

T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDEMİK *Salvia siirtica* TÜRÜNÜN SEKONDER
METABOLİTLERİNİN İZOLASYONU VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Hilal SARUHAN FİDAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR




Haziran-2019

T.C
DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DIYARBAKIR

Hilal SARUHAN FİDAN tarafından yapılan “Endemik *Salvia siirtica* Türünün Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>
Başkan: Prof. Dr.	Ufuk KOLAK
Üye : Prof. Dr.	Fırat AYDIN
Üye : Doç. Dr.	Abdulselam ERTAŞ

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 08/07/2019

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../20

Prof. Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanması için gerekli olanakları sağlayan, tezin her aŐamasında değerli fikirleri, bilgi birikimi ve deneyimleriyle yol gosteren Sayın DanıŐman Hocam Doç. Dr. Abdulselam Ertaş'a sonsuz teşekkür ederim.

Tezin her aŐamasında, özellikle yapı aydınlatma konusunda tecrübelerini ve bilgisini bizden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ufuk Kolak'a teşekkür ederim. Yine yapı aydınlatma konusunda tecrübelerini bizden esirgemeyen ve tezimin bir parçası olduğu 114Z801 nolu projenin Danışmanı olan Prof. Dr. Gülaçtı Topçu'ya teşekkür ederim.

Bitki materyallerini toplama ve teŐhis konusunda destek veren Sayın ArŐ. Gör. Mehmet Fırat'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalıŐmalarım esnasında desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet Boğa'ya, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Abdullah Yılmaz'a, Öğr. Gör. Dr. İsmail Yener'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, hayatımın her aŐamasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen canım aileme; bu çalışma için beni sürekli teşvik eden, her daim yanımda olan ve desteğini esirgemeyen sevgili eŐim Mehmet Fidan'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma Tübitak tarafından desteklenmiştir (Proje No: 114Z801)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	VI
ABSTRACT	VIII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
ŞEKİL LİSTESİ.....	XII
KISALTMA VE SİMGELER	XVIII
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Botanik Bilgiler	5
2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası.....	5
2.1.2. <i>Salvia</i> L. Cinsi	5
2.1.3. <i>Salvia siirtica</i>	5
2.2. <i>Salvia</i> Türleri İle Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları.....	6
2.3. Üreaz.....	36
2.4. Tirozinaz.....	37
2.5. Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (LC-MS) Teknikleri.....	40
2.6. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS) Teknikleri.....	40
3. MATERYAL VE METOT	43
3.1. Bitkisel Materyal	43
3.2. Ekstrelerin Hazırlanışı	43
3.2.1. Sekonder Metabolitler İçin Ekstrelerin Hazırlanması	43
3.2.2. LC-MS/MS İçin Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması.....	44
3.2.3. Yağ Asidi İçin Petrol Eteri Ekstresinin Hazırlanması	44
3.2.4. Ön Biyolojik Aktiviteler İçin Ekstrelerin Hazırlanması.....	44
3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi.....	46

3.3.1.	Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi	46
3.3.2.	Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi	46
3.4.	Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	46
3.5.	Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri.....	46
3.5.1.	AchE ve BcHE Aktivite Testleri.....	46
3.6.	Antiürez Enzim Aktivitesi.....	46
3.7.	Antitirozinaz Enzim Aktivitesi	47
3.8.	Kimyasal İçerik Tayinleri	47
3.8.1.	LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi	47
3.8.2.	HPLC-IT-TOF-MS ile Kimyasal İçeriğin Taranması.....	47
3.8.2.1.	HPLC-IT-TOF-MS Çalışma Şartları	47
3.8.3.	GC-MS/MS ile Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi.....	48
3.9.	Kromatografik Yöntemler.....	48
3.9.1.	Kolon Kromatografisi	48
3.9.2.	İnce Tabaka Kromatografisi.....	49
3.10.	Spektroskopik Yöntemler	49
3.10.1.	IR (Infrared) Spektroskopisi	49
3.10.2.	NMR (Nükleer Magnetik Rezonans) Spektroskopisi	49
3.10.3.	Kütle Spektroskopisi.....	50
3.11.	İstatistiksel Hesaplamalar	50
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	51
4.1.	Ekstrelerin Verimi.....	51
4.2.	Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Sonuçları.....	52
4.3.	Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	53
4.4.	Etanol Ekstrelerinin Fraksiyonlandırılması.....	55
4.4.1.	<i>S. siirtica</i> 'nın Toprak Üstü Kısmının Etanol Ekstresinin (SSTÜE) Fraksiyonlandırılması	55
4.4.2.	<i>S. siirtica</i> 'nın Köklerinin Etanol Ekstresinin (SSKE) Fraksiyonlandırılması.....	56

4.5.	Ana Fraksiyonların Antioksidan Aktivite Sonuçları	57
4.6.	İzole Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları	60
4.7.	Ekstrelerin Antikolinesteraz Enzim Aktiviteleri	62
4.8.	İzole Edilen Saf Maddelerin Asetilkolinesteraz ve Butirikolinesteraz Enzim Aktiviteleri	62
4.9.	Ekstrelerin Üreaz ve Tirozinaz Aktiviteleri.....	63
4.10.	İzole Edilen Saf Maddelerin Üreaz ve Tirozinaz Enzim Aktiviteleri.....	64
4.11.	<i>S. siirtica</i> 'nın Fenolik İçerik Bakımından LC-MS/MS ile Taranması.....	65
4.11.1.	<i>S. siirtica</i> 'nın Çeşitli Kısımlarının ve Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi.....	66
4.12.	HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları.....	71
4.13.	GC-MS/MS ile Belirlenen Yağ Asidi Analizi Sonuçları.....	74
4.14.	Saf Madde İzolasyonu ve Saf Maddelerin Yapı Tayini.....	76
4.14.1.	Rozmarinik Asit.....	78
4.14.2.	Apigenin	84
4.14.3.	Fumarik Asit.....	90
4.14.4.	p-Kumarik Asit.....	93
4.14.5.	Kafeik Asit.....	99
4.14.6.	4-Hidroksi Benzoik Asit.....	104
4.14.7.	β -Sitosterol	109
4.14.8.	Ferruginol	118
4.14.9.	Salvigenin	126
4.14.10.	Ursolik Asit	134
4.14.11.	Oleanolik Asit.....	139
4.14.12.	Luteolin 7-Glikozit	145
4.14.13.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat = Bis-(2-etilhekzil) ftalat	151
4.14.14.	Stigmasterol.....	157
4.14.15.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat.....	162

4.14.16.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien	169
4.14.17.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien.....	180
4.14.18.	2 α , 3 β , 21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien.....	190
4.14.19.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien.....	198
4.14.20.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon	208
4.14.21.	Sugiol	214
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	221
6.	KAYNAKLAR	231
	ÖZGEÇMİŞ	243

ÖZET

ENDEMİK *Salvia siirtica* TÜRÜNÜN SEKONDER METABOLİTLERİNİN İZOLASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hilal SARUHAN FİDAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2019

Dünya’da 900’ü aşkın, Türkiye’de ise 98 kadar *Salvia* L. (Lamiaceae) türü doğal olarak yetişmektedir. Bu 98 türün 53’ü endemiktir. *Salvia* cinsine ait türler terpenler ve flavonoidler bakımından zengindir. *Salvia* türleri içerdikleri sekonder metabolitlerin çeşitliliğinden dolayı antioksidan kapasitelerinin yanında mükemmel antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. Bunlardan bazıları damar tıkanıklığı, beyin fonksiyon bozuklukları ve kanser gibi birçok patolojik rahatsızlıklara karşı kullanılır. *Salvia* cinsine ait türler farklı tıbbi değerlerinden dolayı yoğun bir şekilde araştırma konusu olmuştur. Birçok *Salvia* türü tonik, antiromatizmal ve kronik ağrı kesici olarak geleneksel tıpta ve lezzetli baharat olarak eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Aynı zamanda birçok çalışma *Salvia* cinsinin önemli bir potansiyel antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir. Bu çerçevede bölgemizin bir değeri olan endemik *Salvia siirtica* Kahraman, Celep & Doğan türünün kimyasal ve biyolojik yönden detaylı bir şekilde incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada *S. siirtica*’nın, kloroform ve etanol ekstraktları hazırlanarak antioksidan, antikolinesteraz, tirozinaz ve üreaz enzim aktiviteleri araştırılmış ve yine ekstraktların kimyasal profili ışığında preparatif HPLC ve diğer klasik kromatografik yöntemlerin kullanılması ile sekonder metabolitler saflaştırılarak yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmış, izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesini takiben üreaz, antikolinesteraz ve tirozinaz enzim aktiviteleri de tayin edilmiştir. Ayrıca bu türün yaprak, dal, çiçek, kök ve bunların karışımından hazırlanan etanol ekstraktları ile karışık kısımların petrol eteri ve kloroform ekstraktlarında LC-MS/MS ile bazı flavonoid ve fenolik bileşiklerin miktar tayini yapılmıştır. Bu türün tüm bölümlerinin petrol eteri ekstresi hazırlanarak GC-MS/MS ile yağ asidi profili belirlenmiştir.

Genel olarak hazırlanan etanol ekstraktlarının CUPRAC, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemlerinde yüksek bir antioksidan potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. Ana kolonlardan elde edilen fraksiyonlardan özellikle polar olanların üç yöntemde de oldukça aktif olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bileşiklerden fenolik yapıda olanların antioksidan bakımından oldukça aktif olduğu ve etanol ekstraktlarının hem asetil- hem de butiril-kolinesteraz enzimine karşı orta-yüksek derecede aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen saf maddelerin ise düşük bir antikolinesteraz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen hiçbir ekstretenin antiüreaz aktivite

göstermediği, antitirozinaz aktivitesinin ise düşük olduğu belirlenmiştir.

LC-MS/MS sonuçları değerlendirildiğinde *S. siirtica*'nın rozmarinik asit bakımından oldukça zengin olduğu belirlenmiştir. Özellikle SS-K ve SS-Y ekstralarının rozmarinik asit bakımından çok zengin olduğu (12285.62 ve 10037.49 µg analit/ g ekstre, sırasıyla) tespit edilmiştir. HPLC-IT-TOF-MS ile ana ekstralar taranmış ve 54 bileşik için kapalı formül ve olası bileşik isimleri tespit edilmiştir. *S. siirtica*'nın 2015-2016-2017 yıllarında toplanan örneklerinin yağ asidi içerikleri GC-MS ile analiz edilmiş ve oleik asit, cis-11-eikosenoik asit, erusik asit ve nervonik asidin majör bileşenler olduğu belirlenmiştir.

İzolasyon çalışmalarında ise *S. siirtica*'nın toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan ve antioksidan bakımdan aktif olan etanol ekstralarından 4'ü yeni (21α-hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien, 3β-hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien, 2α,3β,21α-trihidroksi urs-9(11),12-dien, 1α,21α-dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien) olmak üzere toplam 21 madde elde edilmiştir. Diğer bileşiklerin ise triterpen yapısındaki ursolik ve oleanolik asit, steroid yapıda β-sitosterol ile stigmasterol, diterpen yapısında ferruginol, sugiol ve 4,12-dihidroksi sapriparakinon, fenolik-flavonoit yapıda olanların ise salvigenin, apigenin, luteolin 7-glikozit, rozmarinik asit, fumarik asit, kafeik asit, kumarik asit, 4-hidroksibenzoik asit, bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat ve bis(2-etil heksil) tereftalat olduğu belirlenmiştir.

Kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ilk kez incelenen *S. siirtica*'nın elde edilen sonuçları bilim dünyasına kazandırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Salvia siirtica*, izolasyon, antioksidan, enzim aktivitesi, LC-MS/MS, GC-MS

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

ABSTRACT

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES OF THE ENDEMIC *Salvia siirtica* SPECIES AND DETERMINATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITIES

POST GRADUATE THESIS

Hilal SARUHAN FİDAN

DİCLE UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2019

Over 900 *Salvia L.* (Lamiaceae) species in the world and up to 98 of them in Turkey grow naturally. 53 of these 98 species are endemic. The species of *Salvia* are rich in terpenes and flavonoids. *Salvia* species have excellent antimicrobial activity in addition to their antioxidant capacity due to the variety of secondary metabolites they contain. Some of these are used against many pathological diseases such as vascular occlusion, brain dysfunction and cancer. The species belonging to the genus *Salvia* have been extensively researched because of their various medical uses. Many *Salvia* species have been used in traditional medicine as a tonic, antirheumatic and chronic painkiller and as a delicious spice since ancient times. At the same time, many studies have shown that the genus *Salvia* has the potential to be a significant antioxidant source. In this context, it is aimed to investigate the chemical and biological aspects of the endemic *Salvia siirtica* Kahraman, Celep & Doğan, which is a value of our region.

In this study, chloroform and ethanol extracts of *S. siirtica* were prepared and antioxidant, anticholinesterase, tyrosinase, and urease enzyme activities were investigated. Then, in the light of the chemical profile of the extracts, the secondary metabolites were purified by the use of preparative HPLC and other conventional chromatographic methods and their structures were illuminated by spectroscopic methods; and after the antioxidant activity of the isolated compounds was determined, urease, anticholinesterase and tyrosinase enzyme activities were also determined. In addition, some flavonoids and phenolic compounds were quantified by LC-MS / MS in petroleum ether and chloroform extracts of mixed fractions and the ethanol extracts that were prepared by the leaves, branches, flowers, roots and the mixture of these parts of this species. Petroleum ether extract for all parts of this species was prepared, and the fatty acid profile was determined by GC-MS / MS.

Generally, it was determined that ethanol extracts have a high antioxidant potential in CUPRAC, DPPH free radical removal activity and ABTS cation radical removal activity methods. It was determined that especially the polar fractions obtained from the main columns were quite active in three methods. It was determined that the obtained phenolic compounds were highly active in antioxidants and ethanol extracts have moderate to high activity

against both acetyl and butyryl-cholinesterase enzymes. It was found that the obtained pure substances had low anti-cholinesterase activity. None of the extracts showed antiurease activity, and all of them had a low antityrosinase activity.

When the LC-MS/MS results were evaluated, it was determined that *S. siirtica* was very rich in rosmarinic acid. In particular, the extracts of SS-K and SS-Y were found to be very rich in rosmarinic acid (12285.62 and 10037.49 μg analyte/g extract, respectively). The main extracts were screened by HPLC-IT-TOF-MS, and molecular formulas and possible compound names were established for 54 compounds. Fatty acid contents of samples collected from *S. siirtica* in 2015-2016-2017 years were analyzed by GC-MS. It was found that oleic acid, sis-11-eicosenoic acid, erucic acid and nervonic acid are major components.

