



Salvia cryptantha BİTKİSİNDEN
SEKONDER METABOLİTLERİN İZOLASYONU ve
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Perihan KÖYSÜ

Yüksek lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mahfuz ELMATAŞ

2015

Her hakkı saklıdır

**T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Salvia cryptantha* BİTKİSİNDEN SEKONDER METABOLİTLERİN
İZOLASYONU ve ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

PERİHAN KÖYSÜ

**TOKAT
Aralık - 2015**

Her hakkı saklıdır

Bu tez çalışması;

**Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
2015/87'nolu proje ile desteklenmiştir.**

PERİHAN KÖYSÜ tarafından hazırlanan “*Salvia cryptantha* BİTKİSİNDEN SEKONDER METABOLİTLERİN İZOLASYONU ve ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 21 Aralık 2015 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu İle Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ



Üye
Prof. Dr. Mustafa CEYLAN
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

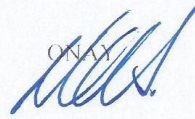


Üye
Yrd. Doç. Dr. Yakup ULUSU
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi



Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 10/12/2015 tarih ve 63 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ONAY



Prof. Dr. Mehmet Ali SAKİN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

25.12/2015

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

PERİHAN KÖYSÜ

21 Aralık 2015

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Salvia cryptantha* BİTKİSİNDEN SEKONDER METABOLİTLERİN İZOLASYONU ve ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

PERİHAN KÖYSÜ

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

Ada çayı olarak bilinen *Salvia cryptantha*, *Lamiaceae* familyasında yer alan aromatik ve endemik bir bitki türüdür. Antimikrobiyal, anti-alzheimer ve antioksidan gibi biyolojik aktiviteye sahip olmalarından dolayı halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada *Salvia cryptantha* bitkisi Tokat Artova'dan toplanarak gölgede kurutulmuştur. Bitkinin uçucu yağları çıkarılarak GC-MS ile analiz edildi. Analiz sonucunda 27 uçucu yağ bileşeni tespit edildi. *Alpha pinen*, *Camphene*, *β- Pinene*, *Eucalyptol* ve *Borneol* ana bileşenler olarak belirlendi. *Salvia cryptantha* bitkisi su ile kaynatılıp sırası ile etilasetat ve n-bütanol ile ekstrakte edildi. Ekstrelerin fenolik bileşen miktarları belirlenerek antioksidan aktivite testleri yapıldı. Fenolik bileşen bakımından zengin ekstre de kolon kromatografisi ve preparatif yüksek performanslı sıvı kromatografisi (P-HPLC) teknikleri kullanılarak izolasyon işlemleri gerçekleştirildi. *S. cryptantha* bitkisinin izolasyon işlemleri sonunda 9 bilinen bileşik saflaştırıldı ve bunların antioksidan kapasiteleri belirlendi. En yüksek DPPH• radikal giderme, ABTS^{•+} katyon radikali giderme ve indirgeme gücü (FRAP) aktivitelerine sahip olan bileşik rosmarinik asit metil esteri (7) olarak görülmüş ve standartlar ile karşılaştırıldığında daha yüksek aktivite göstermiştir. En düşük DPPH• radikal giderme aktivitesi ursolik asit (1), en düşük ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi 3,4-dihidroksi benzaldehit (8), en düşük FRAP aktivitesi ise ursolik asit (1) bileşiği olduğu görülmüştür. Metal şelat oluşturma aktivitesinin en yüksek olduğu bileşik crismaritin (2) bileşiği iken diğer saflaştırılan bileşiklerin metal şelatlama aktiviteleri düşük olarak bulunmuştur.

2015, 90

ANAHTAR KELİMELELER: *Salvia cryptantha*, Antioksidan, İzolasyon, Kromatografi, Sekonder metabolitler

ABSTRACT

MASTER THESIS

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES FROM *Salvia cryptantha* AND DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES

PERİHAN KÖYSÜ

GAZIOSMANPASA UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

Salvia cryptantha which is known as “Adacayı” is an aromatic and endemic plant that belongs to Lamiaceae family. It has been widely used in folk medicine due to its biological properties such as antimicrobial, anti-alzheimer and antioxidant.

In this study, *S. cryptantha* plant was collected from Artova, Tokat and dried in shadow. Essential oils of the plant were analyzed by GC-MS. Twenty seven components were determined. *Alpha pinen*, *Camphene*, *β- Pinene*, *Eucalyptol* and *Borneol* were assigned as major components of *S. cryptantha*. *S. cryptantha* plant was boiled with distilled water and extracted with ethyl acetate and n-butanol, respectively. Phenolic compound content of the extracts was determined and antioxidant activity tests were applied to the extracts. Isolation processes were carried out using column chromatography and preparative high performance liquid chromatography techniques for the extract which was rich in phenolic compounds. Nine known compounds were obtained from the isolation and purification of *S. cryptantha*. Rosmarinic acid methyl ester (**7**) was seen highest DPPH[•] radical scavenging, ABTS^{•+} cation radical scavenging and reducing power (FRA) activities and showed higher activity when compared with the standards. While urcolic acid (**1**) showed the lowest DPPH[•] radical scavenging activity, the lowest ABTS^{•+} cation radical scavenging activity was seen in 3,4-dihydroxy benzaldehyde (**8**) and the lowest FRAP activity was seen in urcolic acid (**1**). While crismaritin (**2**) show the highest metal chelating activity, isolated other compounds were found to be low in metal chelating activity.

2015, 90

KEYWORDS: *Salvia cryptantha*, Antioxidant, Isolation, Chromatography, Secondary metabolites

ÖNSÖZ

Çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek beni yönlendiren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Mahfuz Elmastaş'a;

Laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden dolayı sayın Prof. Dr. Ramazan Erenler'e;

Tez çalışmam süresince her zaman yanımda olan, deneyimlerini paylaşan çalışma arkadaşlarım Uzman Hüseyin Akşit'e, Uzman Dr. Özkan Şen'e, Uzman Nusret Genç'e;

NMR yorumlarındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Ferda ESER'e

Laboratuvar çalışmalarım ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımları ile yanımda olan laboratuvar çalışma arkadaşlarıma;

Tüm zorluklara rağmen her zaman yanımda olan, anlayış gösteren, beni destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Perihan KÖYSÜ

21 Aralık 2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	2
2.1. Bitkilerde Bulunan Primer ve Sekonder Metabolitler	2
2.2. Bitkilerde Bulunan Bileşenler Hakkında Bilgiler	2
2.2.1. Flavonoidler	2
2.2.2. Terpenler	3
2.3. Bitkinin Familyası ve Tanıtımı	5
2.3.1. Sistematik.....	5
2.3.2. <i>Lamiaceae (Labiatae)</i> familyası	6
2.4. <i>Salvia</i> Cinsi	7
2.5. <i>Salvia</i> Türünün Ekonomik ve Tıbbi Önemi.....	7
2.6. <i>Salvia</i> Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları	8
2.7. Uçucu Yağların Genel Özellikleri	13
2.8. Antioksidanlar.....	14
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Bitkisel Materyal.....	16

Sayfa

3.2. Kullanılan Kimyasallar Maddeler	16
3.3. Kullanılan Cihazlar	16
3.4. Metot.....	17
3.4.1. Uçucu yağların hazırlanışı	17
3.4.2. Bitkinin ekstraksiyonu	17
3.5. Ekstrelerde % Verim Hesaplaması	17
3.6. Ayırma ve Saflaştırma İşlemleri	18
3.6. 1. Kolon kromatografisi.....	18
3.6. 2. İnce tabaka kromatografisi (İTK)	20
3.7. Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi	20
3.7. 1. Total fenolik bileşik tayini	20
3.7. 2. Toplam flavanoid testi	21
3.7. 3. Serbest radikal (DPPH•) giderme aktivitesi	21
3.7. 4. İndirgeme gücü aktivitesi.....	21
3.7. 5. ABTS ⁺ radikali giderme aktivitesi.....	22
3.7.6. Metal şelatlama aktivitesi	22
3.8. Preparatif HPLC (P-HPLC) Analizi	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	26
4.1. Uçucu Yağların GC-MS Analiz Sonuçları	26
4.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Test Sonuçları	27
4.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Analizi.....	28
4.3.1. Ursolik asit (1)	28

Sayfa

4.3.2. Cirsimaritin (2)	33
4.3.3. Luteolin-7- <i>O</i> - β -glukozit (3)	39
4.3.4. Rosmarinik asit (4).....	45
4.3.5. Kafeik asit (5)	51
4.3.6. Luteolin (6)	54
4.3.7. Rosmarinik asit metil esteri (7).....	58
4.3.8. 3,4 dihidroksibenzaldehid (8)	62
4.3.9. Apigenin -7- <i>O</i> - β -glukozit (9).....	65
4.4. İzole Edilen Bileşiklerin Antioksidan Test Sonuçları.....	69
5. SONUÇLAR	73
6. KAYNAKLAR	76
7. EKLER	82
EK-1 Antioksidan Aktivite Testlerinde Kullanılan Standartların Kalibrasyon	
Grafikleri	82
EK-2. İzole Edilen Bileşiklerin 2D-NMR Spektrumları	84
8. ÖZGEÇMİŞ	90

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
L	Litre
ppm	Milyonda bir kısım
°C	Santigrat derece
μL	Mikrolitre
δ	Kimyasal Kayma
μg	Mikrogram
mg	Miligram
kg	Kilogram
mL	Mililitre
β	Beta
α	Alfa

Kısaltma	Açıklama
ABTS	2,2-azino-bis-3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Aktivitesi
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
BHA	Bütillenmiş Hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi toluen
BHT	Bütillenmiş Hidroksi toluen
EDTA	Etilen diamin Tetra asetik asit
TCA	Trikloro asetik asit
TROLOKS	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
APT	Attached Proton Test

COSY	Correlation Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EtOAc	Etilasetat
MeOH	Metanol
IC ₅₀	Yüzde Aktivitenin Yarıısı Kadar Aktivite Gösteren Derişim
GAE	Gallik Aside Eşdeğer
TE	Troloksa Eşdeğer
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
DMSO	Dimetilsülfoksit
P-HPLC	Preparatif Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
GC-MS	Gas Chromatography–Mass Spectrometry
LC-TOF-MS	Uçuş zamanlı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
DMSO-d ₆	Dötero Dimetilsülfoksit

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kromon (benzo- γ -piron, (a) ve 2-fenil benzopiron (b)	3
Şekil 2.3. İzopren birimleri	4
Şekil 2.5. <i>Salvia cryptantha</i> bitkisi.....	5
Şekil 2.6. Karnosol ve rosmarinik asit bileşiklerinin yapısı	9
Şekil 2.7. Sugiol ve forskalinon bileşiklerinin yapısı	9
Şekil 2.8. Taksodion bileşiğinin yapısı	10
Şekil 2.9. 12-demetilmultikaulin, 2-demetilmultiortokinon ve 12-Metil-5-dehidroasetilhorminon bileşiklerinin yapısı.....	11
Şekil 2.10. Sıklareol bileşiğinin yapısı	12
Şekil 2.11. Antioksidanların sınıflandırılması	15
Şekil 3.1. Sudan etilasetat fazının 503-546 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı.....	23
Şekil 3.2. Sudan etilasetat fazının 426-502 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı.....	24
Şekil 3.3. sudan etilasetat fazının 547-634 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı.....	25
Şekil 4.1. Ursolik asit bileşiğinin yapısı	28
Şekil 4.2. Ursolik asit'in (^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6)	30
Şekil 4.3. Ursolik asit'in (^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)....	31

Şekil 4.4. Ursolik asit'in (1) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6) spektrumu	32
Şekil 4.5. Cirsimaritin bileşiğinin yapısı	33
Şekil 4.6. Cirsimaritin'in (2) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6) ...	35
Şekil 4.7. Cirsimaritin'in (2) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6) ...	36
Şekil 4.8. Cirsimaritin'in (2) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6) spektrumu.....	37
Şekil 4.9. Cirsimaritin'in (2) LC-TOF-MS kromatogramı	38
Şekil 4.10. Luteolin-7- O - β -glukozit bileşiğinin yapısı.....	39
Şekil 4.11. Luteolin-7- O - β -glukozit'in (3) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6).....	41
Şekil 4.12. Luteolin-7- O - β -glukozit'in (3) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6).....	42
Şekil 4.13. Luteolin-7- O - β -glukozit'in (3) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6) spektrumu.....	43
Şekil 4.14. Luteolin-7- O - β -glukozit'in (3) LC-TOF-MS kromatogramı	44
Şekil 4.15. Rosmarinik asit bileşiğinin yapısı.....	45
Şekil 4.16. Rosmarinik asit'in (4) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6)	47
Şekil 4.17. Rosmarinik asit'in (4) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6).....	48

Şekil 4.18. Rosmarinik asit'in (4) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR

(^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6) spektrumu..... 49

Şekil 4.19. Rosmarinik asit'in LC-TOF-MS kromatogramı..... 50

Şekil 4.20. Kafeik asit bileşiğinin yapısı 51

Şekil 4.21. Kafeik asit'in (5) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6) .. 52

Şekil 4.22. Kafeik asit'in (5) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6) .. 53

Şekil 4.23. Luteolin bileşiğinin yapısı 54

Şekil 4.24. Luteolin'in (6) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6) 55

Şekil 4.25. Luteolin'in (6) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)..... 56

Şekil 4.26. Luteolin'in (6) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR100 MHz
DMSO- d_6) spektrumu 57

Şekil 4.27. Rosmarinik asit metil esteri bileşiğinin yapısı..... 58

Şekil 4.28. Rosmarinik asit metil esteri'nin (7) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400
MHz, DMSO- d_6)..... 60

Şekil 4.29. Rosmarinik asit metil esteri (7) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100
MHz DMSO- d_6)..... 61

Şekil 4. 30. 3,4 Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin yapısı 62

Şekil 4.31. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400
MHz, DMSO- d_6)..... 63

Şekil 4.32. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100
MHz DMSO- d_6)..... 64

Sayfa

Şekil 4.33. Apigenin -7- <i>O</i> - β -glukozit bileşiğinin yapısı.....	65
Şekil 4.34. Apigenin-7- <i>O</i> - β -glukozit'in (9) ¹ H-NMR spektrumu (¹ H-NMR 400 MHz, DMSO-d ₆).....	66
Şekil 4.35. Apigenin-7- <i>O</i> - β -glukozit'in (9) ¹³ C-NMR spektrumu (¹³ C-NMR 100 MHz DMSO-d ₆).....	67
Şekil 4.36. Apigenin-7- <i>O</i> - β -glukozit'in (9) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (¹³ C-NMR 100 MHz DMSO-d ₆) spektrumu.....	68

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 2.1. Terpenlerin sınıflandırılması	4
Çizelge 3.1. Ekstrakt Verimi.....	4
Çizelge 3.2. <i>Salvia crptantha</i> kolon çözücü sistemi, birleştirilen fraksiyon aralıkları ve izole edilen bileşikler	19
Çizelge 4.1. <i>Salvia cryptantha</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri.....	26
Çizelge 4.2. Ekstrelerin antioksidan aktivite test sonuçları	27
Çizelge 4.3. Ursolik asit'in (1) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	29
Çizelge 4.4. Cirsimaritn'in (2) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	34
Çizelge 4.5. Luteolin-7- <i>O</i> - β -glukozit'in (3) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	40
Çizelge 4.6. Rosmarinik asit'in (4) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	46
Çizelge 4.8. Kafeik asit'in (5) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	51
Çizelge 4.8. Luteolin'in (6) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri	54
Çizelge 4.9. Rosmarinik asit metil esteri (7) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	59
Çizelge 4.10. 3,4 dihidroksibenzaldehid (8) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	62
Çizelge 4.11. Apigenin -7- <i>O</i> - β -glikozid'in (9) ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR kimyasal kayma değerleri.....	65
Çizelge 5.1. İzole edilen bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçları	69

1. GİRİŞ

Türkiye bitki türleri açısından dünyanın en zengin florasına sahiptir. Bitkisel ilaçların daha etkili, daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlarla birlikte kullanımlarında tamamlayıcı rol oynamalarına olanak sağlamakta, tek başlarına ise alternatif terapi aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistemlerin enfeksiyonlarında iyileştirici amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir. Bu yönüyle antimikrobiyal aktiviteye sahip bitkilerin insan, hayvan ve bitki hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği bildirilmektedir (Başer, 1993)

Çok büyük yapısal çeşitliliğe sahip olan sekonder metabolitler, bitkide sekonder metabolizma yollarının ara ürünlerinden, özel yollarla üretilmektedirler. Sekonder metabolitler üzerinde yapılan araştırmalarda, bu bileşiklerin bitkiler tarafından çok az miktarlarda üretildiği belirlenmiştir. Buna karşılık doğal gıda ve ilaç ham maddeleri (farmasötikler, gıda katkı maddeleri, tatlandırıcılar, boyalar, koku vericiler, yapıştırıcılar, insektisitler, pestisitler vb.) bulmak üzere bu metabolitler üzerinde yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmakta ve bunun sonucu olarak da ekonomik önem kazanmaktadırlar (Başer, 1990; Baytop, 1999; Ahıskalıoğlu, 2007).

Antibiyotikler keşfedilene kadar *Salvia* türleri, bitki çayı içinde sıkça yer alan bir bitki olup, tüberküloz hastalarına terlemeyi önleyici olarak ve kronik bronşitin tedavisi için tavsiye edilmiştir. Bunun yanı sıra terleme, ateş, romatizma, zihinsel ve sinirsel rahatsızlıklara karşı tedavi edici olarak da kullanılmıştır. (Kamatou ve ark., 2005).

Endemik bir bitki türü olan *Salvia cryptantha* bitkisi, halk arasında antiseptik olarak yaygın bir kullanıma sahip olup, yüksek antimikrobiyal özelliğinden dolayı tedavi edici olarak da kullanılan bir bitkidir. Yapılan literatür taraması sonucunda, *Salvia cryptantha* bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin belirlendiği ve bazı biyolojik aktivite çalışmaları yapıldığı tespit edilmiştir. Bitkinin sekonder metabolitlerinin izolasyonu üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tez çalışması kapsamında, *Salvia cryptantha* bitkisinin sekonder metabolitlerinin izolasyonu ve izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Bitkilerde Bulunan Primer ve Sekonder Metabolitler

Primer ve sekonder metabolitler bitkilerde bulunan doğal bileşiklerdir. Primer metabolitler; lipitler (trigliserit, fosfolipit), karbonhidratlar (nişasta, selüloz vb.), proteinler, mineraller (tuzlar, anyonlar, katyonlar vb.) ve hormonlar gibi büyüme, gelişme ve çoğalmalar için gerekli olan metabolitlerdir.

Sekonder metabolitler ise bitkilerin çevreyle adaptasyonunu sağlamak, koruma, taşınma üreme gibi faaliyetlerden sorumlu olan organik moleküllerdir. Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler fitosteroller, terpenler, terpenoidler, alkaloidler, fenolikler ve flavonoidlerdir. Günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan sekonder metabolitler bitkinin temel yaşamsal işlevleriyle doğrudan ilişkisi olmamasına karşılık en az primer metabolitler kadar önemlidir.

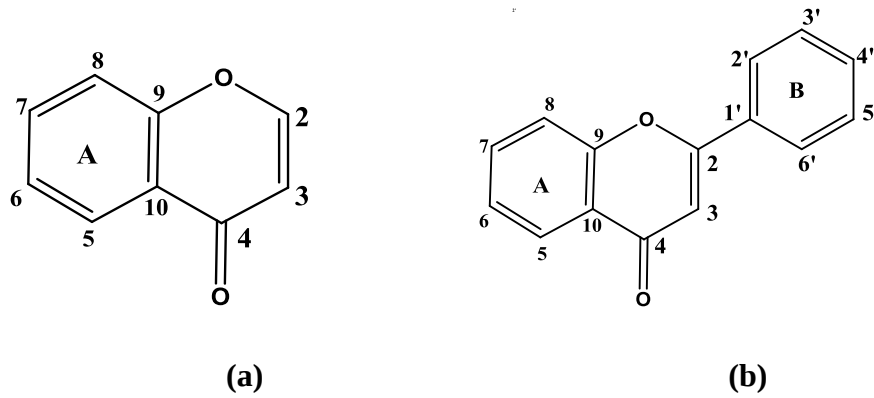
Sekonder metabolitlerin bitki bünyesindeki işlevlerinin oldukça karmaşık olması, araştırmacıların bu bileşikler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu alanda yapılan çalışmalar, hem bu bileşiklerin elde edilme metotlarının geliştirilmesine, hem de etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik olarak sürdürülmektedir. Özellikle sekonder metabolitler içinde yer alan fenolik bileşikler ile tokoferollerin, insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin belirlenmesi ile bu yönde yapılan çalışmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Bourgaud ve ark., 2001; Sökmen, 2001; Zarate, 2003).

2.2. Bitkilerde Bulunan Bileşenler Hakkında Bilgiler

2.2.1. Flavonoidler

Genellikle sarı renkli olmaları nedeniyle, latince sarı anlamına gelen flavus sözcüğünden türetilerek flavonoid adını alan bileşiklerdir. Flavonoid bileşikleri, flavon (2-fenilkromon)'un bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan türevleridirler. Bunlardan 3-OH içerenlere flavonoller, 2,3-çift bağı indirgenmiş olanlara flavanlar, fenil grubu 3 pozisyonunda olanlara izoflavonlar denilmektedir. Genellikle bu bileşikler sarı renkli bitkisel pigmentlerdir.

Flavonoid kromon türevi maddelerdir. Kromon; benzo- γ -pirondur (Ayhan, 2008) (Şekil 2.1). Doğal olarak birçok flavonoid bulunmaktadır. Bu flavonoidler, fenil grubunun kromon halkasında bulunan hidroksil gruplarının sayısı ve konumu, ayrıca metil esterlerinin bulunması ile birbirinden ayrılmaktadır. Bitkilerde birçok renkli bileşiği oluşturan bu maddelerin renkleri, hidroksil grubu ve ortamın pH'ına bağlı olarak koyu sarı renk içermektedir. Flavonoidler, bitkilerin kök, sap, çiçek, polen, meyve ve tohum gibi her bölümünde bulunabilirler.



Şekil 2.1. Kromon (benzo- γ -piron, (a) ve 2-fenil benzopiron (b)

2.2.2. Terpenler

Şekil 2.3.'de gösterilen izopren iskelet birimleri içeren bütün bileşiklere terpenler adı verilmiştir. Terpenler izoprenle ilişkisini belirtmek amacıyla izoprenoidler olarak da adlandırılmaktadır. Terpenler iki ya da daha çok izopren birimi içerebilirler ve içerdikleri izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar. Molekülleri açık zincir ya da halkalı olabilir. Çift bağlar, hidroksil grupları, karbonil grupları ve daha başka işlevsel grup içerebilirler. C ve H den başka elementleri içeren bileşiklere terpenoidler denir.



Şekil 2.3. İzopren birimleri

Terpenler, fiziksel özelliklerine göre iki grupta incelenirler. 1) Uçucu terpenler: Su buharı destilasyonu ile sürüklenebilen küçük moleküllü monotерpenler ve seskiterpenler 2) Uçucu olmayan terpenler: Büyük moleküllü seskiterpenler, diterpenler, triterpenler ve politerpenler

Terpenleri saflaştırmada genellikle kolon ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleri kullanılabildiği gibi pek çok kromatografik yöntemlerde kullanılabilir (Boiteu, 1964).

Çizelge 2.1. Terpenlerin sınıflandırılması

İzopren sayısı	Sınıfı	Karbon sayısı
1	Hemiterpenler	5
2	Monoterpenler	10
3	Seskiterpenler	15
4	Diterpenler	20
5	Sesterpenler	25
6	Triterpenler	30
8	Tetraterpenler (Karotenoidler)	40
n	Politerpenler	(5) n

Diterpenler, dört izopren ünitesinden oluşan 20 karbonlu molekülüdür. Diterpenler, steroidlerden ve triterpenlerden daha kolay oksitlenirler. Bu nedenle diterpenlerde kimyasal reaksiyonlarda farklılıklar gözlenir (Aksit, 2008).

2.3. Bitkinin Familyası ve Tanıtımı

2.3.1. Sistematik

Alem : *Plantae*

Şube : *Magnoliophyta*

Sınıf : *Magnoliopsida*

Takım : *Lamiales*

Familya : *Lamiaceae*

Cins : *Salvia*

Tür : *Salvia cryptantha* Montbert & Aucher ex Benth



Şekil 2.5. *Salvia cryptantha* Bitkisi

2.3.2. *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyası

Lamiaceae familyası ilk kez De Jussieu tarafından 1789 yılında *Labiatae* adıyla isimlendirilmiştir. Daha sonra Lindley tarafından 1836 yılında *Lamiaceae* olarak adlandırılmıştır (Grieve, 1984; Hedge, 1992). Familya ile ilgili fosil kayıtları olmamasına rağmen yine de kökeninin Oligosen'e veya 70-90 milyon yıl öncesine dayandığı söylenebilir (Chadefaud, 1960; Hedge, 1986). *Lamiaceae* (ballıbabagiller), çoğunlukla güzel kokulu, bir ya da çok yıllık, otsular, nadiren çalılar veya ağaçları kapsayan çiçekli bitkiler familyasıdır. *Lamiaceae* familyası tıpta ve parfümeride kullanılan birçok uçucu yağ içeren bir familya olarak önem taşımaktadır. Yapraklarında, kokulu yağ salgılayan küçük salgı bezleri bulunur. Dolayısıyla başta nane, kekik, adaçayı ve lavanta çiçeği olmak üzere bu familyaya ait çiçekler bol ıtırılı olur. Baş sekiz hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri bu familya için karakteristiktir (Baytop, 1996). Gövdeleri genellikle 4 köşelidir. Çiçekler vertisillastrum durumdadır. Korolla çoğunlukla iki dudaklıdır. Stamenler 4 veya 2 tanedir. (Davis, 1982; Hatipoğlu, 2010).

Familya üyeleri Dünya'nın birkaç bölgesi hariç, Himalaya'lardan Güneybatı Asya'ya, Hawai ve Avustralya'ya, Afrika ve Amerika'ya kadar değişik bölgelerde çok farklı yüksekliklerde ve değişik habitatlarda yetişebilir. *Lamiaceae* familyasının yeryüzünde 250 kadar cinsi ve 3200'ü aşkın türü mevcuttur. Yurdumuzda ise 46 cins ve bunlara ait 758 takson ile temsil edilen *Lamiaceae* familyası Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası olup ülkemizdeki endemizm oranı % 45'tir (Başer, 2006). *Lamiaceae* familyasının en fazla takson içeren cinslerinin başında *Salvia* (c. 900 tür) gelir ve kozmopolit bir cinstir. Ayrıca *Scutellaria*, *Stachys* ve *Thymus* familyanın diğer kozmopolit cinsleridir. *Rosmarinus*, *Phlomis* ve *Sideritis* türleri karakteristik maki ve garig üyeleridir. Genellikle açık habitatlara uyum sağlamış türlerdir. Sadece birkaç cins (*Gomphostemma*) tropikal yağmur ormanlarında görülür.

2.4. *Salvia* Cinsi

Salvia cinsinin ismi, eski zamanlarda şifalı bitki olarak ünlenen, Latince “*salvere*”, korumak, isminden türemiştir (Grieve, 1984). Çoğunlukla aromatik, otsu, yarı çalimsı veya çalimsı, çok yıllık, nadiren iki ve tek yıllık bitkilerdir. Gövde dik veya yatık, salgı tüylü veya salgı tüysüz ya da çıplaktır. Yapraklar tam parçalanmamış, çiçek durumu çeşitli dizilişte simoz olup vertisillastrumlar çiçekli, uzak veya birbirine yakın gruplar halindedir (Davis, 1982).

Dünyada bugün *Salvia*’nın 900 den fazla türü vardır. Ağırlıklı olarak orta Amerika, güney Amerika ve Asya’da bulunmaktadır. Türkiye’de ise 94 taksonu vardır. Bunlardan 45’i Türkiye’ye endemiktir. Bitki kimyası araştırmaları, *Salvia* türlerinin flavonoidler (Topcu, 1995) ve diğer fenolik bileşiklerin (Lu ve Foo, 2002) yanı sıra, diterpenler (Ulubelen, 1995; Topcu, 2007) ve triterpenlerce de (Topcu, 2006; Arslan ve Celik, 2008) zengin olduğunu göstermiştir (Kahraman ve ark., 2010). *Salvia* türleri eski zamanlardan beri bütün dünyada soğuk algınlığı, bronşit, tüberküloz, menstürel bozukluklar ve sindirim bozukluklarından korunmak için kullanılmaktadır (Ayensu, 1981). Ayrıca antioksidan, antibakteriyel, antitümör, kardiyoaktif ve antidiyabetik özelliklere sahiptir (British, 1983).

2.5. *Salvia* Türlerinin Ekonomik ve Tıbbi Önemi

Bitkilerdeki biyolojik aktif bileşenlerin belirlenmesi üzerine birçok farmakolojik çalışma mevcuttur. İncelenen türler biyolojik aktivite olarak antimikrobiyal, antiviral, antitümör, antioksidan, antihidrotik aktiviteleri içermekte ve özellikle zihinsel, sinirsel ve gastrointestinal koşulların tedavisinde kullanılmaktadır. (Digrak, 1999; Parekh, 2005). Bitki orijinli antimikrobiyel ajanlar çok büyük iyileştirici özelliğe sahiptir (Verastequi, 1996).

Günümüzde ise antibiyotik kullanımının artması antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç geliştirmesine neden olmuştur. Bu durum, bilim adamlarını yeni antibiyotikler geliştirmeye yöneltmiştir (Nostro, 2000). Antimikrobiyel kemoterapide çeşitli enfeksiyonların genelinde antimikrobiyel kemoterapi olarak sinerjik etkisi olan Agumantin gibi ilaçlar kullanılır.

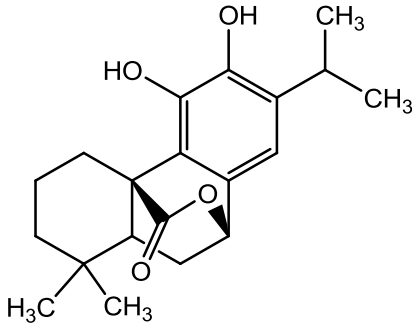
Halk arasında birçok bitki birbiri ile karıştırılarak tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Literatürdeki etnobotanik çalışmalara bakıldığında *Salvia* türlerinin çeşitli enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkili olduğu görülmüştür (Kamatoua, 2006). Afrika'nın güney kesiminde *Salvia stenopylla*, *Salvia runcinata* ve *Salvia repen* mikrop öldürücü ve temizleyici olarak kullanılmaktadır. Yaprakları da kaynatılarak terleme, ateş, baş ağrısı ve hazım zorluğuna karşı kullanılır. Bitki ekstraktları vücutta meydana gelen açık yaralara karşı da kullanılmaktadır. Halk arasındaki kullanımının yaygınlığı günümüzde bilim adamlarını bu bitkilerin aktif bileşenlerini ve biyolojik aktivitelerini araştırmaya itmiştir. Bu alanda yapılan çalışmalar, farklı *Salvia* türlerinin antibakteriyel, antiinflammatuar, antikolinesteraz ve antikanser aktiviteleri olduğunu göstermektedir. *Salvia* türleri özellikle yemeklere tat vermek amaçlı kullanılırken, ekstraktları ise genellikle yiyeceklerin raf ömürlerini uzatmak için kullanılmaktadır. Antioksidan aktivitesinin yanında (Kabouchea, 2006; Tepe, 2007) antiseptik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, sitotoksik, (Ulubelen, 2009; Lin, 1989) diüretik özellikler sergilemekte ve hipoglisemi (Jimenez, 1986) tedavisinde kullanılmaktadır. Keller'in oluşturduğu listesine göre adaçayı 60'dan farklı rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır (Orhan, 2007).

2.6. *Salvia* Türleri ile Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları

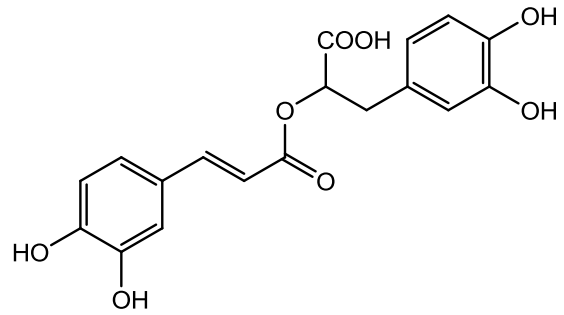
Salvia türleri üzerine birçok kimyasal araştırma ve aktivite çalışmaları yapılmıştır. Dünyada 1000'e yakın *Salvia* türü, gıda, kozmetik, tıp gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Tabanca, 2008). *Salvia* türleri gıda endüstrisinde önemli antioksidan kaynağı olarak kullanılmaktadırlar ve doğal antioksidanların vücuda alımında önemli rol oynarlar (Tabanca, 2008). Antibakteriyel, mikostatik, virütik, astingent ve antihidrotik aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivite gösterirler (Anonymus, 1994).

Salvia brachyantha'nın antioksidan enzim savunma sisteminin neden olduğu hücre tahribatına karşı koruma sağladığı görülmüştür. Bundan dolayı, bu bitkinin özütü ilaç ve gıda endüstrisi için önem arz etmektedir. *Salvia* türlerinden izole edilen rosmarinik asidin, antitümör ve antihepatit aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, kan pıhtılaşmasını önleyici, iltihap önleyici özellik sergilediği, HIV-1'in inhibisyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Esmaeili, 2010).

Karnosik asit, karnosol ve rosmarinik asit gibi yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşiklere sahip olan *Salvia* türleri, reaktif oksijenin etkisiz hale getirilmesi ve lipid peroksidasyonunun inhibe edilmesinde etkili rol oynarken, güçlü antimikrobiyal aktivite de sergilemektedirler (Bozin, 2007).



