* Bitkisinin Toplanma Yerleri Ve Herbaryum Numaraları

Bitki	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
<i>Salvia pseudeuphratica</i> Rech.	B7 Elazığ: Keban ile Maden arası, Keban' a 5 km kala, Kayalık-taşlık kalkerli yamaçlar, 890 m, 38°46'57" N, 38°46'15" E	14 Temmuz 2015	M. Fırat 32584 (VANF)
<i>Salvia pseudeuphratica</i> Rech.	B7 Elazığ: Keban ile Maden arası, Keban' a 5 km kala, Kayalık-taşlık kalkerli yamaçlar, 890 m, 38°46'57" N, 38°46'15" E	25 Haziran 2016	M.Fırat 32686(VANF)
<i>Salvia pseudeuphratica</i> Rech.	B7 Elazığ: Keban ile Maden arası, Keban' a 5 km kala Kayalık-taşlık kalkerli yamaçlar, 890 m, 38°46'57" N, 38°46'15" E	13 Haziran 2017	M.Fırat 33832(VANF)



Resim 1. Toplanan *Salvia pseudephatica* 'nın fotoğrafları

4.2. Ekstrelerinin Hazırlanması

Salvia pseudephatica türünün ön biyolojik aktivite deneylerinde kullanılmak üzere kloroform ve etanol ekstraları hazırlandı. Genel olarak etanol ekstre veriminin kloroform ekstre veriminden yüksek olduğu belirlendi (Tablo 3). Ayrıca *Salvia pseudephatica* bitkisi az miktarda çiçek, yaprak, dal ve kök şeklinde kısımlara ayrıldı. Bu kısımların LC-MS/MS`te fenolik içeriğin miktarsal tayini için etanol ekstraları hazırlandı. Bu kısımlardan özellikle yaprak ve çiçek ekstralarının veriminin dal ve kök ekstre veriminden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 3). İzolasyon çalışmaları için toplanan *Salvia pseudephatica* türü kök ve toprak üstü kısımlara ayrılarak gölgede kurutuldu. Bu türlerin kloroform ve etanol ekstraları hazırlandı (Tablo 3). Özellikle izolasyon çalışmaları için klorofil ve türevleri çok ciddi problemlere yol açmaktadır. Genel olarak toprak üstü kısımlardan hazırlanan etanol ekstralarının veriminin daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca yağ asidi bileşimini GC-MS ile belirlemek için petrol eteri ekstraları hazırlandı (Tablo 3). Ayrıca elde edilen tüm ekstraların çözücüleri rotary evaporatörde uçuruldu. Çözücülerden kurtarılan ekstralar tartılarak % verim hesapları yapıldı.

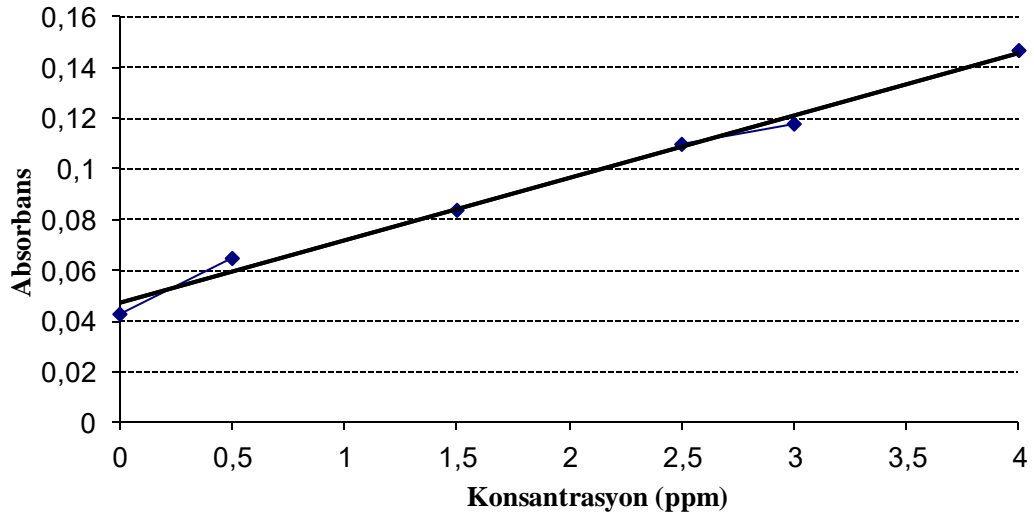
Tablo 3.Ön Biyolojik Aktivite DeneYlerinde, LC-MS/MS ile Fenolik Madde Analizi İÇin, İzolasyon Çalışmaları İÇin, Yağ asidi analizi iÇin Kullanılacak *Salvia pseudophatica*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Verimleri

Tür	Kodu	Kuru Miktar (g)	Ekstre (g)	% Verim
Ön Biyolojik Aktivite DeneYleri iÇin				
<i>Salvia pseudophatica</i> (Karışık-Etanol)	SP-KE	52,86	2,40	4,54
<i>Salvia pseudophatica</i> (Karışık-Kloroform)	SP-KK	39,18	1,60	4,08
LC-MS/MS ile Fenolik Madde Analizi İÇin				
<i>Salvia pseudophatica</i> (Çiçek)	SP-Ç	8,70	1,15	3,18
<i>Salvia pseudophatica</i> (Yaprak)	SP-Y	9,10	1,08	11,90
<i>Salvia pseudophatica</i> (Dal)	SP-D	13,00	0,14	1,10
<i>Salvia pseudophatica</i> (Kök)	SP-K	33,15	0,78	2,35
İzolasyon Çalışmaları İÇin				
<i>Salvia pseudophatica</i> (T.Ü-Etanol)	SP-TÜE	1325	88,30	6,66
<i>Salvia pseudophatica</i> (Kök-Etanol)	SP-KE	1585	31,83	2,01
<i>Salvia pseudophatica</i> (T.Ü-Kloroform)	SP-TÜK	1325	45,65	3,44
<i>Salvia pseudophatica</i> (Kök-Kloroform)	SP-KK	1585	24,94	1,57
Yağ asidi analizi iÇin				
<i>Salvia pseudophatica</i>	SP-PE	50	-	0,98 (2015)
<i>Salvia pseudophatica</i>	SP-PE	50	-	1,08 (2016)
<i>Salvia pseudophatica</i>	SP-PE	50	-	1,06 (2017)

^aKarışık: Bitkinin tüm kısımları

4.3. Toplam Fenolik ve Flavonoit Miktar Tayini

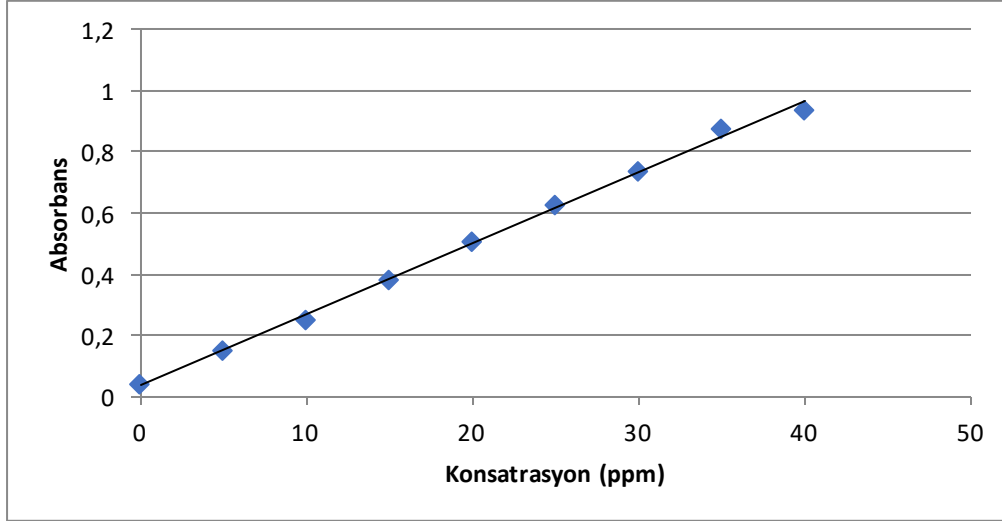
Ekstrelerin total fenolik iÇerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi aracılığıyla pirokatekole eşdeğer olarak saptandı (107). 100 ppm`lik pirokatekol çözeltisi hazırlanarak buradaki çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL civarında alınarak hacimleri distile su ile 184 µL`ye tamamlandı. Çalışılacak bitkilerin etanol ekstrelerinin 1000 ppm yoğunluktaki çözeltileri yapıldı. Bir miligram ekstre barındıran örnek çözeltilerinden 4 µL alınarak distile su ile 184 µL`ye tamamlandı. Pirokatekol çözeltileri ve örneklere 4 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra %2`lik Na₂CO₃ çözeltisinden 12 µL ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda koşullarında bırakıldıktan sonra örneklerin absorbansları 760 nm`de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik iÇerikleri standart pirokatekol grafiğinden elde edilen eşitlikle saptandı (Şekil 16).



Şekil 16. Toplam fenolik ölçü eğrisi

$$\text{Absorbans} = 0,0123x + 0,0349 \quad (R^2: 0,9916)$$

Hazırlanan ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi (108). 1000 ppm`lik kersetin çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri %80`lik etanol ile 192 µL`ye tamamlandı. 4 µL 1 M potasyum asetat eklendi ve bir dakika sonra 4 µL %10`luk alüminyum nitrat ilave edildi. 40 dakika inkübasyon süresinden sonra 415 nm`de mikropılaka reader ile absorbansları okundu. Çalışılacak bitkilerin etanol ekstrelerinin tek konsantrasyonda (1000 ppm) hazırlanan çözeltilerinin de absorbans değerleri okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri, standart kersetin grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak belirlendi (Şekil 17).



Şekil 17. Toplam flavonoid ölçüm eğrisi

$$\text{Absorbans} = 0,0232x + 0,0379 \quad (R^2: 0,9975)$$

4.4. Antioksidan Tayin Yöntemleri

4.4.1. β -Karoten renk açılım yöntemi

Ekstrelerin 1000 ppm`lik çözeltileri hazırlanarak stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μL alınarak distile su ile hacimleri 40 μL `ye tamamlanarak ve üzerlerine β -karoten-linoleik asit çözeltilisinden her bir örneğe 160 μL ilave edilir edilmez mikropılaka reader ile başlangıç absorbansları 490 nm`de ölçüldü. Hazırlanan çözeltiler 50^oC`de 120 dakika bekletildi (109). Bu süre sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü. β -Karotenin renk açılım oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

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

In: Doğal logaritma, a: Başlangıç absorbansı, b: 2 saat inkübasyondan sonraki absorbans, t: Zaman (dakika)

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

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

R_{kontrol} : Kontrolün renk açılım oranı, $R_{\text{örnek}}$: Örneğin renk açılım oranı

4.4.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi

Ekstrelerin ve saf maddelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (110). Örneklerin etanol çözücüsünde 1000 ppm`lik stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL`ye tamamlandı ve üzerlerine 0,1 mM DPPH çözeltilerinden 160 µL ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm`de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

4.4.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi

Ekstrelerin ve saf maddelerin ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlendi (110). Örneklerin etanol çözücüsünde 1000 ppm`lik stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL`ye tamamlandı ve üzerlerine 7 mM ABTS katyon radikali çözeltilerinden 160 µL ilave edildi. Reaksiyon karanlıkta 6 dakika bekletildikten sonra 734 nm`de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

4.4.4. CUPRAC yöntemi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi)

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenmesi sağlandı ve bu kelatın 450 nm`de absorbansı ölçüldü. Son konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 µg/mL olacak (67-x µL) şekilde 1000 ppm lik hazırlanan örneklerin stok çözeltilerinin ve standartların üzerine, 61 µL 0.01 M CuCl₂, 61 µL 0.0075 M neokuproin ve 61 µL 1 M NH₄OAc tamponu ilave edilerek ve 1 saat sonra 450 nm`de absorbans ölçüldü (111). Örneklerin absorbans değerleri standartlara karşı değerlendirildi.

4.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Antikolinesteraz aktivite Ellman metoduna göre yapıldı (112). Asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalandıktan sonra, tiyokolinin sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermek üzere 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyon verdiği kolorimetrik bir metoddur, bu deneysel işlem 96 kuyucuğa sahip mikrolaka plate de yapıldı.

4.5.1. Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE) Aktivite Testi

Asetilkolinesteraz enziminin kullanıldığı aktivite testinde substrat olarak asetiltiyokolin iyodür kullanıldı. Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun derişimi 412 nm'de mikrolaka reader ile ölçüldü. Mikrolakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH=8), ekstrelerin etanolle 4000 ppm derişiminde hazırlanan çözeltilerinden 10 µL ilave edildi ve sonra 20 µL enzim çözeltilisinden eklendi. Hazırlanan çözelti 10 dk süre ile 25°C de inkübe edildi ve 10 dk sonra 20 µL DTNB reaktifi ve substrat eklendi. Kullanılan standart bileşigi ise galantamindir. Hazırlanan mikrolaka Elisa okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans okundu ve Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki denklem ile hesaplandı. Her bir numuneden paralel üç çalışma yapıldı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

4.5.2. Butirilkolinesteraz enzimi (BChE) aktivite testi

Asetilkolinesteraz enzim (AChE) aktivite testindeki metot izlendi. Farklı olarak butirilkolinesteraz aktivitesi için enzim olarak butirilkolinesteraz enzimi, substrat ise butiriltiyokolin iyodür kullanıldı. Hesaplamalar aşağıdaki denkleme göre yapıldı. Her numuneden paralel üç çalışma yapıldı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

4.6. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

LC-MS/MS analiz metodunda kullanılan değişkenler (alınma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar: standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı (R²), bağıl standart sapma (RSD), gözlenebilme ve tayin alt sınırları

(LOD/LOQ ($\mu\text{g/L}$)), 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik ($k=2$) (U (%)) Tablo 4,5'de verilmiştir.

LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasalların sınıflarını 15 adet fenolik asit, 17 adet flavonoid, 3 adet fenolik olmayan organik asit, 1 adet fenolik aldehit, 1 adet benzopiran şeklinde sıralayabiliriz.

37 Fitokimyasalın kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Nexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır.

Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır: ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 °C, DL sıcaklığı; 250 °C, heat block sıcaklığı; 400 °C, nebulizer gaz (N_2) akışı; 3 L/dk ve kurutma gazı (N_2) sıcaklığı; 15 L/dk.

Tablo 4.LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler

No	Analitler	RT ^a	Ana İyon(m/z) ^b	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ^{2c}	RSD% ^d		Lineerite Aralığı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^e	Geri Kazanım (%)		U ^f
								Aynı Gün	Farklı Günler			Aynı Gün	Farklı Günler	
								1	Kumarin			17.40	147.05	
2	Hesperidin	12.67	610.90	303.1-465.1	Poz	y=1340.27×-43769	0.998	0.00945	0.01126	25-1000	3.4/4.2	1.01733	1.01263	0.0262
3	p-Kumarik asit	11.53	162.95	119.3-93.3	Neg	y=3199.20×+13002	0.992	0.01820	0.01727	25-1000	7.3/9.1	1.00617	1.01224	0.0516
4	o-kumarik asit	15.45	162.95	119.4-93.3	Neg	y=1219.34×-10915	0.999	0.02730	0.02566	25-1000	24.4/31.1	0.98344	0.99061	0.0513
5	Gallik asit	3.00	168.85	125.2-79.2	Neg	y=226.76×+38152	0.998	0.01601	0.01443	250-10000	95.5/106.9	1.00004	1.00454	0.0282
6	Kafeik asit	8.80	178.95	135.2-134.3	Neg	y=3963.32×+178156	0.998	0.01454	0.01469	25-1000	18.4/22.4	1.00917	0.98826	0.0354
7	Vanilik asit	8.57	166.90	152.3-108.3	Neg	y=35.84×-12097	0.999	0.00528	0.00619	1000-20000	122.2/139.7	1.00093	1.04095	0.0508
8	Salisilik asit	11.16	136.95	93.3-65.3	Neg	y=5286.26×+309192	0.989	0.01016	0.01242	25-1000	5.0/6.5	1.00989	0.99013	0.0329
9	Kinik asit	1.13	190.95	85.3-93.3	Neg	y=41.06×+10671	0.996	0.00259	0.00274	250-10000	75.8/79.4	1.00288	0.98778	0.0082
10	4-OH-benzoik asit	7.39	136.95	93.3-65.3	Neg	y=409.03×+112079	0.998	0.01284	0.01538	250-10000	33.2/38.1	0.99662	1.00058	0.0289
11	Ferulik asit	12.62	192.95	178.3	Neg	y=80.45×-31782	0.997	0.00708	0.00619	250-10000	36.6/42.0	0.99987	1.00289	0.0494
12	Klorojenik asit	7.13	353.15	191.2	Neg	y=781.36×-18697	0.998	0.00058	0.00076	25-1000	6.2/8.1	1.00806	0.99965	0.0069
13	Rozmarinik asit	14.54	359.00	161.2-197.2	Neg	y=909.67×-201692	0.994	0.02014	0.01751	100-5000	6.6/8.8	0.99206	1.03431	0.0713
14	Protokateşik asit	4.93	152.95	108.3	Neg	y=297.75×+30590	0.995	0.01236	0.01296	100-5000	28.2/31.4	0.99404	1.01070	0.0411
15	Sinnamik asit	25.61	147.00	103.15-77.3	Neg	y=9.06×-12403	0.996	0.00648	0.00816	5000-20000	821.8/859.7	1.00051	0.99927	0.0143
16	Sinapinik asit	12.66	222.95	208.3-149.2	Neg	y=141.96×-73294	0.992	0.01446	0.01517	250-10000	78.7/86.1	1.00164	0.99962	0.0281
17	Fumarik asit	1.48	115.00	71.4	Neg	y=64.99×-11592	0.997	0.00536	0.00460	100-5000	28.1/34.5	0.99748	0.99867	0.0124
18	Vanilin	10.87	151.00	136.3-92.2	Neg	y=446.10×+70934	0.998	0.00696	0.00793	250-10000	44.3/53.1	0.99679	0.99611	0.0280

(^aRT: Alınma zamanı, ^bAna iyon(m/z):Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), ^cR²: Belirleme katsayısı, ^dRSD:Bağıl standart sapma, ^eLOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, ^f U (%): 95% gü ven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2))

Tablo 5.LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (Devam)

No	Analitler	RT ^a	Ana İyon(m/z) ^b	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ^{2c}	RSD% ^d		Lineerite Aralığı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^e	Geri Kazanım (%)		U ^f
								Aynı Gün	Farklı Günler			Aynı Gün	Farklı Günler	
19	Pirokatekol	6.48	109.00	108.35-91.3	Neg	y=30.61x+14735	0.996	0.01313	0.01339	1000-20000	261.1/278.4	0.99987	0.99936	0.0235
20	Malik asit	1.23	133.00	115.2-71.3	Neg	y=316.95x-42041	0.999	0.00477	0.00527	250-10000	55.3/67.5	1.01266	0.99836	0.0113
21	Sirinjik asit	9.02	196.95	182.2-167.3	Neg	y=42.33x-52547	0.996	0.01049	0.01345	1000-20000	212.5/233.3	0.99922	0.99977	0.0238
22	Hesperetin	31.76	300.95	164.2-136.2	Neg	y=876.67x+48916	0.997	0.03209	0.02605	25-1000	5.6/6.9	0.98850	0.99435	0.0562
23	Naringenin	30.68	270.95	151.2-119.3	Neg	y=4315.1x+178410	0.995	0.02054	0.02019	25-1000	5.4/6.4	0.99883	1.01002	0.0521
24	Rutin	12.61	609.05	300.1-271.1	Neg	y=561.91x-16879	0.997	0.00473	0.00624	25-1000	5.5/6.5	1.00994	0.98017	0.0159
25	Kersetin	28.17	300.90	151.2-179.2	Neg	y=1198.48x+480562	0.990	0.01589	0.01360	100-5000	23.3/28.9	0.98470	1.00103	0.0543
26	Kersitrin	16.41	447.15	301.1-255.1	Neg	y=339.39x+38910	0.999	0.01528	0.02320	100-5000	22.0/25.2	0.99726	1.00620	2.0079
27	Apigenin	31.43	268.95	117.3-151.2	Neg	y=4548.36x+295252	0.990	0.02304	0.02204	25-1000	5.4/6.3	1.01444	1.01331	0.0650
28	Krisin	36.65	252.95	143.3-119.4	Neg	y=2032.13x+95593	0.993	0.00490	0.00630	25-1000	5.4/6.2	1.00338	1.00437	2.0083
29	Likiritigenin	25.62	254.95	119.3-135.1	Neg	y=2384.96x+59141	0.996	0.01849	0.01738	25-1000	5.5/6.6	1.00333	0.99957	0.0341
30	İzokersitrin	13.42	463.00	300.1-271.1	Neg	y=803.23x+4981	0.999	0.00682	0.00515	25-1000	5.4/6.3	1.00594	1.00722	0.0133
31	Apigetrin	16.59	431.00	268.2-239.2	Neg	y=1775.55x+91121	0.993	0.01797	0.01607	25-1000	5.4/6.1	1.01394	1.00419	0.0597
32	Roifolin	16.11	577.05	269.2-211.1	Neg	y=237.15x+11887	0.999	0.00747	0.01528	100-5000	23.1/27.9	1.01046	1.01739	0.0941
33	Nikotiflorin	14.68	593.05	285.1-255.2	Neg	y=498.38x+79274	0.991	0.00737	0.00875	100-5000	22.4/25.5	1.02558	1.00970	0.0276
34	Fisetin	19.30	284.95	135.2-121.3	Neg	y=547.46x+274791	0.991	0.00557	0.00820	250-10000	54.4/61.4	0.99877	1.00031	0.0148
35	Luteolin	28.27	284.75	133.2-151.2	Neg	y=3272.65x+150557	0.997	0.00575	0.00696	25-1000	5.4/6.5	1.00772	0.99524	0.0174
36	Mirisetin	18.72	317.00	179.2-151.3	Neg	y=583.55x+205727	0.999	0.00652	0.00711	250-10000	53.2/57.2	0.99982	1.00042	0.0126
37	Kamferol	31.88	284.75	255.1-117.3	Neg	y=26.29x+87558	0.992	0.01436	0.01070	1000-20000	206.6/214.3	0.99971	0.99851	0.0209

4.7. GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Çalışma Şartları

Yüz miligram yağ örneği, 0,1M KOH çözeltisi ve metanol (2 mL) içinde 1 saat geri dödüren soğutucuda bekletilip çözelti soğutulduktan sonra 5 mL su eklendi. Sulu karışım, 0,5 mL HCl çözeltisi ile nötralize edilip ve hekzan: dietil eter (1:1; 3-5 mL) karışımı ile ekstre yapıldı. Organik tabaka uzaklaşarak ve su ile yıkanarak (10 mL), daha sonra susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutuldu. Organik çözücü rota evaporatörde uçuruldu ve bunun sonucunda yağ asidi esterleri elde edildi. GC-MS analizi apolar Phenomenex DB-5 kolonunda (30 m×0,32 mm, 0.25 µm film kalınlığı) helyum gazı (1 mL/dak ve 20 psi) ile yapılp GC fırın sıcaklığı 40°C'de 5 dakika tutulup, 280°C'ye 5°C/dakika hızla çıkarıldı ve bu sıcaklıkta (280°C) 10 dakika sabit tutuldu. Split oranı 1:20 olarak ayarlanarak injeksiyon hacmi 0,1 µL'dir. Kütle spektrometresi (EI/MS) 70 eV iyonizasyon enerjisine ayarlandı. Kütle spektrometresi tarama aralığı m/z 35-450 atomik kütle birimi (amu) aralığına ayarlandı. NIST ve Wiley GC-MS kütüphaneleri ile bileşenlerin belirlenmesinde kullanıldı. Ayırılan bileşenlerin relatif yüzde miktarı, computerized integratörle toplam iyon kromatografisinden hesaplandı (113).

4.8. HPLC-IT-TOF-MS Çalışma Şartları

Shimadzu LCMS-IT/TOF hibrit yüksek çözünürlüklü kütle spektrometre sistemi ile fitokimyasalların taranması gerçekleştirilmiştir. Cihaz MS1 modunda çalışılmıştır. Sıvı kromatografi sistemi (Shimadzu) binary gradient pompa (LC-20 AD), otoörnekleyici (SIL-20AC), degazer (DGU-20A3) ve kolon fırınından (CTO-20AC) oluşmaktadır. Kromatografik ayırım için Eclipse XDB C18 (4.6×150 mm,3.5 µm) kolon kullanılmıştır. Gradient elüsyon için hareketli faz A (% 0.1 formik asit+ 5 mM amonyum format+ultrasaf su) ve hareketli faz B ((% 0.1 formik asit+ 5 mM amonyum format+metanol) kullanılmıştır. Uygulanan gradiyent şu şekildedir (dak-%B) : 0-25 dk arası % 7.5 B-% 70 B, 25-50 dk arası % 70 B-% 95 B, 50-60 dk arası % 95 B, 60.01- 75 dk arası % 7.5 B. Analiz toplam 75 dakika sürmüş olup akış hızı 0.2 mL/dk olarak belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı ise 35 °C olarak seçilmiştir.

HPLC çıkışından gelen sıvı kütle spektrometre girişindeki hem pozitif hem de negatif modda çalışan elektrosprey iyonlaştırma kaynağı (ESI)' na oradan da hibrit IT-TOF sistemine girmektedir. Çalışılan kütle aralığı 100-1000 (m/z) olarak

belirlenmiştir. Nebülizer gaz olarak 1.5 L/dk akış hızında N₂ kullanılmıştır. Arayüz (interface) ve dedektör voltajları sırasıyla 4.5 kV ve 1.61 kV olarak belirlenmiştir. CDL ve heat block sıcaklıklar ise 200 °C olarak ayarlanmıştır. MS1 spektrumları alınmış ve iyon birikme zamanı 30 milisaniye olarak seçilmiştir.

4.9. Kromatografik Yöntemler

4.9.1. Sütun Kromatografisi

Ekstreler kolon kullanarak fraksiyonlarına ayrıldı ve toplanan maddelerden saf maddeler elde etmek için bu aşamada iki adet dolgu maddesi ile çalışıldı. Kullanılmış olan dolgu maddeleri silika jel ve Sephadex LH-20'dir.

Ekstreler uygun çözücüde çözdürülerek küçük miktarda silika jel ile karıştırılarak oda sıcaklığında karışım kurutuldu. Dibine küçük bir pamuk yerleştirilerek ekstrenin ağırlığına uygun olarak seçilmiş ve uzunluğunun 2/3 ü kadarı silika jel ile doldurulmuş kolonun üst tarafına kuruyan karışım paketleme yöntemiyle bırakıldı. Bütün ekstrelerin elüsyonuna %100 petrol eteriyle başlandı. Sırasıyla kloroform, aseton ve metanolla gittikçe artan polarite ile çalışılarak elüsyon yapıldı. En sonunda %100 metanol ile elüsyon bitirildi. Birbirine yakın fraksiyonlar yapılan İTK sonucunda birleştirilmeye karar verildi ve saflaştırma işlemleri için daha ufak sütunlarda silika jelden başka Sephadex LH-20 dolgu maddesi adsorban olarak kullanıldı.

Sephadex LH-20 dolgu maddesi ile hazırlanan sütunlarda ekstrenin polaritesine göre iki adet çözücü sistemi seçildi ve hazırlandı. Apolar özellikteki fraksiyonlarda hekzan: kloroform: metanol (7:4:1) çözücü sistemi, polar özelliktekiler için kullanılan çözücü ise %100 metanol'dü. Fraksiyonlar, sütun için seçilmiş çözücüyle çözülerek sıvı halde Sephadex LH-20 dolgu maddesi ile doldurulmuş sütunun üst kısmına eklendi. Benzer fraksiyonlar İTK yapılarak birleştirildi.

4.9.2. İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisinde (İTK), hazır olan silika jel plaklardan (20×20 cm) faydalanıldı. Sütun kromatografisinde toplanan fraksiyonların İTK plakları ile değerlendirilmesi yapıldı. Maddeleri saf halde elde etmek için preparatif ince tabaka kromatografisi çalışıldı.

4.9.3. Preperatif HPLC

Genel olarak silika jel kolonlarda Aseton/MeOH:9/1 sistemi ve sonrasında gelen polar fraksiyonları C-18 kolondan sabit MeOH/Su:70/30 çözücü sistemi ile fraksiyonlandırılmıştır. Bu fraksiyonlarda C-18 kolon takılı DAD dedektörlü preperatif HPLC'de MeOH/Su:50/50 sabit çözücü sistemi ile çalışıldı.

4.10. Spektroskopik Yöntemler

4.10.1. Infra-Red Spektroskopisi (IR)

Saf maddeler kloroformda çözülerek cihazda ATR kristalinin üzerine bir damla olarak damlatıldı.

4.10.2. Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR)

Saf maddelerin ^1H NMR, ^{13}C NMR, APT, HMBC ve HMQC spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS), çözücü olarak döterokloroform ve döterometanol kullanıldı.

4.10.3. Kütle spektroskopisi

Saf maddelerin kütle spektrumları Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde bulunan GC-MS ve Dicle Üniversitesi Araştırma Merkezinde bulunan LC-MS-IT-TOF cihazlarında alındı.

5. BULGULAR

5.1. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları

Bütün ekstrelerin toplam flavonoit ve fenolik miktarları sırasıyla kersetine ve pirokatekol eşdeğer olarak hesaplandı (Tablo 6). *S. pseudeuphratica* türü için toplam fenolik ve flavonoit içerik bakımından SP-KK ekstresinin daha zengin olduğu görülmektedir. Özellikle bu türün petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin hem toplam fenolik hem de toplam flavonoit içerik bakımından daha zengin olması içerdiği bileşiklerin daha çok düşük polaritede olduğunu göstermektedir. Bu türün çeşitli kısımlarının etanol ekstreleri arasında SP-Ç'nin fenolik içerik bakımından daha zengin olduğu görülmektedir.

Tablo 6. Çalışılan *Salvia pseudeuphratica* Türlerinin Çeşitli Kısımlarının Farklı Ekstrelerinin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları^a

Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı (μg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^b	Toplam Flavonoit Miktarı (μg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^c
SP-PE	91,53 \pm 5,99	27,49 \pm 1,40
SP-KK	92,94 \pm 7,99	30,84 \pm 0,90
SP-KE	38,02 \pm 1,40	24,87 \pm 0,78
SP-K	43,99 \pm 0,70	29,50 \pm 0,73
SP-D	30,87 \pm 0,86	20,11 \pm 0,39
SP-Y	38,74 \pm 1,71	30,33 \pm 0,78
SP-Ç	48,43 \pm 0,00	21,40 \pm 0,32

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

b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y=0,0123x + 0,0349$ $R^2=0,9916$)

c: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik. ($y=0,0232x + 0,0379$ $R^2=0,9975$)

5.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

5.2.1. *Salvia pseudeuphratica* türünün petrol eteri, kloroform ve etanol ekstralarının antioksidan aktivite sonuçları

5.2.1.1. β -Karoten-Linoleik asit, DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikali giderim aktivite sonuçları

Hazırlanan tüm ekstraların 4 farklı yöntemle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Tablo 7). Tüm antioksidan etki yöntemlerinde standart olarak α -Toc, BHA ve BHT kullanıldı. *S. pseudeuphratica* türünün petrol eteri ekstresinde (SP-PE) sadece β -Karoten-linoleik asit yönteminde (IC_{50} : $169,72 \pm 11,50 \mu\text{g/mL}$) aktif olduğu belirlendi. Bu türün yine etanol ekstresinin (SP-KE) kullanılan 3 yöntemde de aktif olduğu belirlendi. Bitkinn çeşitli kısımlarından hazırlanan kök etanol ekstresinin (SP-K) 3 yöntemde de en aktif ekstre olduğu belirlendi.

Tablo 7. *Salvia pseudeuphratica* ekstralarının β -Karoten-Linoleik asit, DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal aktivite sonuçları^a

Örnekler	IC_{50} Değerleri ($\mu\text{g/mL}$)		
	β -Karoten-linoleik asit	DPPH Serbest Radikal	ABTS Katyon Radikal
SP-PE	$169,72 \pm 11,50$	>1000	>1000
SP-KK	$71,28 \pm 0,06$	$455,25 \pm 28,64$	$207,79 \pm 0,68$
SP-KE	$157,50 \pm 3,20$	$103,49 \pm 0,93$	$68,93 \pm 0,53$
SP-K	$22,15 \pm 0,72$	$31,95 \pm 0,59$	$34,15 \pm 0,59$
SP-D	$87,78 \pm 0,55$	$100,11 \pm 0,76$	$61,95 \pm 0,99$
SP-Y	$137,31 \pm 11,29$	$50,36 \pm 1,12$	$58,79 \pm 1,03$
SP-Ç	$101,58 \pm 1,84$	$45,40 \pm 0,43$	$49,99 \pm 0,84$
BHA	$1,5 \pm 0,01$	$7,88 \pm 0,20$	$17,59 \pm 0,10$
α -TOC	$2,1 \pm 0,10$	$16,30 \pm 0,79$	$9,74 \pm 0,42$
BHT	$1,3 \pm 0,03$	$58,86 \pm 0,50$	$13,25 \pm 0,27$

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

5.2.1.2. CUPRAC yöntemi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) aktivite sonuçları

Salvia pseudeuphratica türünün çeşitli ekstralarının CUPRAC aktivite sonuçları Tablo 8`de absorbans değerleri olarak verildi. Özellikle bitkinin kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstralarının de orta derecede aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bitkinin etanol ekstresinin, petrol eteri ve kloroform ekstralarına göre çok daha aktif olduğu belirlendi.

Tablo 8. *Salvia pseudeuphratica* ekstralarının CUPRAC aktivite sonuçları^{a,b}

Örnek	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100µg/mL
SP-PE	0,122±0,011	0,179±0,002	0,274±0,012	0,403±0,016
SP-KK	0,131±0,037	0,191±0,034	0,257±0,009	0,403±0,026
SP-KE	0,137±0,012	0,212±0,003	0,363±0,010	0,599±0,040
SP-K	0,181±0,006	0,343±0,005	0,688±0,195	1,060±0,014
SP-D	0,156±0,015	0,238±0,006	0,381±0,005	0,804±0,214
SP-Y	0,155±0,009	0,232±0,004	0,397±0,029	0,668±0,089
SP-Ç	0,181±0,015	0,296±0,025	0,465±0,033	0,795±0,040
BHT	0,605±0,086	1,344±0,035	2,256±0,042	3,587±0,007
BHA	0,205±0,014	0,365±0,027	0,616±0,029	1,171±0,110
α-TOC	0,305±0,023	0,746±0,057	1,528±0,068	1,94±0,066

^a Sonuçlar absorbans değeri olarak verilmiştir

^b Sonuçlar 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir

5.2.2. *Salvia pseudeuphratica* ekstresinin fraksiyonlandırılması ve bu fraksiyonların antioksidan aktivite sonuçları

S. pseudeuphratica bitkisinin toprak üstü kısımlarının gölgede kurutulmuş miktarı 2650,53 g`dır. Toprak üstü kısımları maserasyon yöntemi ile 3 kez (24 saat) etanolle ekstre edildi. 176,61 g etanol ekstresi elde edildi ve bunun 50 g`ı ayrıldı. Geriye kalan 126,61 g`ı çok az metanol ile çözülerek 119,69 g silika gel karıştırılıp kurutuldu ve havanda toz haline getirildi. 690,56 g silika gel kolona yerleştirildikten sonra toz haline getirilen ekstre eklendi (Resim 2).

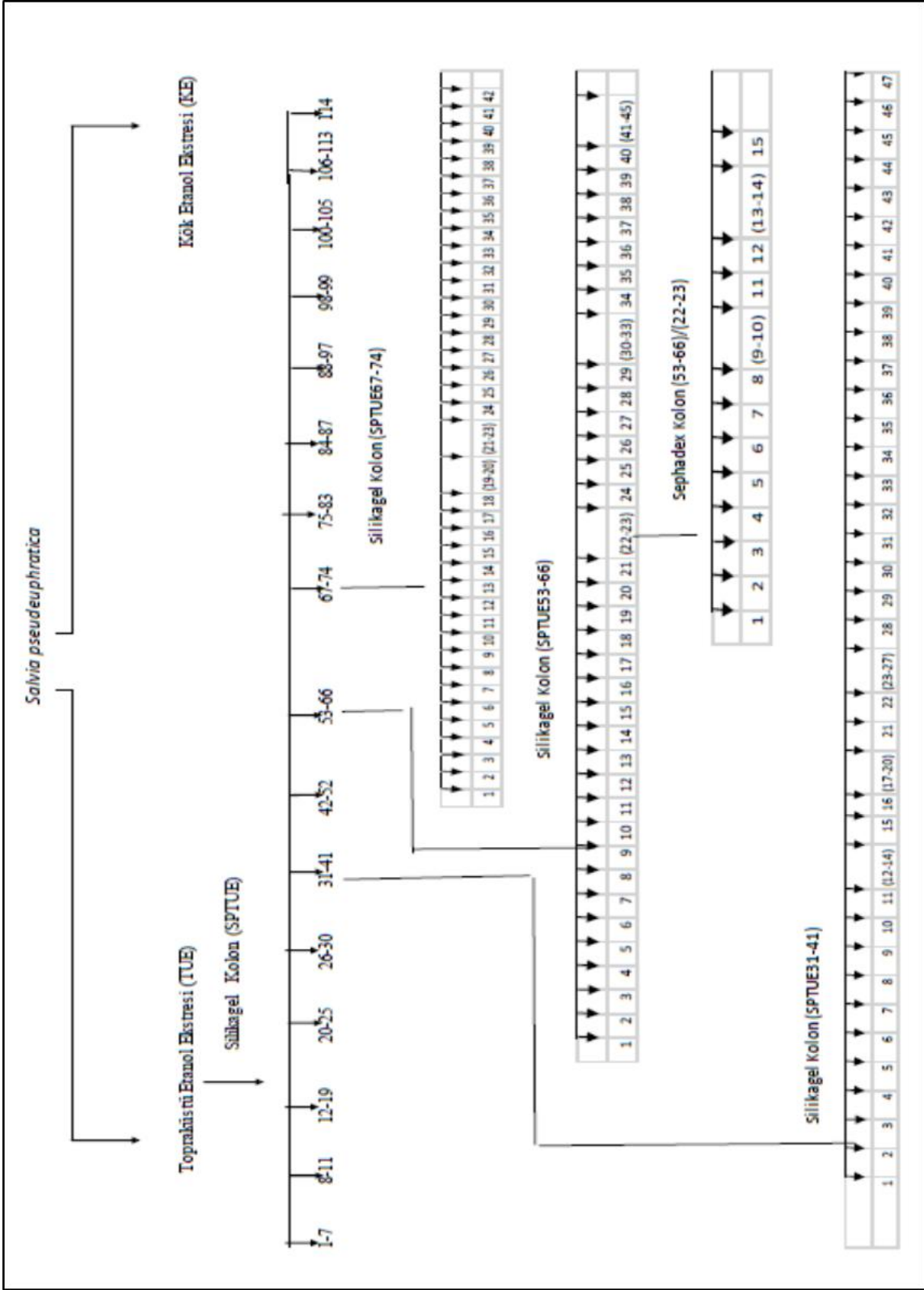


Resim 2. *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin toprak üstü ve altı ekstrelerinin kolonu

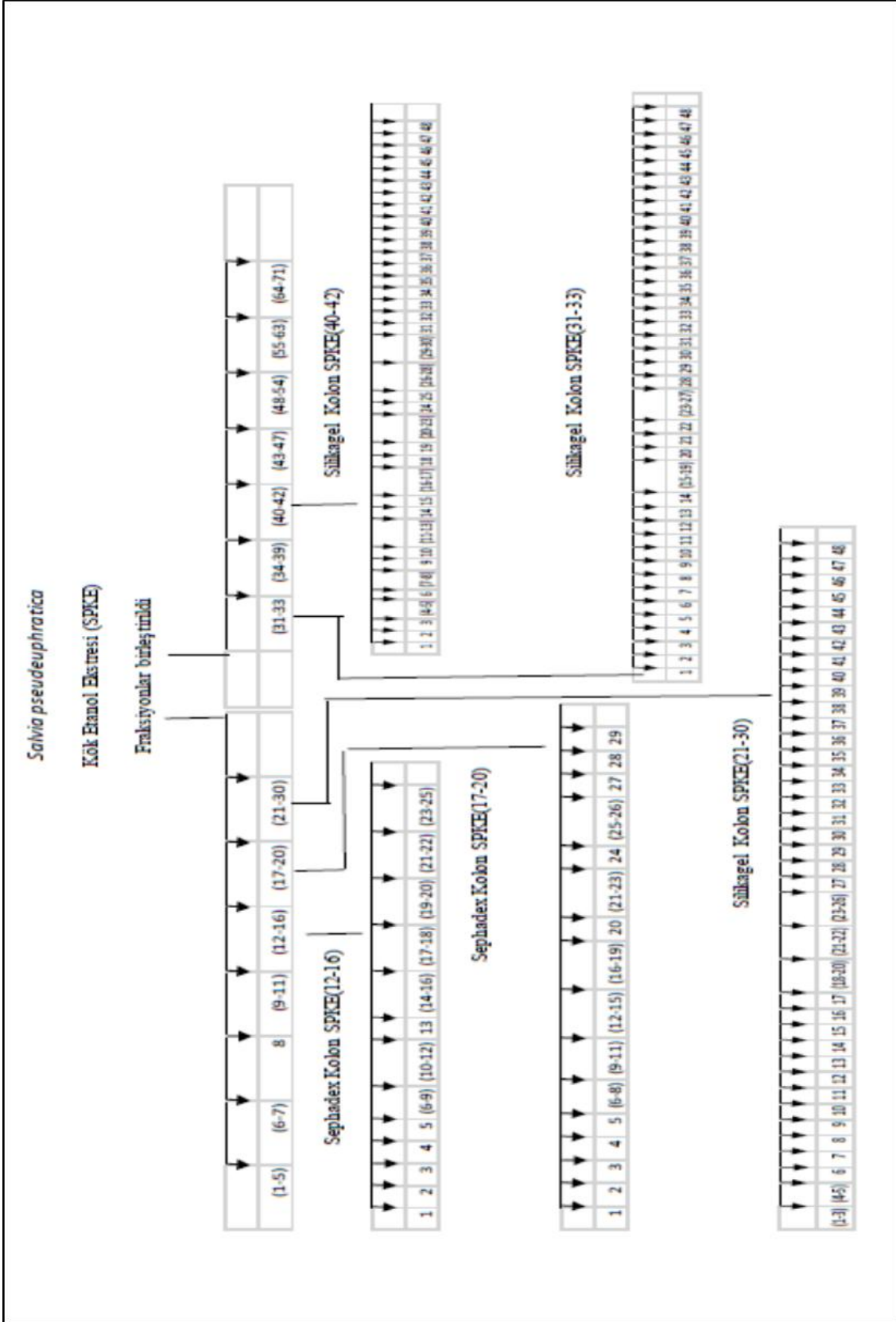
S. pseudeuphratica bitkisinin kök kısımlarının gölgede kurutulmuş miktarı 3170,07 g' dir. Toprak kısımları maserasyon yöntemi ile 3 defa (24 saat) etanolle ekstre edildi. 60,418 g etanol ekstresi elde edildi ve bunun 1,0418 g 'ı ayrıldı. Geriye kalan 59,85 g'ı çok az metanol ile çözülerek 88,11 g silika gel karıştırılıp kurutuldu ve havanda toz haline getirildi. 712,15 g silika jel kolona yerleştirildikten sonra toz haline getirilen ekstre eklendi (Resim 2).

S. pseudeuphratica bitkisinin toprak üstü etanol ekstresinden 114, kök etanol ekstresinden 71 adet fraksiyon elde edildi. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirilerek toprak üstü etanol ekstresinden toplamda 16, kök etanol ekstresinden 13 fraksiyon elde edildi ve antioksidan etkinlikleri çalışıldı.

ABTS katyon radikali giderim, DPPH serbest radikal giderim ve CUPRAC-Bakır(II) indirgeme kapasitesi yöntemlerinde *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin toprak üstü etanol ekstresinin 53-56, 67-74, 114 ve kök etanol ekstresinin 17-20, 21-30, 40-42 numaralı fraksiyonları en aktif fraksiyonlar oldukları belirlendi ve bu aktif fraksiyonlardan saf madde izolasyonuna gidildi.



Şekil 18. *S. pseudoeuphratica* Türünün Toprak Üstü Kısımlarının Fraksiyonlandırılması



Şekil 19. *S. pseudoeuphratica* Türünün Kök Kısımlarının Fraksiyonlandırılması

Tablo 9. *Salvia pseudeuphratica* türünün toprak üstü ve kök etanol ekstralarının fraksiyonları, elde edildikleri çözücü sistemleri, miktarları ve antioksidan aktiviteyi (IC_{50})^a

TOPRAK ÜSTÜ			IC ₅₀		
Fraksiyon kodu	Çözücü Sistemi	Miktar	DPPH	ABTS	
1	SPTUE1-7	(%100PE)-(%80PE-%20DCM)	0,8529g	>1000	>1000
2	SPTUE8-11	(%60PE-%40DCM)	1,6053g	>1000	811,61±23,20
3	SPTUE12-19	(%60PE-%40DCM)-(%40PE-%60DCM)	3,0464g	>1000	99,35±4,57
4	SPTUE20-25	(%20PE-%80DCM)	3,8420g	>1000	272,37±13,68
5	SPTUE26-30	(%20PE-%80DCM)-(%100DCM)	2,5294g	461,38±16,37	177,99±1,76
6	SPTUE31-41	(%100DCM)-(%90DCM-%10AC)	11,6661g	368,11±12,22	207,57±0,2
7	SPTUE42-52	(%90DCM-%10AC)-(%80DCM-%20AC)	35,2769g	939,47±33,38	160,69±4,43
8	SPTUE53-66	(%60DCM-%40AC)-(%20DCM-%80AC)	19,3768g	74,81±0,56	24,27±0,3
9	SPTUE67-74	(%20DCM-%80AC)-(%100AC)	4,4238g	137,28±0,78	26,94±0,08
10	SPTUE75-83	(%100AC)-(%80AC-%20Me)	9,7433g	146,81±4,84	61,91±0,8
11	SPTUE84-87	(%80AC-%20Me)	3,5654g	173,16±6,12	34,82±1,56
12	SPTUE88-97	(%60AC-%40Me)-(%40AC-%60Me)	8,9408g	220,99±5,15	62,90±1,16
13	SPTUE98-99	(%40AC-%60Me)	0,2995g	187,97±6,50	59,54±2,73
14	SPTUE100-105	(%40AC-%60Me)-(%20AC-%80Me)	0,7060g	156,93±3,01	59,15±0,83
15	SPTUE106-113	(%100Me)-(%90Me-%10Su)	0,7194g	169,03±2,87	51,15±0,08
16	SPTUE114	(%50Me-%50Su)	1,1477g	112,90±0,29	38,76±0,44
KÖK					
1	SPKE1-5	(%100PE)	0,4527g	633,32±30,70	640,11±29,94
2	SPKE6-8	(%90PE-%10DCM)	0,0228g	>1000	592,22±7,75
3	SPKE9-11	(%80PE-%20DCM)	0,0113g	>1000	307,11±5,66
4	SPKE12-16sıvı	(%60PE-%40DCM)-(%40PE-%60DCM)	1,5029g	>1000	486,75±21,59
5	SPKE17-20	(%40PE-%60DCM)-(%20PE-%80DCM)	4,8664g	84,04±2,30	30,56±1,45
6	SPKE21-30	(%10PE-%90DCM)-(%100DCM)	8,9512g	70,45±1,40	26,55±1,00
7	SPKE31-33	(%100DCM)-(%90DCM-%10AC)	14,1105g	207,05±8,55	49,70±2,16
8	SPKE34-39	(%90DCM-%10AC)-(%80DCM-%20AC)	9,3255g	154,14±3,10	36,57±0,21
9	SPKE40-42	(%60DCM-%40AC)	4,7365g	61,59±0,55	23,55±0,59
10	SPKE43-47	(%40DCM-%60AC)-(%20DCM-%80AC)	4,9044g	96,70±3,88	60,08±2,66
11	SPKE48-54	(%20DCM-%80AC)-(%90AC-%10Me)	3,6250g	151,82±3,07	85,56±4,05
12	SPKE55-63	(%60AC-%40Me)-(%20AC-%80Me)	5,8879g	120,21±1,07	105,34±1,50
13	SPKE64-71	(%100Me)-(%90Me-%10Su)	0,490g	188,15±8,56	77,60±0,65
	BHT			58,86±0,50	13,25±0,27
	α -TOC			16,30±0,79	9,74±0,42

^aSonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standard sapması şeklinde verilmiştir.

SPTUE: *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin toprak üstü etanol ekstresi

SPKE: *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin kök etanol ekstresi

Tablo 10. *Salvia pseudeuphratica* türünün toprak üstü ve kök etanol ekstresinin fraksiyonlarının CUPRAC aktivite^a

TOPRAK ÜSTÜ				
Absorbans				
Fraksiyon kodu	10µg/mL	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL
SPTUE1-7	0,146±0,013	0,151±0,001	0,221±0,108	0,187±0,009
SPTUE9-11	0,190±0,008	0,248±0,008	0,364±0,021	0,41±0,034
SPTUE12-19	0,191±0,006	0,256±0,010	0,373±0,002	0,525±0,025
SPTUE20-25	0,196±0,004	0,272±0,030	0,363±0,034	0,512±0,019
SPTUE26-30	0,205±0,020	0,267±0,015	0,384±0,008	0,569±0,014
SPTUE31-41	0,242±0,074	0,300±0,013	0,417±0,013	0,596±0,018
SPTUE42-52	0,202±0,025	0,267±0,034	0,315±0,034	0,741±0,284
SPTUE53-66	0,272±0,027	0,436±0,002	0,836±0,016	1,544±0,015
SPTUE67-74	0,304±0,073	0,446±0,034	0,826±0,116	1,273±0,150
SPTUE75-83	0,224±0,015	0,353±0,027	0,584±0,045	1,072±0,141
SPTUE84-87	0,253±0,039	0,380±0,005	0,596±0,038	1,04±0,035
SPTUE88-97	0,211±0,015	0,315±0,028	0,453±0,018	0,672±0,048
SPTUE98-99	0,201±0,013	0,323±0,007	0,487±0,009	0,875±0,034
SPTUE100-105	0,208±0,015	0,316±0,041	0,480±0,016	0,790±0,029
SPTUE106-113	0,233±0,025	0,385±0,039	0,627±0,030	1,031±0,011
SPTUE114	0,250±0,043	0,398±0,024	0,614±0,034	1,093±0,045
KÖK				
SPKE1-5	0,170±0,015	0,251±0,021	0,300±0,006	0,416±0,021
SPKE6-8	0,240±0,060	0,298±0,066	0,399±0,047	0,506±0,007
SPKE9-11	0,227±0,014	0,303±0,008	0,427±0,003	0,568±0,020
SPKE12-16sıvı	0,158±0,002	0,148±0,004	0,207±0,050	0,615±0,061
SPKE17-20	0,311±0,031	0,411±0,018	0,583±0,050	0,824±0,032
SPKE21-30	0,298±0,038	0,522±0,032	0,851±0,039	1,349±0,101
SPKE31-33	0,235±0,041	0,261±0,022	0,330±0,038	0,489±0,049
SPKE34-39	0,193±0,011	0,270±0,025	0,336±0,014	0,582±0,030
SPKE40-42	0,261±0,026	0,520±0,067	0,790±0,054	1,356±0,063
SPKE43-47	0,236±0,032	0,380±0,051	0,586±0,024	1,084±0,237
SPKE48-54	0,252±0,011	0,338±0,010	0,515±0,016	0,857±0,056
SPKE55-63	0,238±0,032	0,388±0,060	0,572±0,069	0,832±0,008
SPKE64-71	0,222±0,010	0,307±0,014	0,500±0,006	0,800±0,012
BHT	0,305±0,023	0,746±0,057	1,528±0,068	2,551±0,066
α-TOC	0,605±0,086	1,344±0,035	2,256±0,042	3,987±0,007

^a Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standard sapması şeklinde verilmiştir.

SPTUE: *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin toprak üstü etanol ekstresi

SPKE: *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin kök etanol ekstresi

5.2.3. İzole edilen saf maddelerin antioksidan aktivite sonuçları

Elde edilen 21 adet saf maddenin antioksidan aktivitesi 3 yöntemle (DPPH Serbest Radikal, ABTS Katyon Radikal, CUPRAC) belirlenmiştir. Bu maddelerin genel olarak çok aktif oldukları tespit edilmiştir (Tablo 11). Elde edilen fenolik bileşiklerin oldukça aktif oldukları görülmektedir. *S. Pseudeuphratica* bitkisinden 6,7 dehidroroyleanon bileşiğinin gram seviyesinde elde edilmiştir. Bu bileşik ve türevi olan asetil royleanon bileşiklerinin oldukça yüksek bir antioksidan potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu türlerin çok güçlü bir antioksidan özelliğe sahip rozmarinik asit içeriği de düşünüldüğünde bu türlerin zenginleştirilmiş ekstraktlarının gıda koruyucu olma potansiyellerinin olduğu görülmektedir.

Tablo 11. Elde Edilen ve Yapısı Aydınlatılan Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteleri^a

İsim	Antioksidan Aktivitesi			
	IC ₅₀		A _{0,5}	
	DPPH Radika	Serbest ABTS Katyon	Serbest CUPRAC	
Rozmarinik Asit	1,21±0,06	1,70±0,07	1,21±0,01	
Apigenin	45,87±1,43	2,57±0,05	124,70±4,23	
Fumarik Asit	273,74	150,47	105,35±3,03	
Kaffeik Asit	3,56±0,03	1,65±0,06	7,41±0,02	
4-Hidroksibenzoik Asit	29,73±4,32	354,63±58,58	18,13±0,15	
Asetil royleanon	12,17±0,16	27,64±1,05	35,55±1,02	
β-Sitosterol	72,11±1,94	154,34±2,12	22,17±0,98	
Ferruginol	33,80±2,20	6,61±0,27	49,83±2,02	
Inuroyleanol	2,21±0,06	5,11±1,13	7,12±0,02	
6,7-dehidroroyleanon	16,84±0,18	55,73±6,33	28,56±1,04	
Ursolik Asit	20,04±1,04	104,44±8,06	178,09±5,02	
Oleanolik Asit	45,02±1,31	275,73±67,11	11,72±0,06	
Salvianolik Asit A	4,06±0,04	2,66±0,07	4,76±0,01	
Bis-(2-etil heksil benzen 1,2 dikarboksilat)	>1000	280,50±3,81	213,80±5,70	
Stigmasterol	>1000	312,75±4,92	172,48±1,15	
Bis(2-etilhekzill) ftalat	>1000	248,04±3,50	136,57±1,32	
pisiferal	>1000	44,93±0,12	172,30±3,10	
Sugiol	150,09±2,05	69,61±0,29	54,50±1,10	
12-hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen	86,39±0,59	2,11±0,03	11,2±0,30	
12-demethylmulticaulin	76,20±0,90	6,70±0,09	17,04±1,03	
Salvipison	>1000	80,30±0,93	82,46±1,16	

^aSonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standard sapması şeklinde verilmiştir.

5.3. Antikolinestrez Aktivite Sonuçları

5.3.1.S. *pseudeuphratica* ekstrelerinin antikolinestrez aktiviteleri

Salvia pseudeuphratica türünden hazırlanan ekstrelerin asetilkolinesteraz aktivitelerinin olmadığı fakat orta derecede butirilkolinesteraz enzim aktivitesi gösterdikleri belirlendi (Tablo 12). Bu türün sadece yaprak kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin yüksek butirilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitesine sahip olduğu saptandı.

Tablo 12. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları^a

Ekstreler	AChE (% İnhibisyon)	BChE (% İnhibisyon)
SP-PE	AD	66,79±1,14
SP-KK	AD	58,08±0,19
SP-KE	AD	59,96±2,46
SP-K	AD	53,38±0,35
SP-D	AD	54,47±0,77
SP-Y	AD	74,69±3,19
SP-Ç	AD	59,15±1,06
Galantamin ^b	86,14±0,38	80,18±0,46

^a 200µg/mL

^b Standart madde

AD: Aktif değil

5.3.2 İzole edilen ve yapısı aydınlatılan bazı bileşiklerin asetilkolinesteraz ve butirikolinesteraz enzim aktiviteleri

Tablo 13. Elde edilen ve yapısı aydınlatılan bazı bileşiklerin asetil- ve butirikolinesteraz enzim aktiviteleri^a

No	İsim	Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesi		Butirikolinesteraz Enzim Aktivitesi	
		50 ppm'deki %inhibisyon	IC ₅₀	50 ppm'deki %inhibisyon	IC ₅₀
1.	Rozmarinik Asit	A.D.	-	A.D.	-
2.	Apigenin	A.D.	-	86,24	16,45
3.	Fumarik Asit	A.D.	-	25,41	180,95
4.	Kaffeik Acit	A.D.	-	A.D.	-
5.	4-Hidroksibenzoik Asit	A.D.	-	A.D.	-
6.	7-Asetil royleanon	67,57	18,93	85,29	12,87
7.	β-Sitosterol	A.D.	-	A.D.	-
8.	Ferruginol	95,76	3,96	84,92	15,57
9.	Inuroyleanol	77,43	5,58	58,98	36,24
10.	6,7-dehidroroyleanon	93,69	5,61	99,92	1,52
11.	Ursolik Asit	53,99	49,89	68,50	32,34
12.	Oleanolik Asit	40,12	60,60	43,00	62,12
13.	Salvianolik Asit A	73,16	23,04	52,00	48,32
14.	Stigmasterol	A.D.	>1000	11,84±0,01	140,98±5,23
15.	Sugiol	A.D.	>1000	61,09±2,98	9,07±0,12
16.	Bis-(2-etilheksil)benzen-1,2 dikarboksilat	N.A	-	31.37±0.80	74.17
17.	Bis(2-etilheksil) ftalat	N.A	>1000	N. A	>1000
18.	Pisiferal	21.95±1.01	150.83±5.23	77.86±2.69	7.83±0.05
19.	12-demetilmultikaulin	41.65±1.78	112.83±5.78	85.32±3.67	3.54±0.02
20.	12-hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen	92.83±4.02	4.63±0.03	87.63±2.59	2.73±0.01
21.	Salvipison	NA	>1000	73.86±2.67	6.83

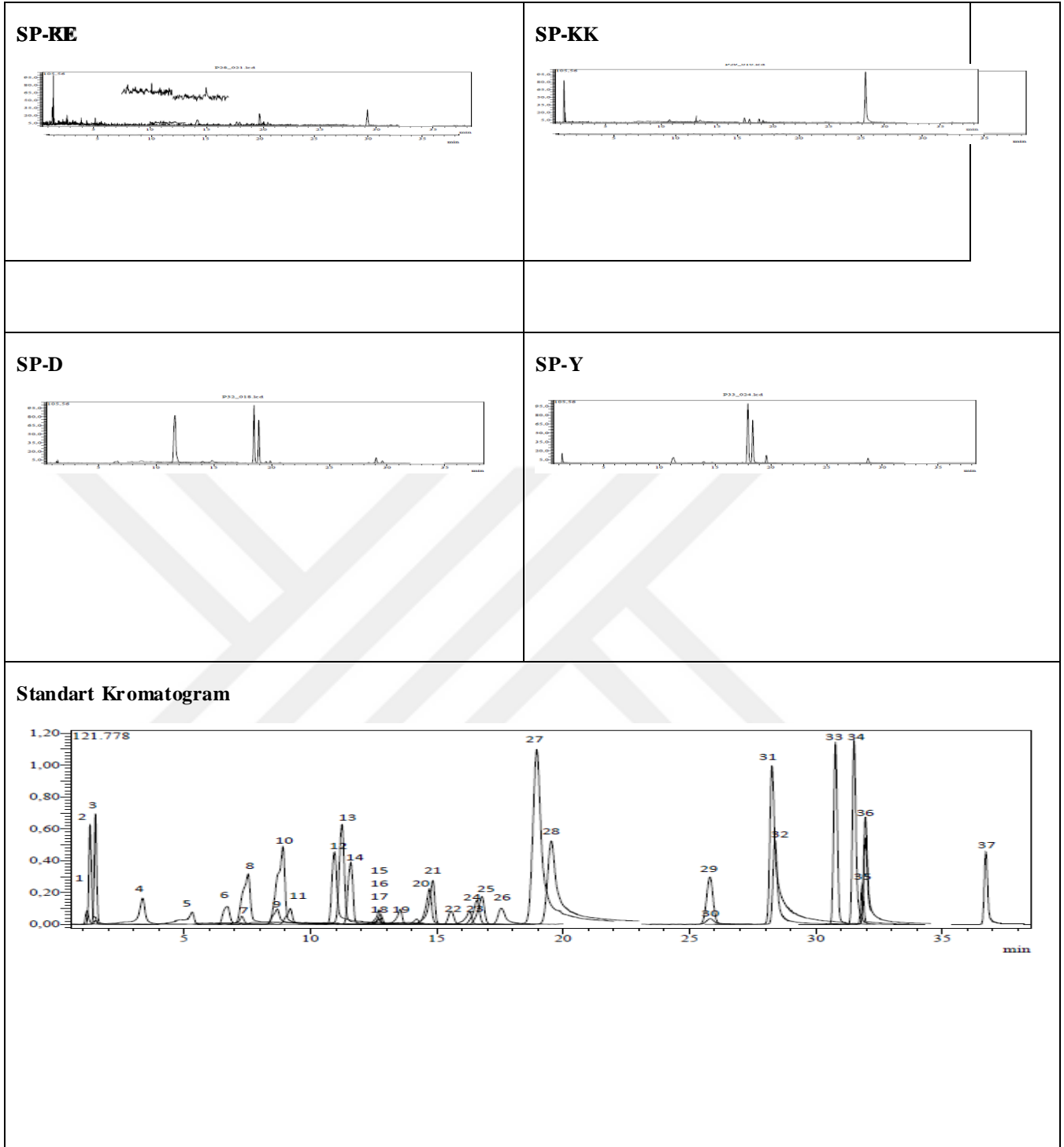
a: Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standard sapması şeklinde verilmiştir.

5.4. *S. pseudeuphratica* Türünün Çeşitli Ekstrelerinin ve Kısımlarının LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi

S. pseudeuphratica'nın apolar ekstreleri SP-PE ve SP-KK'nın oldukça fakir olduğu tespit edilmiştir. Yine polar ekstreler olan SP-KE, SP-K, SP-D, SP-Y ve SP-Ç ekstrelerinin rozmarinik, malik ve fumarik asitler bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan ekstrelerin genel olarak sonuçları değerlendirildiğinde apolar ekstrelerin içerik olarak oldukça fakir olduğu polar ekstrelerin ise özellikle rozmarinik asit bakımından ve bazı fenolik asitler bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir (Tablo 14).

Tablo 14. *S. pseudeuphratica*'nın Çeşitli Ekstrelerinin ve Kısımlarının LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi

No	Bileşen	SP-PE	SP-KK	SP-KE	SP-K	SP-D	SP-Y	SP-Ç
1	Kumarin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	Hes peridin	31,82	46,76	120,32	73,57	109,15	97,54	269,87
3	p-Kumarik asit	0,23	2,65	53,07	13,54	16,91	87,28	59,56
4	o-Kumarik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
5	Gallik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6	Kafeik asit	N.D.	1,86	263,81	225,37	225,72	328,83	421,75
7	Vanilik asit	N.D.	N.D.	125,18	N.D.	1058,98	N.D.	N.D.
8	Salisilik asit	N.D.	2,09	54,04	5,28	13,3	109,25	114,82
9	Kinik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	387,85
10	4-OH-benzoik asit	N.D.	N.D.	90,28	53,21	89,32	163,94	N.D.
11	Ferulik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
12	Klorojenik asit	N.D.	N.D.	45,41	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
13	Rozmarinik asit	N.D.	11,84	5510,05	3604,27	785,35	11256,23	14088,73
14	Protokateşik asit	N.D.	N.D.	172,39	151,04	272,18	123,89	77,28
15	Sinamik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
16	Sinapinik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	Fumarik asit	223,18	248,86	399,72	146,56	361,48	740,24	2247,18
18	Vanilin	N.D.	32,72	43,73	100,84	149,27	N.D.	N.D.
19	Pirokatekol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
20	Malik asit	N.D.	241,37	1677,3	1185,55	47,04	4406,81	11130,09
21	Sirinjik asit	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
22	Hes peretin	N.D.	N.D.	27,34	13,34	82,09	9,86	80,27
23	Naringenin	N.D.	N.D.	4,05	0,76	3,07	3,18	2,37
24	Rutin	N.D.	N.D.	174,76	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
25	Kersetin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6,44	N.D.
26	Kersitrin	N.D.	N.D.	91,93	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
27	Apigenin	1,62	33,93	184,73	3,55	17,65	212,05	124,18
28	Krisin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
29	Likiritigenin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
30	İzokersitrin	N.D.	N.D.	43,73	6,53	N.D.	57,8	26,8
31	Apigetrin	3,83	8,89	1071,96	9,21	45,95	2259,09	1106,67
32	Roifolin	N.D.	N.D.	164,07	N.D.	N.D.	404,69	33,88
33	Nikotiflorin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	455,24
34	Fisetin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
35	Luteolin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
36	Mirisetin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
37	Kamferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.



Şekil 20. *Salvia pseudoeuphratica* türünün çeşitli ekstralarının ve kısımlarının LC-MS/MS analiz kromatogramı

5.5. GC-MS ile Yağ Asidi Analiz Sonuçları

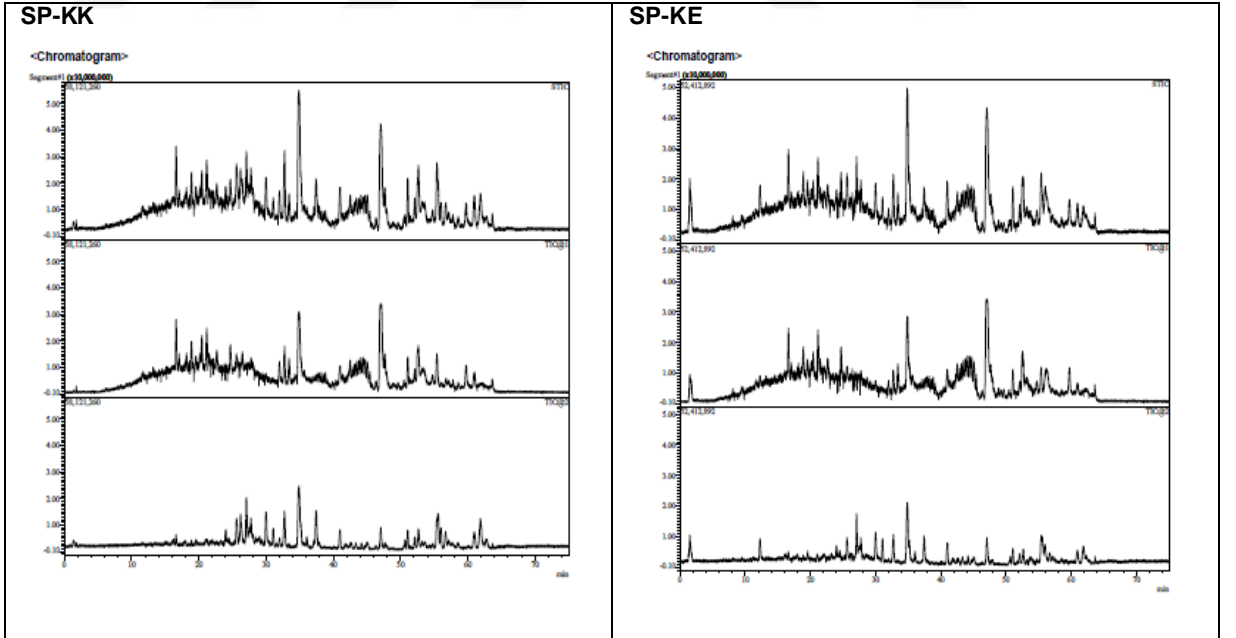
Salvia pseudeuphratica'nın 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan kısımlarından hazırlanan PE ekstralarının yağ asidi profili GC-MS ile bulundu (Tablo 15). Üç yılda toplanan bitkiden hazırlanan petrol eteri ekstralarının ana bileşeninin 2-palmitoleik asit (%21,81) olduğu tespit edildi. Genel olarak ekstraların bileşimindeki yağ asitlerinin daha çok doymamış olduğu belirlendi. 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan örneklerin yağ asidi bileşimi karşılaştırıldığında genel olarak ekstraların içerik olarak bileşiminin yıllara bağlı olarak değişmediği tespit edildi.