In the isolation studies, total 21 substances, 4 of which were new (21 α -hydroxy-2 α ,3 β -diacetoxy-urs-9(11),12-diene, 3 β -hydroxy-2 α -acetoxy-urs-9 (11),12-diene, 2 α ,3 β ,21 α -trihydroxy-urs-9(11),12-diene and 1 α ,21 α -dihydroxy-2,3-(1,1-dimethyldioximethylene)-urs-9(11),12-diene) were obtained from the root and aboveground parts of *S. siirtica* and which were active in antioxidant ethanol extracts. Other compounds were found to be ursolic and oleanolic acid in the triterpene structure; β -sitosterol and stigmasterol in the steroid structure; ferruginol, sugiol, and 4,12-dihydroxy sapripara-quinone in the diterpene structure. The ones who were in the phenolic-flavonoid structure were found to be salvigenin, apigenin, luteolin 7-glycoside, rosmarinic acid, fumaric acid, caffeic acid, coumaric acid, 4-hydroxybenzoic acid, bis-(2-ethyl hexyl) benzene-1,2 dicarboxylate and bis(2- ethyl hexyl) terephthalate.

The results obtained from the *S. siirtica*, whose chemical content and biological activities were investigated for the first time, were introduced to the scientific world.

Keywords: *Salvia siirtica*, isolation, antioxidant, enzyme activity, LC-MS/MS, GC-MS

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

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1.	<i>Salvia</i> türlerinden elde edilen bazı bileşiklerin molekül formülleri, isimleri ve yapı formülleri	32
Çizelge 3. 1.	<i>S. siirtica</i> Kahraman, Celep & Doğan türünün toplanma yerleri, toplanma zamanları ve herbaryum numaraları	43
Çizelge 4. 1.	Ön biyolojik aktivite deneylerinde kullanılacak <i>S. siirtica</i> 'nın karışık kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri	52
Çizelge 4. 2.	LC-MS/MS ile fenolik madde analizi için kullanılacak <i>S. siirtica</i> 'nın çiçek, yaprak, dal ve kök kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri	52
Çizelge 4. 3.	İzolasyon çalışmaları için kullanılacak <i>S. siirtica</i> 'nın toprak üstü ve kök kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri	52
Çizelge 4. 4.	Yağ asidi analizi için kullanılacak <i>S. siirtica</i> 'nın tüm kısımlarının karışımından elde edilen kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri	52
Çizelge 4. 5.	Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktar sonuçları ^a	53
Çizelge 4. 6.	<i>S. siirtica</i> 'nın β-karoten-linoleik asit, DPPH ve ABTS aktivite sonuçları	54
Çizelge 4. 7.	CUPRAC Aktivite sonuçları ^{a,b}	55
Çizelge 4. 8.	<i>S. siirtica</i> 'nın toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin fraksiyonları, elde edildikleri çözücü sistemleri, miktarları ve antioksidan aktiviteleri	59
Çizelge 4. 9.	<i>S. siirtica</i> 'nın toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin fraksiyonları ve CUPRAC aktiviteleri	60
Çizelge 4. 10.	Elde edilen ve yapısı aydınlatılan bileşiklerin antioksidan aktiviteleri	61
Çizelge 4. 11.	Ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları ^a	62
Çizelge 4. 12.	İzole edilen saf maddelerin asetil- ve butiril-kolinesteraz enzim aktivite sonuçları ^a	63
Çizelge 4. 13.	Ekstrelerin tirozinaz ve üreaz aktivite sonuçları ^a	64
Çizelge 4. 14.	İzole edilen saf maddelerin üreaz ve tirozinaz enzim aktivite sonuçları ^a	65
Çizelge 4. 15.	LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler	67
Çizelge 4. 16.	<i>S. siirtica</i> 'nın çeşitli kısımlarının ve ekstrelerinin LC-MS/MS ile fenolik içerik analizi	69
Çizelge 4. 17.	<i>S. siirtica</i> 'nın HPLC-IT-TOF-MS sonuçları	72

Çizelge 4. 18.	2015-2017 yıllarında toplanan <i>S. siirtica</i> 'nın yağ asidi bileşimi	75
Çizelge 4. 19.	Yapısı aydınlatılan bileşikler	77
Çizelge 4. 20.	Rozmarinik asit bileşiğinin NMR değerleri	79
Çizelge 4. 21.	Apigenin bileşiğinin ¹ H NMR değerleri	85
Çizelge 4. 22.	Fumarik asit bileşiğinin NMR değerleri	90
Çizelge 4. 23.	p-Kumarik asit bileşiğinin NMR değerleri	94
Çizelge 4. 24.	Kafeik asit bileşiğinin NMR değerleri	99
Çizelge 4. 25.	4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin NMR değerleri	104
Çizelge 4. 26.	β-Sitosterol bileşiğinin NMR değerleri	110
Çizelge 4. 27.	Ferruginol bileşiğinin NMR değerleri	119
Çizelge 4. 28.	Salvigenin bileşiğinin NMR değerleri	127
Çizelge 4. 29.	Ursolik asit bileşiğinin NMR değerleri	135
Çizelge 4. 30.	Oleanolik asit bileşiğinin NMR değerleri	140
Çizelge 4. 31.	Luteolin 7-glikozit bileşiğinin NMR değerleri	146
Çizelge 4. 32.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin NMR değerleri	152
Çizelge 4. 33.	Stigmasterol bileşiğinin NMR değerleri	158
Çizelge 4. 34.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin ¹ H NMR değerleri	163
Çizelge 4. 35.	21α-Hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri	171
Çizelge 4. 36.	3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri	182
Çizelge 4. 37.	2α,3β,21α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri	191
Çizelge 4. 38.	1α,21α-Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri	200
Çizelge 4. 39.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin NMR değerleri	209
Çizelge 4. 40.	Sugiol bileşiğinin NMR değerleri	215

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1.	<i>Salvia siirtica</i> Kahraman, Celep & Doğan	3
Şekil 2. 1.	Üreaz reaksiyonu	36
Şekil 2. 2.	Üreaz enziminin üç boyutlu yapısı	37
Şekil 2. 3.	Tirozinaz enziminin üç boyutlu yapısı	37
Şekil 2. 4.	Melanogenez yolağı	39
Şekil 3. 1.	<i>S. siirtica</i> türünün saflaştırma çalışmalarında kullanılan etanol ve kloroform ekstralarının hazırlanması ve fraksiyonlandırılması	45
Şekil 4. 1.	<i>S. siirtica</i> 'nın toprak üstü etanol ekstresinin kolonu	55
Şekil 4. 2.	<i>S. siirtica</i> 'nın toprak üstü etanol ekstresinin fraksiyonlandırılması	56
Şekil 4. 3.	<i>S. siirtica</i> 'nın köklerinin etanol ekstresinin kolonu	57
Şekil 4. 4.	<i>S. siirtica</i> 'nın köklerinin etanol ekstresinin fraksiyonlandırılması	57
Şekil 4. 5.	Standart maddelerin LC-MS/MS kromatogramı	70
Şekil 4. 6.	<i>S. siirtica</i> 'nın a) karışık kısmının petrol eteri b) karışık kısmının kloroform c) karışık kısmının etanol d) kök etanol e) dal etanol f) yaprak etanol g) çiçek etanol ekstralarının LC-MS/MS analiz kromatogramları	71
Şekil 4. 7.	<i>S. siirtica</i> 'nın kök kloroform (SS-KK) ve kök etanol (SS-KE) ekstralarının sırasıyla toplam, pozitif ve negatif HPLC-IT-TOF-MS kromatogramları	74
Şekil 4. 8.	<i>S. siirtica</i> 'nın 2015 yılı yağ asidi analizi kromatogramı	75
Şekil 4. 9.	<i>S. siirtica</i> 'nın 2016 yılı yağ asidi analizi kromatogramı	76
Şekil 4. 10.	Rozmarinik asit	78
Şekil 4. 11.	Rozmarinik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	80
Şekil 4. 12.	Rozmarinik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	81
Şekil 4. 13.	Rozmarinik asit LC-MS-IT-TOF kromatogramı	82
Şekil 4. 14.	Rozmarinik asit bileşiğinin IR spektrumu	83
Şekil 4. 15.	Apigenin	84
Şekil 4. 16.	Apigenin bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	86
Şekil 4. 17.	Apigenin bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	87

Şekil 4. 18.	Apigenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	88
Şekil 4. 19.	Apigenin bileşiğinin IR spektrumu	89
Şekil 4. 20.	Fumarik asit	90
Şekil 4. 21.	Fumarik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	91
Şekil 4. 22.	Fumarik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	92
Şekil 4. 23.	p-Kumarik asit	93
Şekil 4. 24.	p-Kumarik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	95
Şekil 4. 25.	p-Kumarik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	96
Şekil 4. 26.	p-Kumarik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	97
Şekil 4. 27.	p-Kumarik asit bileşiğinin IR spektrumu	98
Şekil 4. 28.	Kafeik asit	99
Şekil 4. 29.	Kafeik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	100
Şekil 4. 30.	Kafeik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	101
Şekil 4. 31.	Kafeik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	102
Şekil 4. 32.	Kafeik asit bileşiğinin IR spektrumu	103
Şekil 4. 33.	4-Hidroksi benzoik asit	104
Şekil 4. 34.	4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	105
Şekil 4. 35.	4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	106
Şekil 4. 36.	4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	107
Şekil 4. 37.	4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin IR spektrumu	108
Şekil 4. 38.	β-Sitosterol	109
Şekil 4. 39.	β-Sitosterol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	111
Şekil 4. 40.	β-Sitosterol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	112
Şekil 4. 41.	β-Sitosterol bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	113
Şekil 4. 42.	β-Sitosterol bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	114
Şekil 4. 43.	β-Sitosterol bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	115

Şekil 4. 44.	β -Sitosterol bileşiğinin GC-MS kromatogramı	116
Şekil 4. 45.	β -Sitosterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	117
Şekil 4. 46.	Ferruginol	118
Şekil 4. 47.	Ferruginol bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	120
Şekil 4. 48.	Ferruginol bileşiğinin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)	121
Şekil 4. 49.	Ferruginol bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	122
Şekil 4. 50.	Ferruginol bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	123
Şekil 4. 51.	Ferruginol bileşiğinin GC-MS kromatogramı	124
Şekil 4. 52.	Ferruginol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	125
Şekil 4. 53.	Salvigenin	126
Şekil 4. 54.	Salvigenin bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	128
Şekil 4. 55.	Salvigenin bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)	129
Şekil 4. 56.	Salvigenin bileşiğinin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)	130
Şekil 4. 57.	Salvigenin bileşiğinin GC-MS spektrumu	131
Şekil 4. 58.	Salvigenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	132
Şekil 4. 59.	Salvigenin bileşiğinin IR spektrumu	133
Şekil 4. 60.	Ursolik Asit	134
Şekil 4. 61.	Ursolik asit bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	136
Şekil 4. 62.	Ursolik asit bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)	137
Şekil 4. 63.	Ursolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	138
Şekil 4. 64.	Oleanolik asit	139
Şekil 4. 65.	Oleanolik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)	141
Şekil 4. 66.	Oleanolik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)	142
Şekil 4. 67.	Oleanolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	143
Şekil 4. 68.	Oleanolik asit bileşiğinin IR spektrumu	144
Şekil 4. 69.	Luteolin 7-glikozit	145
Şekil 4. 70.	Oleanolik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)	147

Şekil 4. 71.	Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CD ₃ OD, 150 MHz)	148
Şekil 4. 72.	Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin HMQC spektrumu (CD ₃ OD, 600 MHz)	149
Şekil 4. 73.	Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	150
Şekil 4. 74.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat	151
Şekil 4. 75.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	153
Şekil 4. 76.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	154
Şekil 4. 77.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	155
Şekil 4. 78.	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin IR spektrumu	156
Şekil 4. 79.	Stigmasterol	157
Şekil 4. 80.	Stigmasterol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	159
Şekil 4. 81.	Stigmasterol bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	160
Şekil 4. 82.	Stigmasterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	161
Şekil 4. 83.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat	162
Şekil 4. 84.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	164
Şekil 4. 85.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	165
Şekil 4. 86.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin GC-MS spektrumu	166
Şekil 4. 87.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	167
Şekil 4. 88.	Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin IR spektrumu	168
Şekil 4. 89.	21 α -hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien	170
Şekil 4. 90.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	172
Şekil 4. 91.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	173
Şekil 4. 92.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMBC spektrumu	174

Şekil 4. 93.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu	175
Şekil 4. 94.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu	176
Şekil 4. 95.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)	177
Şekil 4. 96.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	178
Şekil 4. 97.	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin IR spektrumu	179
Şekil 4. 98.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien	181
Şekil 4. 99.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	183
Şekil 4. 100.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	184
Şekil 4. 101.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	185
Şekil 4. 102.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu	186
Şekil 4. 103.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu	187
Şekil 4. 104.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	188
Şekil 4. 105.	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin IR spektrumu	189
Şekil 4. 106.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien	190
Şekil 4. 107.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	192
Şekil 4. 108.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	193
Şekil 4. 109.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	194
Şekil 4. 110.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu	195
Şekil 4. 111.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu	196

Şekil 4. 112.	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	197
Şekil 4. 113.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien	199
Şekil 4. 114.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	201
Şekil 4. 115.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	202
Şekil 4. 116.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	203
Şekil 4. 117.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	204
Şekil 4. 118.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu	205
Şekil 4. 119.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)	206
Şekil 4. 120.	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	207
Şekil 4. 121.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon	208
Şekil 4. 122.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	210
Şekil 4. 123.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	211
Şekil 4. 124.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin GC-MS spektrumu	212
Şekil 4. 125.	4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)	213
Şekil 4. 126.	Sugiol	214
Şekil 4. 127.	Sugiol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 600 MHz)	216
Şekil 4. 128.	Sugiol bileşiğinin ¹³ C NMR (APT) spektrumu (CDCl ₃ , 150 MHz)	217
Şekil 4. 129.	Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-1	218
Şekil 4. 130.	Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-2	219
Şekil 4. 131.	Sugiol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı	220

KISALTMA VE SİMGELER

ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz enzimi
AcI	: Asetikolin iyodür
A•	: Antioksidan radikaller
AH	: Birincil antioksidanlar
APT	: Attached proton test
BCh	: Butirilkolin
BChE	: Butirilkolinesteraz enzimi
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
cm	: Santimetre
°C	: Santigrat derece
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
dk	: Dakika
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FCR	: Folin Ciocalteu fenol reaktifi
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
g	: Gram
HMBC	: Heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	: Heteronuclear multiple quantum coherence
IR	: Infrared spektroskopisi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi (TLC)
kg	: Kilogram
L	: Litre
ln	: Doğal logaritma
m	: Metre
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre

mm	:	Milimetre
mM	:	Milimolar
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
nm	:	Nanometre
NMR	:	Nükleer magnetik rezonans
ORAC	:	Oksijen radikali absorbans kapasitesi
O ₂ •	:	Süperoksit radikali
OH•	:	Hidroksil radikali
PEs	:	Pirokatekole eşdeğer
ppm	:	Milyonda bir kısım
Q	:	Kersetin
QEs	:	Kersetine eşdeğer
R•	:	Alkil radikalleri
RO•	:	Alkoksi radikalleri
ROO•	:	Peroksit radikalleri
ROOH	:	Hidroperoksitler
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
s	:	Saat
subsp	:	Subspecies
TEAC	:	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi
TBHQ	:	Tersiyer-Bütilhidrokinon
TMS	:	Tetrametilsilan
α -TOC	:	α -Tokoferol
TOSC	:	Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi
TRAP	:	Toplam radikal yakalama parametresi
Tween-40	:	Polioksietilensorbitan monopalmitat
UV	:	Ultraviyole
μ g	:	Mikrogram
μ L	:	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun yüzde 80'inin temel sağlık hizmetleri için ağırlıklı olarak geleneksel ilaçlara güvendiği Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenmiştir. Ayrıca, bitkisel numuneler genellikle gelişmiş ülkelerde yaşayan geriye kalan %20 nüfusun sağlık hizmetlerinde önemli bir role sahiptir (Cragg ve Newman 2005).