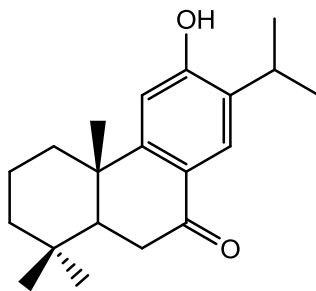
Karnosol



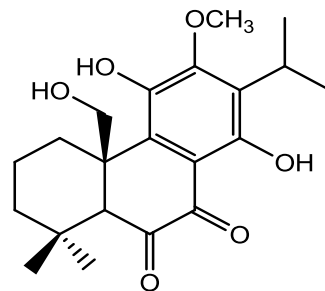
Rosmarinik asit

Şekil 2.6. Karnosol ve rosmarinik asit bileşiklerinin yapısı

Salvia albocaerulea Lidl'den izole edilen sugiol bileşiğinin (Şekil 2.7) ve *Salvia forskahlei* bitkisinden izole edilen abietan diterpen forskalinonun antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Ulubelen, 2009).



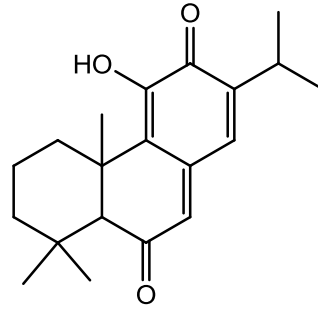
Sugiol



Forskalinon

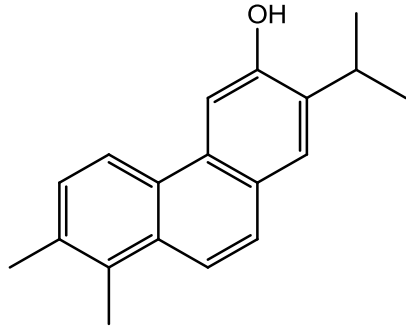
Şekil 2.7. Sugiol ve forskalinon bileşiklerinin yapıları

Salvia barrelieri bitkisinden izole edilen taksodion, ferruginol, iguestol ve demetilinorroyleanon bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri incelenmiş, taksodion bileşiğinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden yine yüksek antioksidan aktivite gösteren iguestol'un antioksidan standart olan BHT ve α -TOC'dan daha yüksek süperoksit anyon radikal giderme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Kolak, 2009).

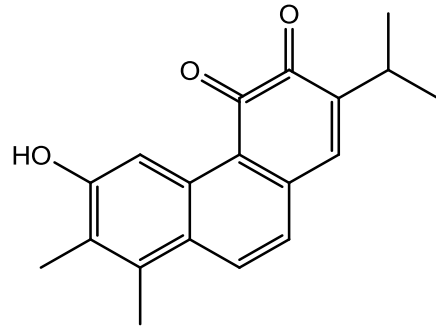


Şekil 2.8. Taksodion bileşiğinin yapısı

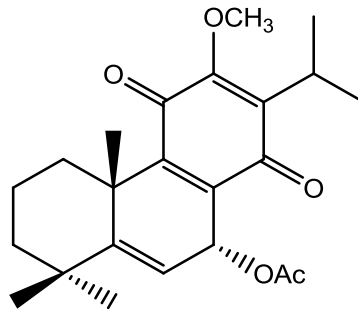
Salvia multicaulis bitkisinden izole edilen multicaulin, 12-demetilmultikaulin, multiortokinon, 12-Dimetilmultiortokinon, 12-Metil-5-dehidrohorminon, 12-Metil-5-Dehidroasetilhorminon, salvipimaron bileşiklerinin anti-tüberküloz aktiviteleri incelenmiş, *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv'e karşı yapılan anti- tüberküloz testinde izole edilen bu bileşiklerin oldukça aktif olduğu gözlenmiştir (Ulubelen, 1997).



12-Demetilmultikaulin



2-Demetilmultiortokinon

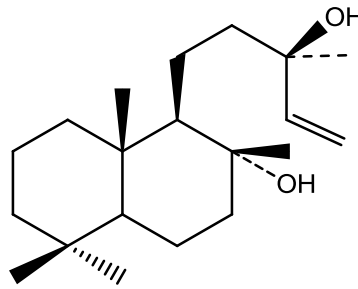


12-Metil-5-dehidroasetilhorminon

Şekil 2.9. 12-Demetilmultikaulin, 2-demetilmultiortokinon ve 12-metil-5-dehidroasetilhorminon bileşiklerinin yapısı

Salvia miltiorrhiza türünün karaciğer hücresinde anti-tümör etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu amaçla, *S. miltiorrhiza*'nın insan karaciğeri hücresindeki moleküler mekanizması incelenmiş, bitkinin yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği ve HepG2 hücrelerinin kuvvetli şekilde çoğalmasını inhibe ettiği ortaya konulmuştur (Liu, 2000).

Yine *Salvia miltiorrhiza*'dan izole edilen Salvianolik asit A'nın MPP⁺ üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu, yani insan nöroblastom SH-SY5Y hücrelerinde sitotoksositeye neden olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında, Salvianolik asit A'nın nörodejeneratif bir bozukluk olan parkinson hastalığının tedavisine iyileştirici bir rol oynayacağı öngörülmektedir (Xin-Jian W, 2005). *Salvia sclarea* bitkisinden izole edilen sclareolün tümöre direkt enjeksiyonunda bağışıklık sistemini koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sclareol bileşiğinin insandaki çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği ve inhibisyonu arttırdığı gözlenmiştir. Bütün bunların sonucunda, sclareolün canlı vücudunda göğüs kanserine karşı tümör büyümesini azaltıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir (Noori, 2010).



Şekil 2.10. Sclareol bileşiğinin yapısı

Endemik bir tür olan *Salvia cryptantha*'nın buhar ve su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarının GC ve GC-MS analizleri sonucu temel bileşenleri 1,8-Cineole (% 15,69-% 37,12), camphor (% 5,95- 13,04), α -pinene (% 1,00-% 11,93) ve Camphene (% 0,89-7,71) olarak tespit edilmiştir (Başer, 1995).

Erzincan bölgesinden toplanan *S. cryptantha* Montbret & Aucher Ex Benth, *Origanum acutidens* (Hvez- Mazz.) letswart, *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* bitkilerinin *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus* bakterilerine ve *Candida albicans* mayasına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış, bitki ekstraktlarının gram pozitif bakterilere ve *Candida albicans* mayasına karşı aynı etkiyi sergilemediği belirlenmiştir (Yiğit, 2002).

Salvia cryptantha ve *Salvia pomifera*'nın metanol, etanol ve uçucu yağlarının antimikrobiyal, antitüberküloz aktiviteleri yönüyle incelendiği çalışmada, *Salvia* türleri için karakteristik olan 1,8-cineol bileşiğinin *Salvia cryptantha* türünde % 16.7, *Salvia pomifera* da ise % 40 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki bitkinin uçucu yağlarının metanol ve etanol ekstrelerine göre daha fazla antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. cryptantha*'nın uçucu yağlarının gram negatif bakterilere (*K. pneumoniae* ve *E. coli*) karşı dikkate değer aktivite sergilediği gözlenmiştir. *Salvia pomifera*'nın metanol ekstresinin antitüberküloz aktiviteye sahip olduğu da yine aynı çalışmada belirlenmiştir (Kızılkıç, 2007).

Türkiye'ye endemik olan *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Bentham bitkisinin çiçek ve toprak üstü kısımlarından hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiştir. Uçucu yağ içeriği çiçekte % 0.4 ve toprak üstü aksamında % 1.44 olarak belirlenmiştir. Her iki kısımda da (toprak üstü ve çiçek) 1,8- cineole (% 30.38 ve % 36.28), valencene (%24.34 ve % 26.53) ve camphor (% 12.9 ve %14.72) başlıca bileşenler olmak üzere toplam 13 bileşen tanımlanmıştır (Bingöl, 2009).

2.7. Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Uçucu yağlar kompleks doğal bileşenler olup bitkilerin sekonder ürünleridir. Su ile karışmayan maddeler olup etanol, eter, benzen, petrol eteri gibi organik çözücülerde çözünürler. Oda sıcaklığında sıvı halde olup su buharı ile sürüklenabilen uçucu özellikte kokulu ve yağimsı karışımlardır (Berk, 1953; Baytop, 1986).

Uçucu yağlar ya bitkinin belirli organlarında (taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve vb.) ya da bitkinin tüm organlarında bulunabilirler. Bu yağlar bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunmaktadır (Çelik, 2007).

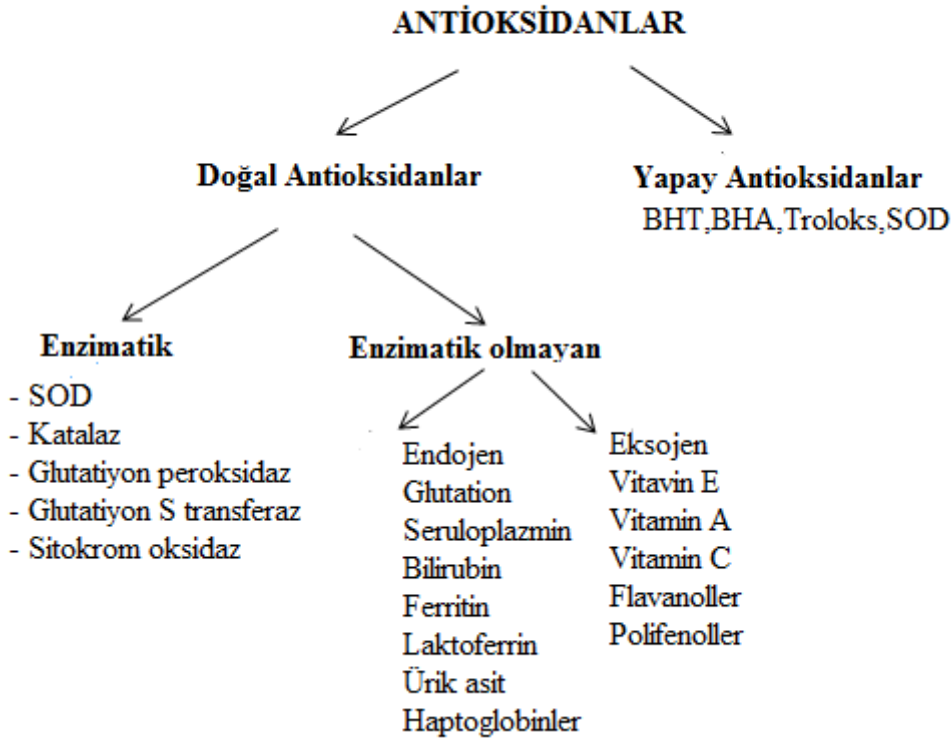
Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000’den fazla kimyasal bileşiğin bulunduğu tespit edilmiştir ve bunların büyük çoğunluğunun terpenik maddelerden oluştuğu belirlenmiştir. Az bir kısmı, aromatik benzen türevlerinin terpenlerle karışımı halindedir (Baytop, 1986). Uçucu yağların ana bileşenleri alkol, eter, keton, fenol, aldehit içeren mono ve seskiterpenlerdir. Diğer uçucu yağlar ise fenilpropenler ve spesifik sülfür yada nitrojen içeren maddeleri içerirler. Bu maddeler uçucu yağa aromatik ve tıbbi bitki özellik kazandırmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı eski çağlardan beri çeşitli baharatlar yemeklere sadece tat vermesi için değil aynı zamanda koruma amaçlıda eklenmiştir (Tepe, 2004). Çok uzun yıllardan beri uçucu yağlar bitkilerin çok çeşitli kısımlarından elde edilmektedir. Uçucu yağların istenilen koku ve tadı oksijenli bileşenlerden ileri gelmektedir. Oksijenli türevler ise terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelir.

Genel olarak yağ bileşeni çeşitli bileşenlerin belli oranda bir araya gelmesi ile oluşur. Birçok *Salvia* türü uçucu yağlar bakımından az ya da çok etkindir. *Salvia* türlerinden elde edilen uçucu yağ bileşenlerinde ana madde olarak 1,8-cineol (eukaliptol) ve borneol tespit edilmiştir. Bunun yanında bu türlerin uçucu yağlarının yararlı bileşenleri yüksek miktarda içerdiği belirlenmiştir (Delamare, 2007).

2.8. Antioksidanlar

Oldukça aktif moleküller olan radikallerin çoğalması canlı sistemlerde kontrol edilemeyen hasarlara yol açabilir. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek serbest radikallerin etkisini yavaşlatan, durduran bileşiklerdir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid oksidasyonunu inhibe ederler (Halliwell, 1992; Halliwell, 1994).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 gruba ayrılırlar. Doğal antioksidanlar etki mekanizmalarına göre enzimatik ve nonenzimatik olarak da iki sınıfa ayrılır. Şekil 2.11’de antioksidanların sınıflandırılması verilmektedir.



Şekil 2.11. Antioksidanların sınıflandırılması (Ahıskaloğlu, 2007)

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlayabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin özellikle oksidanlar lehine bozulması membran lipidleri, proteinler ve DNA gibi hücrenin önemli yaşamsal yapılarında bütünlüğün bozulmasına ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yol açar.

Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre deformasyonunun onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin arttırılması olarak tanımlanan beş değişik şekilde yürür (Akkuş, 1995; Ahıskaloğlu, 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Salvia cryptantha bitkisi, Tokat iline bağlı Artova ilçesinden Temmuz 2014 tarihinde toplanmıştır ve gölgede kurutuldu. Bitkinin rakım değeri 1279 m koordinatları K 40°06'37.68'' D 36°20'05.43'' dir. Bitki örneği Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryum'unda GOPU 6344 kodu ile muhafaza edilmektedir.

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Maddeler

Çözücüler: Kloroform, diklorometan, etilasetat, metanol, etanol, hekzan (Tüm çözücüler kullanılmadan önce destile edilmiştir)

NMR çözücüleri: D₂O, CDCl₃, DMSO-d₆ (Merck).

Reaktifler: DPPH, FeCl₃, ferrozin (Sigma), K₃Fe(CN)₆, TCA, KH₂PO₄, Na₂CO₃, Folin Ciocalteu Reaktifi (Sigma-Aldrich), BHA, BHT, Gallik asit (Merck), Amonyum seryum sülfat (Sigma).

Dolgu maddeleri; Silika jel (Merck 60-230 mesh), Alumina ince tabaka kromatografi (İTK) tabakaları (20x20) (Merck).

Belirteçler: Serik sülfat çözeltisi (Serik sültat çözeltisin yapılışı: 12 g amonyum seryum (IV) sülfat + 50 mL derişik sülfürik asit + 450 mL su ile birlikte hazırlandı).

HPLC cihazı için: asetonitril, deiyonize su ve formik asit.

3.3. Kullanılan Cihazlar

¹H-NMR (Bruker 400 MHz Spektrometre)

¹³C-NMR (Bruker 100 MHz Spektrometre)

P-HPLC Perkin Elmer Series200 pompa Series 200 UV-Vis dedektör

Döner buharlaştırıcı (Heidolph)

Manyetik karıştırıcı (İKA)

Liyofilizatör (ScanVac)

3.4. Metot

3.4.1. Uçucu yağların hazırlanışı

Kurutulmuş *S. cryptantha* bitkisi öncelikle sıvı azot yardımıyla toprak üstü kısmı küçük parçalara ayrıldı ve 100 g bitki örneği 1000 mL'lik balona alınarak, üzerine 500 mL su eklendikten sonra cleveger aparatı yardımı ile uçucu yağları çıkarıldı. Uçucu yağlar, GC-MS ile uçucu yağ bileşenleri analiz edildi.

3.4.2. Bitki ekstraksiyonu

Kurutulmuş bitki (900 g) su ile (9 L) kaynatıldıktan sonra süzöldü. Süzölen kısım önce etil asetat ile 3 kez ekstrakte edilerek ve sulu faz ile organik faz birbirinden ayrıldı. Organik fazdaki çözücü evaporatör yardımı ile uzaklaştırılarak etil asetat ekstraktı (Ekstre 1) elde edildi. Kalan sulu faz ise aynı şekilde n-bütanol ile 1 kez ekstrakte edilerek bütanol ekstraktı (Ekstre 2) elde edildi. En son kalan sulu fazın ise liyofilizatör yardımıyla suyu uzaklaştırılarak su ekstresi (Ekstre 3) elde edildi. Daha sonra, elde edilen ekstreler total fenolik bileşik tayini, toplam flavonoid tayini, serbest radikal (DPPH•) giderme aktivitesi, indirgeme gücü aktivitesi ve ABTS⁺ radikali giderme aktivitesi testleri uygulandı. Testler sonucunda en etkili ekstrakt EtOAc (ekstre 1) olarak belirlendiğinden izolasyon işlemlerine ekstre 1 üzerinden devam edildi.

3.5. Ekstrelerde % Verim Hesaplaması

Ham ekstrelerin verim hesabı için;

% verim = (W1*100) / W2 formülü kullanıldı.

W1: kuru ekstraktın ağırlığı (g),

W2: ekstraksiyonda kullanılan kuru bitkisel materyalin ağırlığıdır (g).

Bütanol fazı; % Verim = (25 *100) / 900 = 2.77 g

Etilasetat fazı; % Verim = (17 *100) / 900 = 1.88 g

Çizelge 3.1. Ekstrakt Verimi (%)

Faz	Kuru Bitki Miktarı (g)	Ekstrakt Verimi
Sudan Etilasetat Fazı	17	2,77
Sudan Bütanol Fazı	25	1,88

3.6. Ayırma ve Saflaştırma İşlemleri

3.6.1. Kolon kromatografisi

Kolon kromatografisinde dolgu maddesi olarak silika jel kullanıldı. Kolonun (2,5 x 80 cm) alt kısmına pamuk yerleştirildikten sonra 14 g EtOAc ham ekstresi 20 g silika jel ile homojenize edilerek kolona tatbik edildi.

Kolon, %100 hekzan ile başlatılarak artan polaritelerde hekzan-EtOAc, EtOAc, EtOAc-MeOH ve MeOH çözücü sistemleri ile elue edildi. 25 mL'lik hacimler halinde toplanan fraksiyonlar, TLC kontrolü yapılarak birleştirildi.

Çizelge 3.2. *Salvia crptantha* için kullanılan kolon çözücü sistemi, birleştirilen fraksiyon aralıkları ve izole edilen bileşikler

* Hem silika jel kolon uygulamasından hem de P-HPLC uygulamasından saflaştırıldı.

** P-HPLC uygulaması ile saflaştırıldı.

Çözücü Sistemi	Fraksiyon Aralıkları	Bileşenler
Hekzan(%90) EtOAc(%10)	1-33	-
Hekzan(%85) – EtOAc(%15)	34-137	-
Hekzan (%85) – EtOAc (%15)	138-156	Ursolik asit
Hekzan (%75) – EtOAc (%25)	157-256	Cirsimaritin
Hekzan(%75) – EtOAc (%25)	257-401	-
Hekzan (%65) – EtOAc (%35)	402-425	-
Hekzan (%55) – EtOAc (%45)	426-502	** Luteolin, ** Rosmarinik asitmetilesteri, ** 3,4 dihidroksibenzaldehit
Hekzan(%45) – EtOAc (%55)	503-546	** Kafeik asit
Hekzan(%30) – EtOAc (%70)	547-634	** Apigenin-7-O-β-glikozid
Hekzan (%20) – EtOAc (%80)	635-704	-
Hekzan(%20) – EtOAc (%80)	705-718	Luteolin-7-O-β-glukozit
Hekzan(%10) – EtOAc (%90)	719-780	-
EtOAc (%100)	781-794	-
EtOAc (%100)	795-814	*Rosmarinik asit
EtOAc (%100)	815-850	-
EtOAc (%90) – MeOH (%10)	851-914	-
EtOAc(%80) – MeOH (%20)	915-962	-
MeOH (%100)	963-990	-

3.6.2. İnce tabaka koromatografisi (İTK)

Ekstredeki bileşenlerin ayrılması için kolon kromatografisinin sonucunda elde edilen benzer fraksiyonların belirlenmesi amacıyla ince tabaka kromatografisi uygulandı. Maddelere ait spotlar UV (254 ve 366 nm) ışık altında incelendi. Spot renklerinin belirgin olarak görülmesi için silika jel plakalarının (TLC silicagel 60 GF₂₅₄ Merck) üzerine seriksülfat belirteci püskürtülüp ısıtıcıda 110°C’de oluşan spot renkleri incelendi. Kolon kromatografisinden alınan fraksiyonların her birine bu işlemler uygulanarak benzer fraksiyonlar birleştirildi.

3.7. Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için; izole edilen moleküllerden 1 mg/mL olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı. Daha sonra hazırlanan her bir numunenin serbest radikal (DPPH•) giderme aktivitesi (Blois, 1958), indirgeme gücü aktivitesi (Oyaizu, 1986) ve ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi (Re. ve ark., 1999) in vitro olarak belirlendi.

3.7.1. Total fenolik bileşik tayini

Numunelerin total fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu reaktifi ile yapıldı (Slinkard ve Singleton, 1977). 100 mL numune üzerine 4,5 mL destile su ilave edildikten sonra 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 3 dk beklendikten sonra %2’lik 300 µL sodyum karbonat (Na₂CO₃) ilave edildi. Bu karışım vortekslendikten sonra oda şartlarında 2 saat inkübe edildi. Numuneler oda sıcaklığına getirildikten sonra 760 nm’deki absorbansları spektrofotometrede kaydedildi. Standart olarak kullanılan gallik asidin farklı derişimleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi oluşturularak, sonuçlar g gallik aside eşdeğer fenolik bileşik/kg ekstrakt olarak verildi.

3.7.2. Toplam flavonoid testi

Chang C. ve arkadaşlarının uygulamış olduğu metoda göre yapıldı. (Chang, 2002) Numune için 100 µL bitki ekstraksiyonundan alındı. Hacim 4 mL oluncaya kadar üzerine metanol ilave edildi.

0,1 mL %10'luk $Al(NO_3)_3$ ve 0,1 mL 1 M CH_3COONH_4 ilave edildi. Vorteks işleminden sonra karışım oda sıcaklığında 40 dk inkübe edildi. 415 nm'de absorbans okundu ve kaydedildi. Standart olarak kullanılan quersetinin farklı derişimleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi oluşturularak, sonuçlar g quersetine eşdeğer flavonoid bileşik/kg ekstrakt olarak verildi

3.7.3. Serbest radikal (DPPH') giderme aktivitesi

Serbest radikal (DPPH') giderme aktivitesi Blois ve arkadaşlarının uyguladığı metoda göre yapıldı (Blois, 1958). 0,26 mM'lik DPPH' (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) çözeltisi etanolde hazırlandı. *S. cryptantha* numunelerinin stok çözeltilerinden uygun miktarlarda (10-200 µg/mL) alınarak üzerine 1mL DPPH (0,26 mM) çözeltisi eklendikten sonra tüpün içindeki çözeltinin hacmi 4 mL oluncaya kadar üzerine etanol ilave edildi. Daha sonra vorteks yapılarak 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi sona erdikten sonra her bir numunenin absorbansı 517 nm de spektrofotometre ile ölçüldü. Sonuçlar IC_{50} (µg/ml) değeri hesaplanarak verildi.

3.7.4. İndirgeme gücü aktivitesi

Bu analiz Oyaizu metodunun (Oyaizu, 1986) bazı modifikasyonlarına (Elmastaş ve ark., 2006) göre yapıldı. 100 µL bitki ekstraktı alınarak fosfat tamponu (0,2 M, pH 6,6) ile hacmi 1,25 mL'ye tamamlandı ve üzerine 1,25 mL potasyum ferrik siyanür $[K_3Fe(CN)_6]$ (%1) ilave edildi. Karışım 50°C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, bu karışıma TCA (1,25 mL, % 10) ve $FeCl_3$ (0,25 mL, % 0,1) ilave edildi. Elde edilen son karışımın absorbansları 700 nm'de kaydedildi. Sonuçlar Trolox Eşdeğer (TE) / g Ekstrakt olarak verildi.

3.7.5. ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi

Bu analiz Re ve ark. (1999), tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. Bu yöntemeye göre, 0,1M pH:7,4 (PO₄)³⁻ tamponu çözeltisi hazırlandı. Daha sonra fosfat tamponu ile hazırlanmış 2 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisi ile yine fosfat tamponu ile hazırlanmış 2,45 mM K₂S₂O₈ (potasyumpersülfat) çözeltisi 1:2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletildi.

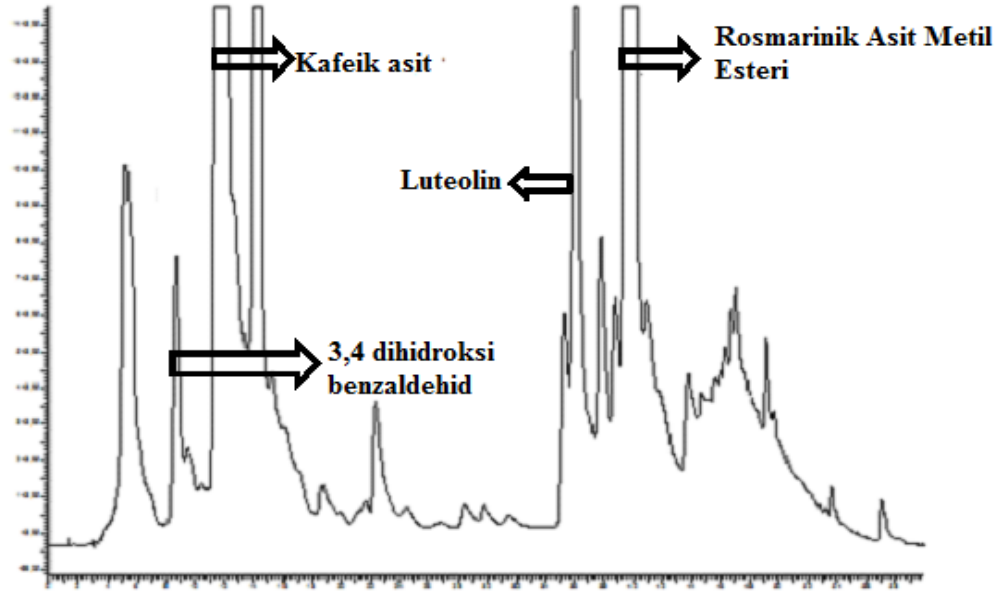
S. cryptantha bitki ekstratlarının stok çözeltilerinden uygun miktarlarda alınarak üzerine hacmi 3 mL oluncaya değin fosfat tamponu eklendi. Daha sonra üzerine 1mL ABTS^{•+} çözeltisi eklenerek çözeltinin karıştırılması için vorteks yapıldı. Çözelti karışımı oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra spektrofotometrede 734 nm de absorbansı okundu. Sonuçlar IC₅₀ (µg/ml) değeri hesaplanarak verildi.

3.7.6. Metal şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi Carter tarafından belirlenen metotla yapıldı (Dinis ve ark., 1994). Her bir ekstrakt ve saf madde çözeltilerinden 0,2 mL alındı ve bunun üzerine 0,1 ml, 2 mM demir (II) klorür çözeltisinden ve 0,9 mL metanol ilave edildi. Karışım vortekslelendikten sonra 5 dakika bekletildi ve sonra 0,4 mL ferrozin ilave edildi. 10 dakika sonra 562 nm'de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak ekstrakt içermeyen reaksiyon ortamı kullanıldı. Sonuçlar IC₅₀ değeri hesaplanarak verildi.

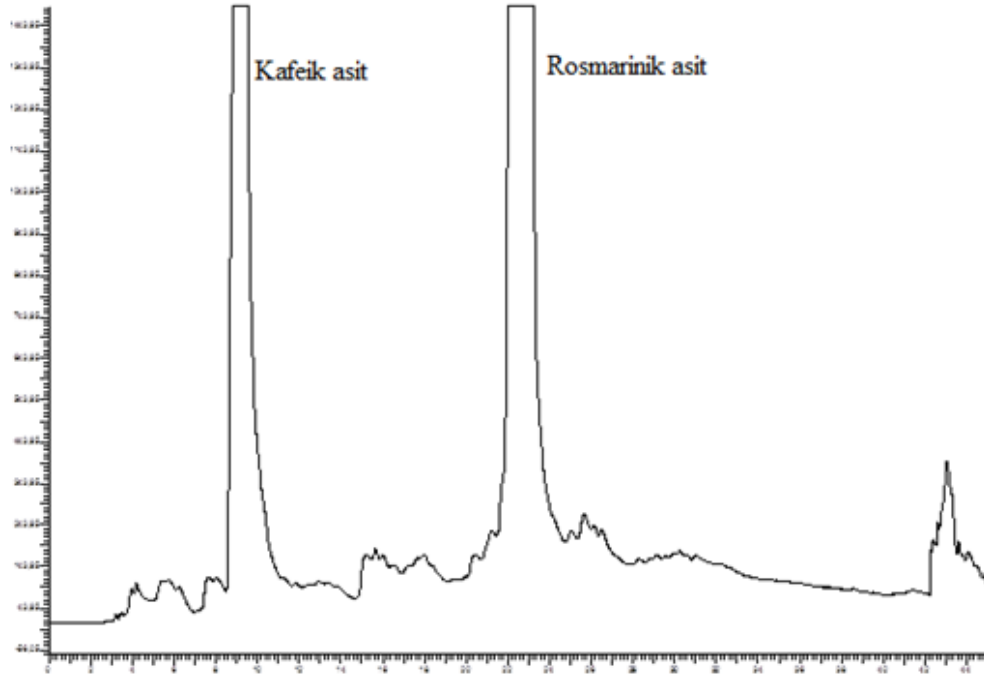
3.8. Preperatif HPLC (P-HPLC) Analizi

HPLC genelde uçucu olmayan organik maddelerin tespitinde kullanılan bir cihazdır. Mobil faz olarak deiyonize su ve HPLC grade asetonyitril kullanıldı. P-HPLC ile kolon kromatografisinden saf olarak elde edilmeyen bileşiklerin saflaştırılması için kullanıldı. Analizler Perkin Elmer Series 200 kuarternier pompa ve Perkin Elmer Series 200 UV-VIS (190-800 nm) dedektör ile yapıldı.



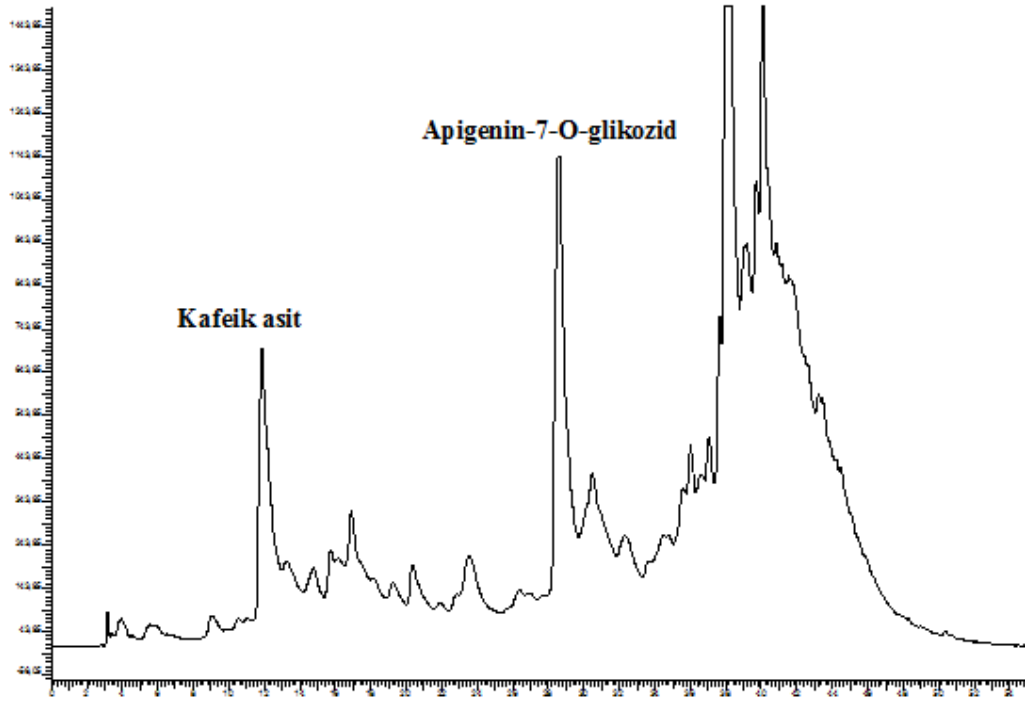
Şekil 3.1. Sudan etilasetat fazının 426-502 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı

Kolon kromatografisinde Hekzan (%55) - EtOAc (%45) çözücü sisteminde İTK kontrollü birleştirilen 426-502 no'lu fraksiyon aralıklarına P-HPLC uygulandı. Kromatogramda (Şekil 3. 1) izole edilen bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları alınarak yapıları aydınlatıldı. P-HPLC kromatogramında da 2. pikin **3,4 dihidroksibenzaldehyd**, 3. pikin **kafeik asit**, 5. pikin **luteolin**, 6. pikin **rosmarinik asit metil esteri** olduğu tespit edildi.



Şekil 3.2. Sudan etilasetat fazının 503-546 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı

Kolon kromatografinde İTK kontrollü Hekzan (%45) – EtOAc (%55) çözücü sisteminden elde edilen 503-546 no'lu fraksiyon aralığına P-HPLC analizi yapıldı. Kromatogramda (Şekil 3.2) görüldüğü gibi 8. dakikada gelen 1. pik tüpe alınarak döner buharlaştırıcı ile çözücüleri uzaklaştırıldı ve ^1H ve ^{13}C NMR ile desteklenerek **Kafeik asit** olarak yapısı aydınlatıldı.