Tablo 15. 2015-2016-2017 yıllarında toplanan *Salvia pseudeuphratica* örneklerinin yağ asidi bileşimi

RT	Bileşen	SP-PE2015/2016/2017
27.93	2-Palmitoleik asit	42.17/10.17/21,81
28.31	Palmitik asit	14.94/3.71/4,95
29.76	Palmitoleik asit	-/1.11/-
31.39	cis-10 Heptadekanoik asit	-/-
31.85	Stearik asit	6.51/1.37/2,43
33.10	Oleik asit	-/1.57/-
34.62	Linoleik asit	-/3.60/2,54
34.69	Heksahekadienoik asit	-/-/-
35.14	Araşidonik asit	10.80/3.49/7,43
36.33	cis-11-Eikosanoik asit	-/16.26/12,58
36.66	Linolenik asit	-/-/-
37.83	cis-11,14-Eikosadienoik asit	-/-/-
38.40	Behenik asit	25.58/9.06/16,95
39.63	Erusik asit	-/18.03/8,43
41.27	cis-13,16-Dokosadienoik asit	-/-/-
41.85	Lignoserik asit	-/-/-
43.33	Nervonik asit	-/31.63/12,88

5.6. HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları

Salvia pseudeuphratica türünün tüm bitki kısımlarının kloroform ve etanol ekstraktları LC-MS IT-TOF cihazında en uygun koşullarda kapsamlı 75 dakikalık bir metotla analiz yapılarak genel fitokimyasal profili belirlendi. Yapılan bu çalışmada farklı sınıflardan 56 farklı sekonder metabolit tespit edildi. Molekül formülleri bulunan fitokimyasalların tahmini isimleri, tespit edilen iyon formları, alıkonma zamanları, ölçülen m/z değerleri tam kütle olarak verilmiştir. LC-MS/IT-TOF taramasına ilişkin kromatogramlar (TIC) ise Şekil 21’te verildi. LC-MS/IT-TOF taramasına ilişkin dataların yorumlanması yapılırken intensite 2.500000 üzerinde olan pikler değerlendirildi. Yani bu tür daha çok majör bileşenler açısından incelendi. Bu yüzden tabloda verilen bileşiklerin ilgili türde kesinlikle olduğu söylenebilir. Ayrıca tarama sonuçlarına göre tahmini isimler verilmiştir (Tablo 16-18). O kapalı formüle ve kütleye sahip bir bileşen içerdiği kesinlikle söylenebilirken o bileşiğin ismi ise tahmini söylenebilir. Çünkü o formül ve tam kütleye sahip birden fazla doğal bileşik olabilir.



Şekil 21. *Salvia pseudeuphratica* ekstraktlarının sırasıyla total, pozitif ve negatif HPLC-IT-TOF-MS kromatogramları

Tablo 16. *Salvia pseudeuphratica* türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları

	Molekül Formülü	Molekülün Adı	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M-H] ⁻	R.T.	SP-KK	SP-KE
1.	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	Behenik asit			339,3269	55.59-62.76	*	*
2.	C ₂₂ H ₄₀ O	2-Oktadesilfuran		338,3417		47.00-47.92		*
3.	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	Ursolik asit / Oleanolik asit			455,3531	34.36-34.9	*	*
4.	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	Hinokion			299,2017	27.75-30.27	*	
5.	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	Betulonik Aldehit/ Faradione	439,3571			27.85-34.86	*	
6.	C ₂₀ H ₂₆ O ₃	6 7-dehidroroyleanon/ Taksodion/ 8-hidroksi-12-okso-abieta-9(11),13-dien-20-oik asit 8,20-lakton	315,1955			25,84	*	*
7.	C ₂₉ H ₅₀ O ₅	Homokastasteron/ 28-homokastasteron			477,3585	56.00-56.3	*	
8.	C ₂₂ H ₄₂ O	Z-5-Methyl-6-heneikosen-11-on		340,3574		52,52	*	
9.	C ₂₂ H ₃₈ O	(Heksadesiiloksiy)benzen/ 2,4-Dioktilfenol		336,3261		42,48	*	*
10.	C ₂₃ H ₄₀ O ₄	Persin	381,2999			40,99	*	*
11.	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	Salvigenin	329,102			24.68-25.00-27.78	*	*
12.	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	Moronik asit(3-oksoolean-18-en-28-oik asit)			453,3374	32,73	*	*
13.	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	Dodekanedioik asit		248,1856		12,82	*	*
14.	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	Moronik asit (3-oksoolean-18-en-28-oik asit)	455,352			22.65-32.74	*	*
15.	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	Sirsimaritin/4'-Metilcapillarisin/ Velutin	315,0868			22,82	*	*
16.	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	Krisoeriol/Hispidulin/5,7,3'-Trihidroksi-4'-metoksiflavon	301,0707			18,36	*	*
17.	C ₃₅ H ₆₂ O ₃	2-(p-Hidroksifenil)etil eikosaheptanoik asit ester		548,5037		53.32-53.46	*	
18.	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	Diosmetin			299,0561	18,34	*	*
19.	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	11-Hidroksiheksadekanoik asit			271,2289	31,06		*
20.	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Gemfibrozil/ Nardosinon	251,1642			20.48-35.53		*
21.	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₅	5,7,8-trihidroksikumarin-5-beta-gentiobiosid		536,161		59,75	*	
22.	C ₂₈ H ₄₆ O ₂	Kolesteril format/ ergost-3,6-dion		432,3836		47,71	*	*
23.	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	Betulin/ Inotodiol		460,4149		52,69	*	*
24.	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	Megaphone/ Megaphone			389,197	27,03	*	

Tablo 17. *Salvia pseudeuphratica* türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları (Devam)

	Molekül Formülü	Molekülün Adı	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M-H] ⁻	R.T.	SP-KK	SP-KE
25.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	(3β,24S)-3-Hidroksistigmast-5-en-7-on	429,3727			49,32	*	*
26.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Androstenedion/ 1-Androstenedion/ Boldenon	287,2006			19.54-22.65		*
27.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Sugiol/6,7-dehidrosalviol	301,2162			27,74	*	*
28.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Absisik aldehide// Periplanon B	249,1485			18,9	*	*
29.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Kamosol/6-Hidroksisalvinolon /7,20-Epoksiroyleanone			329,1758	28.45-30	*	*
30.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	7-Hidroksimyoporon/ Leptospermon	267,1591			16,59	*	*
31.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Korosolik asit/Ganodemanontriol/ Hederagenin/ Maslinik asit			471,348	25,62	*	*
32.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	3-Hidroksimiristik asit/3-Hidroksi-Miristic Asit			243,1966	21.1-27.08	*	*
33.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	2alpha-2-Hidroksi-4(15),11(13)-eudesmadien-12-oik asit/Dendroban A/ İlisik asit		270,2064		22,64	*	*
34.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Artemin		284,1856		18,91	*	*
35.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Nobilin/ Leonotinin/ Isorosmanol			345,1707	24	*	
36.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Nordrakorubin			473,1394	26,24	*	
37.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Gemfibrozil/Nardosinon/Oktill salisilat, /Sterpurik asit, /Ksanthoksin,		268,1907		20.48-22.74	*	*
38.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Nobilin/ Leonotinin/ Isorosmanol	347,1853			27,99	*	
39.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Nubenoik asit/Phaseik asit	281,1384			20,12	*	
40.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Kamosik asit/7alpha-Hidroksiroyleanon			331,1915	27.10-30	*	*
41.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	27-Nor-5beta-Kolestan-3alpha,7alpha,12alpha,24beta-tetrol		440,3734		34,9		*
42.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Spathulenol	221,1900			34,9	*	*
43.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Genistein/ Apigenin	271,0601			17,4		*
44.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	6,7-Dehidroyleanon	273,1485			21,00	*	*
45.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Genkwanin/akasetin	285,0758			21,8-24,7	*	*
46.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Kandidissiol	297,1849			18.2-25,8-32,0	*	*
47.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Hypargenin B/ Kriptanol/ Royleanon	317,2111			25,50-27,60	*	*
48.	C ₁₉ H ₄₄ O ₃	Tanımlanamadı	339,3469			47,11	*	

Tablo 18. *Salvia pseudeuphratica* türünün HPLC-IT-TOF-MS sonuçları (Devam)

	Molekül Formülü	Molekülün Adı	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M-H] ⁻	R.T.	SP-KK	SP-KE
49.	C ₃₁ H ₅₄ O ₅	Tanımlanamadı	339,3469			47,11	*	
50.	C ₄₉ H ₅₈ O	Tanımlanamadı			505,3898	61.69-61.81		
51.	C ₃₀ H ₅₈ O ₅	Tanımlanamadı	663,456			56,24	*	*
52.	C ₃₀ H ₅₈ O ₅	Tanımlanamadı			497,4211	55,39	*	*
53.	C ₂₈ H ₅₄ O ₅	Tanımlanamadı		516,4623		55,4	*	*
54.	C ₂₈ H ₅₄ O ₅	Tanımlanamadı		488,431		51,08	*	*
55.	C ₃₂ H ₆₂ O ₅	Tanımlanamadı			469,3898	51,06	*	
56.	C ₂₂ H ₄₆ O ₇	Tanımlanamadı		440,3582		39,98	*	

5.7. Saf Madde İzolasyonu ve Saf Maddelerin Yapı Tayini

Tablo 19' te elde edilen ve yapıları aydınlatılan maddeler verilmiştir. Saf maddelerin yapı tayinleri IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve 2D-NMR ile kütle spektrumları değerlendirilerek yapılmıştır.

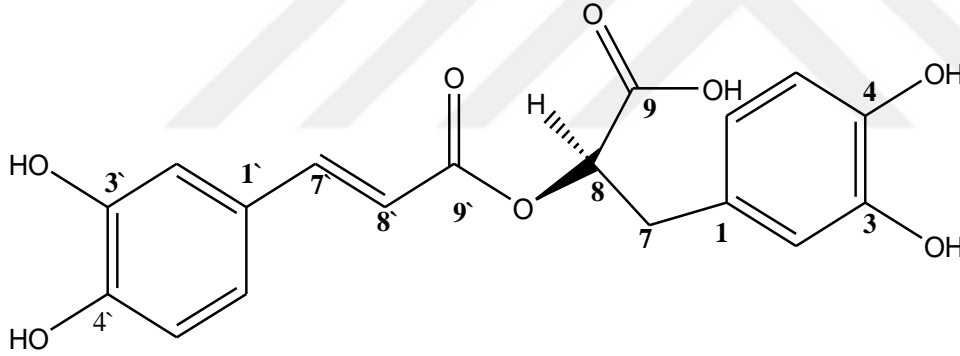
Genel olarak tüm silika jel kolonda Aseton/MeOH: 9/1 sistemi ve sonrasında gelen polar fraksiyonları C-18 kolondan sabit MeOH/Su:70/30 çözücü sistemi ile fraksiyonlandırılmıştır. Bu fraksiyonlarda C-18 kolan takılı DAD dedektörlü preparatif HPLC'de MeOH/Su:50/50 sabit çözücü sistemi ile çalışılmıştır.

Tablo 19. Yapısı Aydınlatılan Bileşikler

No	İsim	SP
1	Rozmarinik Asit	+
2	Apigenin	+
3	Fumarik Asit	+
4	Kaffeik Asit	+
5	4-Hidroksibenzoik Asit	+
6	7-Asetil royleanon	+
7	β-Sitosterol	+
8	Ferruginol	+
9	Inuroyleanol	+
10	6,7-Dehidroroyleanon	+
11	Ursolik Asit	+
12	Oleanolik Asit	+
13	Salvianolik Asit A	+
14	Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2-dikarboksilat	+
15	Stigmasterol	+
16	Bis(2-etilheksil) tereftalat	+
17	Pisiferal	+
18	Sugiol	+
19	12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen	+
20	12-Demetilmultikaulin	+
21	Salvipison	+

5.7.1. Rozmarinik asit

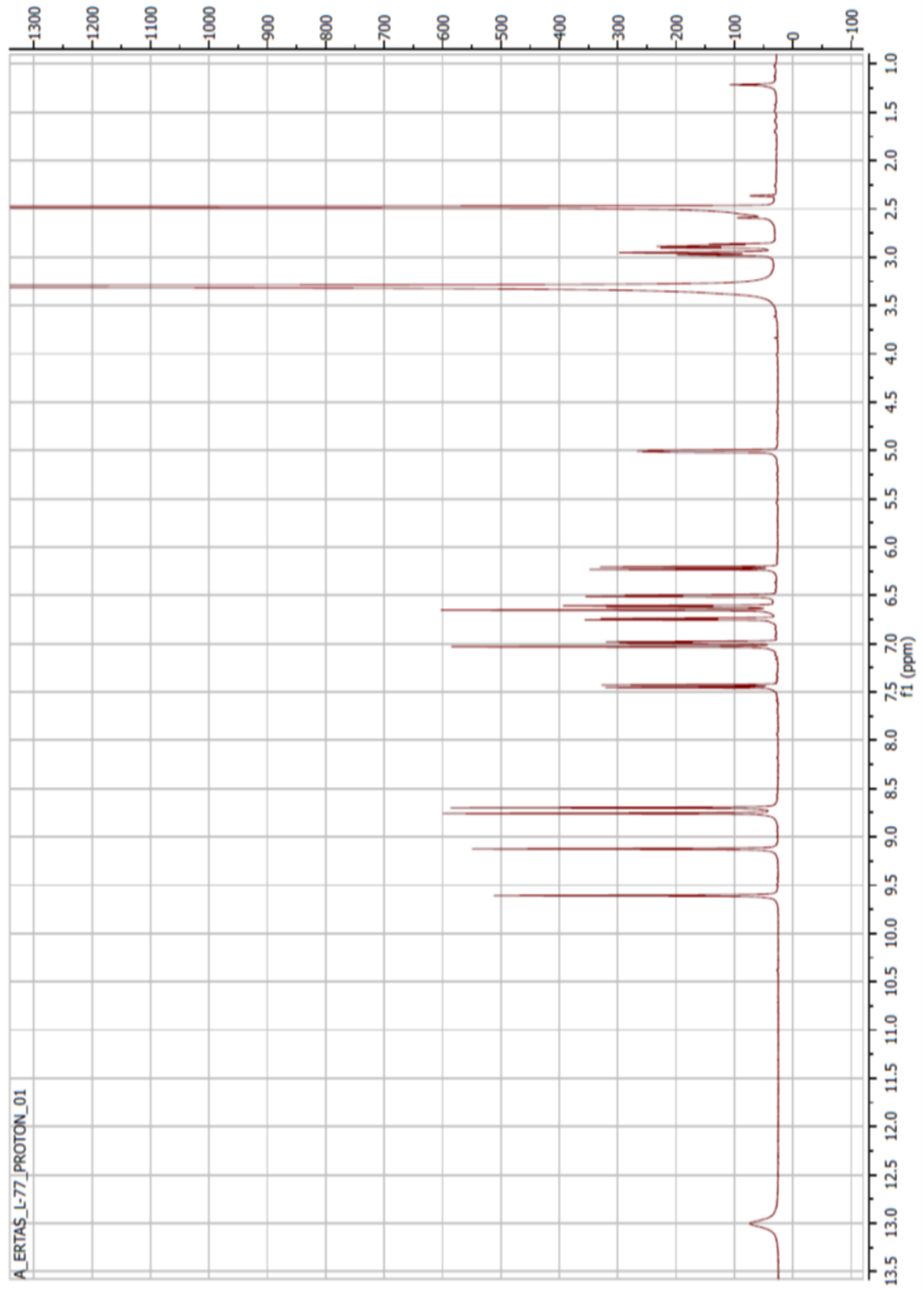
Türün toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin çok sayıdaki fraksiyonundan preparatif HPLC ile MeOH/Su:50/50 sisteminde beyaz renkte katı halde elde edildi. Preparatif HPLC’de DAD dedektörde UV max dalga boyu 332 nm olan pik toplandı. Farklı saflıklarda olmak üzere yaklaşık 150 mg elde edildi (Şekil 22). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) δ 7,03 (brs), 6,75 (d, J=6 Hz), 6,99 (d, J=6 Hz), 2,96 (brd, J=12 Hz), 2,92 (dd, J=13,8; 9,6 Hz), 6,22 (d, J=12Hz), 6,50 (d, J=2 Hz), 6,65 (brs), 6,63 (d, J=6 Hz), 7,45 (d, J=18 Hz) ve 5.01’de (m) görülen pikler sırasıyla H-2, H-5, H-6, H-7a, H-7b, H-8, H-2’, H-5’, H-6’, H-7’ ve H-8’ protonlarına aittir (114, 115). Validasyonu yapılmış olan metod ile LC-MS-IT-TOF’ta çalışıldığında bu maddenin rozmarinik asit standardı ile aynı alıkonma zamanına sahip olduğu görüldü ve izlenen [M-H]⁻ piki (m/z 359.0772 (C₁₈H₁₆O₈)) ile elde edilen maddenin rozmarinik asit olduğu doğrulandı. Tablo 20’de ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 23-26).



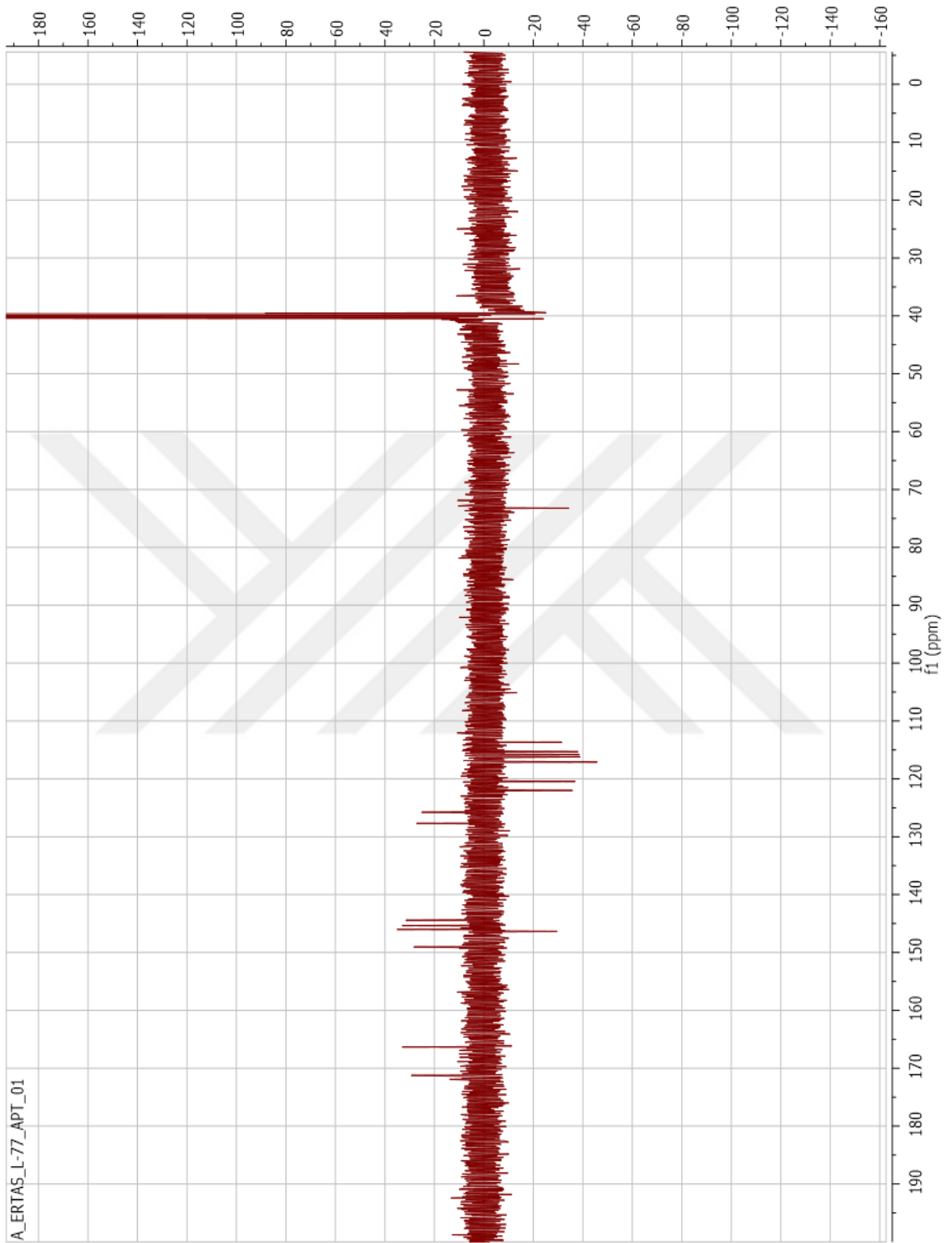
Şekil 22. Rozmarinik Asit

Tablo 20. Rozmarinik asit bileşiminin NMR değerleri

Pozisyon	¹³C-NMR	¹H-NMR
1	129.63	-
2	113.69	7,03 <i>brs</i>
3	147.49	-
4	149.30	-
5	114.28	6,75 <i>d</i> (<i>J</i> =6 Hz)
6	122.84	6,99 <i>d</i> (<i>J</i> =6 Hz)
7	38.60	a 2,96 <i>brd</i> (<i>J</i> =12,0) b 2,92 <i>dd</i> (<i>J</i> =13.8; 9.6 Hz)
8	115.30	6,22 <i>d</i> (<i>J</i> =12 Hz)
9	169.10	-
1`	131.18	-
2`	117.10	6,50 <i>d</i> (<i>J</i> =2 Hz)
3`	147.49	-
4`	144.71	-
5`	116.00	6,65 <i>brs</i>
6`	122.83	6,63 <i>d</i> (<i>J</i> =6 Hz)
7`	147.40	7,45 <i>d</i> (<i>J</i> =18 Hz)
8`	82.51	5.01 <i>m</i>
9`	175.50	-

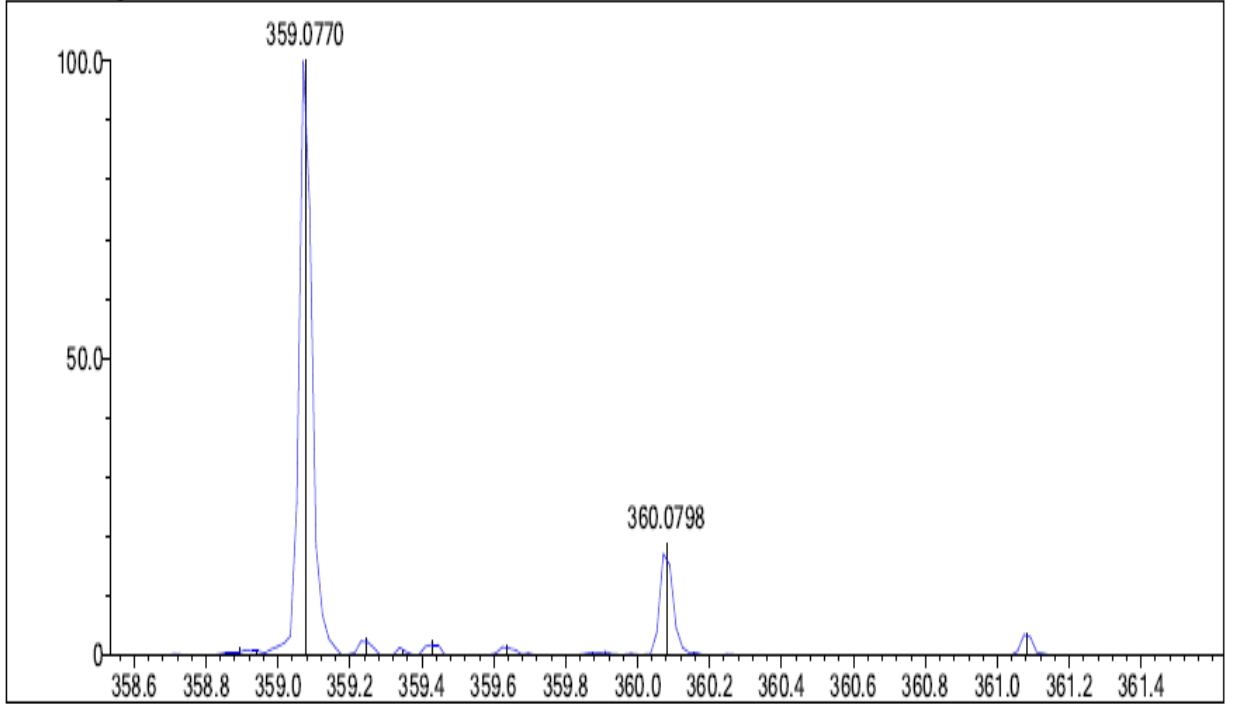


Şekil 23. Rozmarinik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)

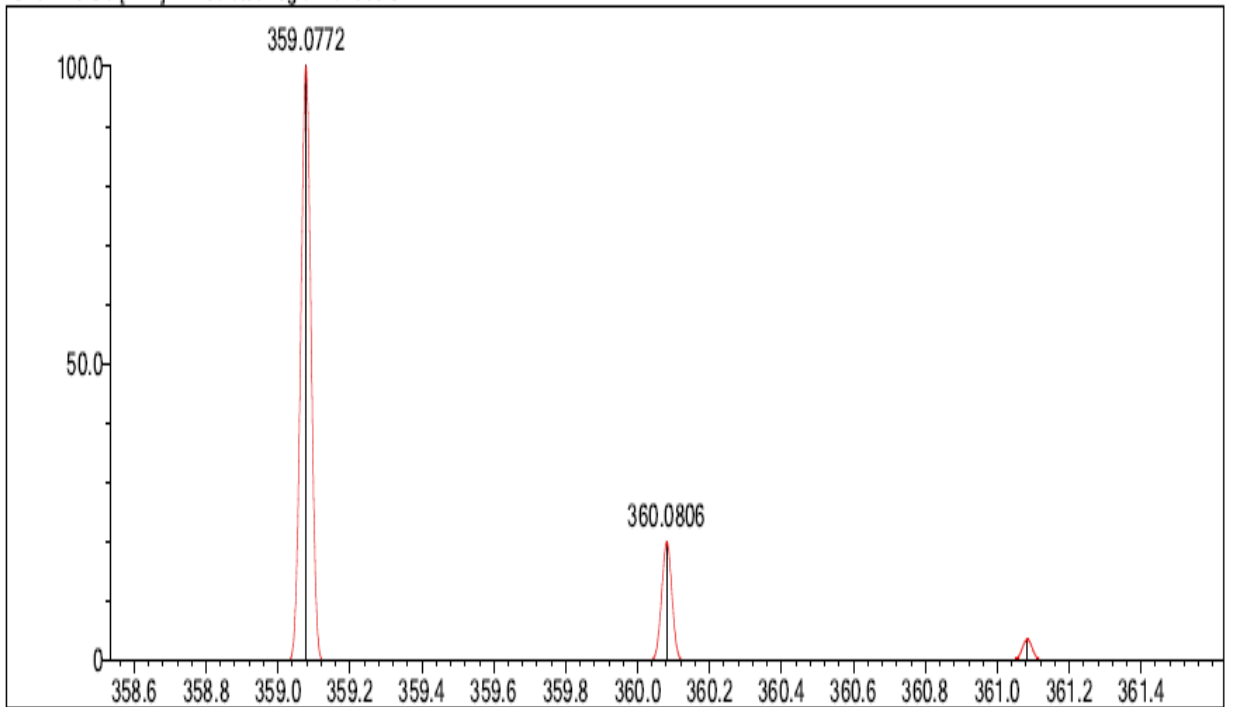


Şekil 24. Rozmarinik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)

Measured region for 359.0770 m/z



C18 H16 O8 [M-H]⁻: Predicted region for 359.0772 m/z

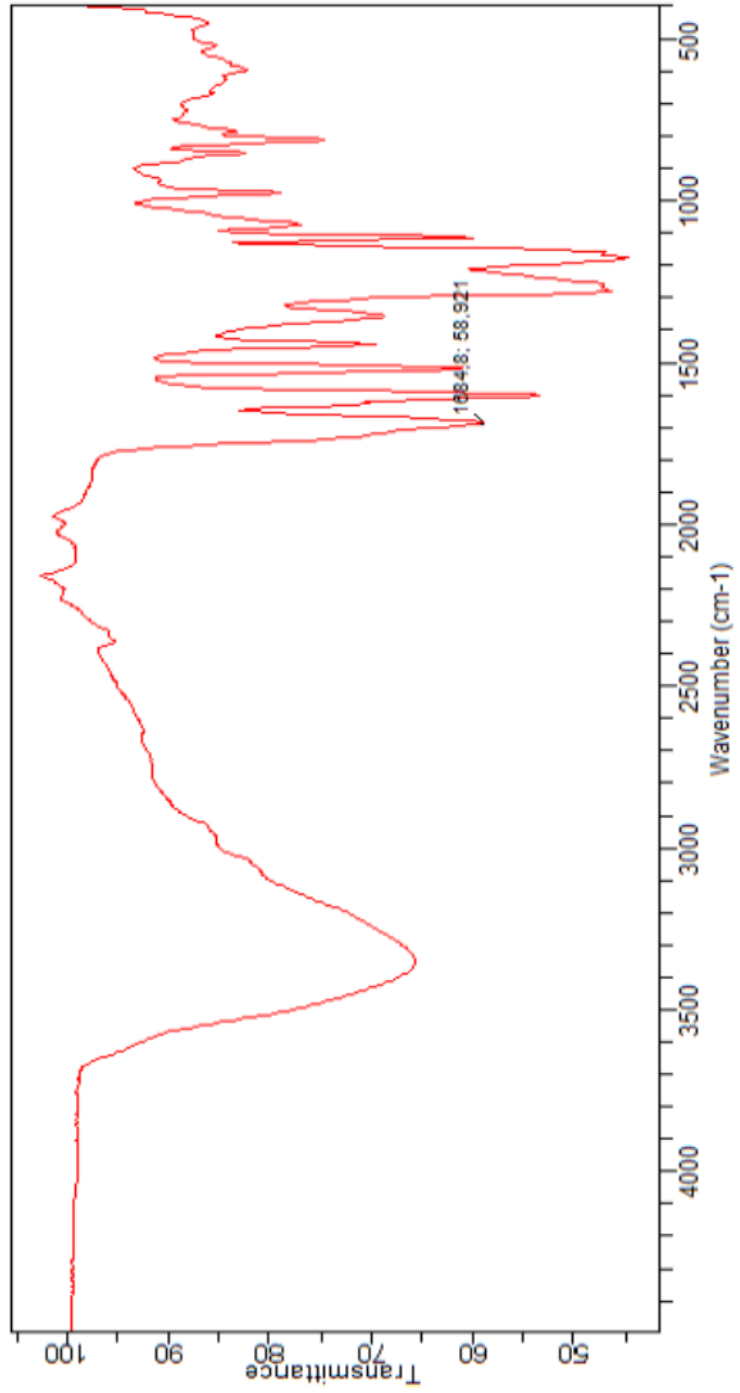


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.55	C18 H16 O8	[M-H] ⁻	359.0770	359.0772	-0.2	-0.56	77.55	11.0

Şekil 25. Rozmarinik asit LC-MS-IT-TOF kromatogram

Sample ID: ROSMARINIC ASIT
Sample Scans: 128
Background Scans: 128
Resolution: 8
System Status: Good
File Location: C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\ROSMARINIC ASIT_2018-05-10T14-37-23.a2r

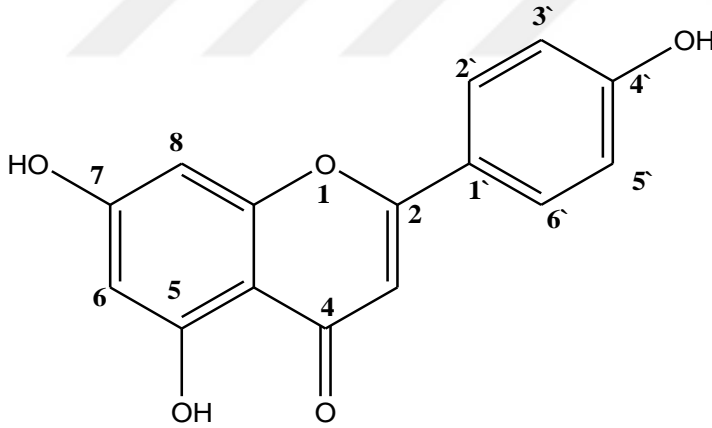
Method Name: zeynep
User: Admin
Date/Time: 05.10.2018 2:37:23
Range: 4500 - 400
Apodization: Triangular



Şekil 26. Rozmarinik asit bileşiğinin IR spektrumu

5.7.2. Apigenin

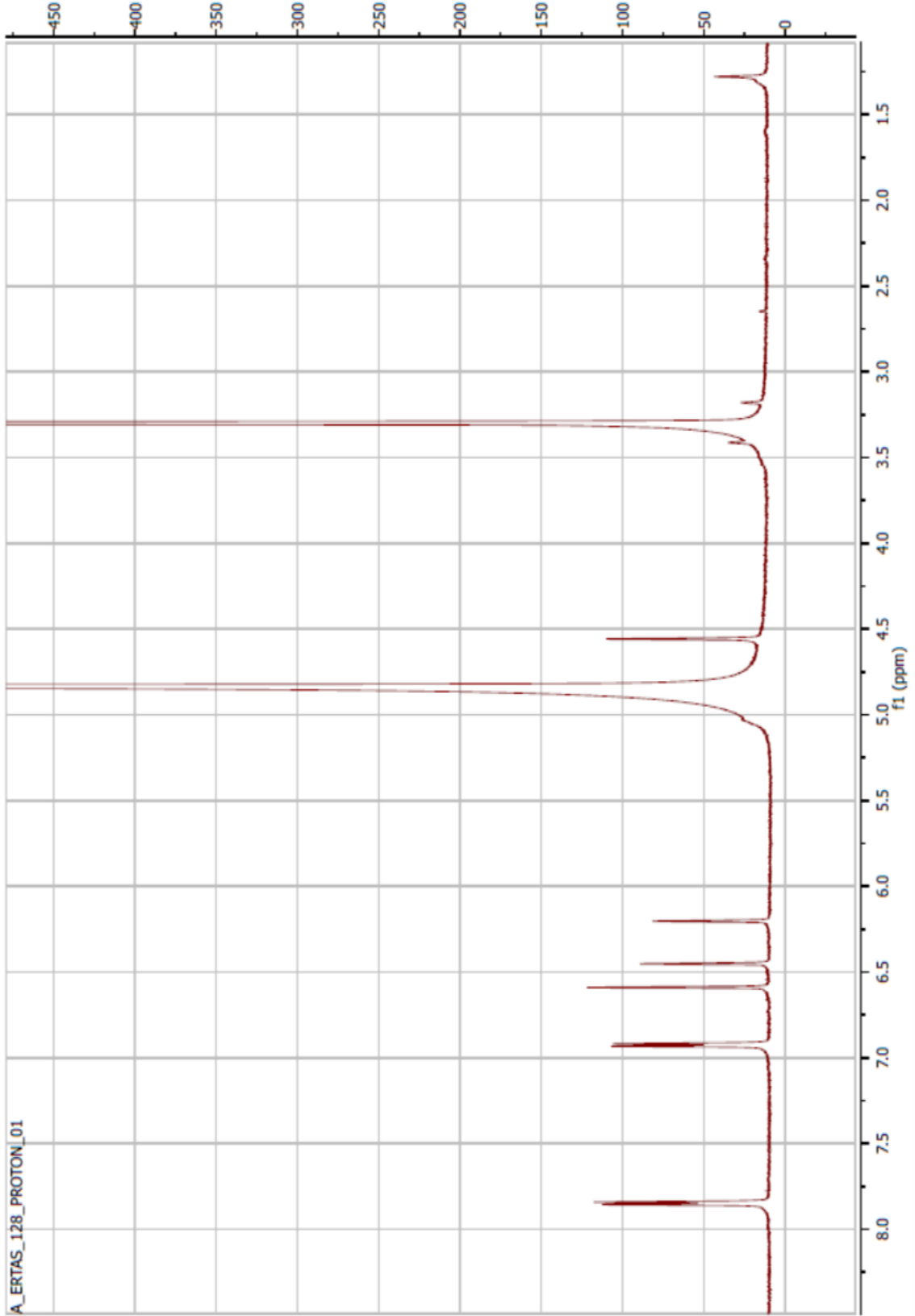
Toprak üstü kısımların etanol ekstresinin %50 Aseton/Metanol ve sonrası fraksiyonların birleştirilip C-18 kolonda MeOH/SU:70/50 sabit çözücü sisteminden geçirilerek alt fraksiyonlara ayrıldı. Bu alt fraksiyonların MeOH/Su:50/50 çözücü sisteminde preparatif HPLC’de 342 nm dalga boyunda max absorbans veren pik toplandı. Toplam 20 mg sarımsak toz halinde elde edildi. Aromatik bölgede izlenen proton sinyalleri bize yapının fenolik veya flavonoit yapısında olabileceğini düşündürdü. İleri NMR teknikleri ile çalışılmadan önce LC-MS-IT-TOF sistemi ile madde analiz edildi. Bu bileşik validasyonu yapılmış metot ile çalışıldığında apigenin ile aynı alıkonma süresine sahip olduğu görüldü. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 269.0450 $[M-H]^-$ piki $C_{15}H_{10}O_5$ kapalı formülünü önerdi. NMR ve kütle spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında bu bileşiğin apigenin olduğu doğrulandı (116,119). Tablo 21’de bu bileşiğin 1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 28-31).



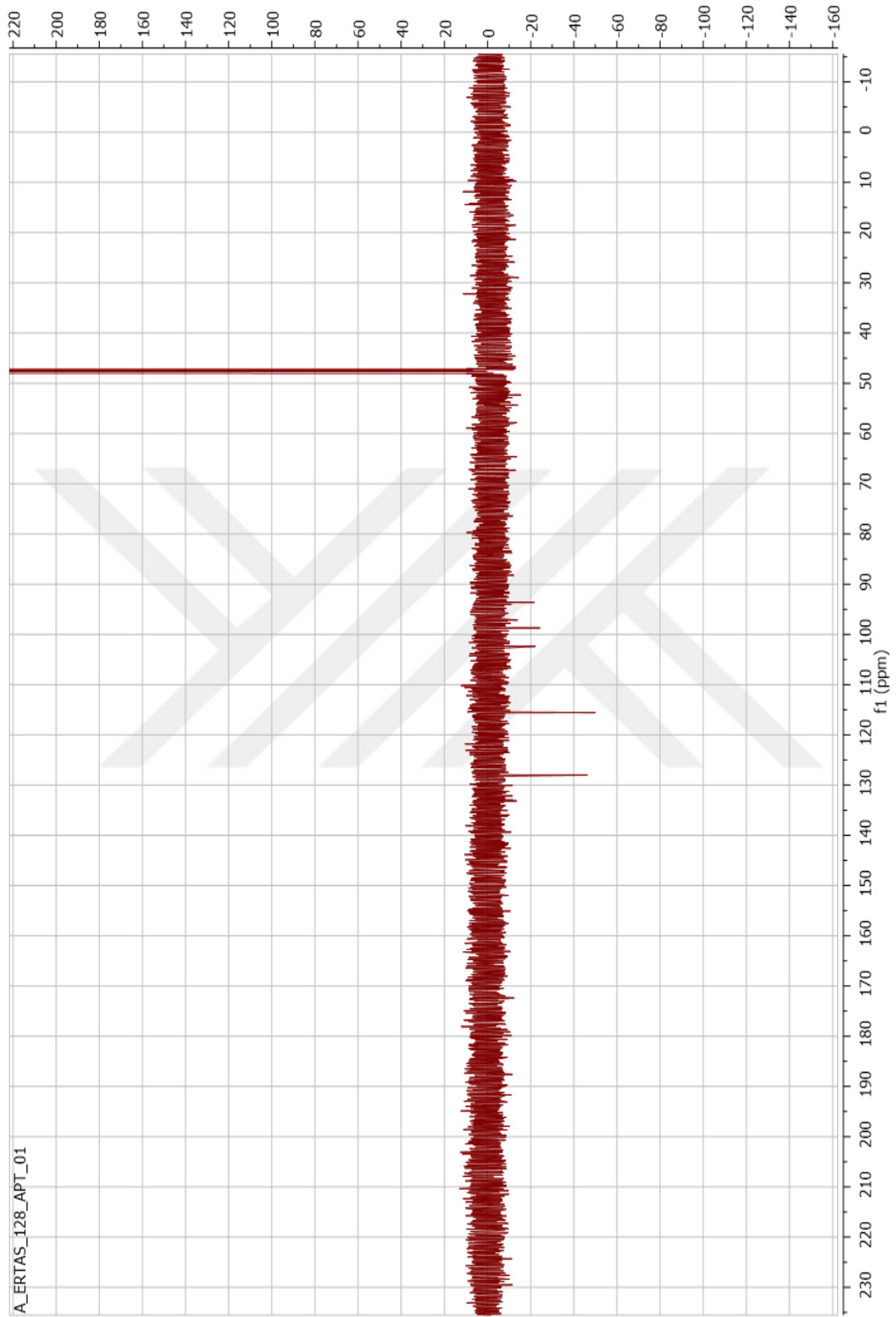
Şekil 27. Apigenin

Tablo 21. Apigenin Bileşiminin NMR Değerleri

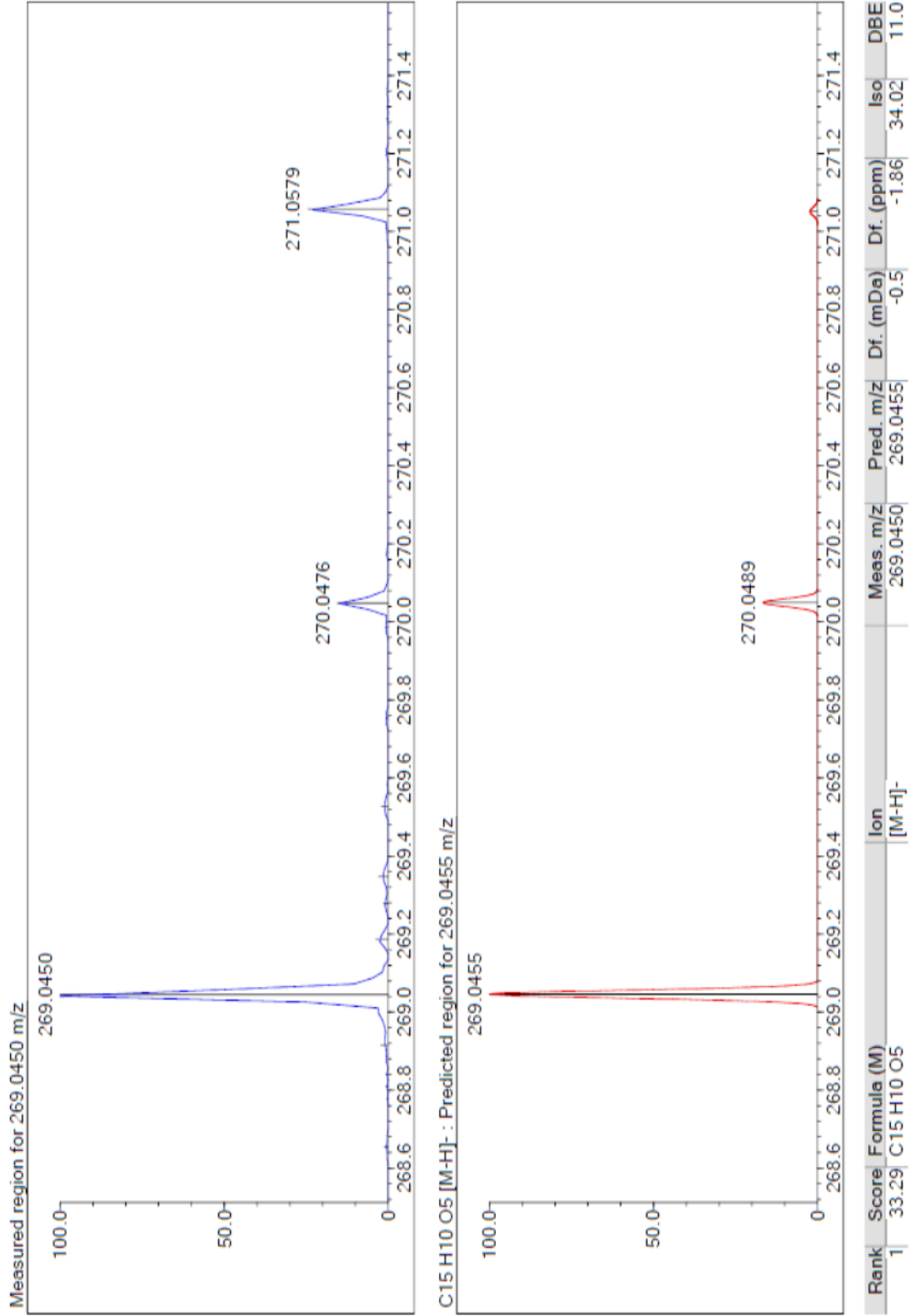
Pozisyon ¹H-NMR	
1	-
2	-
3	6.59s
4	-
5	-
6	6.20s
7	-
8	6.45s
9	-
10	-
1'	-
2', 6'	7.85 <i>d</i> (<i>J</i> =8.4 Hz)
3', 5'	6.92 <i>d</i> (<i>J</i> =7.8 Hz)
4'	-
5-OH	-



Şekil 28. Apigenin bileşğinin ¹H NMR spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)



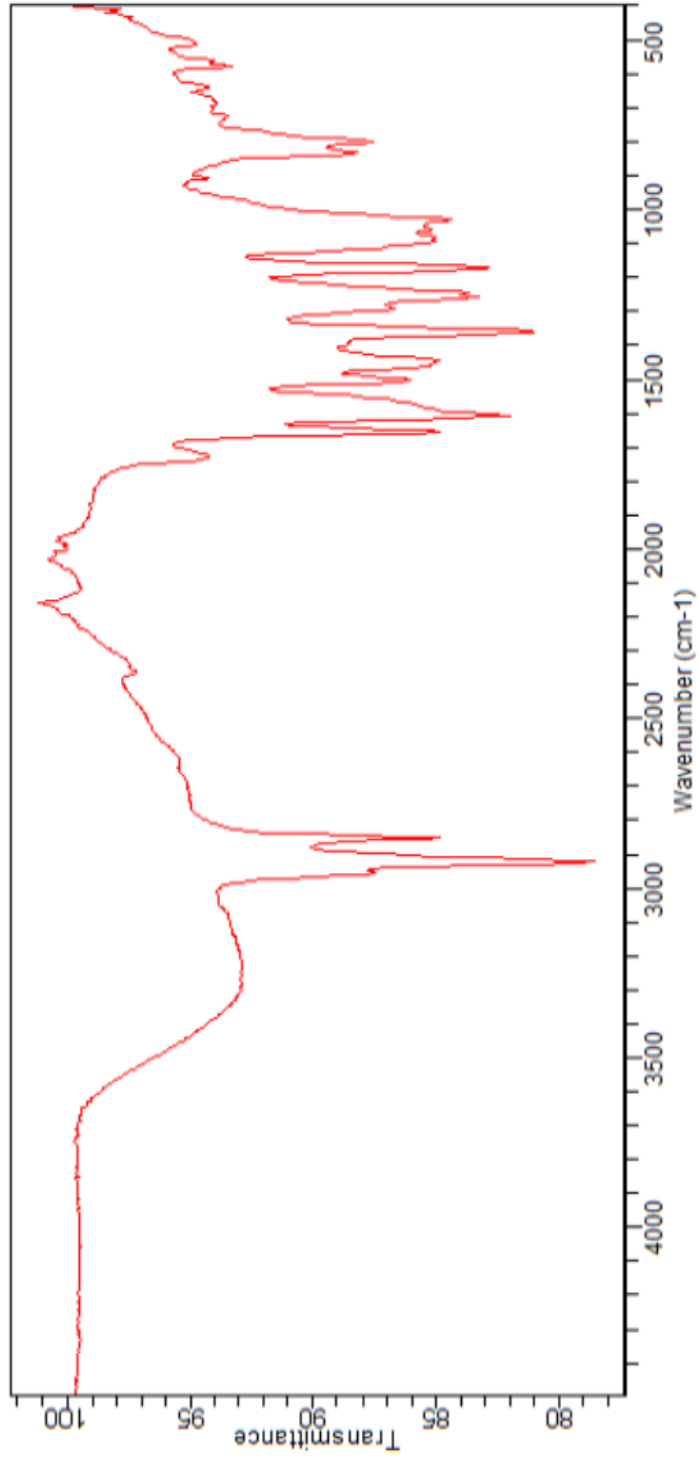
Şekil 29. Apigenin bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



Şekil 30. Apigenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:C-128
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\C-128_2018-05-09T17-27-31.a2r

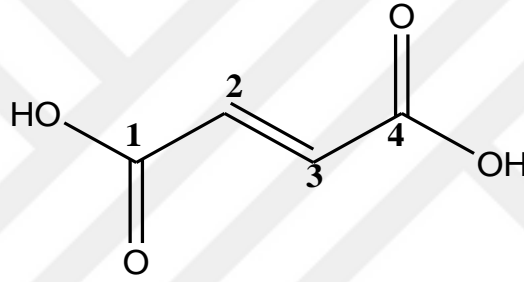
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.09.2018 5:27:31
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 31. Apigenin bileşğinin IR spektrumu

5.7.3. Fumarik Asit

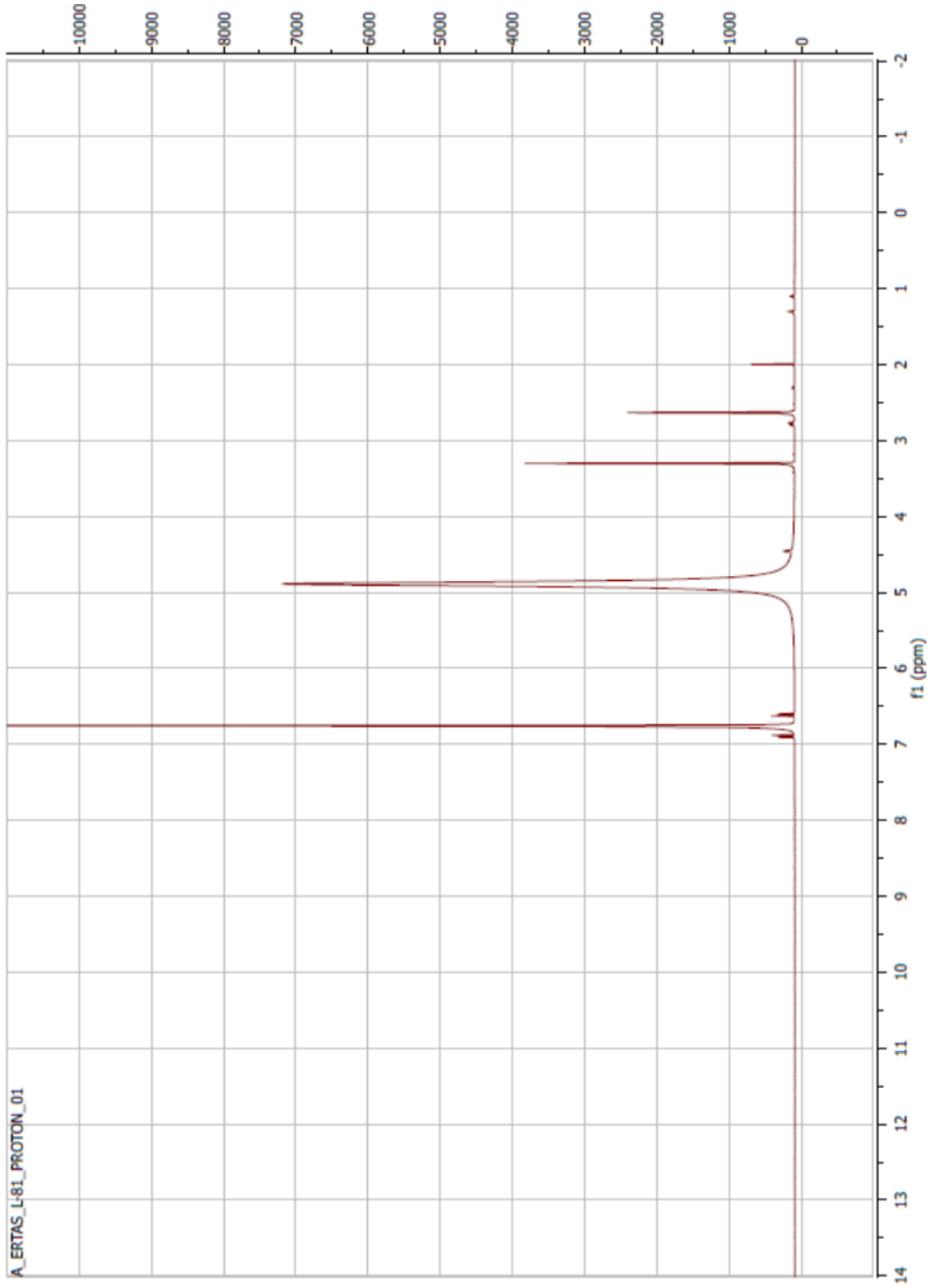
Türün toprak üstü kısımların etanol ekstrelerinden preparatif ince tabaka kromatografisi ile aseton/MeOH:9.5/0.5 çözücü sisteminde elde edildi (Şekil 32). Beyaz katı halinde yaklaşık 10 mg elde edildi. $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O) spektrumunda δ 6,76 ppm'de rezonans olan singlet protonunu görüldü. Moleküldeki tek protonun olefinik protonudur. APT (150 MHz, CD_3OD) spektrumu incelendiğinde δ 135.33 ve δ 167.82 ppm'de rezonans olan sırasıyla 1 metin ve 1 katerner karbon görüldü. NMR değerleri maddenin simetrik olabileceğini düşündürdü. Literatür araştırması sonucu bitkilerde çok miktarda bulunan ve organik asitlerden olan fumarik asit olduğu tespit edildi (120). Tablo 22'de bu bileşiğin'in ^1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 33,34).



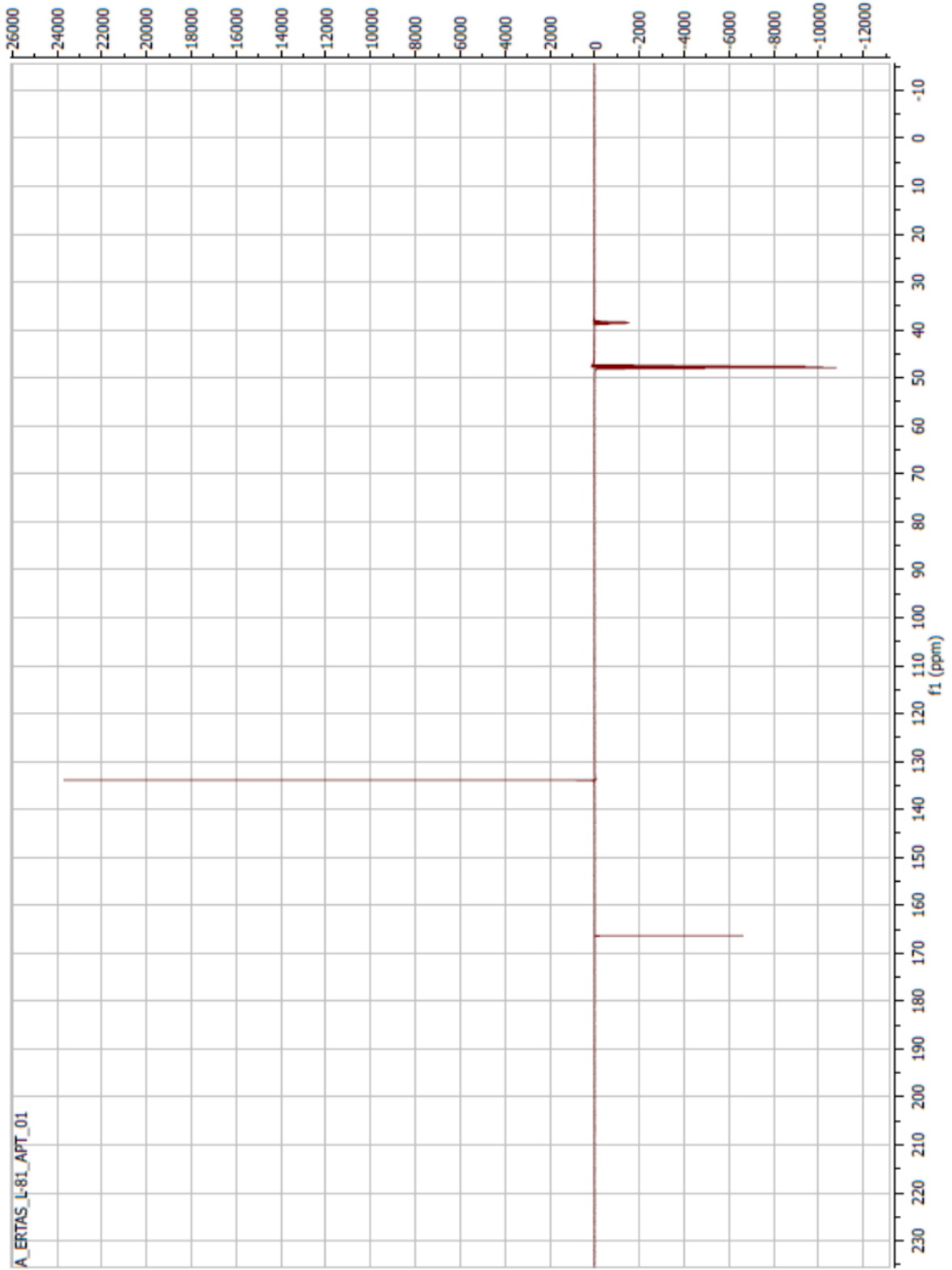
Şekil 32. Fumarik Asit

Tablo 22. Fumarik asit bileşiğinin NMR değerleri

Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	167.82	-
2	135.33	6.76
3	135.33	6.76
4	167.82	-



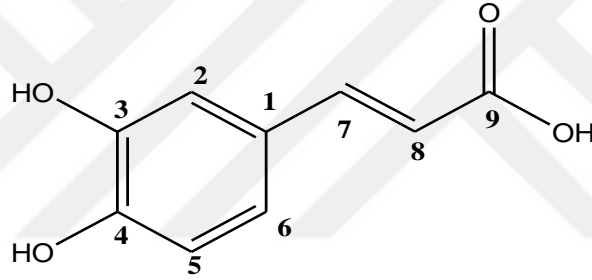
Şekil 33. Fumarik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



Şekil 34. Fumarik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)

5.7.4. Kafeik asit

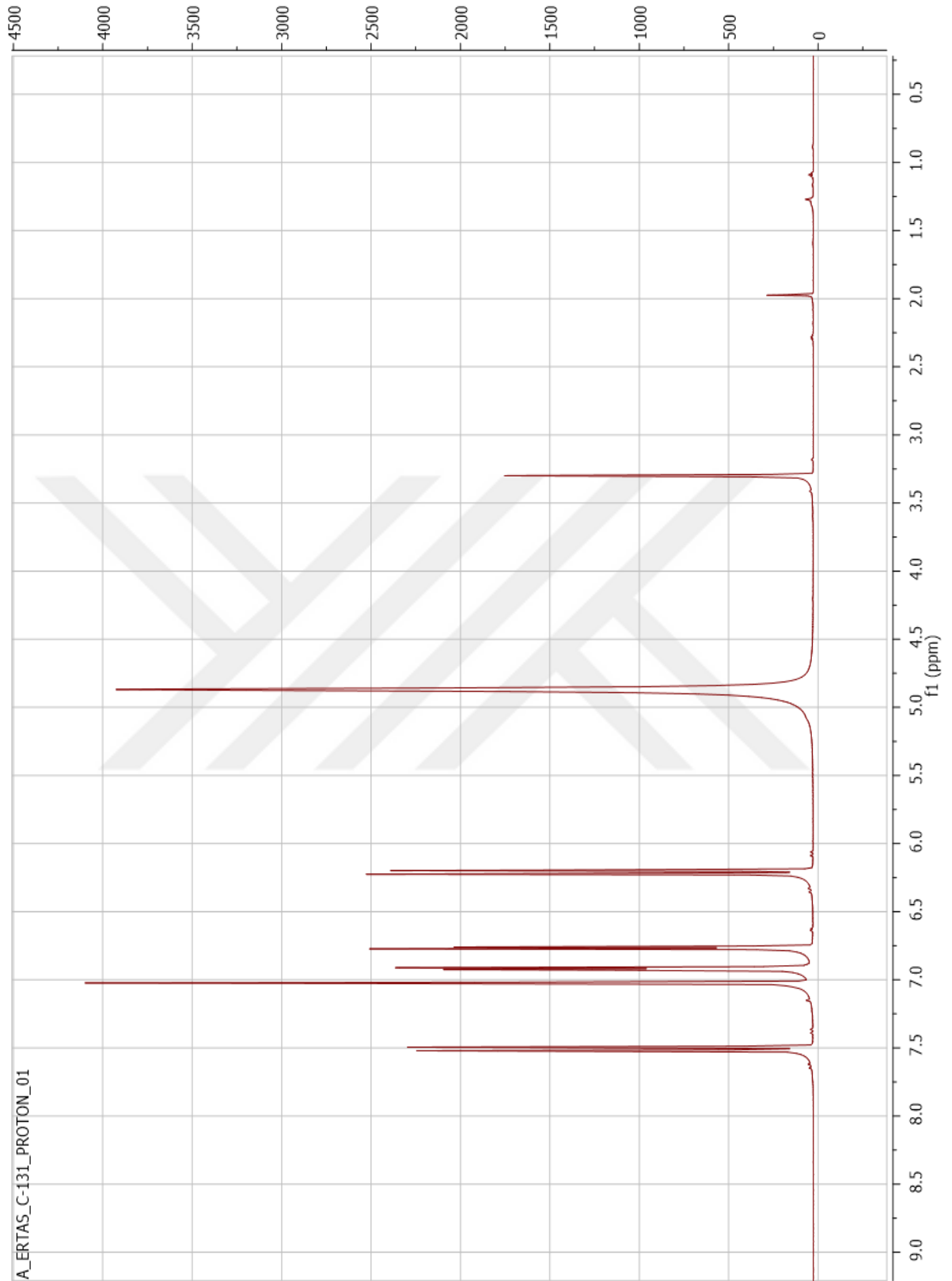
Köklerin etanol ekstrelerinden preparatif HPLC ile elde edildi. Beyaz katı halinde 72 mg olarak elde edildi (Şekil 35). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) δ 7,02 brs, 6,77 d (J=7.8 Hz), 6,92 d (J=7.8 Hz), 7,51 d (J=15.6 Hz) ve 6,23 d (J=15.6 Hz) ppm'de sinyalleri izlendi. APT (CD₃OD, 150 MHz) spektrumunda çift bağ bölgesinde, δ 116.6, 122.9, 146.8 ve 115.2 ppm'de karbon sinyalleri izlendi. Ayrıca δ 128.04, 146.9 ve 149.5 ppm'de 3 adet katerner karbon ve δ 171.4 ppm'de karbonil katerner karbonu izlendi. LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 179.0332 [M-H]⁻ piki C₉H₈O₄ kapalı formülünü önerdi. ¹H- ve APT spektrumları birlikte değerlendirildiğinde bu bileşiğin kafeik asit olduğu doğrulandı (121). Tablo 23'de bu bileşiğin ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 36-39).