Tıbbi bitkiler, halk arasında eski çağlardan beri birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılmakta olan biyolojik etkinliğe sahip materyallerdir. *Salvia* türleri sekonder metabolit olarak flavanoitleri, steroidleri, terpenoitleri ve diğer fenolik bileşikleri taşımaktadırlar. Eski çağlardan beri, halk arasında türlü hastalıkları tedavi etmek için kullanılan *Salvia* türleri ayrıca çay olarak tüketilmektedir. Bazı ülkelerde baharat olarak kullanıldığı bilinmektedir. Antienflamatuar, antiviral, sitotoksik, hepatotoksik aktiviteleri özellikle taşıdıkları diterpen ve triterpenlerden kaynaklanırken, taşıdıkları flavonların da antimikrobiyal, antioksidan, sitotoksik vb. pek çok aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Chipault ve ark. 1956).

Dünya çapında yaklaşık olarak 328640 bitki türü olduğu belirlenmiştir. Tarihsel olarak, bitkiler tarafından üretilen bileşikler birincil (primer) ve ikincil (sekonder) metabolitler olarak kategorize edilmiştir. Temel metabolizmaya katkı sunan bileşikler birincil metabolitler olarak belirlenmiştir. Aksine, ikincil metabolitlerin hem bitki içerisinde hem de farklı türler arasında dağılımları sınırlıdır (Raven ve ark. 2005). Doğal kaynaklı maddeler sentetik ilaç etken maddelerine göre daha az yan etki gösterdiğinden daha fazla tercih edilmektedir. Çeşitli hastalıkları tedavi etme potansiyelini içinde barındıran bitkisel kaynaklı sekonder metabolitler; flavanoitler, fenolik asitler, fenolik glikozitler, doymamış laktonlar, fenilpropanoitler, ligninler, terpenoitler ve steroidler gibi birçok sınıfa ayrılırlar. Bu bileşik gruplarının gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrilerinde birçok uygulaması vardır (Banerjee ve Bode 2011).

Serbest radikallerin insan vücuduna verdiği zararlı etkilerin ortaya çıkarılmasıyla gıdalardaki yağ ve diğer maddelerin bozulmasını önleyen antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır. Son zamanlarda bu alanda yapılan çalışmalar, bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara doğru yönelmiştir (Kulisic ve ark. 2004). Bunun sebebi, antioksidan içeriği zengin gıdaları tüketmenin veya doğal antioksidanların takviye edici olarak kullanılmalarının hücre yaşlanmasını ve birçok kronik hastalığın meydana

gelmesini önlediğinin veya geciktirdiğinin bilimsel açıdan ispatlanmış olmasıdır. Günümüzde en çok kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksi anizol (BHA) ve bütillenmiş hidroksi toluen (BHT)'dir. Sentetik antioksidanların ve bunların yan ürünlerinin kansere neden olabileceklerinin belirlenmesi, bunların yerine kullanılacak doğal antioksidanların bulunmasına yönelik araştırmaları arttırmıştır (Casio ve ark. 2006). Eski çağlardan beri bitkiler, halk arasında tıbbi amaçla kullanılmaktadırlar. Zengin bitki örtüsüne sahip ülkemizde hastalıkları tedavi amaçlı kullanılan bitkiler, kimyasal ve biyolojik olarak araştırılmaktadır (Ulubelen ve ark. 1999). Bu çalışmalar sonucunda çok sayıda yeni sekonder metabolit bulunmuş ve bir kısmının aktiviteleri tayin edilmiştir (Topçu ve ark. 2007).

Antioksidan maddeler, reaktif oksijen türlerinin zararlarını azaltarak ya da ortadan kaldırarak etki ederler. Canlılarda reaktif oksijen türlerinden kaynaklı meydana gelen zararlı etkileri yok etmek için türlü antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Savunma mekanizmalarının yeterli olmaması durumunda, vücudu oluşabilecek hastalıklardan korumak için antioksidan etkili sebzeleri, meyveleri ve şifalı bitkileri tüketmenin sağlık için yararlı olduğunu göstermiş pek çok çalışma bulunmaktadır (Salvatore ve ark. 2005).

Bu tez çalışmasında *Salvia siirtica*'nın (toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ayrı ayrı) etanol ve kloroform ekstreleri hazırlandı. Bu ekstrelerden çeşitli kromatografik (İTK, Sütun, Preparatif HPLC) yöntemlerle sekonder metabolitler izole edildi. Spektroskopik yöntemler kullanılarak (IR, UV, ¹³C NMR, ¹H NMR, 2D-NMR, MS) yapıları aydınlatıldı. Ayrıca *S. siirtica*'nın yaprak, çiçek, kök, dal ve bunların karışımından etanol ekstreleri hazırlandı. Etanol ekstreleri hazırlandıktan sonra LC-MS/MS ile bazı fenolik ve flavonoit bileşiklerin miktar tayinleri yapıldı. Ayrıca *S. siirtica*'nın etanol ve kloroform ekstrelerinin kimyasal içeriği LC-IT-TOF cihazı kullanılarak belirlendi. Bunlara ek olarak etanol ve kloroform ekstrelerinin ve bu ekstrelerden elde edilmiş olan sekonder metabolitlerin antioksidan (CUPRAC, DPPH, β -Karoten, ABTS), antikolinesteraz, üreaz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri belirlendi. Buna ek olarak *S. siirtica*'nın tüm kısımlarının petrol eteri ekstresi hazırlanarak GC-MS/MS ile yağ asidi profili belirlendi. Böylece kimyasal içerikleri ve yukarıda belirtilen aktiviteleri ilk kez incelenen *S. siirtica* türünden elde edilen sonuçlar bilim dünyasına kazandırılmış oldu.



Şekil 1. 1. *Salvia siirtica* Kahraman, Celep & Doğan



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae (Labiatae) familyası

Salvia L. cinsi, Lamiaceae familyasının bir üyesidir. Bir, iki ya da çok yıllık otsular veya çalimsı bitkiler Lamiaceae familyasında bulunmaktadır. Salgı tüyü taşıyan bu bitkiler kokuludurlar. Lamiaceae familyasını önemli kılan özellik, tıpta ve parfümeride kullanılmakta olan birçok uçucu yağı bu familyanın içeriyor olmasıdır. Uçucu yağı, yaprağın epiderması üzerinde bulunan salgı tüylerinde taşırlar. Bu familyada başı sekiz hücreli pul şeklindeki salgı tüyleri karakteristik özellik olarak görülmektedir (Baytop 1996). Çoğunlukla 4 köşeli gövdelere sahiptirler. Yaprakları dekusat dizilişli olup çiçekleri vertisillastrum durumunda bulunmaktadır. Genellikle iki dudaklı korolla görülmektedir. 2 veya 4 tane stamenleri vardır. Meyveleri ise 4 nuksa yarılan bir şizokarptır (Davis 1982). Yeryüzünde Lamiaceae familyasının 250 kadar cinsi ve 3200'ü aşkın türü bulunmaktadır. Türkiye'deki en zengin üçüncü familya olan Lamiaceae familyasının ülkemizdeki endemizm oranı % 45'tir. Lamiaceae familyası memleketimizde 46 cins ve 758 takson ile temsil edilmektedir (Başer 2006). Bu familyadaki pek çok türün hem tıbbi özelliklerinden dolayı hem de süs bitkisi olarak kültürü yapılmaktadır.

2.1.2. *Salvia* L. Cinsi

Salvia cinsi, çoğunlukla aromatik yapıda olup otsu, çalimsı ya da yarı çalimsı, çok yıllık olabildiği gibi, nadiren de tek veya iki yıllık bitkilerden oluşmaktadır. Gövdesi yatık veya dik olabilirken, çıplak ya da salgı tüylü veya salgı tüysüz olarak bulunurlar. Yaprakları tam olarak parçalanmamış, çiçeğinin şekli çeşitli dizilişte simoz olup vertisillastrumlar çiçekli, birbirlerine yakın veya uzak gruplar halinde bulunmaktadır (Davis 1982).

2.1.3. *Salvia siirtica*

Güneydoğu Anadolu Bölgesinde, Siirt'in kuzeyi, Aydınlar, Çatılı bölgesi, 38°1'23.9988"N, 42°16'0.9984"E, 1473 m., açık Quercus ormanında yetişen, yöresel ismi Kürt şalbası olan bu türün kürtçe ismi Kuncîbeşk olarak bilinmektedir (Fırat 2013).

Çok yıllık otsu bir bitkidir. 40-120 cm boyunda, tabanda 0.4-1.0 mm kalınlıkta, dik, dört köşeli, yeşil, dallanmamış veya yukarıda dallanmış, yoğun vilöz salgı tüylüdür. Yapraklar basit, yeşil, 7-25 mm uzunluğunda, 5.5-23.0 cm genişliğinde, geniş ovat, ağsı, loblu, tırtıklı-dişli, kordat ya da değil, özellikle damarlar ve kenarlarda salgı tüyleri vardır. Yaprak sapları 2-14 cm uzunluğunda, tüye doğru yoğun salgı bezi, yapraklar saplı veya sapsız olabilmektedir. Çiçeklenme panikulat, çoğunlukla yoğun salgı tüylüdür. Vertisillasterler kapalı, 6-12 çiçekli, nadiren yaprağın uç kısmında 4 çiçekli olarak bulunur. Brakteler ovat-aküminat, 6-12 mm uzunluğunda, 5-12 mm genişliğinde, daha kısa olan üst vertisillas demetleri kaliks; çiçek sapları 2-4 mm uzunluğunda, sert, pilözden vilöze kadar değişen salgı tüyleriyle örtülüdür. Kaliks kampanulat, 5.5-10.0 mm uzunluğunda, 5-8 mm genişliğinde, yaprağın uç kısmında içbükey, 13-15 damarlı, yeşil, kalın dokulu; üst dudak tridentat ve kaliks dişleri mukronat şeklindedir. Korolla tamamen beyaz, 13-25 mm uzunluğunda, üst dudak yoğun olarak vilöz salgı tüysüz mor tüyleriyle ve seyrek olarak salgı tüylü; tüp 5-8 mm uzunluğunda, tüysüz, skümülat. Stamenler 2 adet olup üst konnektif 11-22 mm uzunluğunda, filamentlerden belirgin şekilde daha uzun, en düşük konnektif 3-5 mm uzunluğunda; filamentler 3-4 mm uzunluğunda ve tüysüz; bereketli anterler sarı, tüysüz, 3-5 mm uzunluğundadır. Mayıs-Haziran ayında çiçeklenir, Haziran-Temmuz ayında meyve vermektedir (Kahraman ve ark. 2011).

2.2. *Salvia* Türleri İle Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları

S. albocaerulea Linden türünden izole edilen sugiol bileşiği ve *S. forskahlei* L. türünden izole edilmiş olan forskalinon bileşiğinin gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir (Ulubelen ve ark. 1996).

S. sclarea L. türüyle yapılan bir çalışmada bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarının metanol ekstralarının toplam fenolik içerikleri gallik aside eşdeğer olarak sırasıyla 116.22 ve 106.72 µg/mg olarak belirlenmiştir. Ekstrelerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla IC₅₀=73 ve 81.33 µg/mg). β-Karoten/linoleik asit yönteminde de iyi antioksidan aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (Sırasıyla inhibisyon yüzdeleri %40.25 ve %47.58) (Safaei-Ghomi ve ark. 2016).

S. urmiensis Bunge ve *S. hydrangea* Pobed türlerinin ekstrelerinin DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal (2,2-azino-bis (3-etil benzotiyazolin-6-sülfonik asit)) giderim aktiviteleri ile toplam fenolik ve flavonoit içeriklerinin değerlendirildiği bir çalışmada; *S. urmiensis*'in etil asetat ekstresinin 10.0 ± 0.2 µg/mL IC₅₀ değeri ile önemli antioksidan özelliği olduğu ve çalışılan tüm ekstrelerin yüksek fenolik - flavonoit içerik gösterdiği belirlenmiştir (Bahadori ve ark. 2015).

S. chrysophylla Stapf türünün toprak üstü diklorometan ekstresiyle yapılan bir çalışmada bitkiden izole edilen salvigenin, sitosterol, oleanoik asit ve ursolik asit bileşiklerinin yapıları aydınlatılmıştır. İzole edilen saf bileşiklerin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikal giderimi yöntemiyle belirlenmiştir. Kolinesteraz aktivitelerinin (AChE ve BChE) Ellman yöntemiyle incelenmesi sonucunda triterpenoit olan ursolik asit ve oleanolik asidin AChE'ye karşı seçici aktivite gösterdiği, sclareolün ise her iki enzimle de oldukça iyi aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Çulhaoğlu ve ark. 2016).

S. mirzayanii Rech. f. & Esfand, *S. santolinifolia* Boiss. ve *S. choloroleuca* türlerinin metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH serbest radikal giderimi, β-karoten renk giderimi testleri uygulanmış ve HPLC analizi ile kateşin ve rosmarinik asit bileşenlerinin miktar tayinleri yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda, *S. choloroleuca* türünde daha güçlü olmak üzere çalışılan türlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Asadi ve ark. 2011).