Şekil 3.3. Sudan etilasetat fazının 547-634 fraksiyon aralığının P-HPLC kromatogramı

Sudan etilasetat kolon kromatografisinde hekzan (%30) – EtOAc (%70) çözücü sisteminde İTK kontrollü birleştirilen 547-634 no'lu fraksiyon aralıklarına uygulanan P-HPLC (Şekil 3. 2) kromatogramından saflaştırdığımız kafeik asit bileşiği Şekil 3. 3 kromatogramında tekrar izole edildi. Kromatogramda (Şekil 3. 3) 27. dakikada gelen 2. pik olarak gelen madde deney tüpünde toplandı. Evaporatör yardımıyla içindeki çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları incelenerek bileşiğin **apigenin-7-O- β -glukozit** olduğu belirlendi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Uçucu Yağların GC-MS Analiz Sonuçları

Çizelge 4.1. *Salvia cryptantha* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri

	RI	RT	%	Bileşik ismi
1	795	4.202	16.29	Alpha pinene
2	815	4.589	10.11	Camphene
3	907	5.187	1.61	β -Phellandrene
4	913	5.293	6.24	β- Pinene
5	919	5.429	1.44	Myrcene
6	967	6.49	0.17	α -Terpinen
7	980	6.807	3.48	D-(+)-Limonene
8	986	6.968	1.25	Sabinen
9	994	7.179	25.28	Eucalyptol
10	1022	7.853	0.36	γ -Terpinen
11	1045	8.441	0.39	4 thujanol
12	1059	8.799	0.33	Terpinolene
13	1077	9.316	0.09	Linalool
14	1096	9.859	0.20	1-Octen-3-ol
15	1126	10.653	0.12	4 carene
16	1206	12.892	27.54	Borneol
17	1229	13.451	0.32	Norinone
18	1400	17.308	2.17	Bornyl acetate
19	1602	20.339	0.20	Terpineol acetate
20	1628	20.661	0.28	Copaene
21	1799	22.697	0.41	β -Caryophyllen
22	1870	24.135	0.80	α -Humulene
23	1932	25.342	0.12	Germacrene D
24	1938	25.463	0.28	β -Selinene
25	1948	25.649	0.10	α -Selinene
26	1958	25.85	0.08	Gamma elemene
27	2109	28.687	0.33	Spathulenol

4.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Test Sonuçları

Ekstrelerin antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid, DPPH[•] radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi ve indirgeme gücü (FRAP) aktiviteleri ölçülerek belirlendi. Bitkiden elde edilen ekstrelerin antioksidan kapasitelerini belirledikten sonra antioksidan kapasitesi yüksek olan ekstre aktif bileşiklerin izolasyonu için kullanıldı.

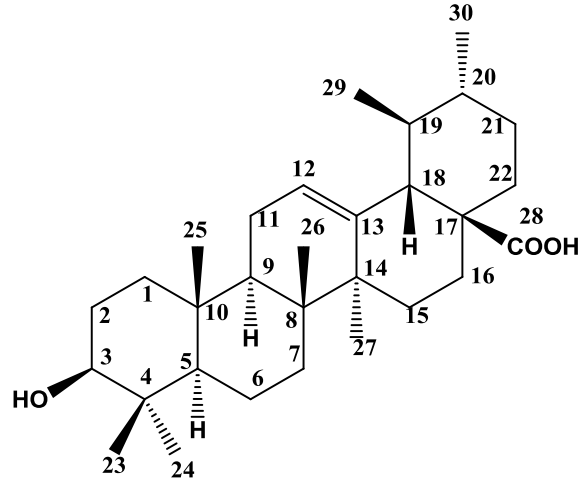
Çizelge 4.2’de de görüldüğü gibi etilasetat ekstresi diğer ekstrelerden daha yüksek fenolik bileşik içermesi ve DPPH[•], ABTS^{•+}, FRAP aktiviteleri daha yüksek olmasından dolayı bu ekstre izolasyon işlemlerinde kullanıldı. Bütanol ekstresi her ne kadar daha fazla flavonoid içerse de antioksidan aktivitesi sudan etilasetat ekstresinden daha düşük olduğu için izolasyon işlemleri için bütanol ekstresi tercih edilmedi.

Çizelge 4.2. Ekstrelerin antioksidan aktivite test sonuçları

Numune	Toplam Fenolik (g GAE /kg ekstrakt)	Toplam Flavanoid (g quersetin /kg Ekstrakt)	DPPH [•] Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/ml)]	FRAP (mmol TE/g Ekstrakt)	ABTS ^{•+} Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/ml)]
Sudan etilasetat Fazı	228.55±16.80	2.66±0.15	6.00±0.74	4.63 ±0.05	2.30±0.18
Sudan bütanol Fazı	136.22±13.94	3.89±0.22	6.30 ± 1.35	3.42 ±0.17	3.22±0.12
Su Fazı	27.18 ± 3.16	1.44±0.02	48.12±2.07	0.66 ±0.05	6.78±0.41
BHT	Test Edilmedi	Test Edilmedi	8.51 ± 1.01	4.33±0.27	2.32±0.11
BHA	Test Edilmedi	Test Edilmedi	3.30 ± 0.28	7.27 ±0.27	2.48±0.25
Trolox	Test Edilmedi	Test Edilmedi	3.54± 0.26	3.96 ±0.26	4.84±0.08

4.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Analizi

4.3.1. Ursolik asit (1)

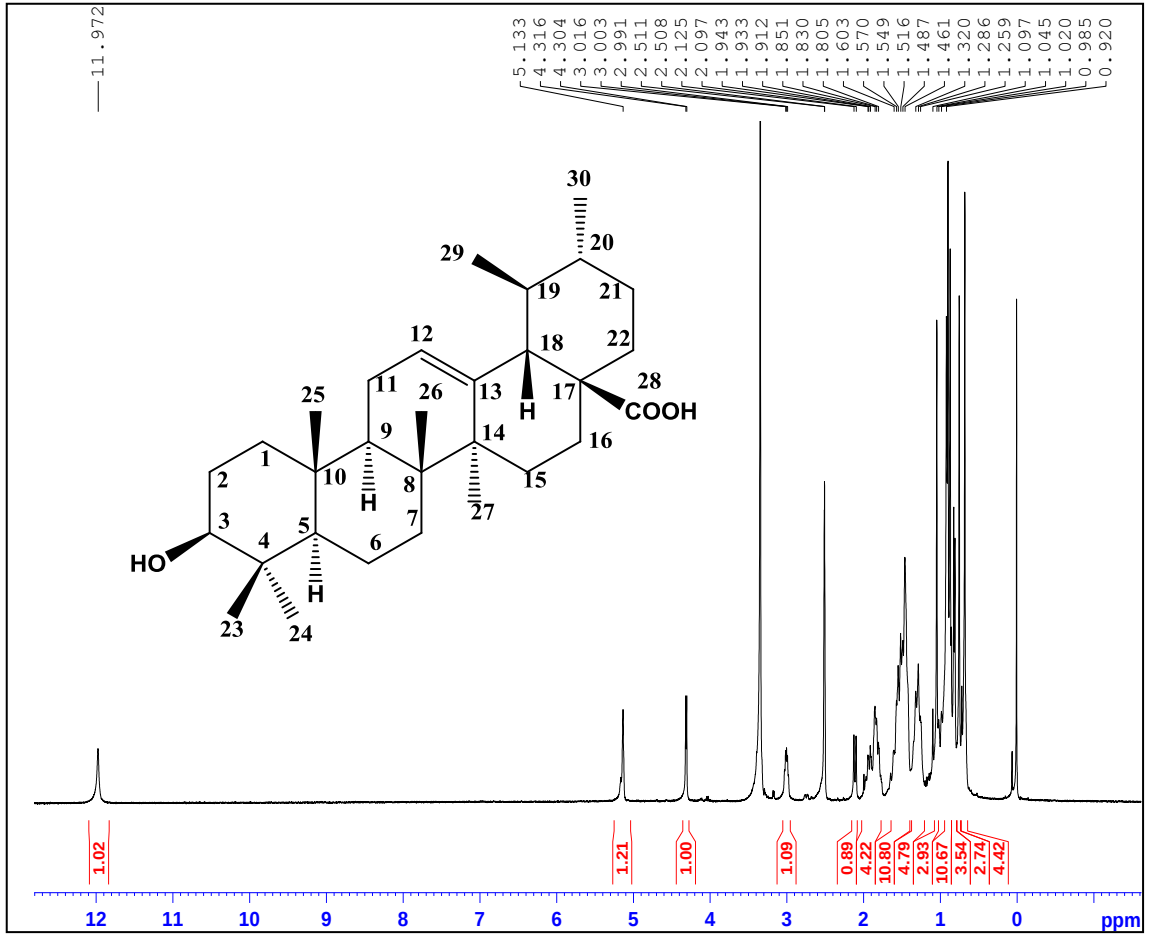


Şekil 4.1. Ursolik asit bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli toz halinde elde edildi ve erime noktası 290 °C olarak bulundu. Ursolik asit (1) bileşiği, (Şekil 4.1) kolon kromatografisinden hekzan (%90) - EtOAc (%15) çözücü sisteminden 100-150 no'lu fraksiyonlardan izole edildi. (1) bileşiği, bilinen bir bileşik olup elde edilen ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri (çizelge 4.3) verildi.

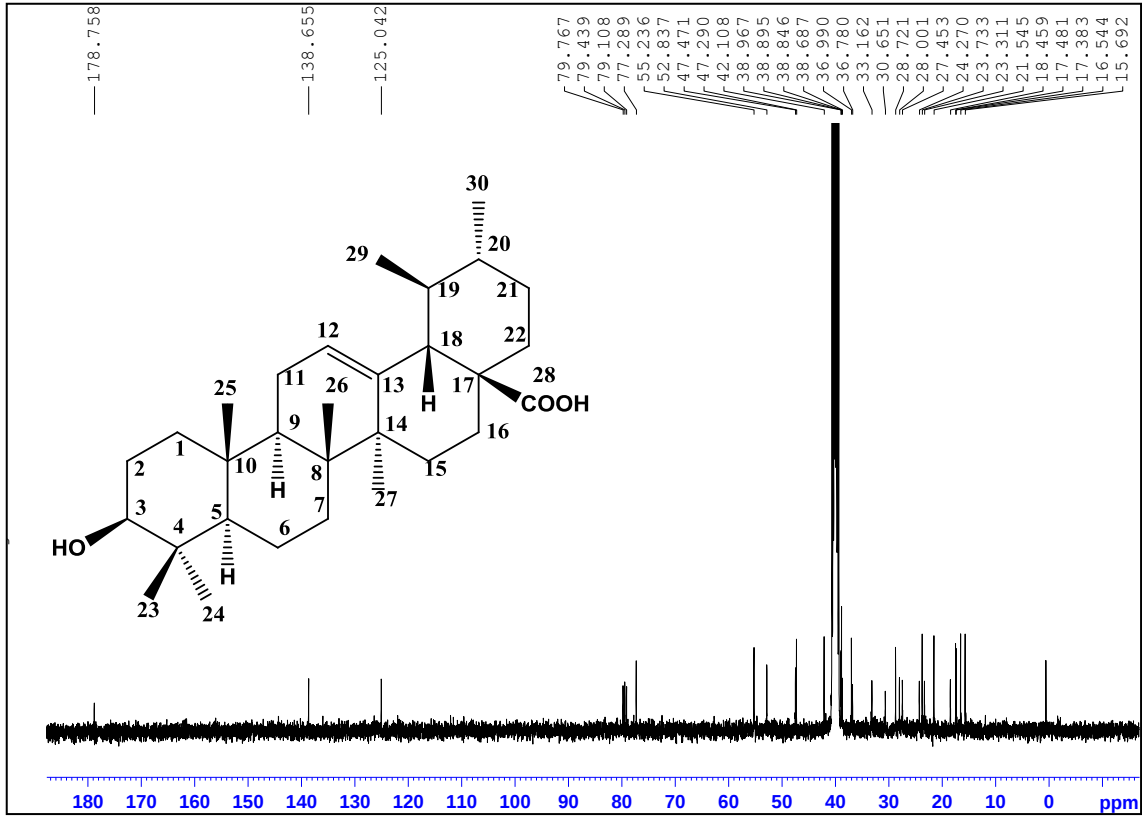
Çizelge 4. 3. Ursolik asit'in (1) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	HMBC
1	CH ₂	38.69	1.55	
2	CH ₂	27.45	1.48	
3	CH	77.8	2.97 (1H,brs)	
4	C	38.84	-	H-3
5	CH	55.2	0.67	
6	CH ₂	18.46	1.51	
7	CH ₂	33.16	1.46	
8	C	40.8	-	
9	CH	47.47	1.45	
10	C	36.99	-	
11	CH ₂	23.31	1.85	
12	CH	125.4	5.15 (1H,s)	
13	C	139.7	-	
14	C	42.10	-	H-12, H-18
15	CH ₂	28.00	1.00	
16	CH ₂	24.27	1.52	
17	C	47.28	-	H-18
18	CH	53.00	2.13 (1H, d, $J=11.2\text{Hz}$)	
19	CH	38.90	1.29	H-18
20	CH	38.96	0.94	H-21
21	CH ₂	30.65	1.46	
22	CH ₂	36.78	1.57	
23	CH ₃	28.72	0.92 (s)	
24	CH ₃	15.69	0.86 (s)	
25	CH ₃	16.54	0.68 (s)	
26	CH ₃	17.37	0.75 (s)	
27	CH ₃	23.73	1.06 (s)	
28	C	178.8	-	
29	CH ₃	17.48	0.72	
30	CH ₃	19.02	1.01	



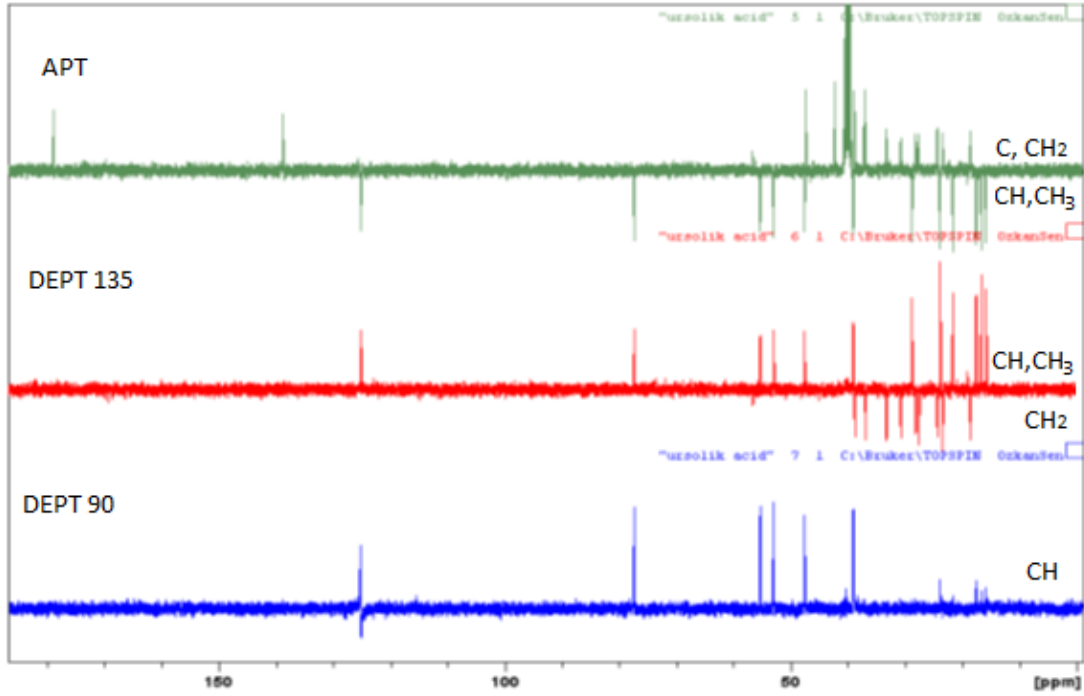
Şekil 4.2. Ursolik asit'in (1) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO-d_6)

^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.2), yukarı alanda çıkan metil singletleri yapının triterpen iskeletine sahip olduğunu görüldü. 2.97 ppm'de izlenen geniş singlet sinyali, C3'teki hidroksile komşu proton varlığını ortaya koyarken, 0.68-1.06 ppm'ler arasında gözlenen beş metil singleti ve 0.72 ile 1.01 ppm'de gözlenen iki metil dubleti (Me-29 ve Me-30) bileşiğin ursan yapısında bir triterpen olabileceği ihtimalini ortaya çıkardı. ^{13}C NMR (APT) spektrumundan (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4) belirlenen 7 CH, 9 CH_2 , 7 CH_3 ve biri asit karboniline ait toplam 7 kuaterner C sinyalinin izlenmesi bileşiğin olan yapısından farklanarak ursan iskeletine sahip olduğunu kesinleştirildi.



Şekil 4.3. Ursolik asit'in (1) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)

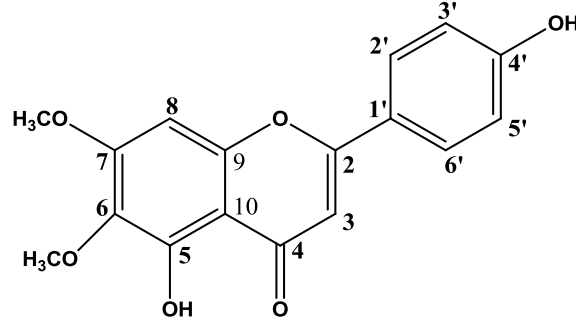
Ursolik asit bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde yapıda 30 tane karbon atomu olduğu görüldü (Şekil 4.3). 7 tanesi kuaterner karbon, 7 tanesi metin karbonu, 9 metilen karbonu ve 7 metil karbonu olmak üzere toplam 30 karbon içerir. Bileşiğin kapalı formülü $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ 'dir. 178.8 ppm'de gözlenen sinyal, ^1H NMR spektrumu (Şekil 4.3) ile birlikte değerlendirildiğinde yapıda karboksilik asidin varlığını doğruladı. 125.4 ppm ve 139.7 ppm'de rezonans olan sinyaller çift bağ karbonlarından sırası ile 12 ve 13 no'lu karbon atomlarına aittir. $\delta_{\text{C}}=77.8$ ppm'deki sinyal ise 3 no'lu karbona ait olup, hidroksil grubuna bağlı olduğunu göstermektedir. Spektruma ait diğer pikler incelendiğinde literatür ile kıyaslanarak bileşiğin ursolik asit olduğu belirlendi (Durust ve ark., 2001).



Şekil 4.4. Ursolik asit'in (1) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR, 100 MHz DMSO- d_6) spektrumu

Ursolik asit'in (1) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.4) incelendiğinde yapıda 30 karbon atomu olduğu görüldü. 30 karbondan 7 tanesinin kuaterner karbon atomu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumlarında sinyal vermeyen kısım), 7 tanesinin metin karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyal), 9 tanesinin metilen karbonu (DEPT-135 spektrumunda negatif ve APT spektrumundaki pozitif sinyaller) ve 7 tanesinin metil karbonu (APT spektrumunda negatif DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyaller) olduğu tespit edildi.

4.3.2. Cirsimaritin (2)

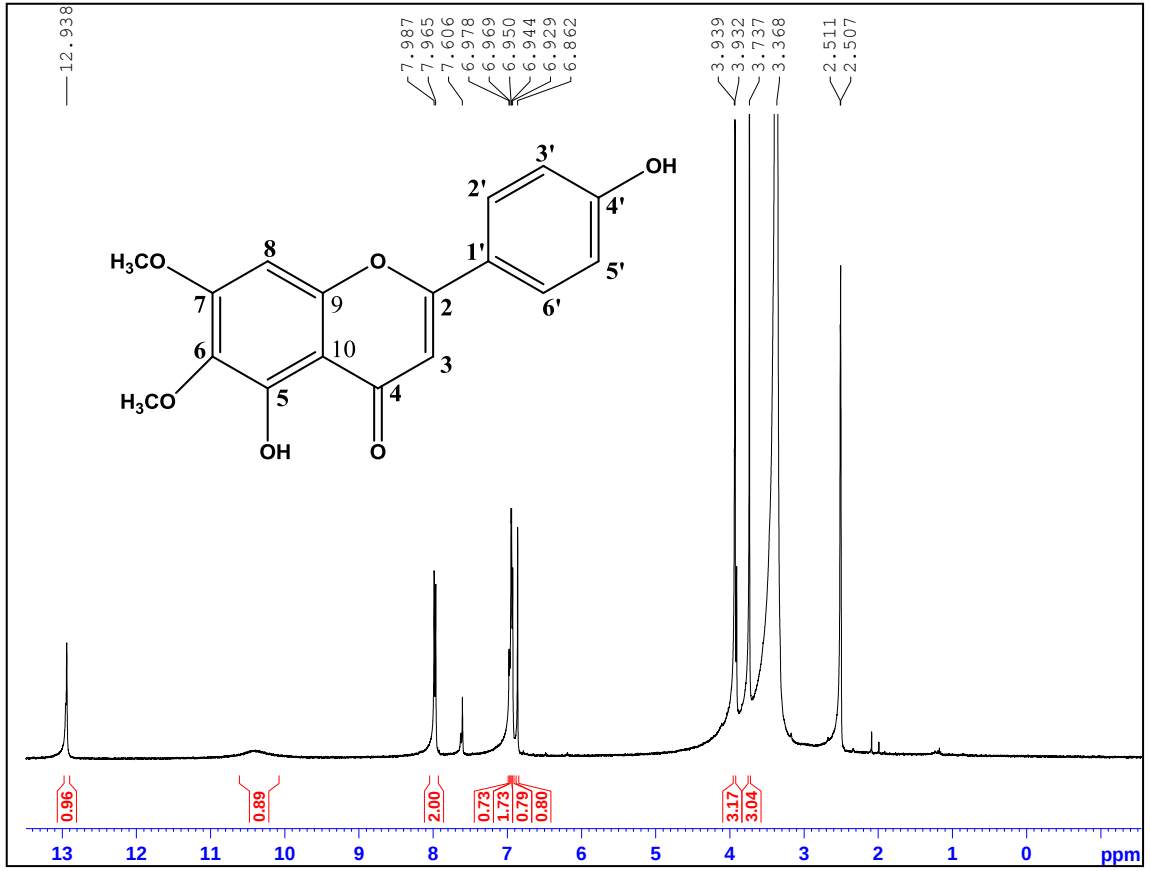


Şekil 4.5. Cirsimaritin bileşiğinin yapısı

Cirsimaritin (2) (Şekil 4.5) kolon kromatografisinden hekzan (%75) - EtOAc (%25) çözücü sisteminden 157-256. fraksiyonlardan izole edildi. Bilinen bir bileşik olan cirsimaritin (2) bileşiğine ait ¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri (çizelgede 4.4) verildi.

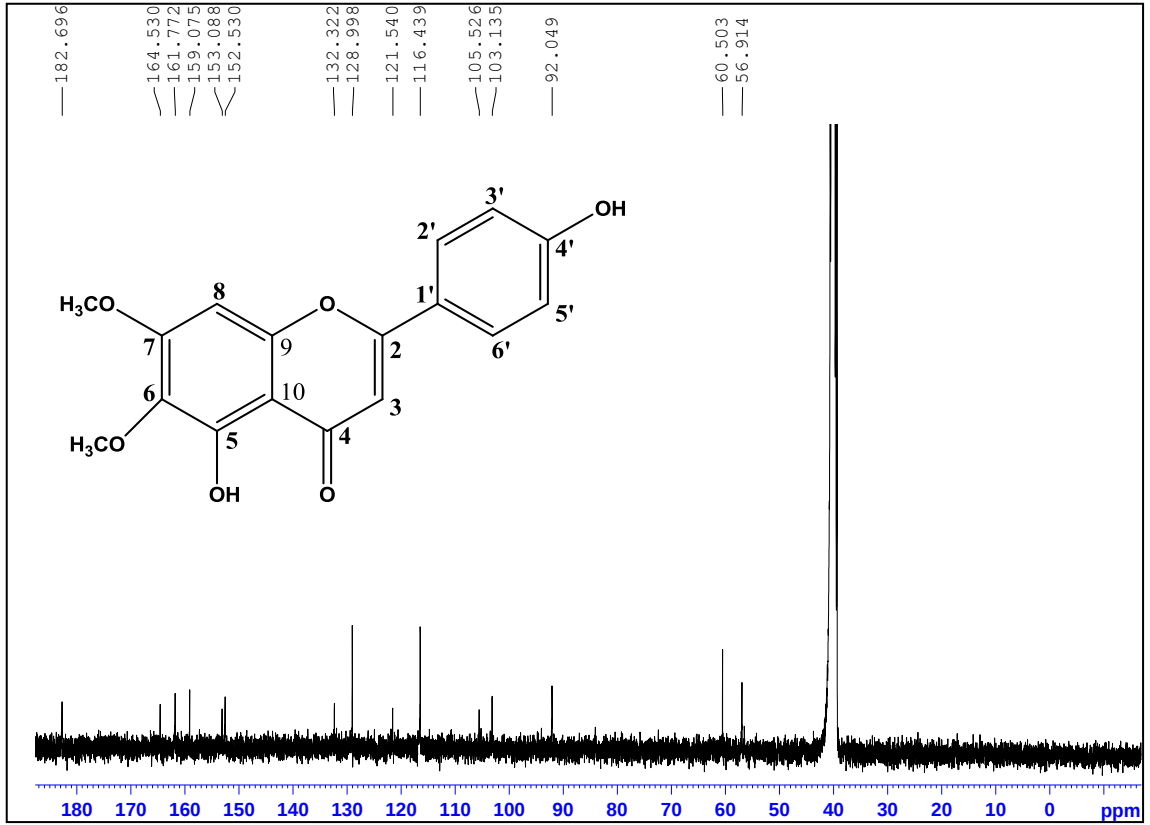
Çizelge 4.4. Cirsimaritin'in (2) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	HMBC
2	C	164.53		H-3
3	CH	103.13	6.87 (s)	
4	C	182.69		
5	C	152.52	5.91	
6	C	132.32		H-8
7	C	159.07		
8	CH	92.04	6.92 (s)	
9	C	153.09		H-8
10	C	105.53		H-3', H-5'
1'	C	122		
2'	CH	128.99	7.96 (d, $J=8,8$ Hz)	
3'	CH	116.43	6.95 (d, $J=8,8$ Hz)	
4'	C	161.77		
5'	CH	116.43	6.95 (d, $J=8,8$ Hz)	
6'	CH	128.99	7.96 (d, $J=8,8$ Hz)	
6-OCH ₃	CH ₃	60.50	3.73 (s)	
7-OCH ₃	CH ₃	56.91	3.97 (s)	H-8



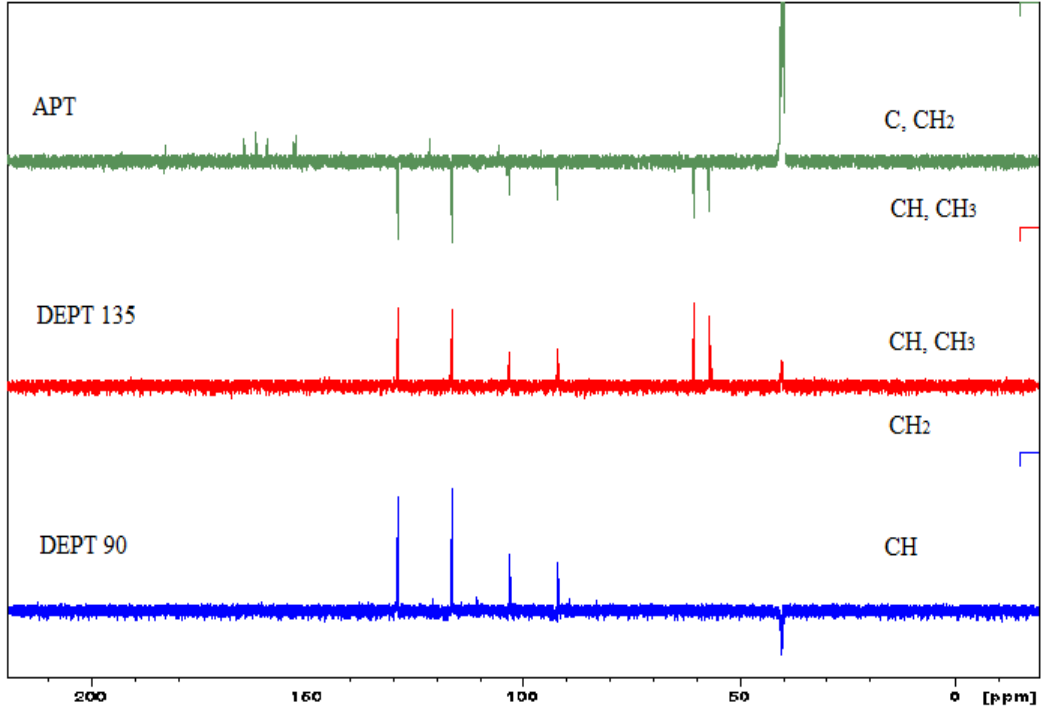
Şekil 4.6. Cirsimaritin'in (2) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO-d_6)

Cirsimaritin (2) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (Şekil 4.6) incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 12.9$ ppm'de gözlenen sinyal 5-OH protonunu gösterdi. Bileşiğinin (2) B halkasında yer alan H-2' ile H-6' ve H-3' ile H-5' özdeş protonları sırası ile $\delta_{\text{H}} = 7.96$ (d, $J = 8.8$ Hz) ve $\delta_{\text{H}} = 6.95$ (d, $J = 8.8$ Hz) ppm'de gözlemlendi. $\delta_{\text{H}} = 3.73$ ve $\delta_{\text{H}} = 3.97$ ppm'de singlet olarak gözlenen sinyaller sırası ile C-6 ve C-7 karbonlarına bağlı $-\text{OCH}_3$ grubunun varlığına işaret etti. Bileşiğe ait diğer veriler literatür ile kıyaslanarak bileşiğin Cirsimaritin olduğu belirlendi (Kolak, 2009).



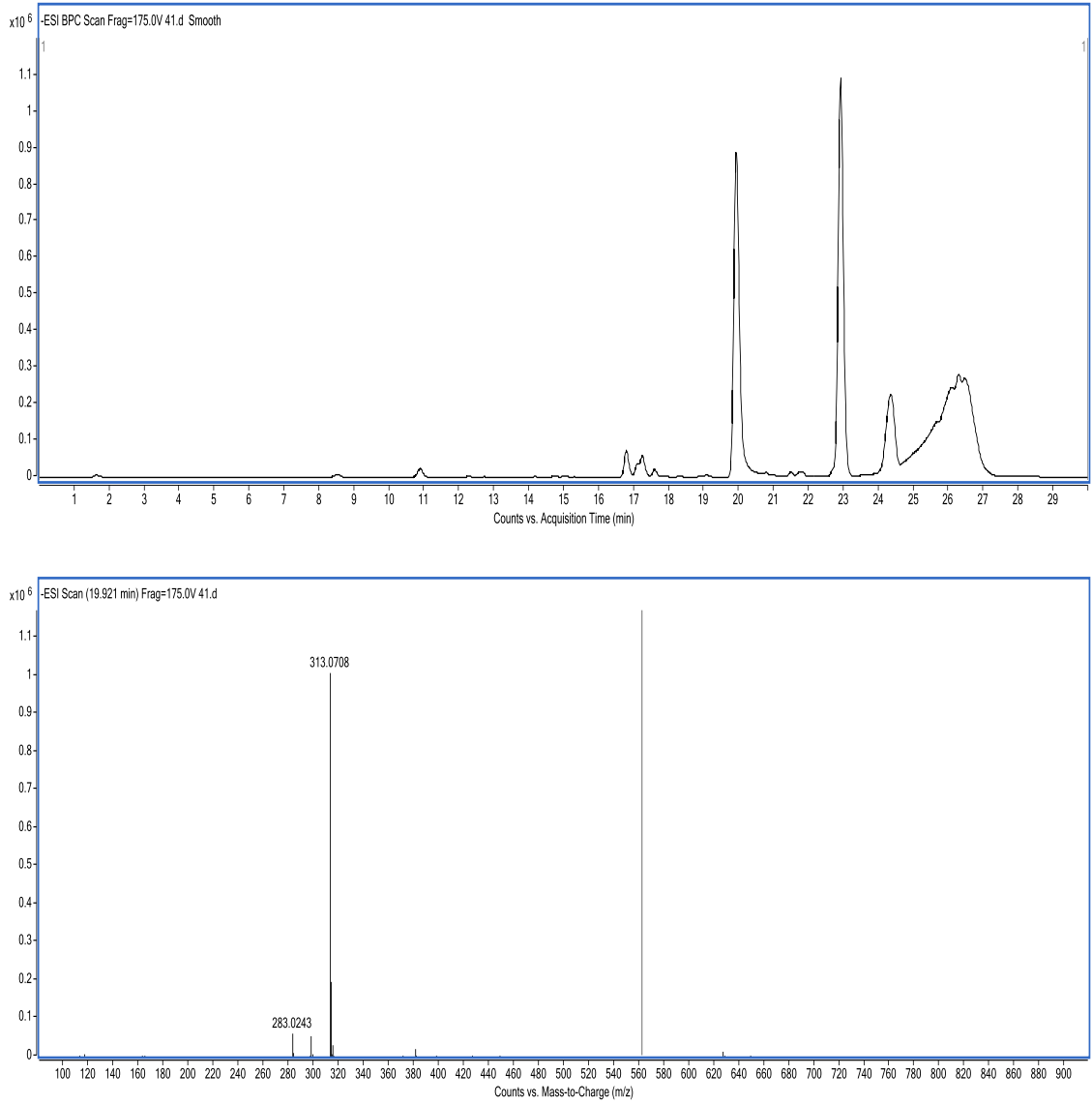
Şekil 4.7. Cirsimaritin'in (2) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)

Cirsimaritin (2) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumundan (Şekil 4.7), yapıda 15 farklı karbon atomu olduğu belirlendi. 128.99 (C2' ve C6') ve 116.43 ppm'de (C3' ve C5') gözlenen sinyaller, diğer sinyallerden daha yüksek olduğundan simetrik karbon atomlarının varlığını gösterdi. $\delta_{\text{C}} = 60.50$ ve $\delta_{\text{C}} = 56.91$ ppm'deki karbon atomları metoksi ($\text{H}_3\text{C}-\text{O}$) gruplarına aittir. Aromatik halkada OH grubu ile rezonans olan karbonlar 152.52 (C5) ve 161.77 ppm'de (C4') gözlemlendi. $\delta_{\text{C}} = 182.69$ ppm'de gözlenen sinyal (C4), karbonil grubunun varlığını gösterdi.