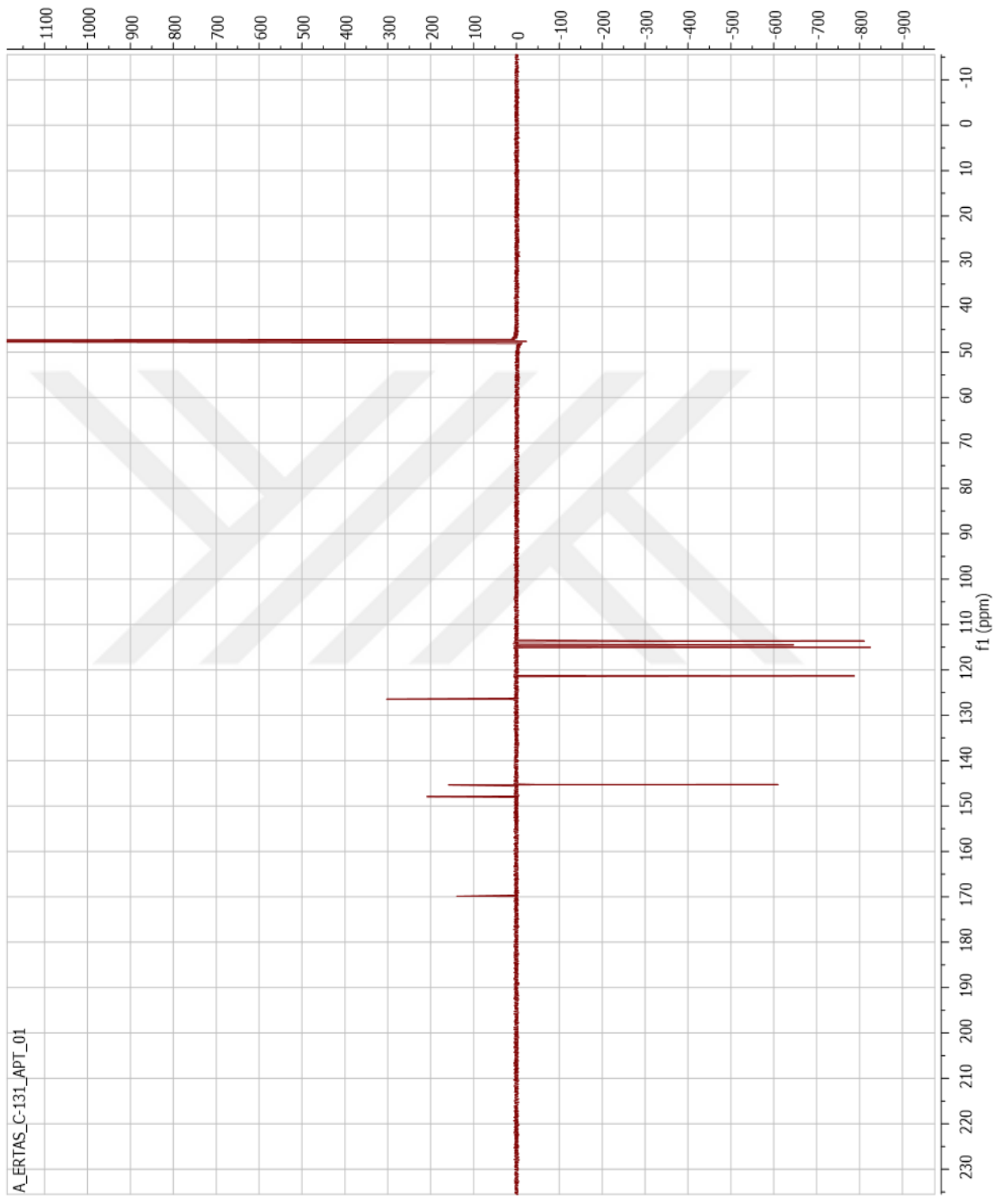
Şekil 35. Kafeik asit

Tablo 23. Kafeik asit bileşiğinin NMR değerleri

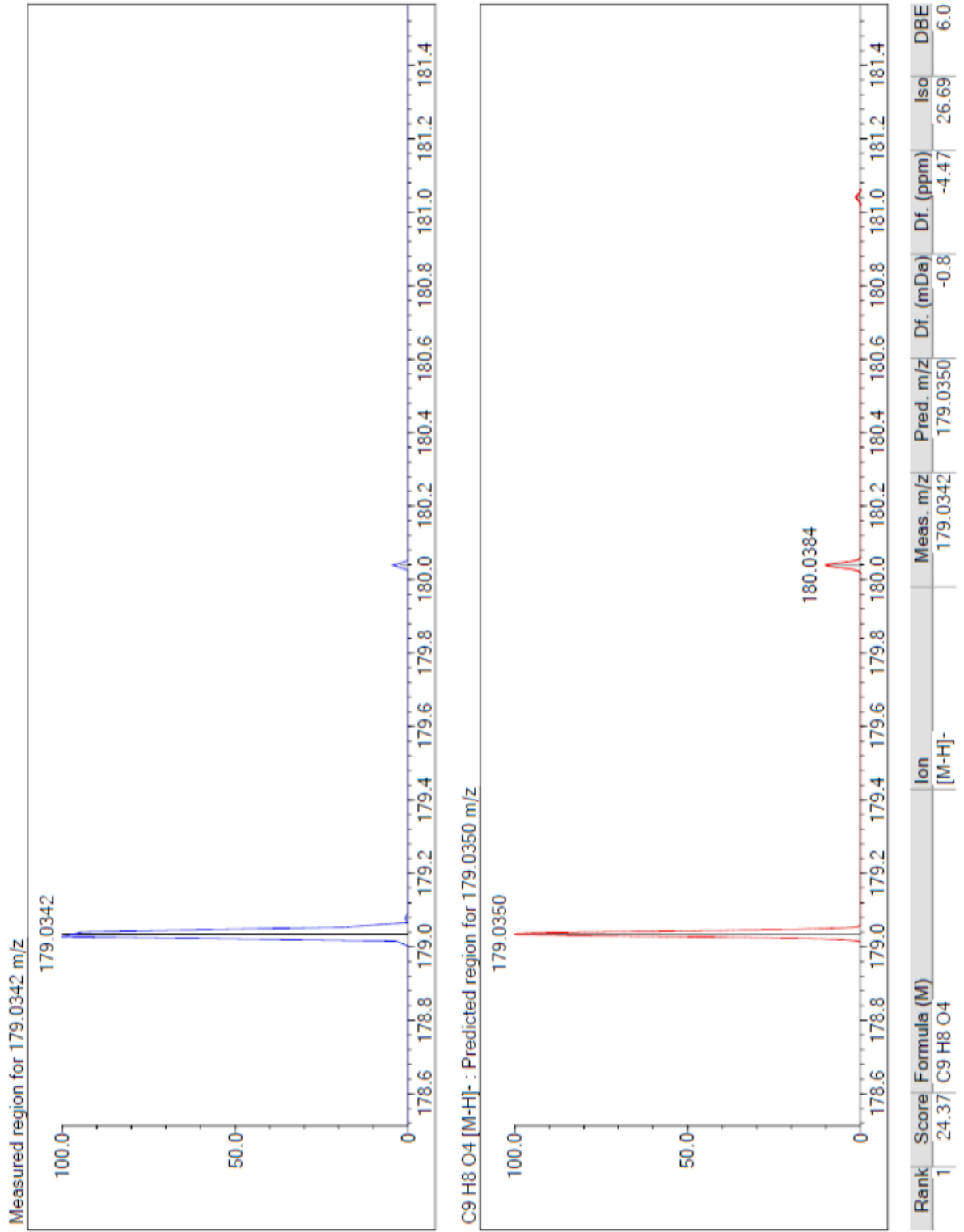
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	128.04	-
2	116.1	7,02 brs
3	146.9	-
4	149.5	-
5	116.6	6,77 d (J=7.8 Hz)
6	122.9	6,92 d (J=7.8 Hz)
7	146.8	7,51 d (J=15.6 Hz)
8	115.2	6,23 d (J=15.6 Hz)
9	171.4	-



Şekil 36. Kafeik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



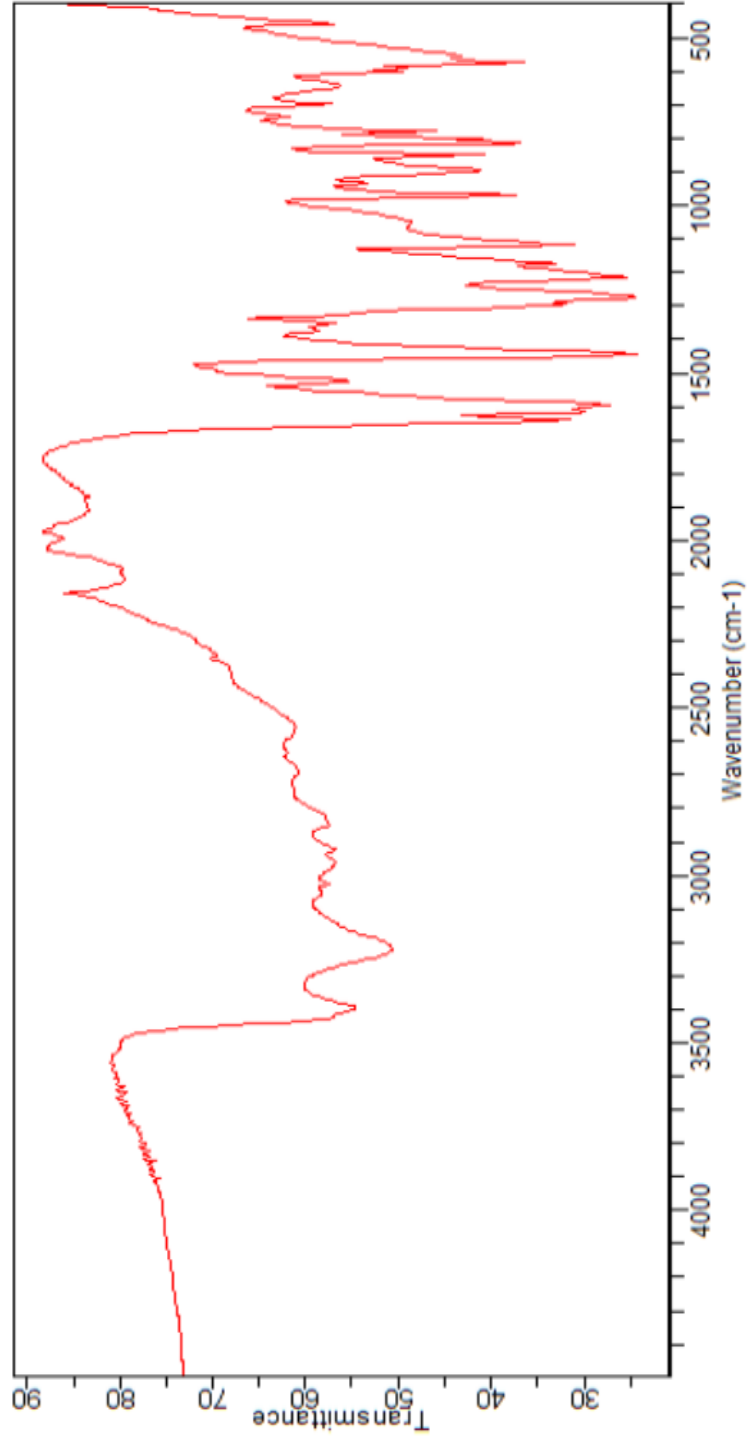
Şekil 37. Kafeik asit bileşğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



Şekil 38. Kafeik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:C-131
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\C-131_2018-05-09T17-38-24.a2r

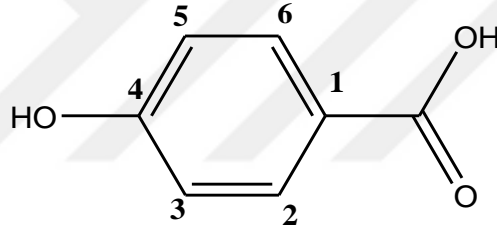
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.09.2018 5:38:24
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 39.Kaffeik asit bileşiginin IR spektrumu

5.7.5. 4-Hidroksi benzoik asit

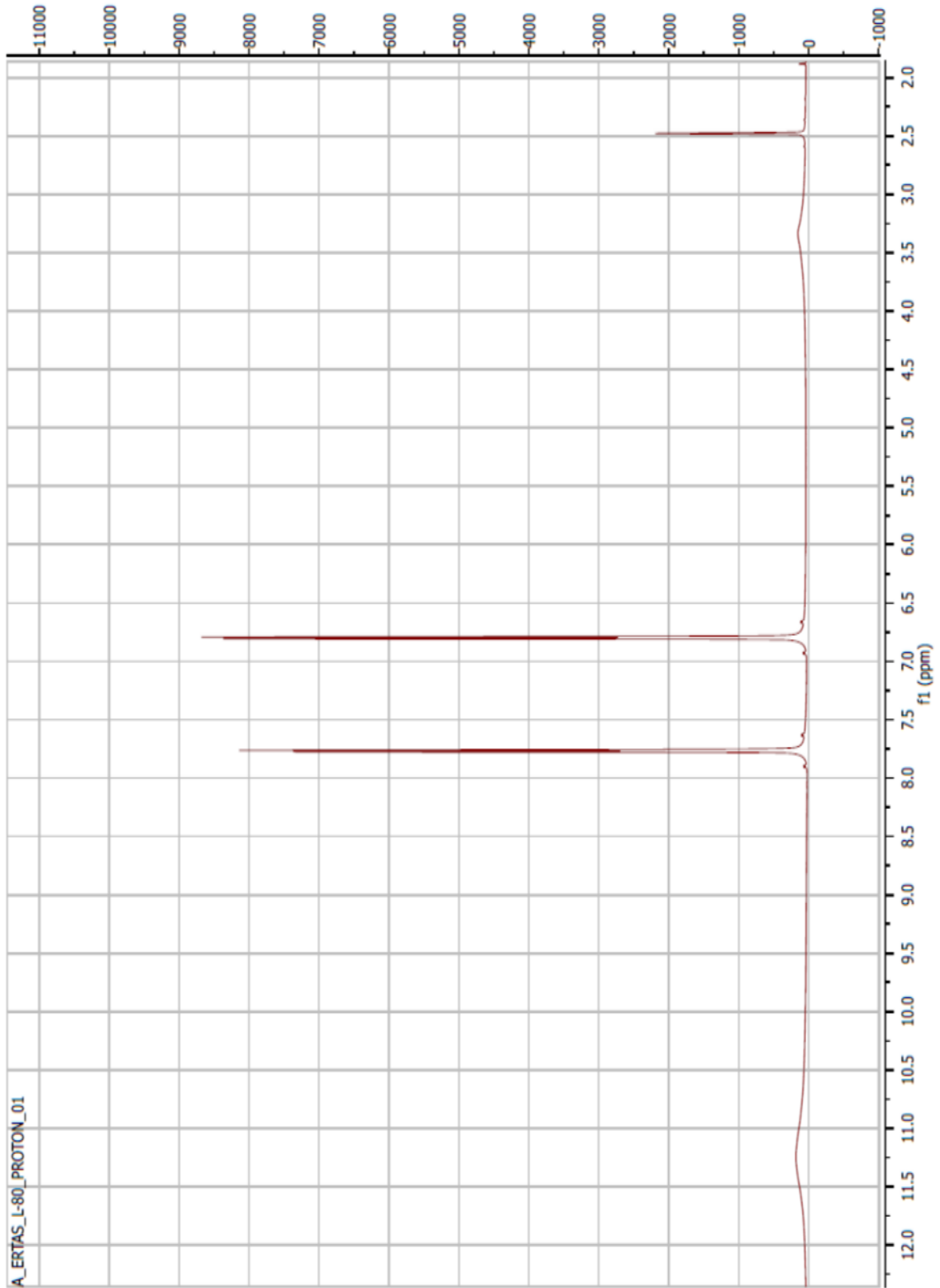
Preperatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle diklorometan/aseton:9.8/0.2 çözücü sisteminde elde edildi. 42 mg beyaz toz olarak elde edildi (Şekil 40). Aynı zamanda preperatif HPLC ile MeOH/Su:1/1 çözücü sisteminde de elde edildi. Hem $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) hem de $^{13}\text{C-NMR}$ da sadece fenolik bölgede ve 11.25 ppm'de yayvan pik vermesi bileşiğin basit bir fenolik asit olacağını düşündürdü. $^1\text{H-NMR}$ 'da 6,81 (J=7,4 Hz) ve 7,75 (J=8,2 Hz) ppm'de 2'şer protonluk pik vermesi yapının simetrik ve para konumunda $-\text{OH}$ grubunun varlığına işaret etmiştir. $^1\text{H-NMR}$ sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ piki m/z 167,0354'e ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$) dayanarak bu bileşiğin 4-hidroksi benzoik asit olduğu saptanmıştır ve NMR değerleri (Tablo 24) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Şekil 41-44).



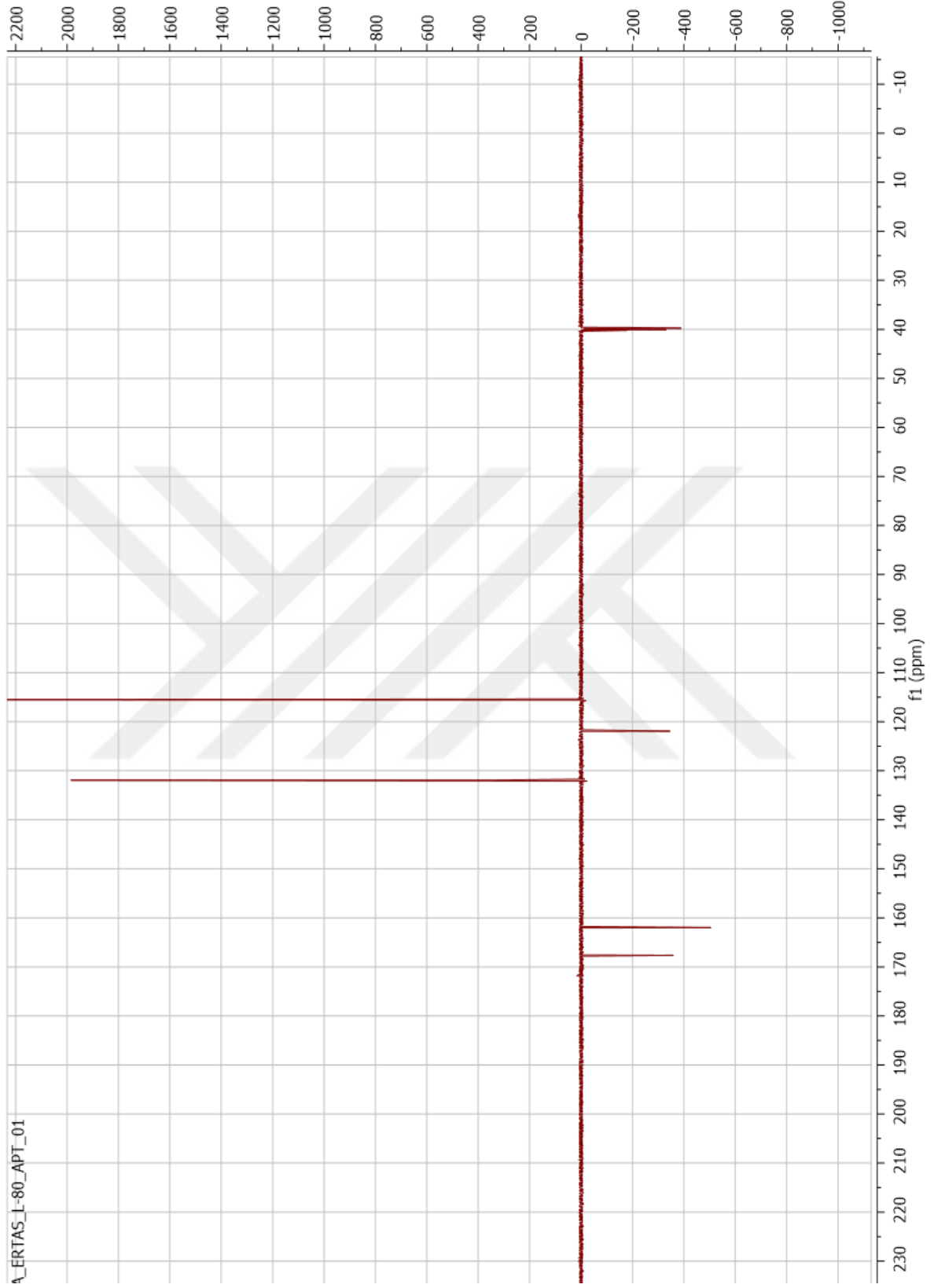
Şekil 40. 4-Hidroksi benzoik asit

Tablo 24. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin NMR değerleri

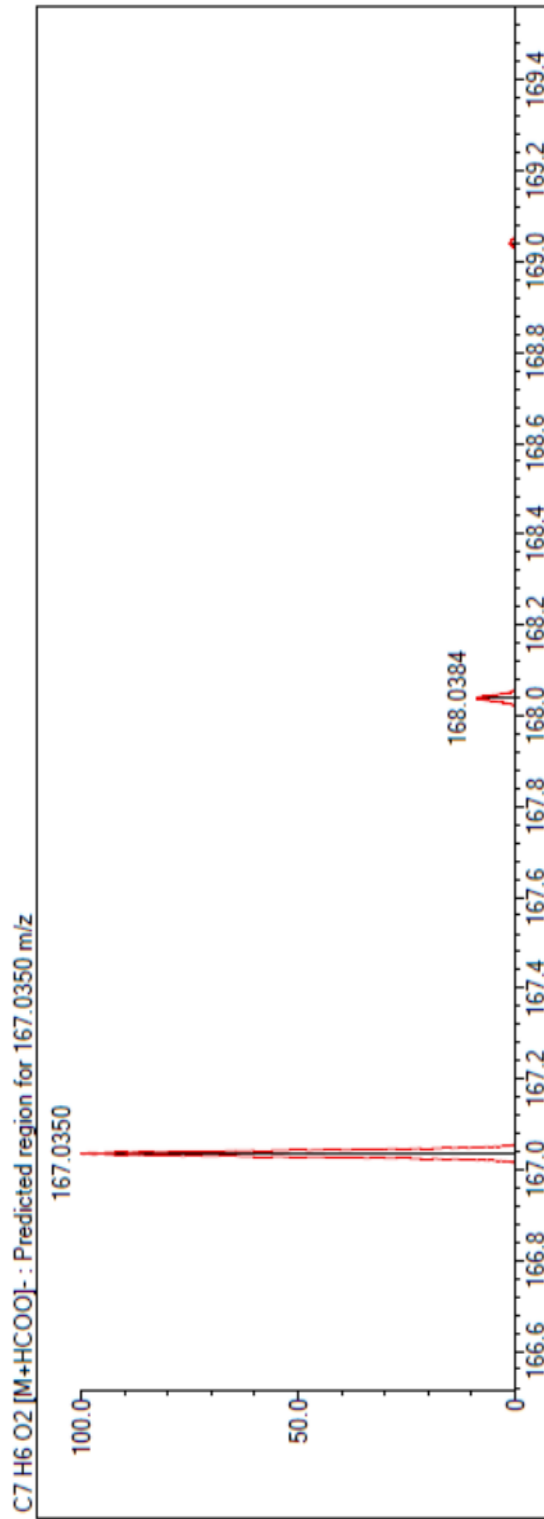
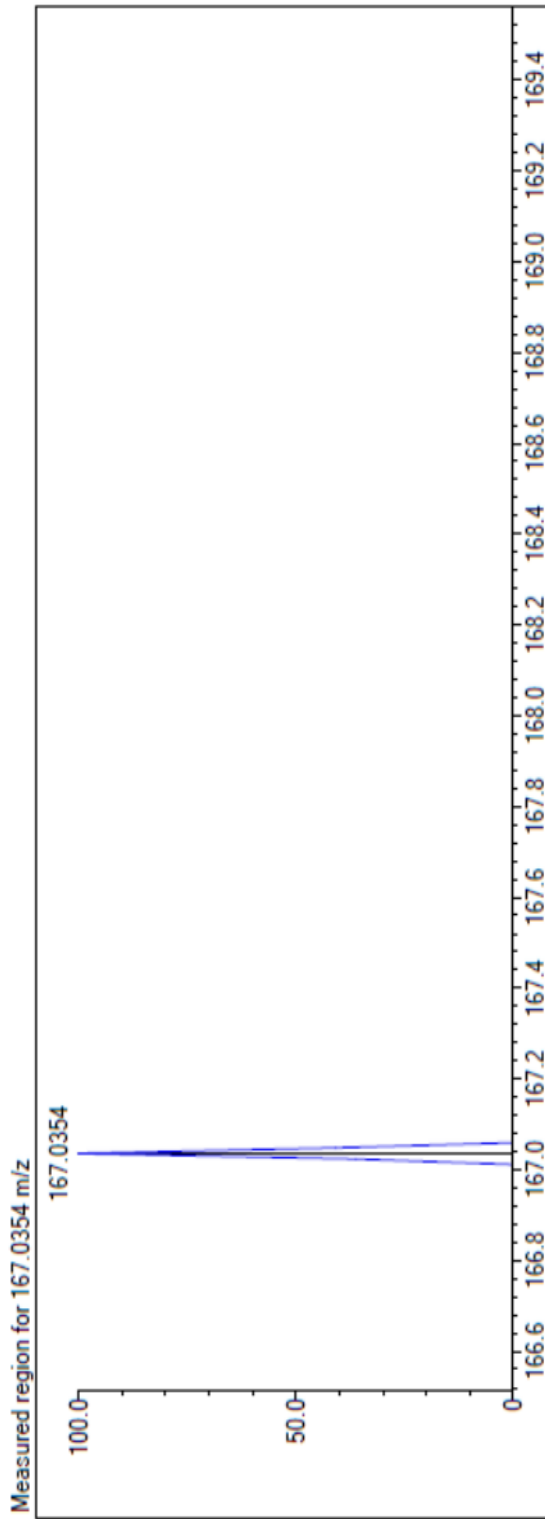
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	121,93	-
2	115,53	6,81 d (J=7,4 Hz)
3	131,93	7,75 d (J=8,2 Hz)
4	162,00	-
5	131,93	7,75 d (J=8,2 Hz)
6	115,53	6,81 d (J=7,4 Hz)
7- <u>COOH</u>	167,65	-



Şekil 41. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 42. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)

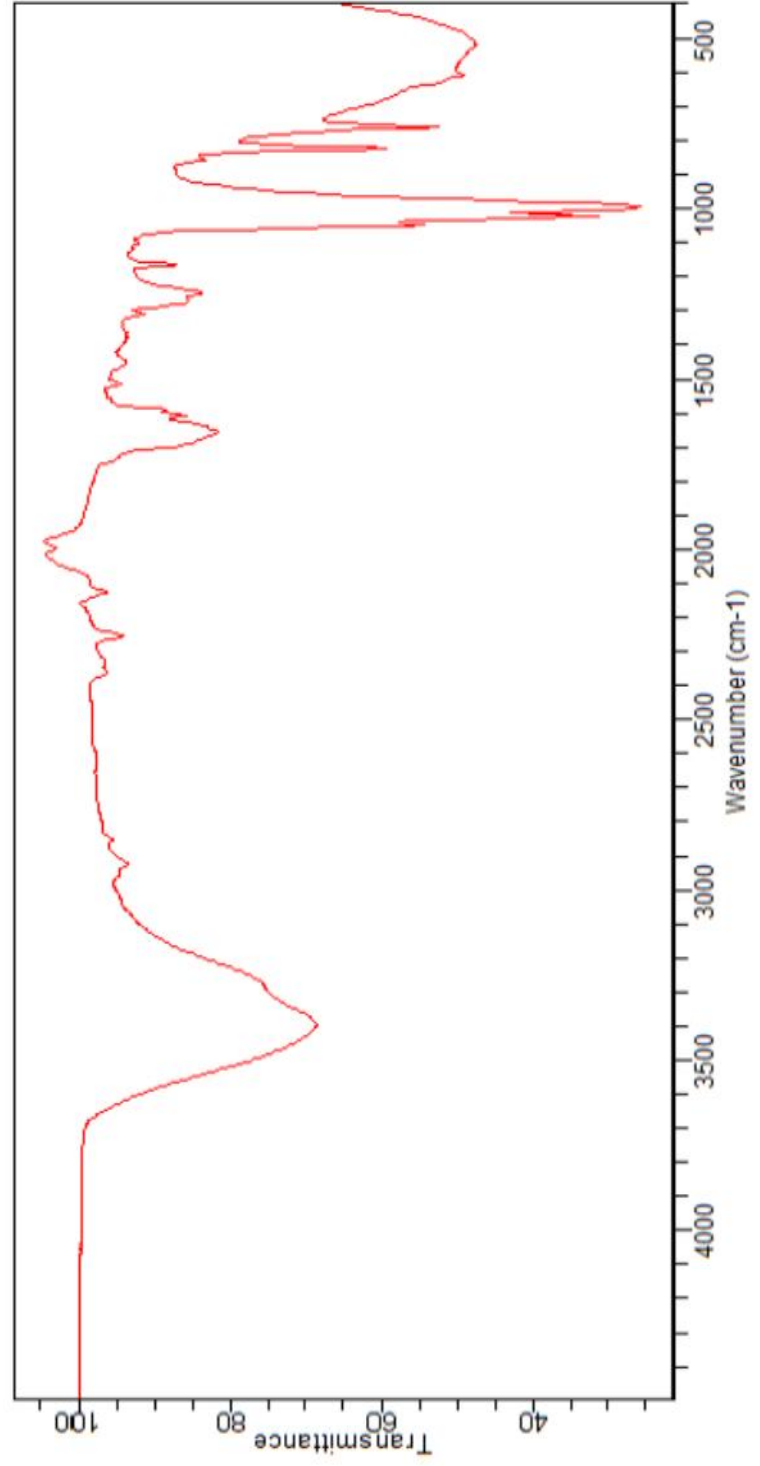


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
2	0.00	C7H6O2	[M+HCOO] ⁻	167.0354	167.0350	0.4	2.39	0.00	5.0

Şekil 43. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:L-80
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\L-80_2018-05-09T13-10-57.a2r

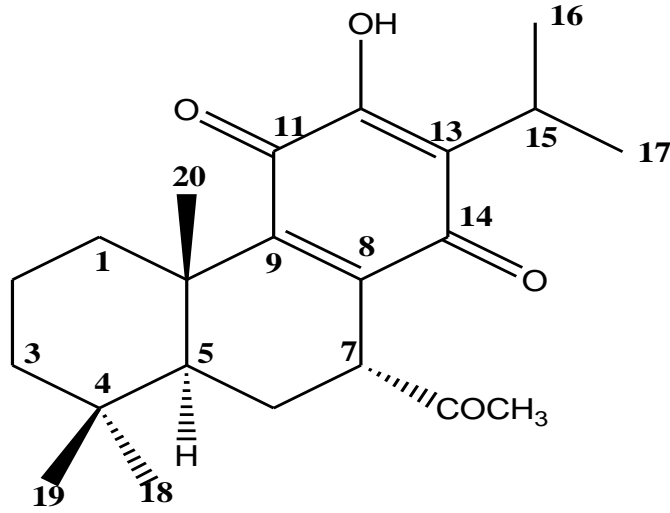
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.09.2018 1:10:57
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 44. 4-Hidroksibenzoik asit bileşiğinin IR spektrumu

5.7.6. 7-Asetil royleanon

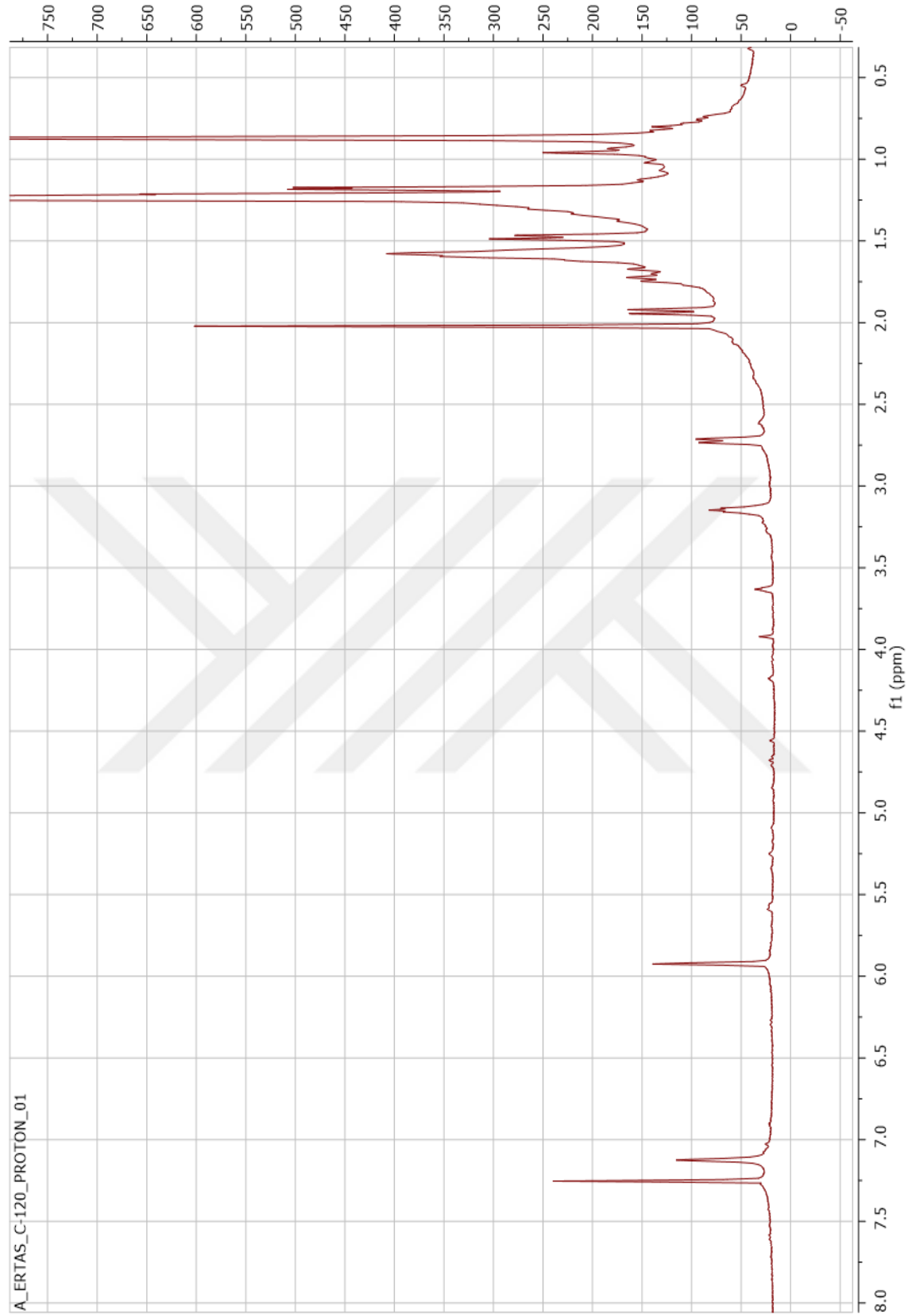
Türün hem kök hemde toprak üstü etanol ekstrelerinden preparatif ince tabaka kromatografisi (Çözücü sistemi Petrol eteri/Diklorometan: 1:2) ile elde edildi (Şekil 45). Özellikle kök etanol ekstresinde 6,7-dehidroroyleanon gibi yüksek miktarda olduğu belirlendi. Turuncu kristal şeklinde elde edildi. Silika jel plağa uygulandıktan sonra UV lamba altında (254nm) bakıldığında kızıl kahverengi görünen madde serik sülfat belirteci çeker ocakta püskürtülüp 105°C’de yakıldığında rengi kahverengine dönüştü. ¹H NMR (CDCl₃, 600MHz) spektrumunda tipik olarak sırasıyla beş metil sinyali (0,87, 0,88, 1,21, 1,21 ve 1,22) gözlemlendi. Sinyallerden 1.21’deki metil sinyallerinin 7,5 Hz lik dubletler şeklinde ve 3.15 ppm deki ise metin protonunun septet (J=6,8 Hz, H-15) şeklinde görülmesi bünyesinde bir isopropil grubunu barındırdığını göstermiştir. Bu sinyaller abietan diterpen yapıda olabileceğini göstermiştir. Ancak aromatik proton sinyali gözlenmemesine rağmen 7.21 ppm deki geniş singletin aromatik bir OH varlığını düşündürdü. Tipik H-1 metilen pikleri 2,73 ppm’ de d (J=12,7 Hz) şeklinde izlendi. Ayrıca 5,95 ppm’ de (brds, H-7) izlenen sinyalin yanında bir asetil metili 2.02 ppm de görüldü. İzlenen bu sinyaller yapıda C-7 de ki hidroksil grubunun yerine bir asetil grubunun varlığına işaret ederek yapı 7α-asetil royleanon=7α-asetil-horminon (7α-asetil-12-hidroksi-8,12-abietadiene-11,14-dion) olarak saptandı (121). ¹H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen [M+H]⁺ piki 359,1695 (C₂₂H₃₀O₄) dayanarak bu bileşiğin 7α-asetil royleanon olduğu saptandı ve NMR değerleri (Tablo 25) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Şekil 46-50).



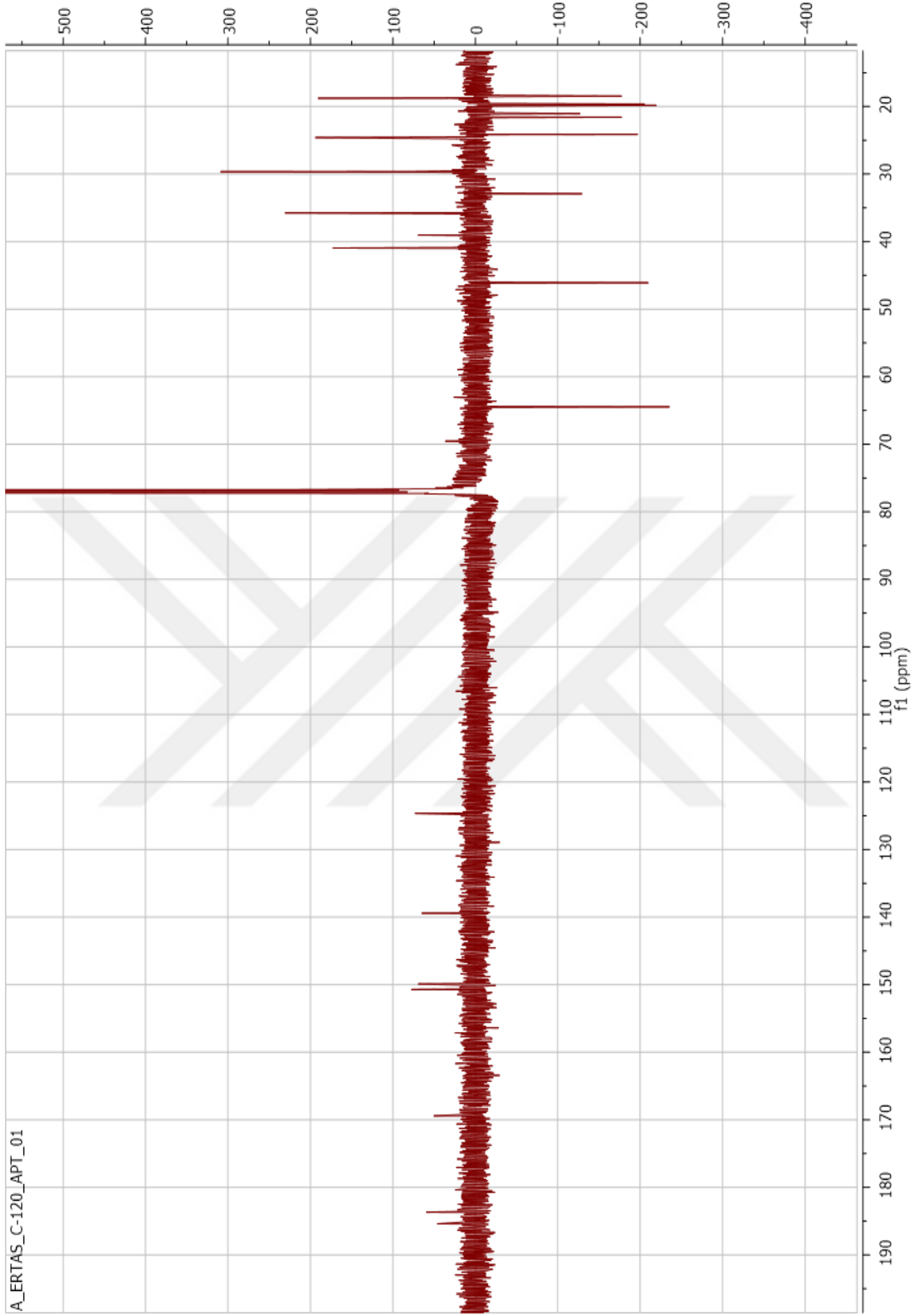
Şekil 45. 7-Asetil royleanon

Tablo 25. 7-Asetil royleanon Bileşiğinin NMR Değerleri

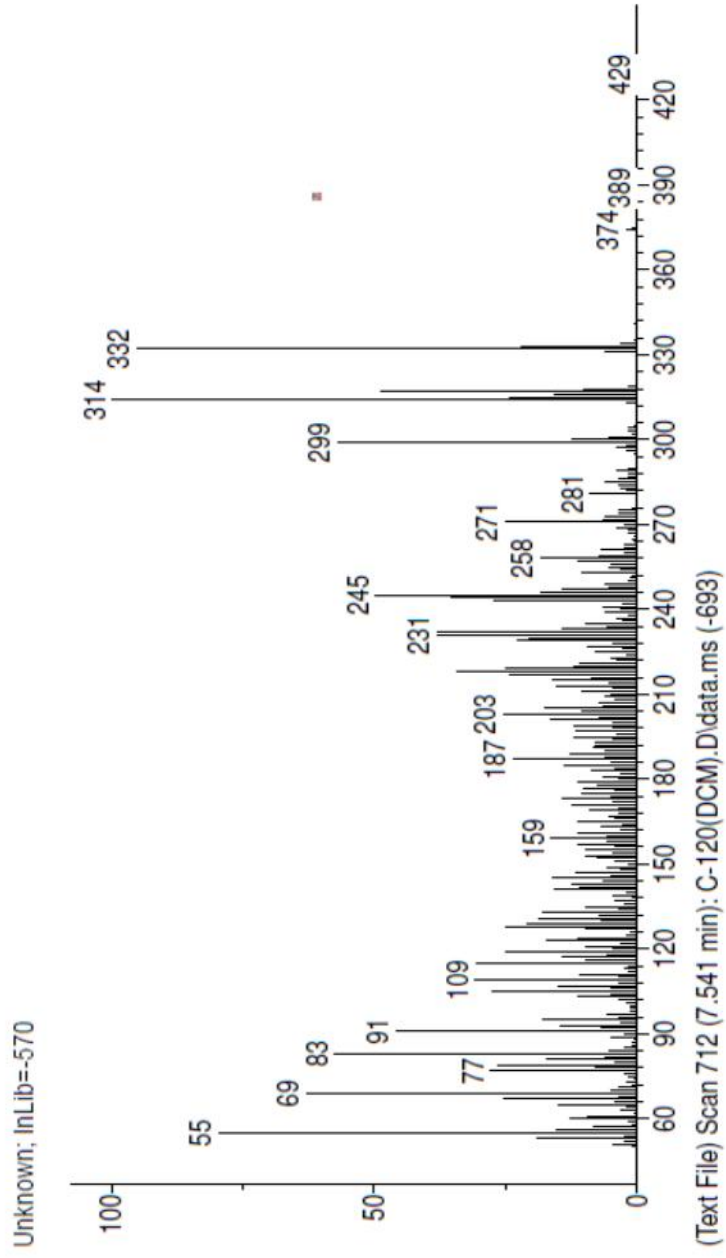
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	35,2	2,73 d (J=12,7 Hz)
2	18,7	-
3	29,7	-
4	39,0	-
5	21,0	-
6	35,7	1,92 d (J=14,5 Hz)
7	64,4	5,95 dd
8	149,9	-
9	139,4	-
10	41,0	-
11	183,7	-
12	150,7	-
13	124,6	-
14	185,1	-
15	32,9	3,15 sept (J=6,8 Hz)
16	19,6	1,21 d (J=7,1 Hz)
17	18,5	1,21 d (J=7,2 Hz)
18	21,5	0,87 s
19	19,8	0,88 s
20	24,6	1,22 s
7-COCH ₃	46,1	2,02
7-COCH ₃	169,8	-



Şekil 46. 7-Asetil roleanon bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 47. 7-Asetil royleanon bileşğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Name: Scan 712 (7.541 min): C-120(DCM).D\data.ms (-693)

MW: N/A ID#: 2662 DB: Text File

Comment: C-120(DCM)

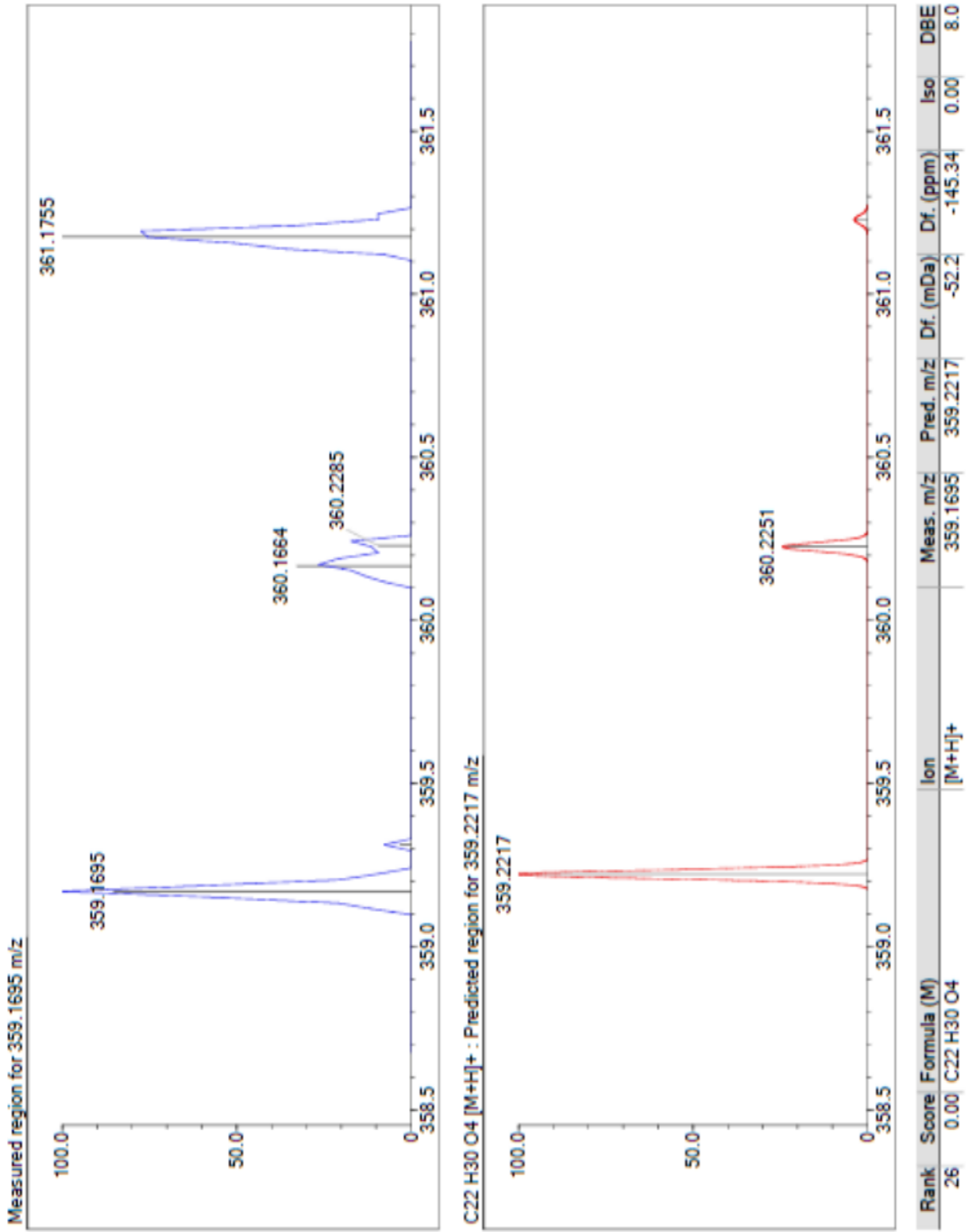
10 largest peaks:

314 999 | 332 953 | 55 798 | 69 630 | 83 577 | 299 572 | 245 500 | 317 487 | 91 461 | 231 383 |

Synonyms:

no synonyms.

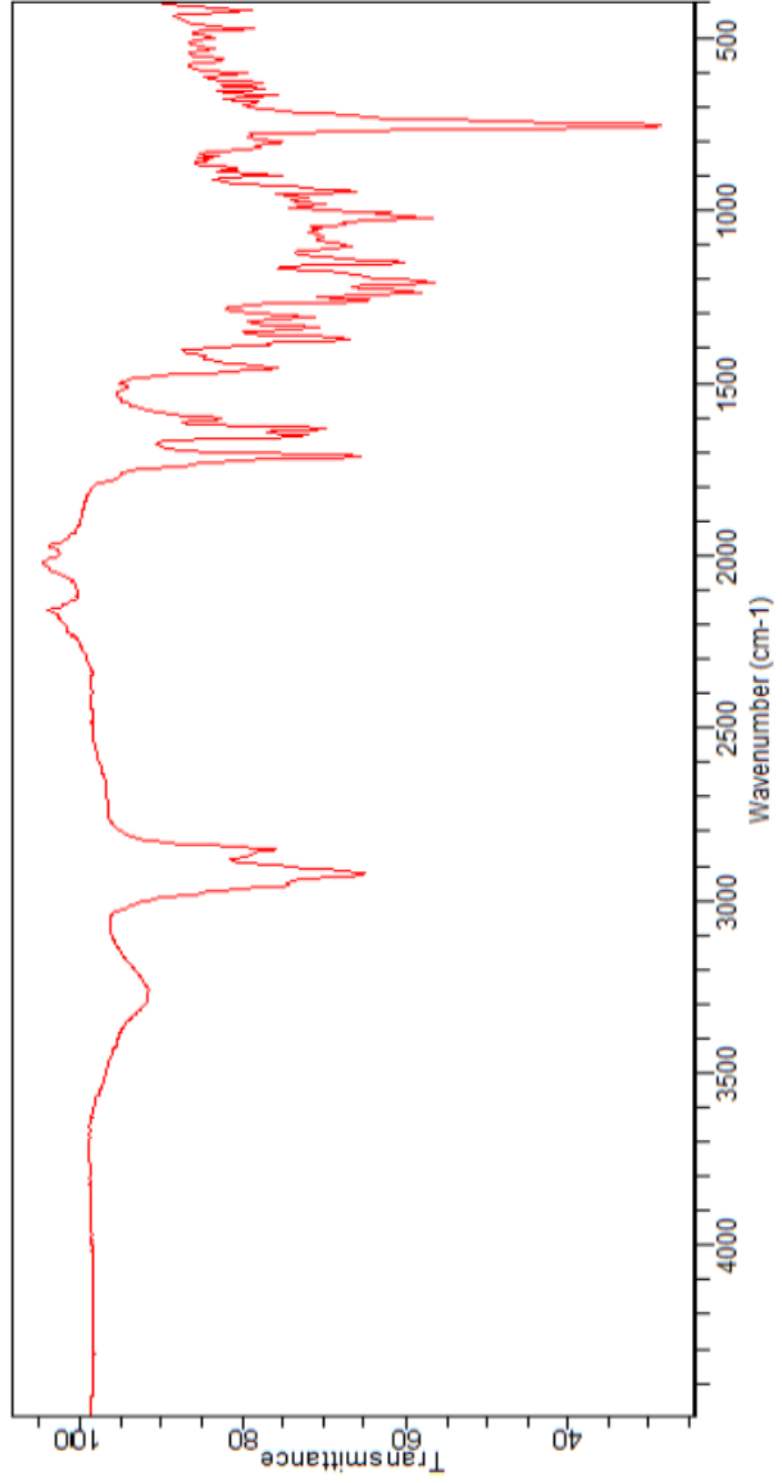
Şekil 48. 7-Asetil royleanon bileşiğinin GC-MS kromatogramı



Şekil 49. 7-Asetil royleanon bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID: C-120
Sample Scans: 128
Background Scans: 128
Resolution: 8
System Status: Good
File Location: C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\C-120_2018-05-09T17-43-47.a2r

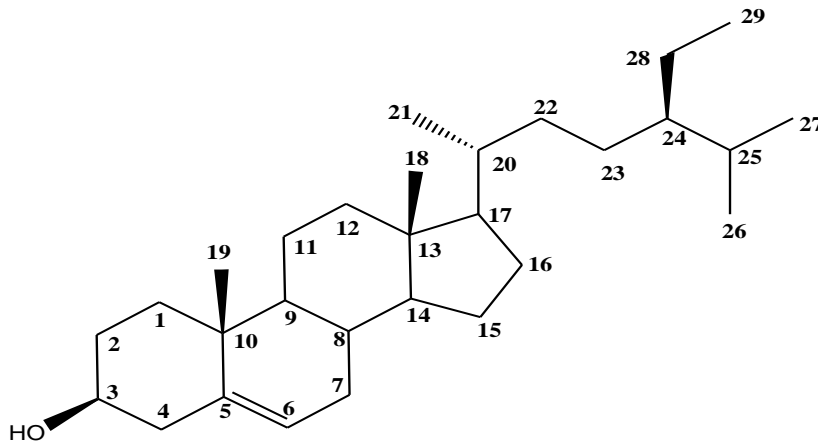
Method Name: zeynep
User: Admin
Date/Time: 05.09.2018 5:43:47
Range: 4500 - 400
Apodization: Triangular



Şekil 50. 7-Asetil royleanon bileşiğinin IR spektrumu

5.7.7. β -Sitosterol

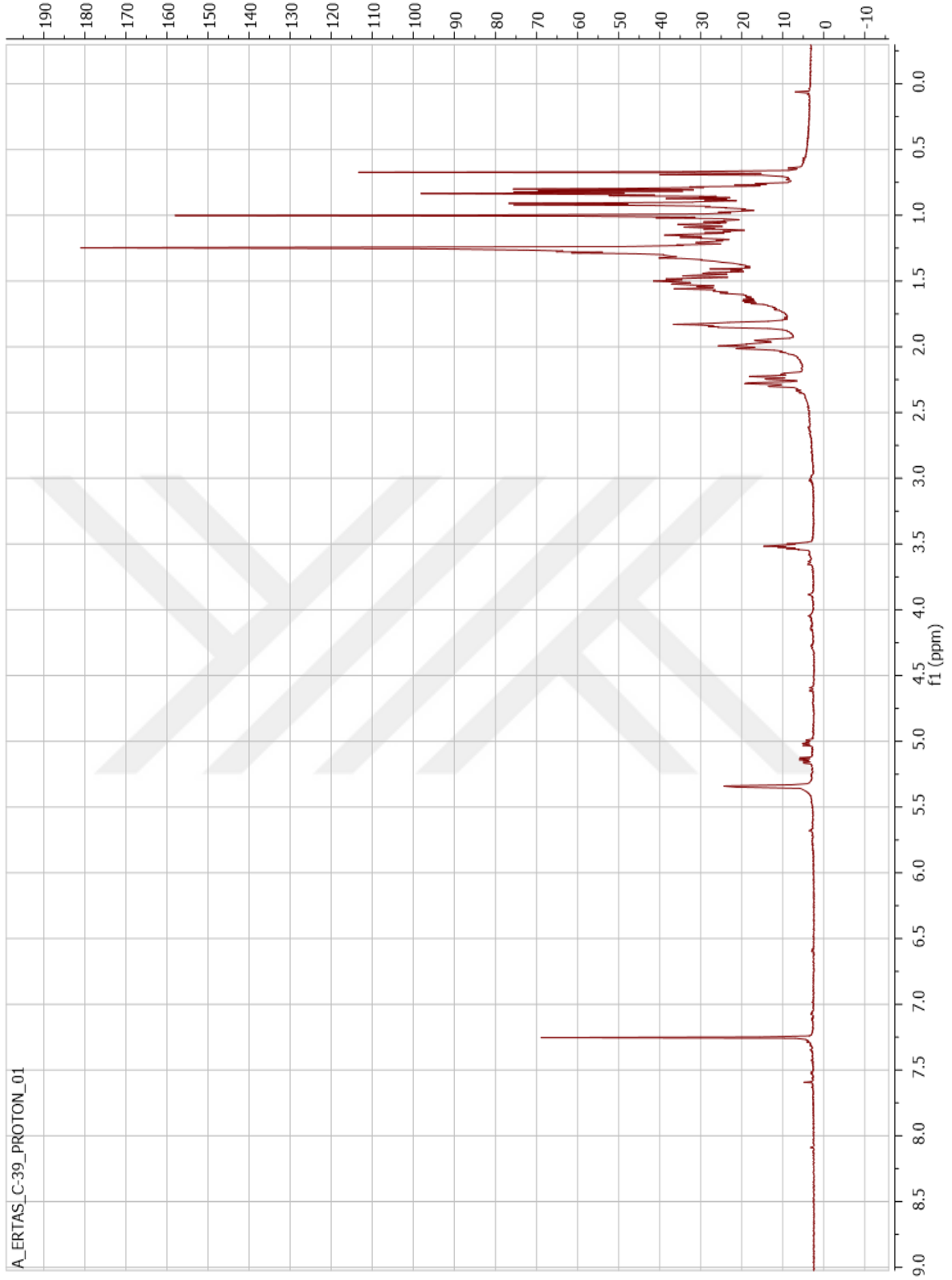
Hem toprak üstü hemde kök kısımlarının etanol ekstrelerinden elde edildi. Fraksiyonlar preparatif ince tabaka kromatografisi yapıldıktan sonra DCM: AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde İTK'sı yapıldı. Renksiz olan bu bileşik 172 mg elde edildi (Şekil 51). Silika jel plağa uygulanıp UV'de bakıldığında görülmeyen bileşik, serik sülfat belirteci çeker ocak altında püskürtülüp 105°C'de yakıldığında önce turkuaz ardından çok tipik kahverengi kırmızı bir renge dönüştü. ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) spektrumunda δ 0.67 (3H, s, Me-18), 0.81 (3H, d, $J=6,9$ Hz, Me-27), 0.83 (3H, d, $J=7.1$ Hz, Me-26), 0.85 (3H, t, $J=7,81$ Hz, Me-29), 0.92 (3H, d, $J=6,4$ Hz, Me-21) ve 1.0'de (3H, s, Me-19) gözlenen metil sinyalleri bileşiğin steroid olduğunu düşündürdü. δ 3.52'de (1H, *m*, H-3 α) görülen proton sinyali bileşikte bir hidroksil varlığını gösterdi. Yapıda bir olefinik proton ise 5.35 ppm (1H, *m*, H-6) de izlendi. ^1H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ piki 459,3831'e ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$) dayanarak bu bileşiğin β -sitosterol (Stigmast-5-en-3 β -ol) olduğu saptandı ve NMR değerleri (Tablo 26) literatür değerleri ile karşılaştırarak yapı doğrulandı (98). İnce tabaka kromatografisinde yapılan kıyaslama sonrasında standart madde ile aynı Rf değerinde ve aynı tipik renkte gözlemlendi (123) (Şekil 52-58).



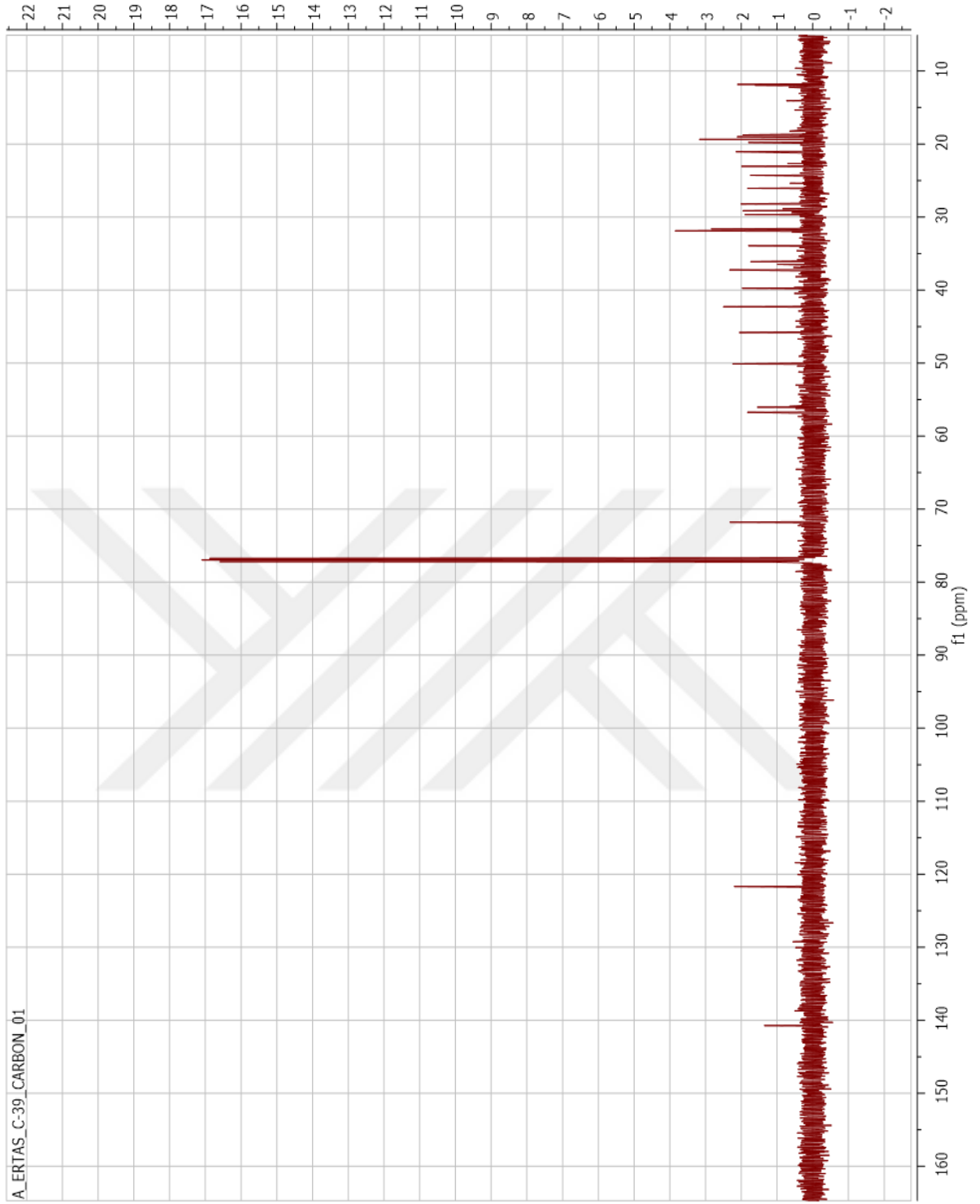
Şekil 51. β -sitosterol

Tablo 26. β -sitosterol bileşğinin NMR değerleri

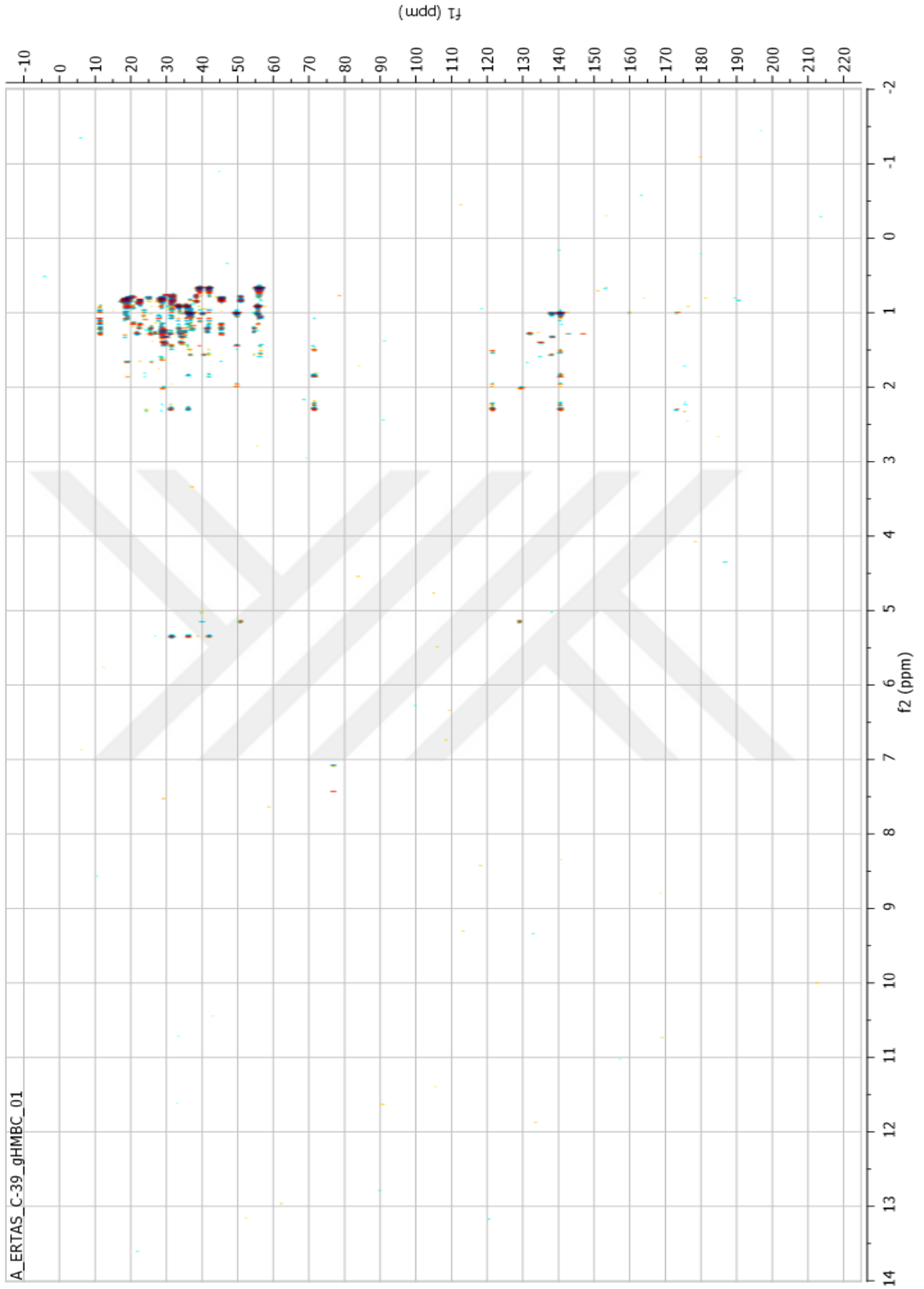
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	39,7	-
2	31,9	-
3	71,8	3,52 m
4	42,3	2,26 dt (J=20,1; 10,6 Hz)
5	140,7	
6	121,7	5,35 m
7	33,9	1,96 m
8	31,8	-
9	50,1	-
10	36,5	-
11	23,0	-
12	37,2	1,99 m
13	39,8	-
14	56,8	-
15	21,1	-
16	31,7	1,84 m
17	56,1	-
18	12,0	0,67 s
19	18,8	1,00 s
20	36,1	-
21	19,0	0,92 d (J=6,4 Hz)
22	26,1	-
23	28,2	-
24	45,8	-
25	29,1	-
26	19,8	0,83 d (J=7,1 Hz)
27	19,4	0,81 d (J=6,9 Hz)
28	24,3	-
29	11,8	0,85 t (J=7,8 Hz)



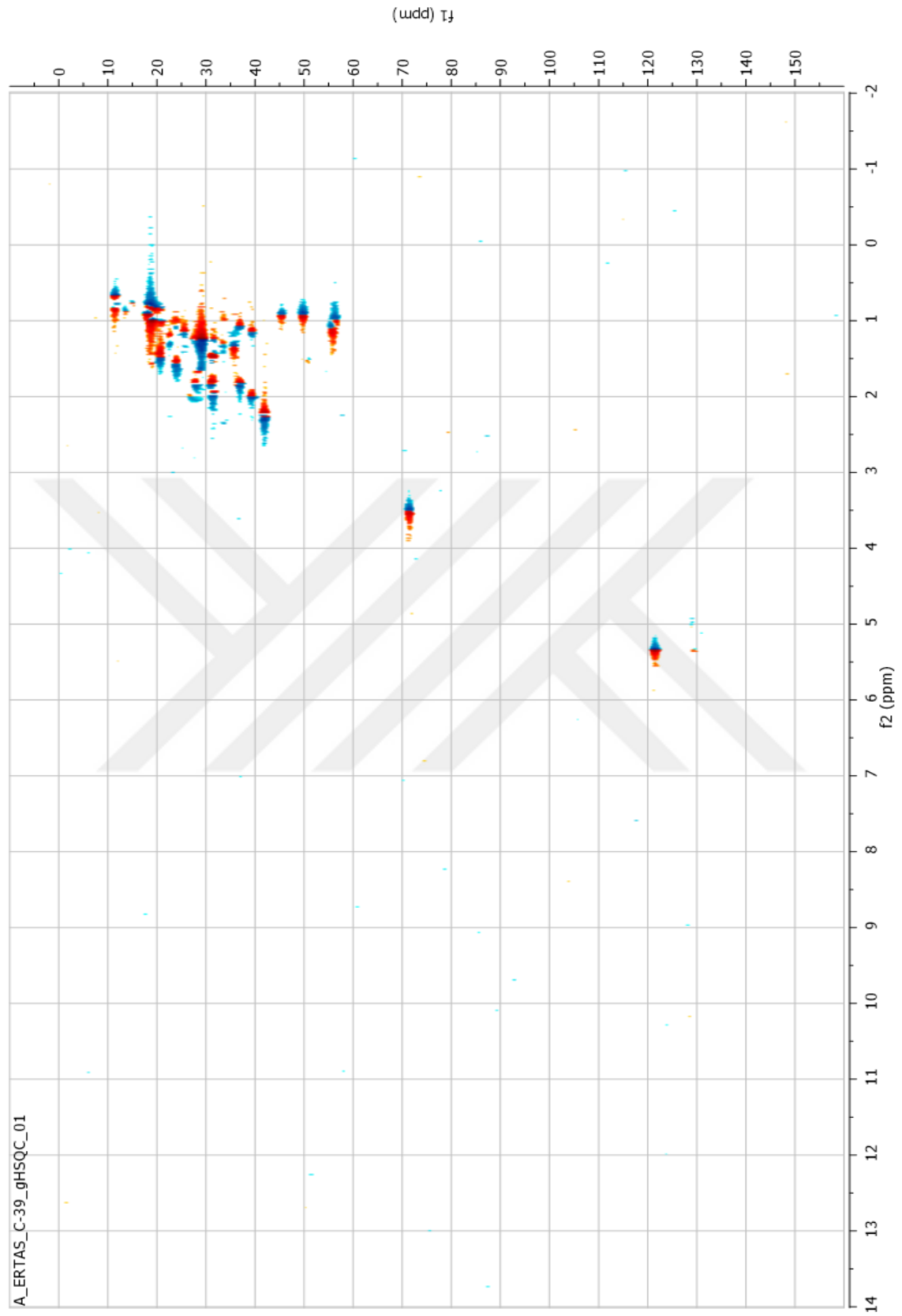
Şekil 52. β -Sitosterol bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



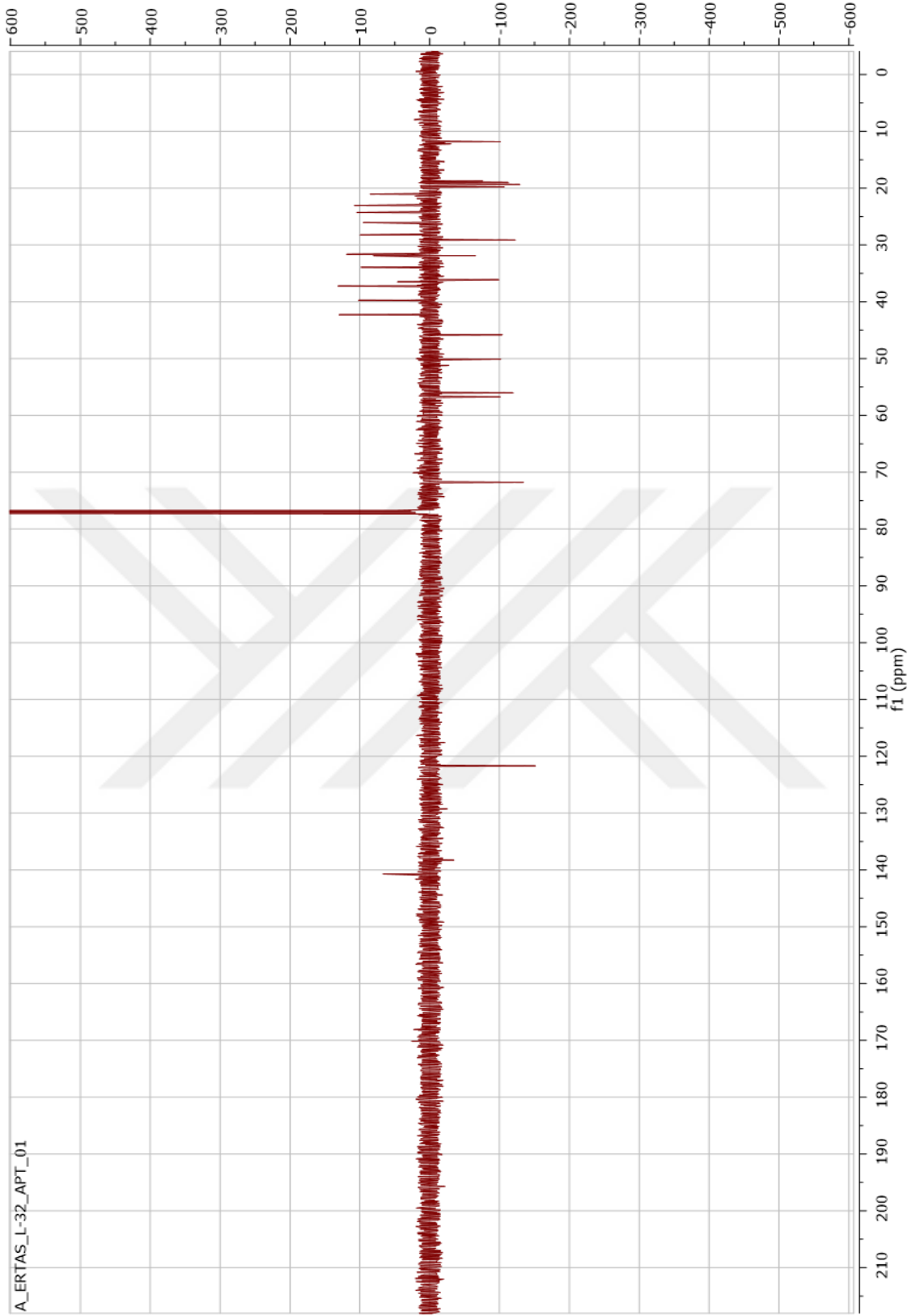
Şekil 53. β -Sitosterol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