S. poculata Nab. türünün toprak üstü kısmıyla yapılan çalışmada 2 triterpenoit, 1 diterpenoit, 4 flavonoit ve 1 steroid izole edilmiştir. İzole edilen saf bileşiklerden ursolik asit ve β-sitosterol ile ham ekstrenin antioksidan aktiviteleri süperoksit anyon radikali giderimi, β-karoten renk giderimi ve ABTS katyon radikali giderimi (>100 µg/mL) yöntemleri ile belirlenmiştir. Ekstrenin total fenolik ve flavonoit içerikleri sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlenmiştir. İzole edilen ursolik asit ve cirsimaritin bileşiklerinin yüksek bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Kolak ve ark. 2009).

S. nemorosa L. türünün kimyasal bileşimi, enzim inhibisyonu, toksisitesi, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, bu türün metanol ekstresinin yüksek fenolik ve flavonoit içeriğe sahip olduğu (sırasıyla

294 mg GAE/g ve 117 mg QE/g ekstre) ayrıca güçlü DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği görülmüştür ($IC_{50}=82 \mu\text{g/mL}$). Fenolik bileşenler, HPLC-DAD ile karakterize edilmiş ve rosmarinik asitin ana bileşik olarak (7584 $\mu\text{g/g}$ ekstre) tespit edildiği 11 bileşen tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda, *S. nemorosa*'nın gıda ve ilaç endüstrilerinde yeni geliştirilecek uygulamalar için yararlı olabileceğini göstermiştir (Bahadori ve ark. 2017).

S. cadmica Boiss'in etil asetat, metanol ve su ekstralarının antioksidan ve enzim inhibitör aktivitelerinin incelendiği bu çalışmada etanol ekstresi; fosfomolibden yöntemi, DPPH serbest radikal giderim yöntemi ve CUPRAC analizlerinde (sırasıyla 311.96, 54.71 ve 59.89 mol TEs/g kuru bitki) güçlü aktivite sergilerken, su ekstresi ise şelatlama etkisinde, ABTS katyon radikal gideriminde ve FRAP deneylerinde dikkate değer bir aktivite göstermiştir (sırasıyla 8.82 mol EDTAEs/g kuru bitki, 102.23 ve 97.96 mol TE/g kuru bitki). Ekstreler; asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BChE), α -amilaz, α -glukosidaz ve tirozinaz üzerindeki inhibe edici aktiviteleri bakımından analiz edilmiştir. Sonuçlara göre, ekstreler AChE, BChE ve tirozinaz üzerinde hiçbir aktivite göstermezken öte yandan, metanol ekstresinin α -amilaz ve α -glukosidaz üzerinde belirgin aktivite gösterdiği saptanmıştır (sırasıyla 102.28 ve 869.21 mol ACE/g kuru bitki). Kalitatif kromatografik analizin yanı sıra ekstrelerde 23 bileşiğin miktarı da belirlenmiştir. Metanol ekstresinde apigenin, ferulik asit, kafeik asit, hesperidin, klorojenik asit, kemferol, luteolin, protokateşik asit, p-kumarik asit ve rosmarinik asit bulunduğu tespit edilmiştir (Koçak ve ark. 2016).

S. buchananii Hedge'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen diklorometan ekstresinin antimikrobiyal özellikleri açısından araştırıldığı çalışmada, ekstre birçok ilaca karşı direnç gelişimi gösteren *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecium* gibi gram pozitif klinik suşlara karşı belirgin bir inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Bu ekstrenin fitokimyasal incelemesi, ursolik (UA) ve oleanolik (OA) asitin yanı sıra bilinen sekiz klerodan diterpenin ve üç yeni klerodan diterpenin izolasyonunu sağlamıştır. Bu bileşiklerin yapıları kapsamlı 1D ile 2D NMR ve HR-MS spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Bisio ve ark. 2015).

S. reuterana Boiss.'in toprak üstü kısımlarının n-hekzan ekstresinden bilinen diterpenoitlerden sclareol, 6 β -hidroksisclareol ve 14 α -epoksisclareol ile birlikte

14 α -hidroksi-15-klorosclareol, 14 α -hidroksi-15-asetoksisclareol ve 6 β -hidroksi-14 α -epoksisclareol olmak üzere üç labdan diterpenoit izole edilmiştir. Yeni bileşiklerin yapıları 1D ve 2D NMR spektroskopik tekniklerle belirlenmiştir (Farimani ve ark. 2014).

İran'ın Fars bölgesinde doğal olarak yetişen endemik bir tür olan *S. lachnocalyx* Hedge'nin kök kısmının fitokimyasal analizi sonucu beş diterpenoit (ferruginol, taksodion, sahandinon, 4-dehidrosalvilimbinol ve labda-7,14-dien-13-ol) elde edilmiştir. Saflaştırılan bileşiklerin sitotoksitesi, üç insan kanser hücre serisi MOLT-4 (akut lenfoblastik lösemi), HT-29 (kolorektal adenokarsinoma) ve MCF-7 (meme adenokarsinoması) karşı önemli sitotoksik aktivite gösterdiği bulunmuştur (Mirzaei ve ark. 2017).

S. trichoclada Bentham'ın toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin sekonder metabolitler açısından incelendiği çalışmada lupeol, lupenon, glochidon, monoginol A, oleanolik asit, ursolik asit, β -sitosterol, apigenin-7-O-ramnozid ve rozmarinik asit olmak üzere dokuz bileşik izole edilmiş olup bu bileşiklerin yapıları 1D ve 2D-NMR spektroskopik teknikler kullanılarak aydınlatılmıştır. Ekstrenin ve izole edilen bileşiklerin antioksidan potansiyeli, β -karoten renk giderim yöntemi ve DPPH serbest radikal giderim yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Tüm bileşikler arasında, en yüksek antioksidan ve iyi antikolinesteraz aktiviteyi rozmarinik asit göstermiştir (Çulhaoğlu ve ark. 2015).

S. trichoclada Bentham, *S. verticillata* L. ve *S. fruticosa* Mill. türlerinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraların Ellman yöntemiyle AChE inhibitör aktivitesi ve DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. *S. trichoclada*'nın metanol ekstresi, AChE üzerinde en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Tüm ekstraların ve rozmarinik asidin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Demirezer ve ark. 2015).

S. syriaca L. türünün kök kısımlarından hazırlanan aseton ekstresinin anti-Alzheimer bileşenleri açısından değerlendirildiği çalışmada; saflaştırılan bileşiklerin yapıları, ursolik asit, korozolik asit, β -sitosterol, urs-12-en-2 α ,3 β -diol ve daucosterol olarak belirlenmiştir. β -Sitosterol ve daucosterol bileşiklerinin yüksek asetilkolinesteraz

inhibitör aktivite (sırasıyla 24.1 ve 34.3 µg/mL) gösterdiği belirlenmiştir (Bahadori ve ark. 2016).

S. syriaca L. türünün bileşenlerinin, antidiyabetik, anti-Alzheimer, genel toksisite ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirildiği bu çalışmada, bitkinin metanol ekstresi ve uçucu yağının fitokimyasal bileşimi, sırasıyla, GC-MS ve ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi teknikleri kullanılarak tanımlanmıştır. *S. syriaca*'nın uçucu yağı, güçlü sitotoksikite, antioksidan, α-amilaz ve α-glukozidaz inhibitör aktivite göstermiştir. HPLC analiz sonuçlarına göre; rutin, kersetin, apigenin, rozmarinik asit ve ferulik asit en çok bulunan fenolik bileşenlerdir (Bahadori ve ark. 2017).

S. miltiorrhiza Bunge türünün kök ekstresi (200 mg/kg) uygulanan sıçanların davranışsal aktivitesi, hafızası üzerindeki etkisi ve kolinesterazların aktiviteleri (AChE ve BChE) değerlendirilmiştir. Sonuçlar, subkronik olarak SE uygulanmasının sıçanlarda uzun süreli hafıza gelişimine yol açtığını göstermiştir. SE ile tedavi edilen sıçanların frontal korteksinde AChE ve BChE, mRNA transkripsiyonunun güçlü inhibisyonu gözlenmiştir. SE aktivitesi, bitkinin Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan bir ilaç kaynağı olabileceğine dair kanıtlar sağlamıştır (Ozarowski ve ark. 2017).

S. przewalskii Maxim' in toprak altı kısımlarından, bilinen dört diterpenoit ve beş fenolik asit ile birlikte ganxincastanic asit A adında yeni bir diterpenoit izole edilmiş ve bu bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle belirlenmiştir (Yang ve ark. 2017).

S. brachyantha (Bordz.) Pobed, *S. aethiopsis* L. ve *S. microstegia* Boiss.&Balansa türlerinin metanol ekstrelerinin fenolik içeriklerinin tanımlanması ve nicelendirilmesi RP-HPLC/MS ile yapılmış, antioksidan aktiviteleri CUPRAC, FRAP ve DPPH yöntemleri ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar toplam 18 fenolik bileşiğin varlığını göstermiştir. Bunların en fazla miktarı, *S. microstegia*'da kemferol ve *S. brachyantha* ve *S. aethiopsis*'te rozmarinik asit olarak belirlenmiştir. Diğer önemli fenolik bileşiklerin apigenin, luteolin, p-kumarik asit ve klorojenik asit olduğu bulunmuştur. Çalışılan tüm türlerin, BHA, BHT ve askorbik asit gibi standart antioksidanlara kıyasla orta derecede ve daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tohma ve ark. 2016).

S. verticillata L. türünün metanol ekstresinden başlıca antioksidan bileşikleri tanımlamak için yapılan çalışmada, ham ekstre DPPH ve β -karoten/linoleik asit yöntemlerinde güçlü antioksidan aktiviteler göstermiştir. Etil asetat fraksiyonu diğer fraksiyonlara kıyasla güçlü bir serbest radikal giderim aktivitesi sergilemiştir. Kromatografi yöntemleri kullanılarak etil asetat fraksiyonunun daha fazla fraksiyonlanması ve saflaştırılması ile yüksek antioksidan kapasiteli bir bileşik olan krizoeriol izole edilmiştir. Bu bileşiğin IC₅₀ (DPPH) değeri 93.32 mM olarak belirlenmiştir (Nickavar ve ark. 2016).

Betonica officinalis L. ve *S. officinalis* L. bitkilerinin ekstrelerinin fenolik profillerini, antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklerini tanımlamak amacıyla yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, ekstrelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikalini ve 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) kation radikalini inhibe ettiğini göstermiştir. *S. officinalis*'in *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa* 'ya karşı etkili antibakteriyel ajan olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler, protein denatürasyonunu ve siklooksijenazı (COX-1) inhibe etmiştir; bu da bu türlerin bitki kaynaklı antiinflamatuvar maddeler için potansiyel bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir. İlk defa bu çalışma ile *B. officinalis* bitkisinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkinliği ortaya çıkmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, tıbbi preparatların geliştirilmesine ve bu türlerin antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici madde olarak kullanılmasına yardımcı olabilir (Paun ve ark. 2017).

Campania Bölgesi'nde (İtalya) yetiştirilen *S. officinalis* L. türünün yapraklarından elde edilen fenolik içerik bakımından zengin olan ekstreyi kalitatif ve kantitatif olarak analiz etmek için LC-MS/MS teknikleri uygulanan bir çalışmada; %50 abietan diterpenler, %40 fenilpropanoitler ve %10 da flavonoitlerin oluşturduğu bu karışım SoA541 olarak adlandırılmıştır. Lignin oligomerleri ilk kez adaçayı bileşenleri olarak tespit edilmiştir. SoA541, SH-SY5Y hücrelerinde <125 μ g/mL doz düzeylerinde anti-lipoperoksidatif ve antioksidan özellik göstermiş ve AChE enzimini inhibe etme kabiliyeti donepezilden çok daha fazla çıkmıştır. Anti-AChE etkililiği dozun maksimumuna (62.5 μ g/mL) kadar değişmesine bağlı bulunmuş ve bunun ötesinde etki azalmıştır. Elde edilen sonuçlar, hayvan modellerinde Merkezi Sinir Sistemi (MSS) hastalıklarının önlenmesinde "Campania" bölgesinin potansiyel bir kullanımını

değerlendirmeyi amaçlayan daha ileri araştırmaları teşvik etmektedir (Pacifico ve ark. 2017).

S. barrelieri Ettling türüyle yapılan bir çalışmada, bitkinin toprak altı bölümünden elde edilen diterpenlerin aktiviteleri DPPH serbest radikal giderimi, süperoksit anyon radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikal giderim ve CUPRAC metotları kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Kolak ve ark. 2009).

S. amplexicaulis Lam. türünün su, etanol, metanol, etil asetat ve diklorometan ekstralarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktivitelerini incelemek amacıyla yapılan çalışmada HPLC kullanılarak başta metanol ekstresi olmak üzere etanol ve su ekstralarında, en fazla kemferol glikozitleri (>% 40) ve polifenollerin olduğu tespit edilmiştir. Yapılan antioksidan tayin testlerinden DPPH, FRAP ve β -karoten renk açılım yöntemlerinde su ekstresi en yüksek aktiviteyi göstermiştir, etanol ekstresi ise ABTS yönteminde yüksek aktivite göstermiştir. Metanol ve su ekstraları DPPH yönteminde kullanılan BHT standardından daha yüksek aktivite göstermişlerdir (15.1 $\mu\text{g/mL}$, 15.8 $\mu\text{g/mL}$ ve 17.9 $\mu\text{g/mL}$). Bu durum muhtemelen ekstralarda bulunan yüksek miktardaki kamferol glikozitlerinden kaynaklanmaktadır. Etanol ekstresi patojenik bakterilere karşı su ekstresinden daha iyi etki göstermiştir, aynı şekilde antinörodejeneratif etkisi de daha güçlü bulunmuştur özellikle tirozinaz inhibisyonunda, etanol ekstresinin kojik asit ile karşılaştırıldığında oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık su ekstresi etanol ekstresine göre HCT-116 hücrelerine karşı daha güçlü sitotoksik aktivite göstermiştir. Alimpic ve arkadaşları yaptıkları bu çalışmada *S. amplexicaulis*'in su ve etanol ekstralarının gösterdiği güçlü antioksidan ve antinörodejeneratif etkileri bakımından ilaç ve gıda endüstrisi için gelecek vaat ettiğini ortaya koymuşlardır (Alimpic ve ark. 2017).