Şekil 4. 8. Cirsimaritin'in (2) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6) spektrumu

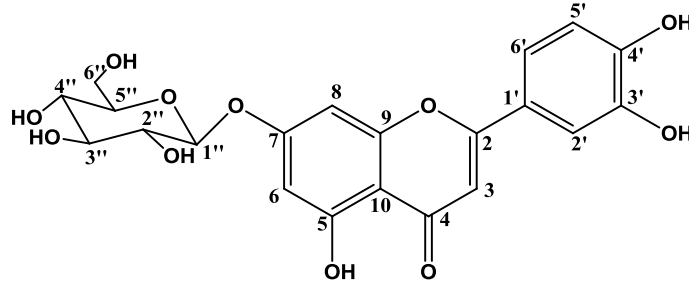
Cirsimaritin'in (2) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.8) incelendiğinde yapıda 15 karbon atomu olduğu görüldü. Bileşiğin DEPT-90 spektrumundan yapıda 6 CH (metin) grubunun olduğu belirlendi. APT spektrumundan yapıda $-\text{CH}_2$ grubunun bulunmadığı, bunun dışında 9 tane kuaterner karbon atomu içerdiği tespit edildi. DEPT-135 spektrumunda ise 60.50 ve 56.91 ppm'de iki $-\text{CH}_3$ grubunun (6- OCH_3 ve 7- OCH_3) yer aldığı gözlemlendi.



Şekil 4.9. Cirsimaritin'in (2) LC-TOF-MS kromatogramı

Cirsimaritin'in (2) LC-TOF-MS spektrumunda (Şekil 4.18) (-)-ESI MS: m/z 313,0708 g/mol ($[M-H]^-$) iyon pikleri gözlenmiş ve molekül formülü $C_{17}H_{14}O_6$ olarak belirlendi.

4.3.3. Luteolin-7-O- β -glukozit(3)

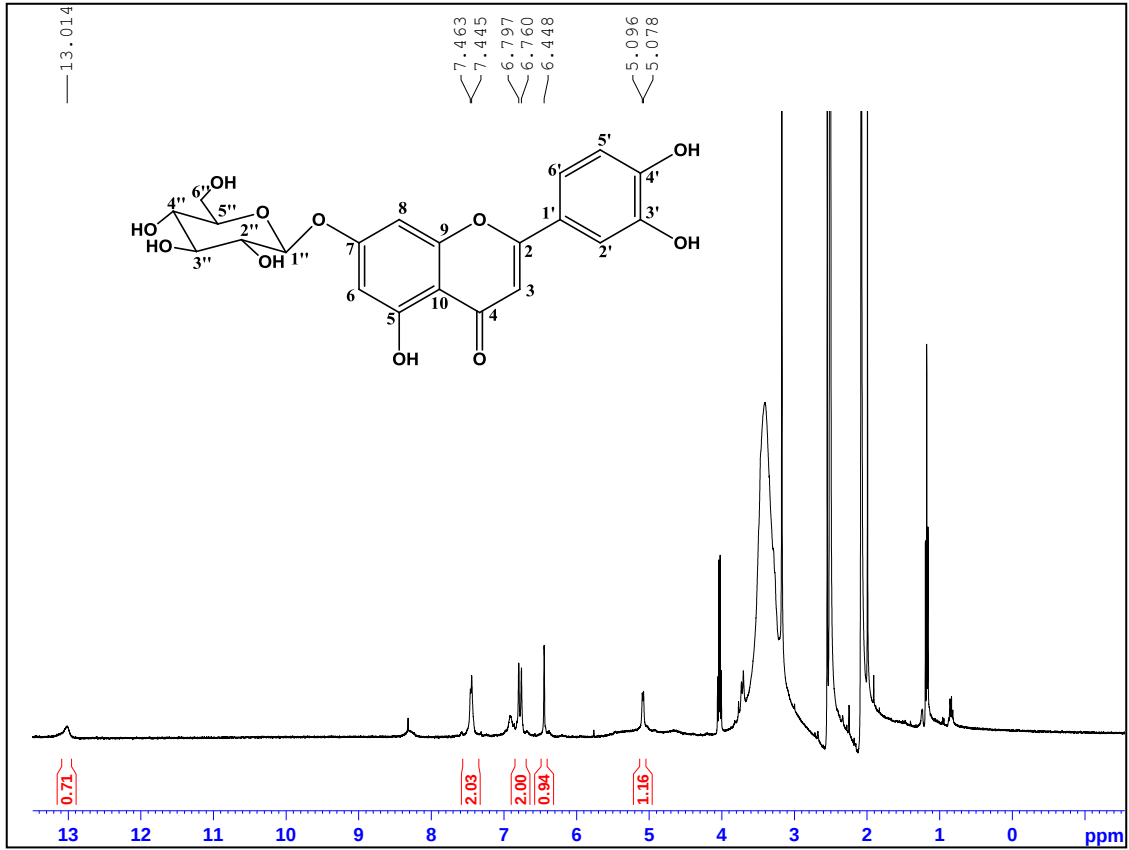


Şekil 4.10. Luteolin-7-O- β -glukozit bileşiğinin yapısı

Luteolin-7-O- β -glukozit (**3**) (Şekil 4.10), kolon kromatografisinde hekzan (%20) – EtOAc (%80) çözücü sisteminden gelen fraksiyonlardan izole edildi. Katı ve sarı renkli olan Luteolin-7-O- β -glukozit bileşiğinin kapalı formülü $C_{21}H_{20}O_{11}$ olup molekül ağırlığı 448,10 g/mol'dür. Luteolin-7-O- β -glukozit (**3**) molekülü bilinen bir bileşik olup elde edilen 1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri çizelgede (Çizelge 4.5) verildi.

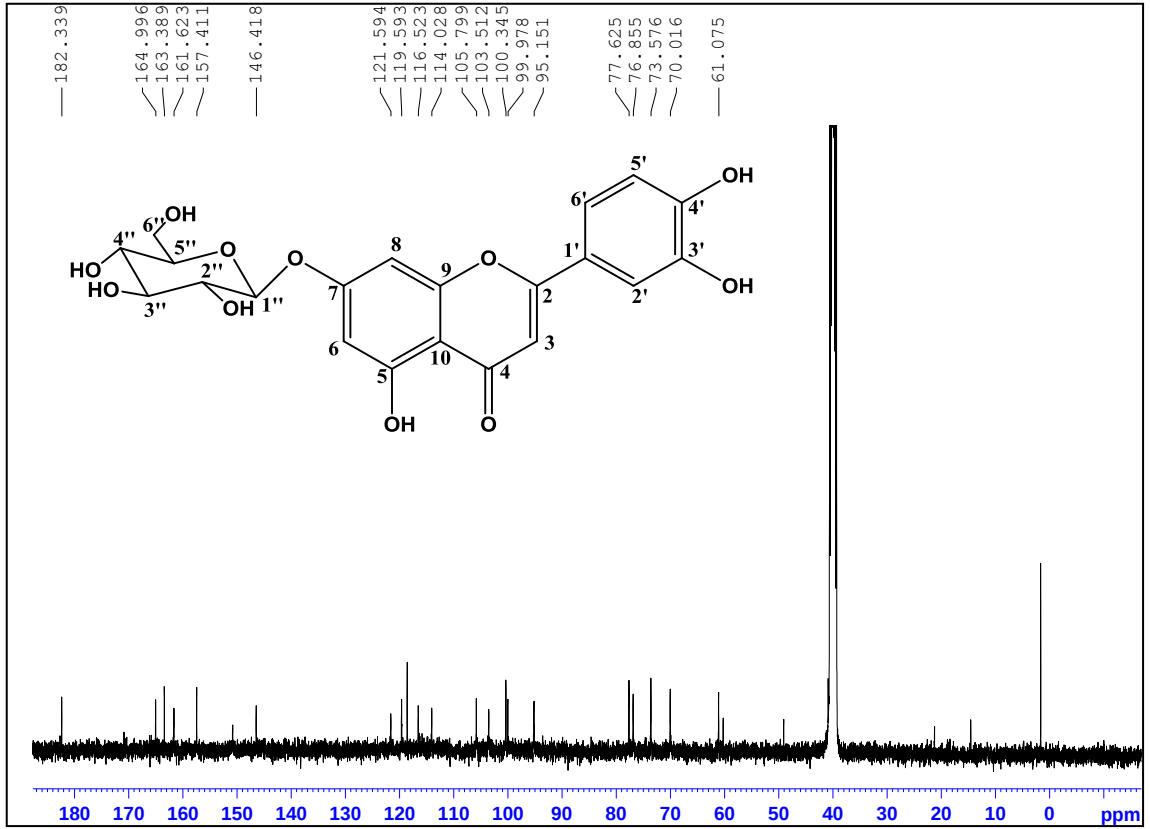
Çizelge 4.5. Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in (3) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	HMBC
2	C	164.98	-	H-3
3	CH	103.52	6.75 (s)	
4	C	182.34	-	H-3
5	C	161.60	-	H-6
6	CH	99.98	6.46 (d, $J = 1.8$ Hz)	
7	C	163.39	-	
8	CH	95.17	6.81 (d, $J = 2$ Hz)	
9	C	157.40	-	H-8
10	C	105.79	-	H-6, H-8
1'	C	121.62	-	H-3
2'	CH	113.98	7.46 (d, $J=10,2$ Hz)	
3'	C	148.36	-	
4'	C	150.69	-	H-2', H-6'
5'	CH	116.47	6.86 (d, $J = 7.9$ Hz)	
6'	CH	119.62	7.46 (d, $J=10,2$ Hz)	
1''	CH	100.35	5.08 (d, $J = 7.3$ Hz)	
2''	CH	73.57	3.26 (m)	
3''	CH	77.62	3.44 (m)	
4''	CH	70.02	3.17 (m)	
5''	CH	76.85	3.28(m)	
6a'' -6b''	CH ₂	61.07	3.49 (m) – 3.72 (m)	



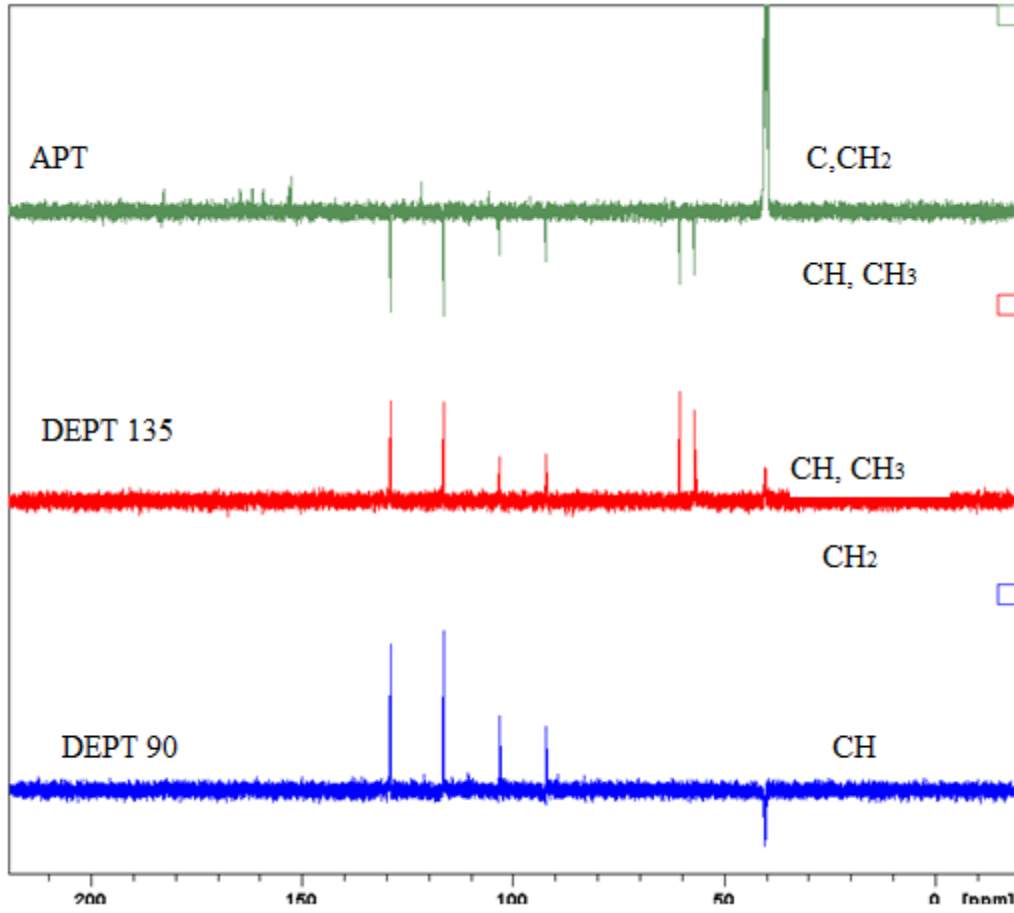
Şekil 4. 11. Luteolin-7-O-β-glukozit'in (3) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6)

Luteolin-7-O-β-glukozit'in (3) ^1H -NMR spektrumu (Şekil 4.11) incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 7.46$ (d, $J = 10.2$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-2' ve C-6' protonlarına, $\delta_{\text{H}} = 6.86$ (d, $J = 7.9$ Hz) ppm'de görülen sinyaller B halkasının C-5' protonuna ve $\delta_{\text{H}} = 6.46$ (d, $J = 1.8$ Hz) ve $\delta_{\text{H}} = 6.81$ (d, $J = 2$ Hz) ppm'de görülen sinyal ise A halkasının C-6 ve C-8 protonuna ait olduğu tespit edildi. $\delta_{\text{H}} = 6.75$ ppm'de singlet olarak gözlenen sinyal, H-3 protonuna ait olup molekülün flavon iskeletine sahip olduğunu gösterdi. $\delta_{\text{H}} = 5.08$ (H-1'') ppm'de görülen sinyal, anomerik protona işaret ettiğinden yapıdaki şeker grubu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerlerinin literatür ile kıyaslanması sonucu glikoz olarak belirlendi (Chiruvella ve ark., 2007). Anomerik protonun etkileşme sabiti ($J = 7.3$ Hz), glikozun β konfigürasyonunda olduğunu gösterdi.



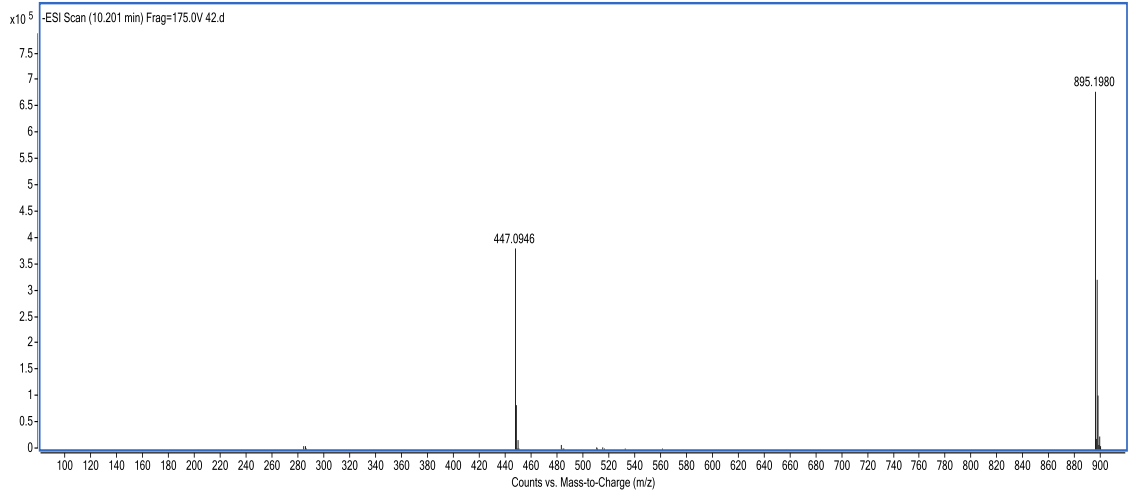
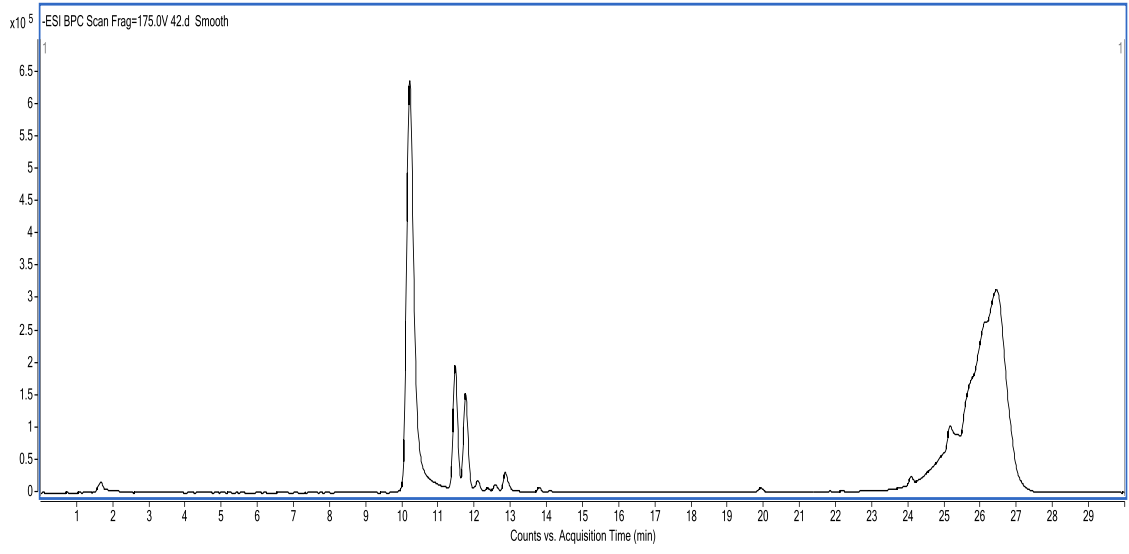
Şekil 4.12. Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in (3) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)

Luteolin-7-*O*- β -glukozit (3) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 4.12) incelendiğinde 21 karbon sinyali görüldü. $\delta_{\text{C}} = 113.98$ ve $\delta_{\text{C}} = 119.62$ ppm'de görülen sinyallerin sırasıyla C-2' ve C-6', $\delta_{\text{C}} = 116.47$ ppm'de görülen sinyalin C-5' konumlarına ait olduğu literatür değerleri ile de desteklendi (Chiruvella ve ark., 2007). $\delta_{\text{C}} = 100.35$ ppm'de gelen sinyalin anomerik karbon atomunu gösterdiği, glikoz molekülüne ait karbonların ise 61.07-77.62 ppm'ler arasında rezonans olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.13. Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in (3) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR, 100 MHz DMSO- d_6) spektrumu

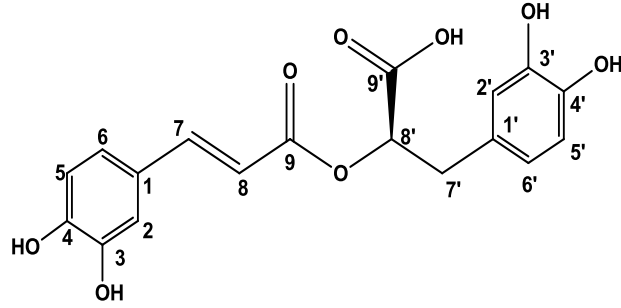
Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in (3) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.13) incelendiğinde yapıda 22 karbon atomu olduğu görülmektedir. 22 karbondan 9 tanesi kuaterner karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumlarında sinyal vermeyen kısım), 11 tanesi metin karbonu (DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumunda pozitif sinyal), 2 metilen karbonu (DEPT-135 spektrumunda negatif ve APT spektrumundaki pozitif sinyaller) içerdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in (3) LC-TOF-MS kromatogramı

Luteolin-7-*O*- β -glukozit'in LC-TOF-MS spektrumunda (Şekil 4.14) (-)-ESI MS: m/z 447.1035 g/mol ($[M-H]^-$) ve m/z 895.2112 g/mol ($[2M-H]^-$) iyon pikleri gözlenmiş ve molekül formülü $C_{21}H_{20}O_{11}$ olarak belirlenmiştir.

4.3.4. Rosmarinik asit (4)

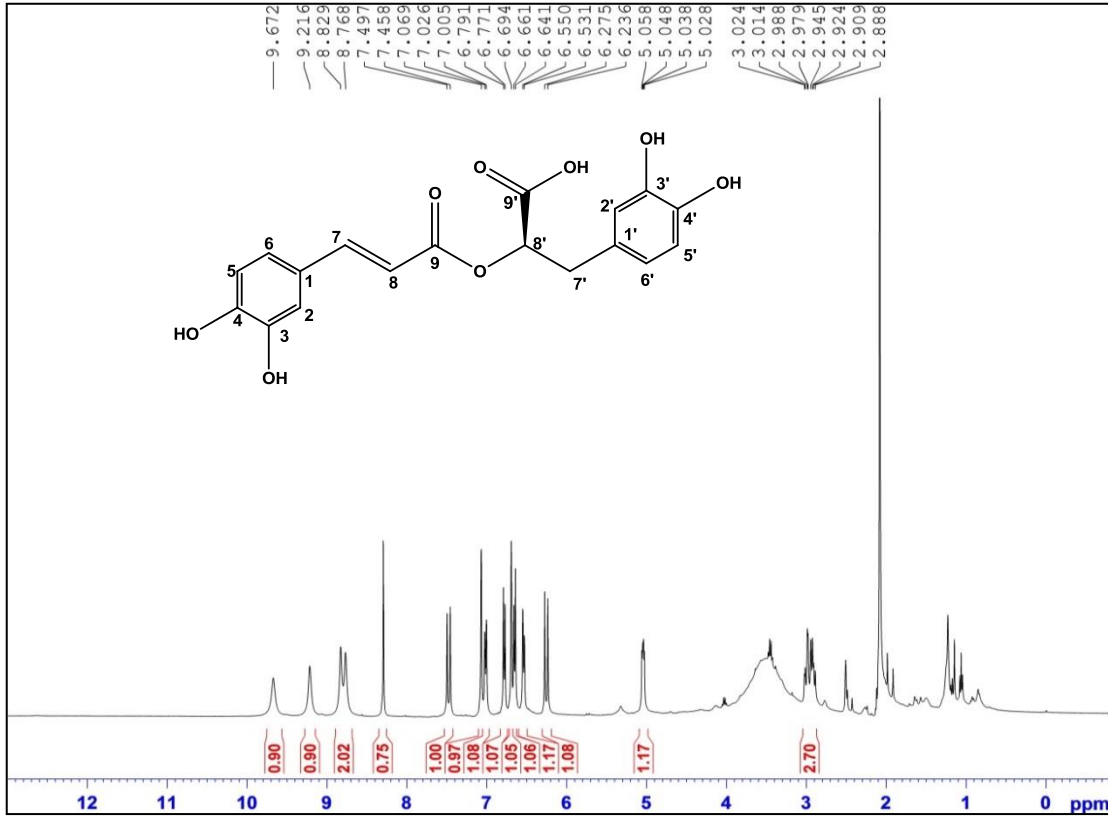


Şekil 4.15. Rosmarinik asit'in bileşiğinin yapısı

Rosmarinik asit (**4**) (Şekil 4.15) kolon kromatografisi ile silika jel dolgu maddesi kullanılan kolondan % 100 EtOAc çözücü sisteminde izole edildi. Molekül, sarı renkli ve toz halinde elde edildi. Rosmarinik asit (**4**) bilinen bir bileşik olup elde edilen ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri (Çizelge 4.6) verildi.

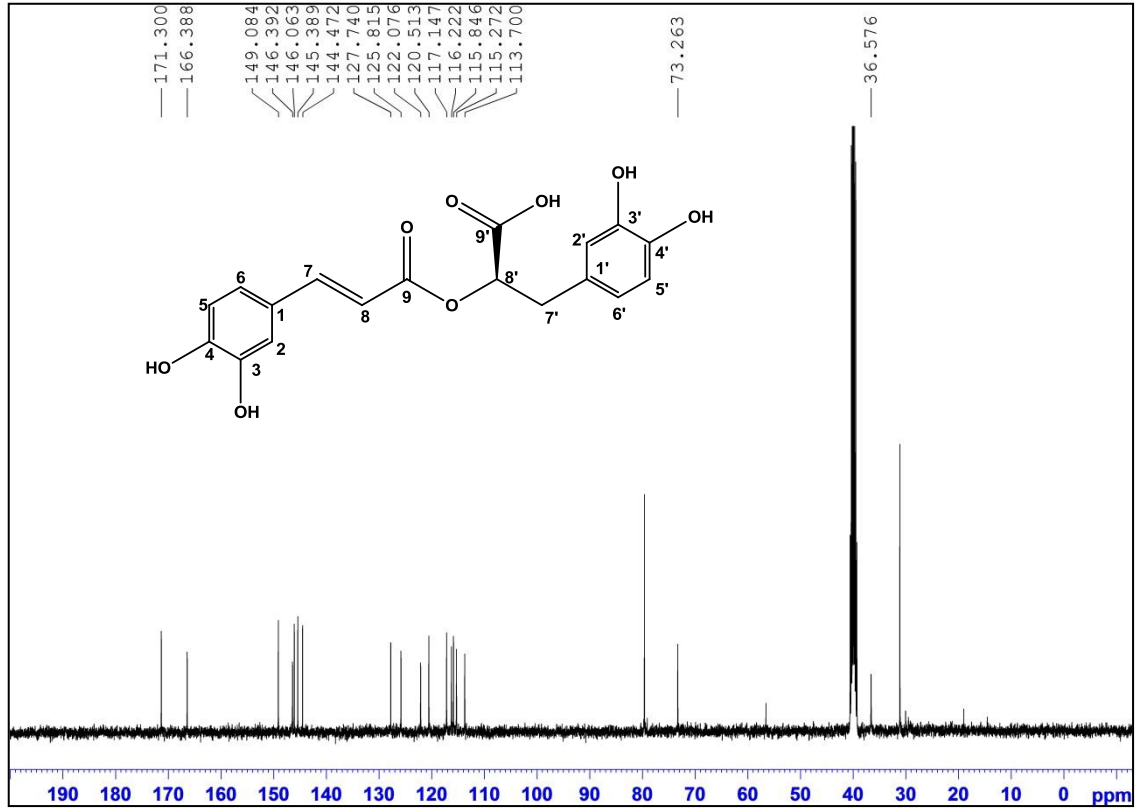
Çizelge 4.6. Rosmarinik asit'in (4)¹H-NMR ve ¹³C-NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_C (pmm)	δ_H (pmm)	HBMC
1	C	-	125.82	H-8
2	CH	7.06 (d, $J=1.4$ Hz)	115.27	
3	C	-	146.39	H-2
4	C	-	146.06	
5	CH	6.77 (d, $J= 8.1$ Hz)	116.22	
6	CH	7.02 (dd, $J= 8.1; 2.0$ Hz)	122.08	H-7
7	CH	7.46 (d, $J= 15.8$ Hz)	149.08	
8	CH	6.24 (d, $J = 15.8$ Hz)	113.70	
9	C	-	166.39	H-7,H-8
1'	C	-	127.74	
2'	CH	6.69 (d, $J= 1.4$ Hz)	117.15	
3'	C	-	144.47	
4'	C	-	145.39	
5'	CH	6.54 (d, $J= 7.92$ Hz)	120.51	
6'	CH	6.65 (d, $J= 7.92$ Hz)	115.85	
7a'	CH ₂	2.93 (dd, $J = 14.1/10.0$ Hz)	36.58	H-2',H-5',H-8'
7b'		2.94 (dd, $J= 14.1/3.7$ Hz)		
8'	CH	5.08 (dd, $J= 10.0/2.8$ Hz)	73.26	
9'	C	-	171.30	



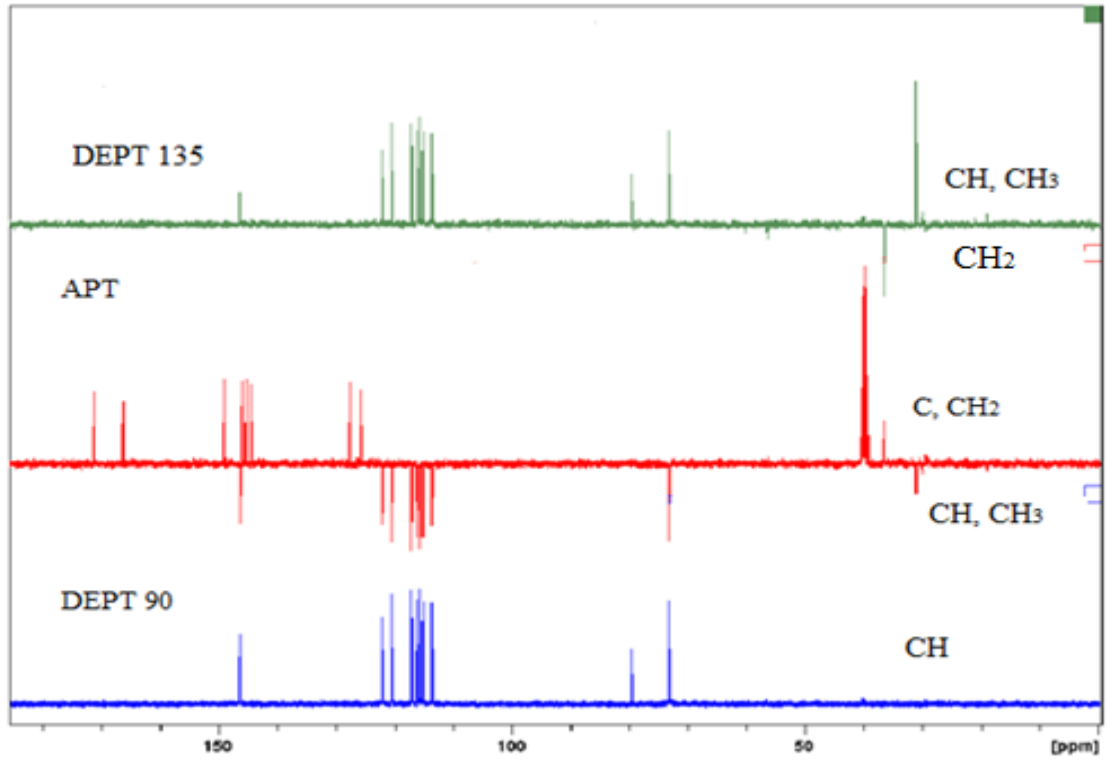
Şekil 4.16. .Rosmarinik asit'in (4)¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR 400 MHz, DMSO-d₆)

Rosmarinik asit'in (4) ¹H-NMR spektrumu (Şekil 4.16) incelendiğinde, $\delta_H = 7.06$ (d, $J = 1,4$ Hz), $\delta_H = 7.02$ (dd, $J = 8.1/2.0$ Hz), $\delta_H = 6.77$ (d, $J = 8.1$ Hz) ve $\delta_H = 6.69$ (d, $J = 1.4$ Hz), $\delta_H = 6.54$ (d, $J = 7.9$ Hz), $\delta_H = 6.65$ (dd, $J = 7.9$ Hz) ppm'de iki grup aromatik ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, H-6, H-5 ve H-2', H-5', H-6' numaralı protonlar) gözlenmiştir. $\delta_H = 7.46$ (d, $J = 15.8$) ve $\delta_H = 6.24$ (d, $J = 15.8$ Hz) ppm'deki protonlar, etkileşim sabitlerinden dolayı molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir. $\delta_H = 5.08$ (dd, $J = 10.0; 2.8$ Hz) ppm'de gözlenen sinyalin oksijen atomuna komşu olan H-8' protonu olduğu ve $\delta_H = 2.93$ ve (dd, $J = 14.1; 10.0$ Hz), $\delta_H = 2.94$ (dd, $J = 14.1; 3.7$ Hz) ppm'de gözlenen sinyallerin C-7' konumundaki metilene ait protonlar olduğu literatür ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir (Aksit, 2014).