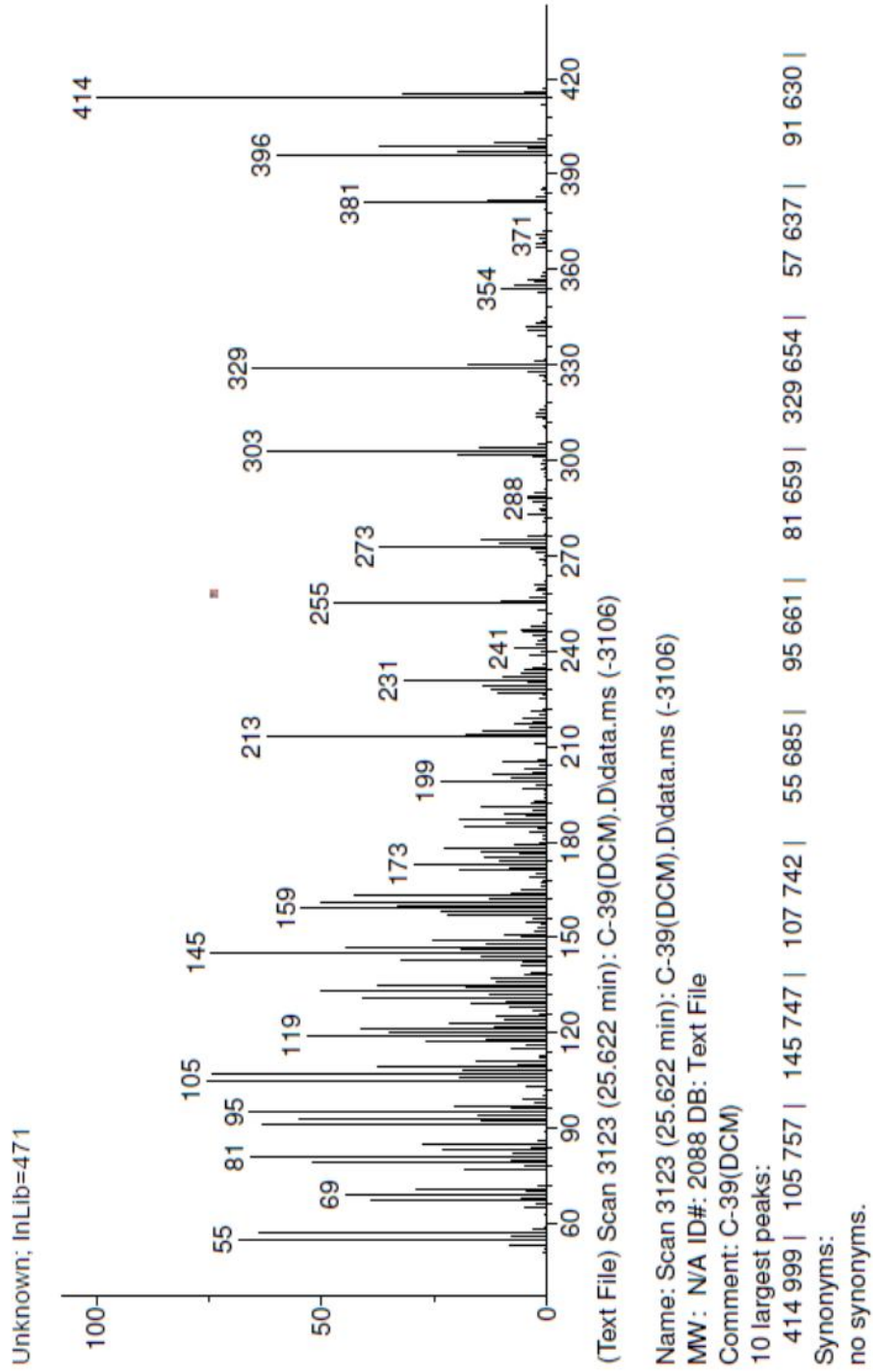
Şekil 54. β -Sitosterol bileşiminin HMBC spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



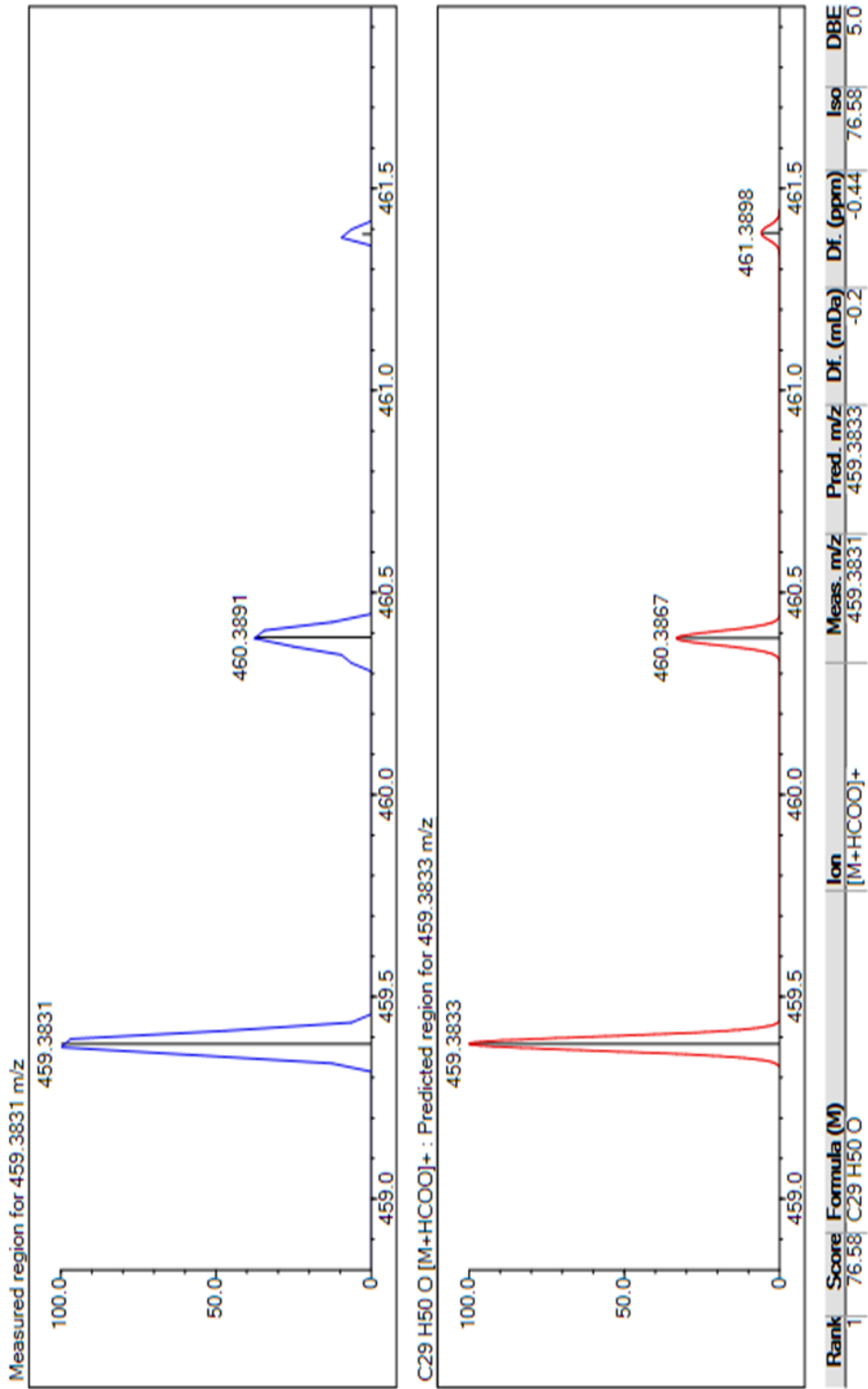
Şekil 55. β -Sitosterol bileşiğinin HMQC s spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 56. β -Sitosterol bileşiğinin APT spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



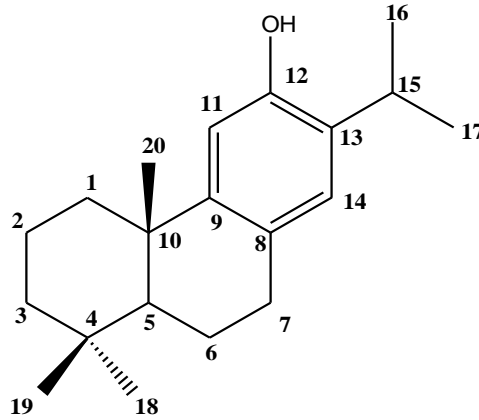
Şekil 57. β -Sitosterol bileşiğinin GC-MS kromatogramı



Şekil 58. β -Sitosterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.8. Ferruginol

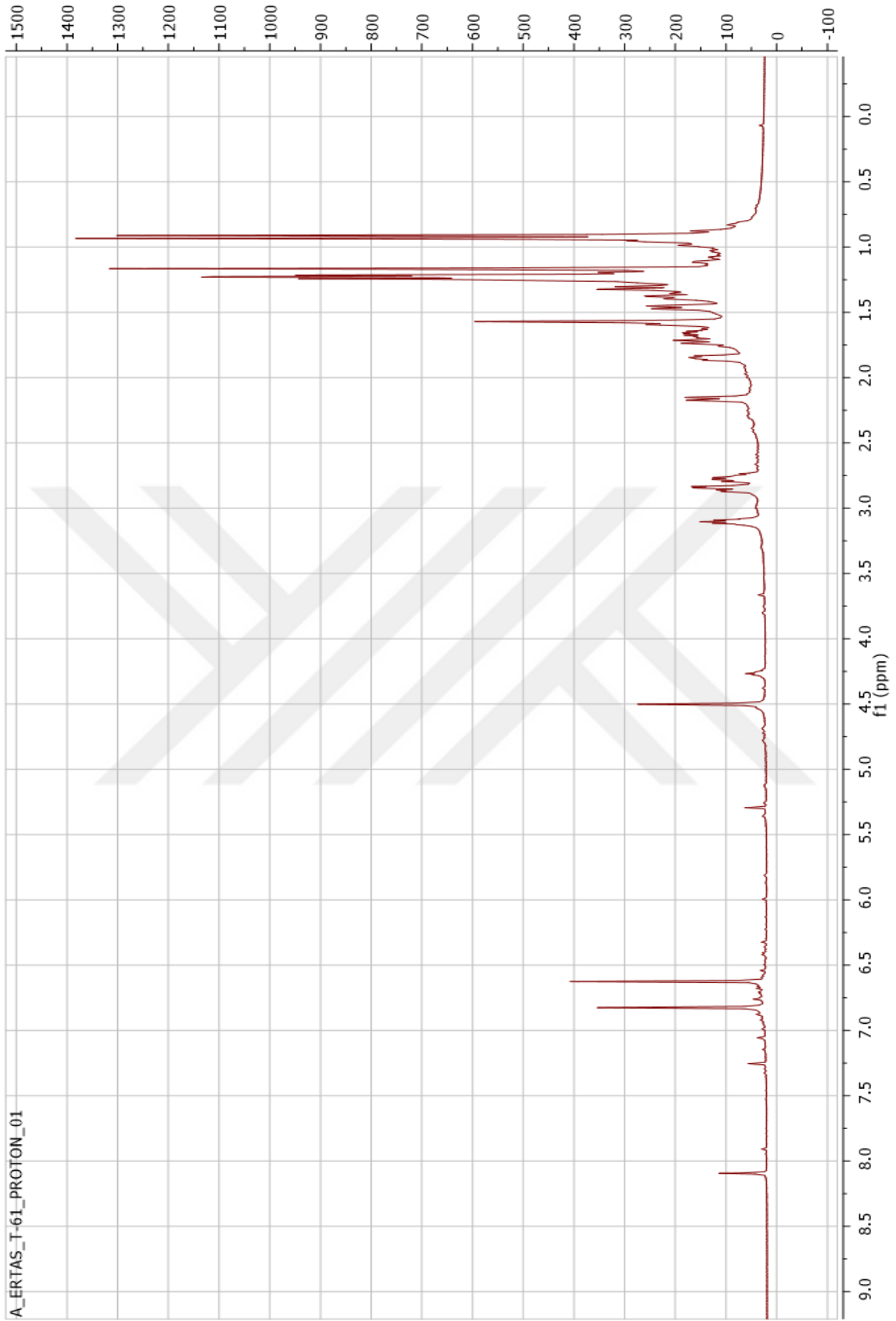
Hem toprak üstü hemde kök kısımlarının etanol ekstrelerinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde yaklaşık 80 mg elde edildi (Şekil 65). ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) üç metil sinyali sırasıyla 0,91, 0,93 ve 1,17 ppm de singletler ve iki metil sinyali dubletler şeklinde sırasıyla 1,21 ve 1,24 ppm de gözlemlendi. İki dublet metil protonlarına ilişkin sinyaller birbirine benzer rezonans olduklarından triplet halinde gözlemlendi. Spektrumda 3,10 ppm de görülen metin sinyalinin bu iki metil dubleti ile yaptığı etkileşim sonucu septet halinde görülmesiyle bir isopropil grubunun varolduğu tespit edildi. 6,62 ve 6,83 ppm de görülen singlet sinyalleri aromatik yapının olduğu ihtimalini güçlendirdi. ^1H NMR'da 2,85 ppm' de görülen ddd ($J=1,8;7;17$ Hz) ve 2,77 ppm de multipler benzilik metilen (CH_2-7) proton çifti olduğunu gösterdi. Kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan ($\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}$) ye denk olan m/z 286 da izlendi, bütün spektral sonuçlar değerlendirilerek *Salvia* bitkilerinde etkinliği yüksek olan, bir abietan diterpen olan ferruginol olduğu tespit edildi (124). Tablo 27'da ferruginol'ün ^1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 60-65).



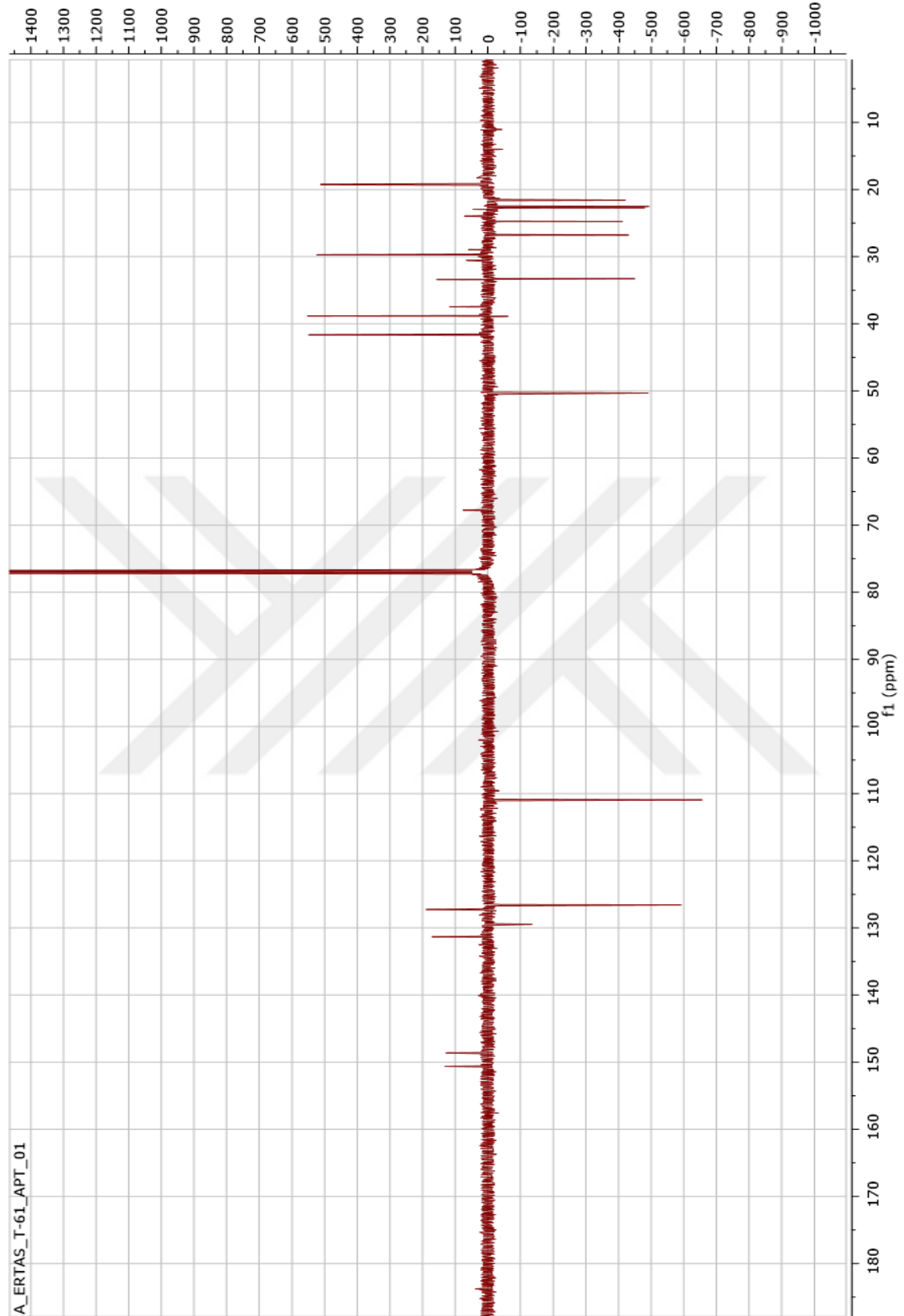
Şekil 59. Ferruginol

Tablo 27. Ferruginol bileşiminin NMR değerleri

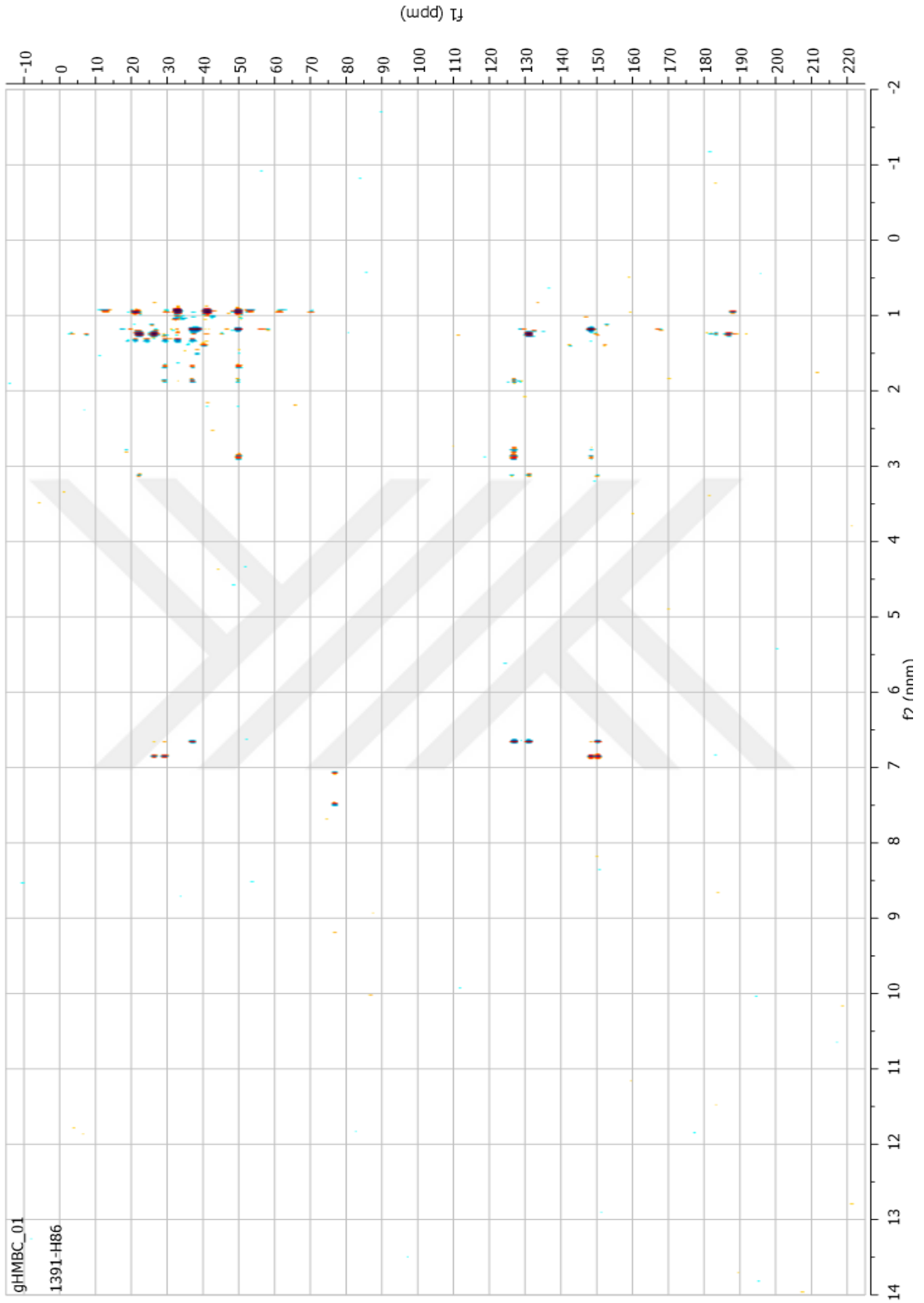
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	38,9	a 1,37 m b 2,16 dt (J=12,5; 4,0; 1,0 Hz)
2	19,3	a 1,73 ddd (J=13,7; 6,5; 3,0 Hz) b 1,59 ddd (J=14,0; 10,0; 3,2 Hz)
3	41,6	a 1,19 m b 1,46 ddd (J=12,46; 3,5; - Hz)
4	33,3	-
5	50,3	a 1,31 dd (J=12,5; - Hz)
6	19,1	a 1,85 ddd (J=17,0; 6,0; 3,5 Hz) b 1,65 m
7	29,7	a 2,77 ddd (J=17,0; 11,0; 7,8 Hz) b 2,85 ddd (J=17,0; 6,2; - Hz)
8	127,2	-
9	148,6	-
10	37,4	-
11	110,9	6,62 s
12	150,6	-
13	129,5	-
14	126,6	6,83 s
15	26,8	3,10 septet (J=7 Hz)
16	22,7	1,24 d (J=7,1 Hz)
17	22,5	1,21 d (J=7,1 Hz)
18	33,3	0,93 s
19	21,6	0,91 s
20	24,8	1,17 s
12-OH	-	4,50 s



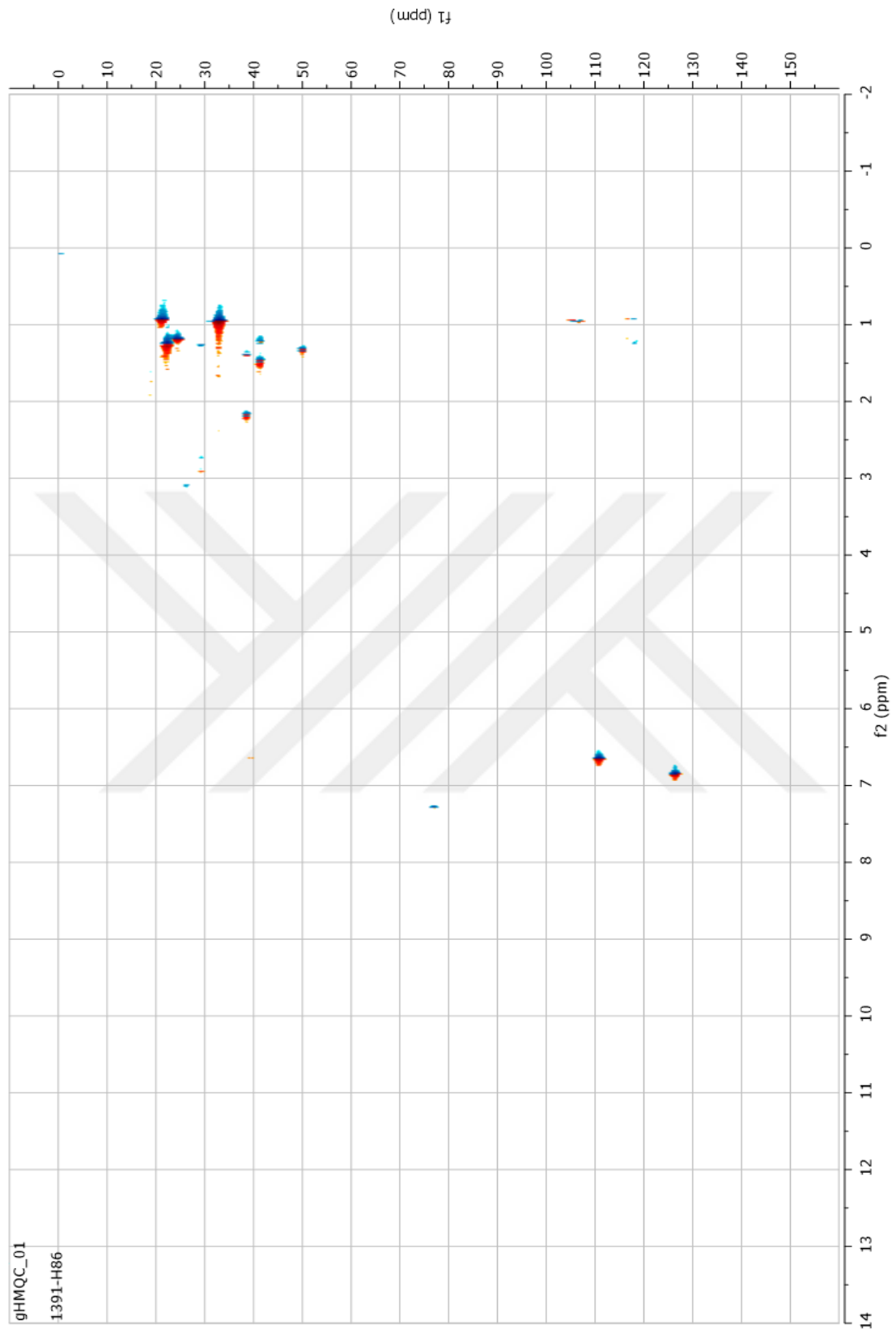
Şekil 60. Ferruginol bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



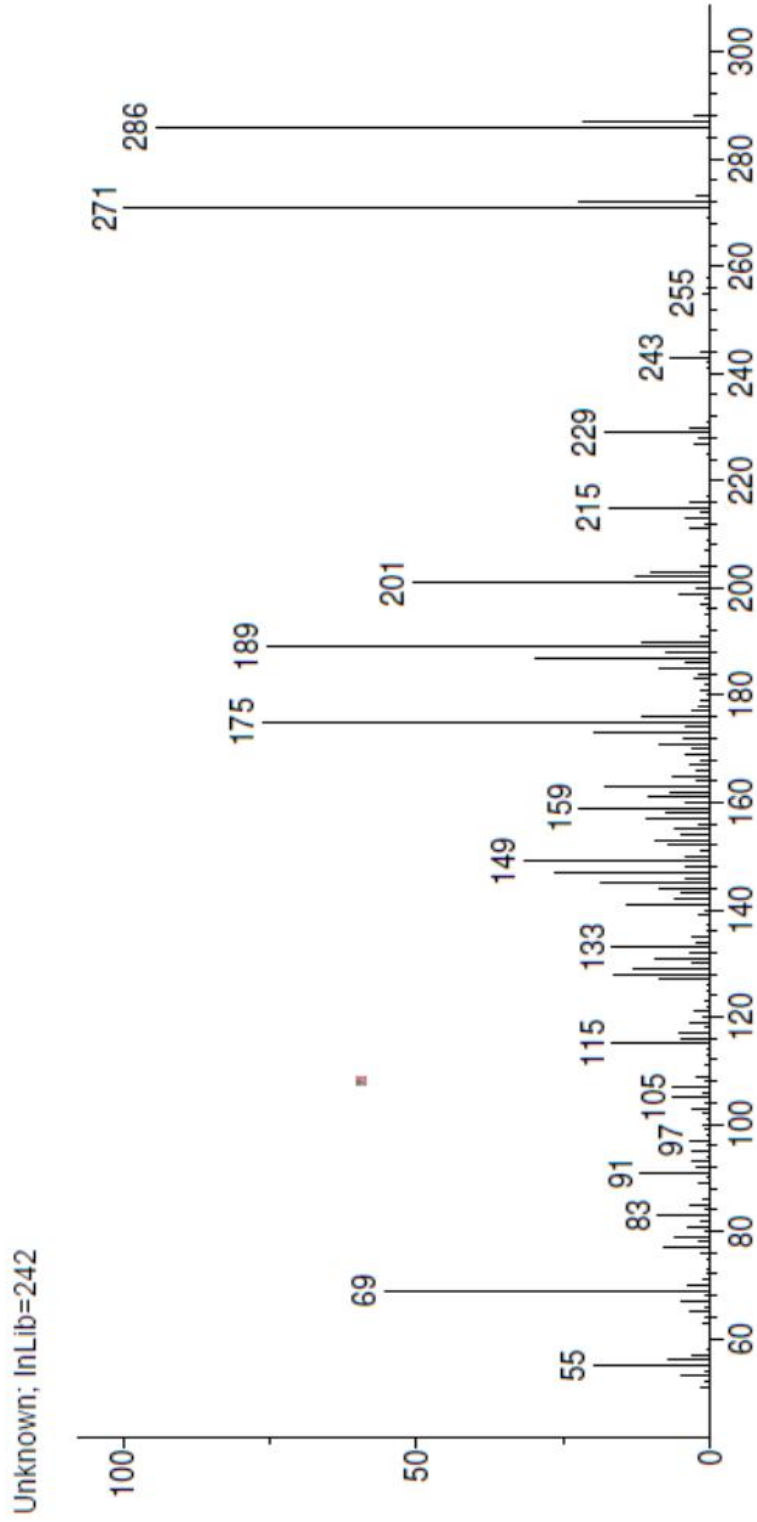
Şekil 61. Ferruginol bileşiğinin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 62. Ferruginol bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 63. Ferruginol bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



(Text File) Scan 1152 (11.293 min): C-99.D\data.ms

Name: Scan 1152 (11.293 min): C-99.D\data.ms

MW: N/A ID#: 1718 DB: Text File

Comment: C-99

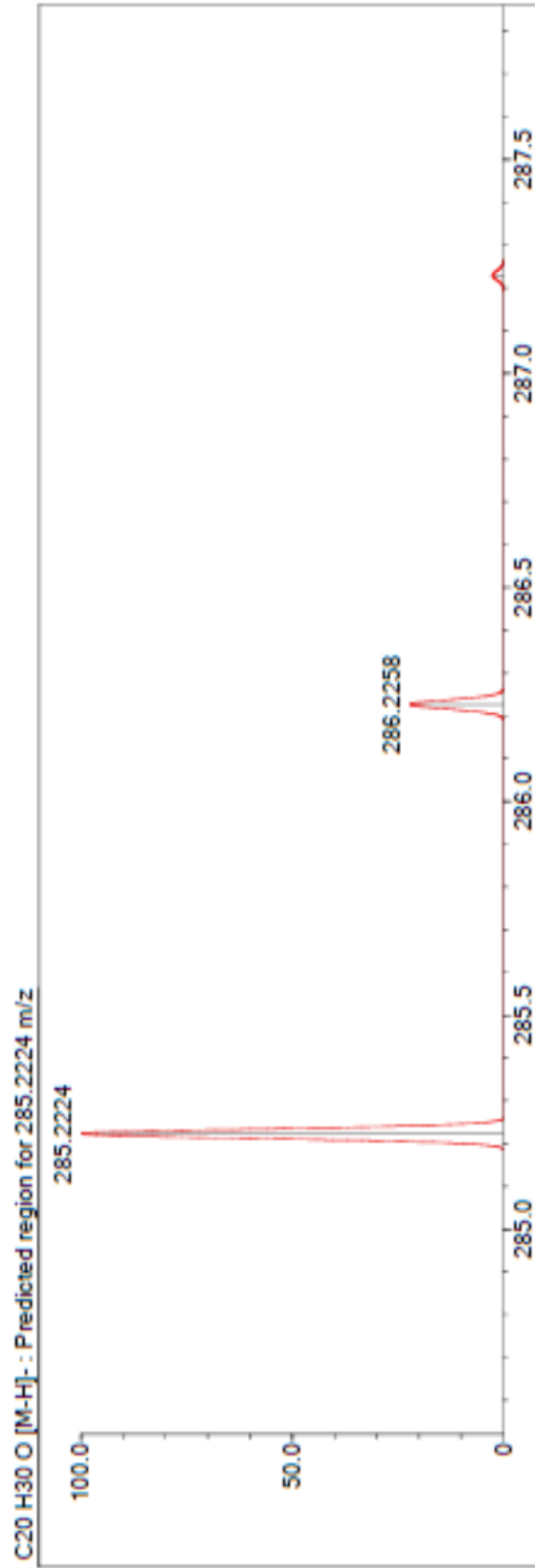
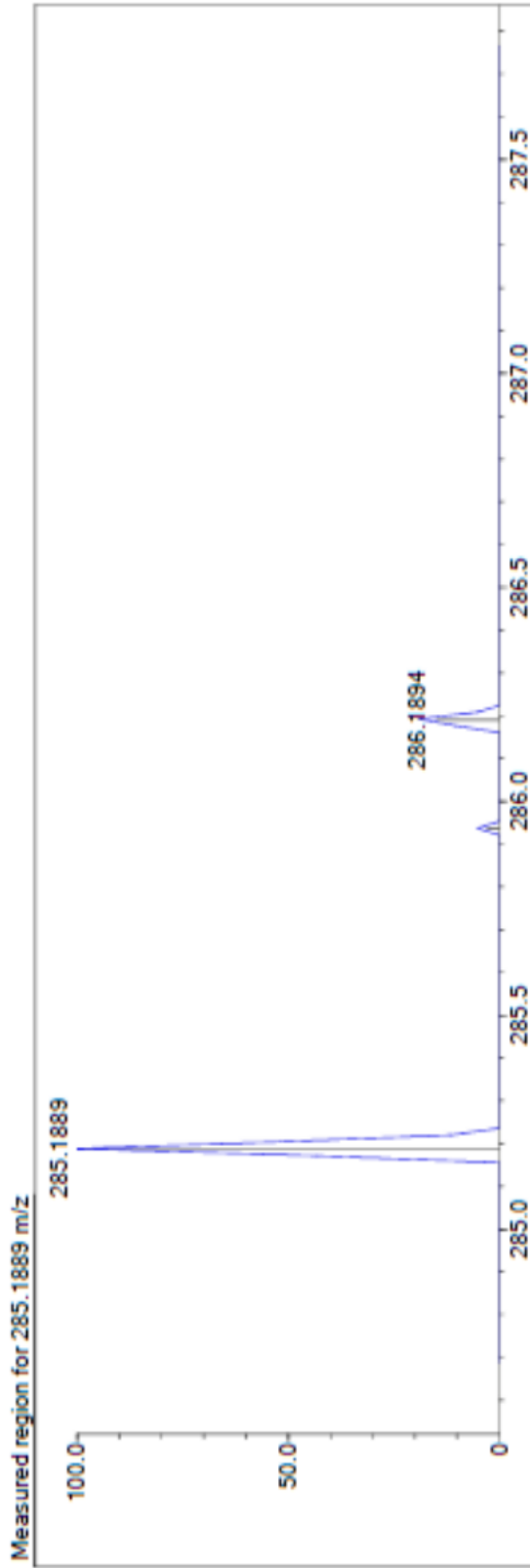
10 largest peaks:

271 999 | 286 945 | 175 763 | 189 757 | 69 557 | 201 509 | 149 319 | 187 297 | 147 262 | 159 225 |

Synonyms:

no synonyms.

Şekil 64. Ferruginol bileşiğinin GC-MS kromatogram

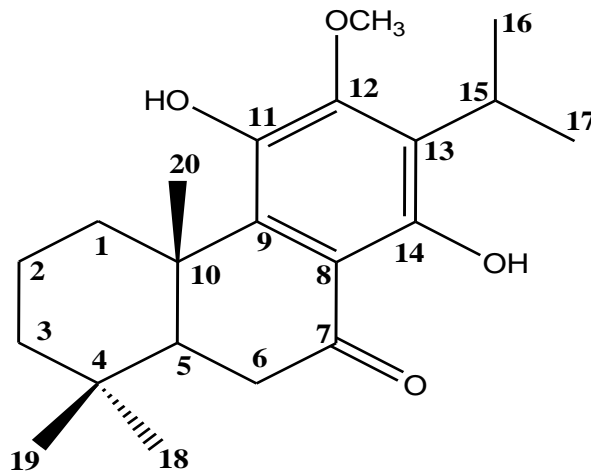


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
12	0.00	C20 H30 O	[M-H] ⁻	285.1889	285.2224	-33.5	-117.47	0.00	6.0

Şekil 65. Ferruginol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogram

5.7.9. Inuroyleanol

Etanol ekstrelerinden preparatif ince tabaka kromatografisi ile saf diklorometan çözücü sisteminde 12 mg elde edildi (Şekil 66). Silika jel plağa uygulanarak UV’de bakıldığında kahverengi görülen madde, serik sülfat belirteci çeker ocakta püskürtülüp 105°C’de yakıldığında rengi kıvı kahverengi oldu. ¹H NMR (CDCl₃, 600MHz) spektrumunda tipik olarak beş metil sinyali (0,94, 0,96, 1,35, 1,37 ve 1,37) sinyali görüldü. Bu piklerden 1,37’ deki metil sinyallerinin 7,6 Hz lik dubletler şeklinde ve 3,27 ppm de bir ise metin protonunun septet şeklinde görülmesibünyesinde bir isopropil grubunun olduğuna işaret etti, sinyaller yapının abietan bir diterpen olma ihtimalini gösterdi, ancak rastgele bir aromatik proton sinyali gözlemlenmemesine rağmen 5,67 ppm’deki geniş singlet aromatik bir OH’in varolabileceğini gösterdi. Aynı zamanda 13,35 ppm’de gözlemlenen singletin C-7 ile H-14 arasındaki hidrojen bağı yapmış protona ait olduğu görüldü. Diğer bir pik ise metoksi grubuna ait 3 protonluk pik şeklinde 3,78 ppm’de izlendi. Bunların yanı sıra GC-MS kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan (C₂₁H₃₀O₄) ye karşılık gelen *m/z* 346’ da ayrıca M-CH₃ pikide 331’de izlendi. ¹H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen [M-H]⁻ piki 345.2071 (C₂₁H₃₀O₄) dayanarak bu bileşiğin inuroyleanol olduğu saptandı ve NMR değerleri (Tablo 28) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Şekil 67-70) (125).

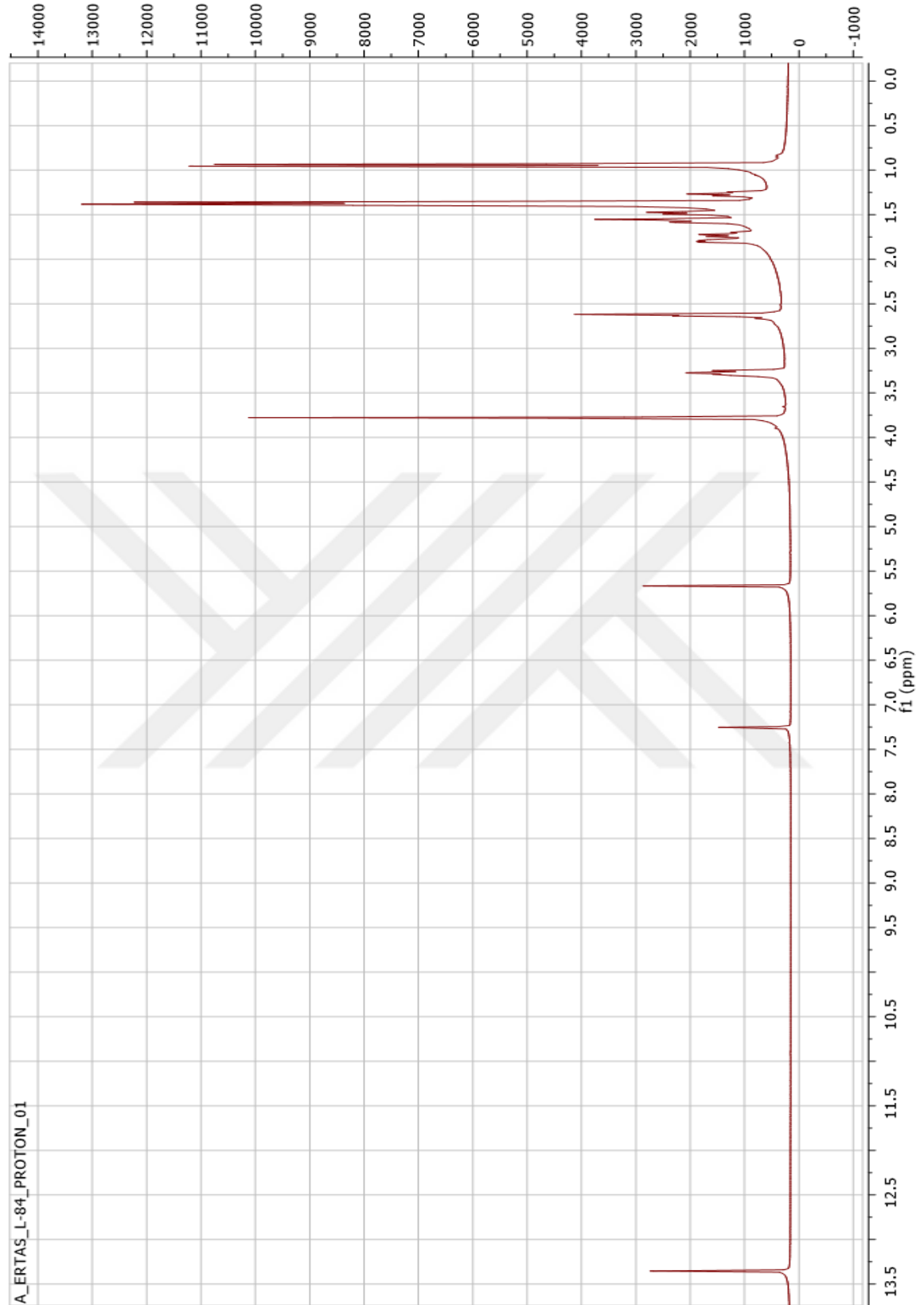


Şekil 66. Inuroyleanol

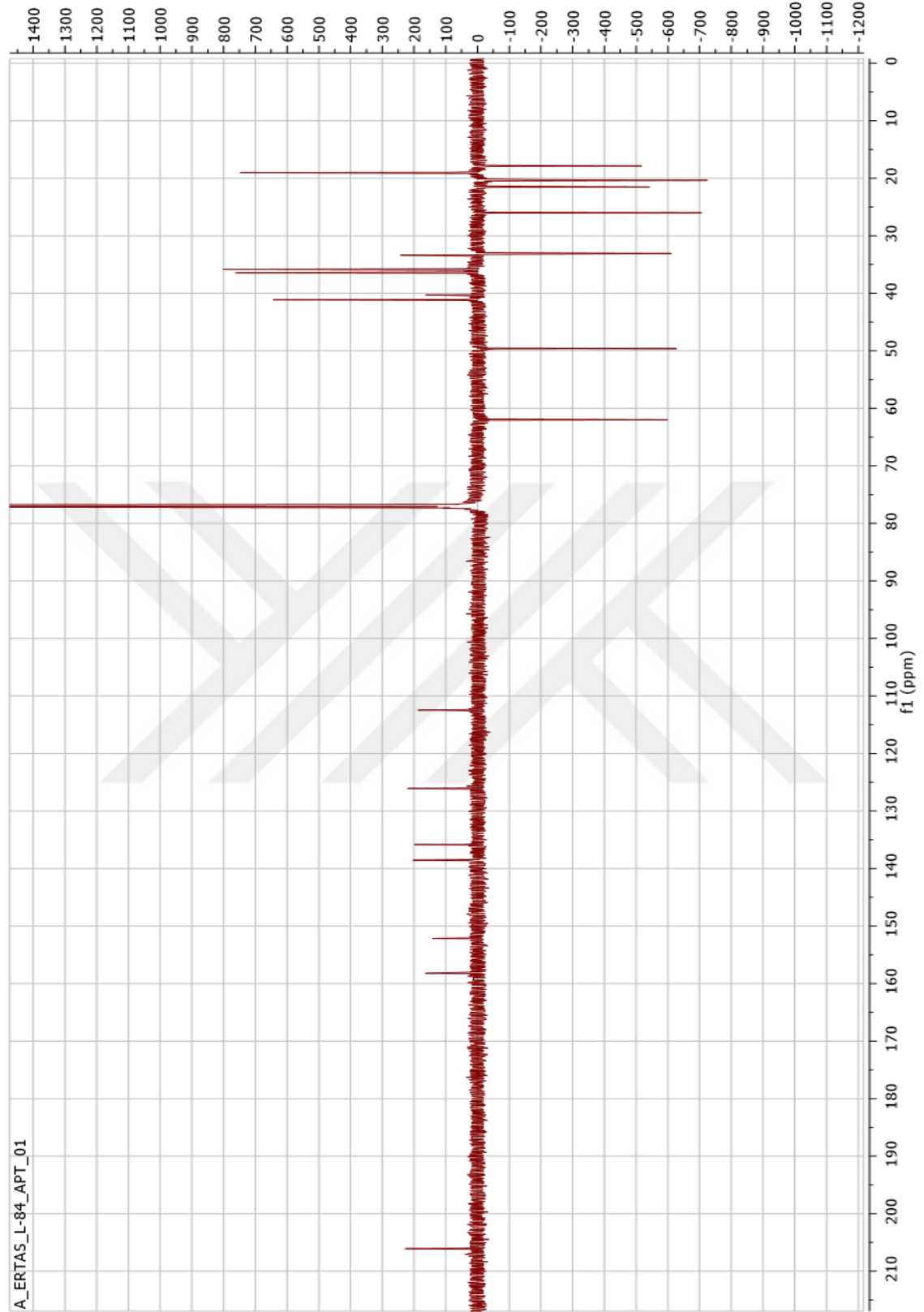
Tablo 28. Inuroleanol bileşinin NMR değerleri

Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	36,4	2,62 m
2	19,1	-
3	35,8	-
4	33,4	-
5	49,6	-
6	41,1	2,62 m
7	206,8	-
8	112,5	-
9	126,1	-
10	40,3	-
11	152,1	-
12	138,5	-
13	135,85	-
14	158,2	-
15	33,1	3,27 sept (J=6,5 Hz)
16	20,3	1,37 d (J=7,6 Hz)
17	17,9	1,37 d (J=7,6 Hz)
18	21,5	0,96 s
19	20,4	0,94 s
20	26,0	1,35 s
-OCH ₃	62,1	3,78 s
11-OH	-	5,67 s
	-	13,35 s*

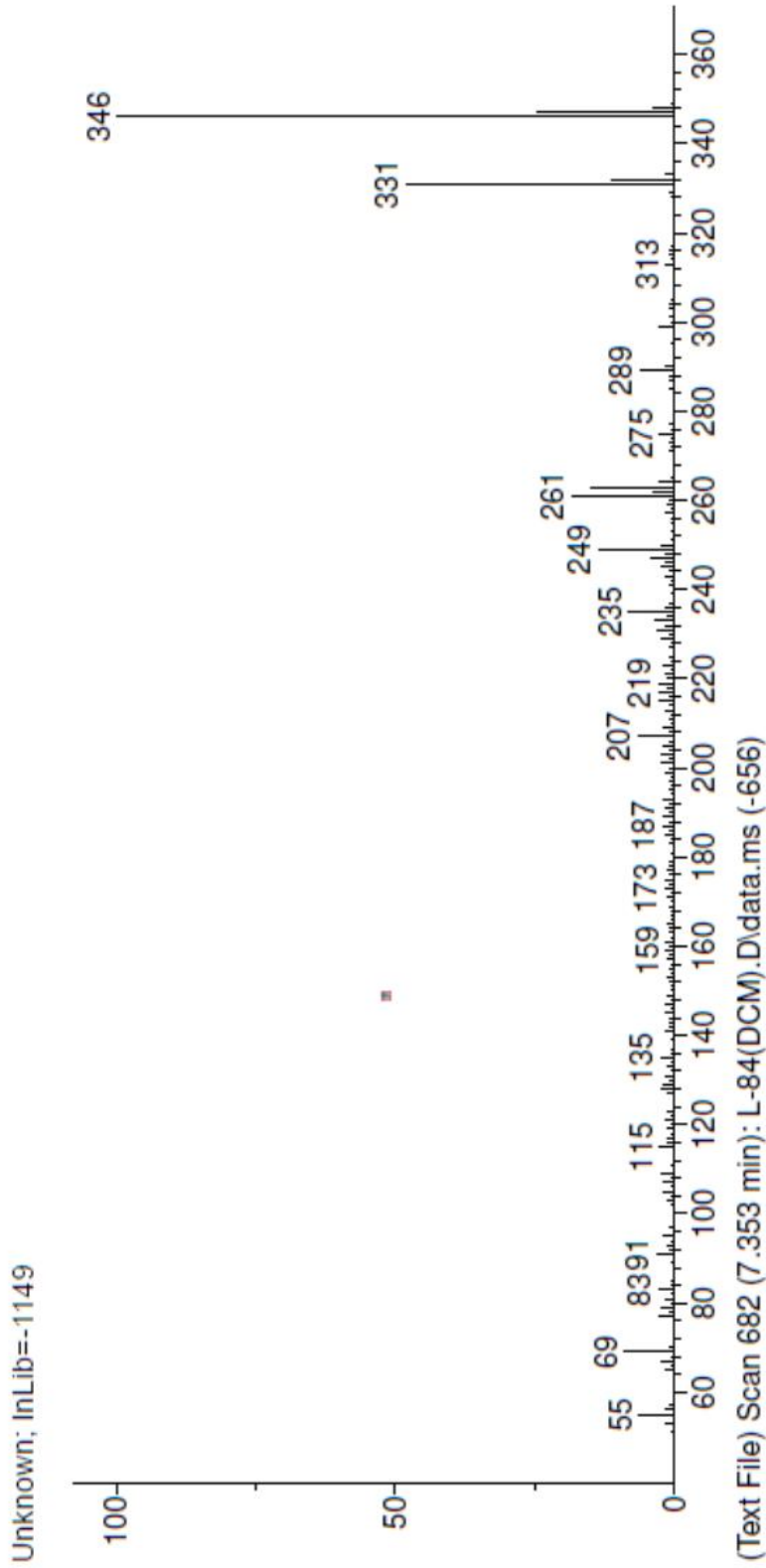
*Molekül içi H bağı



Şekil 67. Inuroleanol bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 68. Inuroleanol bileşiğinin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Name: Scan 682 (7.353 min): L-84(DCM).D\data.ms (-656)

MW: N/A ID#: 2653 DB: Text File

Comment: L-84(DCM)

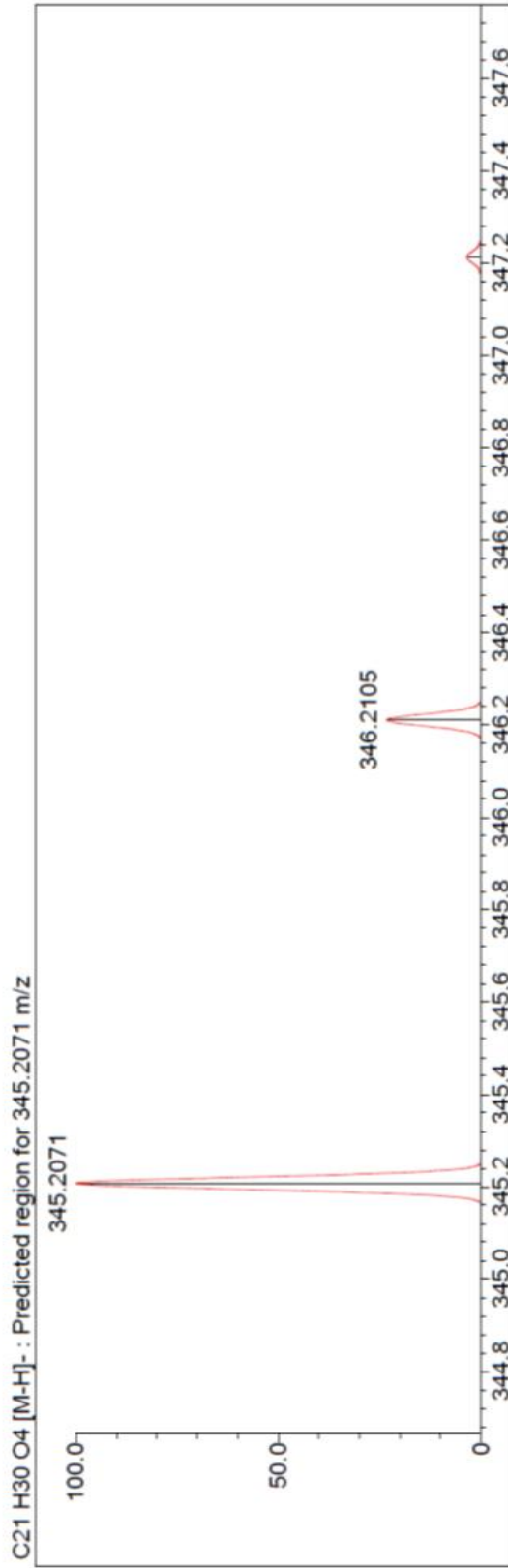
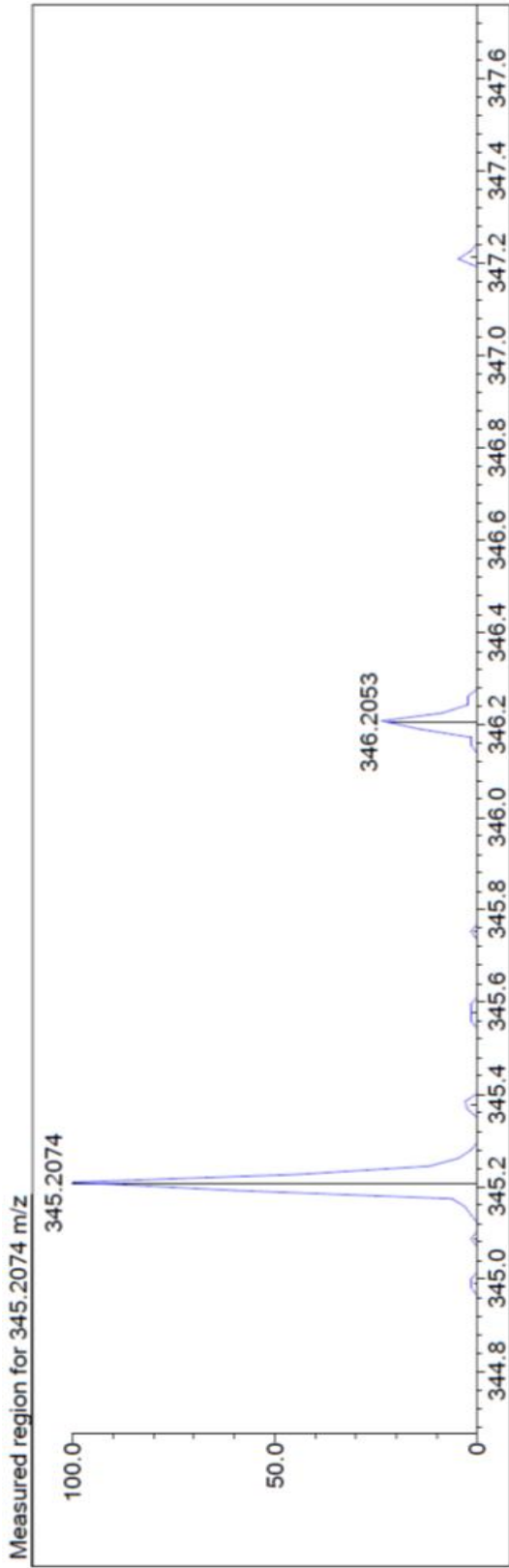
10 largest peaks:

346 999 | 331 483 | 347 245 | 261 187 | 263 150 | 249 138 | 332 110 | 69 91 | 235 85 | 207 68 |

Synonyms:

no synonyms.

Şekil 69. Inuroyleanol bileşiğinin GC-MS spektrumu

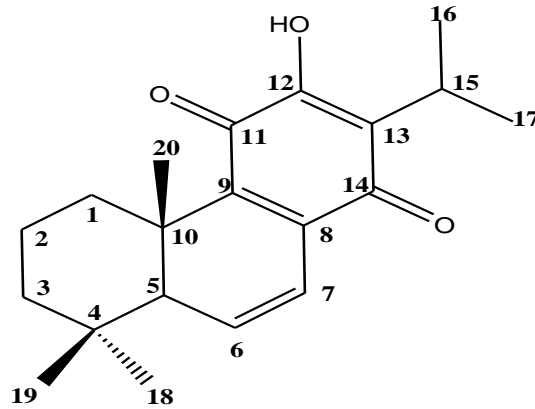


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	86.58	C21 H30 O4	[M-H] ⁻	345.2074	345.2071	0.3	0.87	86.58	7.0

Şekil 70. Inuroleanol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.10. 6,7-Dehidroroyleanon

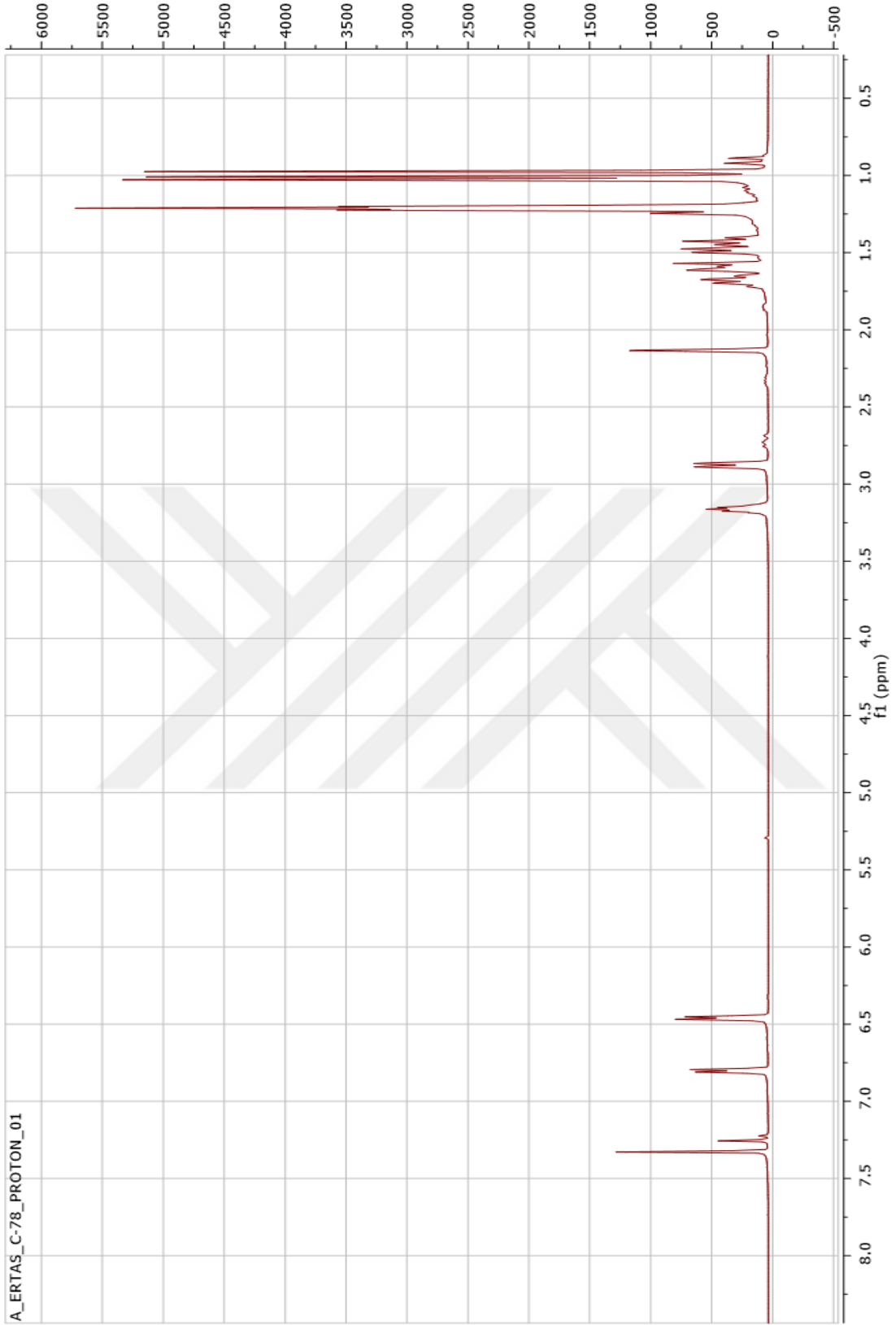
Kök etanol ekstresinin ana kolonundan %40 DCM-%60 PE çözücü sistemi ile kristal halde elde edildi (Şekil 71). İlk aşamada katı kristal kısım sıvı kısımdan ayrıldı. Katı ve sıvı kısımlarıyla yapılan İTK'da en iyi (3:1) (PE: DCM) çözücü sisteminde ayrılma gözlemlendi. Bileşik preparatif İTK ile kırmızı renkli kristal şeklinde saf olarak elde edildi. ¹H NMR (CDCl₃, 600MHz) spektrumunda tipik beş metil sinyali (0,98, 1,01, 1,03, 1,21 ve 1,21) gözlemlendi. Bunlardan 1.21 deki metil sinyallerinin 6,9 Hz lik dubletler şeklinde ve 3.15 ppm'de ise metin protonunun septet (dt) (J=13,8; 6,9 Hz, H-15) şeklinde gözlemlenmesi bünyesinde bir isopropil grubunun olabileceğini, sinyallerin ise yapının abietan bir diterpen olduğunu gösterdi, ama herhangi bir aromatik proton sinyali izlenmemesine rağmen 7.33 ppm deki geniş singletin aromatik bir OH varlığını düşündürdü. Karakteristik H-1β piki 2,89 ppm' de d (J=13,3 Hz, 3,9 Hz) halinde izlendi. Ayrıca 6,46 dd (J=9,7 Hz) ve 6,81 dd (J=9,6 Hz)' de izlenen pikler yapıda bir çift bağa işaret etmektedir. ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen [M+H]⁺ piki 315,1954'e (C₂₀H₂₈O₃) dayanarak bu bileşiğin 6,7-dehidroroyleanon olduğu saptandı ve NMR değerleri (Tablo 29) Kusumoto ve arkadaşlarının elde ettiği 6,7-dehidroroyleanon bileşiği ile aynı olduğu tespit edildi (119) (Şekil 72-79).