Antioksidanların önemi ve bunların hassasiyetle tespit edilmelerinin önemi doğrultusunda yapılan çalışmada *S. miltiorrhiza* Bunge'nin antioksidan özelliklerini değerlendirmek için HPLC-ECD yöntemi geliştirilmiştir. Yöntem, seçicilik ve hassaslık açısından optimize edilmiştir. Mobil faz pH değeri, tampon konsantrasyonu, tampon tipi, organik solvent türü, gradyan profili ve akış hızı da dahil olmak üzere kromatografik şartlar sistematik olarak araştırılmıştır. Dan Shen örneklerinden

oluşturulan 14 partiden oluşan beş antioksidanın kantitatif analizi için düşük pH değeri (2.8), düşük tampon konsantrasyonu (20 mmol/L NaH₂PO₄), su-asetonitril gradyanı ve 0.2 mL/dk'lık bir akış hızı belirlenmiş en iyi koşullardır. Tarif edilen yöntem iyi bir geri kazanım (>% 95), analitlerin tümü için 10 (4) 'e kadar lineer aralık, iyi hassasiyet (RSD <% 4.01) ve yüksek duyarlılık (kafeik asit LOQ, 1.5 µg/L) göstermiştir (Long ve ark. 2017).

S. plebeia R. Brown türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinden üç yeni seskiterpenoit izole eden Ma ve arkadaşları buldukları seskiterpenoitlerin yapılarını, NMR ve MS spektrumlarının detaylı analizleri sonucu aydınlatmışlardır. Bulunan bu seskiterpenoitler, salplebeone A, eudesmane lakton iken, salcombe B ve C 12,8-laktam grupları içeren nadir eudesman seskiterpenoitlerdir (Ma ve ark. 2017).

S. fruticosa Mill. subsp. *thomasi* türünün *in vitro* antioksidan ve antitümör etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada bitkinin toprak üstü kısımları metanol ile ekstre edilmiştir. Bu ekstre, metanol ve n-hekzan ile fraksiyonlandırılmıştır. Luteolin, luteolin 7-O-glukozit, rutin ve salvigenin metanol fraksiyonundan izole edilmiştir. n-Hekzan fraksiyonu viridiflorol, β-pinen, 1,8-sineol ana bileşenler olarak elde edilmiştir. Metanol ekstresinin meme kanserine (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve insan kolorektal karsinoma (RKO ve Caco-2) hücrelerine karşı antitümör etki yaptığı tespit edilmiştir. *S. fruticosa* TUNEL testinde apoptoz ile kanser hücrelerinde ölüme yol açmış ve tümöral olmayan 3T3-L1 hücrelerinde düşük sitotoksik etki göstermiştir. Ayrıca lipit peroksidasyonunun en üst düzeyde korunmasını sağlamış ve 3T3-L1 fare fibroblastlarında menadiyon tedavisi ile indüklenen oksidatif stresini azaltmıştır. Bu biyoaktivite sonuçları açısından *S. fruticosa*'nın yalnızca gıda olarak değil aynı zamanda nutrasötik/farmasötik endüstrisinde kullanımının teşvik edebileceğini göstermiştir (Tundis ve ark. 2017).

S. aethiopsis L. ve *S. ceratophylla* L.'nin metanol ve etil asetat ekstrelerinin fenolik bileşimlerini, *in vitro* antioksidan ve sitotoksikite aktivitelerini incelemek üzere Poyraz ve arkadaşları bir çalışma yürütmüşlerdir. *S. aethiopsis*'in metanol (SA-ME) ve etil asetat (SA-EA) ekstrelerinin toplam fenolik içeriği 94.36±1.36 - 290.62±1.51 mg GAE/g, *S. ceratophylla*'nın metanol (SC-ME) ve etil asetat (SC-EA) ekstrelerinde ise

bu değer 168.35 ± 1.97 - 330.14 ± 2.28 mg GAE/g arasında bulunmuştur. Metanol ve etil asetat ekstralarının ana fenolik asiti rozmarinik asit olarak tespit edilmiştir (*S. aethiopsis* için 40.25 ve 140.6 $\mu\text{g}/100$ g bitki; *S. ceratophylla* için 74 ve 234.5 $\mu\text{g}/100$ g bitki). *S. aethiopsis* ve *S. ceratophylla* ekstralarının fenolik asitleri daha çok sinamik asit türevleri, ardından benzoik asit türevleri içerir. HPLC sonuçları, antioksidan kapasite ile bu fenolik asitlerin miktarı arasında bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Bu bitki ekstralarının potansiyel antioksidan özelliklerini görebilmek için, hücrelerin çoğalması MTT deneyi ile değerlendirilmiştir. Ekstrelerin canlılık yüzdesi, kontrollere göre belirlendi ve 15.6 - 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ekstre konsantrasyonlarında ölçüldü. SA-ME ekstresinin IC_{50} değeri 24 saatte 230.0 ± 17.3 ve 48 saatte 93.3 ± 5.8 SC-ME için 266.7 ± 41.6 (24 saat) ve 180.0 ± 20.0 (48 saat) olarak bulunmuştur. Ekstrelerin sitotoksik etkileri şu şekilde sıralanabilir, SA-EA > SC-EA > SA-ME > SC-ME. SC-ME en düşük seviyede iken en sitotoksik ekstre yüksek fenolik içeriğe sahip olan SA-EA olarak bulunmuştur (Poyraz ve ark. 2017).

S. miltiorrhiza (SM) Bunge ve *S. przewalskii* (SP) Maxim. türlerinin köklerinden hazırlanan hidroalkolik (%50 EtOH) ekstralarının karşılaştırmalı fitokimyasal analizleri, LC-MS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin antioksidan etkileri DPPH ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. Analiz sonucu her iki türde 39 bileşik tanımlanmıştır. SP ekstresi ile karşılaştırıldığında, SM köklerinden hazırlanan hidroalkol ekstresinin FRAP testinde (en fazla 323.92 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{L}$) ve DPPH testinde (en fazla 78.64 nM TE), daha kuvvetli antioksidan özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (Ozarowski ve ark. 2017).

S. miltiorrhiza Bunge'nin farklı büyüme dönemlerinden çeşitli bölümlerindeki kimyasal bileşenlerin dağılımı ve dinamik değişimleri araştırılmıştır. *S. miltiorrhiza*' da bulunan 24 bileşiğin (fenolik asitler, flavonoidler, triterpenler ve sakkaritler dahil) doğru belirlenmesi için, ultra-yüksek performanslı sıvı kromatografi-üçlü dörtdü kutuplu kütle spektrometresi (UPLC-TQ-MS/MS) ve buharlaştırıcı ışık saçılma detektörü yöntemleriyle birleştirilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ELSD) geliştirilmiştir. Oluşturulan yöntemler iyi doğruluk, hassasiyet, tekrarlanabilirlik, kararlılık ve geri kazanım ile doğrulanmıştır. Sonuçlar, esas olarak salvianolik asitler ve tanshinonlar içeren kökler için bitkinin farklı bölümlerinde kategori ve miktar farklılıkları olduğunu ve sakkaritlerin çoğunun stakioz olduğunu göstermiştir. Toprak

üstü kısımlarda tanshinonlar hariç salvianolik asitler, flavonoidler ve triterpenler tespit edilmiştir. Dinamik birikim analizi, *S. miltiorrhiza* Bunge' nin ilkbaharda fide evresi olduğunu ve toprak üstü kısımları için Temmuz-Ağustos aylarının hasat zamanı olduğunu önermektedir. Bu çalışma, *S. miltiorrhiza*' nın toprak üstü kısımlarının kullanımı için değerli bilgiler sağlamış ve bitkinin optimal hasat zamanının belirlenmesinde yararlı olmuştur (Zeng ve ark. 2017).

Silva ve ark. (2017), Mato Grosso (MT) ve Rio Grande do Sul (RS) bölgelerinde yetiştirilen chia (*S. hispanica* L.) tohumlarında, makro besinler, nem, kül, diyet lifi, yağ asitleri, mineraller, karotenoitler, vitaminler, flavonoidler, fenolik bileşikler, antioksidan aktivite, fitik asit, tanen oluşumunu ve konsantrasyonunu araştırmış ve karşılaştırmışlardır. Diyet lifi (35.3 g, 100g⁻¹ ortalama), proteinler (18.9 g, 100 g⁻¹), yüksek konsantrasyonlarda lipitler (31.2 g, 100 g⁻¹ ortalama), E vitamini (8,203.6 µg, 100 g⁻¹ ortalama) gözlenmiştir. İki bölgeden de chia tohumlarında toplam fenolik bileşik ve fitik asit içeriği için benzer değerler gözlenmiştir. RS' de yetiştirilen Chia, MT' de yetiştirilen chiadan daha yüksek antioksidan aktivite göstermiş ve tanin konsantrasyonları, Mato Grosso'da yetiştirilen chia tohumlarında daha yüksek bulunmuştur (19.08±1.08 eq. katequina/g numune). Sonuçlar, Brezilya chia tohumlarının yüksek miktarlarda lipitler, proteinler, toplam diyet lifi, mineraller ve E vitaminine sahip olduğunu göstermiştir.

Toplan ve ark. (2017), Kıbrıs'a özgü *S. veneris* Hedge türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin ve uçucu yağının, fenolik bileşenlerinin kompozisyonu GC-MS ve LC-MS/MS ile araştırmışlardır. Ekstre ve uçucu yağın antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan aktiviteleri de çalışılmıştır. Antioksidan aktivitesi, TEAC testi (Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi) ve DPPH ile belirlenmiştir. Uçucu yağın %99.8' ini temsil eden toplam 36 bileşen belirlenmiştir. Uçucu yağın GC-FID ve GC-MS analizi sonucunda, 1,8-sineol (%51.0), kafur (%9.3), kamfen (%6.3), α-pinen (%5.8) ve β-pinen (%5.4) ana bileşenler olarak bulunmuştur. LC-MS/MS sonucuna göre, metanol ekstresinde rozmarinik asit esas bileşik olmak üzere, toplam fenol içeriği, 100 mg ekstrede 19±0.20 mg gallik asit olarak belirlenmiştir. Ayrıca, ekstredeki rozmarinik asitin kantitatif analizi de incelenmiştir. *S. veneris*' in toprak üstü kısımlarında, 16.26 mg/g değerinde yüksek düzeyde rozmarinik asit bulunmuştur. Uçucu yağda herhangi bir antioksidan aktivite gözlenmemesine karşın

metanol ekstresi güçlü aktivite göstermiştir. Antimikrobiyal aktivite ile ilgili olarak MIC değerlerinin, test edilen tüm mikroorganizmalar için 60 µg/mL ile 4000 µg/mL arasında değiştiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre, *S. veneris*'in gıda, ilaç ve kozmetik endüstrileri için potansiyel yeni bir ürün olarak düşünülebileceği görülmüştür.

S. fruticosa Mill. türü antioksidan, antimikrobiyal ve antiproliferatif etkinlikleriyle bilinir. Faz I ksenobiyotik metabolize edici enzimler olan CYP1A2 ve CYP2E1, faz II enzimlerin, NQO1, GPx ve glutatyon S-transferazların (GST) hareketi ile elimine edilen reaktif metabolitleri üretir. Bu çalışmada HT-29 hücrelerinde *S. fruticosa* ve onun önemli fenolik bileşiği olan rosmarinik asitin (RA) CYP1A2, CYP2E1, NQO1, GPx ve GSTm1 mRNA ekspresyonları ve enzim aktiviteleri üzerine *in vitro* modülasyon etkileri araştırılmıştır. Bir mRNA ekspresyon analizi CYP1A2 ve CYP2E1 düzeylerinin azaldığı, *S. fruticosa* ve RA tedavilerinin ardından NQO1, GPx ve GSTm1 düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur. Gen ekspresyonlarına paralel olarak *S. fruticosa* tarafından GPx ve GST enzim aktiviteleri sırasıyla 1.68 ve 1.48 kat artmıştır. Ayrıca, RA, GPx ve GST aktivitelerini sırasıyla 1.67 ve 1.94 kat arttırmıştır. Bu ön çalışmanın sonuçları, araştırılan enzimlerin *S. fruticosa* tarafından ekspresyonu ve aktivitesindeki değişiklikler nedeniyle ksenobiyotik metabolizmasının değişebileceğini göstermektedir (Altay ve Bozoğlu 2017).

Salvia türlerinin yükek miktarda uçucu yağa sahip olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Özellikle *S. lavandulifolia* Vahl., *S. officinalis* L. ve *S. fruticosa* Mill. türleriyle yapılan çalışmalar bunların uçucu yağ bakımından zengin kaynaklar olduğunu göstermiştir (Biondi ve ark. 1993).

Birçok *Salvia* türünde bolca bulunan rosmarinik asitin aktivitesinin DPPH serbest radikal giderim tekniğiyle incelendiğinde yüksek antioksidan nitelik gösteren askorbik asitle yarışır düzeyde olduğu gözlenmiştir (IC₅₀=2.7 µg/mL) (Lee ve ark. 1987).

Forouzin ve ark. (2015), gaz kromatografisi-kütle spektrumu (GC-MS) tekniğini ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemini kullanarak iki *Salvia* türünün (*S. suffruticosa* Montbret&Aucher ex Benth. ve *S. verticillata* L.) fenolik içeriğini ve esansiyel yağ içeriğini belirlemişlerdir. Esansiyel yağların *in vitro* antioksidan aktivitelerini DPPH serbest radikal giderim yöntemi ile belirlemişlerdir.

Çalışmanın sonucunda *S. suffruticosa* için 4 türev belirlenirken, *S. verticillata* için 7 türev belirlenmiştir. Her iki tür için aynı olan ana bileşenlerden 1,8-sineol'ü *S. suffruticosa* %31.21 içerirken diğer tür %38.26 oranında içermektedir. Diğer ana bileşen olan kafuru *S. suffruticosa* %27.11 içerirken diğer türün ise %22.98 oranında içerdiğini tespit etmişlerdir. Fenolik bileşen analizinin sonucunda askorbik asit içeriği *S. verticillata* için %33.53 ve *S. suffruticosa* için %23.98, p-hidroksibenzoik asit içeriği *S. verticillata* için %3.83 ve *S. suffruticosa* için %11.50, vanilik asit içeriği *S. suffruticosa* için %5.86 ve *S. verticillata* için %6.55, sirincik asit içeriği *S. suffruticosa* için %6.29, ferulik asit içeriği *S. verticillata* için % 6.04 ve *S. suffruticosa* için %6.35, sinapik asit içeriği *S. verticillata* için %4.93 ve *S. suffruticosa* için %6.26 olarak belirlenmiştir.