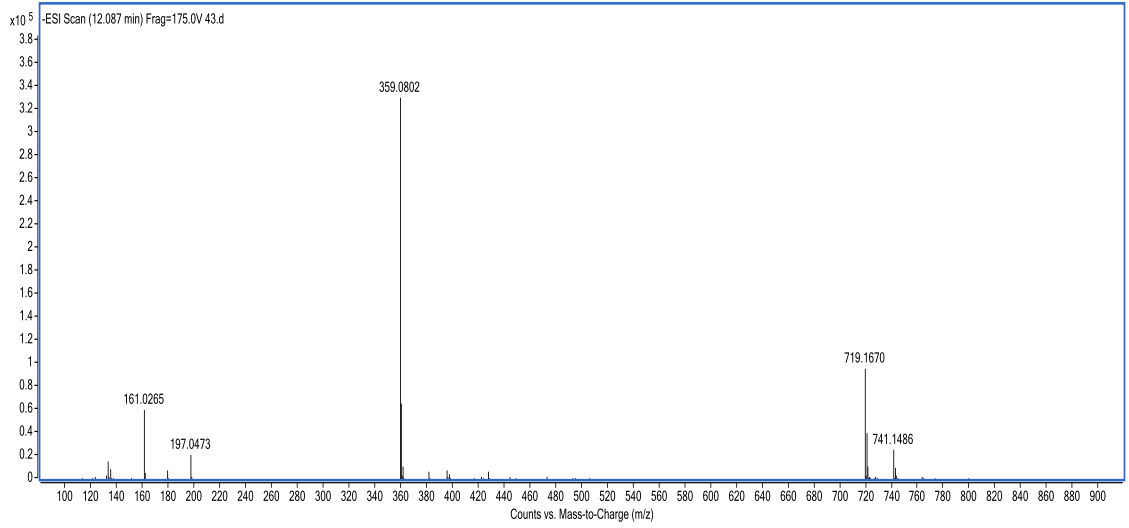
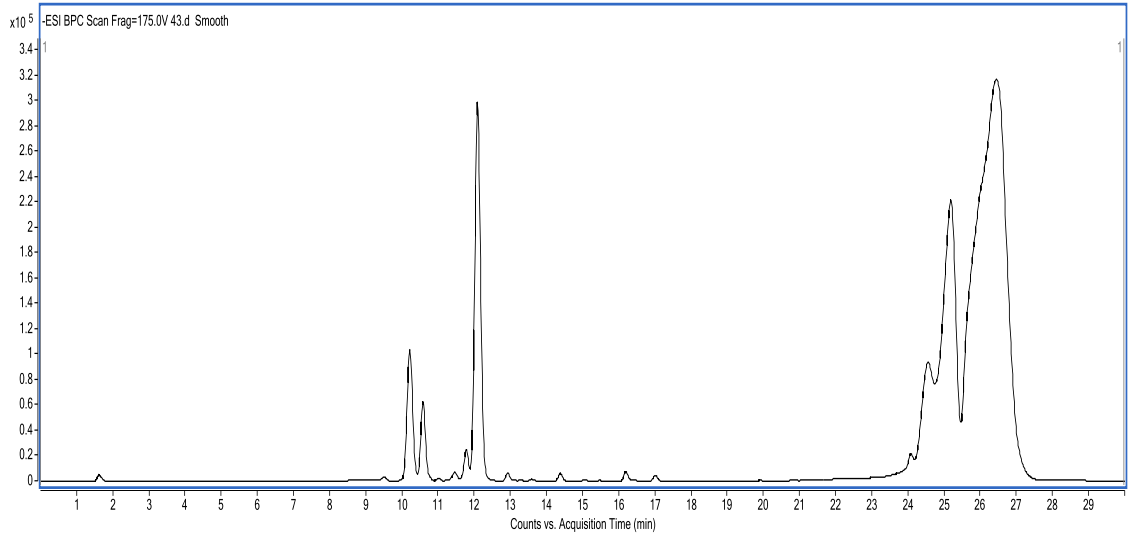
Şekil 4.17. Rosmarinik asit'in (4) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz, DMSO- d_6)

4 bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumundan yapıda 18 karbon atomu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18). $\delta_{\text{C}} = 166.39$ ve $\delta_{\text{C}} = 171.30$ ppm'de karbonil karbonları sinyal vermiştir. İki fenil halkasında bulunan OH grupları $\delta_{\text{C}} = 146.39$ (C-3), $\delta_{\text{C}} = 146.06$ (C-4), $\delta_{\text{C}} = 144.47$ (C-3') ve $\delta_{\text{C}} = 145.39$ (C-4') ppm'de rezonans olmuştur. $\delta_{\text{C}} = 149.08$ (C-7) ve $\delta_{\text{C}} = 113.70$ (C-8) ppm'de gözlenen sinyaller olefinik karbonlara aittir. Estere komşu karbon atomu $\delta_{\text{C}} = 73.26$ ppm'de gözlenmiştir. Molekül için bulunan bu değerler literatür verileri ile kıyaslanarak bileşiğin rosmarinik asit olduğu tespit edilmiştir (Aksit, 2014).



Şekil 4.18. Rosmarinik asit'in (4) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6) spektrumu

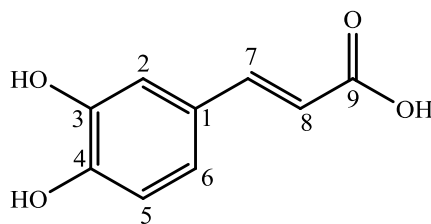
Rosmarinik asit'in (4) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.18) incelendiğinde yapıda 18 karbon atomu olduğu görülmektedir. 18 karbondan 8 tanesi kuaterner karbon atomuna, 9 tanesi metin karbonuna, 1 tanesi de metilen karbonuna aittir.



Şekil 4. 19. Rosmarinik asit'in (4) LC-TOF-MS kromatogramı

Rosmarinik asit'in (4) LC-TOF-MS spektrumunda (Şekil 4. 19) (-)-ESI MS: m/z 359.0873 g/mol ($[M-H]^-$), m/z 197.0521 g/mol ($[M-Kafeik\ asit]$) ve m/z 719.1768 g/mol ($[2M-H]^-$) iyon pikleri gözlenmiş ve molekül formülü $C_{18}H_{16}O_8$ olarak belirlenmiştir.

4.3.5. Kafeik asit (5)

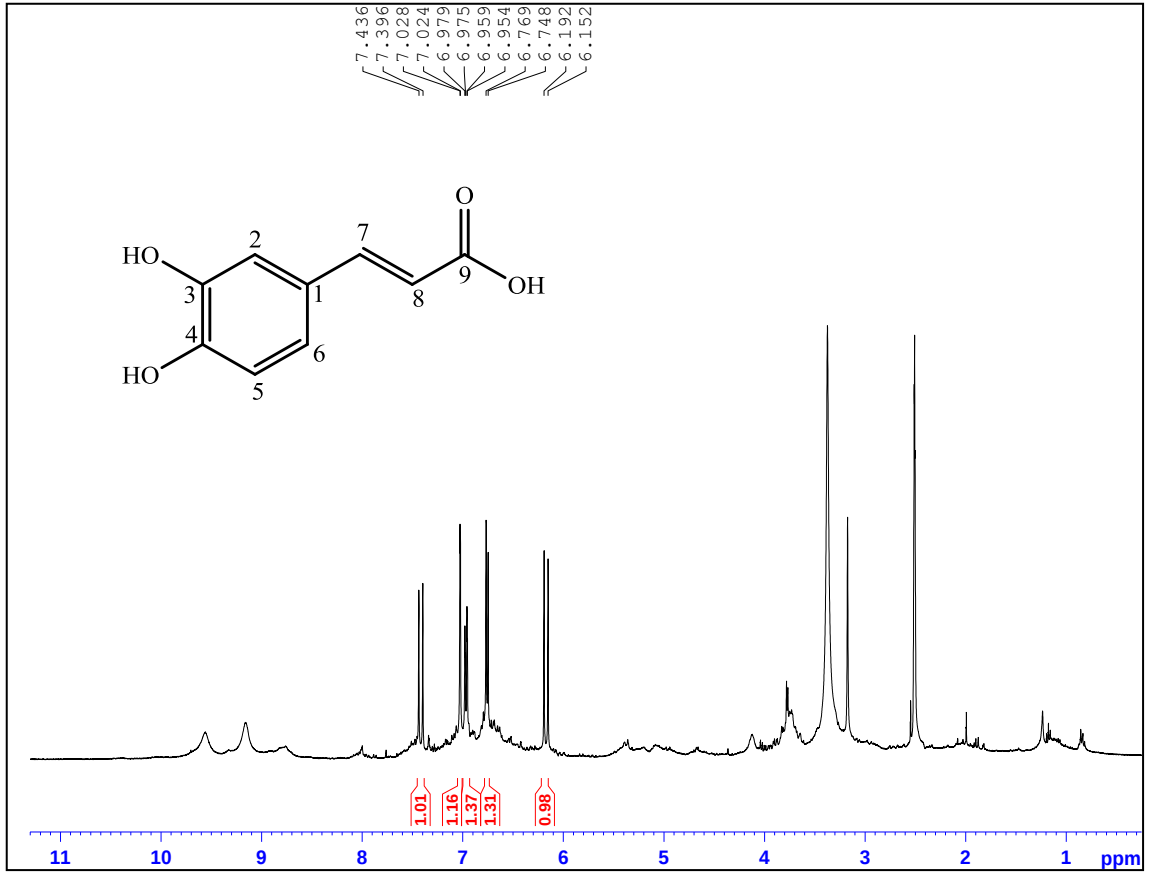


Şekil 4.20. Kafeik asit bileşiğinin yapısı

Kafeik asit (5) (Şekil 4.20) kolon kromatografisinden hekzan (%45) - EtOAc (%55) çözücü sisteminden 503-546 nolu fraksiyonlardan izole edildi. Gri renkli toz şeklinde olan kafeik asit, bilinen bir bileşik olup elde edilen ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

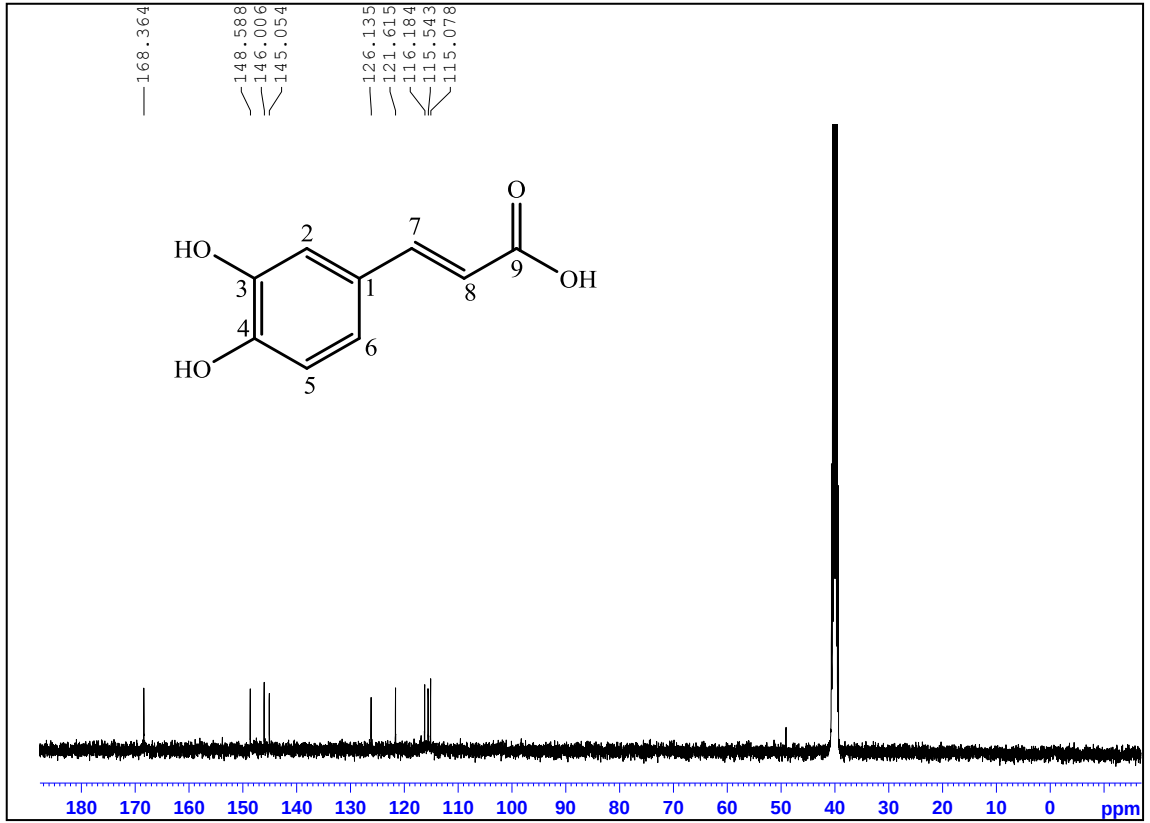
Çizelge 4.7. Kafeik asit’in (5) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (pmm)	δ_{H} (pmm)
1	C	126.13	-
2	CH	115.54	7.02 (d, $J = 1.7\text{Hz}$)
3	C	148.59	-
4	C	145.05	-
5	CH	116.18	6.75 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$)
6	CH	121.61	6.96 (dd, $J = 8.3; 1.9\text{ Hz}$)
7	CH	146.01	7.43 (d, $J = 15.8\text{ Hz}$)
8	CH	115.08	6.17 (d, $J = 15.8\text{ Hz}$)
9	C	168.36	-



Şekil 4.21. Kafeik asit'in (5) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO-d_6)

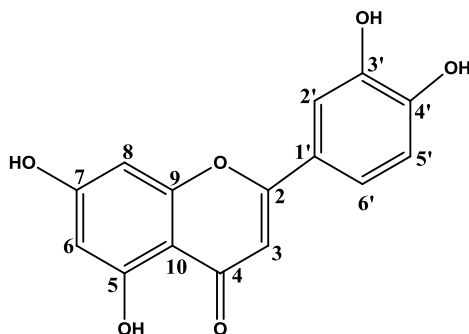
Kafeik aside (5) ait ^1H -NMR spektrumu (Şekil 4.21) incelendiğinde trisubstitue aromatik yapının varlığını gösteren ABX sisteminin olduğu gözlenmiştir. ABX sistemine ait protonlar (H-2, H-5 ve H-6) sırası ile $\delta_{\text{H}} = 7.02$ (d, $J = 1.7$ Hz), $\delta_{\text{H}} = 6.75$ (d, $J = 8.1$ Hz) ve $\delta_{\text{H}} = 6.96$ (dd, $J = 8.3$; 1.9 Hz) ppm'de rezonans olmuştur. $\delta_{\text{H}} = 7.43$ (d, $J = 15.8$) ve $\delta_{\text{H}} = 6.17$ (d, $J = 15.8$ Hz) ppm'deki kimyasal kayma değerleri molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonlarının varlığını göstermiştir (Durust ve ark., 2001).



Şekil 4.22. Kafeik asit'in (5) ¹³C-NMR spektrumu (¹³C-NMR 100 MHz, DMSO-d₆)

Kafeik asit (5) bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumuna (Şekil 4.22) bakıldığında, fenil halkasına bağlı iki OH grubu $\delta_C = 148.59$ ve $\delta_C = 145.05$ ppm'de rezonans vermiştir. Olefinik karbonlara ait sinyaller $\delta_C = 146.01$ (C-7) ve $\delta_C = 115.08$ (C-8) ppm'de gözlenmiştir. Karbonil karbonu, $\delta_C = 168.36$ ppm'de rezonans olmuştur.

4.3.6. Luteolin (6)

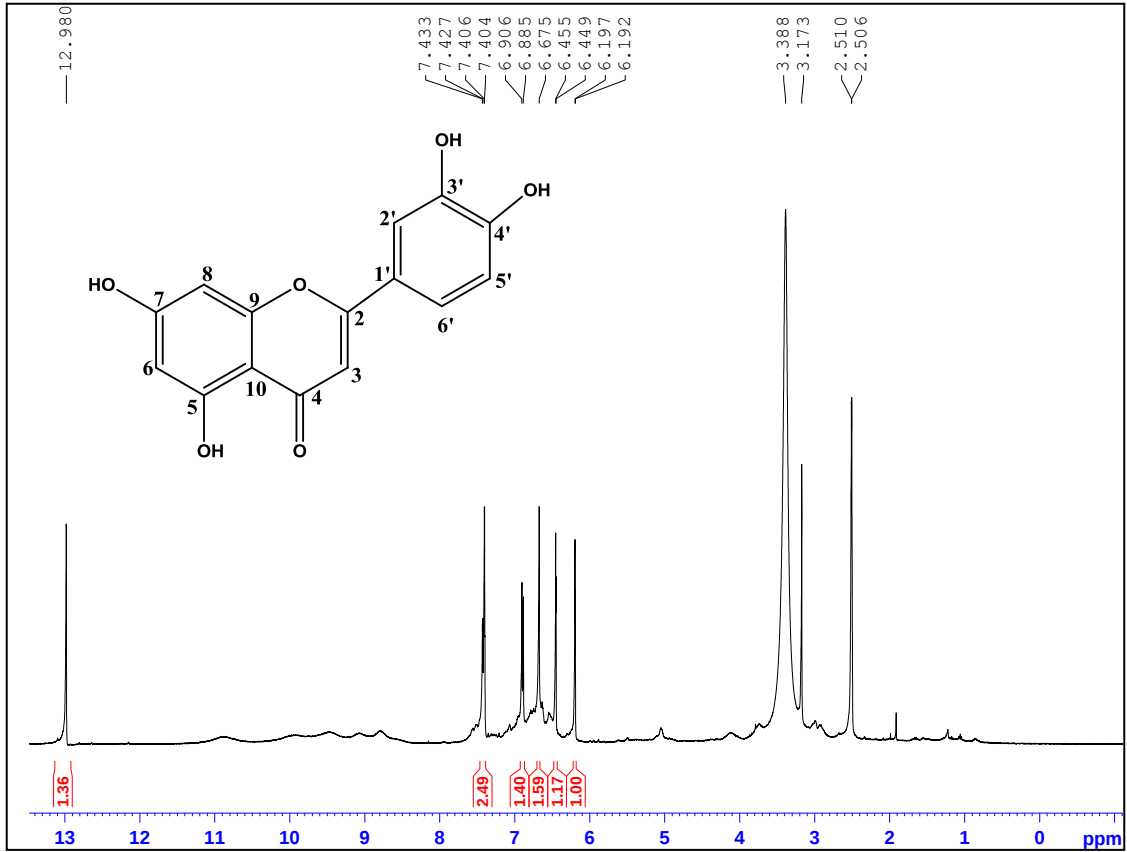


Şekil 4.23. Luteolin bileşiğinin yapısı

Luteolin (6) (Şekil 4.23) kolon kromatografisinden hekzan (%55) - EtOAc (%45) çözücü sisteminden 426-502 no'lu fraksiyonlardan P-HPLC uygulaması ile izole edildi. Bileşik sarı renk olup, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri Çizelge 4.8'da verilmiştir.

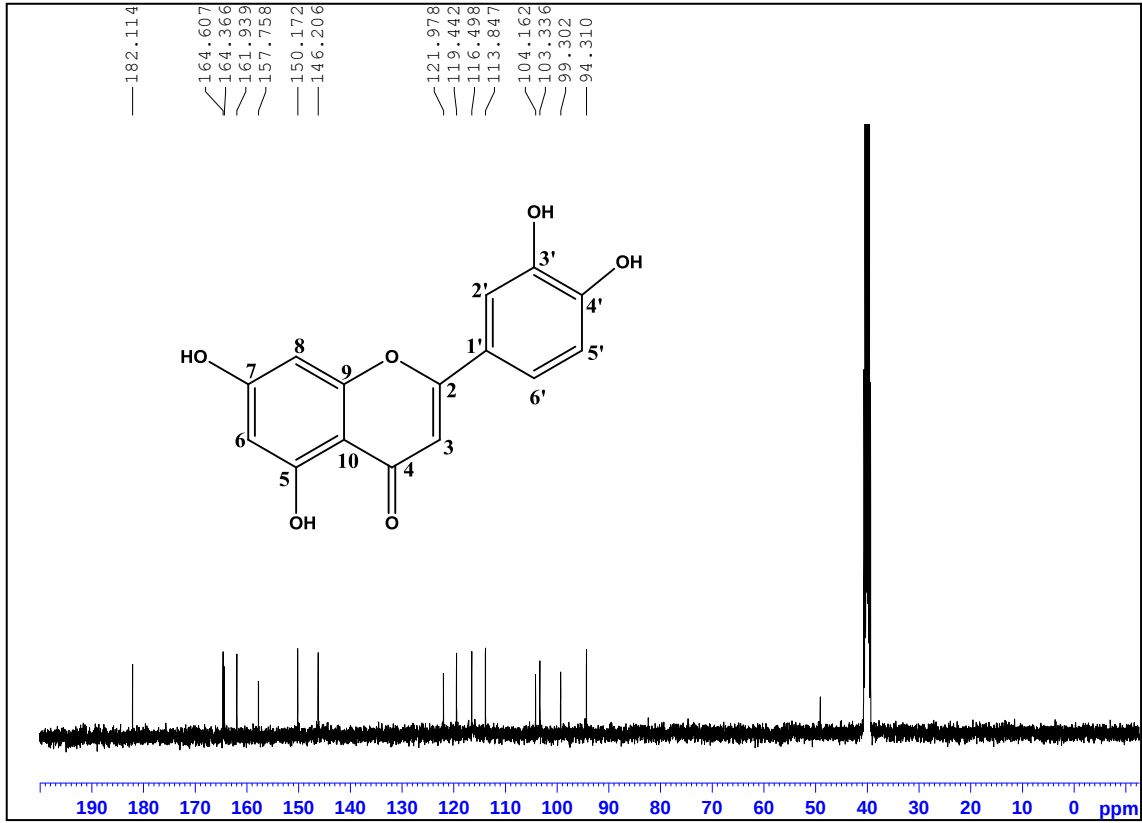
Çizelge 4. 8. Luteolin'in (6) $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (pmm)	δ_{H} (pmm)	HMBC
2	C	164.60	-	
3	CH	103.33	6.67	
4	C	182.11	-	
5	C	161.94	-	
6	CH	99.30	6.18	H-8
7	C	164.37	-	
8	CH	94.31	6.45	H6
9	C	157.15	-	
10	C	104.16	-	H-3, H-8, H-6
1'	C	121.92	-	H-2', H-5', H-3
2'	CH	113.84	7.41	H-6'
3'	C	146.20	-	
4'	C	150.11	-	
5'	CH	116.49	6.89	
6'	CH	119.44	7.43	



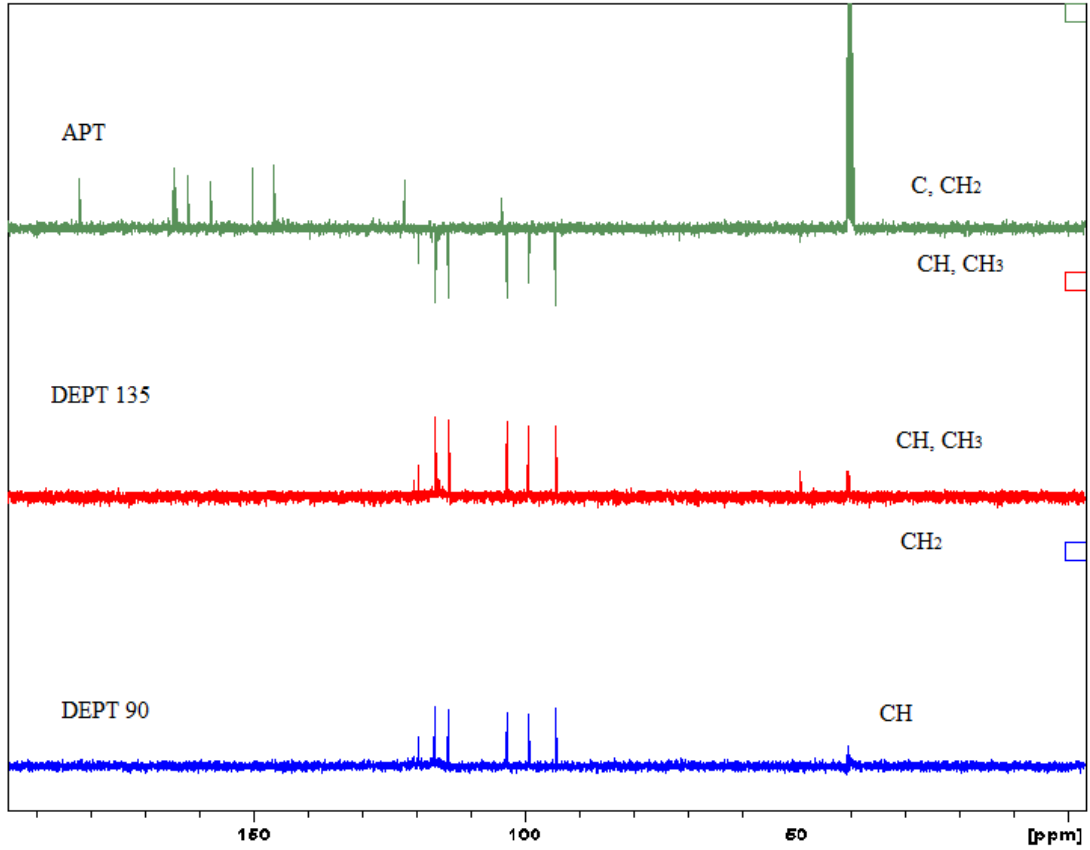
Şekil 4.24. Luteolin'in (6) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO-d_6)

Luteolin (6) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (Şekil 4.24) incelendiğinde, $\delta_{\text{H}} = 12.98$ ppm'de gözlenen sinyal 5-OH protonuna ait olup, diğer protonların kimyasal kayma değerleri incelendiğinde molekülün bir flavon iskeletine sahip olduğu belirlenmiştir. $\delta_{\text{H}} = 6.18$ (H-6) ve $\delta_{\text{H}} = 6.45$ (H-8) protonlarına ait sinyaller meta etkileşimine sahip 2 aromatik protonu gösterirken, $\delta_{\text{H}} = 6.67$ ppm'de (H-3) gözlenen singlet proton ve 6.89; 7.41; 7.43 ppm'de gözlenen sinyallerin sırası ile H-5'; H-2' ve H-6' protonlarına ait olduğu gözlenmiştir. ^1H -NMR spektrumunda gözlenen bu sinyaller karakteristik 5,7,3',4'-tetrasubstitue flavon yapısına ait olup, değerler literatür ile karşılaştırılarak bileşiğin luteolin olduğu tespit edilmiştir (Özcan, 2009).



Şekil 4.25. Luteolin'in (6) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz, DMSO- d_6)

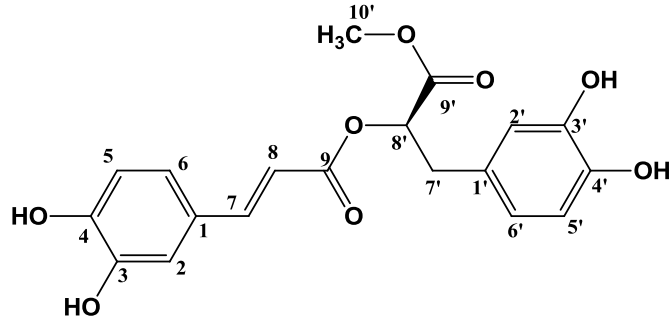
Luteolin'in (6) ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 4.25) incelendiğinde, 15 karbon atomu olduğu görülmektedir. 15 karbondan 9 tanesi kuaterner karbonu, 6 tanesi metin karbonunu göstermektedir. A halkasında yer alan iki $-\text{OH}$ grubuna bağlı karbonlar sırası ile $\delta_{\text{C}}=161.94$ (C-5) ve $\delta_{\text{C}}=164.37$ (C-7) ppm'de rezonans olurken; B halkasına ait hidroksil gruplarının bağlı olduğu karbonlar $\delta_{\text{C}}=146.20$ (C-3') ve $\delta_{\text{C}}=150.11$ (C-4') ppm'de sinyal vermiştir. C halkasında yer alan karbonil karbonu $\delta_{\text{C}}=182.11$ ppm'de gözlenmiştir.



Şekil 4.26 . Luteolin'in (6) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (^{13}C -NMR 100 MHz, DMSO-d_6) spektrumu

Luteolin'in (6) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.26) incelendiğinde yapıda 15 karbon atomu olduğu görülmektedir. -CH gruplarının belirlendiği DEPT-90 spektrumundan yapıda 6 metin grubunun olduğu, DEPT-135 spektrumundan ise yapıda -CH₂ ve -CH₃ gruplarının bulunmadığı tespit edilmiştir. Bileşiğe ait APT spektrumundan ise yapıda 9 kuaterner karbon atomunun olduğu belirlenerek, luteolinin yapısı ile uyum sağladığı görülmüştür.

4.3.7. Rosmarinik asit metil esteri (7)

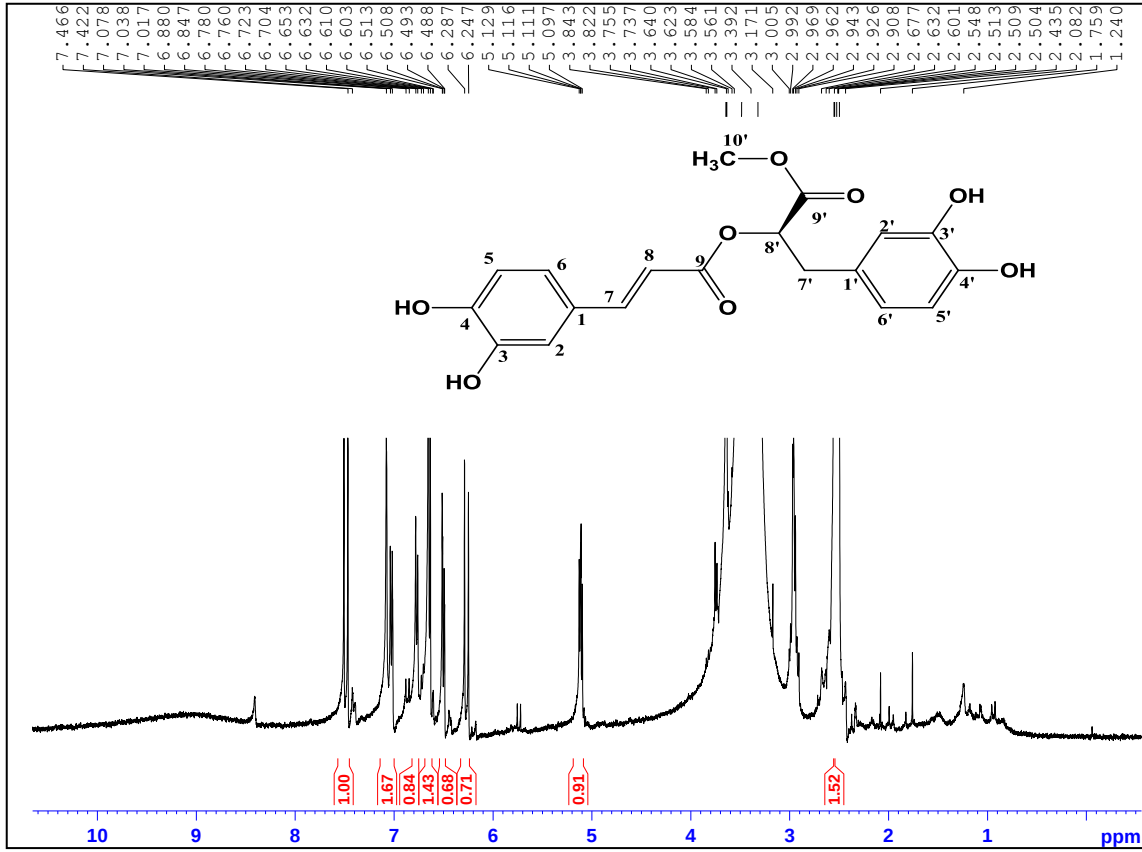


Şekil 4.27. Rosmarinik asit metil esteri bileşiğinin yapısı

Rosmarinik asit metil esteri (Şekil 4.27) kolon kromatografisinden hekzan (%55) – EtOAc (%45) çözücü sisteminden 426-502 no’lu fraksiyon aralığından P-HPLC ile izole edilmiştir. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri Çizelge 4.9’da verilmiştir.