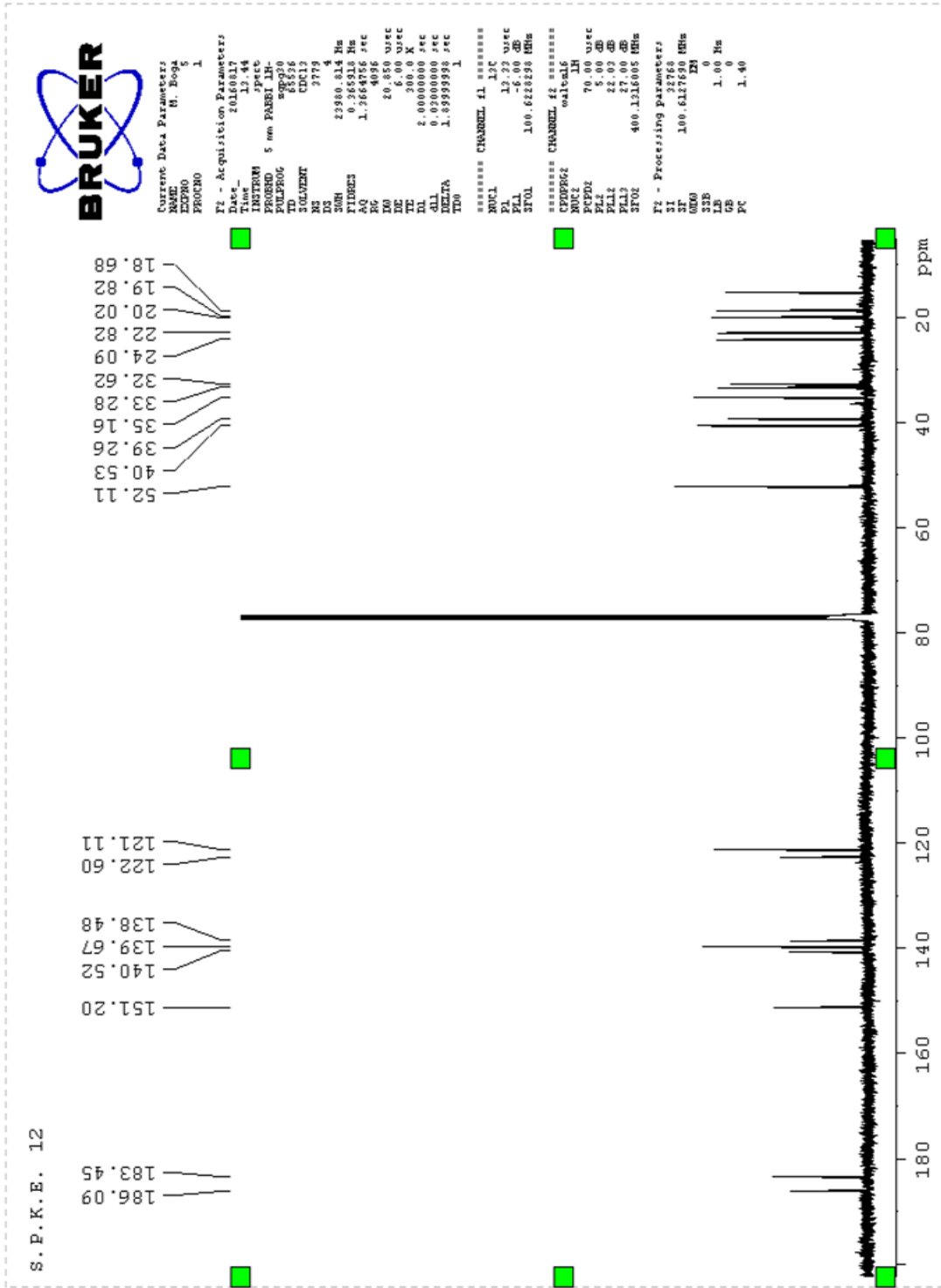
Şekil 71. 6,7-Dehidroroyleanon

Tablo 29. 6,7-dehidroroyleanon Bileşiminin NMR Değerleri

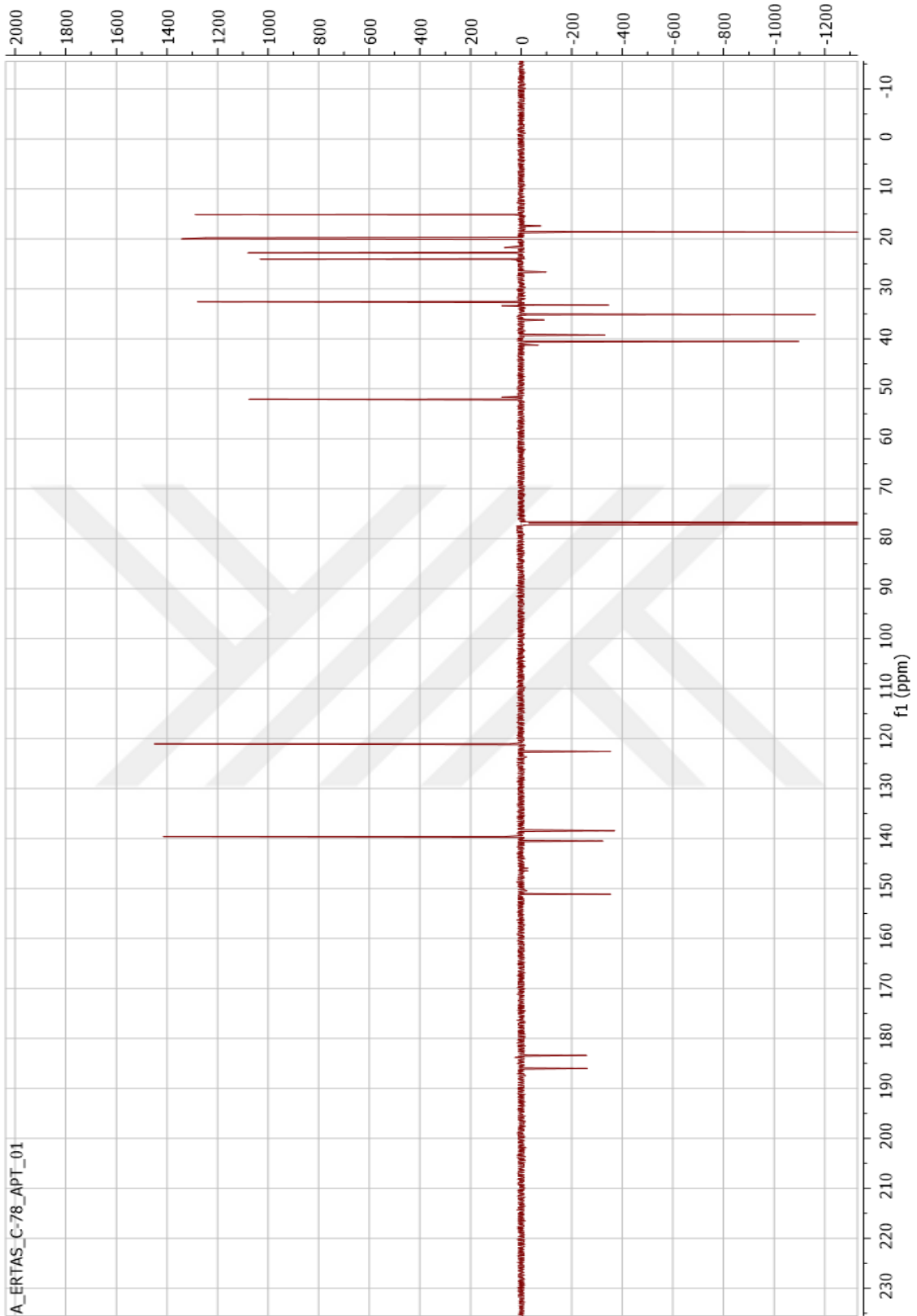
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	35,1	2,89 d (J=13,3 Hz, 3,9 Hz) 1,43 td (J=3,4 Hz)
2	18,7	-
3	40,5	-
4	33,3	-
5	52,1	2,14 s
6	139,6	6,46 dd (J=9,7 Hz)
7	121,1	6,81 dd (J=9,6 Hz)
8	138,4	-
9	140,5	-
10	39,2	-
11	183,4	-
12	151,2	-
13	122,6	-
14	186,0	-
15	24,1	3,15 dt (J=13,8; 6,9 Hz)
16	19,8	1,21 d (J=6,9 Hz)
17	20,0	1,21 d (J=6,9 Hz)
18	32,6	0,98 s
19	22,8	1,01 s
20	15,2	1,03 s
12-OH	-	7,33 s



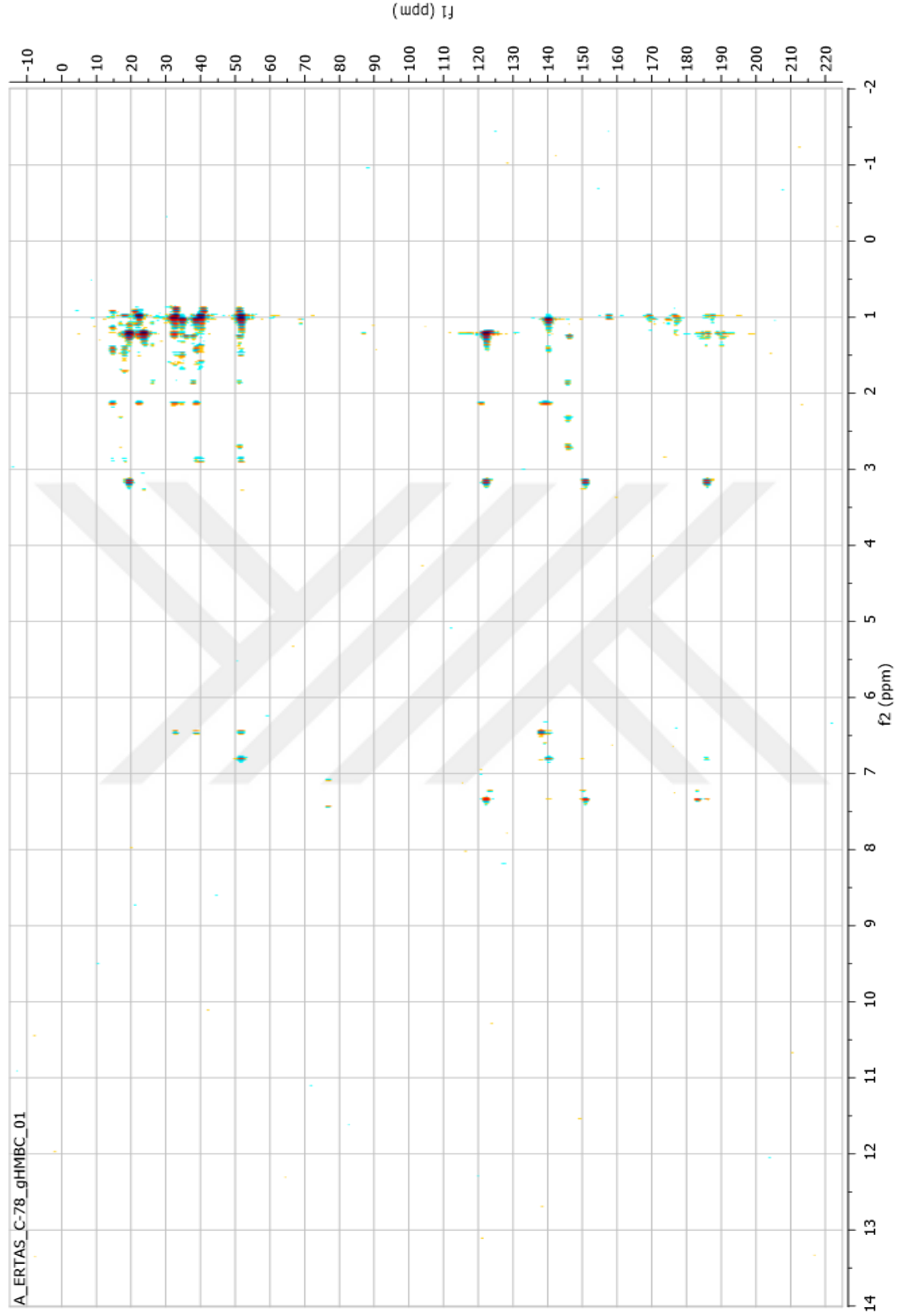
Şekil 72. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



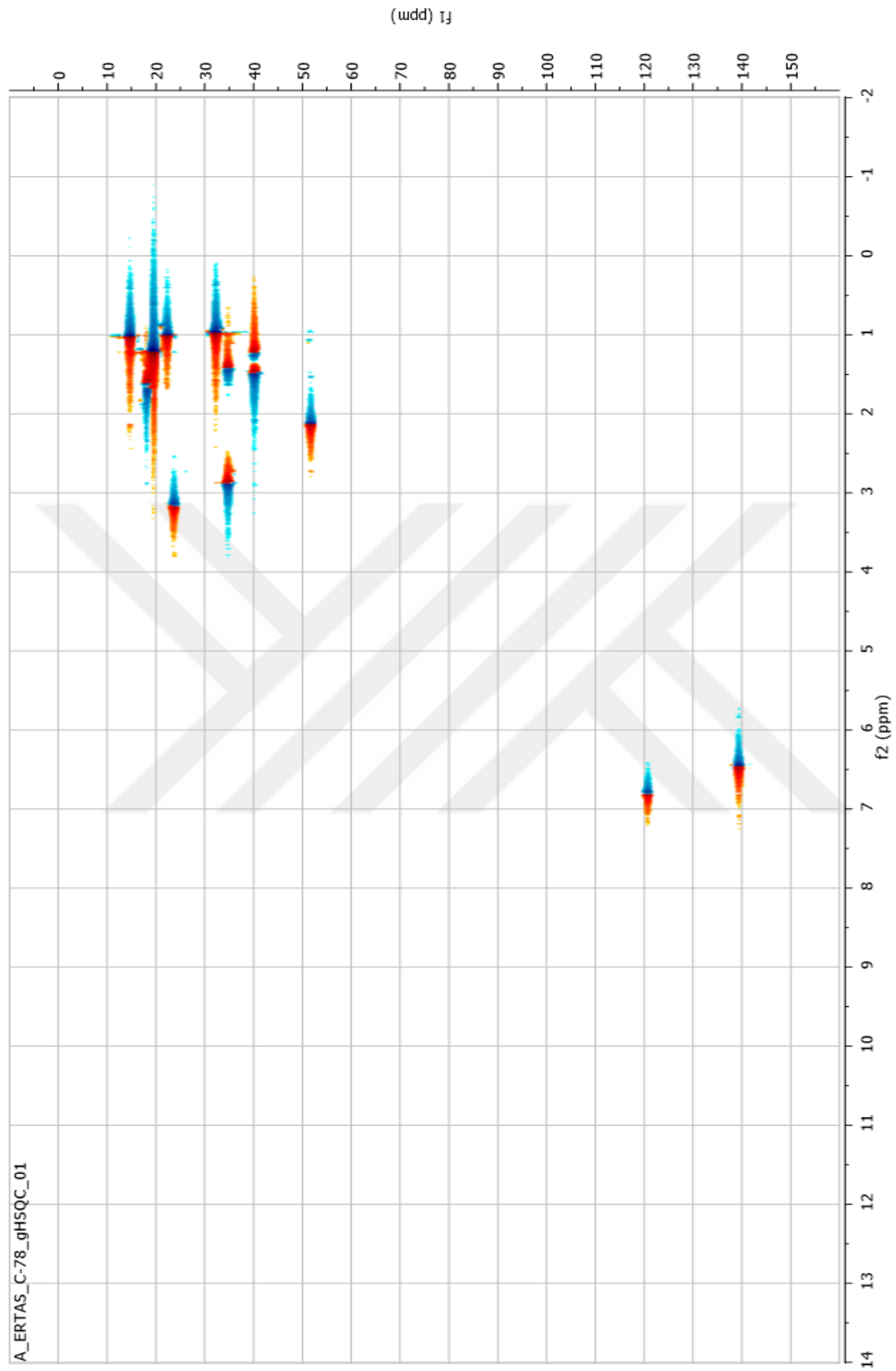
Şekil 73. 6,7-Dehydroroyleanon bileşiminin ^{13}C NMR Spektromu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 74. 6,7-Dehidroroleanon bileşiğinin APT spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)

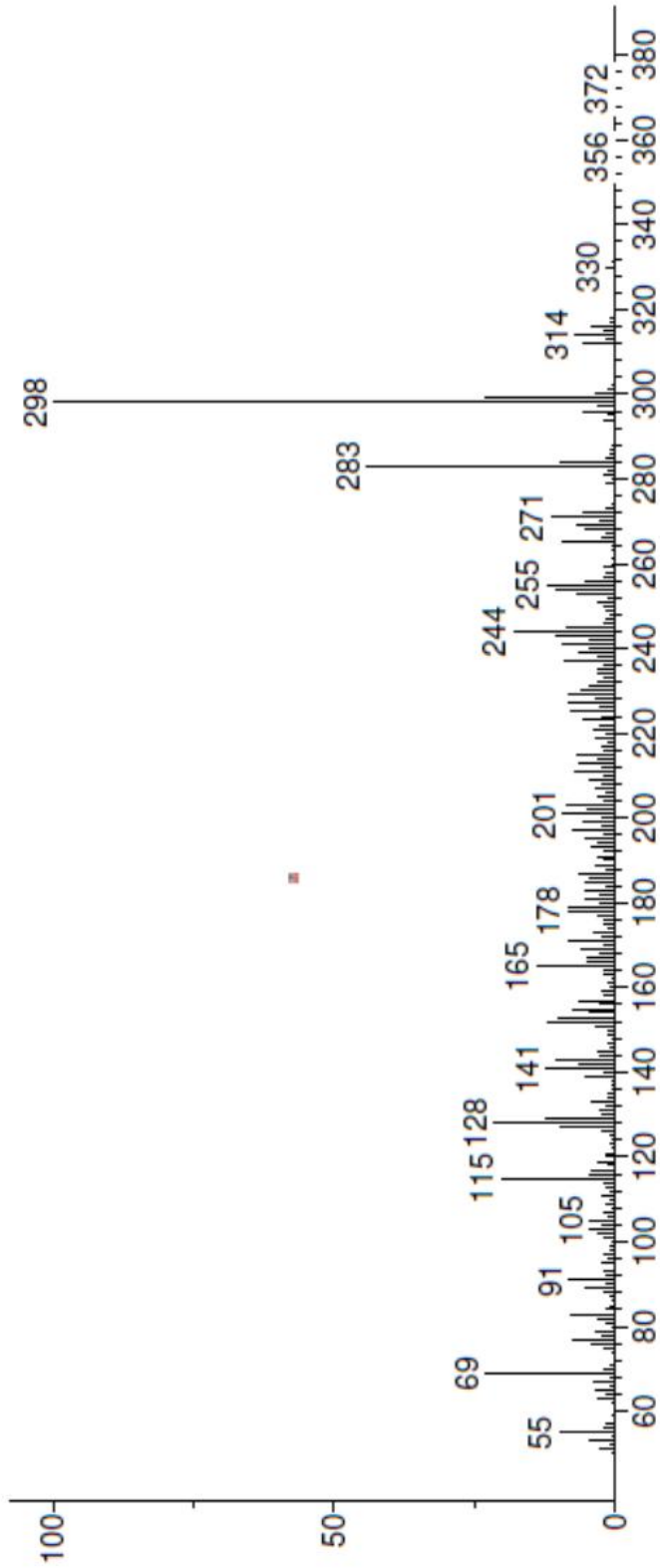


Şekil 75. 6,7-Dehidroroleanon bileşiğinin HMBNMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 76. 6,7-Dehidroroleanon Bileşiğinin HMQC Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)

Unknown: InLib=-733



Name: Scan 1195 (11.562 min): C-78.D\data.ms (-1128)

MW: N/A ID#: 2675 DB: Text File

Comment: C-78

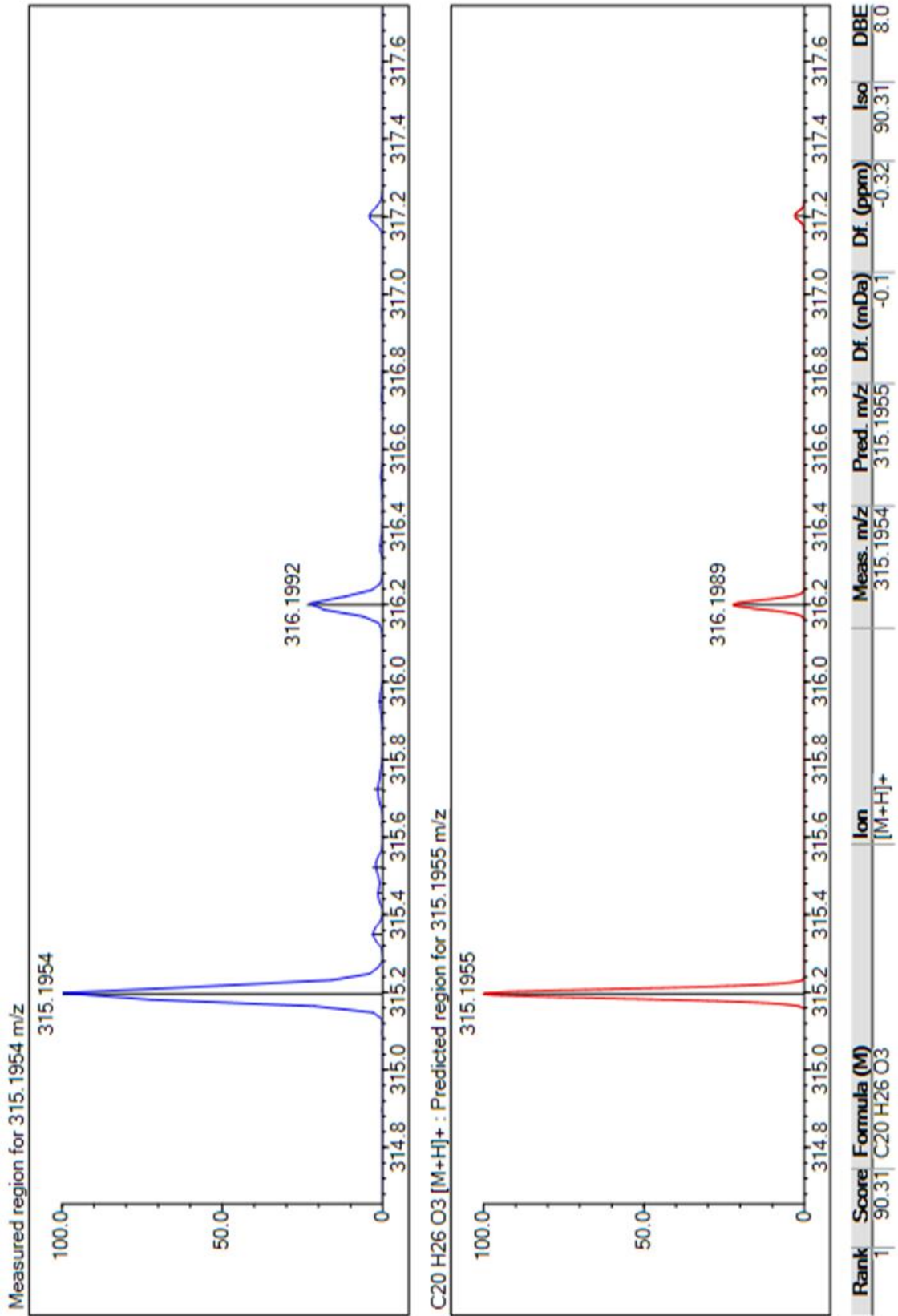
10 largest peaks:

298 999 | 283 444 | 69 233 | 299 230 | 128 217 | 115 205 | 244 183 | 165 142 | 141 125 | 255 123 |

Synonyms:

no synonyms.

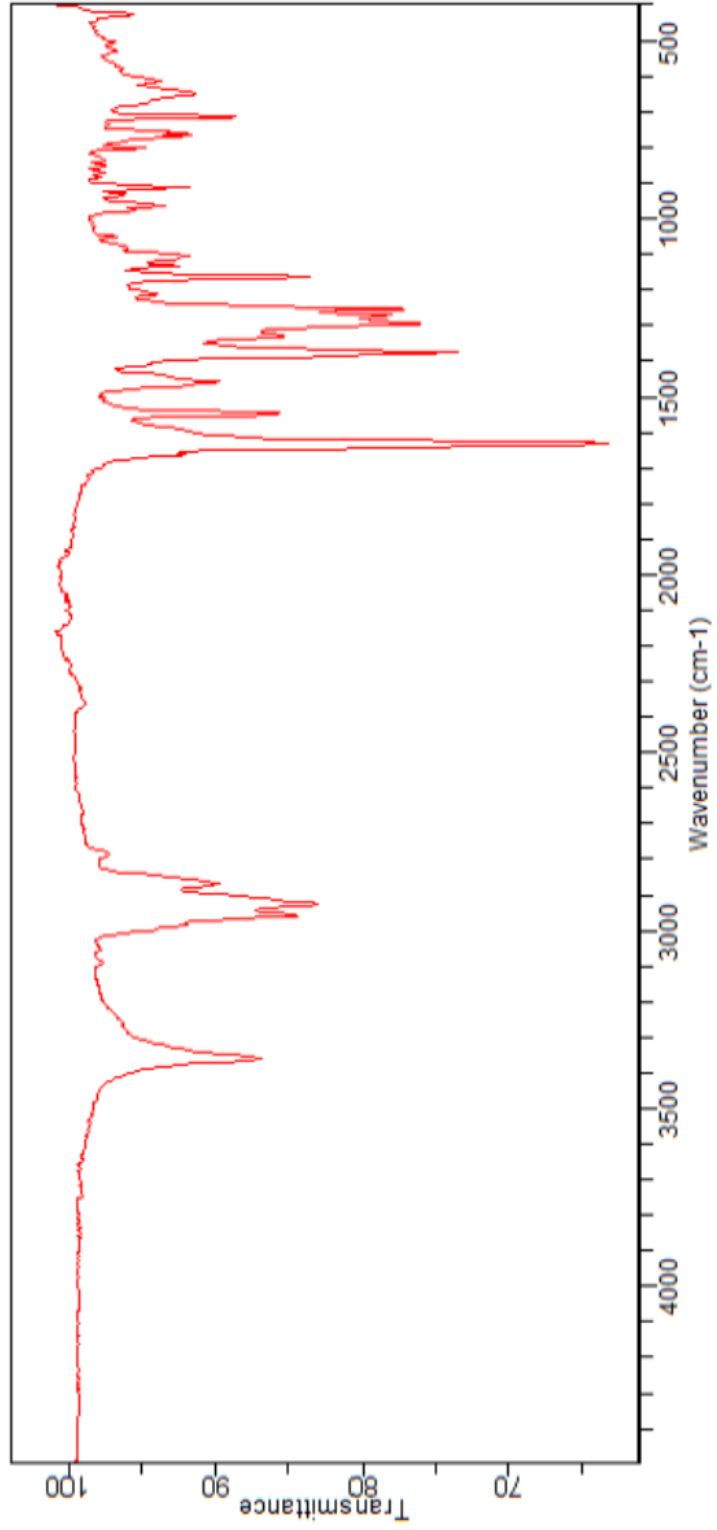
Şekil 77. 6,7-Dehidroroleanon bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 78. 6,7-Dehidroroleanon bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID: SPKE-12
Sample Scans: 128
Background Scans: 128
Resolution: 8
System Status: Good
File Location: C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\SPKE-12_2018-05-09T12-06-11.a2r

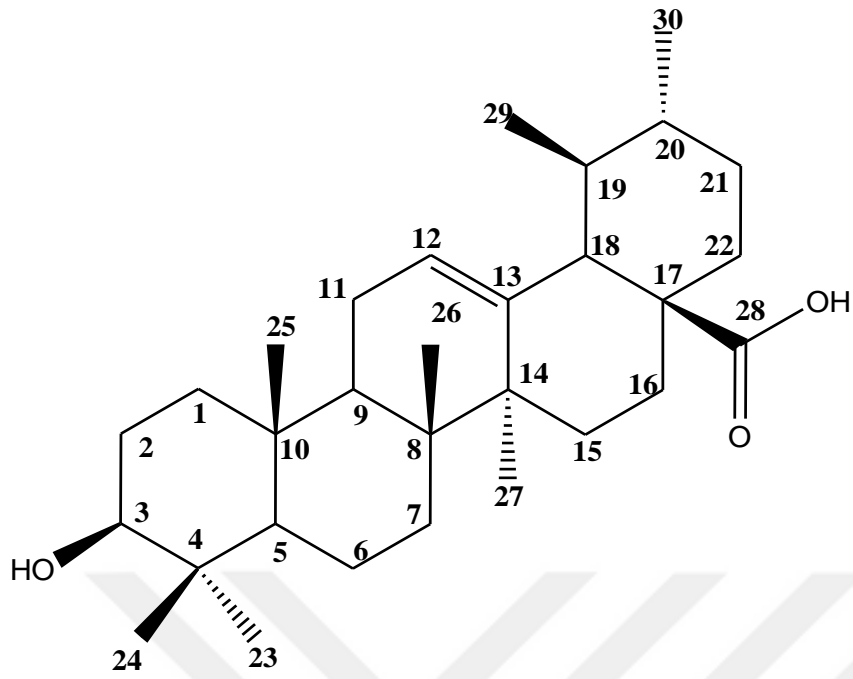
Method Name: zeynep
User: Admin
Date/Time: 05.09.2018 12:06:11
Range: 4500 - 400
Apodization: Triangular



Şekil 79. 6,7-Dehidroroyleanon bileşiğinin IR spektrumu

5.7.11. Ursolik Asit

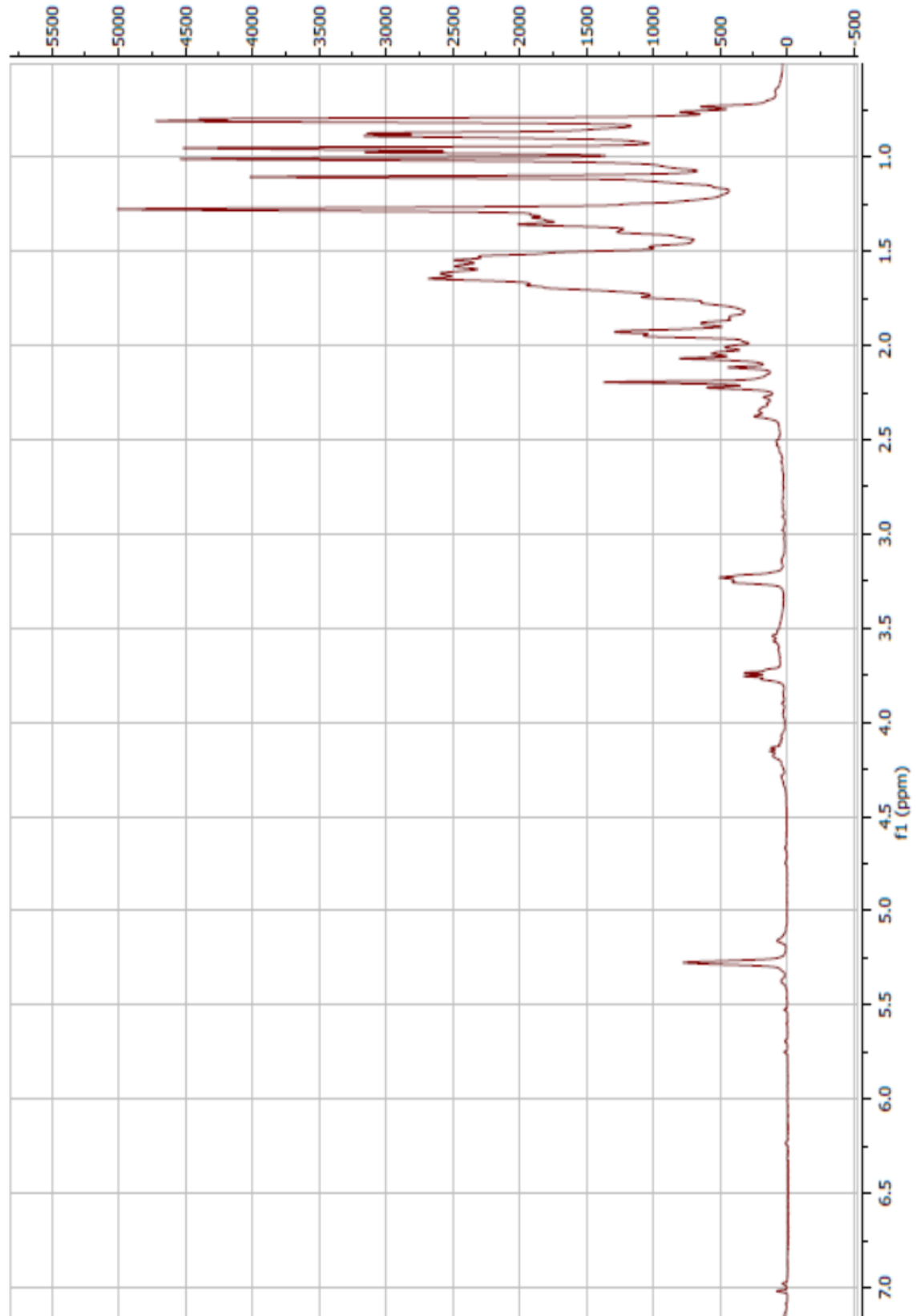
Toprak üstü kısmının etanol ekstresinin ana kolonundan elde edildi. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre en iyi ayrılma (1Ac:9DCM) çözücü sisteminde 2 kez yürütülerek gözlemlendi. Preperatif İTK ile bu çözücü sisteminde saflaştırma işlemi yapıldı (6mg). Beyaz renkli olan bu bileşik amorf halde elde edildi (Şekil 80). Silika jel plağa uygulandıktan sonra UV lamba altında (254nm) bakıldığında görülmeyen bu bileşik, serik sülfat belirteci çeker ocakta püskürtülüp etüvde 105°C'de yakılarak pembe-mor rengi aldı. ¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, 600 MHz) 0.75-1.15 ppm ler aralığında görülen beş metil singletinin yanı sıra 0.92 ppm de ve 0.78 ppm'de *J* değerleri 6,6 Hz olan iki dublet metilinin bulunması bileşiğin ursan yapısında olduğuna işaret etmektedir. Oleanolik asit ve ursolik asit maddelerinin IR ve kütle spektral sonuçlarının neredeyse birebir aynı olması bu spektrumlara bakılarak bileşiklerin ayırt edilemeyeceğini gösterir, ancak saflaştırma sonucunda bileşiğin ¹H NMR spektrumunda C-19 ve C-20 deki metil gruplarının dubletler halinde olması ve ¹³C NMR da metilen (CH₂) ve metin (CH) sayılarının oleanolik asitten farklı olması dolayısıyla bu bileşiğin ursan yapısında olduğunu kanıtlamaktadır. Nitekim ¹H NMR spektrumunda 3,2 ppm civarında izlenen dd (*J*=4,5 ve 10,8Hz) sinyali hidroksile komşu protona (H-3α), 5.30 ppm deki dar triplet sinyali ise vinilik bir protona (H-12) işaret etti. ¹H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen [M+Na]⁺ piki *m/z* 479,3500'e (C₃₀H₄₈O₃) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* bitkilerinde fazlaca rastladığımız ursolik asit (3β-hidroksi-urs-12-en-28-oik asit) olduğu saptandı ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (113). Tablo 30'de ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 81-83).



Şekil 80. Ursolik Asit

Tablo 30. Ursolik asit bileşığının NMR değerleri

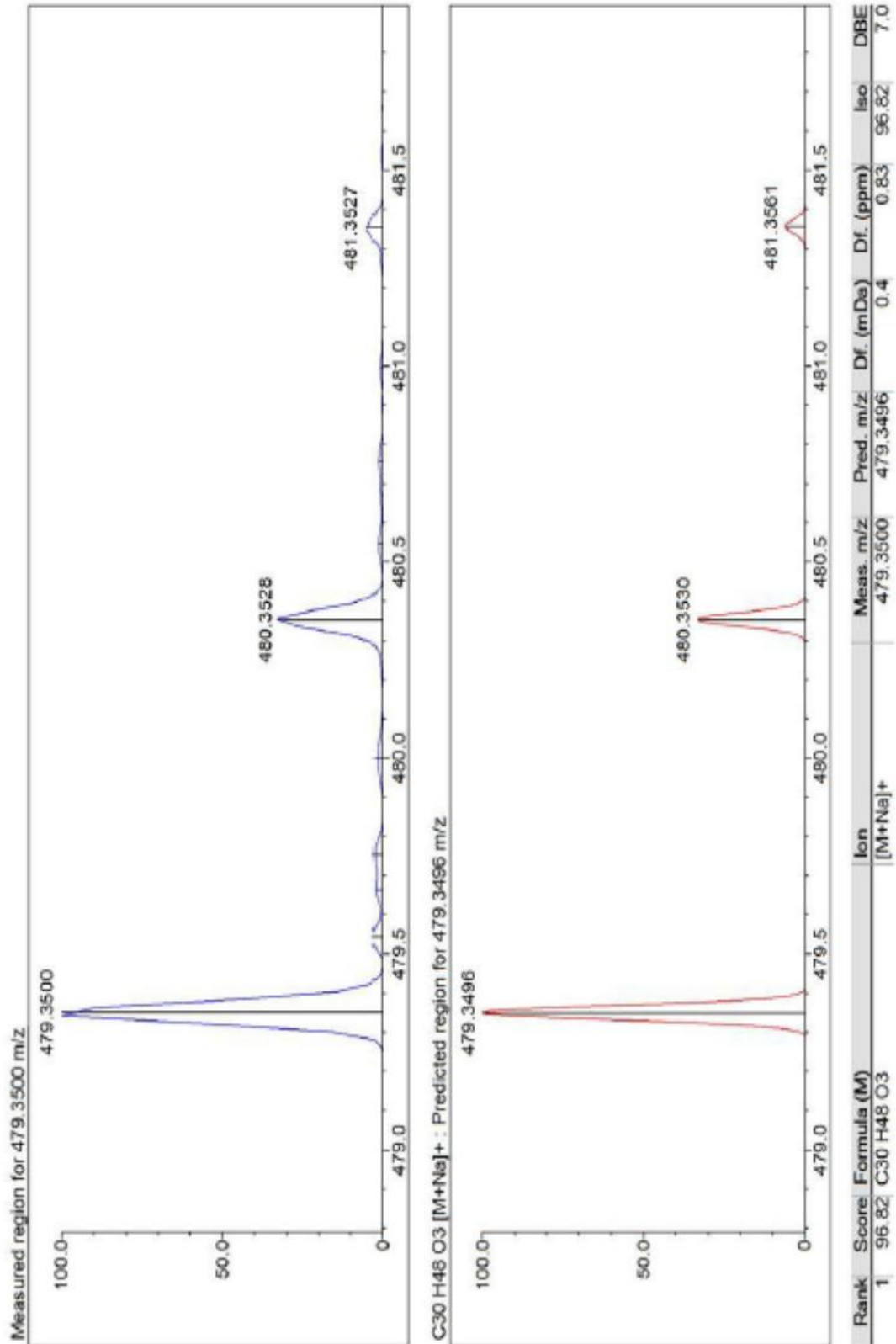
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	39,1	-
2	27,2	-
3	79,2	3,20 dd (10,8;4,5 Hz)
4	39,4	-
5	55,1	-
6	19,1	-
7	33,5	-
8	39,2	-
9	47,5	-
10	37,1	-
11	23,6	-
12	123,2	5,30 t (J = 2,5 Hz)
13	143,5	-
14	41,5	-
15	28,1	-
16	23,6	-
17	46,5	-
18	40,1	2,16 d (J=11 Hz)
19	38,9	-
20	38,7	-
21	33,8	-
22	32,6	-
23	28,1	1,01 s
24	15,5	0,75 s
25	15,3	0,95 s
26	17,1	0,80 s
27	25,9	1,15 s
28	183,1	-
29	33,1	0,78 d (J=6,6 Hz)
30	23,6	0,92 d (J=6,6 Hz)



Şekil 81. Ursolik asit bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



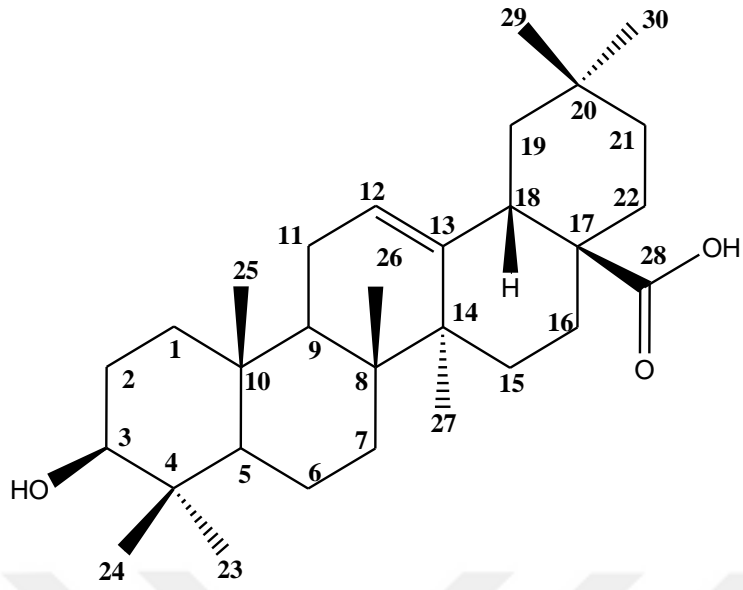
Şekil 82. Ursolik asit bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



Şekil 83. Ursolik asit bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.12. Oleanolik asit

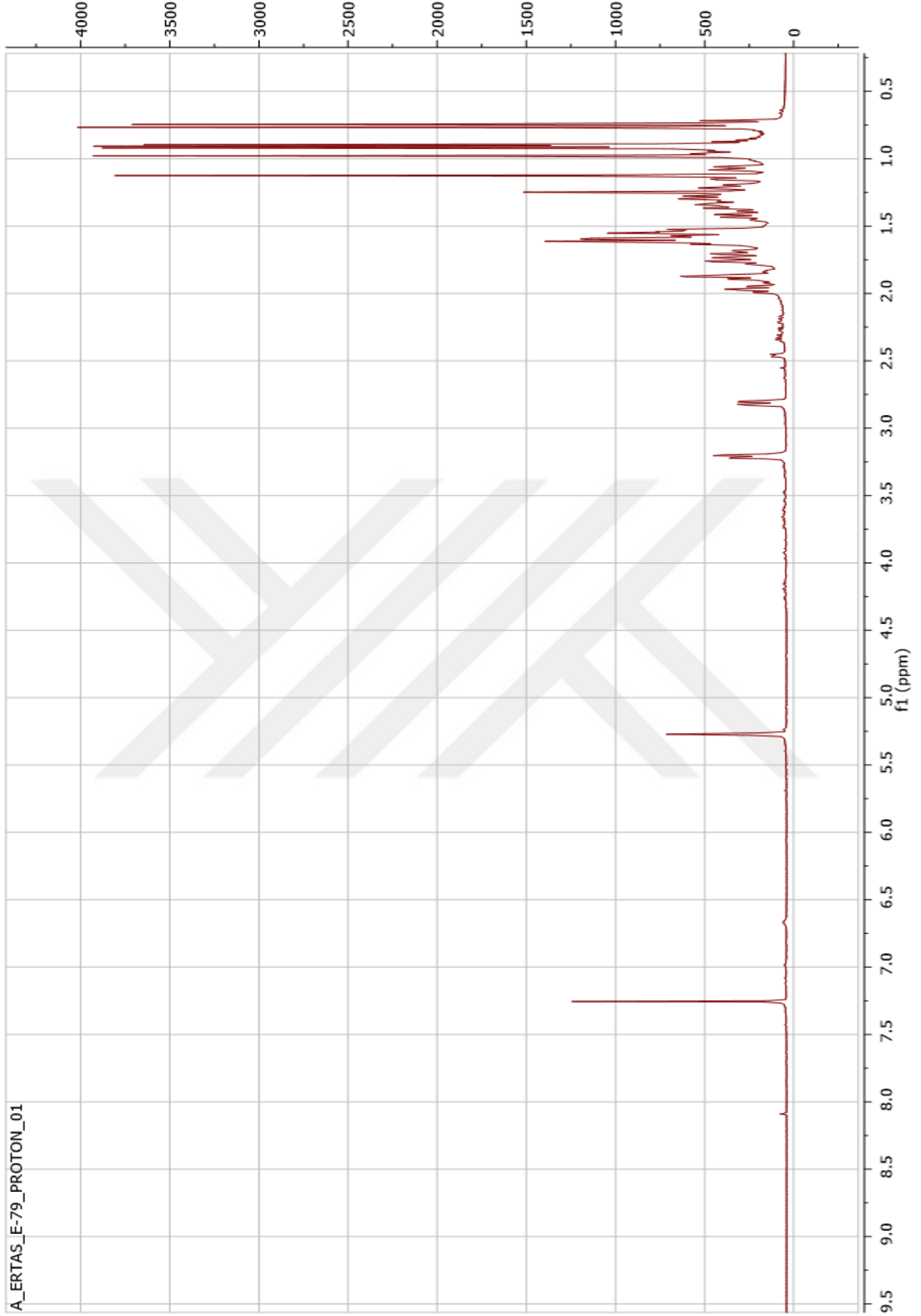
Toprak üstü kısmının etanol ekstresinin ana kolonundan elde edildi. Beyaz renkli olan bu bileşik silika jel plağa uygulanıp UV lamba altında (254nm) bakıldığında görülmeyen bileşik, serik sülfat belirteci çeker ocakta püskürtülüp etüv içerisinde 105°C’de yakıldığında pembe-mor renk oluştu (Şekil 84). ¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, 600) 0,75-1,25 ppm aralığında çıkan metil pikleri singletler biçimindedir. Bütün metillerin singletler şeklinde görülmesi bileşiğin oleanan iskeleti şeklinde olduğunu gösterdi. 3,22 ppm deki dublet dublet ($J= 3,7$ ve $11,2$ Hz) hidroksile komşu α - protona, 5,25 ppm deki triplet ($J=2,5$ Hz) ise bir olefinik protona (vinilik protona) işaret etmektedir. İlâveten 2,81 ppm de izlenen $J=2,6$ ve $J=13,0$ Hz’lik dd etkileşim gösteren pikin H-18 protonun piki olduğu ve hatta bu sinyalin çok aşağı alanda görülmesinin nedeni ise C-17’ye bağlı (-COOH) asit grubundan kaynaklı olduğu düşünüldü. Oleanolik asit ile ursolik asit birbirlerinin izomeri durumunda olmalarının yanında ¹H NMR daberbirinden ayıran en belirgin özellikteki pikler H-19 ve H-20 ye bağlı metil sinyalleri ve H-19 protonu ile etkileşen H-18 sinyalinin verdiği bölünme ve kayma değeridir. Oleanolik asitde H-18 β sinyali bu bileşikte de izlendiği gibi daima 2,6 ve 13 Hz lik karakteristik dublet dubletler halinde 2,8 ppm civarında izlenir. Nitekim ¹³C NMR’ın da asit karbonu 183,3 ppm de, Δ^{12} çifte bağ karbonları 122,6 ve 143,6 da, hidroksil taşıyan karbon (C-3) ise 79,0 de izlendi. ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen $[M+Na]^+$ piki m/z 479,3500’e (C₃₀H₄₈O₃) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan oleanolik asit (3 β -hidroksiolean-12-en-28-oik asit) olduğu saptandı ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (113). Tablo 31’de ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 85-88).



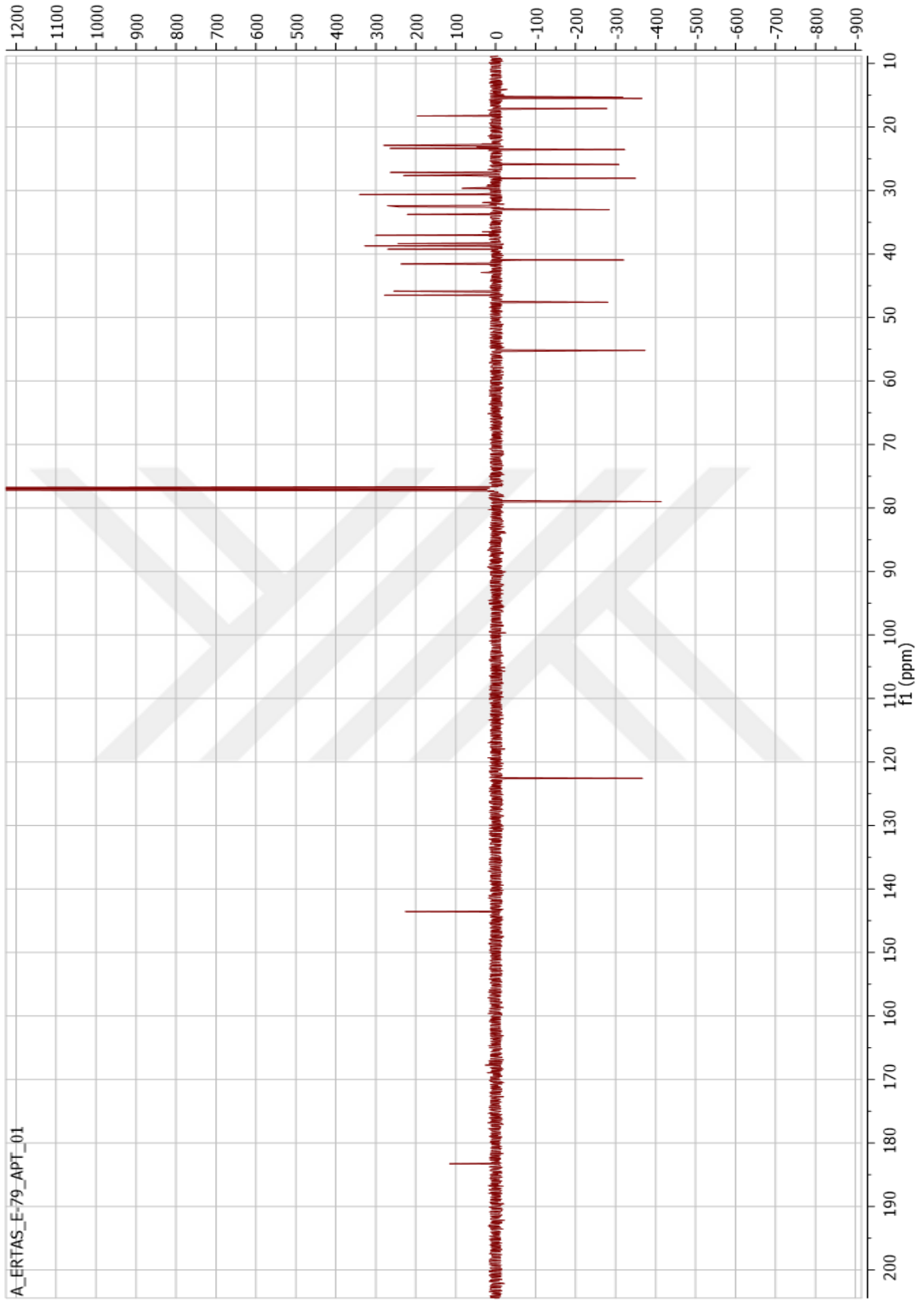
Şekil 84. Oleanolik asit

Tablo 31. Oleanolik asit bileşığının NMR değerleri

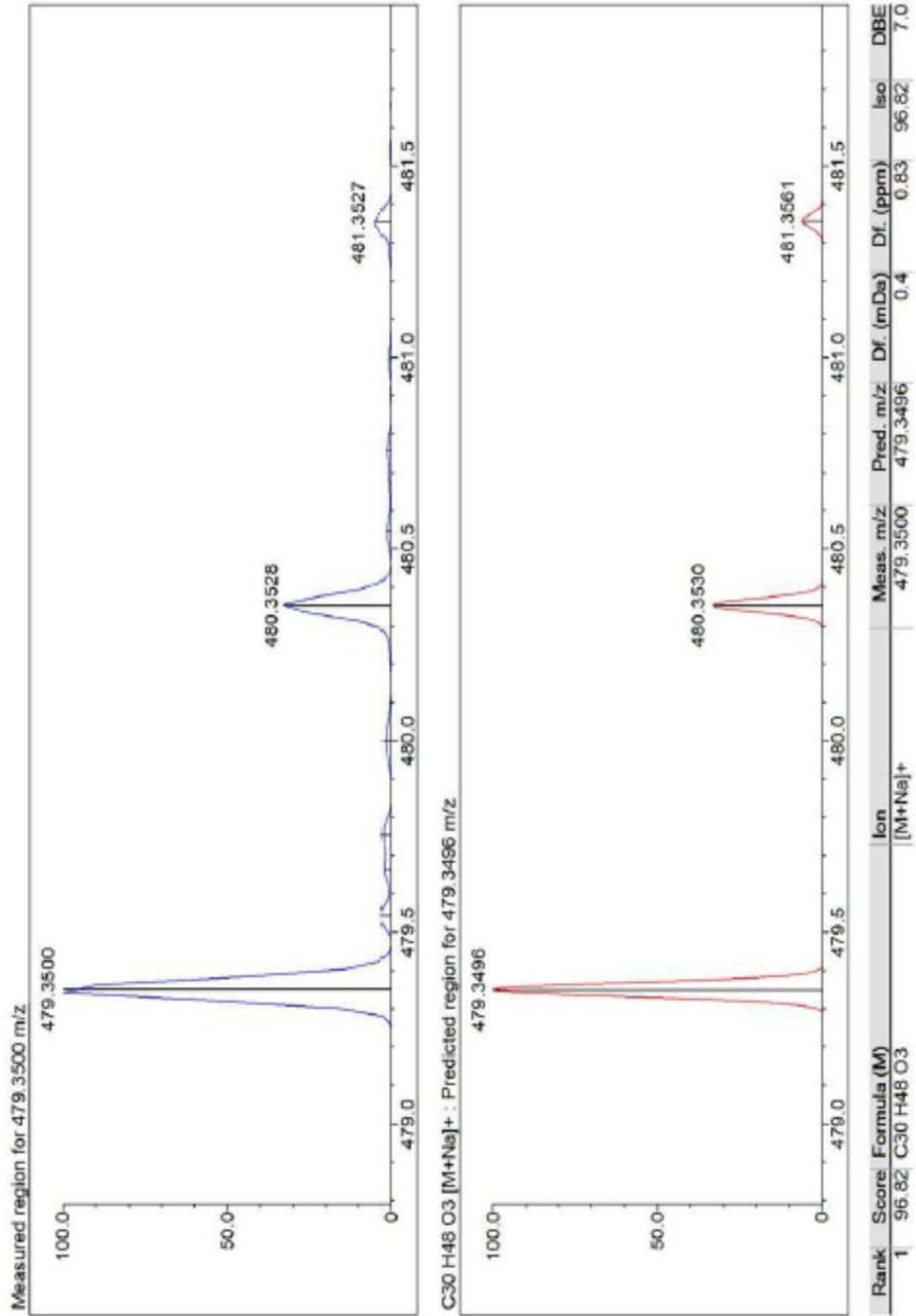
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	39,2	-
2	27,1	-
3	79,0	3,22 dd (11,2;3,7 Hz)
4	38,7	-
5	55,2	-
6	18,3	-
7	33,7	-
8	39,3	-
9	47,6	-
10	37,1	-
11	23,6	-
12	122,6	5,22 t (J = 2,5 Hz)
13	143,6	-
14	41,5	-
15	28,1	1,71 m
16	23,6	1,96 m
17	46,5	-
18	40,1	2,81 dd (J=13,0;2,6 Hz)
19	45,9	-
20	30,7	-
21	33,8	-
22	32,6	-
23	28,1	0,94 s
24	15,5	0,74 s
25	15,3	0,89 s
26	17,1	0,77 s
27	25,9	1,1 s
28	183,3	-
29	33,1	0,87 s
30	23,6	0,90 s



Şekil 85. Oleanolik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



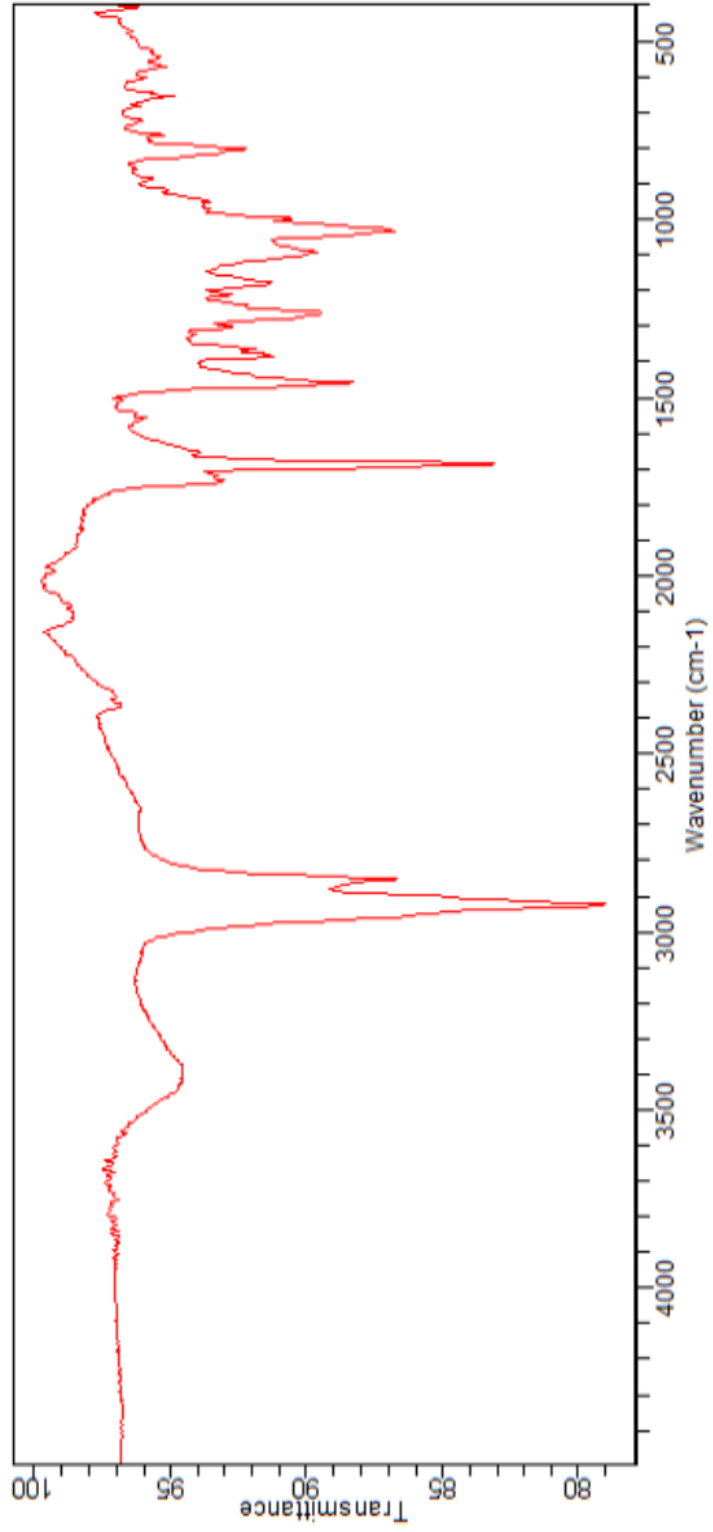
Şekil 86. Oleanolik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 87. Oleanolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:E-79
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\E-79_2018-05-10T12-16-18.a2r

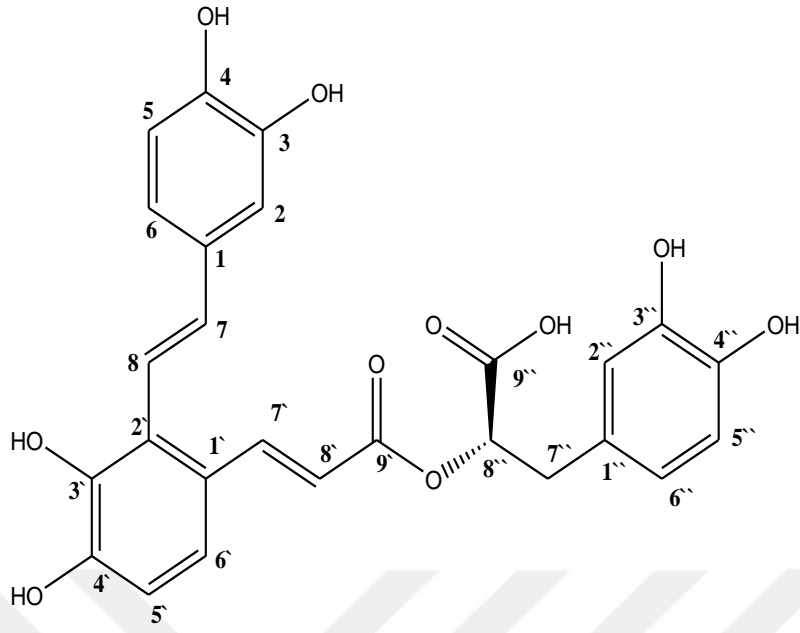
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 12:16:18
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 88. Oleanolik asit bileşiminin IR spektrumu

5.7.13. Salvianolik asit A

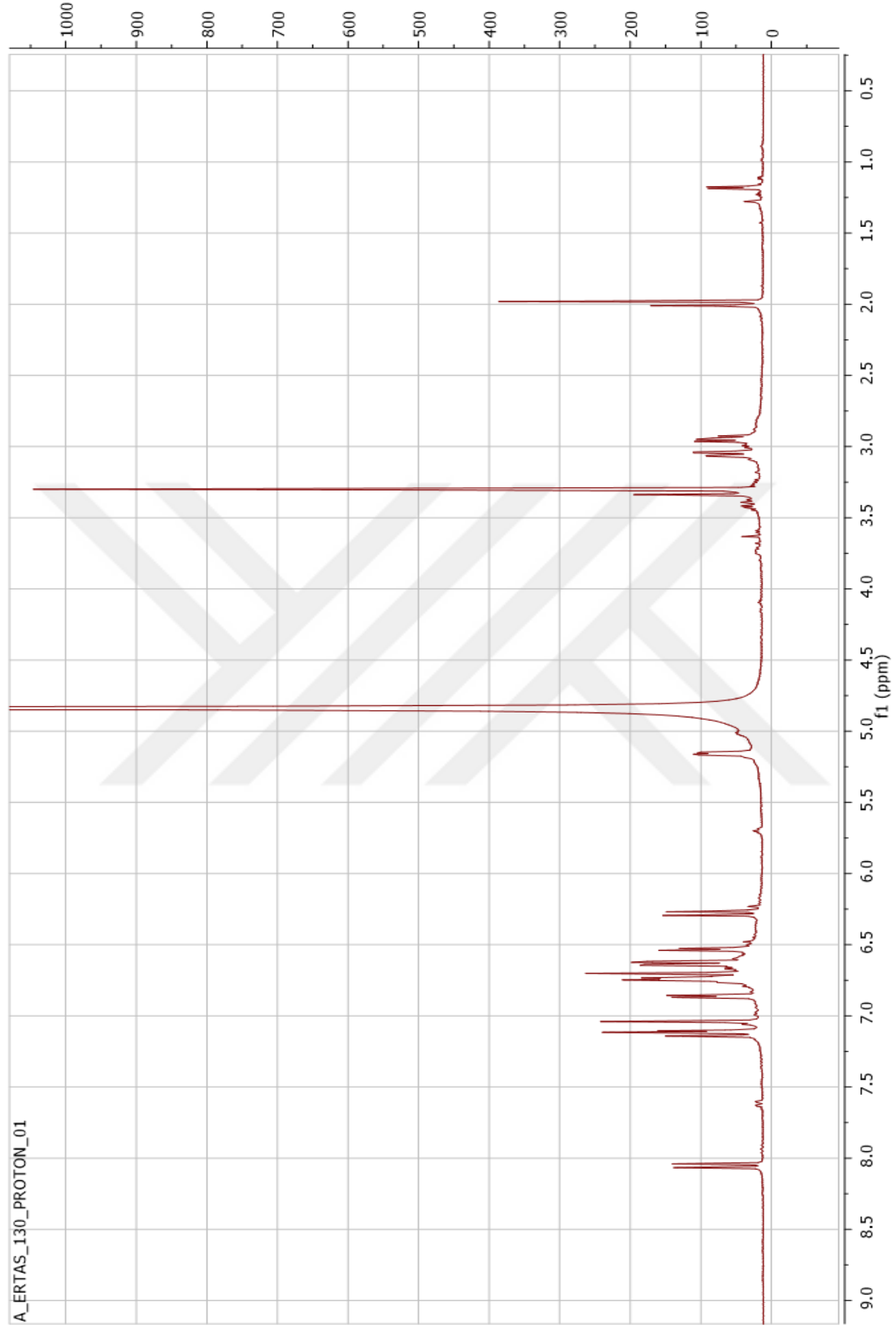
Toprak üstü kısımlarının etanol ekstratlarından preparatif HPLC’de MeOH/Su çözücü sisteminde elde edildi (Şekil 89). Beyaz renkte toz halde 38 mg elde edildi. ¹H-NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) δ 8.05- 6.28 ppm’ de aromatik bölgede 12 sinyal izlendi. İlâveten δ 5.16 *dd* (*J*=8.4- 3.7 Hz) ppm’de oksijenlenmiş proton sinyali izlendi. APT (CD₃OD, 150 MHz) spektrumu değerlendirildiğinde yapıda δ 168.8 ve 173.6 ppm’de karbonil karbonları izlendi. Bunlara ilâveten δ 146.6, 146.9, 146.3, 148.4, 145.4 ve 144.6 ppm’de oksijenlenmiş karbonlar izlendi. Bu sinyaller genelde aromatik halkalara OH grubu bağlandığında izlenebilmektedir. Daha ileri NMR analizlerine devam etmeden önce elde edilen spektral değerler literatür ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucu δ 6.82 *d* (*J*=7.7 Hz), 7.14 *d* (*J*=8.5 Hz), 8.05 *d* (*J*=15.8 Hz) ve 6.28 *d* (*J*=15.8 Hz) ppm’de izlenen sinyallerin *Salvia* türlerinde rastlanan biyolojik özellikleri nedeniyle önemli bir bileşik olan salvianolik asit A’nin A kısmında izlenen protonlar, δ 6.81 *d* (*J*=2.8 Hz), 6.71 *d* (*J*=8.0 Hz), 6.74 *dd* (*J*=8.2- 3.6 Hz), 3.05 *dd* (*J*=14.4- 3.3 Hz), 2.94 *dd* (*J*=14.2- 8.7 Hz) ve 5.16 *dd* (*J*=8.4- 3.7 Hz) ppm’de izlenen sinyallerin B kısmındaki protonlar, δ 7.12 *d* (*J*=2.0 Hz), 6.86 *d* (*J*=7.9 Hz), 7.04 *brs*, 7.13 *d* (*J*=16.2 Hz) ve 6.71 *brs* sinyallerin C kısmındaki protonlar ile örtüştüğü görüldü (126). ¹H ve ¹³C NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF ta izlenen M-H piki *m/z* 493.1146 (C₂₆H₂₂O₁₀) ne dayanarak bu bileşiğin salvianolik asit A olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Tablo 32) kıyaslanarak yapı doğrulandı (119,123) (Şekil 90-92).



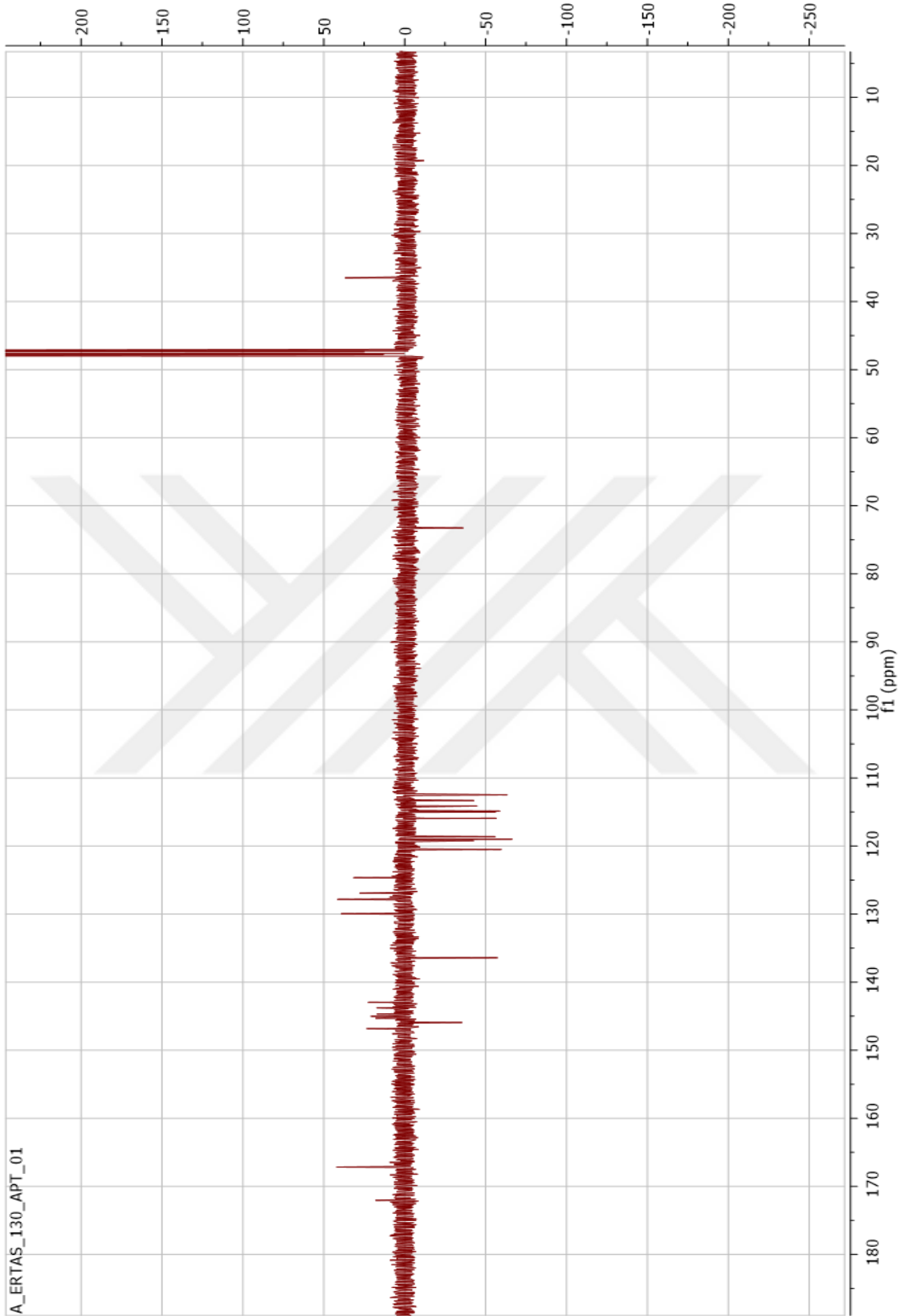
Şekil 89. Salvianolik asit A

Tablo 32. Salviaolik asit A bileşğinin NMR değeri

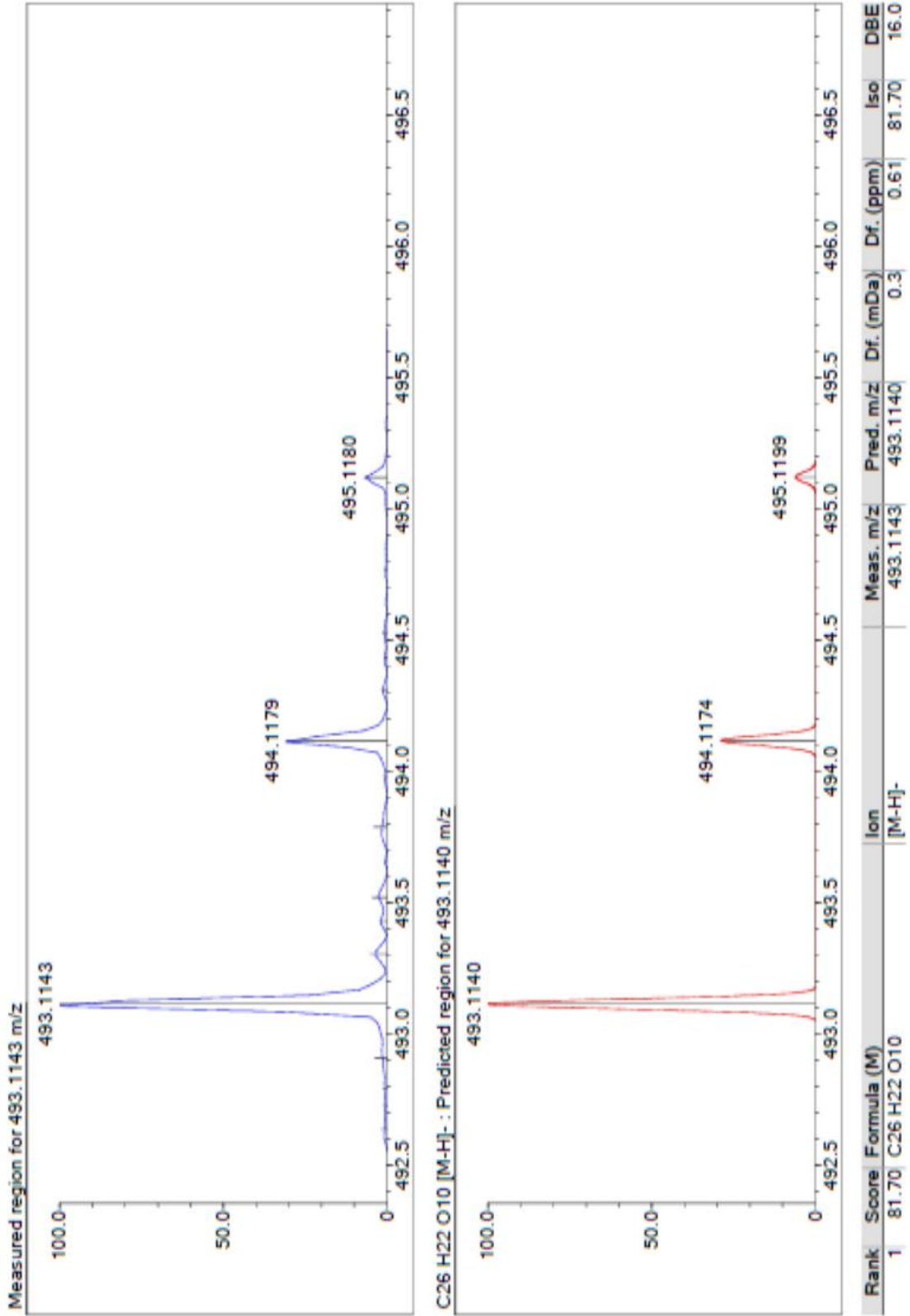
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	128.5	-
2	120.2	7.12 <i>d</i> (<i>J</i> =2.0 Hz)
3	146.6	-
4	146.9	-
5	114.0	6.86 <i>d</i> (<i>J</i> =7.9 Hz)
6	120.5	7.04 <i>brs</i>
7	138.0	7.13 <i>d</i> (<i>J</i> =16.2 Hz)
8	116.6	6.71 <i>brs</i>
1'	126.2	-
2'	131.5	-
3'	146.3	-
4'	148.4	-
5'	115.7	6.82 <i>d</i> (<i>J</i> =7.7 Hz)
6'	122.2	7.14 <i>d</i> (<i>J</i> =8.5 Hz)
7'	147.5	8.05 <i>d</i> (<i>J</i> =15.8 Hz)
8'	116.4	6.28 <i>d</i> (<i>J</i> =15.8 Hz)
9'	168.8	-
1''	129.4	-
2''	117.5	6.81 <i>d</i> (<i>J</i> =2.8 Hz)
3''	145.4	-
4''	144.6	-
5''	114.9	6.71 <i>d</i> (<i>J</i> =8.0 Hz)
6''	120.7	6.74 <i>dd</i> (<i>J</i> =8.2- 3.6 Hz)
7''	38.1	3.05 <i>dd</i> (<i>J</i> =14.4- 3.3 Hz)
8''	74.9	2.94 <i>dd</i> (<i>J</i> =14.2- 8.7 Hz)
9''	173.6	-



Şekil 90. Salvanolik Asit Abileşiginin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



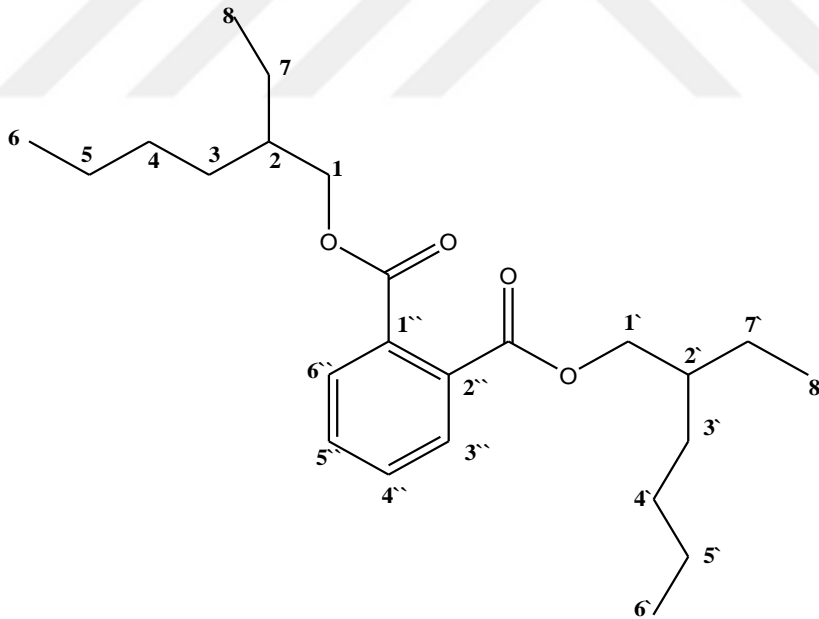
Şekil 91. Salvanolik Asit A bileşğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



Şekil 92. Salvanolik Asit A bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.14. Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat

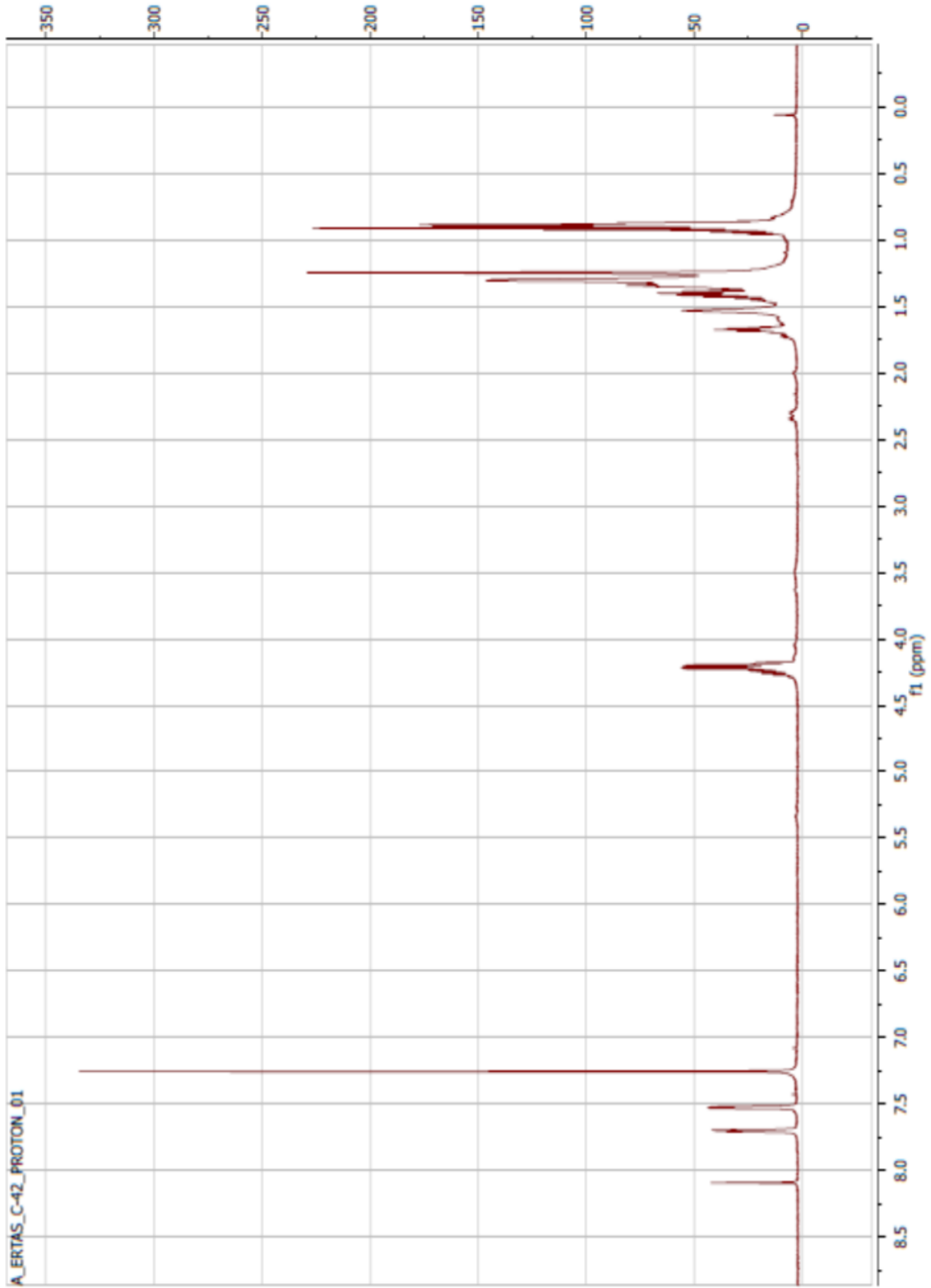
Bitkinin hem kök hem de toprak üstü kısımların etanol ekstralarının çok sayıda fraksiyonundan preparatif ince tabaka kromatografisiyle petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 300 mg olarak elde edildi (Şekil 93). Silika jel uygulanmış hazır plakta UV'da açık mor görülen bileşik serik sülfat belirteci çeker ocak altında püskürtülüp etüvde yakıldığında (105°C) önce sarı bekleyince mor renk aldı. ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) spektrumunda 7,70 (2H, dd, J = 3,42; 5,86 Hz) H-3'' ve H-6'', 7,52 (2H, dd, J = 3,42; 5,86) H-4'' ve H-5'', 4,21 (4H, pentet, J = 5,86 Hz) H-1 ve H-1', 1,55 (2H, m) H-2 ve H-2', 1,32-1,22 (8 CH₂, m), 0,93 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-6 ve Me-6', 0,89 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-8 ve Me-8' pikleri izlendi. ¹H ve ¹³C NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF ta izlenen M+H piki m/z 391.2843 (C₂₄H₃₈O₄) ne dayanarak bu bileşiğin bis-(2-etil heksil)benzen-1,2 dikarboksilat olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Tablo 33) kıyaslanarak yapı doğrulandı (113) (Şekil 94-97).