S. spinosa L. türünün metanol ekstresi ve esansiyel yağı ile yapılan bir çalışmanın sonucunda bitkinin α -glukozidaz inhibitör aktivitesi ve yüksek DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği görülmüştür. GC-MS/FID kullanılarak yapılan esansiyel yağ analizi sonucunda tespit edilen 19 bileşenin, yağın %98.5'ini oluşturduğu belirlenmiştir. Esansiyel yağın ana bileşenleri karyofilen oksit (%63.0), spathulenol (%23.0), linalol (%3.9) ve trans-karyofilen (%3.0) olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonoit ve fenolik içerikleri sırasıyla 36-377 GEA/g ve QE/g olarak belirlenmiştir. Metanol ekstresinin yüksek miktarda flavonoit ve fenolik içerdiği belirlenmiştir. Çalışma *S. spinosa*'nın farmasötik ve yiyecek endüstrilerinde birçok kullanım alanı için yüksek potansiyeli bulunduğunu göstermiştir (Bahadori ve ark. 2015).

S. officinalis L.'nin toprak üstü kısmının metanol ekstresinden izole edilmiş olan fenolik diterpenlerin hem asetilkolin esteraz enzimini (AChE) hem de B16 melanoma hücrelerinde melanin biyosentezini inhibe etme yeteneklerinin incelenmesi amacıyla bu araştırma yapılmıştır. 12-Metilkarnosol, karnosol, 7 β -metoksirosmanol, 7 α -metoksirosmanol, sageone, izorosmanol ve epirosmanol olmak üzere yedi fenolik diterpen izole edilmiştir. İzole diterpenlerin AChE'yi inhibe etme yetenekleri Ellman metodu kullanılarak test edilmiştir. Ayrıca, izole fenolik diterpenlerin AChE'nin aktif bölgelerindeki amino asit kalıntılarına bağlanma afinitesini araştırmak için bir moleküler yerleştirme deneyi yapılmıştır. Sonuç olarak, izole diterpenlerden izorosmanolün arbutininki kadar güçlü bir melanin inhibe edici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 7 α -Metoksirosmanol ve izorosmanol bileşiklerinin 500 μ M konsantrasyonda

AChE aktivitesini sırasıyla %50 ve %65 oranında inhibe ettikleri belirlenmiştir. Sonuçlar, izorosmanolün bilişsel fonksiyonların azalması ve hiperpigmentasyon gibi yaşlanma bozukluklarında faydalı olabilecek yeni ilaçların geliştirilmesine yönelik ileri çalışmalar için ümit verici bir doğal bileşik olduğunu göstermiştir (Sallam ve ark. 2016).

S. microphylla Kunth türünün esansiyel yağının antioksidan aktivitesi β -karoten renk giderim ve DPPH serbest radikal giderim yöntemleriyle belirlenmiş ve β -karoten testinde $IC_{50}=770 \mu\text{g/mL}$ olarak saptanmıştır (Lima ve ark. 2012).

16 *Salvia* L. türünün su ve metanol ekstralarının kullanıldığı bir çalışmada ekstraların zayıf kolinesteraz aktivitesi gösterirken DPPH serbest radikal giderim yönteminde yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Ekstrelerin toplam fenolik içeriği $AlCl_3$ reaktifiyle belirlenirken fenolik asitlerin analizi ise HPLC tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Ekstreler sirinjik asit, gallik asit, p-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, kafeik asit, protokateşik asit, ferulik asit, klorojenik asit, o- ve p-kumarik asit, rozmarinik asit ve sinnamik asit açısından analiz edilmiştir. Çalışılan türlerden *S. ekimiana* Celep & Doğan türünün metanol ekstresinin rozmarinik asit ($153.50\text{mg}/100\text{g}$) bakımından en zengin ekstre olduğu belirlenmiştir (Orhan ve ark. 2012).

Çeşitli habitatlarda yetişen 4 *Salvia* türünün metanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ile fenolik içeriklerinin incelendiği bir çalışmada spektrofotometrik olarak hesaplanan toplam fenolik içerik *S. officinalis* L. ekstraları için $112.93-161.37 \text{ 02 mg GAE/g}$ kuru ağırlık aralığında ve *S. argentea* L. ekstresi için $67.67-72.02 \text{ mg GAE/g}$ kuru ağırlık aralığında değiştiği belirlenmiştir. HPLC analizi ekstralarda özellikle kafeik asit türevleriyle beraber flavonoit ve birçok fenolik asitin varlığını ortaya çıkarmıştır. Rozmarinik asitin analiz edilen ekstralarda en bol bulunan bileşik olduğu ve *S. officinalis* örneklerinde en yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir ($13680.22-18378.00 \mu\text{g/g}$ kuru ağırlık). *S. officinalis*'in metanol ekstraları ABTS ($644.85-766.30 \mu\text{g/mL}$) ve DPPH ($10.08-3.37 \mu\text{g/mL}$) analizleri ile değerlendirildiğinde en güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir (Ben Farhat ve ark. 2013).

14 *Salvia* türüyle yapılan başka bir çalışmada ise Ellman metodu kullanılarak türlerin kolinesteraz inhibisyonu belirlenip çalışılan türler arasından *S. cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth. türünün toprak üstü kısmının diklorometan ve etanol

ekstrelerinin AChE'ye (% İnhibisyon 56.22 ± 4.18) ve BChE'ye (% İnhibisyon 33.80 ± 4.18) karşı en aktif olduğu belirlenmiştir (Orhan ve ark. 2013).

S. bicolor Desf. türünün toprak üstü kısımlarından petrol eteri ve metanol ekstreleri hazırlanarak bitkinin kimyasal bileşimi, analjezik, antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca HPLC/MS sonucu 14 fenolik asidin varlığı ortaya konmuş olup bunlardan protokateşik asidin baskın olduğu gözlemlenmiştir (75.22 mg/g kuru örnek). Onu p-kumarik (70.27 mg/g kuru örnek), gallik asit (68.26 mg/g kuru örnek) ve sirinjik asidin (54.38 mg/g kuru örnek) takip ettiği saptanmıştır. HPLC/MS ile ayrıca flavonoit içerik de analiz edilmiş ve 5 çeşit flavonoitin varlığı ortaya çıkarılmıştır. İçerdiği flavonoitlerden apigenin (88.48 mg/100g kuru örnek) ve luteolin 7-O-glukozit (120.25 mg/100g kuru örnek) majör bileşik olarak belirlenmiştir. Her iki ekstrenin antioksidan kapasitesi gallik aside eş değer (GAE) olarak DPPH ve toplam antioksidan kapasitesi teknikleriyle belirlenmiştir. Her ikisi de yüksek düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir (İbrahim 2012).

S. ceratophylla L. ile yapılan bir çalışmada; daha önce tanımlanmayan yeniden düzenlenmiş iki abietan tipi diterpen olan ceratol ve ceratodiol, bilinen üç abietan-diterpenoit olan 1-ketoaetiyo-pinon, ferruginol ve 12-deoksisalvipison bu bitkinin köklerinden izole edilmiştir. Saflaştırılan bileşiklerin yapıları, 1D ve 2D NMR ve yüksek çözünürlüklü elektrosprey kütle spektrumları dahil olmak üzere, spektroskopik verilerin analizlerine dayanarak karakterize edilmiştir. Analitik veriler daha sonra literatürde bildirilenlerle karşılaştırılmıştır. İzole edilen bileşiklerin sitotoksitesi MTT redüksiyon testi kullanılarak iki insan kanser hücresi serisine, MOLT-4 (insan lenfoblastik lösemi) ve MCF-7'ye (insan göğüs adenokarsinomu) karşı incelenmiştir. Ceratodiol bileşiği her iki kanser hücresine karşı sitotoksite gösterse de, ceratol bileşiği MOLT-4 hücrelerine karşı zayıf toksisite göstermiş ve MCF-7 hücrelerine karşı toksisite göstermemiştir. Her ikisi de bir α doymamış karbonil fonksiyonuna sahip olan 1-ketoaetiyo-pinon ve 12-deoksisalvipison test edilen bileşikler arasında en yüksek sitotoksik aktiviteyi göstermiştir (Mirzaei ve ark. 2019).

S. verbenaca L.'nin esansiyel yağlarının toplanma yerine ve fenofaza göre verim ve kimyasal bileşim değişiminin incelendiği bir çalışmada, uçucu yağ bileşenleri, GC ve GC-MS ile değerlendirilmiştir. En yüksek esansiyel yağ verimleri, yüksek yarı kurak

biyoiklim numunelerinde ve çiçeklenme döneminde gözlemlenmiştir . Seksen beş uçucu bileşen tanımlanmış ve yüzdeleri, toplanma yerine ve fenolojik döneme bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir ($p < 0.05$). Bitkilerin kökenine göre, esans yağları monoterpen hidrokarbonlar, oksijenli monoterpenler ve seskiterpen hidrokarbonlar bakımından baskın olmuştur. Monoterpen hidrokarbonlar (%31.9) çiçeklenme döneminde baskın iken, oksijenli seskiterpenler (%27.5) erken meyve verme döneminde baskın olmuştur. Seskiterpen hidrokarbonlar (%28.2) geç meyve verme döneminde en çok temsil edilen kimyasal sınıf olmuştur. GC-MS verilerine dayanarak, tanımlanmış ana uçucu bileşenler α -pinen (%0.7–15.9), β -karyofilen (%1.0–15.3), p-simen (%1.3–14.2) ve viridiflorol (%3.4–17.7) olarak tanımlanmıştır (Farhat ve ark. 2019).

S. hispanica L.' nin (Chia tohumu) asetilkolinesteraz ve butirikolinesteraz inhibitörleri olarak etki yapma potansiyelinin değerlendirildiği bu çalışmada, AChE ve BchE' ye karşı en yüksek inhibe edici aktivite renkli tohum etanol ekstralarında gözlenmiştir. Protokateşik, hidroksibenzoik ve kumarik asitin yanı sıra kersetin ve izokersetin varlığı ile AChE ve BChE inhibitörleri olarak ekstraların aktivitesi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Tahıl parçalanmasının, tohumların kolinesterazlara karşı aktivitesindeki artışı etkilediği de gösterilmiştir. Ayrıca, tohumların mikrobiyal büyümeyi engelleyen bir madde kaynağı olduğu gösterilmiştir. Sonuçlar chia çekirdeği ekstralarının polifenoller bakımından zengin olduğunu ve ChE' lerin aktivitesini inhibe ettiğini bu nedenle bunların kullanımının nörodejeneratif hastalıkların tedavisi ve önlenmesi alanında daha ileri araştırmalarda düşünülebileceğini göstermiştir (Cisowska ve ark. 2019).

Bu çalışmada, İran'ın 27 yabani *Salvia* türünden 41 popülasyonunda beş biyoaktif fenolik bileşiğin (rozmarinik asit, karnosik asit, kafeik asit, salvianolik asitler A ve B) tanımlanması ve belirlenmesi için basit ve güvenilir bir HPLC-UV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşik profillerine göre türler arasındaki farklılaşmayı incelemek için Temel Bileşen Analizi (PCA) tekniği kullanılmıştır. Çalışılan *Salvia* türlerinde fenolik bileşiklerin dağılım şekillerinde ve içeriklerinde belirgin intra- ve inter-spesifik değişiklikler gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, yaprakların köklere kıyasla daha fazla miktarda fenolik bileşik bulundurduğu tespit edilmiştir. *S. verticillata* L.'nin yapraklarında en yüksek miktarda rozmarinik asit

(41.53±0.88 mg/g kuru ağırlık) ve salvianolik asit A (8.10±0.35 mg/g kuru ağırlık) bulunmuştur. *S. syriaca* L. ve *S. sharifii* Rech.f. & Esfand. türlerinin yaprakları sırasıyla salvianolik asit B (54.47±2.00 mg/g kuru ağırlık) ve karnosik asit (34.05±1.18 mg/g kuru ağırlık) bakımından zengin bulunmuştur. PCA sonuçları, farklı bölgelerden toplanan *Salvia* türlerinde kimyasal farklılıklar olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu çalışma, *S. officinalis* L. dışında, *S. verticillata* L., *S. hypoleuca* Benth., *S. leriifolia* Benth. ve *S. virgata* Jack. gibi bazı yabancı türlerin tıbbi ve endüstriyel amaçlar için güçlü doğal kaynaklar olarak tanıtılabileceğini göstermiştir (Fotovvat ve ark. 2019).

S. aegyptiaca L.'nin toplanma bölgelerine bağlı olarak polifenolik içeriğinde ve antioksidan kapasitesindeki değişiklikler incelenmiştir. HPLC analizi ile 14 fenolik bileşen tanımlanmıştır. Metil karnosat (416.29–4052.24 µg/g kuru ağırlık), rozmarinik asit (562.46–1172.24 µg/g kuru ağırlık) ve apigenin-7-glukozit (512.96–774.02 µg/g kuru ağırlık) ana fenolikler olarak tespit edilmiştir (Farhat ve ark. 2019).

S. cassia Samuelss. Rech. Fil bitkisinin ham etanol ekstresinin bölünmesinden elde edilen diklorometan ve su ekstralarının yanı sıra ham etanol ekstresinin antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada, ekstraların toplam fenolik ve flavonoit içerikleri taranmıştır. Daha yüksek lipit peroksidasyonu inhibisyonu ve yüksek metal şelatlama kapasitesi gösteren ayrıca diğer ekstralardan daha yüksek flavonoit içeriğe sahip diklorometan ekstresinin bileşenleri analiz edilmiştir. GC-MS analizi, toplam 30 uzun zincirli hidrokarbonun tanımlanmasıyla sonuçlanmıştır. Bir dizi yağ asidi esterleri β-amyrin, bir triterpen asit oleanolik asit, bir diterpenoit manoiloksit ve iki flavonoit apigenin 7,4'-dimetil eter ve salvigenin açık kolon kromatografisiyle izole edilmiştir. Yapıları NMR ve kütle spektrometrik teknikleriyle tanımlanmıştır. İzole edilen bileşiklerin ayrıca antikolinesteraz aktiviteleri de test edilmiştir. Triterpenoitler ve su ekstresinin umut verici antikolinesteraz aktivite sergilediği belirlenmiştir (Halfon ve ark. 2019).

Bir başka çalışmada, 12 tanesi endemik olan 14 Türk *Salvia* türü B₂ vitamini, mineraller, toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri esas alınarak araştırılmıştır. *Salvia* türlerinde B₂ vitamini tayini, bir lazer kaynaklı floresan (LIF) dedektörü kullanılarak hızlı ve hassas bir kılcal elektroforez tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Tüm numunelerin 0.165 ile 1.19 mg/100 g arasında değişen B₂

vitamini içerdiği görülmüştür. *Salvia* örneklerinin toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak 11.8 ile 119 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g arasında değişen miktarlarda belirlenmiştir (Gezek ve ark. 2019).