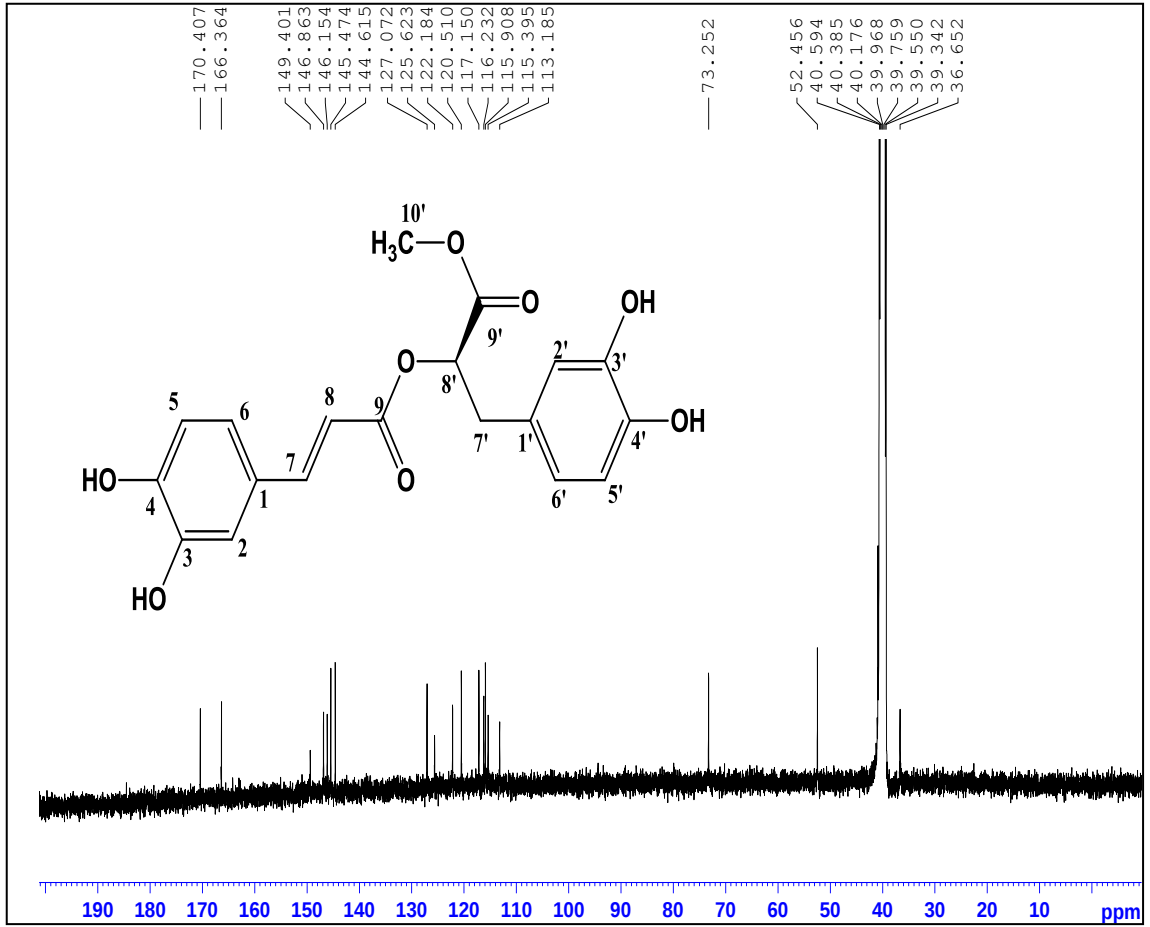
Çizelge 4.9. Rosmarinik asit metil esteri (7) ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	C	125.62	-
2	CH	115.39	7.07 (d, $J = 1.4$ Hz)
3	C	146.86	-
4	C	146.15	-
5	CH	116.23	6.77 (d, $J = 8.1$ Hz)
6	CH	122.18	7.02 (d, $J = 8.1$ Hz)
7	CH	149.40	7.48 (d, $J = 15.8$ Hz)
8	CH	113.18	6.26 (d, $J = 15.9$ Hz)
9	C	168.36	-
1'	C	127.07	-
2'	CH	117.15	6.71 (d, $J = 1.5$ Hz)
3'	C	144.61	-
4'	C	145.47	-
5'	CH	120.51	6.64 (d, $J = 8.2$ Hz)
6'	CH	115.91	6.65 (d, $J = 8.2$ Hz)
7'	CH_2	36.66	7a'; 2.91 (dd, $J = 10.3; 7.4$ Hz)
			7b'; 2.96 (dd, $J = 10.3; 5.4$ Hz)
8'	CH	73.25	5.08 (dd, $J = 7.4; 5.3$)
9'	C	170.41	-
10'	CH_3	52.45	3.63 (s)



Şekil 4.28. Rosmarinik asit metil esterinin (7) ¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR 400 MHz, DMSO-d₆)

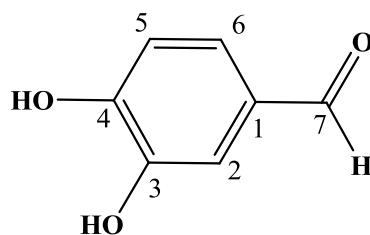
Rosmarinik asit metil esterinin (7) ¹H-NMR spektrumu (Şekil 4.28) incelendiğinde, rosmarinik asidin ¹H-NMR spektrumuna benzer olarak $\delta_H = 7.07$ (d, $J = 1.4$ Hz), $\delta_H = 7.02$ (d, $J = 8.1$ Hz), $\delta_H = 6.77$ (d, $J = 8.1$ Hz) ve $\delta_H = 6.71$ (d, $J = 1.5$ Hz), $\delta_H = 6.64$ (d, $J = 8.2$ Hz), $\delta_H = 6.65$ (dd, $J = 8.2$ Hz) ppm’de iki grup aromatik ABX sistem protonları (sırasıyla H-2, H-6, H-5 ve H-2', H-5', H-6' numaralı protonlar) gözlenmiştir. $\delta_H = 7.48$ (d, $J = 15.8$) ve $\delta_H = 6.26$ (d, $J = 15.9$ Hz) ppm’deki protonlar, etkileşim sabitlerinden dolayı molekülde birbirine göre trans konumda olan olefinik protonların varlığını göstermiştir. $\delta_H = 5.08$ (dd, $J = 7.4$; 5.3 Hz) ppm’de gözlenen sinyalin oksijen atomuna komşu olan H-8' protonu olduğu ve $\delta_H = 2.91$ ve (dd, $J = 10.3$; 7.4 Hz), $\delta_H = 2.96$ (dd, $J = 7.4$; 5.3 Hz) ppm’de gözlenen sinyallerin C-7' konumundaki metilene ait protonları gösterdiği belirlenmiştir. Rosmarinik asitten farklı olarak $\delta_H = 3.63$ ppm’de singlet sinyal gözlenmiştir. Bu da yapıda C9' karbonuna komşu metoksi grubunun varlığını göstermektedir. Bu veriler ışığında bileşiğin yapısı rosmarinik asit metil esterini olarak belirlenmiştir (Abedini, 2013).



Şekil 4.29. Rosmarinik asit metil esterı (7) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)

Rosmarinik asit metil esterı (7) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 4.29) incelendiğinde yapıda 19 tane karbon olduğu görülmektedir. 19 karbondan 8 tanesi kuaterner karbonu, 9 tanesi metin karbonu, 1 tanesi metilen karbonu, 1 tanesi de metil karbonunu göstermektedir. $\delta_{\text{C}}=146.86$ (C-3), $\delta_{\text{C}}=146.15$ (C-4), $\delta_{\text{C}}=144.61$ (C-3'), $\delta_{\text{C}}=145.47$ (C-4') ppm'de hidroksil grubuna bağlı karbonlar, $\delta_{\text{C}}=168.36$ (C-9) ve 170.41 (C-9') ppm'de karbonil karbonları, $\delta_{\text{C}}=52.45$ ppm'de metoksi grubu, $\delta_{\text{C}}=149.40$ ppm'de çift bağ sinyalleri gözlenmiştir.

4.3.8. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8)

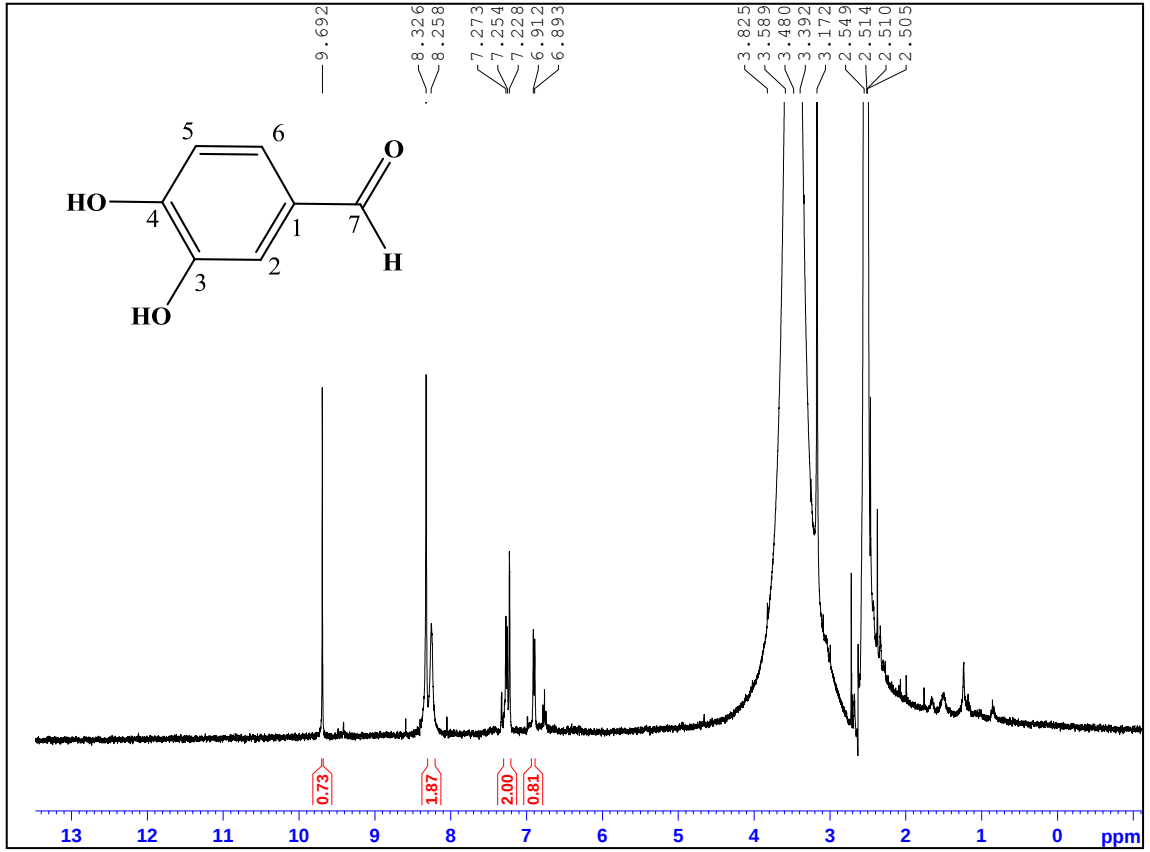


Şekil 4.30. 3,4-Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin yapısı

3,4-dihidroksibenzaldehit (8) (Şekil 4.30) kolon kromatografisinden hekzan-EtOAc (%45) çözücü sisteminden 426-502 no'lu fraksiyonlardan P-HPLC uygulaması ile izole edildi. Bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri Çizelge 4.10'de verilmiştir.

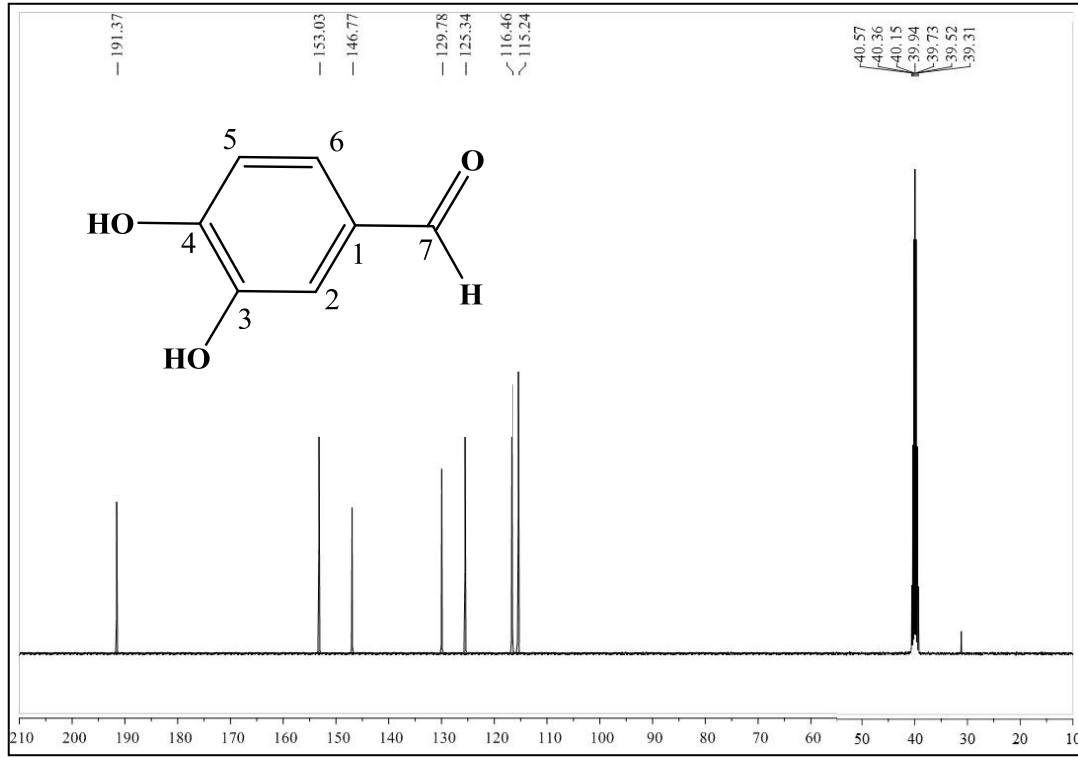
Çizelge 4.10. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8) bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (pmm)	δ_{H} (pmm)
1	C	129.78	-
2	CH	115.24	7.22 (d, $J = 1.4$ Hz)
3	C	146.77	-
4	C	153.03	-
5	CH	166.46	6.90 (d, $J = 8.0$ Hz)
6	CH	125.34	7.26 (dd, $J = 8.0; 1.4$ Hz)
7	C	191.37	9.69 (s)



Şekil 4.31. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (¹H-NMR 400 MHz, DMSO-d₆)

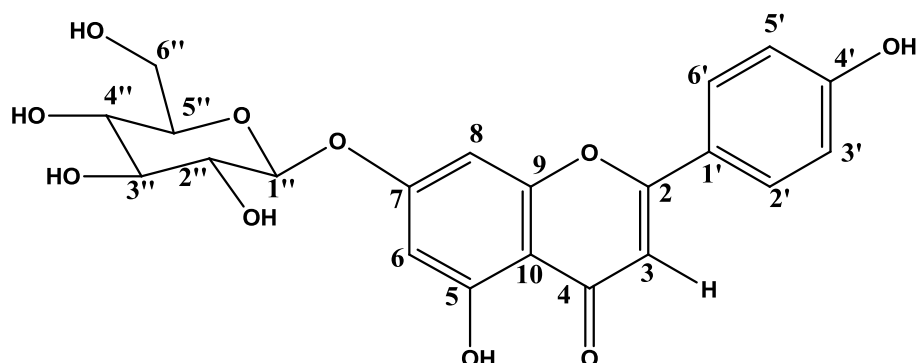
3,4-dihidroksibenzaldehit (8) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 4.31) incelendiğinde $\delta_H = 9.69$ ppm'de aldehit protonunun (H-7) rezonans olduğu görülmektedir. Spektrumda 6.8-8.4 ppm arasında gözlenen sinyaller aromatik halka protonlarına ait olup, integrasyon değerinden 5 protonun varlığı tespit edilmiştir. $\delta_H = 8.25$ ve $\delta_H = 8.26$ ppm'de gözlenen sinyaller -OH protonlarını gösterirken, $\delta_H = 6.90$ ppm ($J = 8.0$ Hz) ve $\delta_H = 7.22$ ppm'de ($J = 8.0$ Hz) gözlenen dubletler sırası ile H-5 ve H-2 protonlarını göstermektedir. Aromatik halkada yer alan H-6 protonu ise $\delta_H = 7.26$ ppm'de dd olarak rezonans olmuştur ($J = 8.0$; 1.4 Hz) (Alvarenga, 2012).



Şekil 4.32. 3,4-dihidroksibenzaldehit (8) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO-d_6)

3,4-dihidroksibenzaldehitin (8) ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4. 32) yapıda 7 karbon atomunun olduğu görülmüştür. $\delta_{\text{C}} = 146.77$ ve $\delta_{\text{C}} = 153.03$ ppm’de hidroksil grubuna bağlı karbonlar, $\delta_{\text{C}} = 191.37$ ppm’de karbonil karbonu gözlenmiştir. Aromatik halkaya ait diğer karbonlar ise 115-130 ppm arasında rezonans olmuşlardır.

4.3.9. Apigenin-7-O- β -glukozit'in (9)

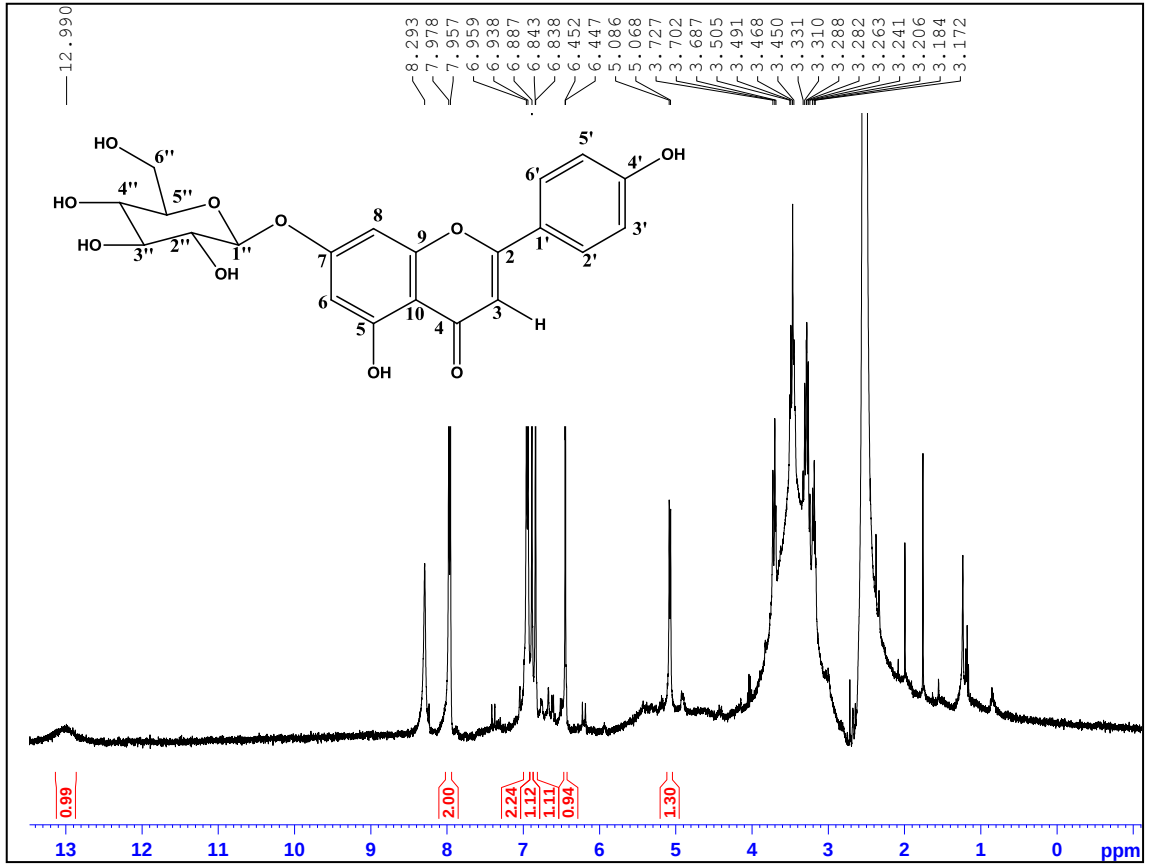


Şekil 4.33. Apigenin-7-O- β -glukozit bileşiğinin yapısı

9 no'lu bileşik, (Şekil 4.33) kolon kromatografisinden hekzan – EtOAc (% 70) çözücü sisteminden 547-634 no'lu fraksiyonun P-HPLC uygulaması ile izole edildi. $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

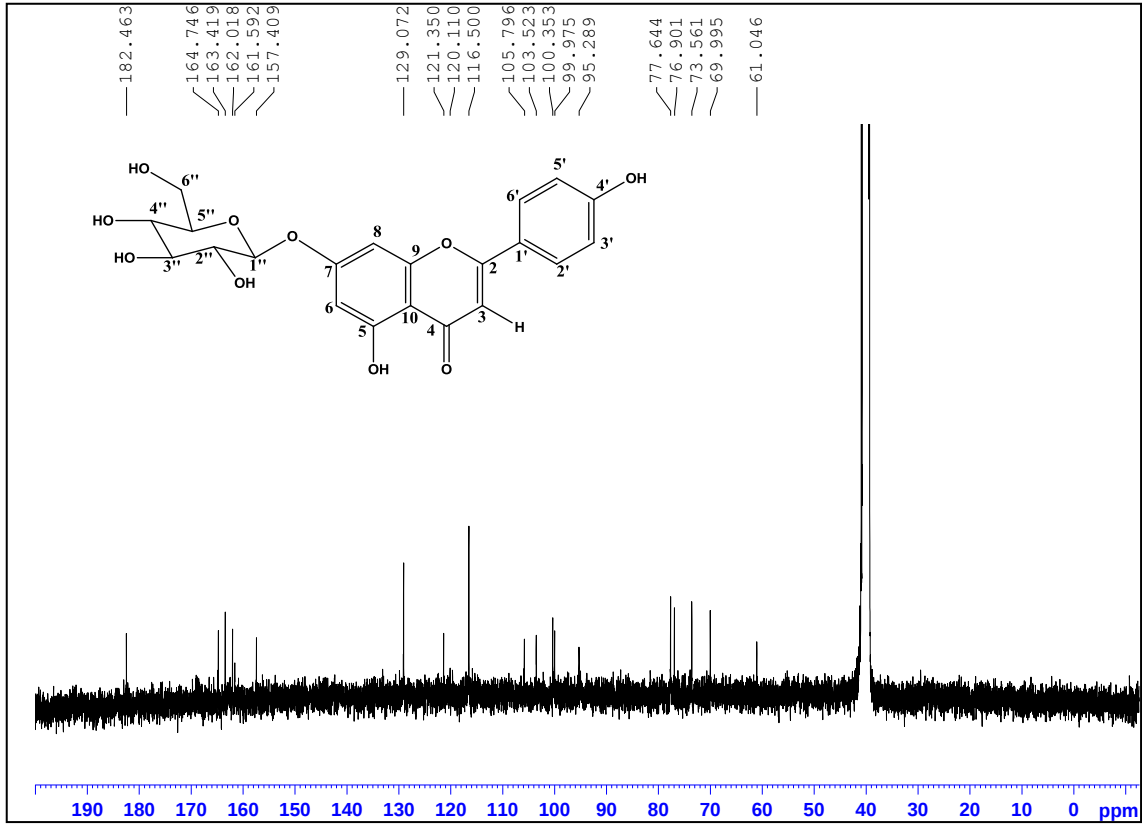
Çizelge 4.11. Apigenin-7-O- β -glukozit'in (9) $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri

C/H	DEPT	δ_{C} (pmm)	δ_{H} (pmm)	HMBC
2	C	164.75		H-3
3	CH	103.53	6.92 (s)	
4	C	182.46		H-3
5	C	161.59		
6	CH	99.97	6.46 (d, $J = 1.5$ Hz)	
7	C	163.42		
8	CH	95.29	6.86 (d, $J = 1.5$ Hz)	
9	C	157.41		
10	C	105.80		H-3
1'	C	121.35		H-3';H-5'
2'	CH	129.07	7.99 (d, $J=8.5$ Hz)	
3'	CH	116.50	6.93 (d, $J=8.5$ Hz)	
4'	C	162.02		H-2';H-6'
5'	CH	116.50	6.93 (d, $J = 8.5$ Hz)	
6'	CH	129.07	7.99 (d, $J = 8.5$ Hz)	
1''	CH	100.35	5.06 (d, $J = 7.3$ Hz)	
2''	CH	69.99	3.38 (m)	
3''	CH	73.55	3.31 (m)	
4''	CH	76.90	3.31 (m)	
5''	CH	77.64	3.46 (m)	
6''	CH ₂	61.04	3.13 (m)	



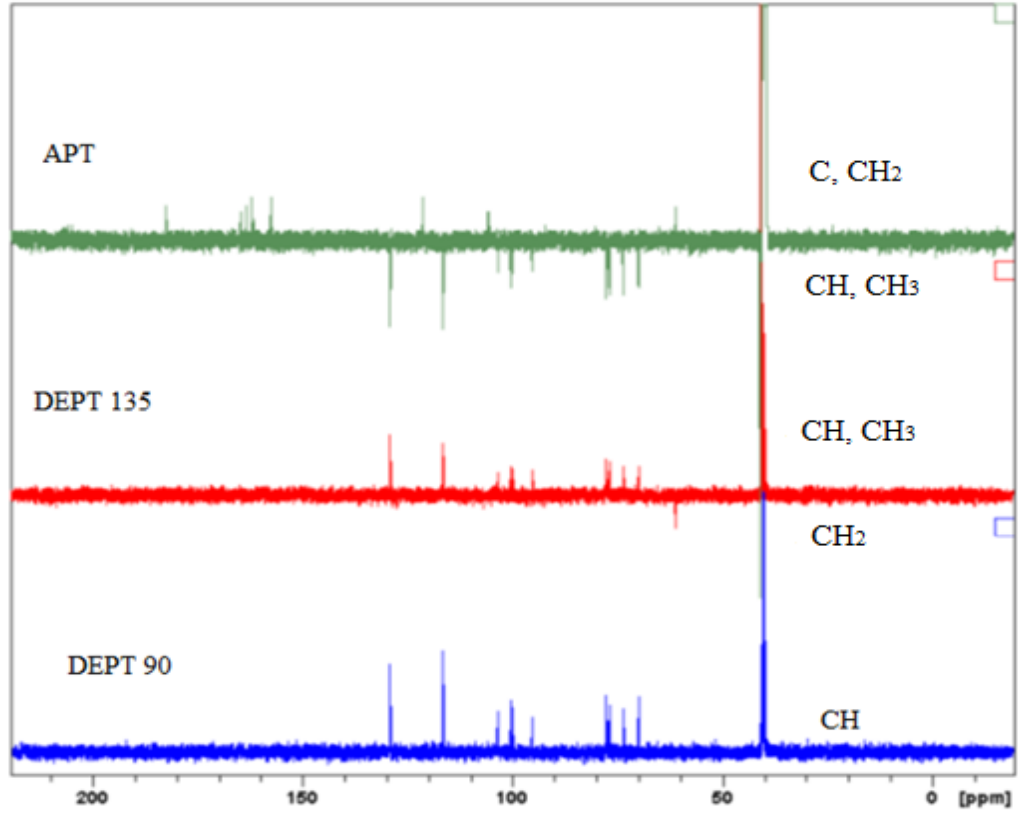
Şekil 4.34. Apigenin-7-*O*- β -glukozid'in (9) ^1H -NMR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, DMSO- d_6)

Apigenin-7-*O*- β -glukozid'in (9) ^1H -NMR spektrumu (Şekil 4.34) incelendiğinde $\delta_{\text{H}} = 5.08$ (H-1') ppm'de gözlenen sinyalin anomerik protonun varlığını gösterdiği, etkileşim sabiti değerinden (d, $J = 7.3$ Hz) aglikona β konfigürasyonunda bağlı şeker grubu olduğu belirlenmiştir. Bileşik (9), Luteolin-7-*O*- β -glukozit (3) bileşiğinden farklı olarak C-3' karbonunda -OH grubu bulundurmamaktadır. Bu nedenle, Apigenin-7-*O*- β -glukozid'in (9) B halkasında yer alan H-2' ile H-6' ve H-3' ile H-5' özdeş protonları sırası ile $\delta_{\text{H}} = 7.99$ (d, $J = 8.5$ Hz) ve $\delta_{\text{H}} = 6.93$ (d, $J = 8.5$ Hz) ppm'de rezonans olmuştur (Yılmaz, 2012).



Şekil 4. 35. Apigenin-7-O- β -glukozit'in (9) ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)

9 Bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumundan (Şekil 4. 35) yapıda 19 karbon atomu olduğu belirlenmiştir. Spektrumda $\delta_{\text{C}} = 129.07$ ve $\delta_{\text{C}} = 116.50$ ppm'de gözlenen pik şiddetlerinin diğerlerinden daha şiddetli olması yapıda özdeş iki karbon atomunun olma olasılığını düşündürmüştür. Şeker molekülüne ait pikler (61-101 ppm arası) dışında gözlenen sinyaller bileşiğin flavon iskeletine sahip olduğunu göstermiştir. B halkasında yer alan –OH grubunun bağlı olduğu C-4' karbonuna ait sinyal, $\delta_{\text{C}} = 162.02$ ppm'de gözlenmiştir.



Şekil 4.36. Apigenin-7-O-β-glukozit'in (9) DEPT-90, DEPT-135, APT NMR (¹³C-NMR 100 MHz DMSO-d₆) spektrumu

Luteolin-7-O-β-glukozit'in (9) APT, DEPT-90 ve DEPT-135 spektrumları (Şekil 4.36) incelendiğinde yapıda 19 farklı karbon atomu olduğu görülmektedir. 8 tanesi kuaterner karbonu, 12 tanesi metil karbonu (2 özdeş karbon), 1 metilen karbonu içerdiği tespit edilmiştir.

4.4. İzole Edilen Bileşiklerin Antioksidan Test Sonuçları

Çizelge.5.1. İzole edilen bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçları

Bileşikler		DPPH [•] Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/mL)]	FRAP (mmol TE/ g madde)	ABTS ^{•+} Radikal Giderme [IC ₅₀ (µg/mL)]	Metal Şelatlama [IC ₅₀ (µg/mL)]
1	Ursolik asit	151.52 ± 4.48	0.28 ± 0,01	6.32 ± 0.58	25.475±1.705
2	Cirsimaritin	11.82 ± 0.02	2.76 ± 0,06	1.51 ±0.01	17.257 ±0.96
3	Luteolin-7-O-β-glukozit	19.36± 0.78	1.57± 0.05	3.9± 0.18	203.15±3.18
4	Rosmarinik asit	8.55 ± 0.45	5,84 ± 0.26	3.36± 0.06	92.38±2.97
5	Kafeik asit	10.83 ± 0.25	3.82 ± 0.33	8.07 ± 0.38	Aktivite Gösterrmedi
6	Luteolin	16.29 ± 0.78	3.56 ± 0.12	5.61± 0.04	254.39 ± 5.62
7	Rosmarinik asit metil ester	4.84 ± 0.07	5.86 ± 0.50	2.05 ± 0.15	Aktivite Gösterrmedi
8	3,4 Dihidroksi benzaldehit	35.34 ± 0.77	1.51 ±0.06	53.39± 2.41	Aktivite Gösterrmedi
9	Apigenin-7-O-β-glukozid	91.90 ± 5.18	1.30 ± 0.01	15.48 ± 0.14	Aktivite Gösterrmedi
10	BHT	8.51 ± 1.01	4.33 ± 0.23	2.32 ±0.11	Test Edilmedi
11	BHA	3.30 ± 0.28	7.26 ± 0.26	2.48 ± 0.25	Test Edilmedi
12	Trolox	3.54 ± 0.26	3.96 ± 0.26	4.84± 0.08	Test Edilmedi
13	EDTA	Test Edilmedi	Test Edilmedi	Test Edilmedi	3.29 ± 0.16

Ursolik asit (1): *Salvia* türlerinde yaygın olarak bulunan bir bileşiktir. Ursolik asit'in DPPH• radikal giderme, ABTS^{•+} radikal giderme, metal şelatlama ve FRAP aktiviteleri standart olarak kullanılan BHT, BHA, Trolox bileşiklerinden daha düşük aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 5.1). Ursolik asit ve türevlerinin antibakteriyel, antifungal ve antimikotik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Babalola, 2013). Bunların dışında, ursolik asit ve esterlerinin birçok kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktivitesi incelenmiş (Neto, 2007); ursolik asit esterlerinin akciğeri kolon, göğüs, böbrek kanserlerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Baglin, 2003; Murphy, 2003; Kondo, 2006). Elma özütünde bulunan ursolik asit gibi terpenoidlerin, elestaz enzimini inhibe edip, kollajen aktivitesini uyarak kırışıklıkları ve derideki yaşlanmayı geciktirdiği tespit edilmiştir (Kapoor, 2009).

Cirsimaritin (2): Doğal ürünlerde yaygın olmayan bir bileşiktir. DPPH• radikal giderme aktivitesi BHA ve Trolox'dan düşük iken BHT standardına oldukça yakındır. FRAP aktivitesi ursolik asit (1), luteolin-7-O- β -glukozit (3), 3,4-dihidroksi benzaldehit (8) ve apigenin-7-O- β -glukozid (9) bileşiklerinden yüksek, diğer bileşiklerden daha düşük olarak görülmüştür. Crismaritin (2) bileşiğinin FRAP aktivitesi standart bileşiklerden de düşük bulunmuştur. Ancak ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi en yüksek olarak belirlenmiş ve metal oluşturma aktivitesi EDTA' dan sonra en yüksek değere sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 5.1). Doğal bir flavonoid olan cirsimaritin bileşiğinin antioksidan (Nyiligira, 2008; Ben Sghaier, 2011), antibakteriyel (Isobe, 2006), antispazmodik (Weimann, 2002) ve siklooksigenaz-1 inhibitörü olduğu belirlenmiştir (Kelm, 2000). Ayrıca, yapılan çalışmalarda cirsimaritin bileşiğinin insan safra kesesi kanser hücresi GBC-SD ve böbrek borusu epitel hücreleri LLC-PK1'e karşı antikanser aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Yokozawa, 1999; Quan, 2010).

Luteolin-7-O- β -glukozit (3): Bilinen bir bileşiktir. Luteolin-7-O-glukozit bileşiğinin DPPH• radikal giderme ve FRAP aktivitesi standart bileşiklere yakın olup daha düşük aktiviteye sahip iken, ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesinin standartlara oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Metal şelat oluşturma aktivitesi çok düşük olarak bulunmuştur. Luteolin-7-O- β -glukozit'i de içine alan 42 flavonoidin antioksidan ve antiradikal aktivitelerini inceleyen (Burda, 2011), β -karoten-linoleik asit sistemi yöntemi ile belirlenen toplam antioksidan aktivitesi düşük (% 25.3) değer gösterirken, antiradikal aktivitesi yüksek (% 87.6) bulunmuştur. Boldbaatar ve ark (2014) yaptıkları çalışmada

Luteolin-7-O- β -glukozit'in yüksek DPPH^{*} aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir (IC₅₀ = 8,40 μ g/mL).

Rosmarinik asit (4): *Salvia* türlerinde bilinen bir bileşiktir. DPPH^{*} radikal giderme aktivitesinde rosmarinik asit bileşiği BHA ve Trolox 'dan düşük aktiviteye sahip iken, BHT ile aynı değerlere sahiptir. FRAP aktive testinde BHA ve Rosmarinik asit metil esterinden sonra en yüksek aktiviteye sahiptir. ABTS⁺⁺ radikal giderme aktivitesi testinde Troloks'dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Metal şelatlama testinde düşük aktivite göstermiştir (Çizelge 5.1). Kanseri oluşumunu engelleyici, oksidatif stress azaltıcı, antioksidan ve anti-inflammatuar aktivite gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip ve vücudun savunma mekanizmasında önemli rol oynayan rosmarinik asit bileşiğinin biyolojik ve farmakolojik önemi daha önce yapılan bir çalışma ile rapor edilmiştir (Al-Dhabi, 2014).