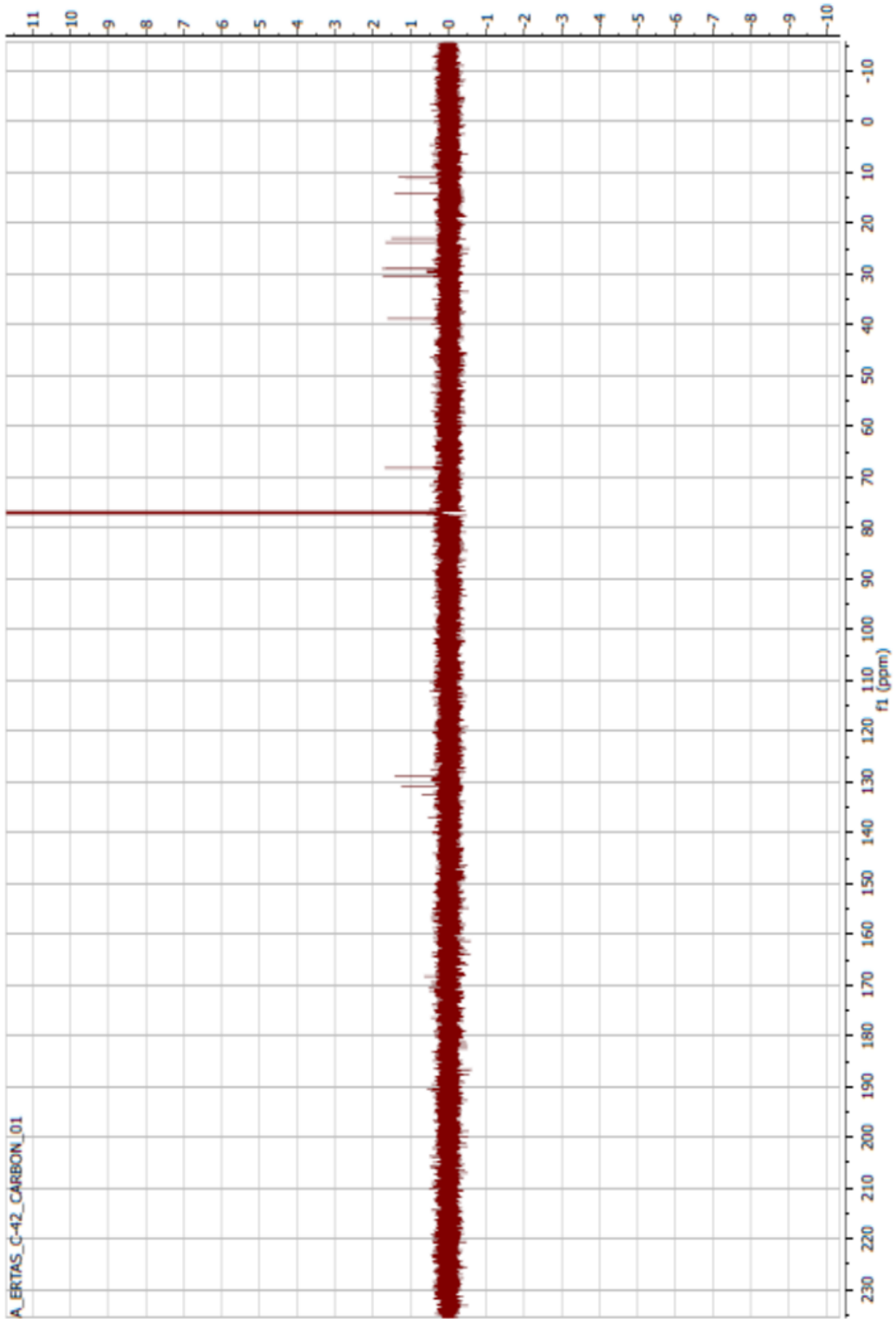
Şekil 93. Bis-(2-etil heksil)benzen-1,2 dikarboksilat

Tablo 33. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin NMR değerleri

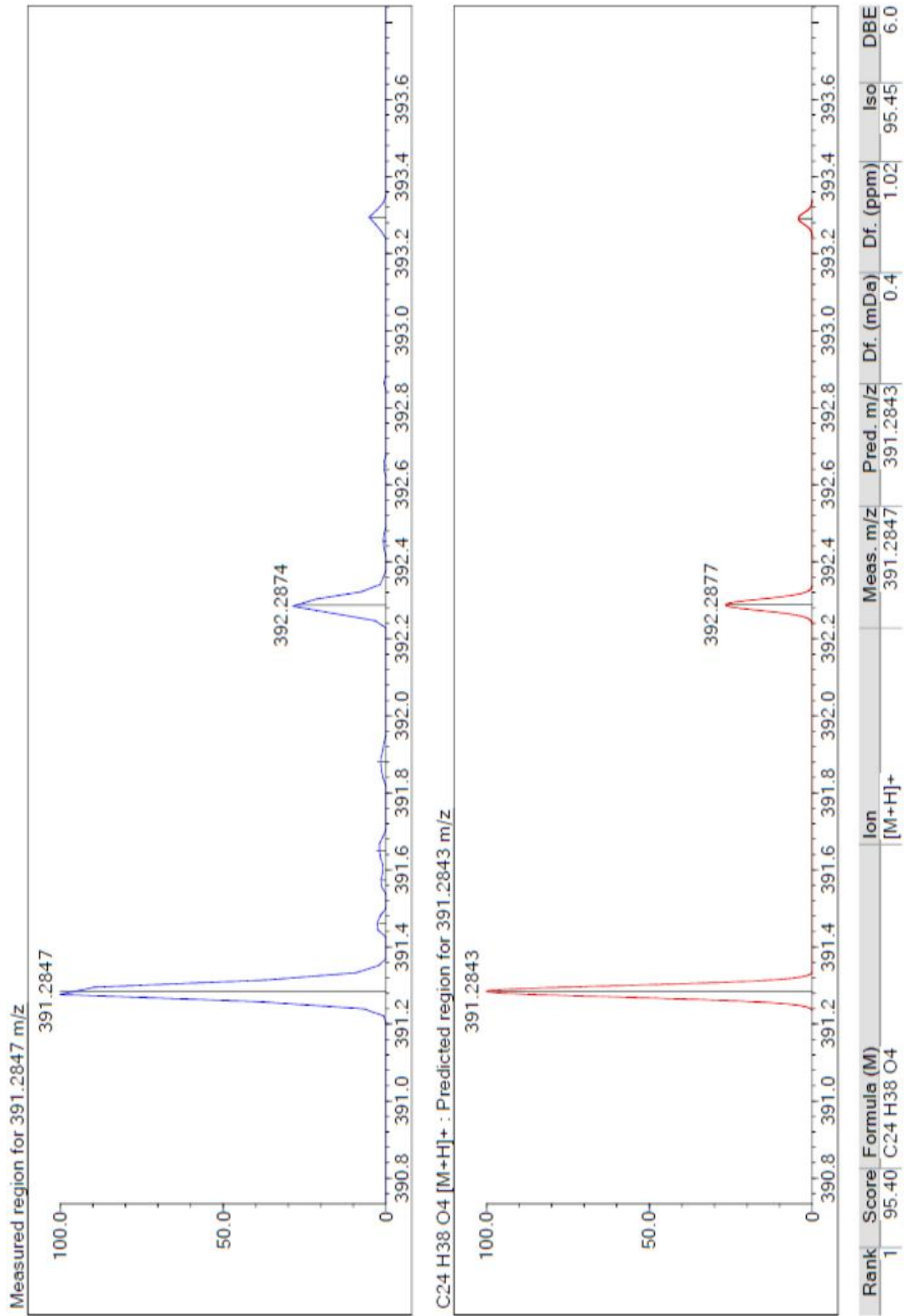
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1, 1'	67,70	4,21 pentet (J = 5,86 Hz)
2, 2'	39,04	1,55 m
3, 3'	30,53	1,32-1,22 m
4, 4'	28,69	1,32-1,22 m
5, 5'	22,96	1,32-1,22 m
6, 6'	10,65	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7, 7'	23,86	1,32-1,22m
8, 8'	13,64	0,89 t (J = 5,00 Hz)
1'', 2''	132,82	-
4'', 5''	131,35	7,52 dd (J = 3,42; 5,86 Hz)
3'', 6''	128,97	7,70 dd (J = 3,42; 5,86 Hz)
C=O	167,36	-



Şekil 94. Bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



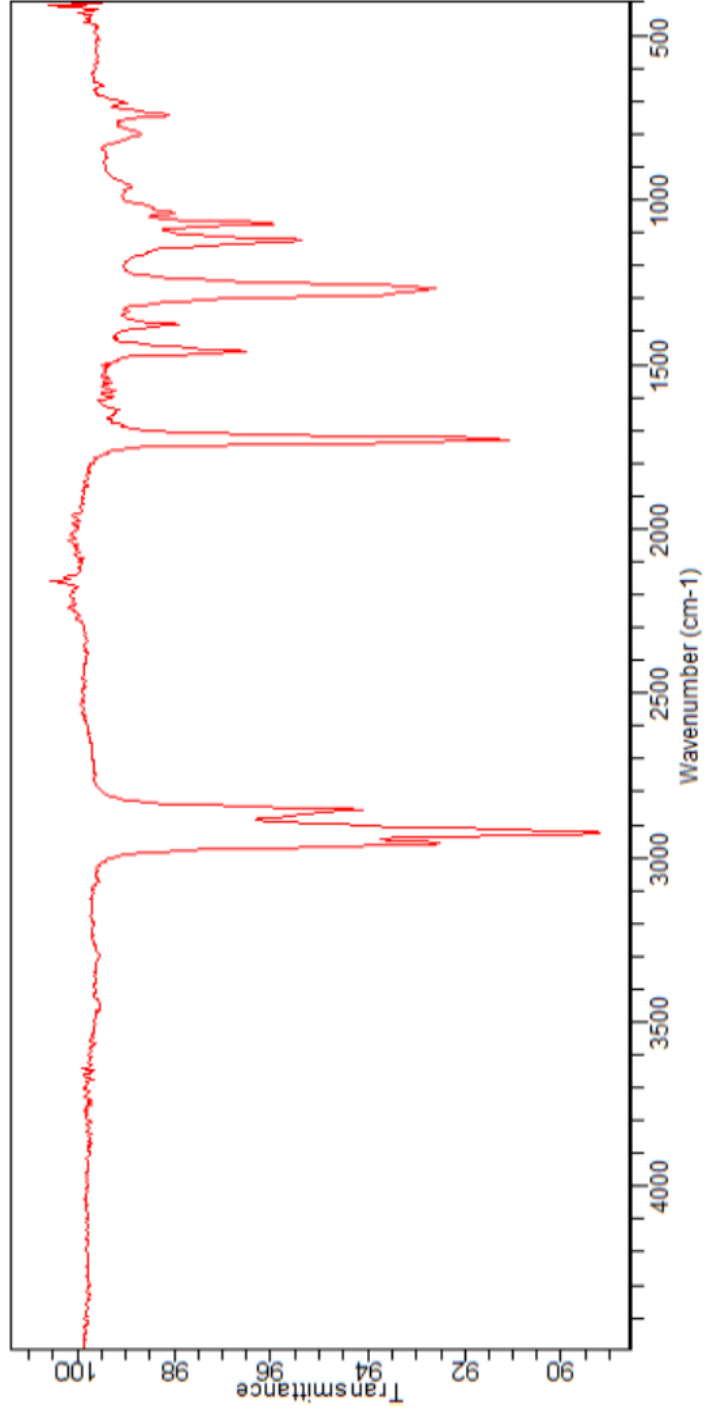
Şekil 95. Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 96. Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:E-57
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\E-57_2018-05-10T12-30-12.a2r

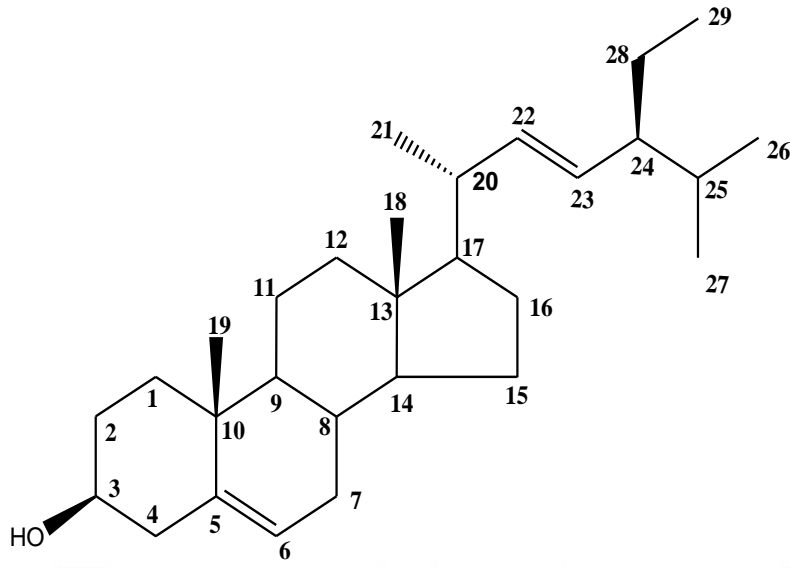
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 12:30:12
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 97. Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin IR spektrumu

5.7.15. Stigmasterol

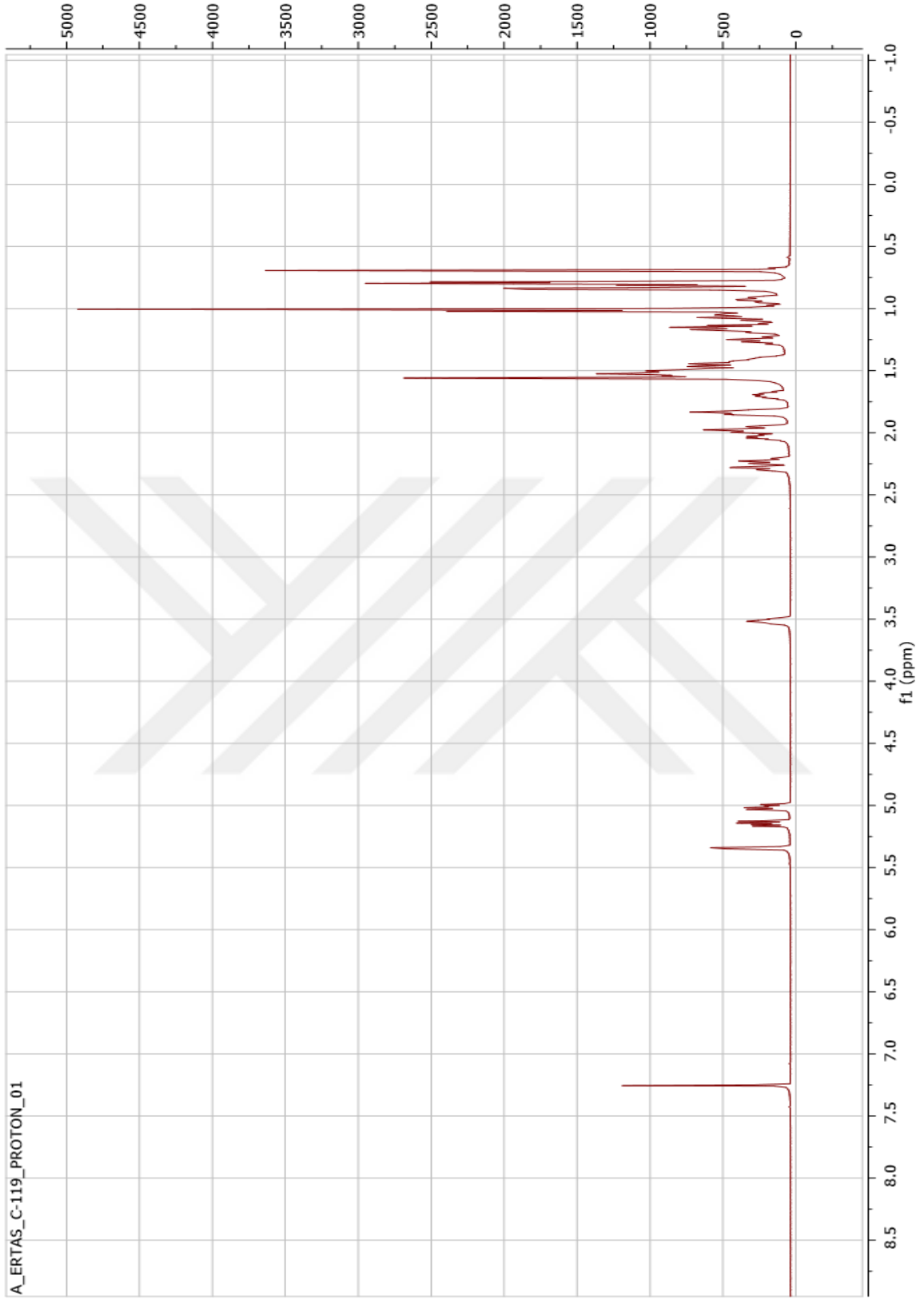
Hem kök hem de toprak üstü kısımların etanol ekstratlarından preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/9 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 56 mg civarında elde edildi (Şekil 98). Silika jel plağa uygulanıp UV’de bakıldığında görülmeyen bileşik, çeker ocakta serik sülfat belirteci püskürtülerek 105°C’de etüvde yakıldığı zaman ilk turkuaz rengi sonrasında kahverengi-kırmızı bir rengi olduğu görüldü. ¹H NMR spektrumuna bakıldığında (CDCl₃, 600 MHz) proton sinyallerinin β-sitosterol bileşiğiyle çok fazla benzediği farkedilmiştir ve metil proton sinyallerinin hepsinin aynı ppm lerde görülmesi bu bileşikte bir steroid olabileceğinin göstergesiydi. C-3 proton sinyali aynı şekilde 3,52 ppm de izlendi. C-5 ve C-6 arasındaki çift bağın bulunduğu olefinik proton sinyalinin 5,35 ppm’ de izlendi. Bu çift bağın beraberinde yapısında ikinci bir çift bağın olması δ 5,02 (dd, J=15,1 ve 8,6 Hz) ve 5,15 (dd, J=15,1 ve 8,7 Hz) de sırasıyla görülen sinyaller ile farkedildi. Bölünme biçimleri ve trans bir etkiye dikkat çeken 15 Hz lik J değerleri göz önünde bulundurulduğunda Δ⁵ stigmasteran iskeletine bu bağın konumlanacağı yerin yan zincirinde sadece Δ²² pozisyonuna yerleşmesinin gerekliliği belirlendi. ¹H NMR sinyallerinin kayma miktarları ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen [M+Na]⁺ piki m/z 435,3587’ye (C₂₉H₄₈O) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan stigmasterol (stigmastera-5,22-dien-3-ol) olduğu belirlendi ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (127). Tablo 34’da ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 99-101).



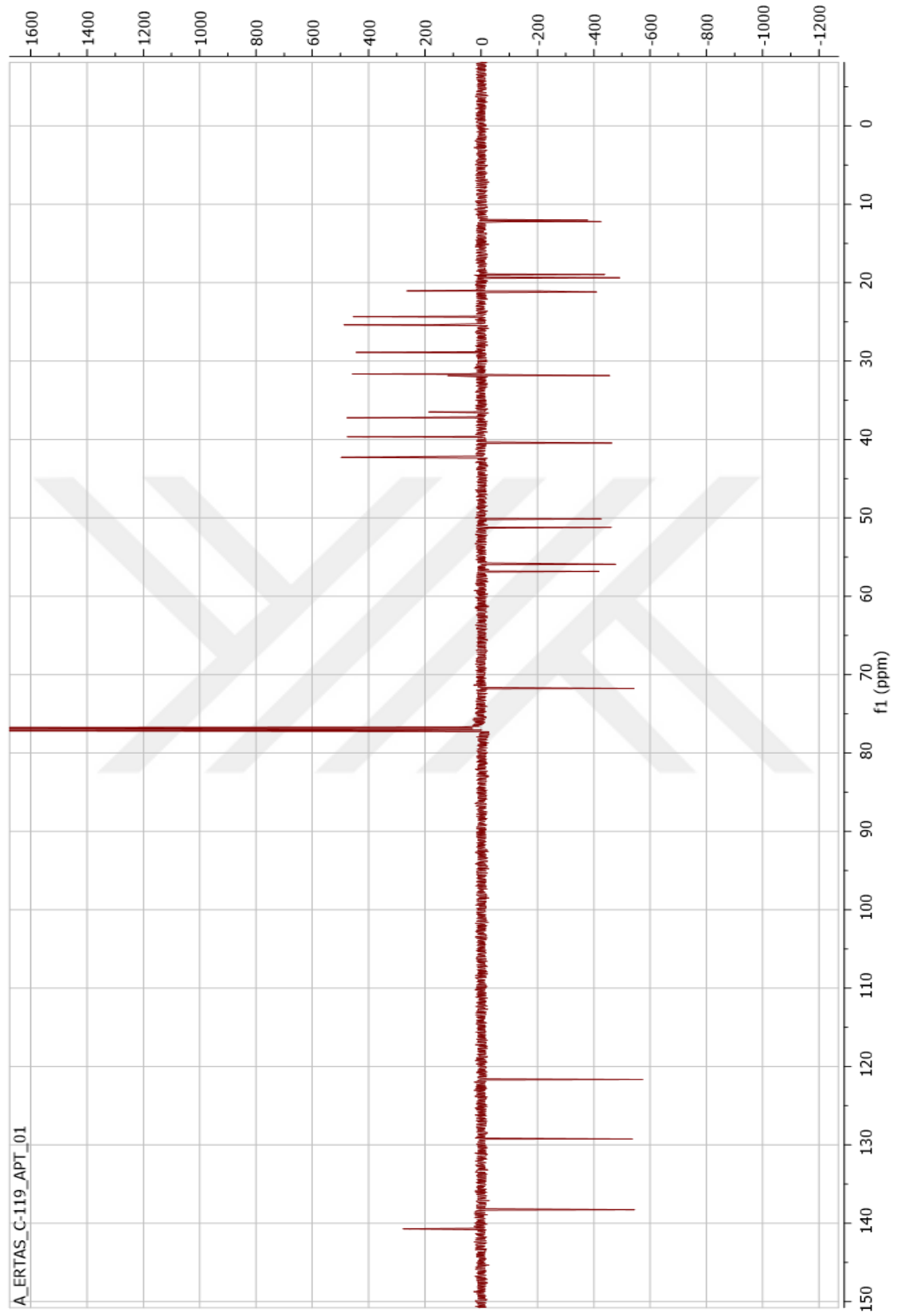
Şekil 98. Stigmasterol

Tablo 34. Stigmasterol bileşğinin NMR değerleri

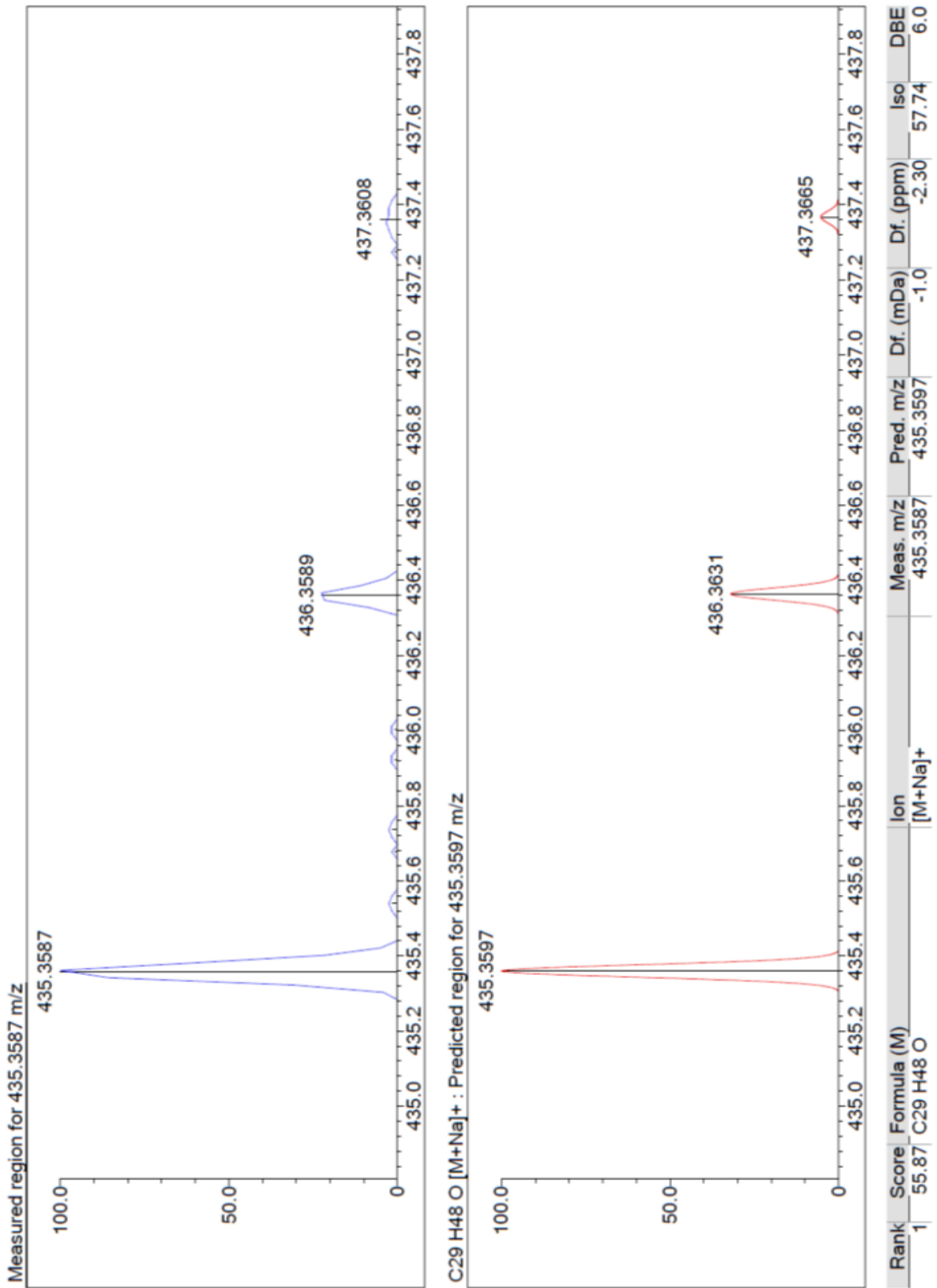
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	37,2	-
2	31,9	-
3	71,8	3,52 dt (J=11; 8,7 Hz)
4	42,3	-
5	140,7	-
6	121,7	5,35 d (J=2,5 Hz)
7	31,8	-
8	31,9	-
9	51,2	-
10	36,5	-
11	21,2	-
12	39,7	-
13	42,2	-
14	56,8	-
15	24,3	-
16	28,9	-
17	55,9	-
18	12,2	0,69 s
19	19,4	1,01 s
20	40,6	-
21	21,7	0,83 d (J=6 Hz)
22	138,3	5.02 dd (J=15,1; 8,6 Hz)
23	129,3	5.15 dd (J=15,1;8,7 Hz)
24	50,1	-
25	31,9	-
26	21,1	0,81 d (J=6 Hz)
27	19,0	0,84 d (J=6 Hz)
28	25,4	-
29	12,1	0,97 t (J=8,6 Hz)



Şekil 99. Stigmasterol bileşğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



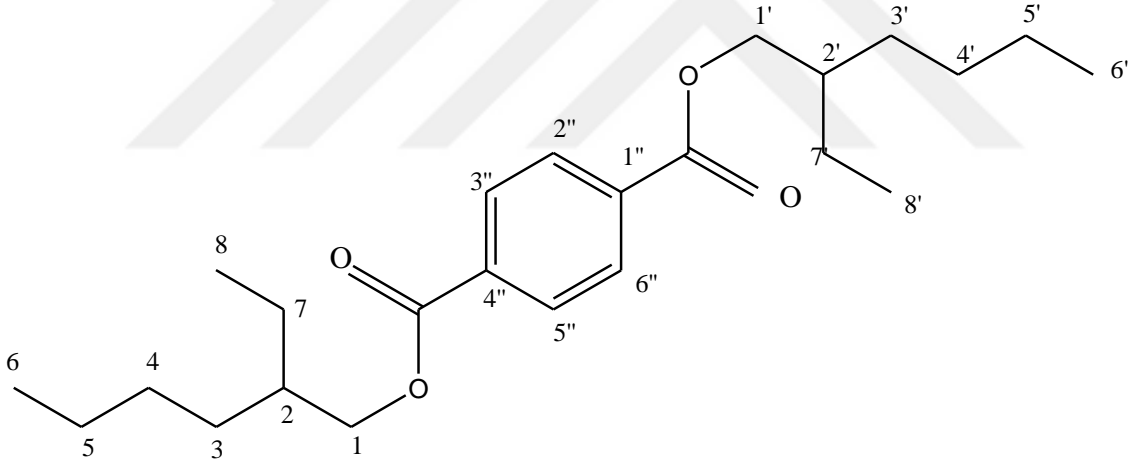
Şekil 100. Stigmasterol bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 101. Stigmasterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.16. Bis(2-etilhekzil) tereftalat

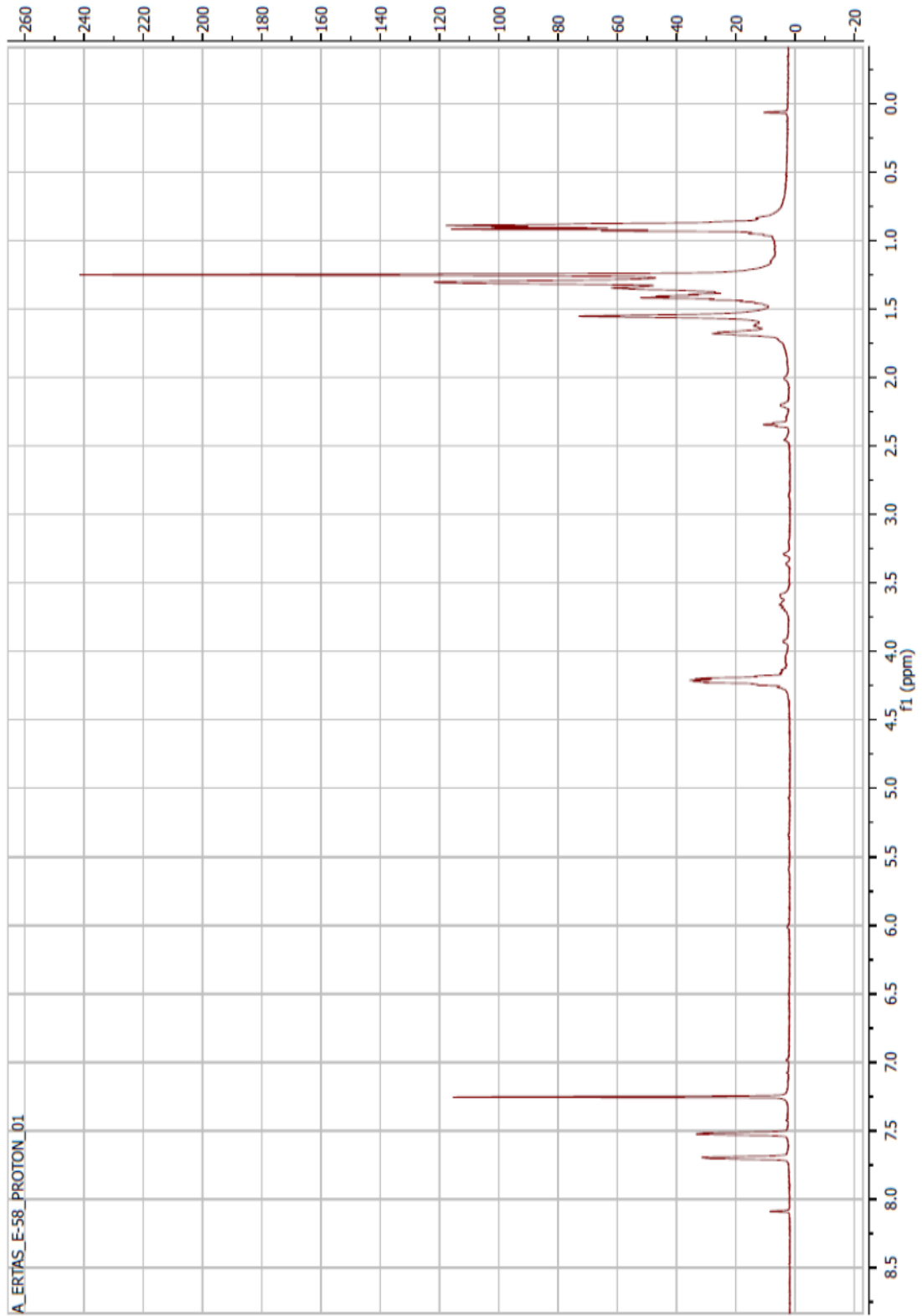
Hem kök hem de toprak üstü kısımların etanol ekstrelerinin çok sayıda fraksiyonundan preparatif ince tabaka kromatografisiyle petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 210 mg olarak elde edildi (Şekil 102). Silika jel plakta UV lambasında (254 nm) bakıldığında açık mor görülen madde serik sülfat belirteci çeker ocak altında püskürtülerek etüvde yakıldığında (105°C) önce sarı renk aldığı bekleyince mor renge dönüştüğü görüldü. ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) spektrumunda 8,09 m (4H, H-2, 3, 5 ve 6, 4,26 (4H, pentet, J = 5,86 Hz) H-1' ve H-1'', 1,56 (2H, m) H-2' ve H-2'', 1,33-1,46 (8 CH₂, m), 0,93 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-6' ve Me-6'', 0,89 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-8' ve Me-8'' pikleri izlendi. ¹H ve ¹³C NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF ta izlenen M+H piki *m/z* 391.2844 (C₂₄H₃₈O₄) ne dayanarak bu bileşiğin bis(2-etilhekzil) tereftalat olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Tablo 35) kıyaslanarak yapı doğrulandı (113) (Şekil 103-107).



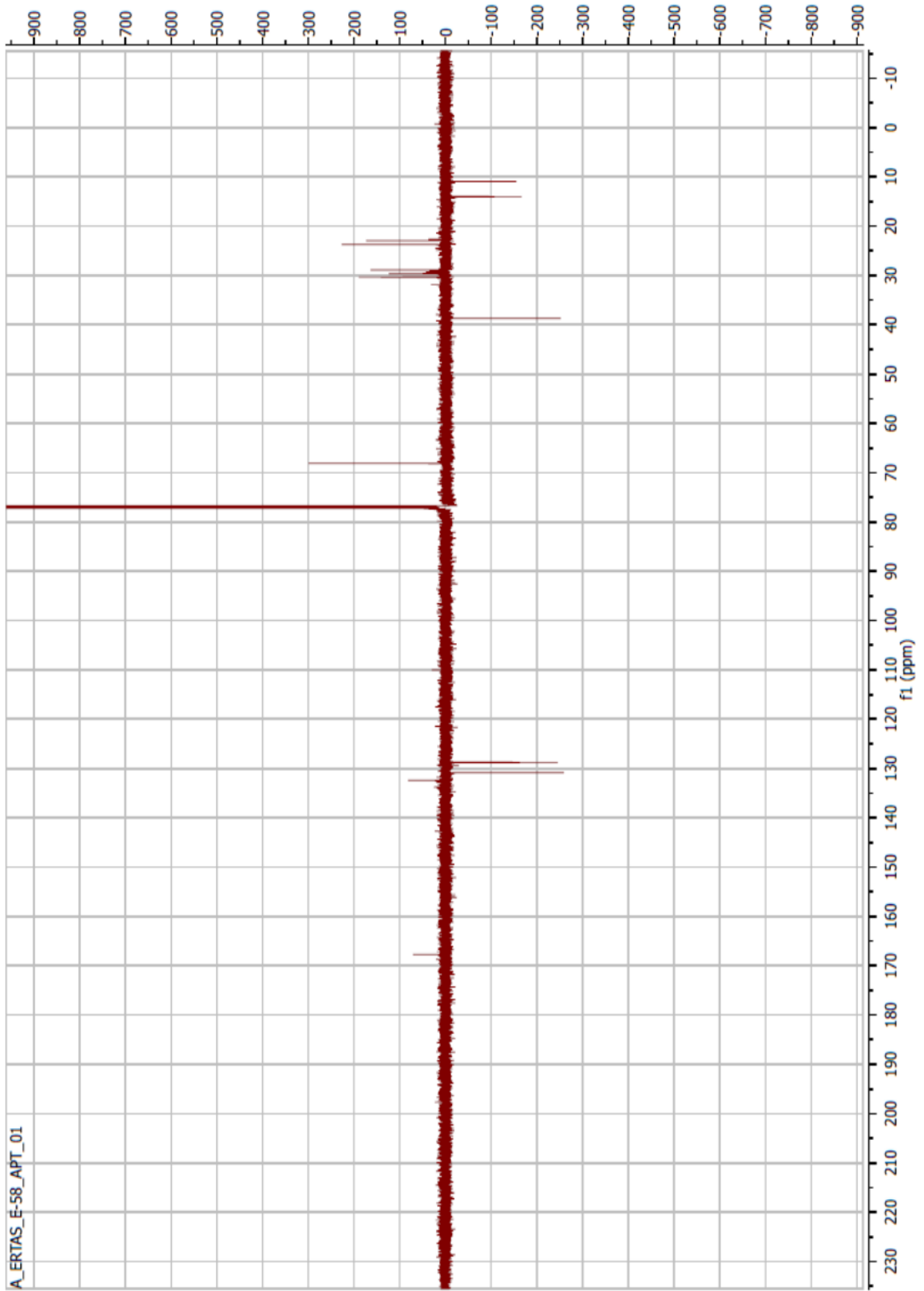
Şekil 102. Bis(2-etilhekzil) tereftalat

Tablo 35. Bis(2-etilhekzil) tereftalat bileşığının NMR değerleri

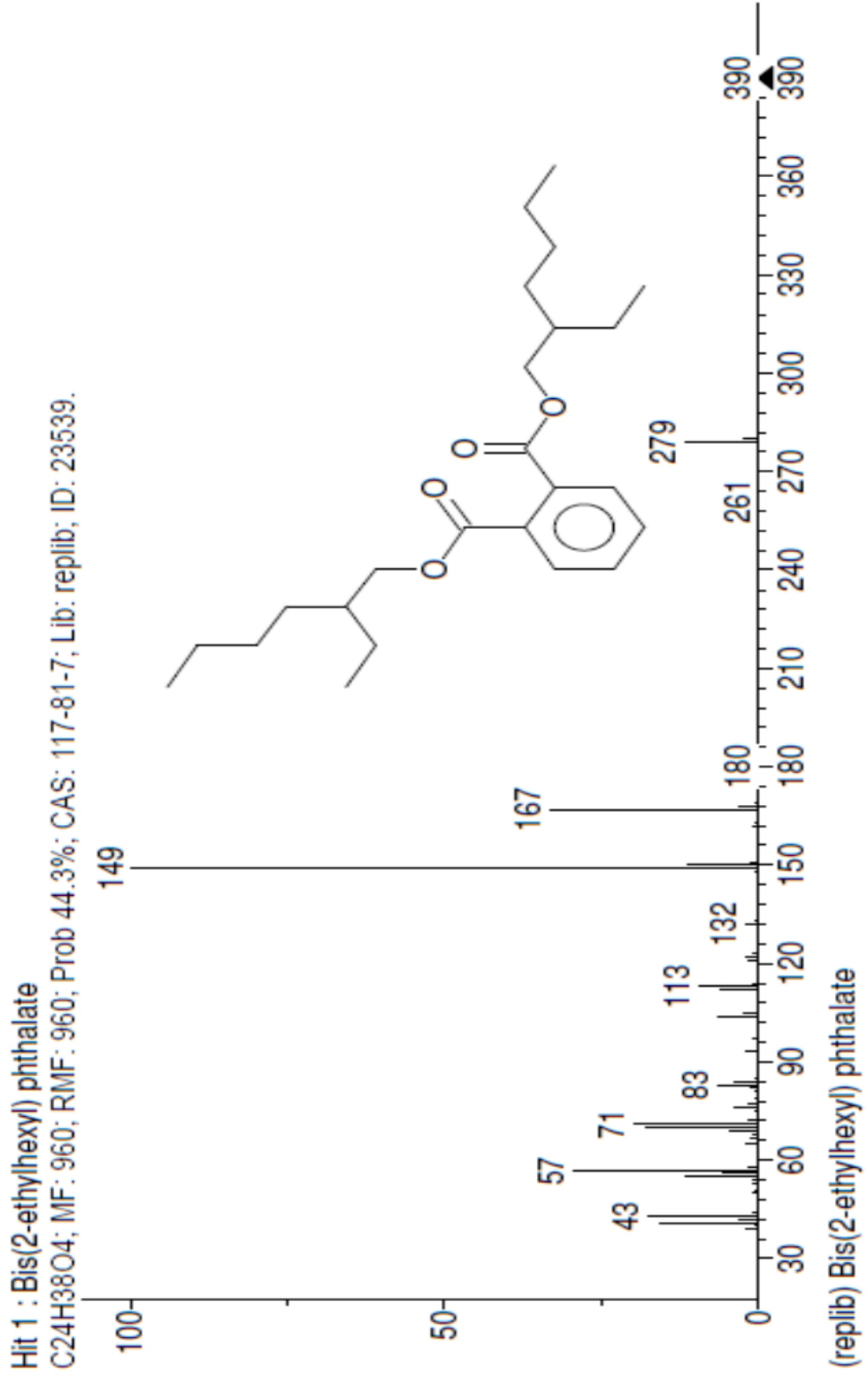
Pozisyon	¹ H-NMR
1	-
2	8,09 m
3	8,09 m
4	8,09 m
5	8,09 m
6	8,09 m
7	-
8	-
1`	4,26 pentet (J = 5,86Hz)
2`	1,56 m
3`	1,33-1,46 m
4`	1,33-1,46 m
5`	1,33-1,46 m
6`	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7`	1,33-1,46 m
8`	0,89 t (J = 5,00 Hz)
1``	4,26 pentet (J = 5,86Hz)
2``	1,56 m
3``	1,33-1,46 m
4``	1,33-1,46 m
5``	1,33-1,46 m
6``	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7``	1,33-1,46 m
8``	0,89 t (J = 5,00 Hz)



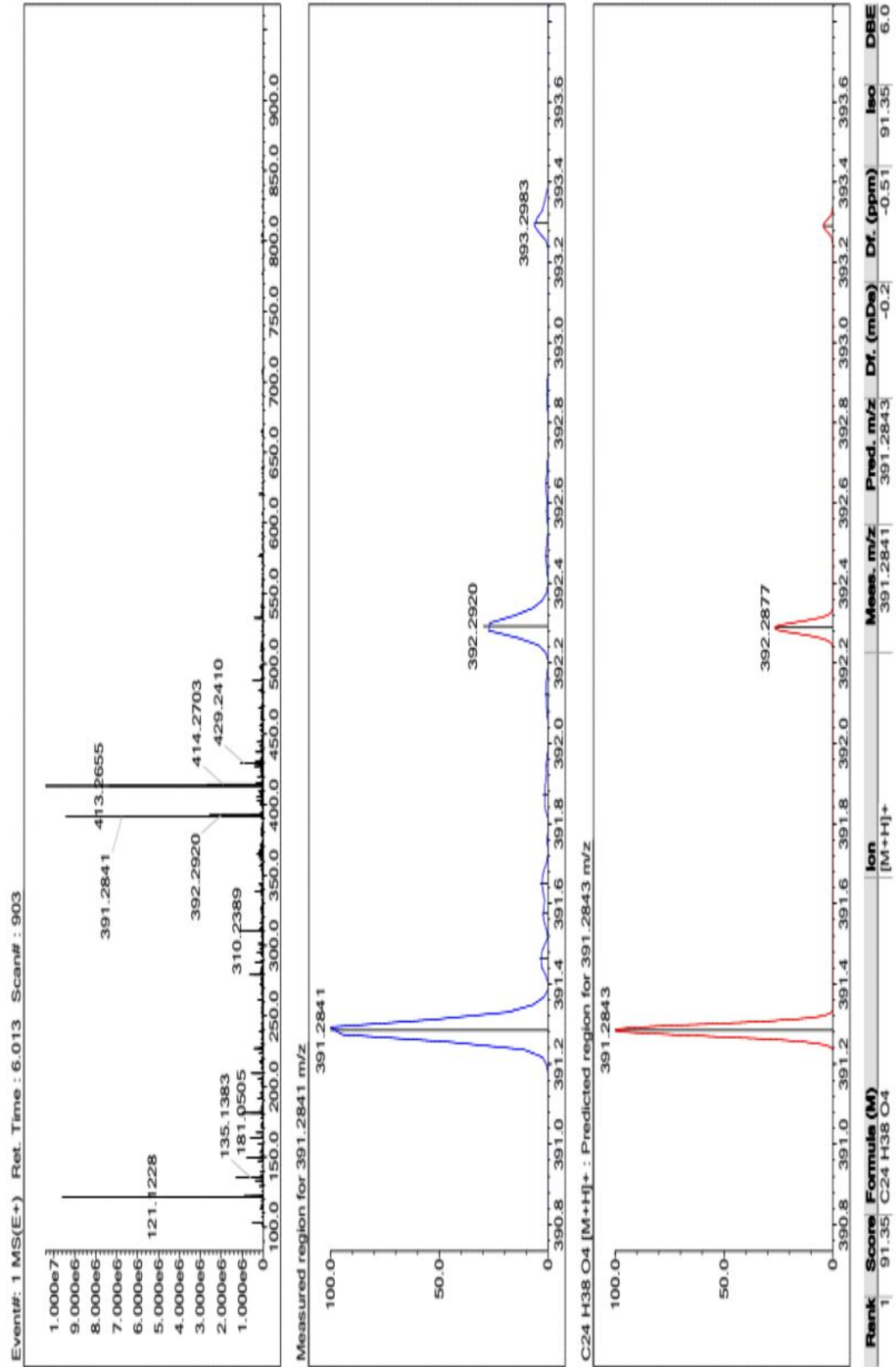
Şekil 103. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 104. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin APT spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



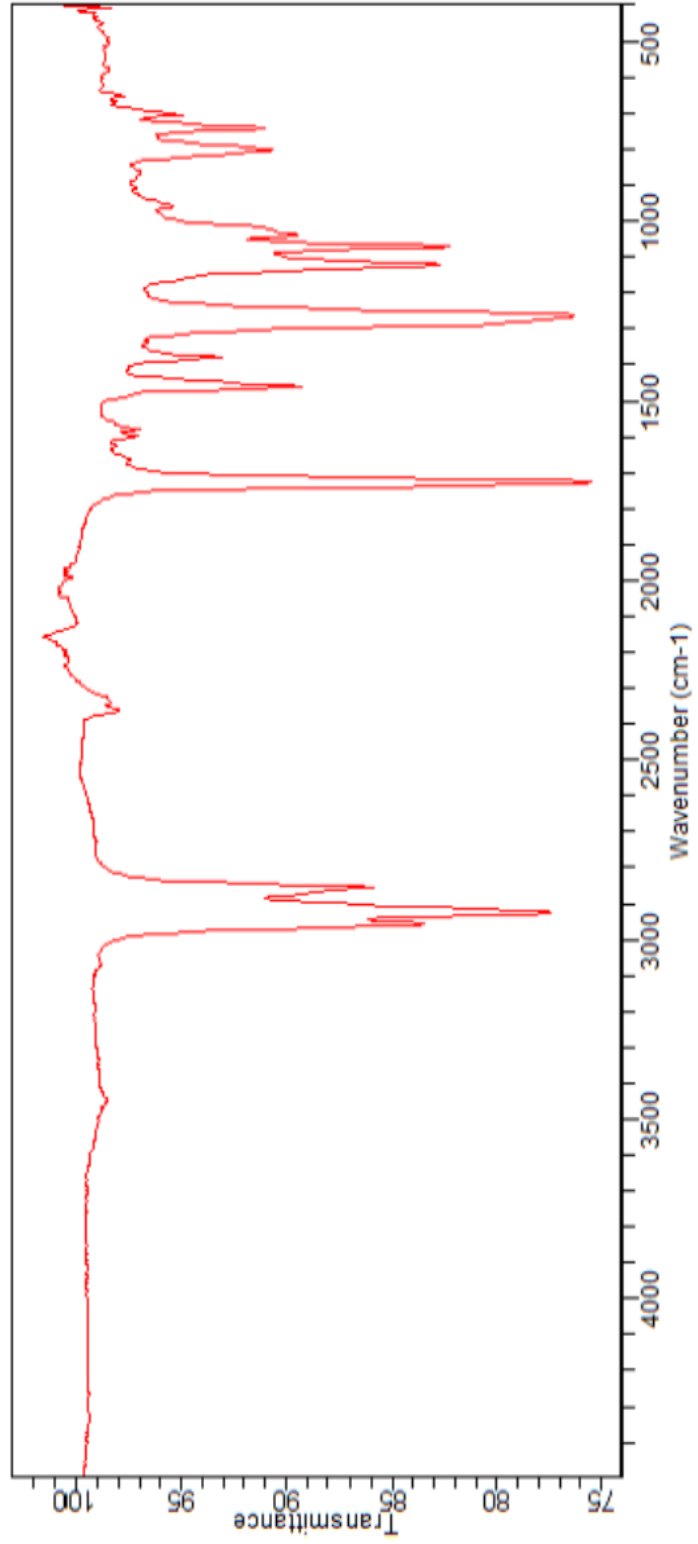
Şekil 105. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 106. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:E-21
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\E-21_2018-05-10T14-15-21.a2r

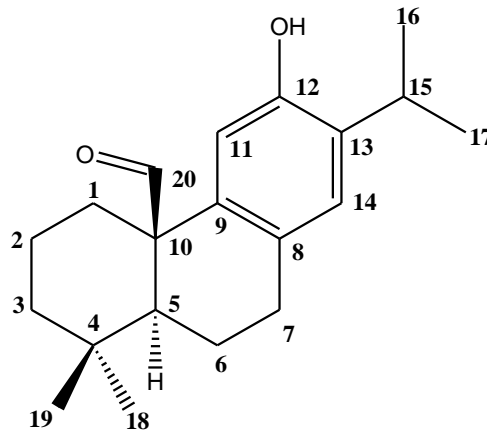
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 2:15:21
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 107. Bis(2-etilheksil) tereftalat bileşiğinin IR spektrumu

5.7.17.Pisiferal

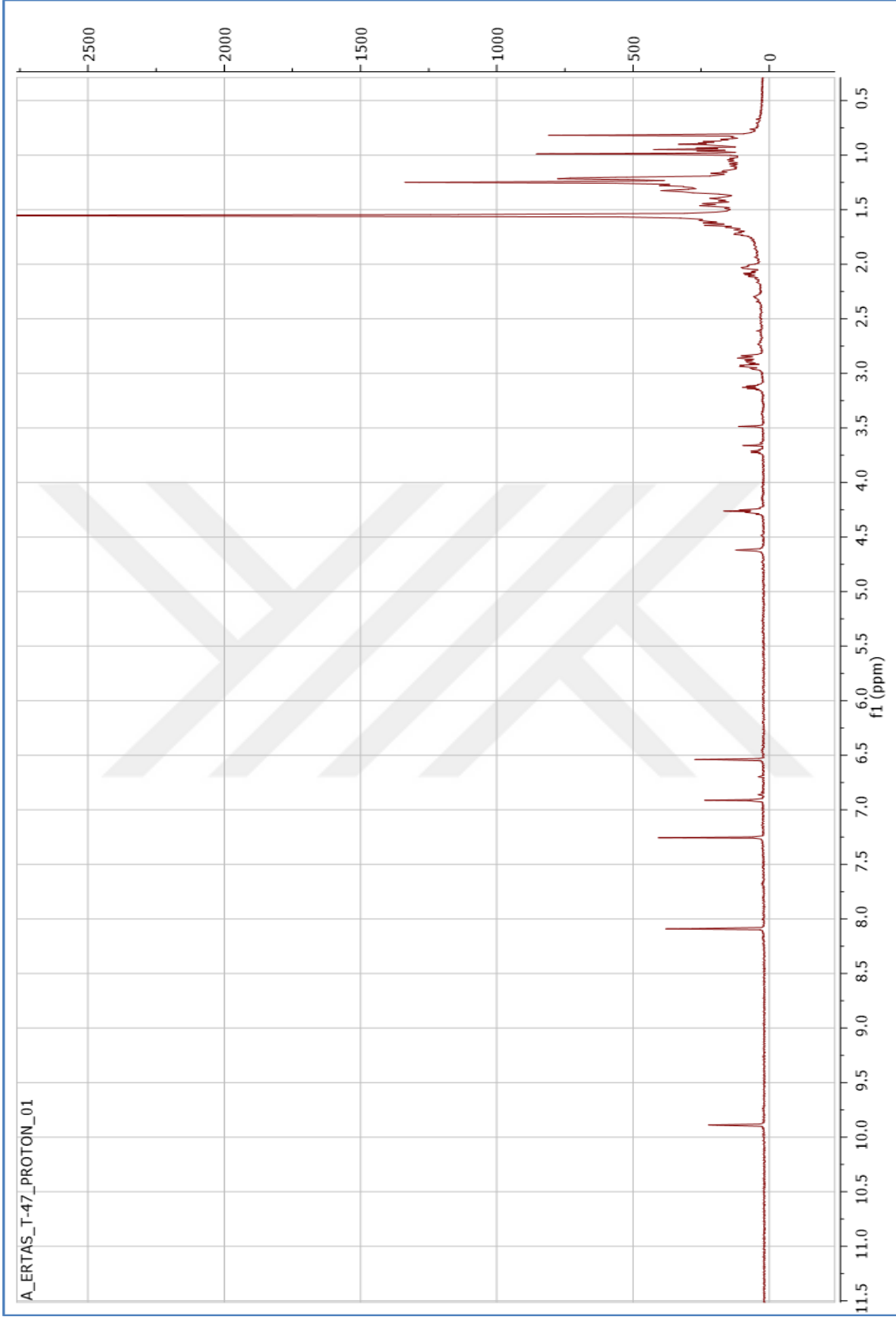
Salvia pseudeuphratica'nın kök etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde yaklaşık 1,76 mg elde edilmiştir (Şekil 108). ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 600MHz) iki metil sinyali 0,82 ve 0,99 ppm de singletler şeklinde ve iki metil sinyali dubletler şeklinde 1,21 ve 1,22 ppm de görülmüştür. Spektrumda 3,13 ppm de görülen metin sinyalinin bu iki metil dubletiyle oluşturduğu etkileşmesi neticesinde septet şeklinde görülmesiyle bir isopropil grubunun olduğu belirlendi. 6,54 ve 6,91 ppm de görülen singlet sinyalleri halkada aromatic yapının olması ihtimalini güçlendirdi. ^1H NMR'da diğer tipik sinyaller 2,8 ppm dolayında izlenmiştir. Bunlardan 2,87 ppm' de görülen ddd ($J=7,5;10;15$ Hz) ve 2,82 ppm de multipllet benzilik metilen (CH_2-7) proton çiftine işaret etmiştir. Ayrıca bu bileşiği ferruginol bileşiğinden ayıran karakteristik pik olan aldehit protonu ise 9,89 ppm'de singlet şeklinde izlenmiştir. GC-MS kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) ye karşılık gelen m/z 300' de izlenmiştir. ^1H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}-\text{H}]^-$ piki m/z 299,1985'e ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) dayanarak bu bileşiğin pisiferal olduğu saptanmıştır ve NMR değerleri (Tablo 36) literatür değereleri ile kıyaslanarak yapı doğrulanmıştır (128) (Şekil 109-113).