S. viridis L.'nin toprak üstü kısımlarının sulu ve hidroetanolik ekstralarının polifenol profilini belirlemek, antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada, polifenol profili UPLC-DAD/ESI-MS ile belirlenmiştir. Test edilen ekstradaki toplam polifenol içeriği, Folin-Ciocalteu testi kullanılarak UV-Vis spektrofotometrisi ile belirlenmiştir. Antioksidan etki FRAP, DPPH, ABTS, O₂* süpürücü ve TBARS yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Hidroetanolik ekstrenin en yüksek toplam fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Ekstrelerin UPLC-DAD/ESI-MS analiziyle flavonoidler (dört bileşik), feniletanoidler (sekiz bileşik) ve fenolik asitler (yedi bileşik) olarak tanımlanan toplam 19 fenolik bileşik belirlenmiştir. Yüksek polifenol seviyesinin varlığı, hem infüzyon hem de hidroalkolik ekstrenin yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Grzegorzczuk-Karolak ve Kiss 2018).

S. elegans Vahl., *S. greggii* A. Gray ve *S. officinalis* L. bitkilerinin dekoksasyonları, özellikle diyabet ve obezitede etkili olan anahtar enzimlere (α -glukozidaz, α -amilaz ve pankreatik lipaz) karşı inhibitör etki ve antioksidan aktivite açısından, sağlığa yararlı özellikleri bakımından araştırılmıştır. *S. elegans* dekoksasyonu, en etkili α -glukozidaz ($EC_{50}=36.0\pm 2.7$ $\mu\text{g/mL}$, $EC_{50}=345.3\pm 6.4$ $\mu\text{g/mL}$ ve 71.2 ± 5.0 $\mu\text{g/mL}$, *S. greggii* ve *S. officinalis* için sırasıyla) inhibitörü olmasının yanı sıra serbest radikalleri temizleme kapasitesi olarak bilinen DPPH•, NO• ve O₂• ve Fe³⁺ 'ı azaltma kabiliyetinde antioksidan etkileri açısından en umut verici ekstre olmuştur (Pereira ve ark. 2018).

S. hydrangea DC. ex Benth. türünün n-hekzan ekstresinin fraksiyonlanmasıyla altı tanesi yeni bileşik olan ve salvadion A ile birlikte yedi izoprenoit elde edilmiştir. Yapıları kapsamlı spektroskopik ve spektrometrik veri analizi (1D ve 2D NMR, HRMS) ile belirlenmiştir. Salvadione A'nın mutlak konfigürasyonu, Cu/K α radyasyonu ile tek kristalli X ışını difraksiyon analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca, tüm bileşiklerin mutlak konfigürasyonu elektronik dairesel dikroizm spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bileşiklerin *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Plasmodium*

falciparum ve *Trypanosoma cruzi*' ya karşı antiprotozoal aktivitesi belirlenmiş ve sıçan myoblast L6 hücrelerinde sitotoksiteleri değerlendirilmiştir. Perovskone C bileşiği *P. falciparum*'a karşı iyi aktivite (IC_{50} 0.6 μ M) sergilemiştir (Tabefam ve ark. 2018).

S. barrelieri Etl.'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen flavonoidler ve triterpenlerin antioksidan, antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteleri çalışılmıştır. 3 β -asetoksi-olean-18-en-2 α -ol adında yeni bir triperpen ile birlikte 12 bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları, 1D-, 2D-NMR ve HRESIMS' ı içeren spektroskopik analizler ile ve literatürde bildirilen verilerle karşılaştırılarak aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin antibakteriyel aktivitesi, beş bakteri için seri seyreltme tekniği ile MIC değerlerinin belirlenmesinin ardından *Staphylococcus aureus*'ta biyotografi tarafından değerlendirilmiştir. Üç bileşik *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı aktif bulunmuştur (MIC 15.1 ile 125 μ g/mL). İki bileşik orta derecede DPPH radikal temizleme aktivitesi göstermiştir (IC_{50} 79.1 ve 21.2 μ g/mL). Bu bileşikler önemli derecede tirozinaz inhibe edici aktivite göstermemişlerdir (IC_{50} > 1.5 mg/mL). Sitotoksik aktiviteleri, promyelositik lösemi (HL60), insan eritromyeloblastoit lösemi (K562) ve fibrosarkom (HT1080) hücre serilerine karşı değerlendirilmiş ve dört bileşik orta düzeyde bir sitotoksik aktivite (IC_{50} 28.75 ile 85.0 μ M) göstermiştir (Lehbili ve ark. 2018).

Anti-proliferatif aktivite güdümlü klerodermik asidin *S. nemorosa* L.' den izolasyonu ile geno/sitotoksikite ve hipoksi aracılı etki mekanizması araştırılmıştır. Katı tümörlerin düşük oksijen/besin maddesi ortamına adaptasyonu, hipoksi ile indüklenebilir faktör-1'in (HIF-1) çok önemli transkripsiyon rolüne aracılık eder. Bu nedenle, HIF-1 ve alt birimlerinin umut verici antikanser hedefleri olduğu düşünülmüştür. HIF-1'in hedeflenmesi ve aşağı regülasyonu yoluyla hücrede sitotoksik etki gösteren çeşitli doğal bileşikler bildirilmiştir. *Salvia* cinsi, umut verici antikanser aktivite gösteren zengin bir biyoaktif terpenoid kaynağıdır. Burada, HIF-1 α ekspresyonunu hedef alan doğal antiproliferatif bileşiğin tanımlandığı bildirilmiştir. A549 hücrelerine karşı MTT testi kullanılarak *Salvia* ekstraktlarından doğal antiproliferatif bileşiklerin keşfedilmesi için bir biyotest kılavuzlu izolasyon kullanılmıştır. Bu yönde, güçlü bir sitotoksik bileşik olarak bulunan klerodermik asit (CDA) *S. nemorosa*' dan saflaştırılmış ve 1D ve 2D NMR analizi kullanılarak tanımlanmıştır. Sonuçlar, CDA'nın, genotoksikite ve apoptoz saptama analizleriyle

doğrulan, proliferasyon önleyici aktiviteye (IC₅₀ değeri 35µg/mL) sahip olduğunu göstermiştir. Kantitatif qPCR analizi, hipoksiyi tolere eden tedavi edilmemiş hücrelerle karşılaştırıldığında CDA ile tedavi edilen hipoksik hücrelerde HIF-1α ekspresyon seviyesinin güçlü bir şekilde inhibe edildiğini göstermiştir. Bulgular, *S. nemorosa* ve klerodermik asidin, HIF-1α ekspresyonunu azaltmak için önemli bir potansiyele sahip olduğunu ve kanser tedavisi için daha ileri çalışmalar için göz önüne alınabileceğini göstermiştir (Bahadori ve ark. 2018).

Bu çalışma, Libya kaynaklı *S. fruticosa* Mill. ve *S. lanigera* Poir. ekstralarının kimyasal bileşimlerini ve biyolojik aktivitelerini analiz etmeyi amaçlamıştır. Yabani yetiştirilen bitkilerden elde edilen diklorometan, etil asetat, metanol, etanol ve su ekstraları, çoğunlukla alkollü ve su ekstralarında olmak üzere fenolik asitlerin ve flavonoidlerin varlığını ortaya çıkarmak için HPLC-DAD kullanılarak analiz edilmişlerdir. Toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin yanı sıra antioksidan aktiviteleri DPPH, ABTS, FRAP ve β-karoten renk açılım yöntemiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. *S. fruticosa*'nın ekstraları uygulanan tüm testlerde, özellikle etanol ekstresinde DPPH (IC₅₀, 29.55 µg/mL) ve β-karoten (%85.11) daha güçlü aktivite göstermiştir. Fitoterapideki geniş kullanımları nedeniyle etanol ve su ekstraları daha fazla araştırma için seçilmiştir. Ekstreler mikrodillüzyon yöntemi kullanılarak 11 bakteriye (6 Gram-negatif ve 5 Gram-pozitif) ve 7 mantara karşı antimikrobiyal aktivite açısından taranmıştır. Etanol ekstraları, özellikle Gram-pozitif bakterilere karşı su ekstralarından daha güçlü aktivite göstermiştir. Sitotoksik aktivite insan karsinoma hücre dizisi HCT-116 üzerinde sadece *S. fruticosa*'nın etanol ekstresinin belirli bir aktivite (IC₅₀, 375.96 µg/mL) gösterdiği MTT testi ile belirlenmiştir. Ekstrelerin anti-nörodejeneratif aktivitelerinin test edilmesi, standart kojik asitten (%33.93-51.81) daha iyi bir tirozinaz inhibe edici etki (%55.26-74.66) gösterirken, ekstralar standart galantamine kıyasla asetilkolinesteraza karşı daha az etkili olmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, Libya kökenli *S. fruticosa* ve *S. lanigera*'nın bir dizi biyolojik aktiviteye sahip umut verici doğal bileşiklerin kaynağı olduğu kanıtlanmıştır (Duletic Lausevic ve ark. 2018).

Bu çalışmada, *S. officinalis* L.'nin yaprak etanol ekstresinin biyolojik özellikleri ve ince tabaka kromatografisiyle izole edilmiş bir noktanın (spot B) murin miyelom hücrelerindeki etkileri araştırılmıştır. Hem yaprak ekstralarının hem de izole edilmiş

noktanın EC₅₀'sini belirlemek için MTT testi yapılmış, izole edilmiş nokta ayrıca LC-MS ve NMR ile de araştırılmıştır. Elektron mikroskobu ve immünofloresan, tedavi edilen P3X murin miyelom hücrelerinde morfolojik çalışmalar için kullanılmıştır. LC-MS ve NMR sonuçlarına bakılarak spot B'nin ana bileşeni olarak metil karnosat (karnosik asidin metil türevi) tanımlanmıştır. Ayrıca, spot B'nin EC₅₀ değerleri ve 20 saat boyunca tedavi edilen murin miyelom hücrelerinde gerçekleştirilen elektron mikroskopisi, transmisyon elektron mikroskopisi ve immünofloresans araştırmaları hem hücrel morfolojide hem de mikrotübül dizide bazı değişiklikler ortaya çıkarmıştır. Mevcut çalışmalar, *S. officinalis* ekstralarının, murin miyelom hücreleri üzerinde biyolojik etkiye sahip olduğunu ve metil karnosatın insan hücre serilerinde ve muhtemelen kanseri önlemede daha ileri araştırmalar için ilginç bir molekül olarak belirlendiğini göstermiştir (Ovidi ve ark. 2018).

S. miltiorrhiza Bunge'nin kökünden izole edilmiş trijuganone C'nin antiproliferatif aktivite ve apoptoz indüksiyonunu incelendiği bir çalışmada, Danshen'in (*S. miltiorrhiza*'nın kurutulmuş kökü) hekzan fraksiyonunun insan lösemi hücreleri üzerinde antiproliferatif etkilere neden olduğu bulunmuştur. Hekzan fraksiyonunun fitokimyasal incelenmesi, tanshinon diterpenleri olan dihidrotanshinon I, trijuganon C, trijuganon B, kriptotanshinon, tanshinon IIA ve tanshinon I'in izolasyonunu sağlamıştır. Trijuganon C, insan lösemi hücreleri HL-60, Jurkat ve U937'ye karşı önemli antiproliferatif aktiviteler göstermiştir. Trijuganon C'nin normal ve insan kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri bu bileşiğin HL-60 ve Jurkat hücrelerine karşı 10 µM'den düşük IC₅₀ değerlerine sahip güçlü antiproliferatif aktivite sergilediğini göstermiştir. Trijuganon C, kromatin yoğunlaşmasını, DNA fragmentasyonunu, kaspaz -3, -8 ve -9'un aktivasyonunu ve HL-60 hücrelerinde poli (ADP-riboz) polimerazın (PARP) parçalanmasını indüklemiştir. Ayrıca, bu bileşik Bid ve Bax'ı aktifleştirmiş, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına yol açmış ve mitokondriden sitozole sitokrom C salımını indüklemiştir. Aksine, Bcl-2 ve Bcl-xL Trijuganon C'den etkilenmemiştir. Bu sonuçlar Trijuganon C'nin mitokondriyal disfonksiyon ve kaspaz aktivasyonunun aracılık ettiği apoptoz indüksiyonu yoluyla antiproliferatif etkileri olduğunu göstermiştir. Trijuganon C'nin insan lösemisi için potansiyel kemoterapötik bir ajan olabileceği görülmüştür (Uto ve ark. 2018).

S. miltiorrhiza ekstresinden elde edilen dihidrotanshinonun insan glioma SHG-44 hücreleri üzerindeki antikanser etkileri 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolyum bromür deneyi, Hoechst 33258 nükleer boyama, Annexin V/propidium iyodür çift boyama ve aynı zamanda Western Blot analizi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar, dihidrotanshinonun SHG-44 hücrelerinin proliferasyonunu etkili bir şekilde bastırdığını ve hem doza hem de zamana bağlı bir şekilde apoptozu indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, dihidrotanshinonun, kaspazların (kaspaz-3 ve kaspaz-9) aktivasyonunu ve SHG-44 hücrelerinde sitokrom C salınımını arttırdığı görülmüştür. Genel olarak dihidrotanshinonun, apoptozu indükleyebildiği ve kaspazlar ve sitokrom C'yi düzenleyerek gliom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebildiği görülmüştür. Bu çalışma, dihidrotanshinonun, gliomalı hastalar için potansiyel bir tedavi seçeneği olarak hizmet edebileceğini göstermiştir (Cao ve ark. 2017).

S. aurea, *S. judaica* ve *S. viscosa*'nın uçucu yağlarının insan prostat kanseri hücrelerine karşı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Hücre canlılığı, 3-(4,5-dimetil-tiyazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) testi ile ölçülmüş ve nekroz hücre ölümünü ölçmek için laktat dehidrojenaz (LDH) salımı kullanılmıştır. Apoptotik süreci incelemek amacıyla genomik DNA, kaspaz-3 aktivitesi, bölünmüş kaspaz-9 ekspresyonu, B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ve Bcl-2 ile ilişkili X (Bax) proteinleri analiz edilmiştir. Reaktif oksijen türlerinin hücre ölümündeki rolü de araştırılmıştır. Ana bileşen olarak karyofilen oksit içeren üç esansiyel yağın, insan prostat kanseri hücrelerinin büyümesini azaltabildiği, apoptotik bir işlemi aktifleştirdiği ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırabildiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, bu esansiyel yağların prostat kanserinde antikanser ajanlar olarak olası kullanımları için, tek başına veya kemoterapi ajanları ile kombinasyon halinde araştırılmasının faydalı olabileceğini göstermiştir (Russo ve ark. 2018).