Kafeik asit (5): Bilinen bir bileşiktir. DPPH^{*} radikal giderme aktivitesinde BHT standardına yakın aktivite göstermiştir. FRAP ve ABTS⁺⁺ radikal giderme testinde Trolox standardı ile aynı değerlere sahiptir. Metal şelatlama testinde aktivite göstermemiştir (Çizelge 5.1). Kafeik asit ve özellikle kafeik asit esterleri anti-inflammatuar özelliğinden dolayı halk ilacı olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır (Grunberger, 1988; Sud'ina, 1993). Kafeik asidin ve hidroksisinamik asit bileşiklerinin antioksidan aktivitesini inceleyen Chen (1997), kafeik asidin lipit oksidasyonu ve DPPH radikal giderme aktivitesi testlerinde α -tokoferol'den daha yüksek aktivite gösterdiğini belirlemiştir.

Luteolin (6): DPPH^{*} radikal giderme aktivitesinde standartlardan daha düşük aktivite göstermesine rağmen FRAP ve ABTS⁺⁺ radikal giderme aktivitesinde standartlarla yakın aktivite göstermiştir. Metal şelatlama aktivitesi düşük olarak bulunmuştur (Çizelge 5.1). Hertog ve arkadaşları (1993), yaptıkları çalışmada yaygın olarak tüketilen gıdalardaki (sebze, meyve ve çay) flavonoidlerin (quercetin, kaempferol, myricetin, apigenin ve luteolin) kişilerde miyokardiyal infarktüs ve koroner kalp hastalıklarından ölüm riskini azalttığını belirlemişlerdir. Birçok bitkide yaygın olarak bulunan luteolin bileşiğinin antioksidan (Ko, 1998), anti-inflammatuar (Chen, 2007), antimikrobiyal (McNally, 2003), antibakteriyel (Basile, 1999), antiviral (Tshikalange, 2005), antifungal

(Zhu, 2004) ve antikanser (Lopez-Lazaro, 2009) gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.

Rosmarinik asit metil esteri (7): Çok yaygın olmayan bir bileşiktir. DPPH[•] radikal giderme aktivitesinde BHT standardından daha yüksek aktivite göstermiştir. FRAP aktivitesinde standartlarla eş değerde aktivite göstermiştir. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesinde standartlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Metal şelatlama testinde aktivite göstermemiştir (Çizelge 5.1). *Origanum vulgare* bitkisinden rosmarinik asit metil esterinin antioksidan ve antimelanogenik özellikleri incelenmiş ve bu bileşiğin antioksidan ve depigmentasyon aktiviteye sahip olduğunu belirlemiştir (Ding, 2010). Rosmarinik asit, metil rozmarinat, izokuersetin ve hiperosid bileşiklerinin antibakteriyel aktivitesinin incelendiği başka bir çalışmada en yüksek inhibitör ve bakteriyel aktiviteyi metil rozmarinat (0,3 mg/mL) bileşiğinin gösterdiği gözlenmiştir (Abedini, 2013).

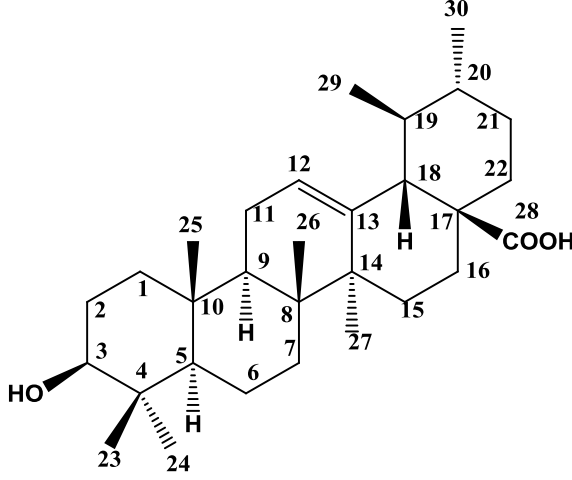
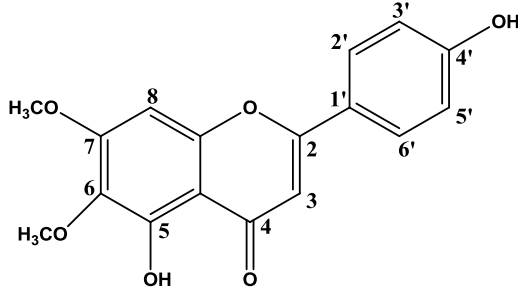
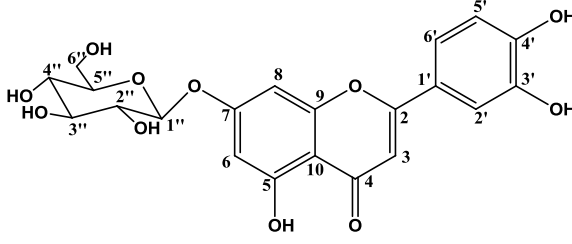
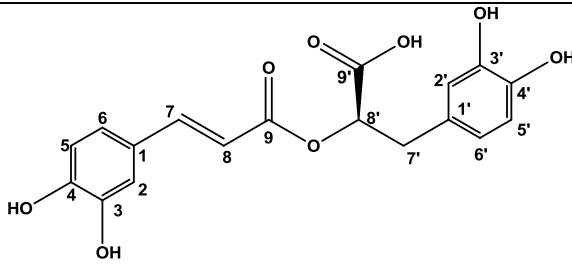
3,4 Dihidroksibenzaldehit (8): DPPH[•] radikal giderme, ABTS^{•+} radikal giderme ve FRAP aktiviteleri standartlardan daha düşük olarak bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi göstermemiştir (Çizelge 5.1). 3,4-dihidroksibenzaldehit bileşiğinin, CK-II inhibitör bileşiğinin fosfotransferaz aktivitesini inhibe ettiği (IC₅₀ = 783 µM) belirlenmiştir (Lee, 2008).

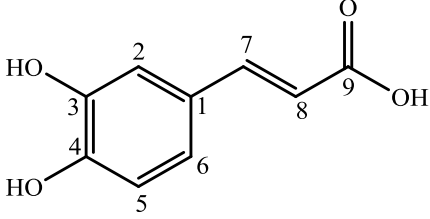
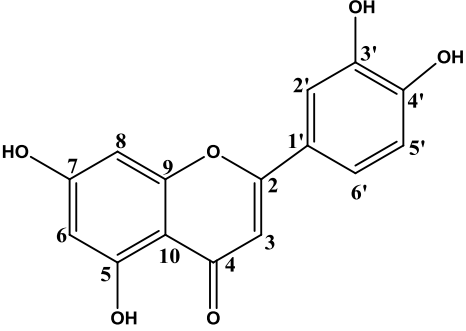
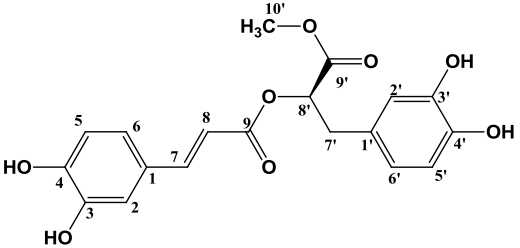
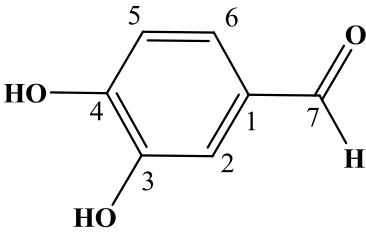
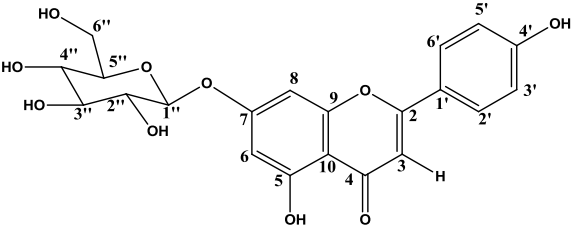
Apigenin-7-O-β-glukozit (9): DPPH[•] radikal giderme, ABTS^{•+} radikal giderme ve FRAP aktiviteleri standartlardan daha düşük olarak bulunmuştur. Metal şelatlama testinde aktivite göstermemiştir. *Mentha longifolia* (L.) Hudson subsp. *longifolia* bitkisinden izole edilen 3 flavonoidin (apigenin-7-O-glukozit, apigenin-7-O-rutinozit ve apigenin-7-O-glikoronit) mutajenik ve antimutajenik özelliklerini incelenmiş ve tüm flavonoidlerin dikkate değer antimutajenik aktiviteye sahip olduğu belirlemiştir (Baris, 2011).

5. SONUÇLAR

Çalışma kapsamında *Lamiaceae* familyasına ait *Salvia cryptantha* bitkisi üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapıldı. Öncelikle bitkinin uçucu yağ analizi yapılarak GC-MS ile belirlendi. Analiz sonucunda α -pinene, Camphene, β -Phellandrene, β -Pinene, Myrcene, α -Terpinen, D-(+)-Limonene, Sabinen, Eucalyptol, γ -Terpinen, 4 thujanol, Terpinolene, Linalool, 1-Octen-3-ol, 4 carene, Borneol, Norinone, bornyl acetate, terpineol acetate, copaene, β -Caryophyllen, α -Humulene, Germacrene D, β -Selinene, α -Selinene, gamma elemene ve spathulenol olmak üzere 27 bileşen tespit edildi. *S. cryptantha* bitkisinin etilasetat, bütanol ve su ekstraktları hazırlanarak ekstraktların DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, indirgeme gücü, metal şelatlama kapasitesi ve ABTS⁺ radikal katyon giderme aktiviteleri belirlendi. Antioksidan aktivite test sonuçları doğrultusunda en yüksek aktivite gösteren etilasetat ekstresinde kromatografik ayırma teknikleri kullanıldı. Ursolik asit, cirsimaritin, Luteolin-7-O- β -glukozit ve rosmarinik asit bileşiklerinin izolasyonu kolon kromatografisi ile gerçekleştirilirken, kafeik asit, luteolin, rosmarinik asit metil esteri, 3,4-dihidroksibenzaldehit ve apigenin-7-O- β -glukozit bileşikleri P-HPLC ile izole edildi (Çizelge 5.1). İzole edilen bileşiklere ABTS⁺, DPPH[•], FRAP ve metal şelatlama testleri uygulandı. Metal şelatlama testi hariç antioksidan aktivite testleri bakımından tüm bileşiklerin aktivite gösterdiği gözlemlendi.

Çizelge 5.1. *Salvia cryptantha* bitkisinden izole edilen bileşikler

Bileşik	Yapısı	Literatür
Ursolik asit (1 Nolu Bileşik)		(Çulhaoğlu, 2011)
Cirsimaritin (2 Nolu Bileşik)		(Kolak, 2009)
Luteolin-7-O-β-glukozit (3 Nolu Bileşik)		(Chiruvella ve ark., 2007)
Rosmarinik asit (4 Nolu Bileşik)		(Aksit, 2014)

Kafeik asit (5 Nolu Bileşik)		(Durust ve ark., 2001)
Luteolin (6 Nolu Bileşik)		(Özcan, 2009)
Rosmarinik asit metil esteri (7 Nolu Bileşik)		(Abedini, 2013)
3,4-dihidroksi benzaldehit (8 Nolu Bileşik)		(Alvarenga, 2012)
Apigenin-7-O-β-glukozit (9 Nolu Bileşik)		(Yılmaz, 2012)

6. KAYNAKLAR

- Abedini, A., Roumy, V., Mahieux, S., Biabiany, M., Standaert-Vitse, A., Riviere, C., Sahpaz, S., Bailleul, F., Neut, C., Hennebelle, T., 2013. Rosmarinic acid and its methyl ester as antimicrobial components of the hydromethanolic extract of *Hyptis atrorubens* Poit. (*Lamiaceae*). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 1-11.
- Ahıskalıoğlu, A., 2007. *Anemone Narcissiflora* Bitkisinin Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Karadeniz Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya.
- Aksit, H., 2008. Boğa Diken (Eryngium campestre) Bitkisinin Buğday Biti (Sitophilus granarius) Üzerine İnsektisit Aktivitesinin İncelenmesi ve Bitkinin Kimyasal Bileşenlerinin Aydınlatılması.(Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Aksit, H., M. Celik, S., Sen, O., Erenler, R., Demirtas, İ., Telci, İ., Elmastas, M., 2014. Complete Isolation and Characterization of Polar Portion of Mentha dumetorum Water Extract. . Records Of Natural Products 8(3), 277-280.
- Al-Dhabi, N., Arasu, M.V., Park, C.H., Park, S.U., 2014. Recent studies on rosmarinic acid and its biological and pharmacological activities. EXCLI Journal, 13, 1192-1195.
- Alvarenga, T. A., Bêdo, T. R.F.O., Braguine, C. G., Gonçalves, U.O., Magalhães, L.G., Silva, M.L.A., Cunha, W.R., Januário, A.H., and Pauletti, P. M., Rodrigues, V., Gimenez, V.M.M., Groppo, M., 2012. Evaluation of Cuspidaria pulchra and its Isolated Compounds Against Schistosoma mansoni Adult Worms. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries, 1, 122-127.
- Anonymus, 1994. *Salviae folium* (Salbeiblaetter), Bundesanzeiger Nr. 90/1985, Bundesanzeiger Nr. 50/1990. In Verffentliche Monographien. Bekanntmachung her die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln. Entwurf der Aufberetung-kommission für den humanmedi zinischen Bereich, phytotherapeutische Therapie- richtung und Stoffgruppe (Kommission E), Berlin.Bundesinstitut fr Arzneimittel und Medizinprodukte.
- Arslan, I., Celik, A., 2008. Chemical Composition and Antistaphylococcal Activity of an Endemic Salvia Chrysophylla Stapf. Naturally Distributed Denizli Province (Turkey) and Its Vicinity. Pakistan Journal of Botany, 40(4), 1799-1803.
- Ayensu, E.S., 1981. Medicinal Plants of the West Indies. Algonac, Michigan: Reference Publications Inc.
- Ayhan, B., 2008. *Sideritis libanotica* Familyasına ait Bazı Türlerin Sekonder Metabolitlerin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi.(Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri, Tokat.
- Babalola, I.T., Shode, F.O., 2013. Ubiquitous ursolic acid: A potential pentacyclic triterpene natural product. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2 (2), 214-222.
- Baglin, I., Mitaine-Offer, A.C., Nour, M., Tan, C.C., Lacaille-Dubois, M.A., 2003. A review of natural and modified betulonic, ursolic and echnocystic acid derivatives as potential antitumour and anti-HIV agents. Mini Review in Medicinal Chemistry, 3 (5), 25-539.

- Baris, O., Karadayi, M., Yanmiş, D., Guvenalp, Z., Bal, T., Gulluce, M., 2011. Isolation of 3 Flavonoids from *Mentha longifolia* (L.) Hudson subsp. *longifolia* and determination of their genotoxic potentials by using the E. Coli WP2 test system *Journal of Food Science* 76 (9), 212-217.
- Basile, A., Giordano, S., Lopez-Saez, J.A., Cobianchi, R.C., 1999. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, 52 1479-1482.
- Başer, K. H. C., Özek, T., Akgül, A., Tumen, G., 1993. Composition of the Essential Oil of *Nepeta Racemosa* Lam. *J.Essent.Oil.Res*, 215-217.
- Başer, K. H. C., 1990. Tıbbi Bitki ve Baharatların Dünyada ve Türkiye'deki Ticareti ve Talep Durumu. *Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi*, 53, 18-22.
- Başer, K. H. C., Beis, S.H. ve Özek, T., 1995. Composition of the essential oil of *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth. From Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 7, 113-114.
- Başer, K., H., C., Kırimer N., 2006. Essential Oils of Lamiacea Plants of Turkey. *Acta Horticulturae*, 723, 163-171.
- Baytop, T., 1986. *Farmakognozi*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Baytop, A., 1996. *Fbaytoparmasötik Botanik Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Baytop, T., 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi. Nobel Tıp Kitapevi, Ankara.
- Ben Sghaier, M., Skandrani, I., Nasr, N., Franca, MG., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K., 2011. Flavonoids and sesquiterpenes from *Tecurium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: A structure-activity relationship study. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 32, 336-348.
- Berk, A., 1953. "Esanslar (Eterik yağlar)". Hüsnü Tabiat Matbaası, İstanbul.
- Bingöl, Ü., Cosge, B., İpek, A., Gürbüz, B. ve Geven, F.G., 2009. Identification of essential oil components of *Salvia cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth, growing wild in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (5), 3836-3840.
- Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature Materials*, 26 1199-1200.
- Boiteu, P., Pasich, B., ve Radsimamanga, A.R., 1964. *Les Triterpenoids*, Gauldhier - Villards, Paris .
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839-851.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samoilik, I., Jovin, E., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L. Lamiaceae) essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, pp. 7879-7885.
- British 1983. *Herbal Pharmacopoeia*. British Herbal Medicine.
- Burda, S. a. O., W., 2011. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 49, 2774-2779.
- Chadefaud, M., Emberger, L., 1960. *Traite De Botanique (Systematique)*, Tome II, 832-833.
- Chang C.-C., Yang M.-H., Wen H.-M. and Chern J.-C., - Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods; 2002. *J. Food Drug Analysis*, 10, 178-182
- Chen, C., Peng, WH., Tsai, KD., Hsu, SL., 2007. Luteolin suppresses inflammation-associated gene expression by blocking NF-kappaB and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages. *Life Sci* 1222-1230.

- Chen, J., Ho, C.T., 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. J. Agric. Food Chem, 45, 2374-2378.
- Chiruvella, K. K., Mohammed, A., Dampuri, G., Ghanta, R. G., Raghavan, S. C., 2007. Phytochemical and Antimicrobial Studies of Methyl Angolensate and Luteolin-7-O-glucoside Isolated from Callus Cultures of *Soymida febrifuga*. Int J Biomed Sci, 3(4), 269-278.
- Çelik, E., Çelik G.Y., 2007. "Bitki Uçucu yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri1". 2007. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5(2): 1-6.
- Çulhaoğlu, B. 2011. *Salvia chrysophylla* ve *Salvia trichoclada* bitkilerdeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, yarı sentetik türevlerinin eldesi, antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Davis, P. H. 1982. Flora of Turkey an The East Eagen Islands. Edinburg.
- Delamare, A., P.,L., Moschen-Pistorello I.,T., Articoa, L., AttiSerafinia, L., and Echeverrigaray,S., 2007. "Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Salvia Officinalis* L. And *Salvia Triloba* L. Cultivated in South Brazil". Food Chemistry, 100(2), 603-608.
- Digrak, M., ulçim, A., Alma, M. H., aen S., .Tr. J., 1999. "Antimicrobial Activites of the Extracts of Various Plants (Valex, Mimosa Bark, Gallnut Powders, Salvia Sp. And Phlomis Sp.)". Tr. J. Of Biology, 23, 241-248.
- Ding, H., Chou, TH., Liang, CH., 2010. Antioxidant and antimelanogenic properties of rosmarinic acid methyl ester from *Origanum vulgare*. Food Chemistry, 123 (2), 254-262.
- Dinis, T. C., Maderia, V. M., Almeida, L. M., 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Arch Biochem Biophys, 315(1), 161-169.
- Durust, N., Ozden, S., Umur, E., Durust, Y., Kucukislamoglu, M., 2001. The isolation of carboxylic acids from the flowers of *Delphinium formosum*. Turkish Journal of Chemistry, 25(1), 93-97.
- Elmastas, M., Gulcin, I., Beydemir, S., Kufrevioglu, O. I., Aboul-Enein, H. Y., 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. Analytical Letters, 39(1), 47-65.
- Esmaili, M. A. S. A., 2010. Antioxidant, free radical scavenging activities of *Salvia brachyantha* and its protective effect against oxidative cardiac cell injury. Food and Chemical Toxicology, 48, 846-853.
- Grieve, M. 1984. A Modern Herbal, Savvas Publishing, Australia. Eastern Adelaide.
- Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, EM., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V., Nakanishi, K., 1988. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. Experientia, 44, 230-232.
- Halliwel, B., Gutteridge J. M. ve Cross, E.C., 1992. Free Radical, Antioxidants, and Human Disease: Where are we now? Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 119 (6), 598-620.
- Halliwel, B., 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. Nutrition Reviews, 52 (8), 253-265.
- Hatipoğlu, S., 2010. *Salvia adenophylla* ve *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu ve Yarı Sentetik Türevlerinin Anrioksidan ve Antikolinesteraz aktivitelerinin

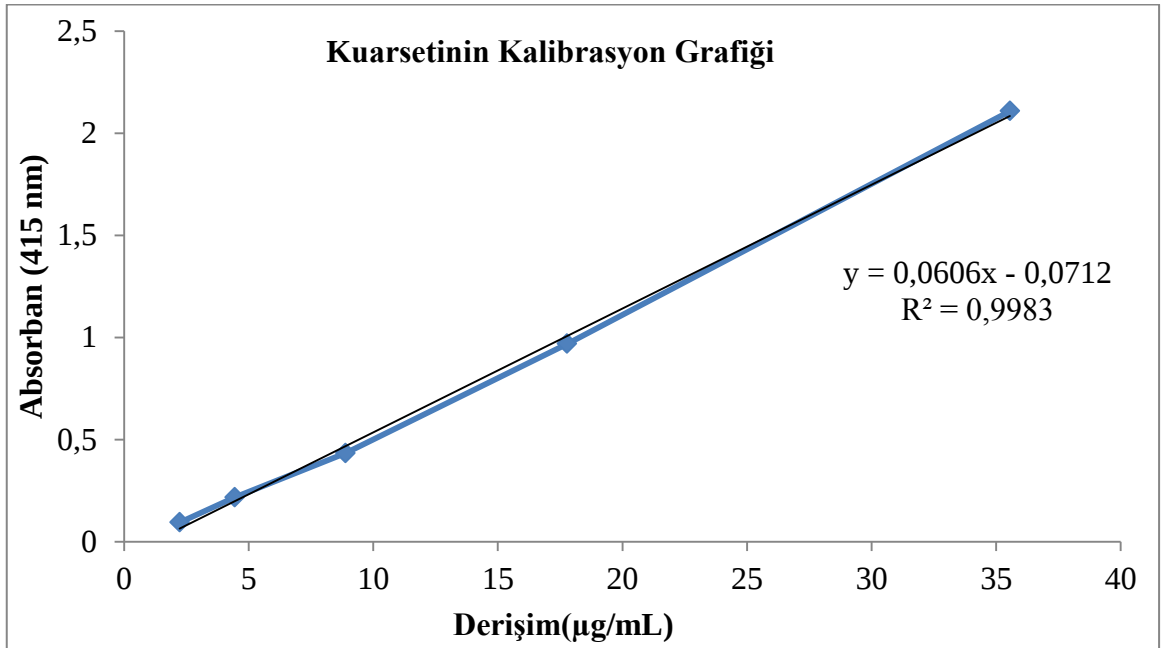
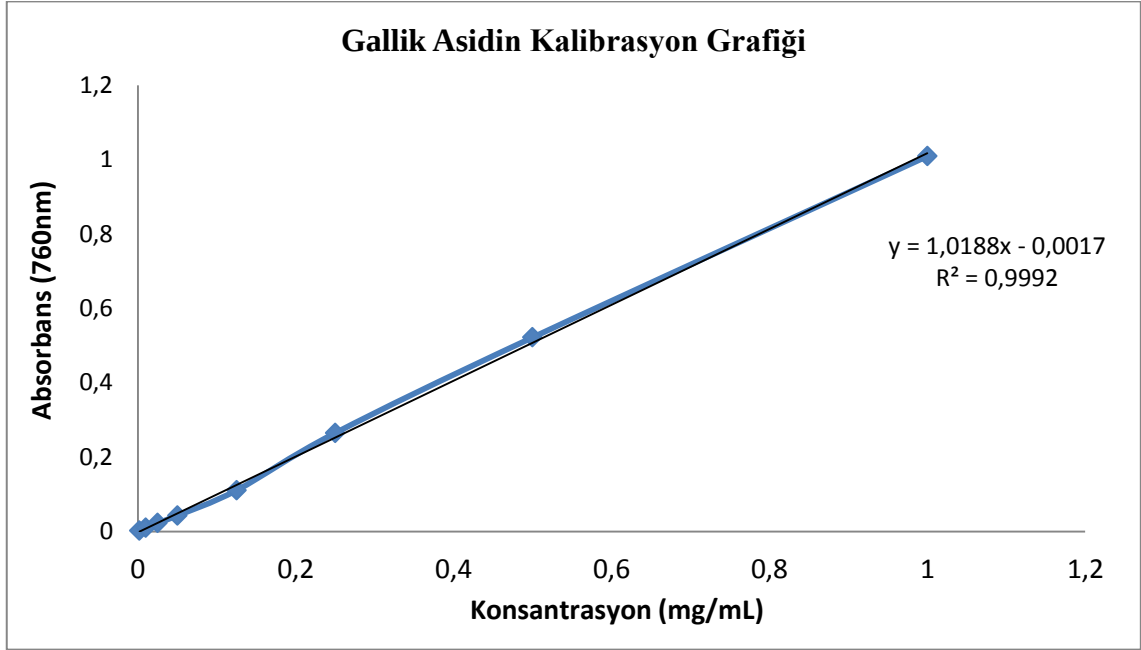
- İncelenmesi.(Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Hedge, I. C., 1986. Lamiaceae of South-West Asia: diversity, distribution and endemism, 89B. Edingburgh.Proceeding of the Royal society.
- Hedge, I. C., 1992. A global survey of the Lamiaceae, Advencis in Labiatea Science, 7-18.
- Isobe, T., Doe, M., Morimoto, Y., Nagata, K., Ohsaki, A., 2006. The antiHelicobacter pylori flavones in a Brazilian plant, Hyptis fasciculata, and the activity of methoxyflavones. Biol. Pharm. Bull, 29,1039-1041.
- Jimenez, J., Risco, S., Ruiz, T., & Zarzuelo, A., 1986. "Hypoglycemic Activity of Salvia Lavandulifolia". Planta Medica,52, 260-262.
- Kabouchea, A., Kabouchea, Z.,Öztürk,M.,Kolak vetopçu G., 2006. "Antioxidant Abietane Diterpenoids from Salvia Barrelieri". Food Chemistry, 102(4), 1281-1287.
- Kahraman, A., Celep, F., Dogan, M., 2010. Anatomy, trichome morphology and palynology of Salvia chrysophylla Stapf (*Lamiaceae*). South African Journal of Botany, 76(2), 187-195.
- Kamatou, G. P., Viljoen, A. M., Gono-Bwalya, A. B., van Zyl, R. L., van Vuuren, S. F., Lourens, A. C., Baser, K. H., Demirci, B., Lindsey, K. L., van Staden, J., Steenkamp, P., 2005. The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African Salvia species. J Ethnopharmacol, 102(3), 382-390.
- Kamatou, G. P. P., Viljoen A.M.,Van Vuuren,S.F., Van Zyl, R.L., , 2006. "In Vitro Evidence of Antimicrobial Synergy between Salvia Chamelaeagnea and Leonotis Leonurus" . South African Journal of Botany, 72, 634-636.
- Kapoor VK, D., Chadha R. , 2009. Herbals in the control of ageing. Drug Discov Today 14(19–20): 14(19–20): 992–998. .
- Kelm, M., Nair, MG., Strasburg, GM., DeWitt, DL., 2000. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from Ocimum sanctum Linn. Phytomedicine, 7, 7-13.
- Kızılkeçili, Ö., 2007. *Salvia cryptantha montbret & auchr ex bentham* ve *Salviapomifera* L. türlerinin metanol, etanol ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antibakterial, antifungal ve antitüberküloz aktivitelerinin tayini. (Yüksek Lisans Tezi), Balıkesir üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü,Biyoloji anabilim dalı,Balıkesir.
- Ko, F., Chu, CC., Lin, CN., Chang, CC., Teng, CM.. 1998. Isoorientin-6"-O-glucoside, a water-soluble antioxidant isolated from Gentiana arisanensis. Biochim.Biophys. Acta, 1389, 81-90.
- Kolak, U., Kobuche, A., Öztürk, M., Kabouche, Z., Topçu, G., Ulubelen, A., 2009. Antioxidant Diterpenoids from the Roots of Salvia barrelieri. Phytochemical Analysis, 20, pp. 320–327.
- Kondo, M. 2006. Phytochemical studies of extracts from cranberry (*vaccinium microcarpon*) with anticancer, anti-fungal and cardioprotective properties.
- Lee, B., Yoon, SH., Kim, YS., Kim, SK., Moon, BJ., Bae, YS., 2008. Apoptotic cell death through inhibition of protein kinase CKII activity by 3,4-dihydroxybenzaldehyde purified from Xanthium strumarium. Natural Product Research, 22 (16), 1441-1450.

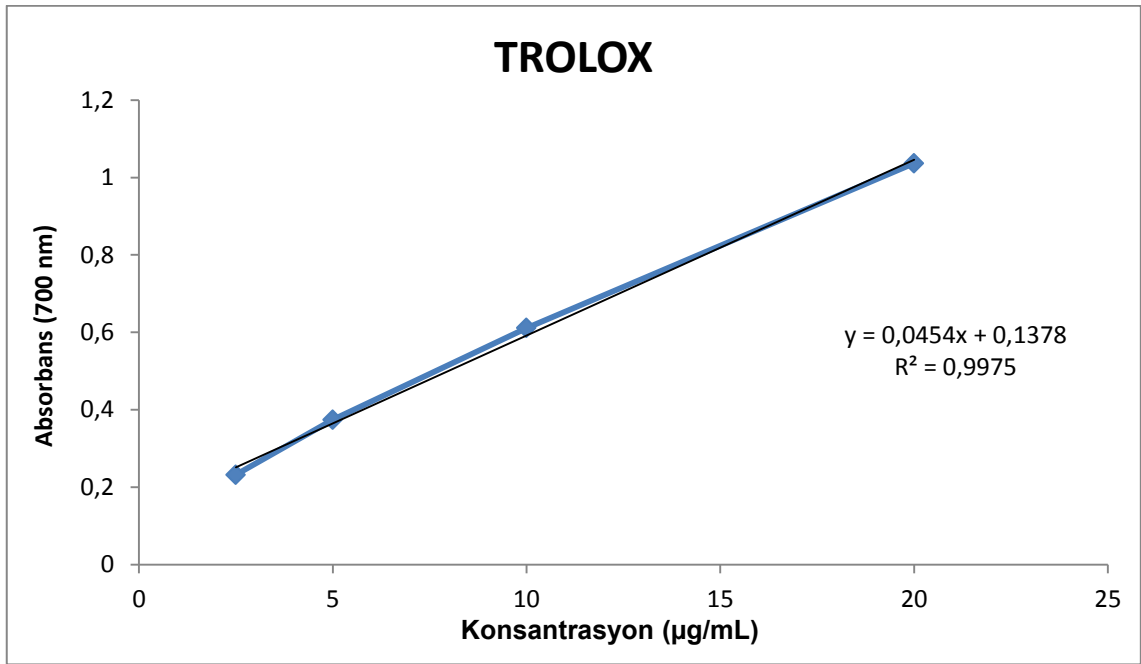
- Lin, L. Z., Wang, X. M., Huang, X. L., Huang, Y., & Cordell, G. A., 1989. "Sapriolactone, a Cytotoxic Norditerpene from *Salvia Prionitis*". *Phytochemistry*, 28, 3542-3543.
- Liu, J., Shen H., M., Ong C., N., 2000. *Salvia miltiorrhiza* inhibits cell growth and induces apoptosis in human hepatoma HepG2 cells, *Cancer Letters*, 153, pp. 85-93.
- Lopez-Lazaro, M., 2009. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* (9), 31-59.
- Lu, Y., Foo, L. Y., 2002. Polyphenolics of *Salvia*--a review. *Phytochemistry*, 59 (2), 117-140.
- McNally, D., Wurms, KV., Labbe, C., Quideau, S., Belanger, RR., 2003. Complex C-glycosyl flavonoid phytoalexins from *Cucumis sativus*. *J. Nat. Prod*, 66, 1280-1283.
- Murphy, B., Nackinnon, SI., Yam, X., Hammond, GB., Vaishery, AY., Net, CC., 2003. Identification of triterpene hydroxycinnarnates with in viter anti-tunmmer activity form whole cranberry fruit. *J Agric Food Chem*, 51, 3541-3545.
- Neto, C., 2007. Cranberry and its phytochemicals: a review of in vitro anticancer studies. *J Nutr*, 137, 1865-1935.
- Noori, S., et al., 2010. Sclareol modulates the Treg intra-tumoral infiltrated cell and inhibits tumor growth in vivo. *Cellular Immunology*, 263, pp. 148–153.
- Nostro, A., Germano, M.P., Angelo, V.D., Marino, A. And Cannatelli, M.A., 2000. "Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity". *Letters in Applied Microbiology*, 30, 379-384.
- Nyiligira, E., Viljoen, AM., Van Heerden, FR., Van Zyl, RL., Van Vuuren, SF., Steenkamp, PA., 2008. Phytochemistry and in vitro pharmacological activities of South African *Vitex* (Verbenaceae) species. *J. . Ethnopharmacol*, 28 680-685.
- Orhan, İ., Şener,B. Ve ark., 2007. "Antioxidant and Anticholinesterase Evaluation of Selected Turkish *Salvia* Species". *Food Chemistry*, 103, 1247-1254.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44 307-315.
- Özcan, O. 2009. Isolation and structural identification of compounds from *notobasis syriaca* L. Cass. , Ege Üniversitesi İzmir.
- Parekh, J., Jadeja,D., Chanda, S., 2005. "Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity". *Turk J.Bio.*, 29, 203-210.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Quan, Z., Gu, J., Dong, P., Lu, J., Wu, X., Wu, W., Fei, X., Li, S., Wang, Y., Wang, J., et al., , 2010. Reactive oxygen species-mediated endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction contribute to cirsimaritin-induced apoptosis in human gallbladder carcinoma GBC-SD cells. *Cancer Lett*, 28 252-259.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28 49-55.
- Sökmen, A., ve Gürel, E., 2001. Sekonder Metabolit Üretimi. *Bitki Biyoteknolojisi*. Selçuk Üniversitesi Basımevi,211-261, Konya.