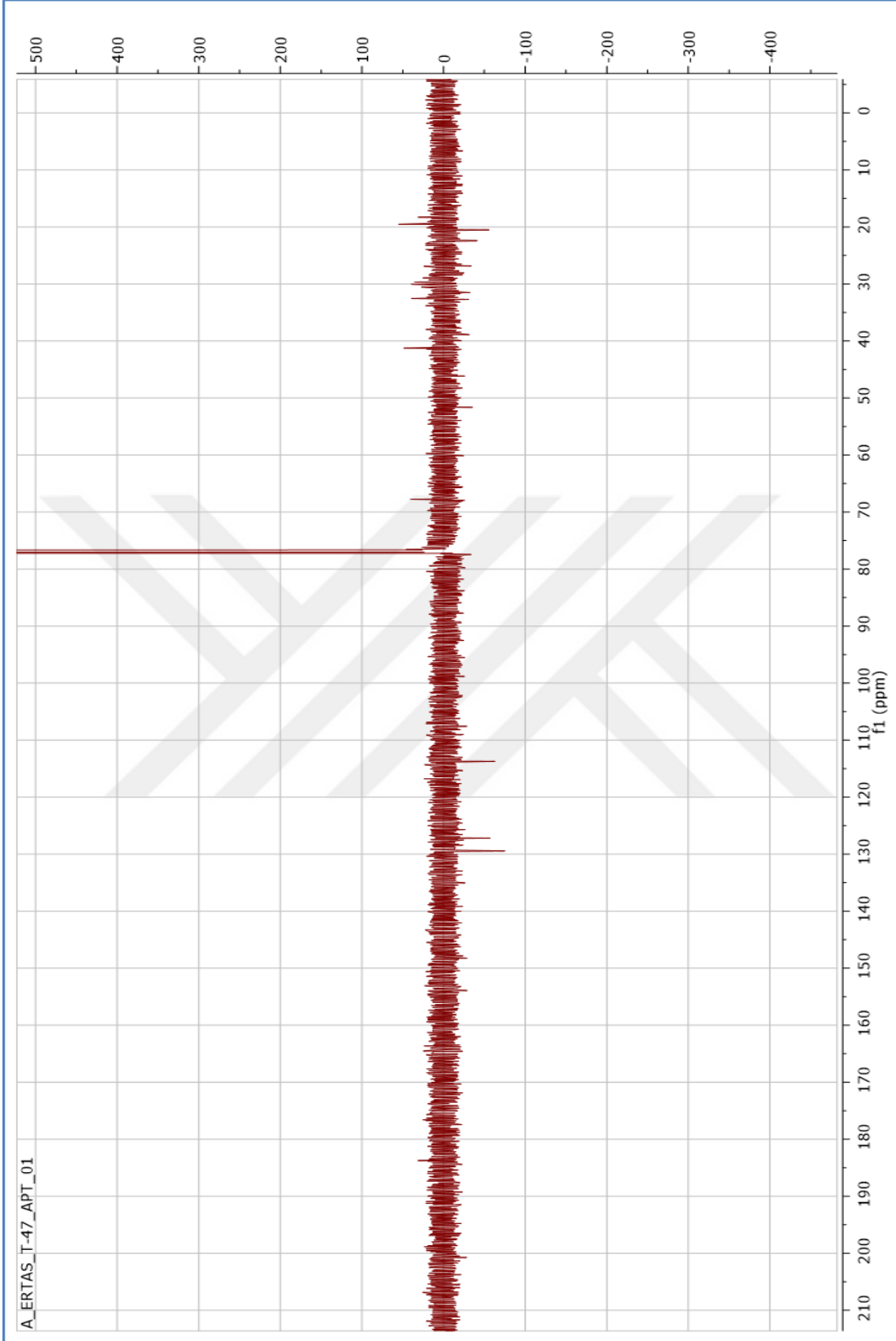
Şekil 108. Pisiferal

Tablo 36. Pisiferal Bileşğinin NMR Değerleri

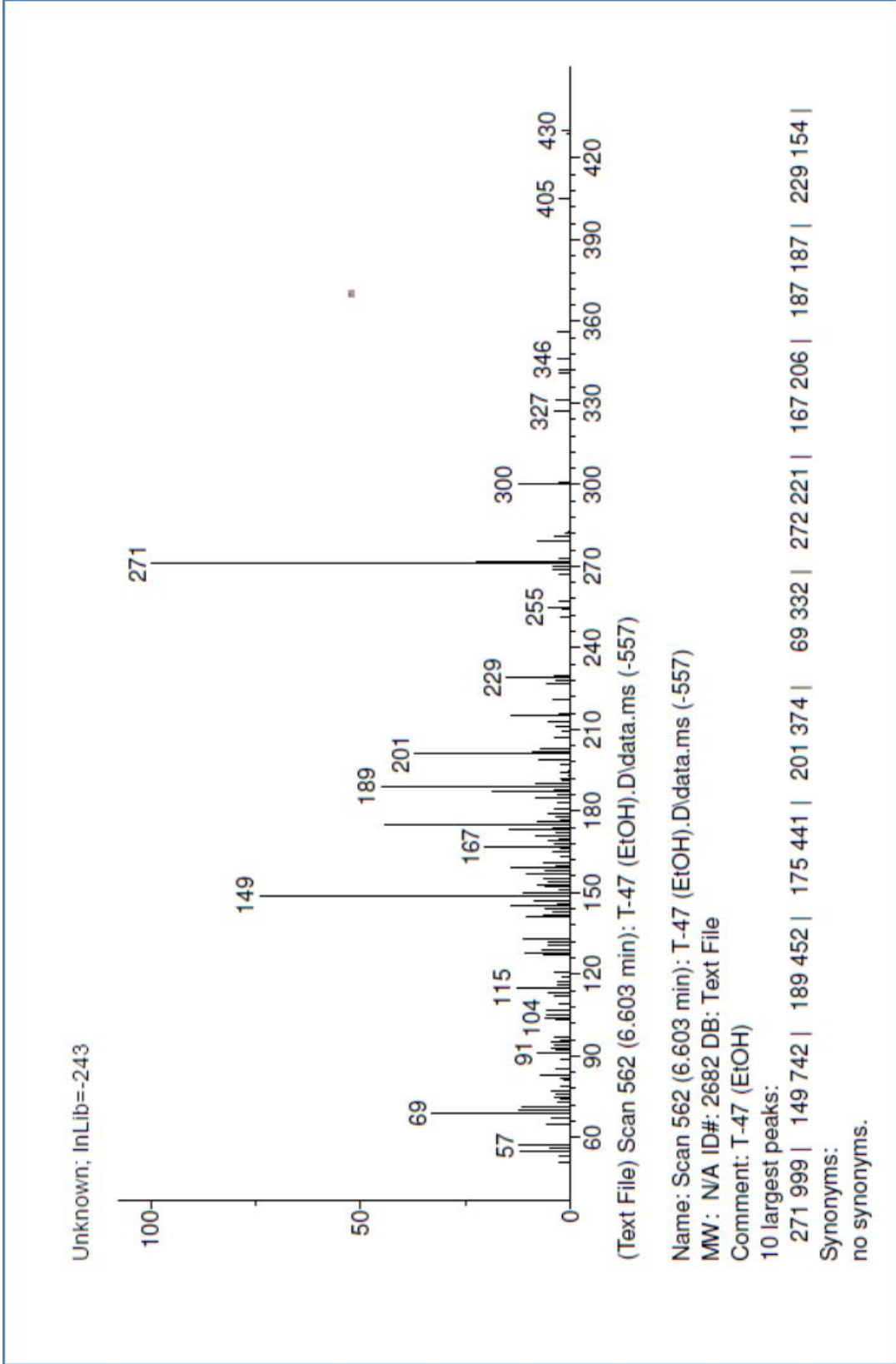
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	38,5	a 1,32 m b 2,11 dt (J=12,1; 3,8,0; - Hz)
2	18,3	-
3	41,4	-
4	-	-
5	51,2	-
6	19,4	-
7	29,7	a 2,82 ddd (J=15,0; 10,0; 7,5 Hz) b 2,87 ddd (J=15,0; 6,2; - Hz)
8	-	-
9	-	-
10	-	-
11	113,7	6,54 s
12	-	-
13	-	-
14	129,4	6,91 s
15	26,5	3,13 sept (J=7 Hz)
16	22,9	1,22 d (J=6,7 Hz)
17	22,5	1,21 d (J=6,7 Hz)
18	33,4	0,99 s
19	21,6	0,82 s
20	183,7	9,89 s
12-OH	-	4,62 s



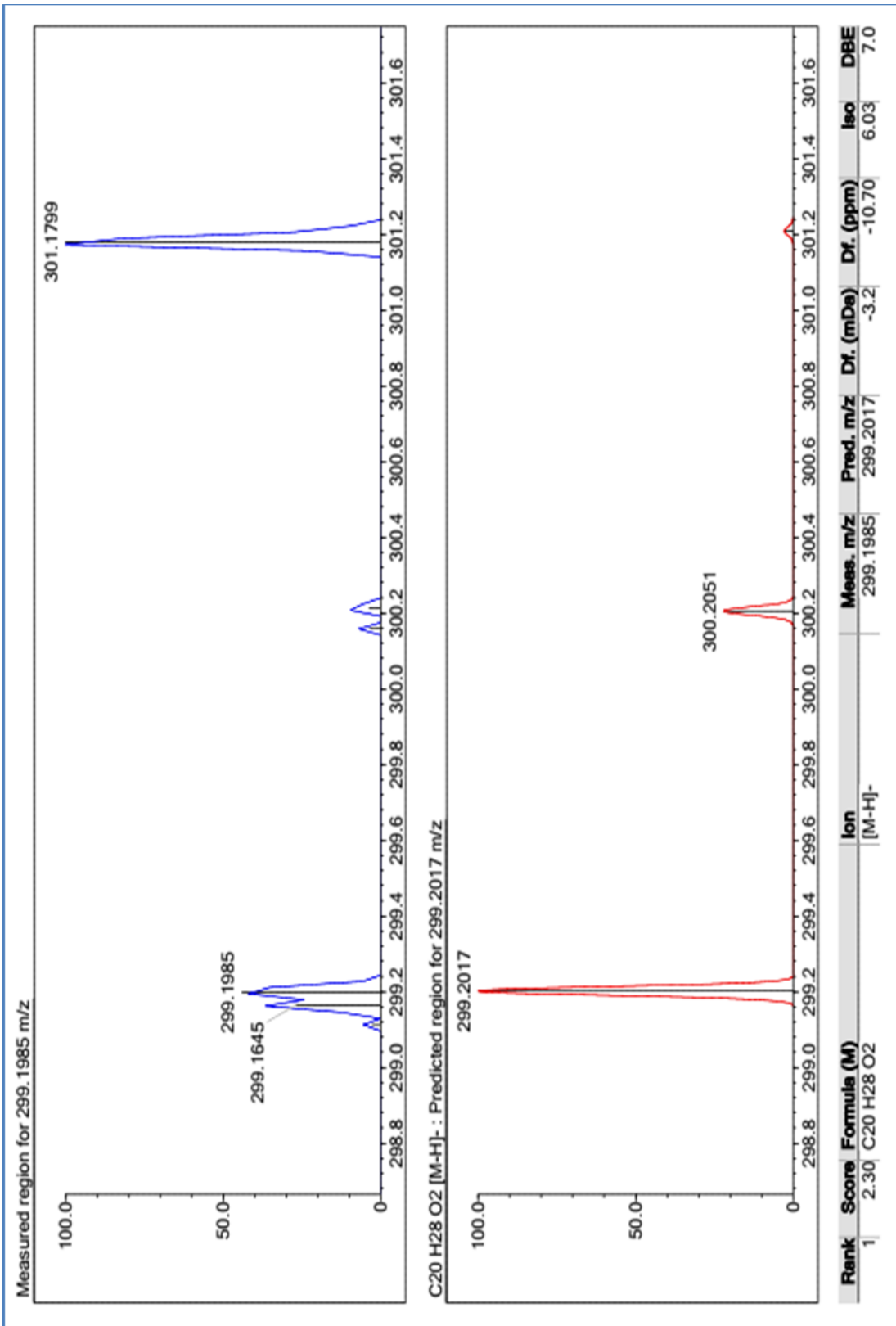
Şekil 109. Pisiferal Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 110. Pisiferal Bileşiginin APT Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 111. Pisiferal Bileşiğinin GC-MS Spektrumu



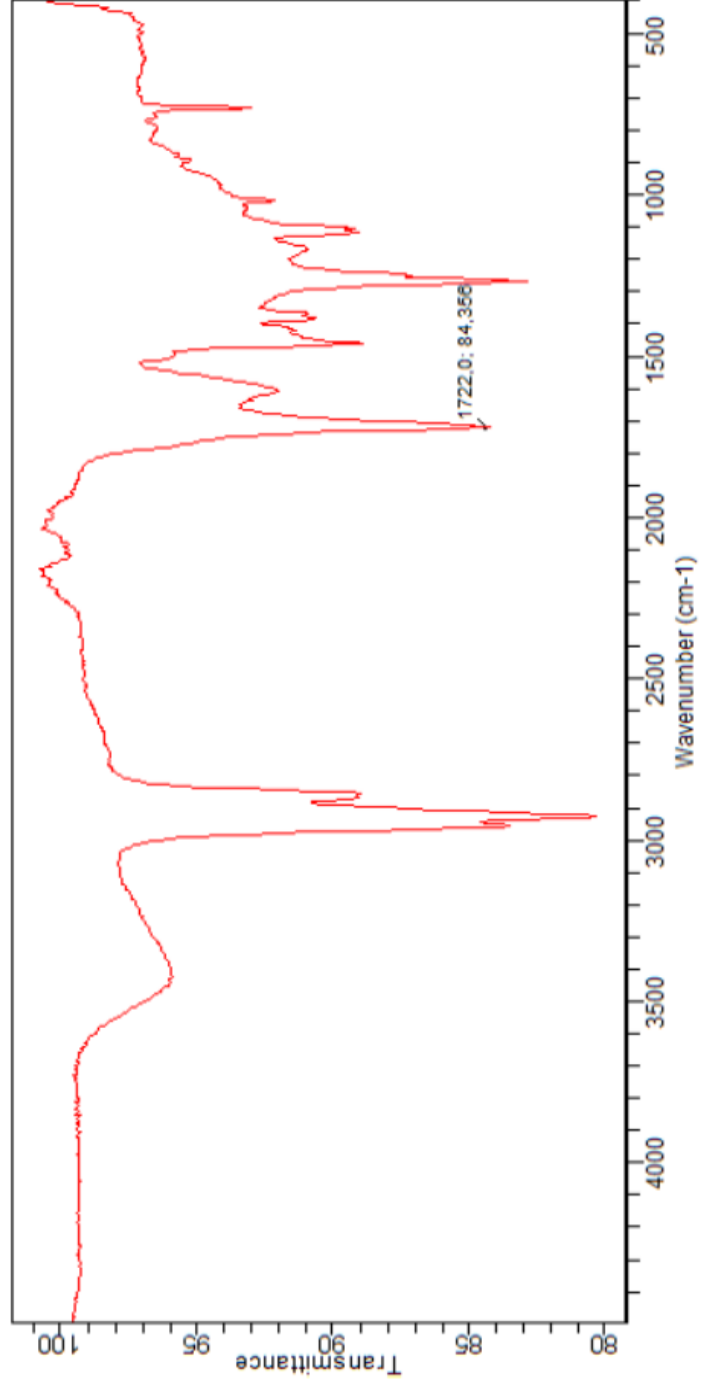
Şekil 112. Pisiferal Bileşiğinin LC-MS-IT-TOF Kromatogramı

Sample ID:T-47
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\T-47_2018-05-10T14-29-49.a2r

Method Name:zeynep
User:Admin

Date/Time:05.10.2018 2:29:49
Range:4500 - 400

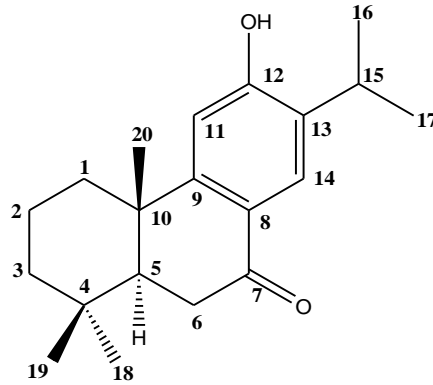
Apodization:Triangular
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\T-47_2018-05-10T14-29-49.a2r



Şekil 113. Pisiferal Bileşiğinin IR Spektrumu (Etanol)

5.7.18. Sugiol

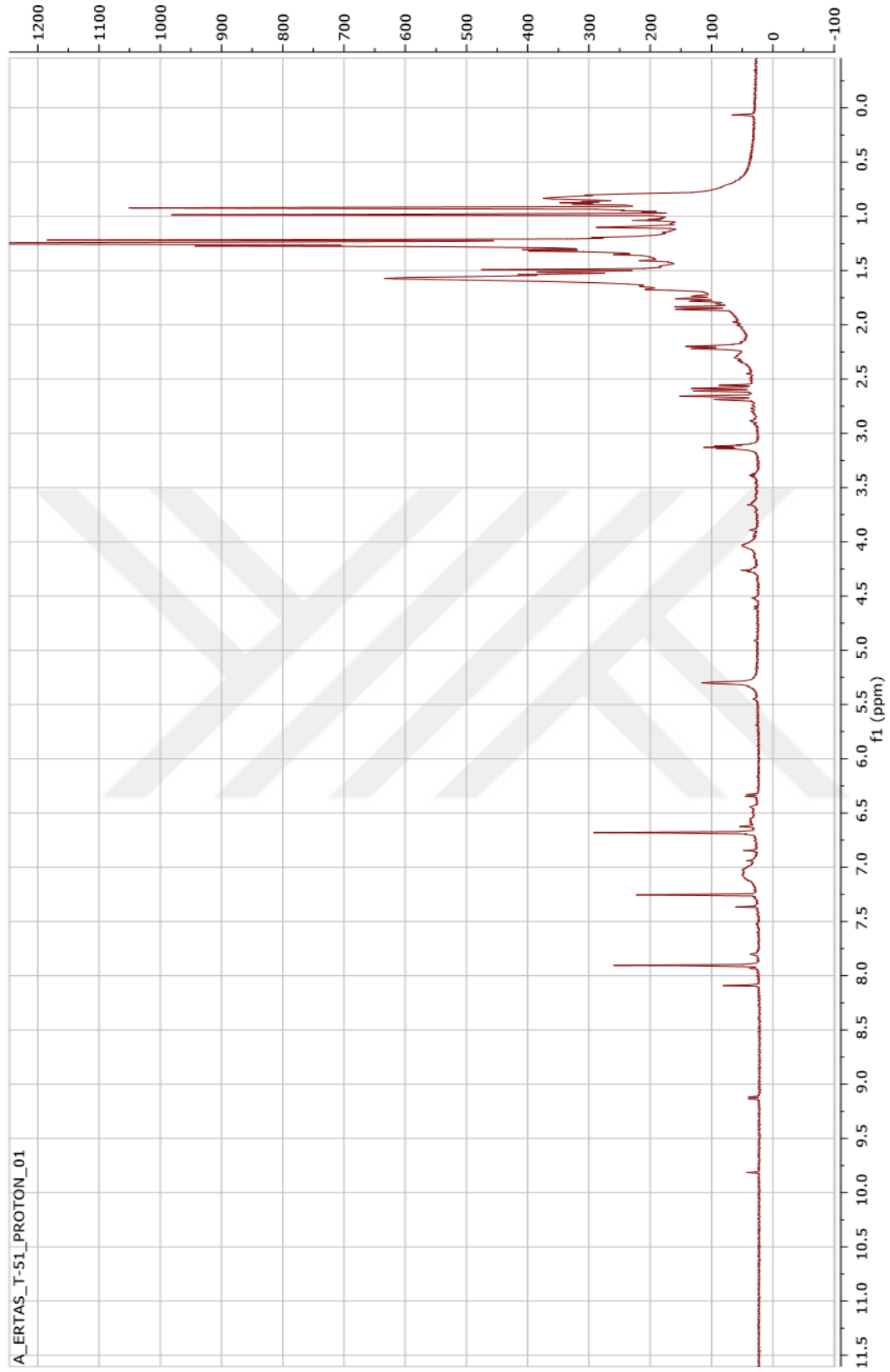
Kök etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile petroleteri/diklorometan:1/9 çözücü sisteminde yaklaşık 14 mg elde edildi (Şekil 114). ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) spektrumunda üç metil sinyali 0,92, 0,99 ve 1,22 ppm de singletler şeklinde olup iki metil sinyali dubletler şeklinde 1,25 ve 1,27 ppm ($J=7,1$ Hz) de görüldü. Spektrumda 3,13 ppm de görülen metin sinyalinin iki metil dubletiyle oluşturduğu etkileşim neticesinde septet şeklinde görülmesiyle bir isopropil grubunun olduğu ortaya çıktı. 6,68 ve 7,91 ppm de görülen singlet sinyalleri halkadaki aromatikliğin varoluşunu güçlendirdi. ^1H NMR'da 2,68 ppm' de izlenen dd ($J=1,8;13$ Hz) H-1 ve 2,59 ppm de dd keto grubuna komşu proton çiftine (H-6) işaret etti. Keton grubunun varlığı nedeniyle H-14 ferruginol'den (6,83 ppm) farklı olarak daha aşağı alanda (7,91 ppm) izlendi. Kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) ye karşılık gelen m/z 300'de ayrıca M- CH_3 pikide 285'te izlendi, ^1H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{H}]^+$ piki m/z 301.2165'e ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) dayanarak bu bileşiğin sugiol olduğu saptandı ve NMR değerleri (Tablo 37) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (129) (Şekil 115-119).



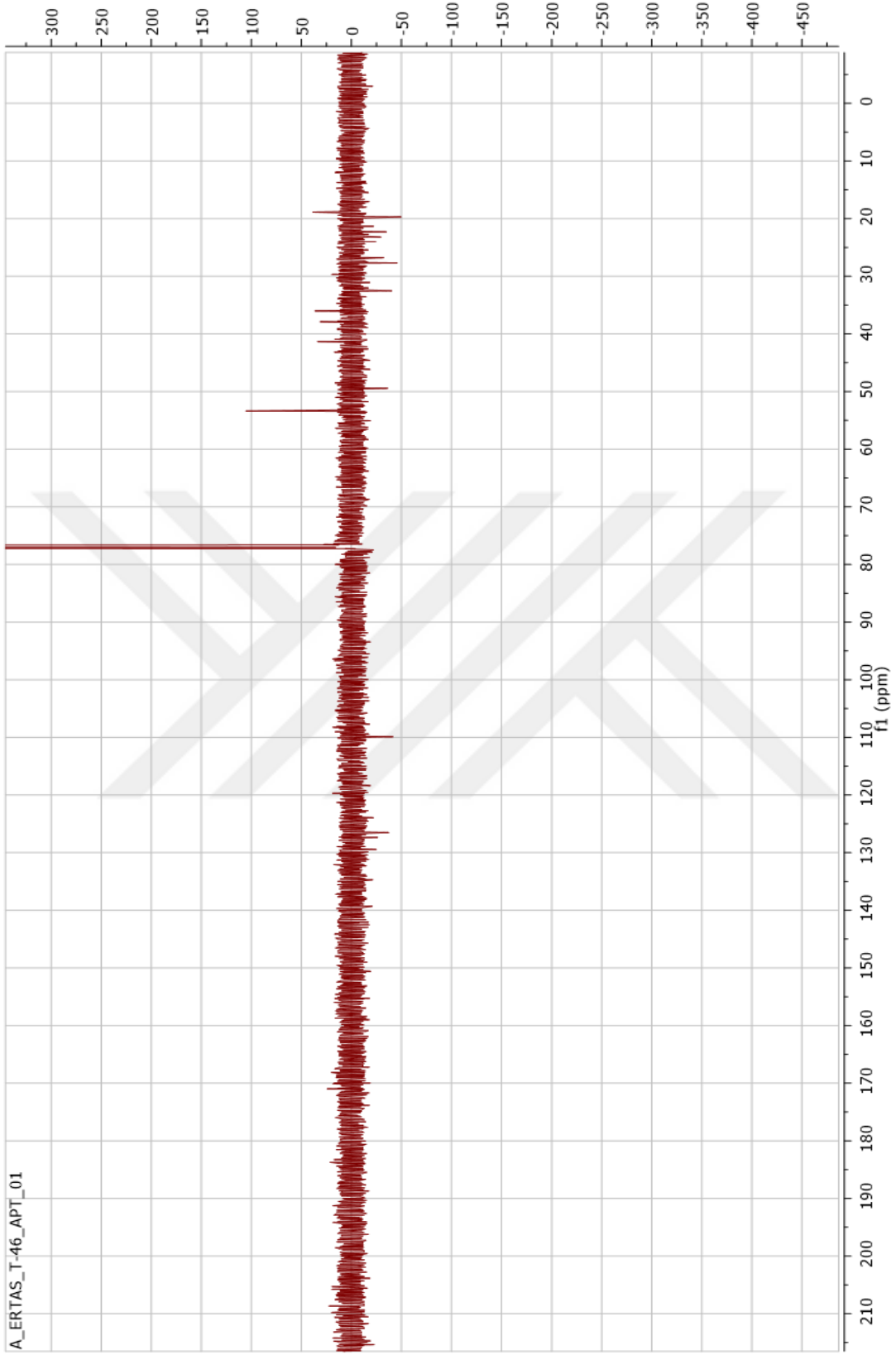
Şekil 114. Sugiol

Tablo 37. Sugiol bileşinin NMR değerleri

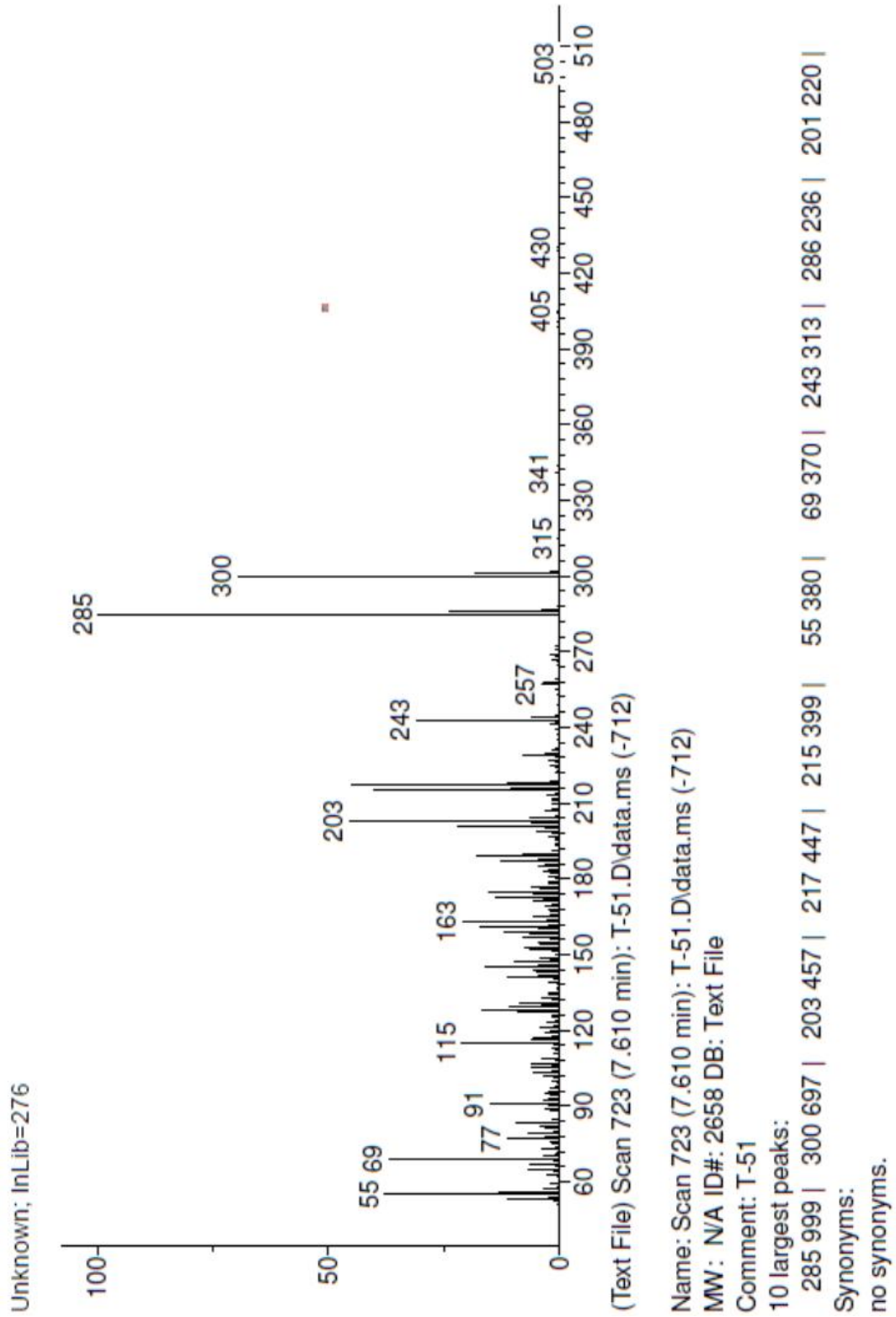
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	38,5	1,56 dd (J=1,8; 13 Hz) 2,68 dd (J=1,8; 13 Hz)
2	19,1	-
3	40,9	-
4	33,5	-
5	50,2	-
6	19,3	2,59 dd
7	209,3	-
8	124,6	-
9	154,8	-
10	38,0	-
11	110,9	6,68 s
12	160,3	-
13	133,7	-
14	126,6	7,91 s
15	26,7	3,13 septet (J=7,0 Hz)
16	22,6	1,25 d (J=7,1 Hz)
17	22,3	1,27 d (J=7,1 Hz)
18	33,4	1,22 s
19	21,5	0,92 s
20	24,8	0,99 s
12-OH	-	5,30 s



Şekil 115.Sugiol bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 116. Sugiol bileşiğinin APT s spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



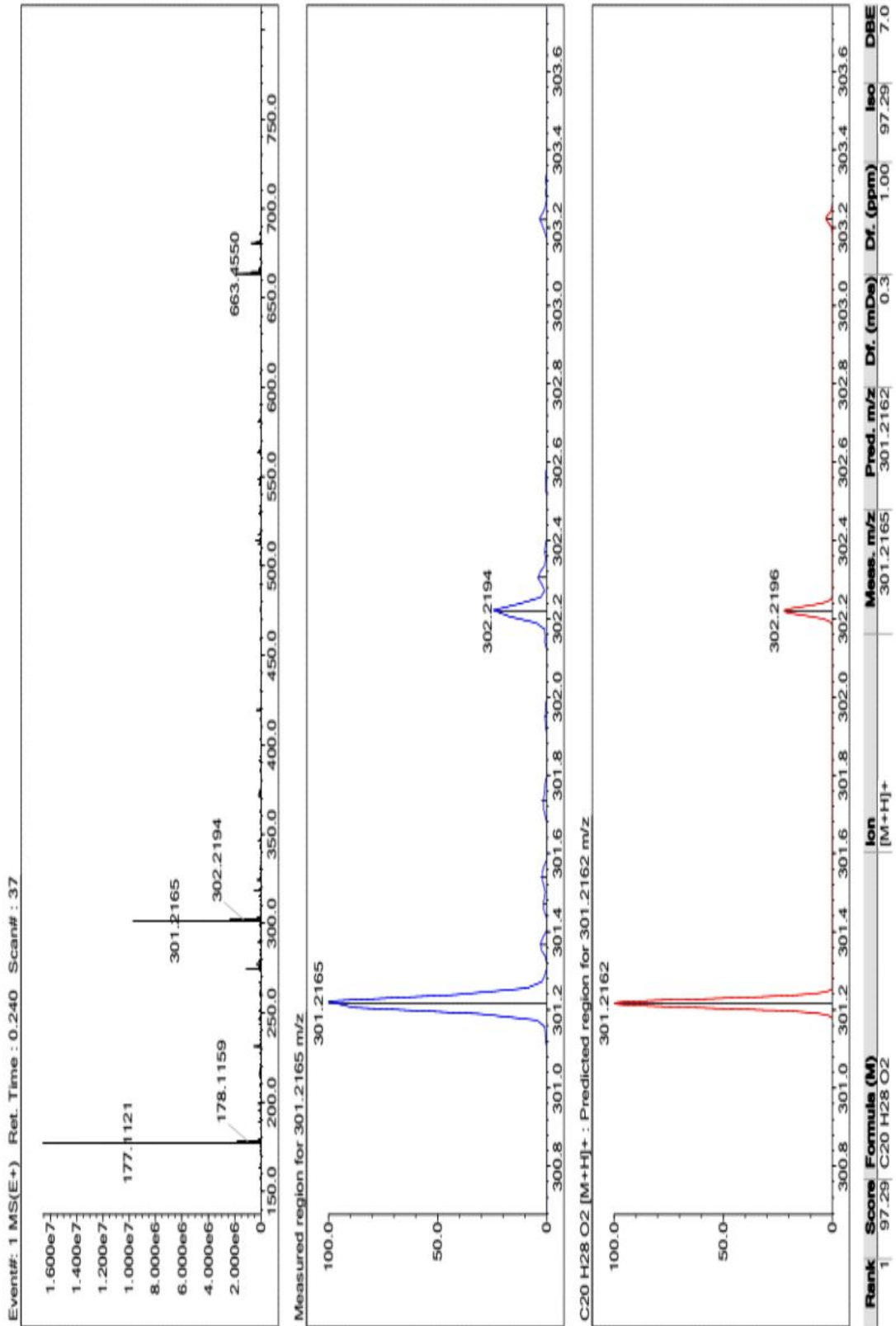
Şekil 117.Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-1

Hit 1 : 9(1H)-Phenanthrenone, 2,3,4,4a,10,10a-hexahydro-6-hydroxy-1,1,4a-trimethyl-7-(1-methylethyl)-, (4aS-trans)-
 C20H28O2; MF: 904; RMF: 938; Prob 91.4%; CAS: 511-05-7; Lib: replib; ID: 32235.



(replib) 9(1H)-Phenanthrenone, 2,3,4,4a,10,10a-hexahydro-6-hydroxy-1,1,4a-trimethyl-7-(1-methylethyl)-, (4aS-trans)-

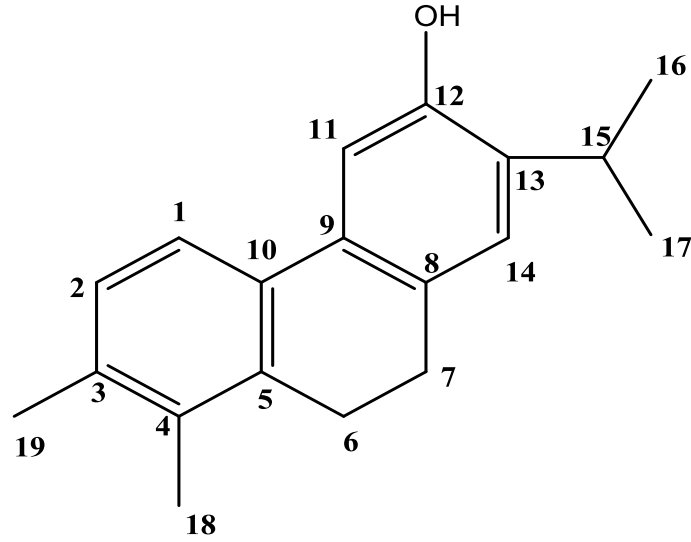
Şekil 118. Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-2



Şekil 119. Sugiöl bileşğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.19.12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen

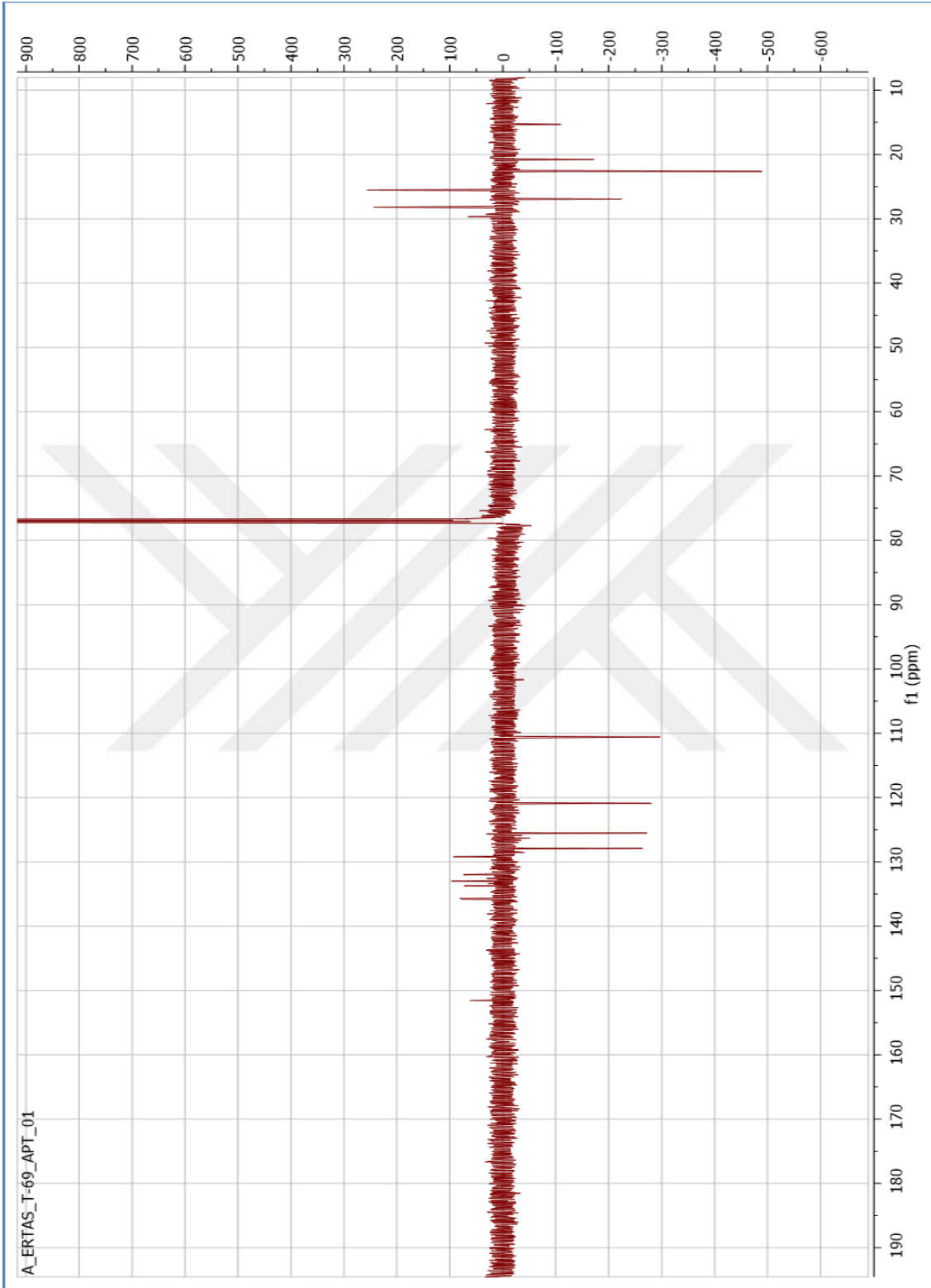
Salvia pseudeuphratica'nın kök etanol ekstresinden elde edilmiştir. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde yaklaşık 15 mg açık turuncu kristal şeklinde elde edilmiştir (Şekil 120). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 7.43-7.03 ppm'de 4 aromatik proton, δ 2.83-2.76 ppm'de 2'şer protonluk metilen, 2.32 s (3H), 2.25 s (3H), 1.29 d (J= 6.2 Hz, 6H) 4 metil grubu izlendi. δ 3.21 sept (J= 6.6 Hz) ppm'de izlenen proton yarılmasından da görüleceği üzere yapıda bir izopropil yapısının olabileceğini gösterdi. Ayrıca δ 4.61 brs ppm'de OH protonu izlendi. Proton spektrumuna tek başına değerlendirildiğinde yapının 4 metil grubu, 1 OH grubu, 4 aromatik proton ve 2 metilen grubu içeren flavon veya fenantren yapısı olabileceği düşünüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 4 metil, 2 metilen, 5 metin, 8 katerner karbon izlendi. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 265.1411 [M-H]⁻ piki C₁₉H₂₂O kapalı formülü olduğu düşünüldü. Literatürde bulunan spektral değerlerle mukayese edildiğinde NMR değerleri Tablo 38'de verilen bu bileşiğin daha önce bir *Salvia* türünden izole edilen 12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen olduğu görüldü (130) (Şekil 121-126).



Şekil 120. 12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen

Tablo 38. 12-Hidroksi abieta-1,3,5(10),8, 11, 13-hekzaen Bileşiminin NMR Değerleri

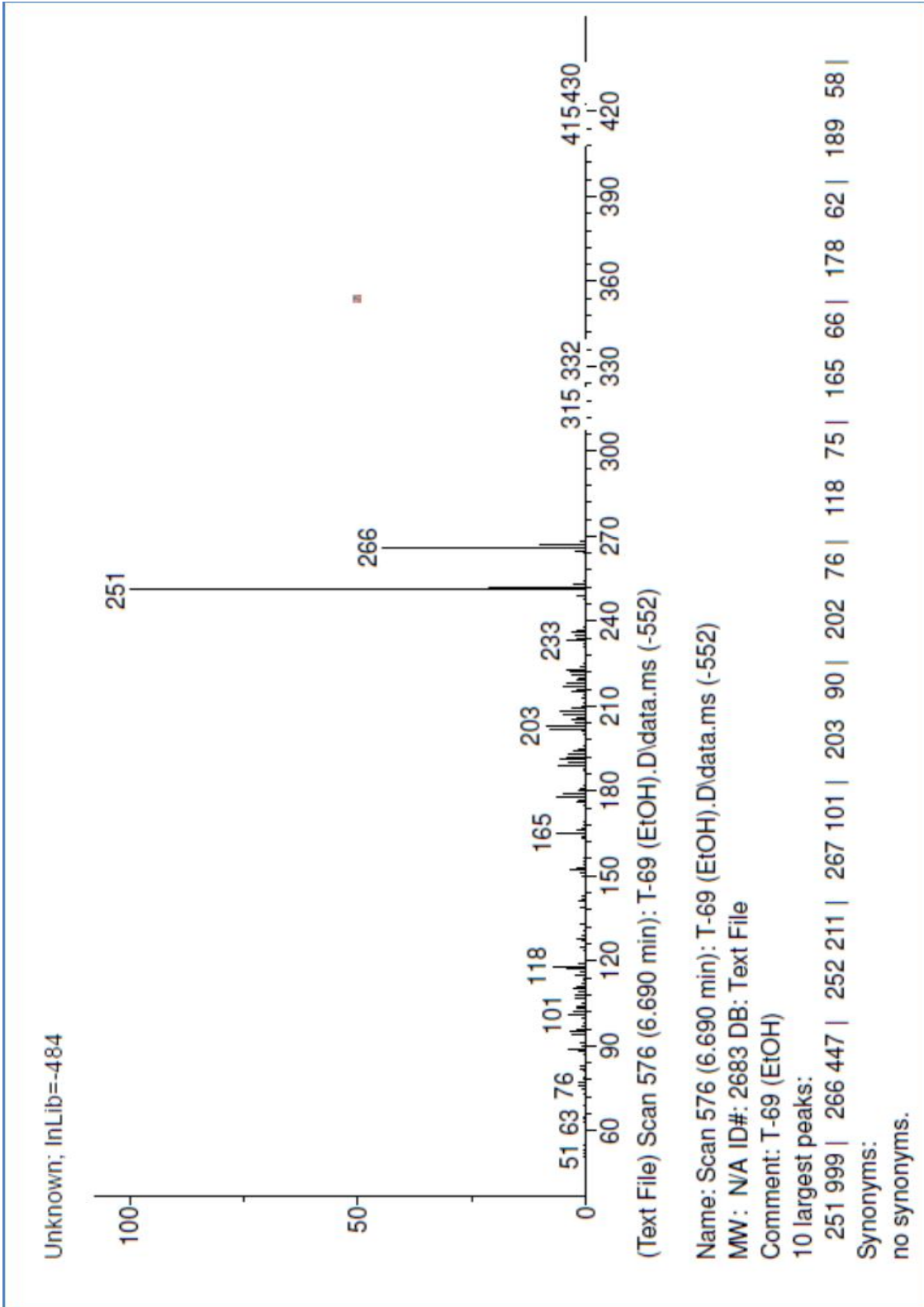
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	121.2	7.43 <i>d</i> (<i>J</i> =7.7 Hz)
2	128.2	7.08 <i>d</i> (<i>J</i> =10.7 Hz)
3	136.1	-
4	136.0	-
5	134.0	-
6	25.8	2.83 <i>d</i> (<i>J</i> =5.1 Hz)
7	28.5	2.76 <i>d</i> (<i>J</i> =5.0 Hz)
8	138.8	-
9	133.2	-
10	122.2	-
11	110.8	7.09 <i>s</i>
12	152.0	-
13	133.2	-
14	125.8	7.03 <i>s</i>
15	27.2	3.21 <i>sept</i> (<i>J</i> =6.6 Hz)
16	23.0	1.29 <i>d</i> (<i>J</i> =6.2 Hz)
17	23.0	1.29 <i>d</i> (<i>J</i> =6.2 Hz)
18	15.6	2.25 <i>s</i>
19	21.0	2.32 <i>s</i>
-OH	-	4.61 <i>brs</i>



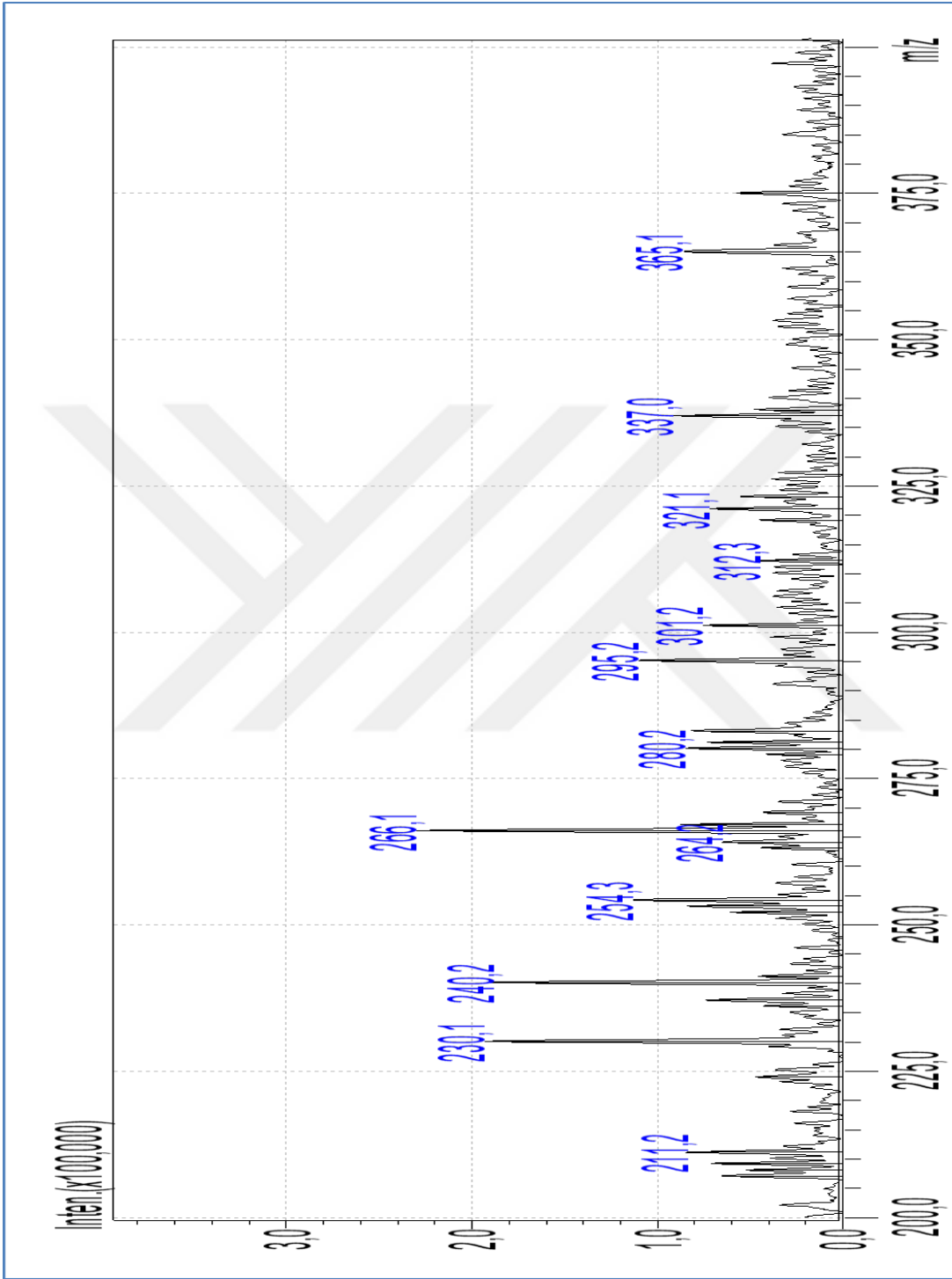
Şekil 122. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



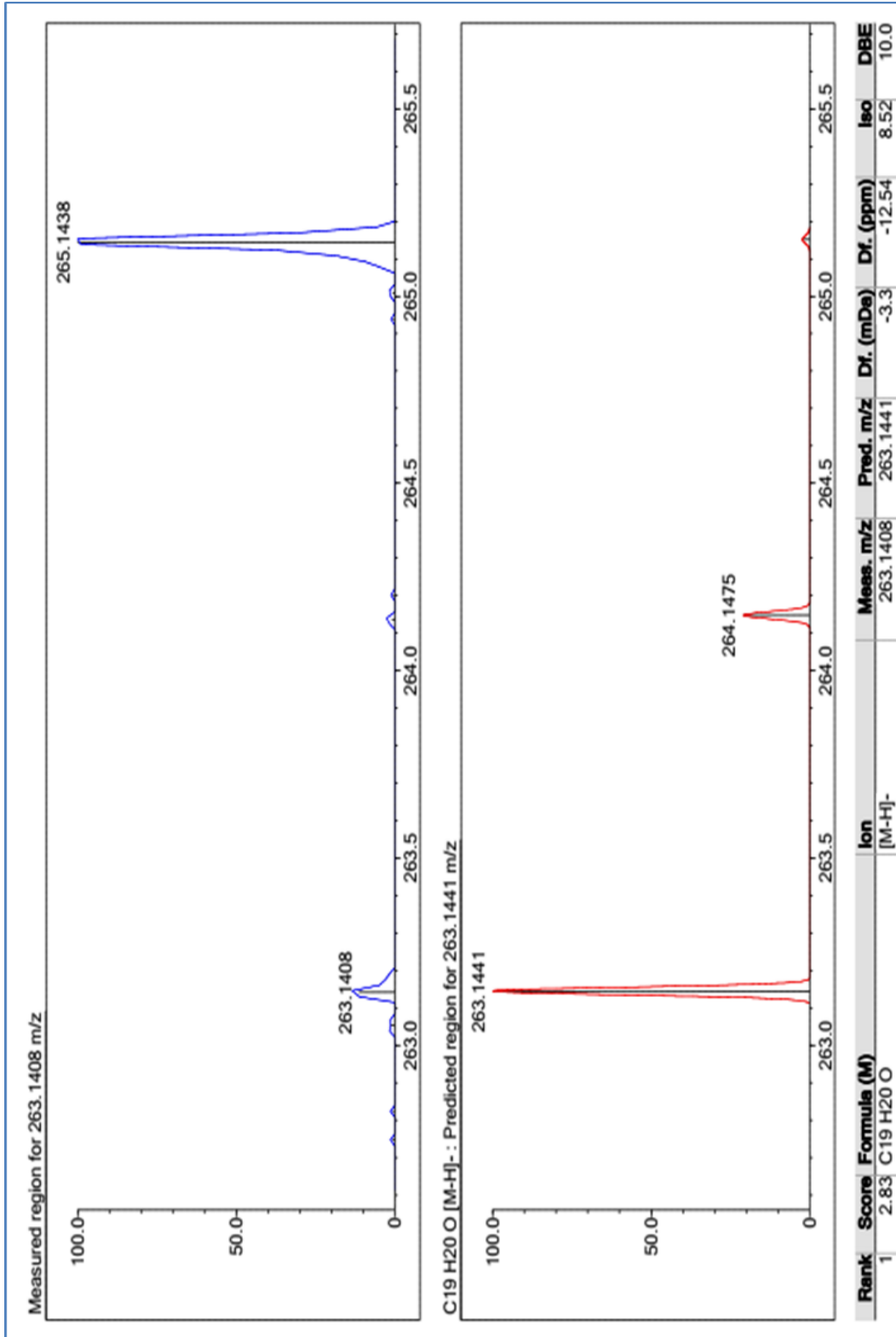
Şekil 123. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşğinin HMQC Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 124. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin GC-MS Spektrumu



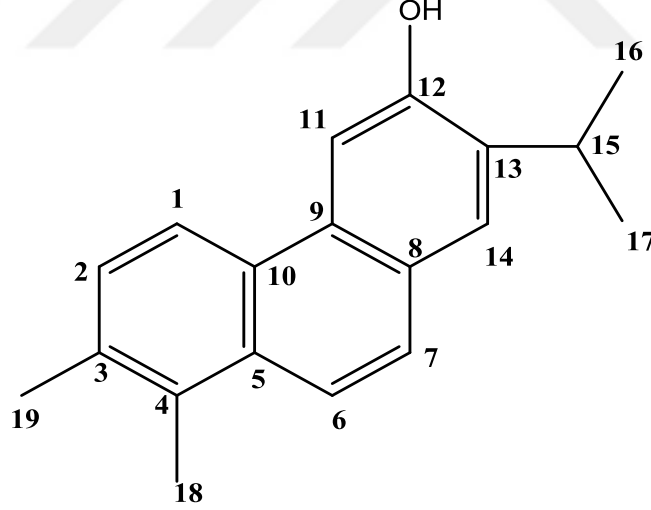
Şekil 125. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşiğinin LC-APCI-MS Spektrumu (Pozitif mod)



Şekil 126. 12-Hidroksi abieta 1,3,5(10), 8, 11, 13-hekzaen Bileşğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5.7.20.12-Demetilmultikaulin

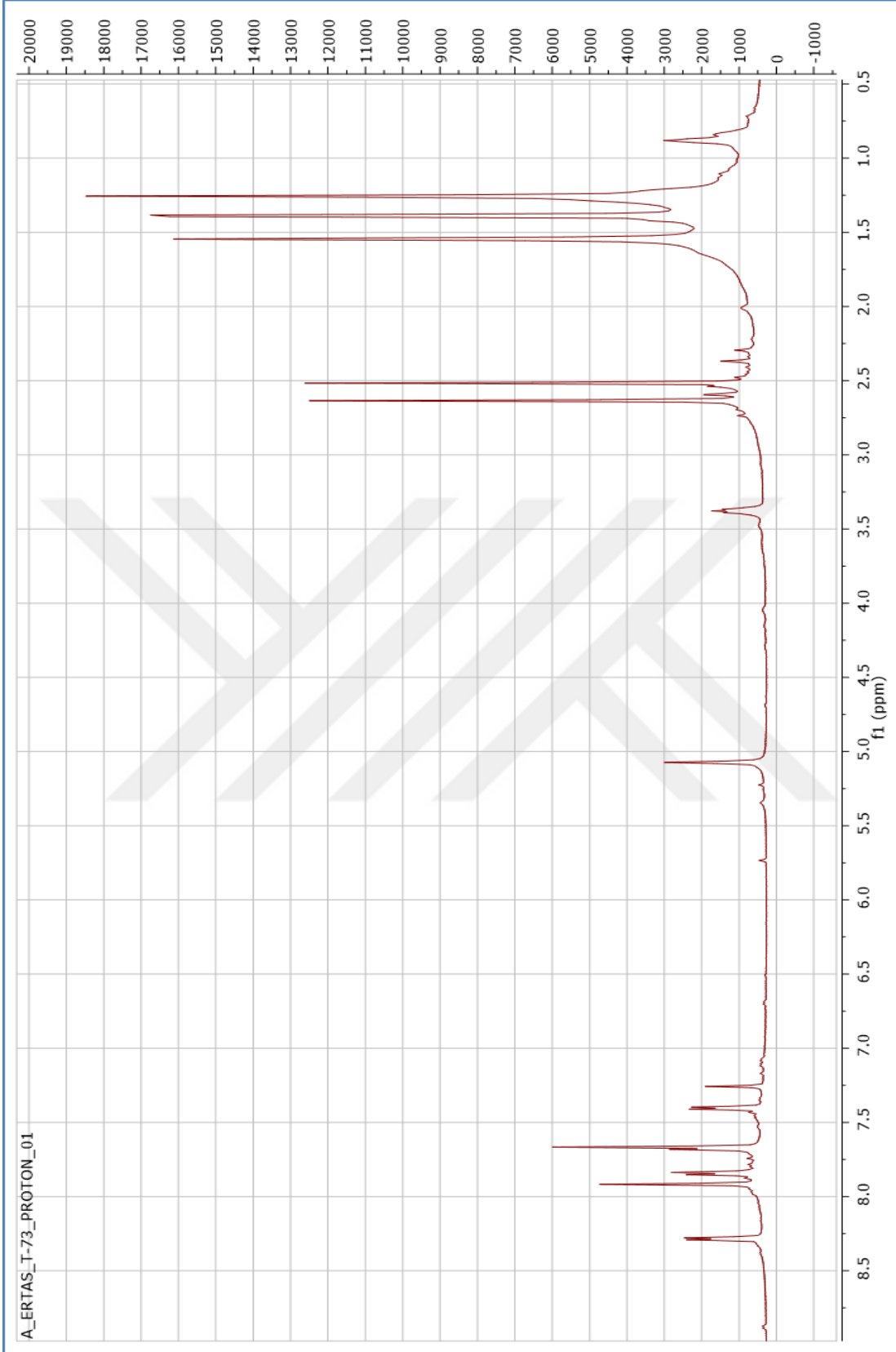
Salvia pseudeuphratica'nın kök etanol ekstresinden elde edilmiştir. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde yaklaşık 17 mg açık turuncu kristal şeklinde elde edilmiştir (Şekil 127). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 8.29- 7.42 ppm' de 6 aromatik proton, 2.62 s (3H), 2.52 s (3H), 139 d (J= 6.6 Hz, 6H) 4 metil grubu izlendi. δ 3.38 sept (J= 6.6 Hz) ppm'de izlenen proton yarılmasından da görüleceği üzere yapıda bir izopropil yapısının olabileceğini gösterdi. Ayrıca δ 5.07 brs ppm'de OH protonu izlendi. Proton spektrumuna tek başına değerlendirildiğinde yapının 4 metil grubu, 1 OH grubu , 6 aromatik proton içeren flavon veya fenantren yapısı olabileceği düşünüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 4 metil, 7 metin, 8 katerner karbon izlendi. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 263.1408 [M-H]⁻ piki C₁₉H₂₀O kapalı formülü düşünüldü. Literatürde bulunan spektral değerlerle mukayese edildiğinde NMR değerleri Tablo 39'de verilen bu bileşiğin daha önce bir *Salvia* türünden izole edilen 12-demetilmultikaulin yapısı olduğu görüldü (130,131) (Şekil 128-133).



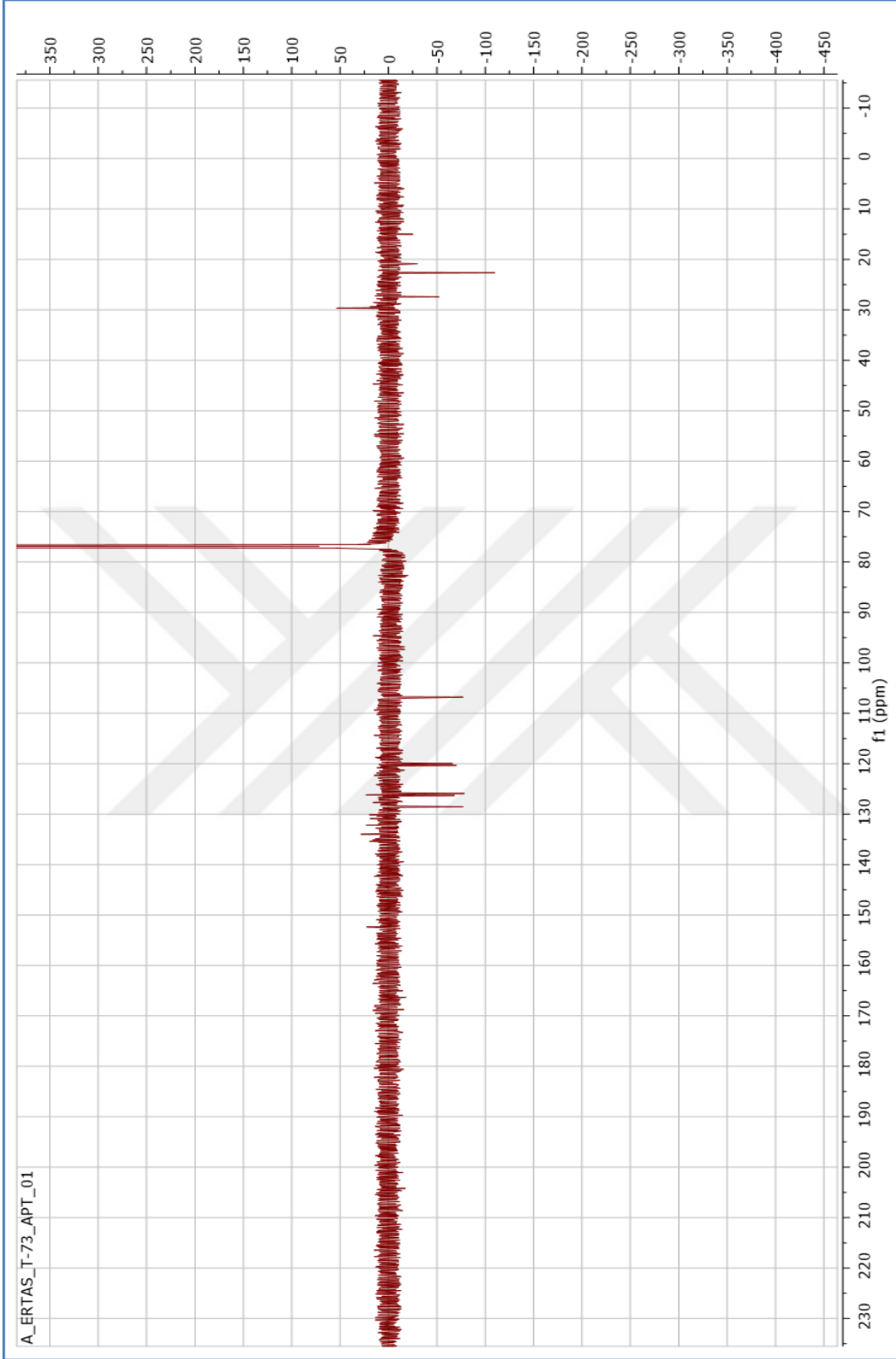
Şekil 127. 12-Demetilmultikaulin

Tablo 39. 12-Demetilmultikaulin Bileşiminin NMR Değerleri

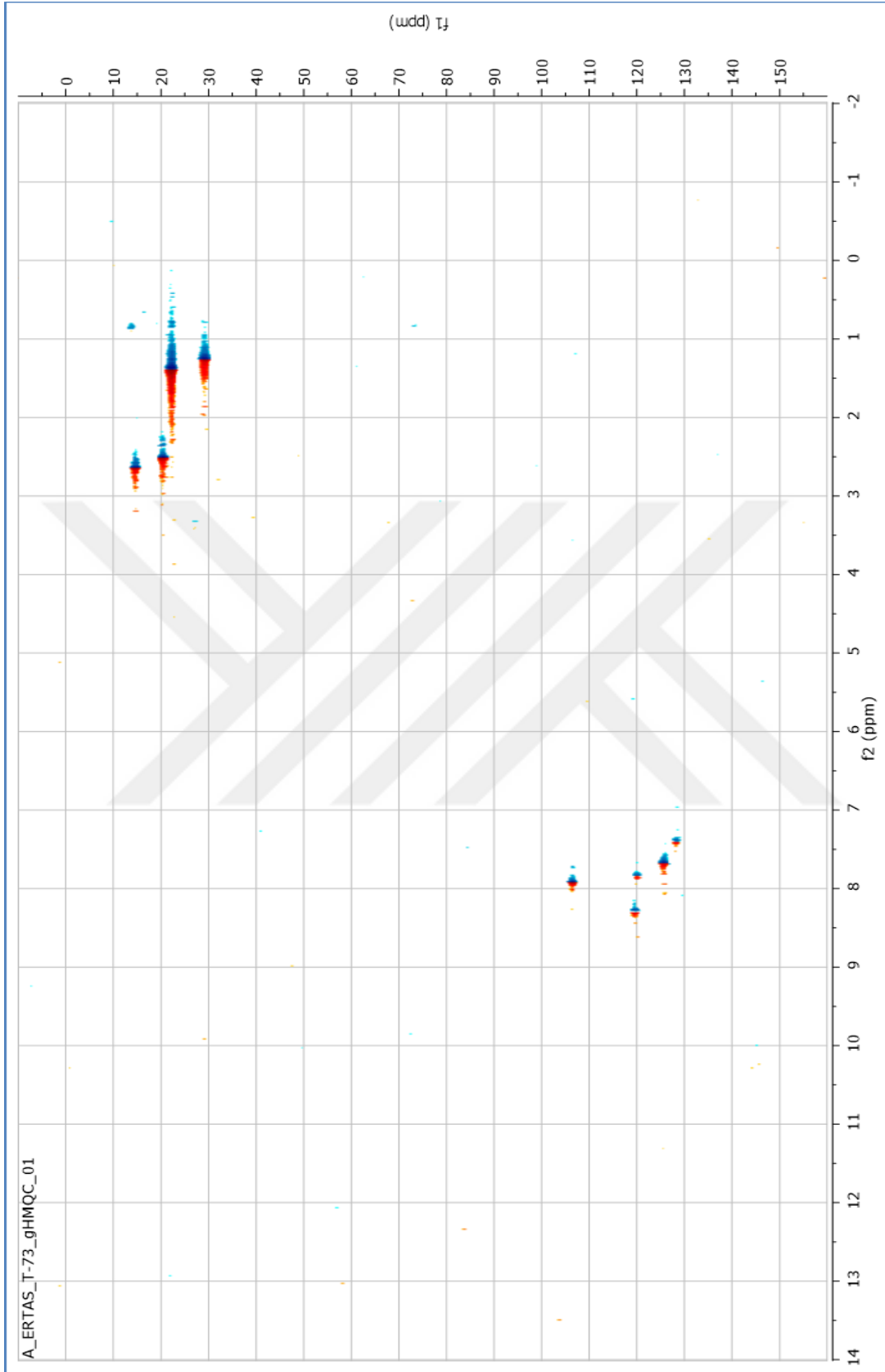
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	119.9	8.28 <i>d</i> (<i>J</i> =8.2 Hz)
2	128.5	7.42 <i>d</i> (<i>J</i> =8.2 Hz)
3	134.0	-
4	132.2	-
5	134.9	-
6	120.3	7.84 <i>d</i> (<i>J</i> =9.1 Hz)
7	126.3	7.67 <i>d</i> (<i>J</i> =9.2 Hz)
8	126.2	-
9	130.9	-
10	130.1	-
11	106.8	7.92 <i>s</i>
12	152.4	-
13	135.4	-
14	125.9	7.67 <i>s</i>
15	27.4	3.38 <i>sept</i> (<i>J</i> =6.6 Hz)
16	22.6	1.39 <i>d</i> (<i>J</i> =6.6 Hz)
17	22.6	1.39 <i>d</i> (<i>J</i> =6.6 Hz)
18	15.0	2.62 <i>s</i>
19	20.87	2.52 <i>s</i>
-OH	-	5.07 <i>brs</i>



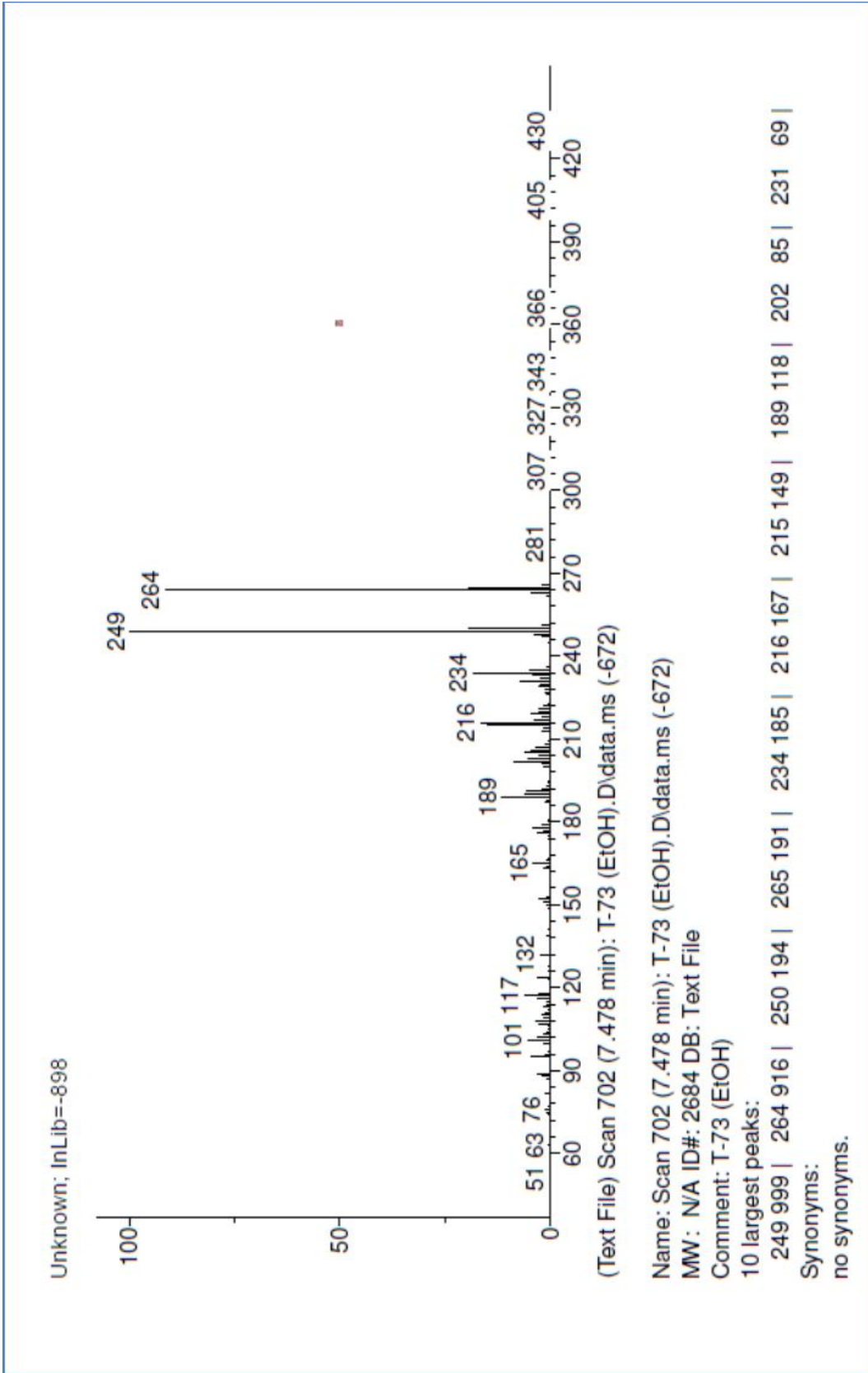
Şekil 128. 12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



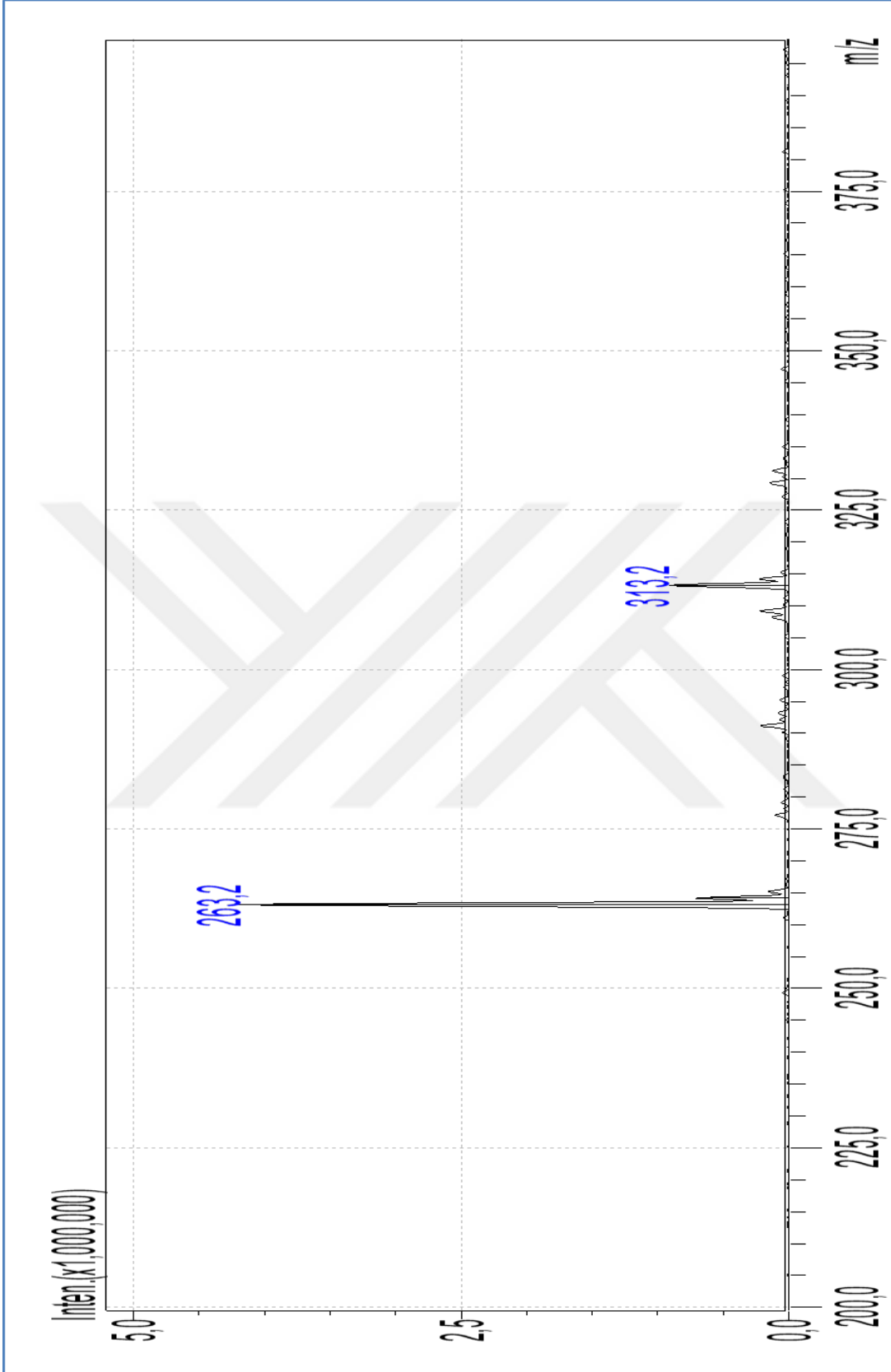
Şekil 129. 12-Demetil multikaulin Bileşğinin APT Spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



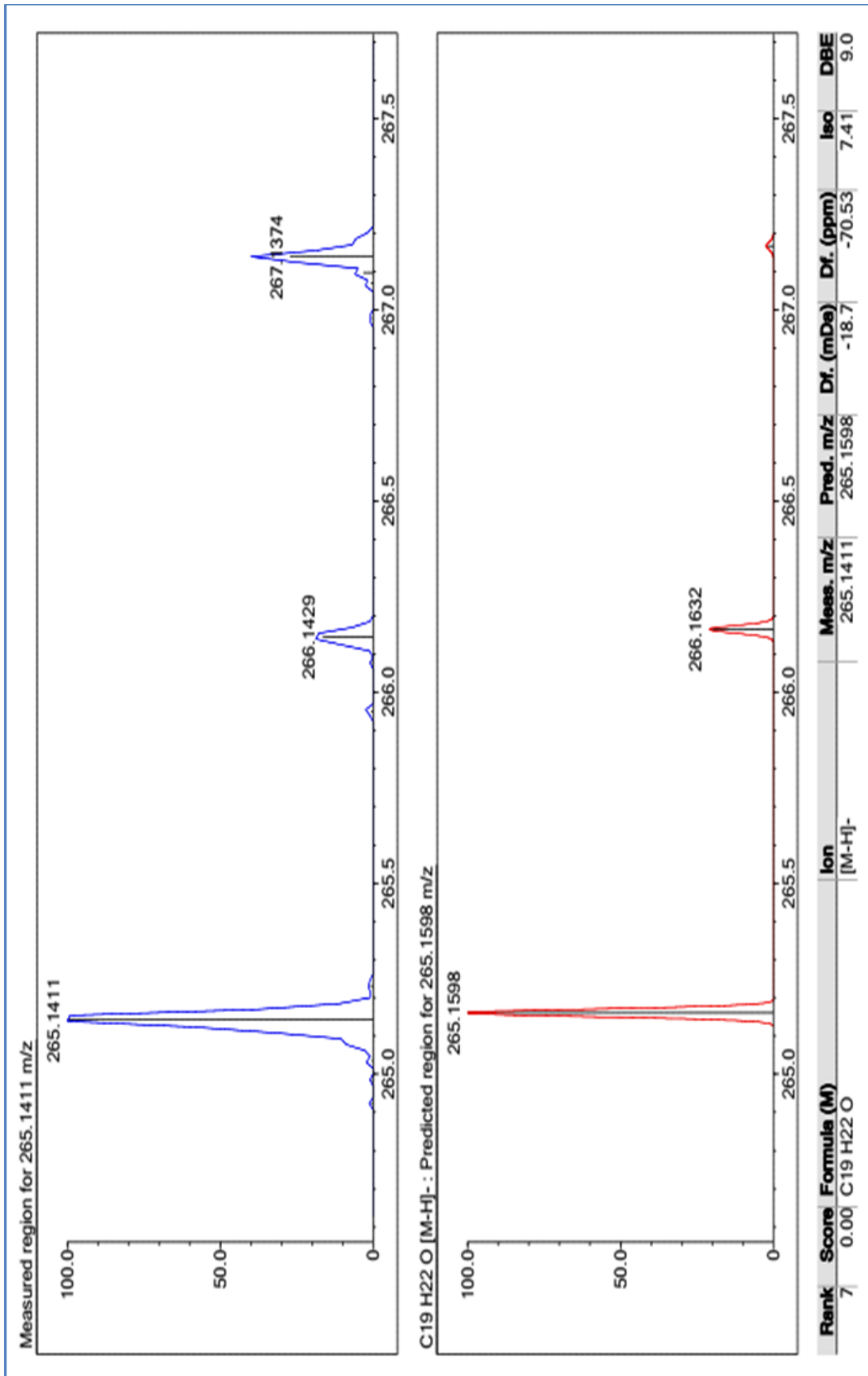
Şekil 130.12-Demetilmultikaulin Bileşiğinin HMOC Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 131. 12-Demetil multikaulin Bileşiğinin GC-MS Spektrumu



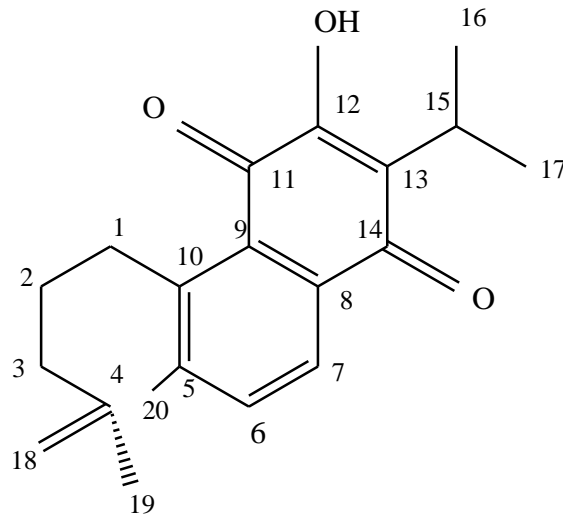
Şekil 132. 12-Demetil multikaulin Bileşiğinin LC-APCI-MS Spektrumu (Negatif mod)



Şekil 133. 12-Demetil multikaulin Bileşğinin LC-MS-IT-TOF Kromatogram

5.7.21.Salvipison

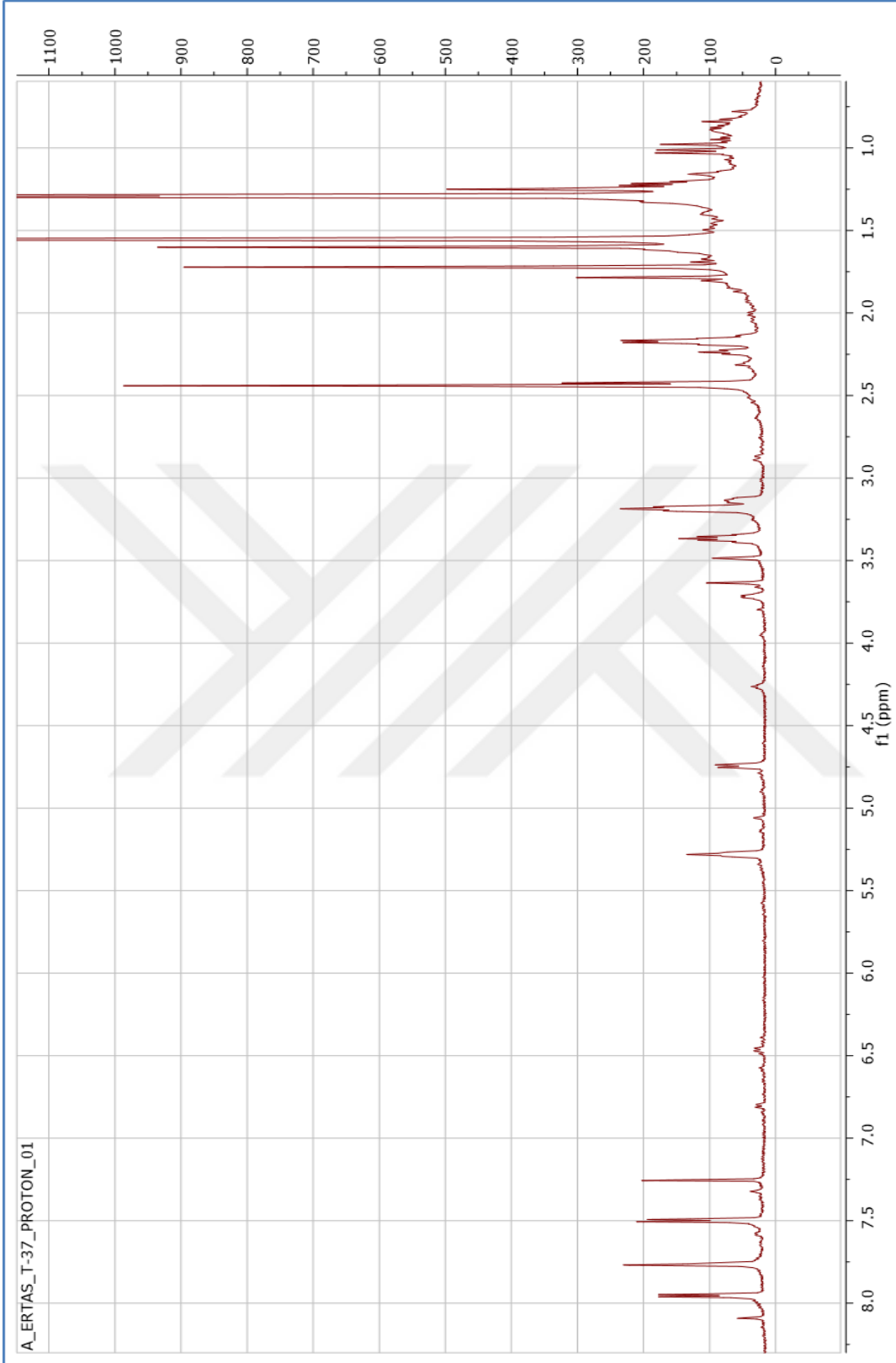
S. pseudeuphratica'nın sadece kök etanol ekstresinden preparatif ince tabaka kromatografisi ile saf diklorometan çözücü sisteminde elde edilmiştir. Açık sarı kristal şeklinde 3,4 mg elde edilmiştir (Şekil 134). Silika jel plağa tatbik edildikten sonra UV lamba altında (254nm) bakıldığında sarı görülen bileşik, çeker ocakta serik sülfat belirteci püskürtülerek etüvde 105°C'de yakıldığı zaman koyu sarı renk aldı. ¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, 600 MHz) 4 metil sinyali (1,29 d, 1,29 d, 1,72 s ve 2,44 s) sinyali görüldü. Bunlardan 1.29'daki metil sinyallerinin 6,5 Hz lik dubletler şeklinde ve 3.35 ppm de bir ise metin protonunun septet şeklinde görülmesi yapıda bir isopropil grubunun olduğuna, bu sinyaller yapının abietan bir diterpen olması ihtimaline işaret etmiştir. 4,72 ppm'de dublet pik (J=9,1 Hz) vinilik ve 1,72 ppm'de çıkan metile komşu çift bağa işaret etmiştir. Ayrıca 7,50 ile 7,95 ppm (J=7,6 Hz)'deki pikler aromatik komşu 2 protona işaret etmiştir. Ayrıca 7,77 ppm'de brd s pik ise -OH varlığına işaret etmiştir. Bunların yanı sıra GC-MS kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan (C₂₀H₂₄O₃) ye karşılık gelen m/z 312' da ayrıca M-OH pikide 294'de izlenmiştir. ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen [M+H]⁺ piki 313.1540 (C₂₀H₂₄O₃) dayanarak bu bileşiğin salvipison olduğu saptanmıştır ve NMR değerleri (Tablo 40) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulanmıştır (132) (Şekil 135-139).