- Sud'ina, G., Mirzoeva, O.K., Pushkaraeva, M.A., Korshunova, G.A., Shubatyan, N.V., Varfolomeev, S.D., 1993. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett*, 329, 21-24.
- Tabanca, N., Weerasooriya, A. D., Demirci, B., Baser, H. C., Wedge, D. E., Johnson, N., Khan, I. A., 2008. 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*, 74, 360-360.
- Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferer, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., Sokmen, A., 2004. "Antimicrobial and Antioxidative Activities of the Essential Oils and Methanol Extracts of *Salvia Cryptantha* (Montbret Et Aucher Ex Benth.) And *Salvia Multicaulis* (Vahl)". *Food Chemistry*, 84, 519-525.
- Tepe, B., 2007. "Antioxidant Potentials and Rosmarinic Acid Levels of the Methanolic Extracts of *Salvia Virgata* (Jacq), *Salvia Staminea* (Montbret & Aucher Ex Benth.) and *Salvia Verbenaca* (L.) From Turkey". *Bioresource Technology*.
- Topcu, G., Tan, N., Ulubelen, A., Sun, D., & Watson, W. H., 1995. Terpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Salvia candidissima*. *Phytochemistry*.
- Topcu, G., 2006. Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products*, 69(3), 482-487.
- Topcu, G., & Ulubelen, A., 2007. Structure elucidation of organic compounds from natural sources using 1D and 2D NMR techniques. *Journal of Molecular Structure*, 834-836, 57-73.
- Tshikalange, T., Meyer, J.J., Hussein, A.A., 2005. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *J. Ethnopharmacol*, 96, 515-519.
- Weimann, C., Goransson, U., Pongprayoon-Claeson, U., Claeson, P., Bohlin, L., Rimpler, H., Heinrich, M., 2002. Spasmolytic effects of *Baccharis conferta* and some of its constituents. *J. Pharm. Pharmacol*, 54, 99-104.
- Xin-Jian W, J.-X. X., 2005. Salvianic acid A protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against MPP⁺-induced cytotoxicity. *Neurosci Res*, 51, pp. 129-138.
- Yiğit, D. v. K., A., 2002. Bazı endemik bitkilerin (*Salvia cryptantha*, *Origanum acutidens*, *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus*) antimikrobiyal etkileri. *Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi*, 4(2), 77-81.
- Yılmaz, S. 2012. *Echinops orientalis* Trautv. bitkisindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, yapı tayini, antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Yokozawa, T., Dong, E., Kawai, Y., Gemba, M., Shimizu, M., 1999. Protective effects of some flavonoids on the renal cellular membrane. *Exp. Toxicol. Pathol*, 51, 9-14.
- Verastegui, M.A., Sanchez, C.A., Heredia, N.L., Garcia-Alvarado, J.S., 1996. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *Journal of Ethnopharmacol*. 52(3), 175
- Zarate, R., Yeoman, M.M., 2003. Application of Recombinant DNA Technology to Studies on Plant Secondary Metabolism. *Festschrift Neumann*, 1-7.
- Zhu, X., Zhang, H., Lo, R., 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem*, 52, 7272-7278.

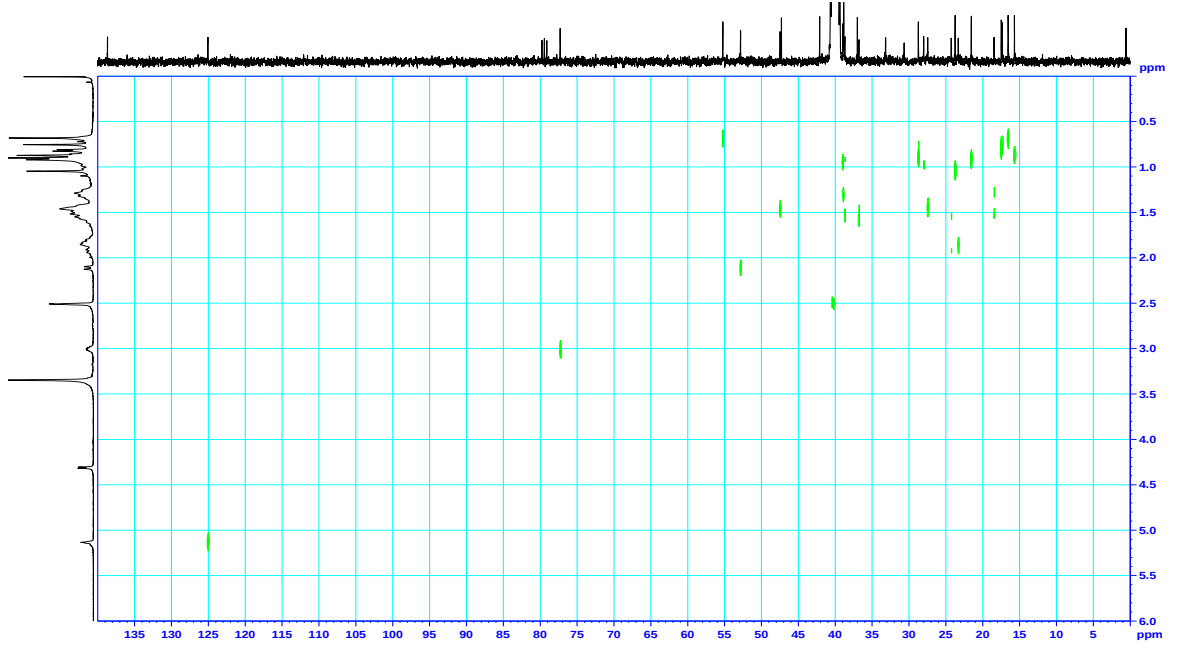
7. EKLER

EK-1 Antioksidan Aktivite Testlerinde Kullanılan Standartların Kalibrasyon Grafikleri

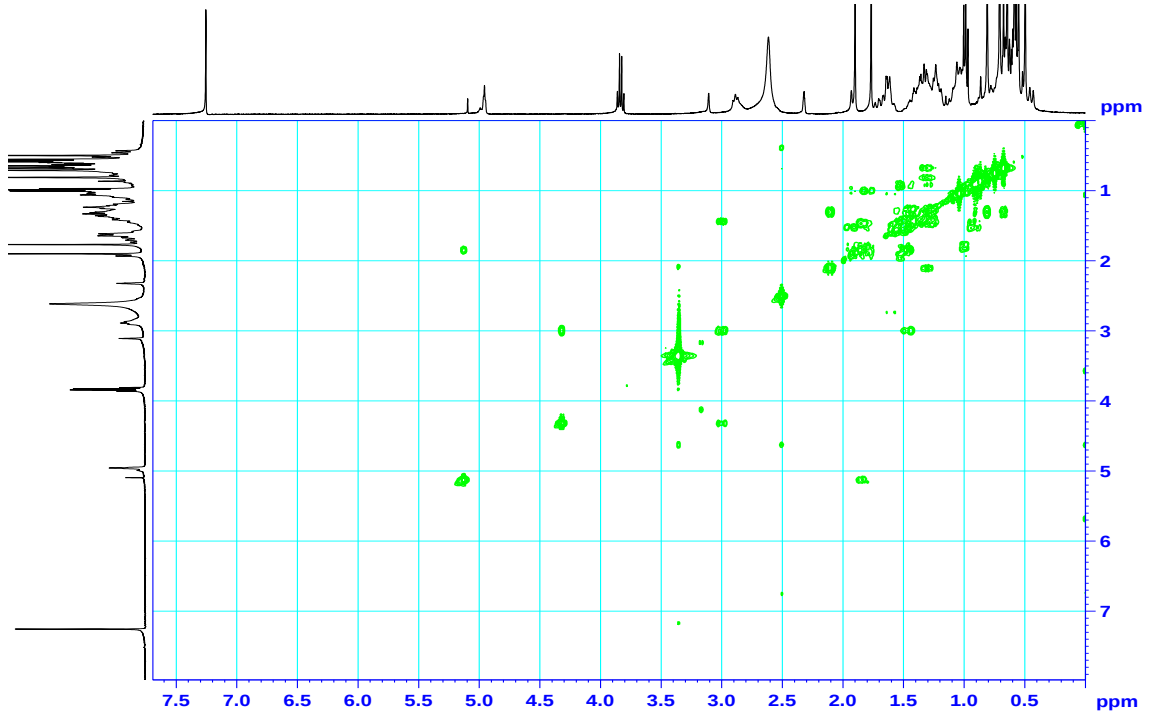




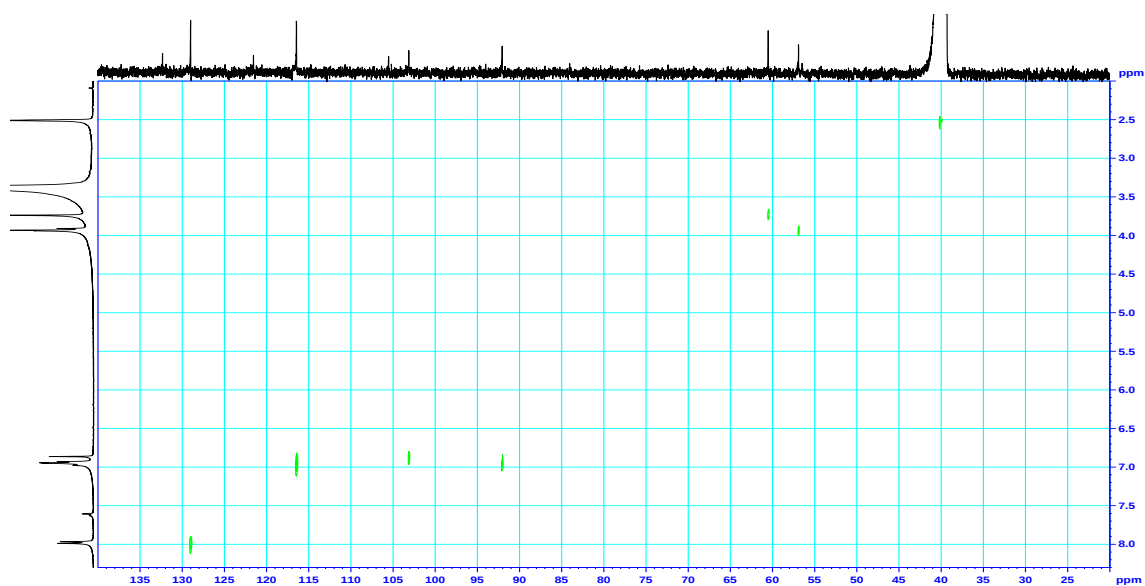
EK-2. İzole Edilen Bileşiklerin 2D-NMR Spektrumları



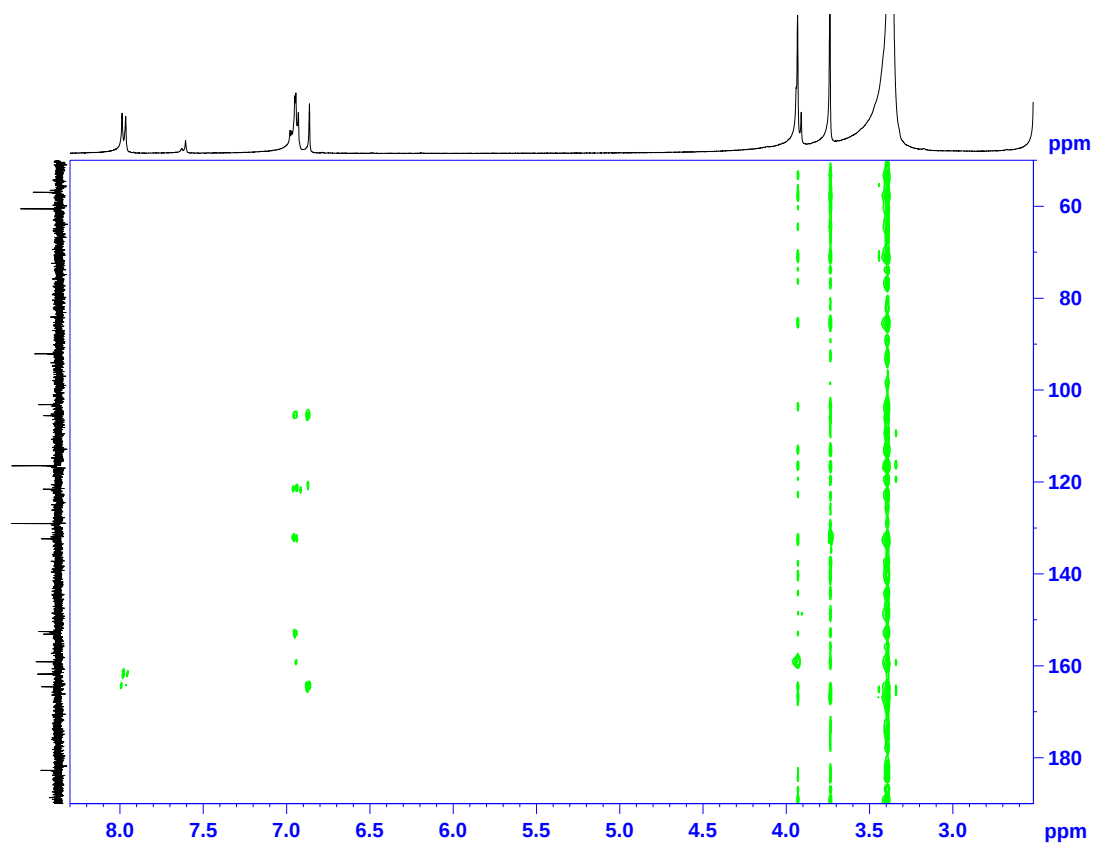
Ursolik asit'in(1) HETCOR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, ^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)



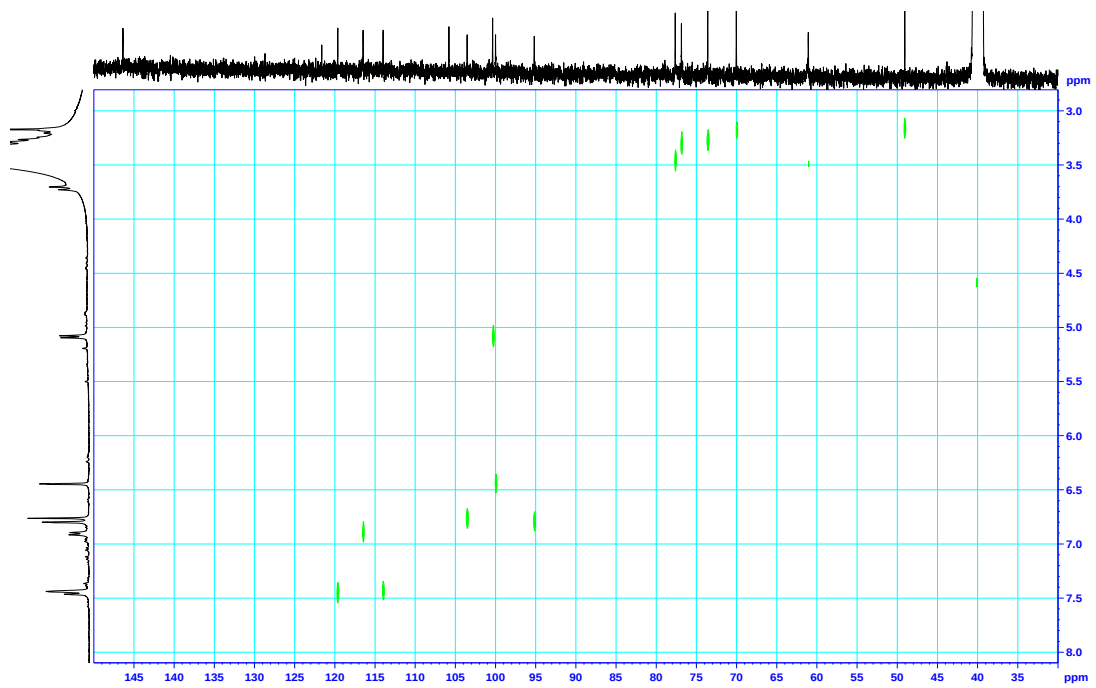
Ursolik asit'in(1) COSY spektrumu (^1H -NMR 400 MHz DMSO- d_6)



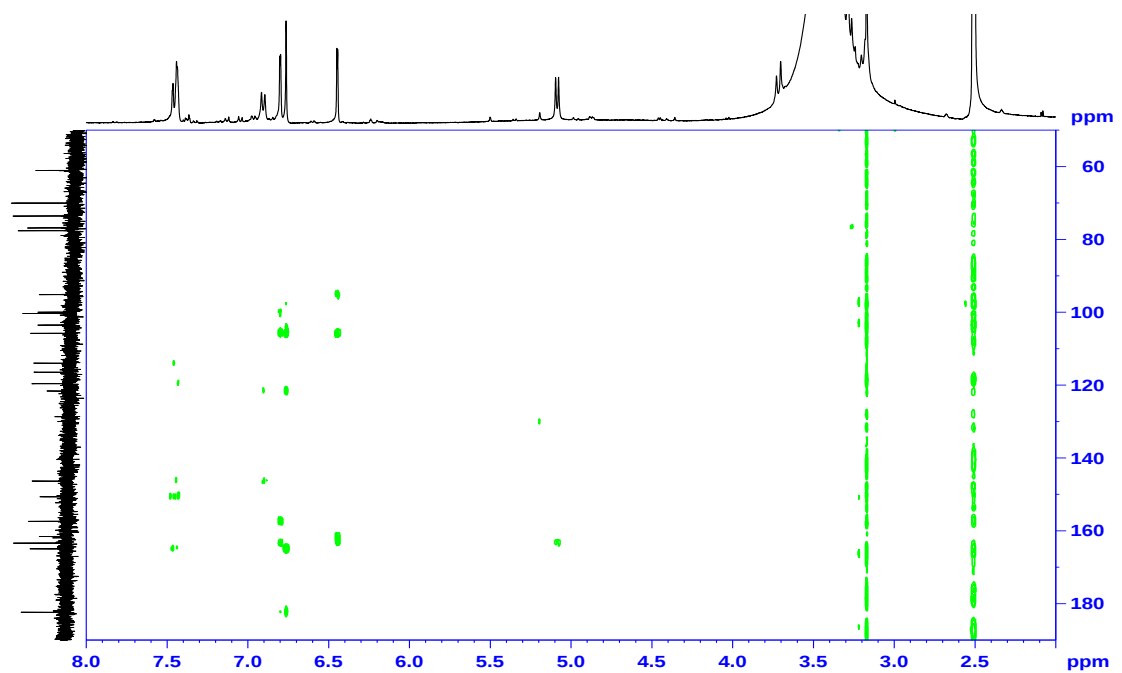
Cirsimaritin'in(2) HETCOR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, ^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)



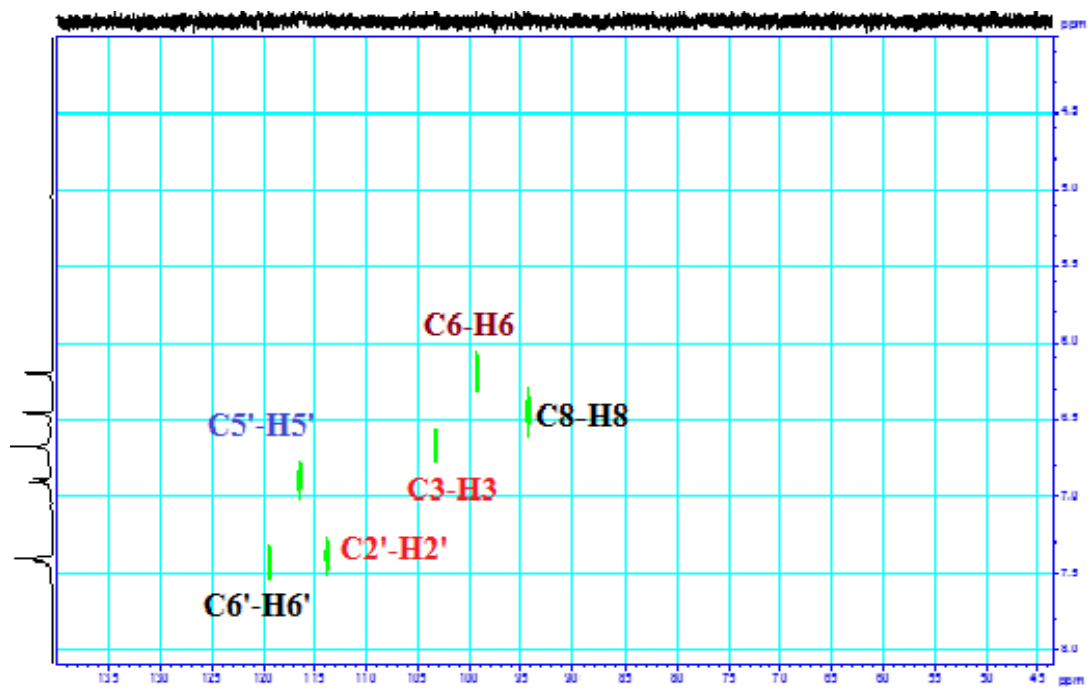
Cirsimatin'in (2) HMBC spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)



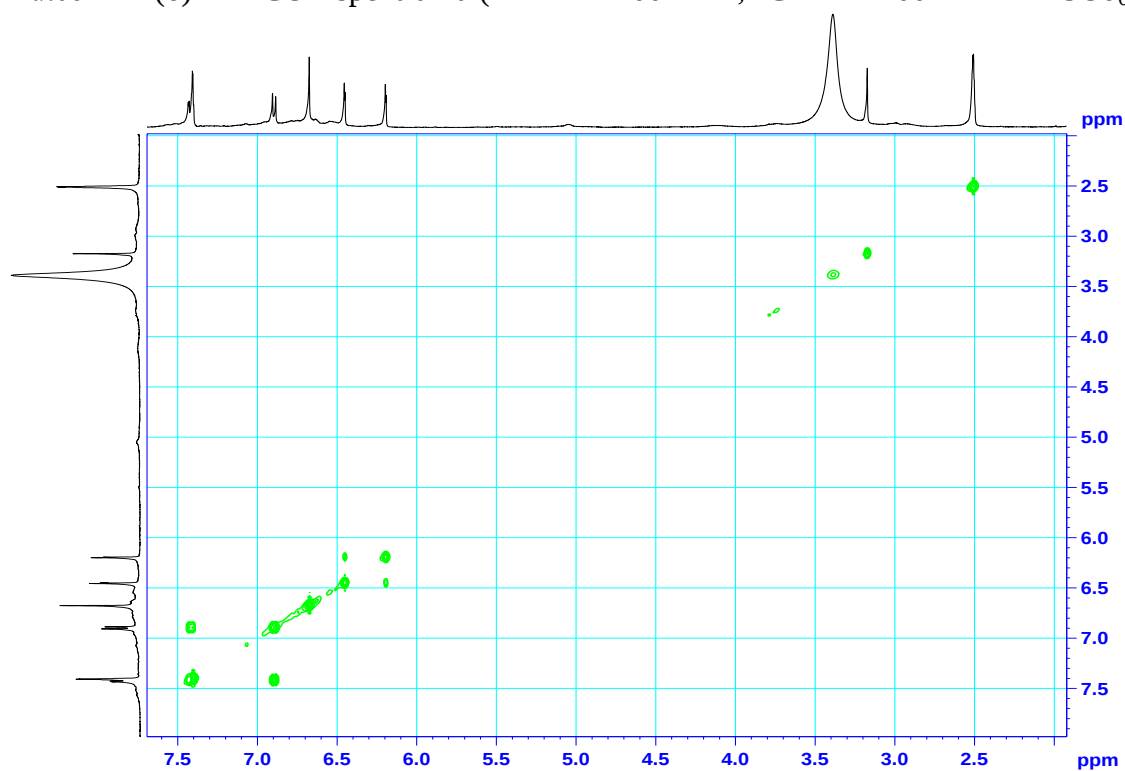
Luteolin-7- O - β -glukozit'in(3) HETCOR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, ^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)



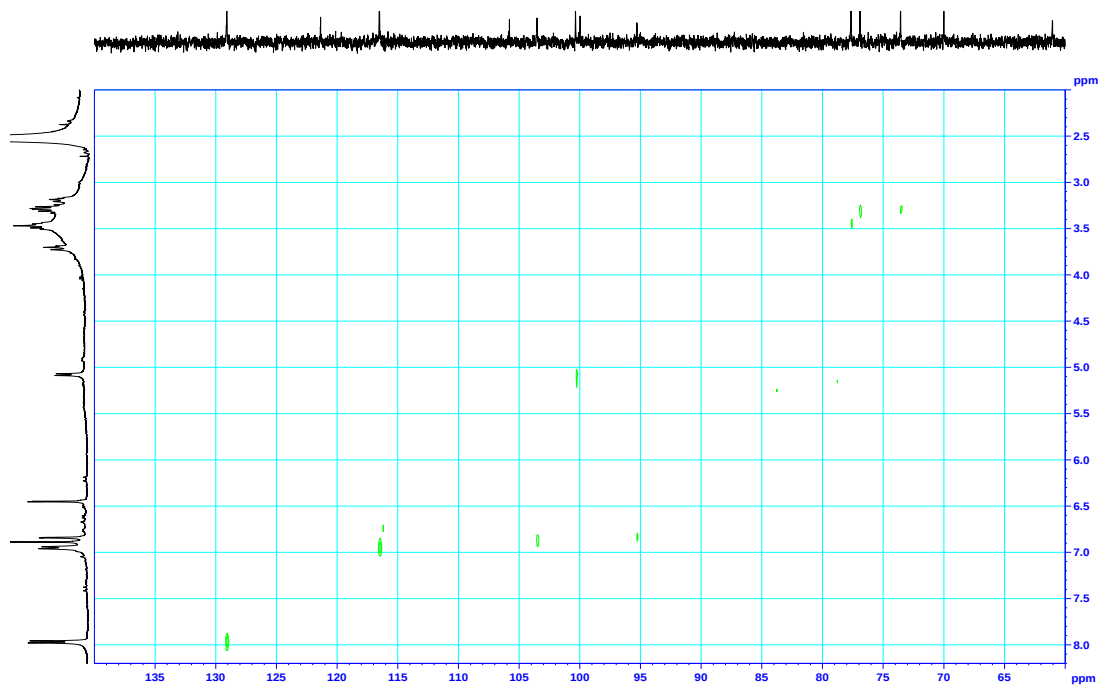
Luteolin-7- O - β -glukozit'in(3) HMBC spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)



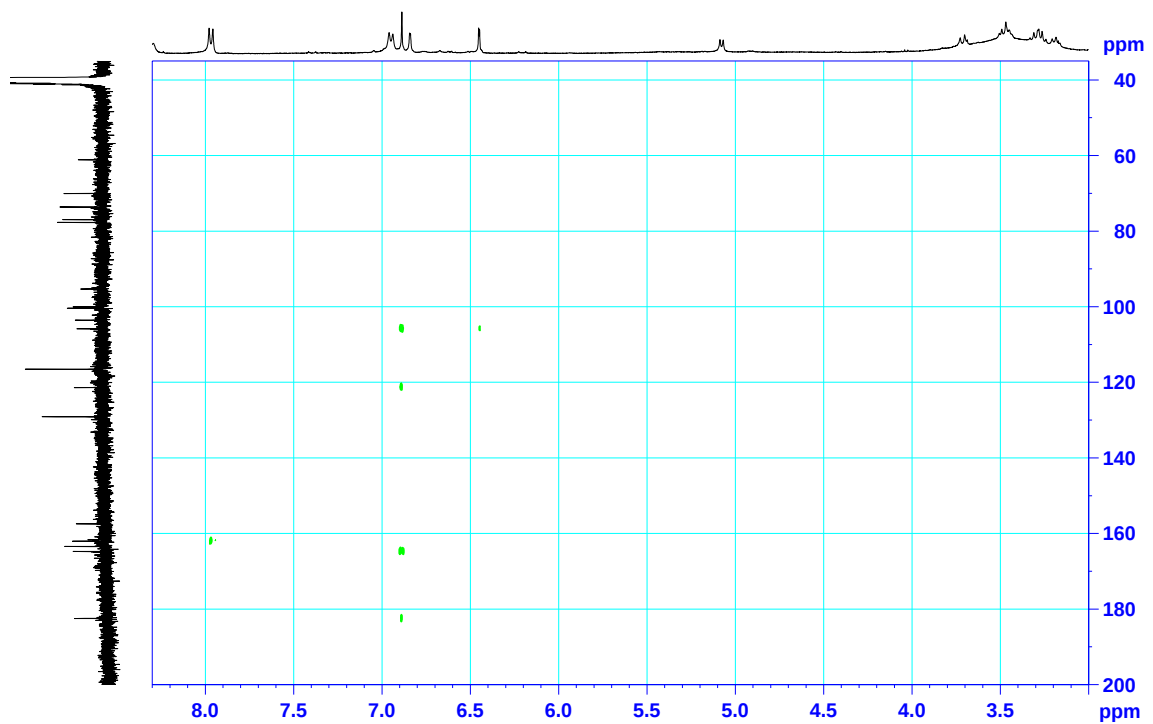
Luteolin'in(6) HETCOR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, ^{13}C -NMR 100 MHz DMSO-d_6)



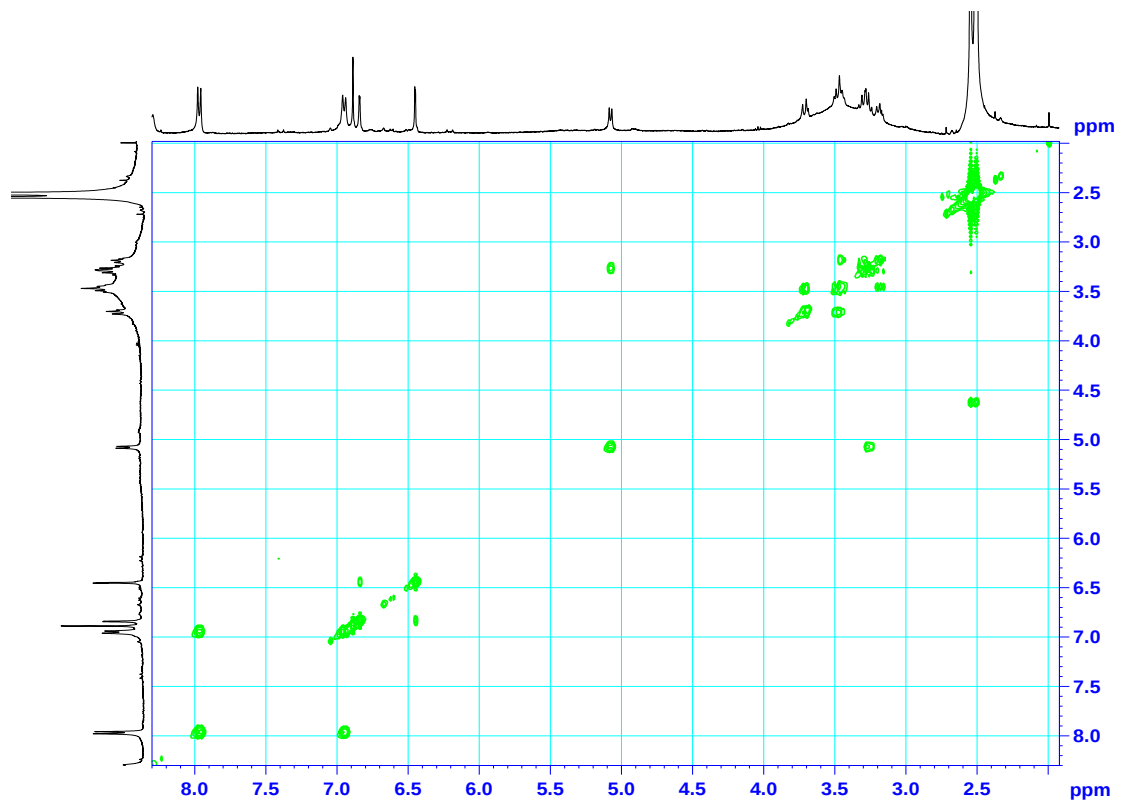
Luteolin'in(6) COSY spektrumu (^1H -NMR 400 MHz DMSO-d_6)



Apigenin-7-*O*- β -glukozit(9) HETCOR spektrumu (^1H -NMR 400 MHz, ^{13}C -NMR 100 MHz DMSO- d_6)



Apigenin-7-*O*- β -glukozid'in(9) HMBC spektrumu (^{13}C -NMR100 MHz DMSO- d_6)



Apigenin-7-O- β -glukozit'in(6) COSY spektrumu (^1H -NMR 400 MHz DMSO- d_6)

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler Adı Soyadı : Perihan KÖYSÜ

Doğum Tarihi ve Yer : 26.03.1990- Baykan

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Telefon : 0507 431 95 40

Faks : -

e-mail : perihan.kys@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2015
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2013
Lise	İbni Sina Lisesi	2009

Katılım Belgeleri ve Sertifikalar:

ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitim ve İç Tetkikçi

Mikrodalga Yöntemiyle Katı Örneklerin Çözülmesi