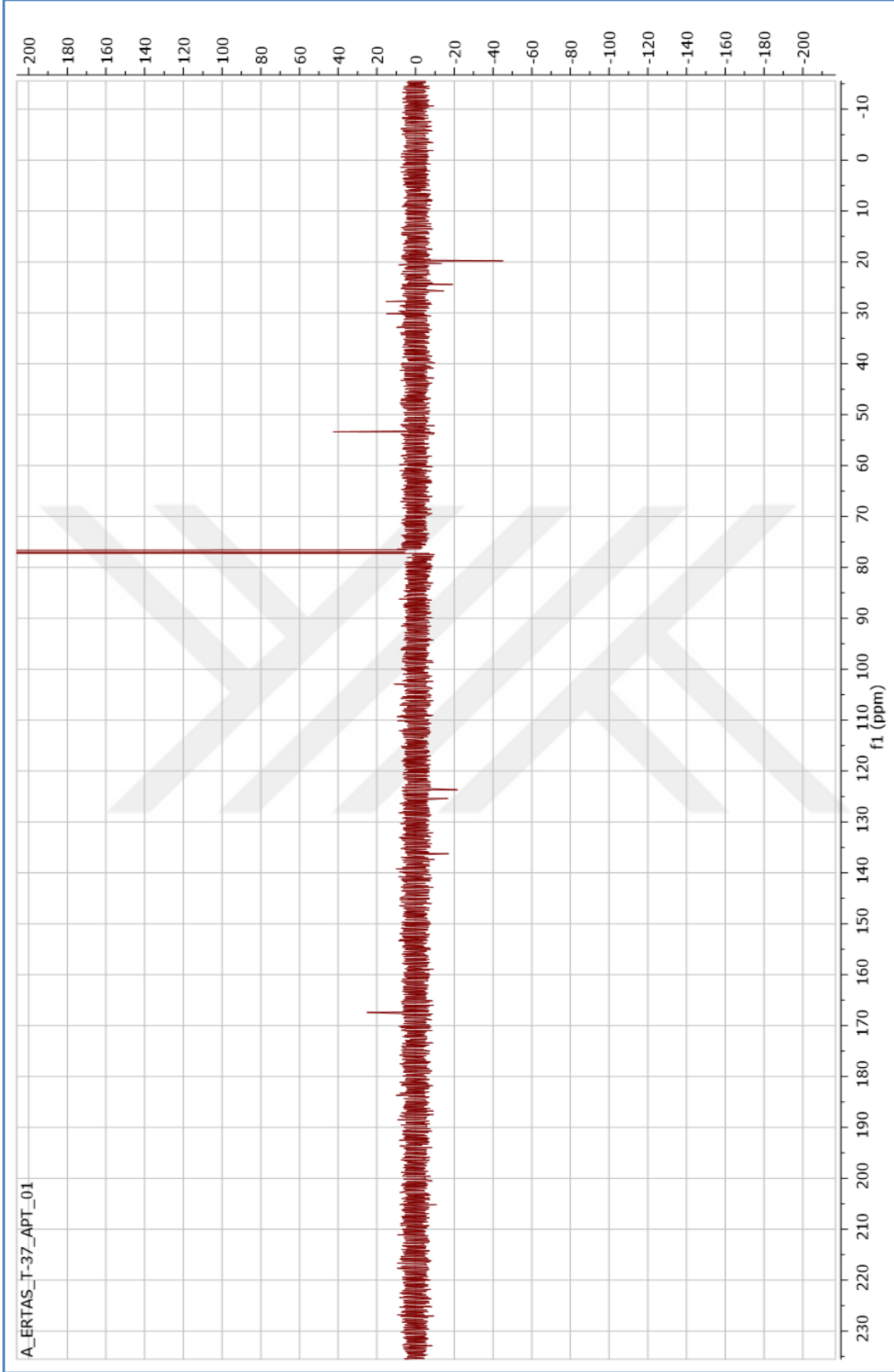
Şekil 134. Salvipison

Tablo 40. Salvipison Bileşığının NMR Değerleri

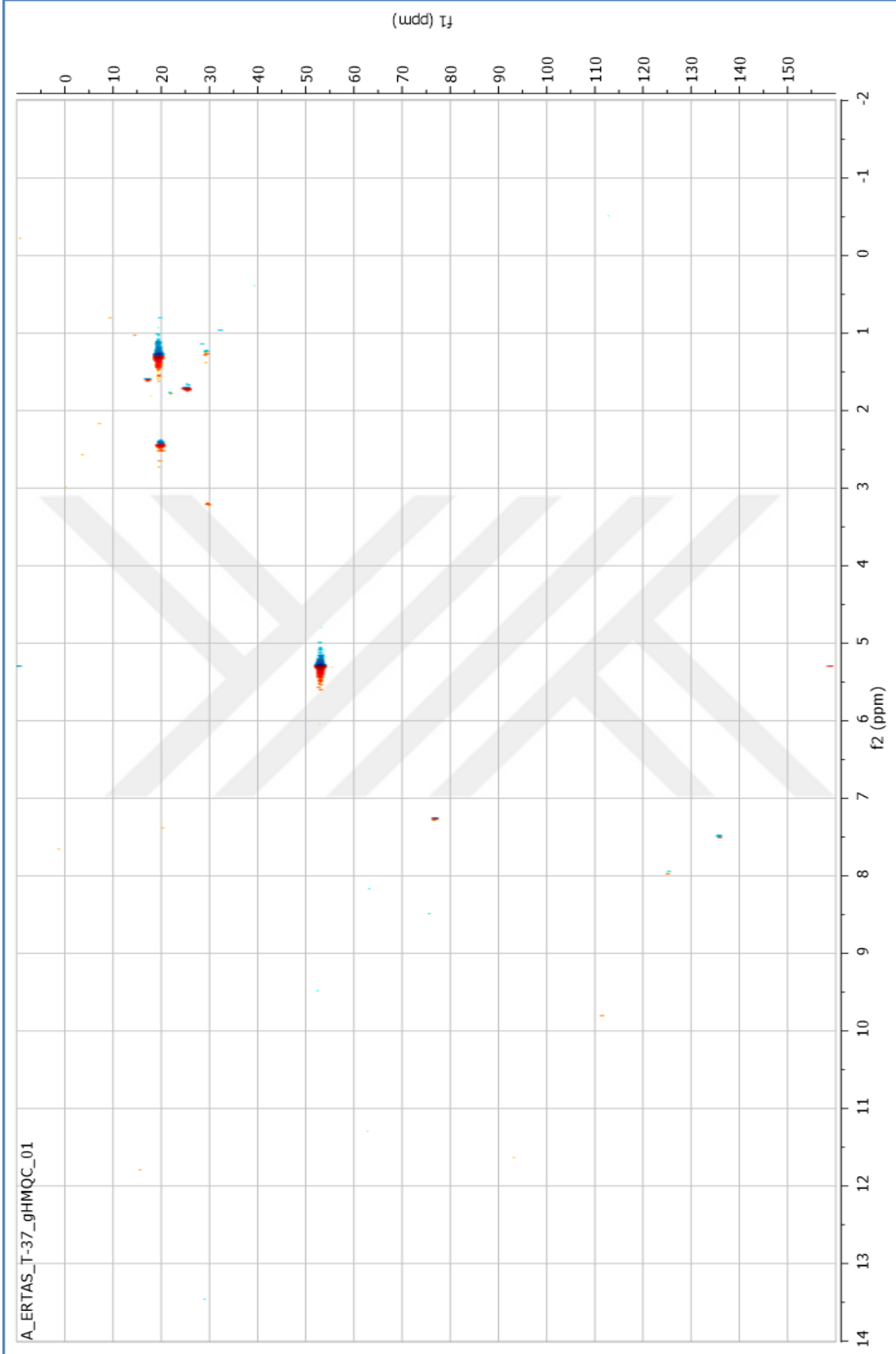
Pozisyon	¹ H-NMR
1	3,19 m
2	1,61 m
3	2,24 br t
4	-
5	-
6	7,50 d (J=7,6 Hz)
7	7,95 d (J=7,6 Hz)
8	-
9	-
10	-
11	-
12	-
13	-
14	-
15	3,35 sept (J=7 Hz)
16	1,29 d (J=6,5 Hz)
17	1,29 d (J=6,5 Hz)
18	4,72 d (J=9,1 Hz)
19	1,72 s
20	2,44 s
12-OH	7,77 br s



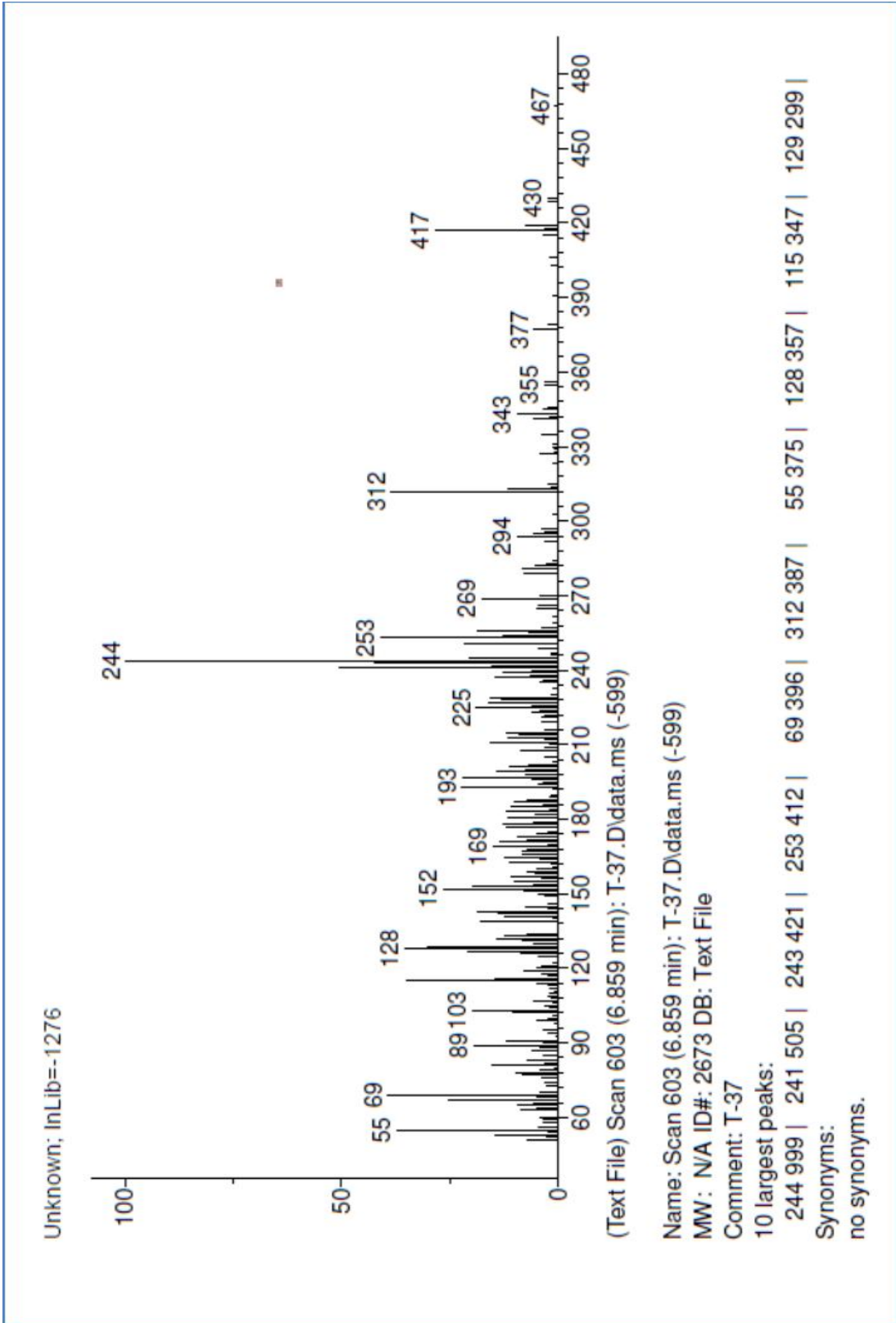
Şekil 135.Salvipison Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



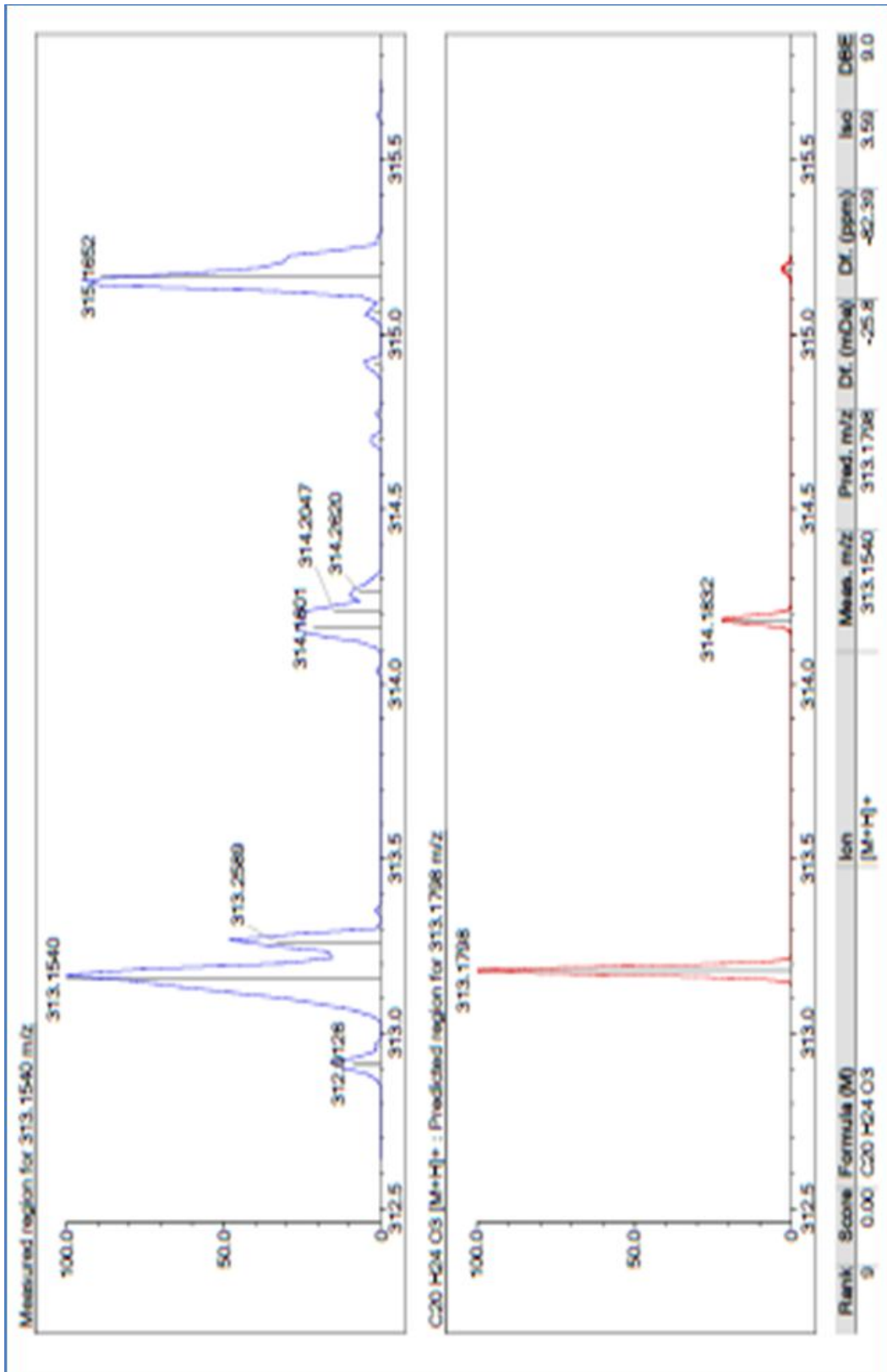
Şekil 136. Salvisipon Bileşiğinin APT Spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 137. Salvisipon Bileşiminin HMQC Spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 138. Salvipison Bileşiminin GC-MS Spektrumu



Şekil 139. Salvipison Bileşiminin LC-MS-IT-TOF Kromatogramı

6.TARTIŞMA

Ülkemizin Elazığ ilinde yetişen *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin, kloroform ve etanol ekstreleri hazırlanarak antioksidan, antikolinesteraz enzim aktivitelerinin araştırılması ve yine ekstrelerin kimyasal profili ışığında preparatif HPLC ve diğer klasik kromatografik yöntemlerin kullanılması ile sekonder metabolitler saflaştırılarak, izole edilen bileşiklerle organik kimyaya yeni ürünler kazandırılmasını mümkün hale getirmek, saflaştırılmış olan bu sekonder metabolitlerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi sonrasında antikolinesteraz enzim aktivitesini de belirlemek, ayrıca bu türün yaprak, dal, çiçek, kök ve bunların karışımından etanol ekstreleri hazırlanmış olup bu ekstrelerin LC-MS/MS ile bazı flavonoit ve fenolik bileşiklerin miktarsal hesaplamalarının yapılması ve de bunlara ek olarak bu türün tüm bölümlerinin petrol eteri ekstresi hazırlanarak GC-MS/MS ile yağ asidi profilinin belirlenmesi amacı güdülmüştür.

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi (Tablo 12). *S. pseudeuphratica* türü için toplam fenolik ve flavonoit içerik bakımından SP-KK ekstresinin daha zengin olduğu görülmektedir. Bitkinin çeşitli kısımlarının etanol ekstreleri arasında SP-Ç'nin fenolik içerik bakımından daha zengin olduğu görülmektedir. Zengin ve ark. tarafından yapılmış olan çalışmada bizim elde ettiğimiz sonuçların aksine *S. viridis* bitkisinin kök etanol ekstresinin toplam fenolik (111,41 mg gallik asite eşdeğer) ve flavonoit (23,46 mg rutine eşdeğer) içerik bakımından yüksek olduğu belirtilmiştir (57). Halfon ve ark.nın *S. cassia* bitkisi ile yapmış olduğu çalışmada diklorometan ekstresinin toplam flavonoit içeriği etanol ve su ekstresinden daha yüksek olduğu belirlenmiş olup bizim çalışmamızda da apolar olan kloroform ekstresinde benzer sonuç elde edilmiştir (26). Bizim çalışmamızda petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin hem toplam fenolik hem de toplam flavonoit içerik bakımından daha zengin olması içerdiği bileşiklerin daha çok düşük polaritede olduğunu göstermektedir.

Hazırlanan tüm ekstrelerin 4 farklı yöntemle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Tablo 13). Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α -Toc, BHA ve BHT kullanıldı. *S. pseudeuphratica* türünün kök etanol ekstresinin (SP-KE) β -

karoten-linoleik asit ($IC_{50}:22,15\pm0,72$ $\mu\text{g/mL}$), DPPH serbest radikal giderim ($IC_{50}:31,95\pm0,59$ $\mu\text{g/mL}$) ve ABTS katyon radikal giderim yöntemlerinde ($IC_{50}:34,15\pm0,59$ $\mu\text{g/mL}$) değerleriyle en aktif ekstre olduğu belirlendi. Dulatic-Lausevic ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada *S. fruticosa* ve *S. lanifera* bitkilerinin etanol ekstraktlarının β -karoten, DPPH ve ABTS aktiviteleri çalışılmış olup β -karoten (%85.11 inhibisyon) ve DPPH ($IC_{50}= 29,55$ $\mu\text{g/ mL}$) yöntemlerinde en iyi aktiviteyi etanol ekstresi göstermiştir (55). Alimpic ve ark.nın *S. amplexicaulis* bitkisi ile yapmış olduğu çalışmada ABTS aktivitesinde etanol ekstresinin en aktif ekstre olduğunu bildirmişlerdir (44). Farhad ve ark.nın *S. aegyptiaca*'nın metanol ekstresi DPPH ($IC_{50}= 29,62$ $\mu\text{g/ mL}$) yönteminde en iyi aktiviteyi göstermiştir (25). Gomez-Rivera ve ark.nın *S. sessei* bitkisinin metanol ekstresi ABTS yönteminde $IC_{50}= 1,34$ $\mu\text{g/ mL}$ değeri ile en iyi aktiviteyi göstermiştir (56). Zengin ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisinin metanol ve su ekstraktları yüksek CUPRAC aktivitesi göstermiştir (22). Zengin ve ark.nın *S. viridis* bitkisinin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlarının CUPRAC aktivitesinde en iyi etkiyi ultrasonik yöntemle elde edilen kök etanol ekstresinin gösterdiği belirtilmiştir (57). Çalışmamızda bitkinin kök etanol ekstresinin (SP-KE) çalışılan 4 antioksidan yöntemde de aktif olduğu belirlendi (Tablo 7, Tablo 8). Sonuçlar değerlendirildiğinde etanol ekstraktlarının petrol eteri ve kloroform ekstraktlarına göre çok daha aktif olduğu belirlendi. Etanol ekstraktlarının çoğu standart olarak kullanılan BHA' dan bazılarının ise α -TOC'tan daha aktif olduğu tespit edildi. Sonuçlarımızı literatürlerle karşılaştırdığımızda yapılan birçok çalışmayla paralellik göstermiştir.

S. pseudeuphratica bitkisinin toprak üstü etanol ekstresinden 114, kök etanol ekstresinden 71 fraksiyon toplandı. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirilerek toprak üstü etanol ekstresinden toplamda 16, kök etanol ekstresinden 13 fraksiyon elde edildi ve antioksidan etkinlikleri çalışıldı. ABTS katyon radikali giderim, DPPH serbest radikal giderim ve CUPRAC-Bakır(II) indirgeme kapasitesi yöntemlerinde *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin toprak üstü etanol ekstresinin 53-56, 67-74, 114 ve kök etanol ekstresinin 17-20, 21-30, 40-42 numaralı fraksiyonları en aktif fraksiyonlar oldukları belirlendi ve bu aktif fraksiyonlardan saf madde izolasyonuna gidildi.

Daha sonrasında elde edilen 21 maddenin antioksidan aktivitesi 3 yöntemle (DPPH Serbest Radikali ve ABTS Katyon Radikali, CUPRAC giderim aktiviteleri) belirlenmiştir. Bu maddelerin genel olarak çok aktif oldukları tespit edilmiştir. Elde edilen fenolik bileşiklerin oldukça aktif oldukları görülmektedir (Tablo 14). *S. pseudeuphratica* bitkisinden 6,7-dehidroroyleanon bileşiğinin gram seviyesinde elde edilmiştir. Zhang ve ark.nın 50 farklı *S. miltiorrhiza* bitkisinin, farmakolojik etkilerinin altında yatan mekanizmaları anlamak için gerçekleştirdikleri bir çalışmada, kimyasal profiller ve antioksidanlar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kimyasal analizler sonucunda elde edilen fenolik asitlerin DPPH ve ABTS aktivite sonuçlarına göre kafeik asit, rozmarinik asit, salvianolik asit B maddelerinin antioksidan aktiviteye önemli katkılarının olduğu tespit edilmiştir (30). *Salvia trichoclada* Bentham (Lamiaceae) bitkisinin topraküstü kısımlarının metanol ekstresinin, sekonder metabolitleri çalışılmış ve lupeol, lupenon, gloşidon, monoginol A, oleanolik asit, ursolik asit, β -sitosterol, apigenin-7-O-ramnozid ve rozmarinik asit bileşikleri izole edilmiş olup ekstrenin ve izole edilmiş bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, lipit peroksidasyon aktivite (β -karoten yöntemi) ve DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemleri ile çalışılmıştır. Test edilen tüm bileşikler arasında rozmarinik asit en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir (68). Pereira ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Salvia greggii* A. Gray, *Salvia elegans* Vahl. ve *Salvia officinalis* L. bitkilerinin dekoksasyonları antioksidan özellikleri incelenmiş ve ayrıca, çalışılan üç bitkinin dekoksasyonlarının fenolik profillerinin belirlenerek antioksidan aktiviteleri ile ilişkilendirilmiştir. *Salvia elegans* bitkisinin dekoksasyonu DPPH serbest radikali, NO radikali, O_2^- radikali süpürücü ve Fe^{3+} indirgeme etkisi açısından en aktif antioksidan özellik göstermiştir. *S.elegans*'ın *S. greggii* ve *S.officinalis* bitkilerinden daha yüksek aktivitesinin olması yüksek oranda içerdiği kafeik asit ve türevleriyle ilgili olduğu belirtilmiştir (23). *S. miltiorrhiza*'nın kurutulmuş kökü ve *Carthamus tinctorius* L.'nin kurutulmuş çiçeğinden hazırlanmış olan bitki çiftindeki aktif bileşiklerin 1,1-difenil-2-trinitrofenilhidrazin (DPPH) indirgeme yöntemine göre radikal süpürücü etkilerinin incelenmiştir. Aynı ayrı bu iki bitki ile karşılaştırıldığında, bitkisel çiftlerin ekstrelerinin DPPH'ye göre daha yüksek temizleme oranına sahip olduğu bulunmuştur. DH bitkisel çiftinde bulunan protokateşik asit, kafeik asit, klorojenik

asit, rutin ve salvianolik asit A bileşiklerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (71). Literatürlerle karşılaştırdığımızda *S. pseudeuphratica*'da da yüksek miktarda bulunan rozmarinik asit, salvianolik asit A ve kaffeik asit gibi bileşiklerin gösterdikleri yüksek antioksidan aktiviteleri sonuçlarımızla da uyumludur.

S. pseudeuphratica türünden hazırlanan ekstrelerinin asetilkolinesteraz aktivitelerinin olmadığı fakat orta derecede butirilkolinesteraz enzim aktivitesi gösterdikleri belirlendi (Tablo 12). Bu türün sadece yaprak kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin düşük butirilkolinesteraz enzim aktivitesine sahip olduğu saptandı. Hatipoğlu yapmış olduğu çalışmada *S. adenophylla* ve *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkilerinin aseton ve metanol ekstrelerinin butirilkolinesteraz aktiviteleri asetilkolinesteraz aktivitelerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (133). Zengin ve ark.nın *S. modesta* ile yaptıkları çalışmada bitkinin diklorometan, metanol ve su ekstrelerinin asetil ve butirilkolinesteraz aktiviteleri çalışılmış olup butirilkolinesteraz enzim inhibisyon sonuçları asetilkolinesteraza göre daha aktif bulunmuştur (54). Zengin ve ark.nın yapmış olduğu başka bir çalışmada *S. viridis* bitkisinin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanmış olan ekstrelerinin asetil ve butirilkolinesteraz aktivite sonuçlarına göre bütün ekstrelerin butirilkolinesteraz enzim aktiviteleri daha yüksek bulunmuştur (57). Sonuçlarımız verilen literatürlerle paralellik göstermiştir.

S. pseudeuphratica'nın apolar ekstreler olan SP-PE ve SP-KK'nın fenolik içerik açısından oldukça fakir olduğu tespit edilmiştir. Yine polar ekstreler olan SP-KE, SP-K, SP-Y ve SP-Ç ekstrelerinin rozmarinik (sırasıyla 5510.05, 3604.27, 11256.23, 14088.73 µg/g ekstre), malik (sırasıyla 1677.3, 1185.55, 4406.81, 11130.09 µg/g ekstre) ve fumarik (sırasıyla 399.72, 146.56, 740.24, 2247.18 µg/g ekstre) asitler, SP-D ekstresi ise vanillik asit (1058.98 µg/g ekstre), rozmarinik asit (785.35 µg/g ekstre) ve fumarik (361.48 µg/g ekstre) asitler bakımından oldukça zengin olduğu tespit edilmiştir. Zengin ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* ve *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkilerinin metanol ekstrelerinin kimyasal içerikleri HPLC-UV-ESI-MS cihazı ile belirlenmiş olup *S. verticillata* subsp. *amasiaca* bitkisinin çok yüksek oranda rozmarinik asit içerdiği belirlenmiştir (22). Fırında kurutma, dondurarak kurutma ve gölgede kurutma metodları

kullanılarak kurutma metodlarının *Salvia absconditiflora* bitkisinin fenolik profili üzerine etkileri araştırılan çalışmada fenolik bileşik miktar tayini HPLC cihazı ile yapılmış olup ana fenolik bileşiğin rozmarinik asit olduğu ve gölgede kurutmada en yüksek miktarda olduğu gözlemlenmiştir (24). Bursal ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada *Salvia eriophora* yapraklarının kimyasal bileşikleri, LC-MS/MS cihazı ile belirlenmiştir. Salvigenin (158.64 ± 10.8 mg/kg), fumarik asit (123.09 ± 8.54 mg/kg) bileşikleri etanol ekstresinin majör bileşikleri olarak saptanırken fumarik asit (555.96 ± 38.56 mg/kg) ve kaffeik asit (103.62 ± 20.51 mg/kg) bileşikleri ise su ekstresinin ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir (62). Sonuçlarımız literatürlerle karşılaştırıldığında genel olarak paralellik göstermiştir.

S. pseudeuphratica türünün 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanmış olan numunelerinin petrol eteri ekstralarının yağ asidi içeriği GC-MS metodu ile belirlendi. Ekstrelerin yağ bileşenleri %100'ü belirlendi. Üç yılda da toplanan örneklerden hazırlanan ekstraların ana bileşeninin (SP-PE) için 2-palmitoleik asit (%21,81) tespit edildi. Genel olarak ekstraların bileşimindeki yağ asitlerinin daha çok doymamış olduğu belirlendi. 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan örneklerin yağ asidi bileşimi karşılaştırıldığında genel olarak ekstraların içerik olarak bileşiminin yıllara bağlı olarak değişmediği tespit edildi.

7. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Lamiaceae familyasının üyesi olan *Salvia pseudeuphratica* bitkisinin kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ilk kez belirlendi. Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasının, yaygın olarak kullanılan *Salvia* türlerinin kimyasal içeriğinin ve çeşitli aktivitelerinin incelenmesinin doğal aktif maddelerin bulunması açısından bilimsel anlamda önem kazanmaktadır. İçerdiği sekonder metabolitlerinin antioksidan özelliğinden dolayı tıp, eczacılık ve ilaç sanayinde etkili bir şekilde yer alacağı öngörülmektedir.



8. KAYNAKLAR

1. Berber İ, Avşar C, Çine N, Bozkurt N, Elmas E. Determination of Antibacterial and Antifungal Activities of Methanolic Extracts of Some Plants Growing in Sinop Karaelmas. Science and Engineering Journal, 2013; 3(1): 10-16.
2. Farnsworth NR, Akerev O, Bingel AS. The Bulletin of WHO. 1985; 63:9865-9871.
3. Kumar SA. Plants-based Medicines in India. 2009; <http://pib.nic.in/feature/feyr2000/fmay2000/f240520006.html>. Erisim Tarihi: 06.06.2010
4. Başer KHC. "International Symposium on the Labiatae: Advances in Production." Biotechnology and Utilisation, Sanremo. 2006, İtalya
5. Hedge IC. "A Global Survey Biogeography of the Lamiaceae in Harley". R.M. & Reynolds, T. (eds.), Advances in Labiatae science, Royal Botanic Gardens, 1992, İngiltere
6. Topcu G, Tan N, Ulubelen A, Sun D & Watson WH. Terpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Salvia candidissima*. Phytochemistry, 1995; 40: 501-504.
7. Lu Y. & Foo LY. Polyphenolics of *Salvia* – a review. Phytochemistry, 2002; 59: 117-140.
8. Arslan I, Celik A. Chemical composition and antistaphylococcal activity of an endemic *Salvia chrysophylla* Stapf naturally distributed Denizli province (Turkey) and its vicinity, Pakistan Journal of Botany. 2008; 40:1799–1804.
9. Neveu V, Perez-Jiménez J, Vos F, Crespy V, du Chaffaut L, Mennen L, Knox C, Eisner R, Cruz J, Wishart D, Scalbert A. "Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods." Database. 2010.
10. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İkinci Baskı, 1999.
11. Sezik E, Yeşilada 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. 1997; 51:195-211.

12. Sezik E, Yeşilada E. Uçucu Yağ Taşıyan Türk Halk İlaçları, Essential Oils, Kırmır N. Mat A. (Eds.), Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1999; 4:98-131.
13. Eröz İ. Eskişehir Çevresinde Yetişen Bazı *Salvia* Türleri Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar. 2006; 7(2):443-450.
14. Baytop A. Türkiye’de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler, Doğa TU Eczacılık. 1991; 1:76-88.
15. Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu Yayınları No: 578, Ankara, 1994.
16. Oğuz A. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2008, Tokat (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Abdulvahit SAYASLAN)
17. Geisman T. A. and Crout D. H. G. Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism. 1969, California.
18. Baytop A. Türkiye’de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler. Doğa TU Eczacılık D. 1991; 1:76-88.
19. Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik 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. 1996; 53:75-87.
20. Tabanca N, Weerasooriya A. D, Demirci B, Baser H. C, Wedge D. E, Johnson N, Khan I. A. Biological activities and composition of essential oils from the plants grown in the medicinal plant garden at the national center for natural products research, Planta Medica, 2008; 74:360-360.
21. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Tanaka T, Takeda Y. Traditional Medicine in Turkey X Folk Medicine in Central Anatolia, Journal of Ethnopharmacology. 2001; 75:95-111.
22. Zengin G, Llorent-Martinez EJ, Cordova MLF, Bahadori MB, Mocan A, Locatelli M, Aktümsek A. Chemical Composition and Biological Activities of Extracts From Three *Salvia* Species: *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var.

- leicalycina* and *S.verticillata* subsp. *amasiaca*. *Industrial Crops & Products*. 2018; 111:11-21.
23. Pereira OR, Catarino MD, Afonso A.F, Silva AMS, Cardoso SM. *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* Decoctions: Antioxidant Activities and Inhibition of Carbohydrate and Lipid Metabolic Enzymes, *Molecules*. 2018; 23:3169-3185.
24. Uysal S. A comparative study of three drying methods on the phenolic profile and biological activities of *Salvia absconditiflora*, *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019; 13:162-168.
25. Farhat MB, Sotomayor JA, Jordán MB. Antioxidants of *Salvia aegyptiaca* L. residues depending on geographical origin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 2019; 17:486–491.
26. Halfön B, Çetin Ö, Kökdil G. Topçu G. Chemical Investigation and Bioactivity Screening of *Salvia cassia* Extracts. *Records of Natural Products*, 2019; 13:156-166.
27. Sen-Utsukarci B, Gurdal B, Bilgin M, Satana D, Demirci B, Tan N. Mat A. Biological Activities of Various Extracts from *Salvia cassia* Sam. ex Rech.f. and Chemical Composition of Its Most Active Extract. *Records of Natural Products*. 2019; 13:24-36.
28. Esquivel B, Bustos-Brito C, Sánchez-Castellanos M, Nieto-Camacho A, Ramírez-Apan T, Joseph-Nathan P, Quijano L. Structure, Absolute Configuration, and Antiproliferative Activity of Abietane and Icetexane Diterpenoids from *Salvia ballotiflora*, *Molecules*. 2017; 22:1690-1711.
29. Alnahdi HS, Ramadan KS, Farid HEA, Ayaz NO. Effects of *Salvia Miltiorrhiza* extract on the regulation of antioxidant enzyme activities in liver and kidney of rats exposed to TCA, *Agricultural Research Communication Centre*. 2018; 52:1422-1427.
30. Zhang X, Yu Y, Cen Y, Yang D, Qi Z, Hou Z, Han S, Cai Z, Liu K. Bivariate Correlation Analysis of the Chemometric Profiles of Chinese Wild *Salvia miltiorrhiza* Based on UPLC-Qqq-MS and Antioxidant Activities, *Molecules*. 2018; 23:2-13.

31. Jasicka-Misiak I, Poliwoda A, Petecka M, Buslovych O, Shlyapnikov V.A, Wiczorek P.P. Antioxidant Phenolic Compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L., *Ecol Chem Eng S.* 2018; 25:133-142.
32. Kerkoub N, Panda SK, Yang MR, Lu J.G, Jiang ZH, Nasri H, Luyten W. Bioassay-Guided Isolation of Anti-Candida Biofilm Compounds From Methanol Extracts of the Aerial Parts of *Salvia officinalis* (Annaba,Algeria) *Frontiers in pharmacology.* 2018; 9:1-12.
33. Kolac UK, Ustuner MC, Tekin N, Ustuner D, Colak E, Entok E. The Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of *Salvia officinalis* on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in Rats. *Journal of medicinal food.* 2017; 12:1-8.
34. Ovidi E, Triggiani D, Valeri M, Mastrogiovanni F, Bonechi C, Taddei AR, Masci VL, Tiezzi A. Biological effects of *Salvia Officinalis* leaf extract on murine myeloma cells. *Pharmacognosy magazine.* 2018; 14:208-212.
35. Almada-Taylor G, Díaz-Rubio L, Salazar-Aranda R, Waksman de Torres N, Uranga-Solis C, Delgadillo-Rodríguez J, Ramos M.A, Padron JM, Hernández-Martínez R, Córdova-Guerrero I. Biological Activities of Extracts from Aerial Parts of *Salvia pachyphylla* Epling Ex Munz. *Plants.* 2018; 7:1-13.
36. Lee SH, Lee MK, Kim YJ, Asamenew G, Cha YB. Phenolic profiling and quantitative determination of common sage (*Salvia plebeia* R. Br.) by UPLC-DAD-QTOF/MS. *European Food Research and Technology.* 2018; 244:1637–1646.
37. Abdallah Q, Al-Deeb I, Bader A, Hamam F, Saleh K, Abdulmajid A. Anti-angiogenic activity of Middle East medicinal plants of the Lamiaceae family, *Moleculer medicine reports,* 2018; 18:2241-2448.
38. Vergine M, Nicoli C, Luvisi A, Nutricati E, Accogli RA, Sabella E, Miceli A. Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of *Salvia species* from Southern Italy. *records of naturel products.* 2019; 13(3):205-215.
39. Rustaie A, Hadjiakhoondi A, Akbarzadeh T, Safavi M, Samadi N, Sabourian R, Khanavi M. Phytochemical Constituents and Biological Activities of *Salvia suffruticosa*. *Research Journal of Pharmacognosy.* 2018; 5(2):25-32.

40. Grzegorzczak-Karolak I, Kiss AK. Determination of the Phenolic Profile and Antioxidant Properties of *Salvia viridis* L. Shoots A Comparison of Aqueous and Hydroethanolic Extracts. *Molecules*. 2018; 23:1-18.
41. Sharopov F, Valiev A, Sobeh M, Arnold E, Winka M. Bioactivity of three *Salvia* species in relation to their total phenolic and flavonoid contents. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018; 52:596-600.
42. Gezek G, Hashemi P, Kalaycıoğlu Z, Kaygusuz H, Sarıoğlu G, Döker S, Dirmenci T, Erim FB. Evaluation of some Turkish *Salvia* species by principal component analysis based on their vitamin B2, mineral composition, and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2019; 100:287-293.
43. Temel HE, Demirci B, Demirci F, Celep F, Kahraman A, Doğan M, Başer KHC. Chemical characterization and anticholinesterase effects of essential oils derived from *Salvia* species. *Journal of essential oil research*. 2016; 28 322-331.
44. Alimpic A, Knezevic A, Milutinovic M, Stevic T, Savikin K, Stajic M, Markovic S, Marin PD, Matevski V, Duletic-Lausevic S. Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. Extracts. *Industrial Crops and Products*. 2017; 105: 1-9.
45. Zengin G, Senkardeş İ, Mollica A, Picot-Allain MN, Bulut G, Doğan A, Mahomoodally MF. New insights into the in vitro biological effects. In silico docking and chemical profile of clary sage-*Salvia sclarea* L. *Computational Biology and chemistry*. 2018; 75: 111- 119.
46. Belhadj S, Hentati O, Hammami M, Hadj AB, Boudawara T, Dammak M, Zouari S, El Feki A. Metabolic impairments and tissue disorders in alloxan-induced diabetic rats are alleviated by *Salvia officinalis* L. essential oil. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018; 108:984-995.
47. Lin HY, Lin TS, Wang CS, Chein HJ, Juang YM, Chen CJ, Lai CC. Rapid determination of bioactive compounds in the different organs of *Salvia miltiorrhiza* by UPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*. 2019; 1104:81-88.

48. Xiang X, Cai HD, Su SL, Dai XX, Zhu Y, Guo JM, Yan H, Guo S, Gu DW, Tang ZS, Duan JA. *Salvia miltiorrhiza* protects against diabetic nephropathy through metabolome regulation and wnt/ β -catenin and TGF- β signaling inhibition. *Pharmacological Research*. 2019; 139: 25-40.
49. Özcan MM, Al-Yuhami FY, Ahmed IAM, Osman MA, Gassem MA. Effect of different microwave power setting on quality of chia seed oil obtained in a cold press. *Food Chemistry*. 2019; 278: 189-196.
50. Pavlic B, Oskar B, Teslic N, Vidovic S, Parpinello G, Zekovic Z. Chemical profile and antioksidant activity of sage herbal dust extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Industrial crops and products*. 2018; 120:304-312.
51. Hassan STS, Svadjlenka E, Rengasamy KRR, Melicharkova R, Pandian SK. The metabolic Profile of essential oils and assessment of anti-urease activity by ESI-mass spectrometry of *Salvia officinalis* L. *South African Journal of Botany*. 2019; 120:174-178.
52. Kobus-Cisowska J, Syzmannowska D, Maciejewska P, Kmiecik D, Gramza-Michalowska A, Kulczynski B, Cielecka-Piontek J. In vitro screening for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition and antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica*). *Electronic journal of biotechnology*. 2019; 37:1-10.
53. Güzel S, Özyay Y, Kumaş M, Uzun C, Gökalp Özkorkmaz E, Yıldırım Z, Ülger M, Güler G, Çelik A, Çamlıca Y, Kahraman A. Wound healing properties, antimicrobial and antioxidant activities of *Salvia kronenburgii* Rech.f. and *Salvia euphratica* Montbret, Aucher & Rech. f.var. *euphratica* on excision and incision wound models in diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019; 111:1259-1276.
54. Zengin G, Atasagun B, Aumeeruddy MZ, Saleem H, Mollica A, Bahadori MB, Mahomoodally MF. Phenolic profiling and in vitro biological properties of two Lamiaceae species (*Salvia modesta* and *Thymus argaeus*): A comprehensive evaluation. *Industrial Crops & Products*. 2019; 128:307-314.
55. Dulatic-Lausevic S, Aradski AA, Savikin K, Knezevic A, Milutinevic M, Stevic T, Vukojevic J, Markovic S, Marin PD. Composition and biological

- activities of Libyan *S. fruticosa* Mill. and *S. lanigera* Poir extracts. South Africa Journal of Botany. 2018; 117:100-109.
56. Gomez-Rvera A, Gonzalez-Cortazar M, Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, Rodriguez-Lopez V. Sessein and isosessein with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activity isolated from *Salvia sessei* Benth. Journal of Ethnopharmacology. 2018; 217:211-219.
57. Zengin G, Mahomoodally F, Picot-Allain C, Duizheva A, Jeko J, Cziaky Z, Cvetanovic A, Aktümsek A, Zekovic Z. Metabolomic profile of *Salvia viridis* L. root extracts using HPLC-MS/MS technique and their pharmacological properties: A comparative study. Industrial crops & products. 2019; 131:265-280.
58. Zhang C, Yang D, Liang Z, Liu J, Yan K, Zhu Y, Yang S. Climatic factors control the geospatial distribution of active ingredients in *Salvia miltiorrhiza* Bunge in China. Scientific Reports. 2019; 9:1-11.
59. Farimania MM, Miranb M, Ebrahimia SN. New Diterpenoids from the Aerial Parts of *Salvia reuterana*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2019; 18:406-411.
60. Fotovvat M, Radjabian T, Saboora A. HPLC Fingerprint of Important Phenolic Compounds in Some *Salvia* L. Species from Iran. Record of Natural products. 2019; 13:37-49.
61. Wei WJ, Zhou PP, Lin CJ, Wang WF, Li Y, Gao K. Diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza* and Their Immune-Modulating Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2017; 65:5985-5993.
62. Bursal E, Aras A, Kılıç Ö, Taslimi P, Gören AC, Gülçin İ. Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α amylase, butyrylcholinesterase, and α glycosidase enzymes. Journal of Food Biochemistry. 2019; 43:1-13.
63. Hatipoglu SD, Yalcinkaya B, Akgoz M, Ozturk T, Goren AC, Topcu G. Screening of Hallucinogenic Compounds and Genomic Characterisation of 40 Anatolian *Salvia* Species. Phytochemical Analysis. 2017; 28:541-549.

64. Mailis T, Skaltsa H. Polar Constituents of *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge, Growing Wild in Cyprus. *Plants*. 2018; 7:1-11.
65. Hatfield MJ, Binder RJ, Gannon R, Fratt EM, Bowling EM, Potter PM. Potent, Irreversible Inhibition of Human Carboxylesterases by Tanshinone Anhydrides Isolated from *Salvia miltiorrhiza* (“Danshen”). *Journal of Natural Products* 2018; 81:2410-2418.
66. Bahadori MB, Salehi P, Sonboli A. Comparative study of the essential oil composition of *Salvia urmiensis* and its enzyme inhibitory activities linked to diabetes mellitus and Alzheimer’s disease. *International Journal of Food Properties*. 2017; 20:2974-2981.
67. Hatipoğlu SD. Phenolic acid contents of *Salvia pocolata* Nab by LC-MS/MS. *journal of chemical metrology*. 2016; 10:11-15.
68. Çulhaoğlu B, Hatipoğlu SD, Dönmez AA, Topçu G. Antioxidant and anticholinesterase activities of lupane triterpenoids and other constituents of *Salvia trichoclada*. *Medicinal Chemistry Research*. 2015; 24:3830-3837.
69. Batista D, Falé PL, Serralheiro ML, Araújo ME, Dias C, Branco I, Grosso C, Coelho J, Palavra A, Madeira PJA, Martins A, Rauter AP. Phytochemical Characterization and Biological Evaluation of the Aqueous and Supercritical Fluid Extracts from *Salvia sclareoides* Brot. *De gruyter open*. 2017; 15:82-91.
70. Zhang XD, Yu YG, Yang DF, Qi ZC, Liu RZ, Deng FT, Cai ZX, Li Y, Sun YF, Liang ZS. Chemotaxonomic variation in secondary metabolites contents and their correlation between environmental factors in *Salvia Miltiorrhiza* Bunge from natural habitat of china. *Industrial crops & products*. 2018; 113:334-347.
71. Wang YL, Yin SJ, Huang SL, Zhang Q, Yang FQ. Screening and validating of 1,1diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine scavengers from Danshen Honghua herbal pair. *Pharmacognosy Research*. 2019; 11: 14-19.
72. Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Leporini M, Menichini F, Passalacqua NG. A study of *Salvia fruticosa* Mill subsp. *thomasii* (Lacaita) Brullo, Guglielmo, Pavone & Terrasi, an endemic Sage of Southern Italy. *Plant Biosystems*. 2018; 152:130-141.

73. Cutillas AB, Carrasco A, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. Composition and Antioxidant, Antienzymatic and Antimicrobial Activities of Volatile Molecules from Spanish *Salvia lavandulifolia* (Vahl) Essential Oils. *Molecules*. 2017; 22:1-17.
74. Llurba-Montesino N, Schmidt TJ. *Salvia Species* as Sources of Natural Products with Antiprotozoal Activity. *International journal of molecular science*. 2018; 19:1-32.
75. Hanson RJ. "Tutorial Chemistry Texts, Natural Products: The Secondary Metabolites". Royal Society of Chemistry. Birinci baskı. İngiltere. 2003; 1-31
76. Thomson RH. *The Chemistry of Natural Products*, Second Edition, Chapman & Hall. Suffolk. İkinci baskı. İngiltere. 1993; 90-106.
77. Manitto P. *Biosynthesis of natural products*. Ellis Harwood Ltd. Connecticut, United States. 1981. pp 255-262.
78. Harborne J.B. *Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, Third Edition, Chapman & Hall. London. 1988; 120-129.
79. Hanson JR. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.* 1984; 1:533.
80. Simmonds MSV, Blaney WM, Ley SV, Savona G, Bruno M, Rodriguez B. The antifeedant activity of clerodane diterpenoids from *Teucrium*. *Phytochemistry*. 1989; 28(4):1069-1071.
81. Hanson JR. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.* 1990; 7:140-149.
82. Hanson JR. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.* 1987; 4:370-399.
83. Hanson JR. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.* 1984; 1: 150-171.
84. Hanson JR. Diterpenoids. *J. Nat. Prod. Rep.* 1988; 6: 333-347.
85. Samaranyake G, Neidigh KA, Kingston DG. Modified taxols 8-deacetylation and reacylation of Baccatin III. *J. Nat. Prod.* 1993; 56(6):884-898.
86. Watjen W, Michels G, Steffan B, Niering P, Chovolou Y, Kampkötter A, Tran-Thi QH, Proksch P, Kahl R. Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. 2005; 135(3):525-31

87. Yao ZW, Yang J, Pan LZ, Chen ZQ. Periodontal treatment: Potential to reduce cardiovascular morbidity and/or mortality. *Medical Hypotheses*. 2009; 40(1):153-160
88. Keleş F. Bitkisel Gıdaların Fonksiyonel Özellikleri. I. Ulusal Gıda ve Beslenme Kongresi Bildiri Özet Kitabı. 29 Eylül-1 Ekim 2003. Harbiye-İstanbul
89. Hollman CHP. Evidence for Health Benefits of Plant Phenols:local systemic effects. *Journal of The Science of Food and Agriculture*. 2001; 81: 842-852.
90. Fuzfai ZS, Molnar-Perl I. Gas chromatographic–mass spectrometric fragmentation study of flavonoids as their trimethylsilyl derivatives: Analysis of flavonoids, sugars, carboxylic and aminoacids in model systems and in citrus fruits. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1149(1): 88-101.
91. Cemeroğlu B. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. 1. Cilt. Başkent Klışe Matbaacılık. 2004. Ankara.
92. Acar J, Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. Gıda Kimyası, Editör; Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 1998, 435-452.
93. Çam M, Hısıl Y. Gıdalardaki Flavonoidler ve Önemleri. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2003. Ankara.
94. Oğuz A. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2008, Tokat (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Abdulvahit SAYASLAN)
95. Geisman TA, Crout DHG. *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. California: Freeman, Cooper and Company. 1969; 3(1): 592-623
96. Fridovich I. Superoxide dimutases, *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*. 1986; 58: 61-97.
97. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 1996; 239:70-76.

98. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*. 1999; 299:152-178.
99. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters*. 1985; 187:33-37.
100. Whitehead TP, Thorpe GHG, Maxwell SRJ. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta*. 1992; 266:265-277.
101. Valkonen M, Kuusi T. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *Journal of Lipid Research*. 1997; 38:823-833.
102. Ghiselli A, Serafini M, Maiani G, Azzini E, Ferro-Luzzi A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*. 1995; 18:29-36.
103. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999; 27:1173-1181.
104. Liu F, Ooi VEC, Chang ST. Free radical scavenging activity of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*. 1997; 60:763-771.
105. Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1994; 315:161-169.
106. Slinkard K, Singleton VL. "Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods", *American Journal of Enology and Viticulture*. 1977; 28(1):49-55.
107. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vettuone MA. "Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina". *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 71(1-2):109-114.
108. Miller HE. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 1971; 48(2):90-91.
109. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958; 181:1199-1200.

110. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999; 26:1231-1237.
111. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52(26):7970-7981.
112. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961; 7:88-95.
113. Ertaş A, Gören AC, Haşimi N, Tolan V, Kolak U. Chemical Constituents of *Mentha longifolia* subsp. *noeana* with Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Activities, *Records of Natural Products*. 2015; 9(1):105-115.
114. Exarchou V, Troganis A, Gerothanassis IP, Tsimidou M, Boskou D. "Identification and quantification of caffeic and rosmarinic acid in complex plant extracts by the use of variable-temperature two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy", *J. Agric. Food Chem*. 2001; 49:2-8.
115. Guan C, Parrot D, Wiese J, Sönnichsen FD, Saha M, Tasdemir D, Weinberger F. "Identification of rosmarinic acid and sulfated flavonoids as inhibitors of microfouling on the surface of eelgrass *Zostera marina*". *Biofouling*. 2017; 33:867-880.
116. Alwahsh MAA, Khairuddean M, Chong WK. "Chemical constituents and antioxidant activity of *Teucrium barbeyanum* Aschers". *Rec. Nat. Prod*. 2015; 9:159-163.
117. Chaturvedula VSP, Prakash I. "Flavonoits from *Astragalus propinquus*". *J. Chem. Pharm. Res*. 2013; 5:261-265.
118. Ulubelen A, Topcu G, Eriş C, Sönmez U, Kartal M, Kurucu S, Bozok-Johansson C. Terpenoids from *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*. 1994; 36(4):971-974.

119. Kusumoto N, Ashitani T, Hayasaka Y, Murayama T, Ogiyama K, Takahashi K. "Antitermitic activities of abietane-type diterpenes from *Taxodium distichum* cones". J. Chem. Ecol. 2009; 35:635–642.
120. Selyani S, Dinçer M. Salt and co-crystal formation from the reaction of fumaric acid with different N-heterocyclic compounds: Experimental and DFT study. Molecular Crystals and Liquid Crystals. 2018; 666(1): 65-78.
121. Swislocka R, Kowczyk-Sadowy M, Kalinowska M, Lewandowski W. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, ^1H and ^{13}C NMR) and theoretical studies of *p*-coumaric acid and alkali metal *p*-coumarates. Spectroscopy. 2012; 27(1): 35-48.
122. Ulubelen A, Topcu G, Chai H B, Pezzuto, JM. Cytotoxic Activity of Diterpenoids Isolated from *Salvia hypargeia*. Pharmaceutical Biology. 1999; 37: 148-151.
123. Gohari AR, Ebrahimi H, Saeidnia S, Foruzani M, Ebrahimi P, Ajani Y. Flavones and Flavone Glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2011; 10(2):247–251.
124. Ulubelen A, Topçu G, Chen S, Ca P and Snyder J K. A new abietane diterpene from *Salvia wiedemannii* Boiss. J. Org. Chem. 1991; 56: 7354–7356.
125. Araujo ECC, Lima MAS, Nunes EP, Silveira ER. Abietane diterpenes from *Hyptis platanifolia*. Journal of the Braz. Chem. Soc. 2005; 16: 1336-1341.
126. Sun Y, Zhu H, Wang J, Liu Z, Bi J. Isolation and purification of salvianolic acid A and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* by high-speed counter-current chromatography and comparison of their antioxidant activity. J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2009; 877: 733–737.
127. Li LN, Rui T, Chen WM. Salvianolic Acid A, a New Depside from Roots of *Salvia miltiorrhiza*. Planta Medica. 1984; 50(3):227-228.
128. Takashi M, Yoshinori E, Masaru O. "The Synthesis of (+)-Pisiferol and (+)-Pisiferal", Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1983; 56:7.
129. Topcu G, Gören AC. "Biological Activity of Diterpenoids Isolated from Anatolian Lamiaceae Plants" Records of Natural Products. 2007; 1(1): 300-319.

130. Topçu G, Ertaş A, Kolak U, Öztürk M, Ulubelen A. Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. Arkivoc. 2007; 7:195 – 208.
131. Ulubelen A, Topcu G, Johansson CB. Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. J Nat Prod. 1997; 60(12):1275-80.
132. Topçu G, Tan N, Ulubelen A, Sun D, Watson WH. Terpenoids and Flavonoits From the Aerial Parts of *Salvia candidissima*. Phytochemistry. 1995; 40(1): 501-504.
133. Hatipoğlu S.D. *Salvia adenophylla* ve *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* Bitkilerindeki sekonder metabolitlerin aktivite odaklı izolasyonu ve yarı sentetik türevlerinin antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin incelenmesi. İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU).



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	EVİN	Soyadı	AYGÜN TUNCA Y
Doğum Yeri	DİYARBAKIR	Doğum Tarihi	12.11.1986
Uyruğu	T.C.	Tel	05072614821
E-posta	evin_2112@hotmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ	2008
Lise	YUNUS EMRE LİSESİ	2002

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
ECZACI	EVİNDAR ECZANESİ	2011-

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	73,05188	73,56591	65,30366

Posterler

Evin Aygün Tuncay, Leyla Balur, Mehmet Fırat, İsmail Yener, Eyüp Tuncay, Hilal Saruhan Fidan, Esra Yarış, Mehmet Boğa, Abdulselem Ertaş, Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC), DPPH Free and ABTS Cation Radical Scavenging Activities of Ethanol Extract Fractions of Endemic *Salvia cerino pruinosa* var. *elazigensis*, 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants, 9-12 May 2017, Konya, Turkey

Leyla Balur, Hatice Cakirca, Abdulselem Ertaş, Evin Aygun Tuncay, Eyyup Tuncay, Mehmet Veysi Caglayan, Mehmet Fırat, Gulacti Topcu, Ufuk Kolak, *Secondary Metabolites Isolation Of Salvia cerino pruinosa Rech* var. *elazigensis*, 2nd International Gazi Pharma Symposium Series, 11-13 October 2017, Ankara, Turkey

10. ORJİNALLİK RAPORU

ORJİNALLİK RAPORU

%24 BENZERLİK ENDEKSİ	%14 İNTERNET KAYNAKLARI	%10 YAYINLAR	%16 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
---------------------------------	--------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Batman University Öğrenci Ödevi	%5
2	Submitted to Mugla University Öğrenci Ödevi	%4
3	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	%3
4	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	%1
5	www.tandfonline.com İnternet Kaynağı	%1
6	www.freepatentsonline.com İnternet Kaynağı	<%1
7	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	www.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	<%1
9	e-dergi.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK

BEYAN FORMU

I. ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı: Evin Aygün Tuncay

Numarası:15878007

Eğitim – Öğretim Yılı:2019

Yarıyıl: GÜZ BAHAR

Anabilim Dalı: Analitik Kimya Anabilim Dalı

Program: TEZLİ YÜKSEK LİSANS

Lisansüstü Eğitime Başlama Tarihi: 16.09.2015

Tez Konusu: *Salvia pseud euphratica* Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin Saflaştırılması, Antioksidan ve Antialzheimer Aktivitelerinin Belirlenmesi ve LC-MS/MS ve GC-MS ile Kimyasal İçeriklerinin İncelenmesi

II. İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ

Rapor Türü: TEZ SAVUNMA SINAVI ÖNCESİ TEZ SAVUNMA SINAVI SONRASI

Sayfa Sayısı: 248

Benzerlik Oranı: % 24

Raporlama Tarihi: 13.06.2019

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, tartışma ve sonuç kısımlarından oluşan toplam 248 sayfalık kısmına ilişkin, 12.06.2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitinadlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 10'dur.

Uygulanan filtrelemeler:

- Kabul/Onay, Beyan, Teşekkür, İçindekiler, Kısaltma ve Simgeler, Şekil, Resim ve Tablolar sayfaları hariç,
 Kaynakça (Bibliyografya) hariç
 Alıntılar hariç
 Tez Danışmanı onayıyla kelime ve %'lik filtresi uygulaması (% 1)

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

Yukarıda bilgileri verilen tezi bilimsel, şekilsel ve etik kurallar çerçevesinde inceledim. Tezin Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği ve Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu kurallarına uygun olduğunu onaylarım. Jüri karşısında savunabilir olduğunu bilgilerinize arz ederim.

(İmza)

(İmza)

....../....../.....

....../....../.....

Öğrenci

Danışman

Evin AYGÜN TUNCAY

Doç.Dr.Mehmet BOĞA