Bu çalışma, *S. suffruticosa* Montbret&Aucher ex Benth. bitki ekstresinin ve uçucu yağının kimyasal bileşenlerini araştırmayı ve biyolojik aktivitelerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ, hidrodistilasyon ile elde edilmiş ve gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Metanol ve petrol eteri fraksiyonlarından bileşiklerin izolasyonu, farklı sabit fazlara sahip kolon kromatografisi kullanılarak elde edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları NMR teknikleri ile aydınlatılmıştır. Sitotoksitesite potansiyelleri

MTT testi ve akridin oranj/etidyum bromür boyama yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite DPPH metodu ile değerlendirilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri olarak β -karyofilen (%27,35), bisiklo germakren (%22,15), germakren-D (%9,49) ve β -farnesen (%9,08) tanımlanmıştır. Ekstrenin fitokimyasal analizi, lupeol, β -sitosterol, stigmasterol, kafeik asit ve 1-feruloil- β -D-glikopiranoz izolasyonu ile sonuçlanmıştır. Test edilen örnekler arasında lupeol, MCF-7, T-47D ve MDA-MB-231 dahil olmak üzere meme kanseri hücre serilerine karşı (IC_{50} değerleri 33.38 ± 2.6 , 36.70 ± 3.1 ve 23.66 ± 1.4 $\mu\text{g/mL}$ sırasıyla) en güçlü inhibe edici aktiviteyi göstermiştir; kafeik asit ise IC_{50} 12.1 ± 1.2 $\mu\text{g/mL}$ değeri ile en güçlü radikal temizleme aktivitesini göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları *S. suffruticosa*'yı kanserin önlenmesinde ve tedavisinde yararlı gelecek vaat eden bir biyoaktif bileşik kaynağı olarak göstermiştir (Rustaie ve ark. 2018).

Üç Güney Afrika *Salvia* türünün biyolojik etkinliklerinin ve uçucu yağ bileşiminin incelendiği bu çalışmada, bitkilerin esansiyel yağ bileşiminin profilini çıkarmak ve geleneksel kullanımlarla ilgili biyoaktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. *S. repens* Burch. ex Benth., *S. stenophylla* ve *S. runcinata* L.f. türlerinin uçucu yağı hidrodistilasyon ile izole edilmiş ve antimalaryal, antiinflamatuvar, antimikrobiyal aktiviteleri ve toksisite profilleri hipoksantin birleşme deneyi, 5-lipooksijenaz deneyi, minimum inhibitör konsantrasyon deneyi ve MTT kolorimetrik yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağ bileşimi, GC-MS ve GC-FID yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. *S. repens* yağında 1,8-sineol (%12,8), p-simen (%9,5) ve limonen (%9,4) baskın iken, *S. runcinata*'da α -bisabolol (%65,0) ve β -karyofilen (%10,5) ana bileşenlerdir. *S. stenophylla*'nın baskın bileşenleri α -bisabolol (%26.1) ve δ -3-karen (%22.6) olarak bulunmuştur. Üç yağın antiinflamatuvar aktivitesi (IC_{50} değeri), 22.8 ile 49 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişmiş ve *S. runcinata* en iyi etkinliği göstermiştir. Esansiyel yağlar zayıf antimikrobiyal aktivite göstermiş (MİK değeri > 32 mg/mL) ve ayrıca normal böbrek epitel hücrelerine (IC_{50} değeri < 6.6 $\mu\text{g/mL}$) toksik olduğu görülmüştür. Esansiyel yağlar bir miktar aktivite sergilemişlerdir, ancak böbrek hücrelerine karşı ortaya çıkan toksisite, yağların dikkatli kullanılması gerektiğini göstermiştir (Kamatou ve ark. 2018).

Kriptotanshinon'un yumurtalık kanseri hücreleri üzerindeki önleyici etkisini değerlendirmek ve altta yatan moleküler mekanizmayı incelemek için bir çalışma

yapılmıştır. Kriptotanshinon ile tedavi edilen yumurtalık kanseri A2780 hücrelerinin hücre canlılık değerlendirmesi için MTT testi kullanılmıştır. Apoptoz analizi için akım sitometrisi kullanılmıştır. Mekanizmalarda yer alan proteinleri metastaz ve apoptoz açısından araştırmak için Western Blot yöntemi kullanılmıştır. γ H2AX immünohistokimyası, Kriptotanshinon'a maruz kalan A2780 hücrelerinde DNA hasarını tespit etmek için kullanılmıştır. Kriptotanshinon, kaspaz kaskadını aktive ederek yumurtalık kanseri A2780 hücrelerinin apoptozunu önemli ölçüde indüklemiştir. Elde edilen veriler Kriptotanshinon'un yumurtalık kanseri hücreleri üzerindeki anti-tümör etkisini doğrulamış ve yumurtalık kanseri hücrelerini kemoterapiye duyarlı hale getirebileceği konusunda yeni bulgular sağlamıştır (Guoqiang ve ark. 2017).

S. urmiensis Bunge'in toprak üstü kısımlarının aseton ekstresinden iki yeni polihidroksile triterpenoit izole edilmiştir. 1D ve 2D NMR ve HR-ESI-MS ile yapıları aydınlatılan bu bileşiklerin olean-12-en-1 β , 3 β , 11 α , 22 α -tetraol ve urs-12-en-1 β , 3 β , 11 β , 22 α -tetraol olarak belirlenmiştir. Bu bileşiklerin MCF-7 hücrelerinin hücre canlılığı üzerindeki etkisi MTT testi ile incelenmiştir. Bu bileşiklerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 110.23±0.12 ve 88.35±0.09 μ M olarak elde edilmiş ve zayıf sitotoksikite gösterdikleri bulunmuştur (Farimani ve ark. 2016)

S. officinalis L. (adaçayı) ekstresinin antikanserojen özelliği ve normal hücreler üzerinde toksik etki göstermemesi bu ekstrenin kanser tedavisi için uygun bir aday olabileceğini göstermiştir. Adaçayının antikanser özelliklerinin altında yatan moleküler mekanizmayı değerlendirmek için, adaçayı hidroalkolik ekstrenin etkisi fare meme karsinomu hücre dizisi (4T1) üzerinde araştırılmıştır. Kültür hücreleri 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (0-1000 μ g/mL) *S. officinalis* ekstresi ile muamele edilmiştir. Ekstre ile muamele edildikten sonra doza bağlı bir şekilde hücre canlılığının azalması ve kromatin yoğunlaşmasının artması gözlenmiştir. Hücrelerin çoğunun 100 μ g/mL'de apoptozun erken evrelerinde ve 500 μ g/mL'de apoptozun geç evrelerinde olduğu görülmüştür. Bax ekspresyonu 500 μ g/mL konsantrasyonda belirgin bir şekilde artarken, Bcl-2 ekspresyon seviyelerinde ekstrenin farklı konsantrasyonlarında muamele edilmemiş kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca, bu hücrelerde apoptotik bir indeks olan Bax/Bcl-2 oranını arttırdığı görülmüştür. Sonuç olarak *S. officinalis*'in hidroalkolik ekstresinin, fare meme karsinomu hücrelerinde sitotoksik ve proapoptotik özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Moghadam ve ark. 2018).

Sicilya'da (İtalya) yetişen *S. officinalis* L.'den elde edilen uçucu yağın *in vitro* antiproliferatif etkisinin ve hormona bağımlı kanser hücre serileri üzerindeki ana bileşenlerinin araştırıldığı bu çalışmada, uçucu yağ hidrodistilasyon ile hazırlanmıştır. Uçucu yağ ve üç temel bileşenin (α -thujon, 1,8-sineol ve kafur) etkileri LNCaP hücreleri (prostat karsinomu), MCF-7 hücreleri (meme karsinomu) ve HeLa hücrelerinde (servikal karsinom) farklı dozajlarda ve çeşitli zaman noktalarında değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı ve proliferasyonu, MTT testi kullanılarak hesaplanmıştır. *S. officinalis* uçucu yağı 100 μ g/mL ve 200 μ g/mL'lik dozlarda, 48 saatlik bir inkübasyondan sonra MCF-7, LNCaP ve HeLa hücre serilerinde hücre canlılığının önemli ölçüde azalmasına neden olmuştur. Aynı hücre serileri ayrıca 100 μ g/mL ve 200 μ g/mL dozlarında, uçucu yağın üç ana bileşeninin bir karışımı ile muamele edildiklerinde 48 saatlik bir inkübasyondan sonra, hücre canlılığının azaldığı görülmüştür. Bu ilk sonuçlar, antiproliferatif aktiviteye sahip yeni terapötik ajanların formülasyonuna ışık tutması açısından önemli bulunmuştur (Privitera ve ark. 2019).

Bir başka çalışmada, *S. dominica* L.'nin yaprakları, *S. lanigera* Desf.'in toprak üstü kısımları, *S. menthaefolia* Ten.'in kökleri, *S. palaestina* Benth.'in toprak üstü kısımları, *S. sclarea* L.'nin kökleri ve *S. spinosa* L.'nin toprak üstü kısımları olmak üzere altı *Salvia* türünün metanol ham ekstralarının *in vitro* antiproliferatif aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ekstreler, glioblastoma (DBTRG-05MG, T98G, U-87MG), kolorektal adenokarsinoma (WiDr ve HT-29), prostat adenokarsinom (MDA Pca2b), koriokarsinoma (JEG-3), endometrium adenokarsinomu (HEC-1A) ve B limfoblast (CIR) olmak üzere dokuz insan kanseri hücre serisinde MTT testi ile olası antitümoral aktivite açısından taranmıştır. IC_{50} değerleri, sadece beş ekstre için ve yaklaşık 90 ile 400 mg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. *S. spinosa*, *S. sclarea* ve *S. dominica* ekstraları, hücre türüne bağlı olarak bir derece sitotoksik aktivite sergilerken; *S. menthaefolia* ekstresi, tüm tümör hücre serilerine karşı düşük IC_{50} değerleri ile belirgin bir anti-proliferatif aktivite göstermiştir. *S. palaestina* ekstresi, sadece üç hücre serisine karşı orta düzeyde bir antiproliferatif etki ortaya koymuştur. *S. lanigera* ekstresi, test edilen tüm konsantrasyonlarda toksik aktivite göstermiştir. Sonuçlar, *Salvia* cinsinin potansiyel antitümör ajanların doğal bir kaynağı olarak kabul edilebileceğinin kanıtını güçlendirmiştir (Fiore ve ark. 2006).

S. ballotiflora G. Bentham.'ın hekzanla yıkanmış kloroform ekstresinden 19-deoksiisetekson, 7,20-dihidroanastomosin, isetekson ve 19-deoksiizoisetekson olmak üzere dört diterpen izole edilmiştir. Hekzan ile yıkanmış kloroform ekstresinin ve dört diterpeninin sitotoksik aktivitesi; HeLa (rahim ağzı kanseri), A549 (akciğer kanseri) ve MCF7 (meme kanseri) olmak üzere üç tümör hücre hattına; J774A.1 (epitel kanseri) ve CT26 (kolon kanseri) olmak üzere iki murin hücre hattına karşı MTT analizi kullanılarak test edilmiş ve IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. 19-deoksiizoisetekson, HeLa hücreleri üzerinde 3.2 µg/mL (9.36 µM) IC₅₀ ile en büyük etkiye sahipken; hekzan ile yıkanmış kloroform ekstresi A549 hücreleri üzerinde 2.29 µg/mL IC₅₀ ile en iyi sitotoksik etkiye sahip bulunmuştur. 19-Deoksiizoistekson ve hekzanla yıkanmış kloroform ekstresinin bu etkileri, cis-platine (HeLa hücrelerinde IC₅₀=1.06 µg/mL ve A549 hücrelerinde 4.6 µg/mL (15.21 µM)) kıyasla benzer aktiviteye sahip bulunmuştur (Campos-Xolalpa ve ark. 2017).

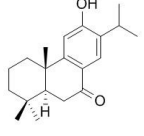
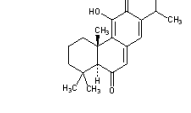
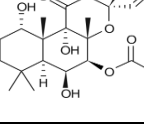
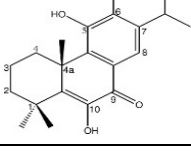
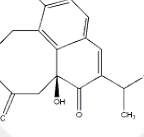
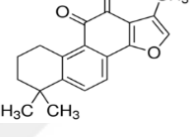
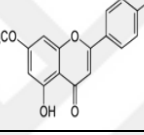
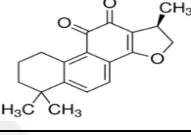
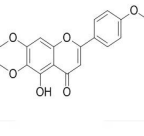
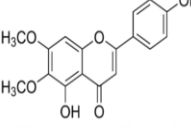
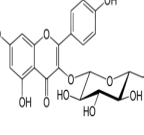
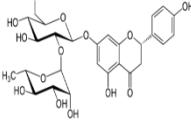
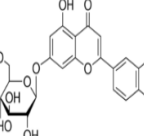
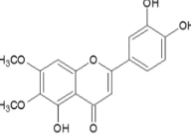
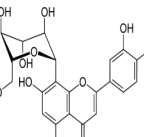
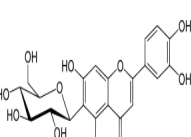
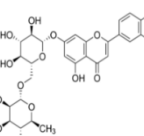
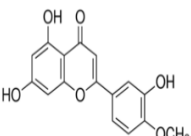
Bu çalışmanın amacı Çin tıbbi bitkisi olan *S. chinensis* Benth.'ten elde edilen polifenolce zenginleştirilmiş ekstrenin antikanser potansiyelini değerlendirmektir. Beş kanser hücresi ve bir normal hücre serisinin hücre canlılığını değerlendirmek için MTT testi kullanılmıştır. Buna ek olarak, MiapaCa-2 insan pankreas kanseri (PC) hücrelerinde ekstrenin apoptotik indüksiyonu, hücre döngüsü faz dağılımı, DNA hasarı ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybı üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Ekstrenin hücre döngüsü fazı dağılımı ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybı üzerindeki etkileri sırasıyla propidium iyodür ve rodamin-123 DNA bağlayıcı floresan boyalar kullanılarak akış sitometrisi ile değerlendirilmiştir. Bir boyama maddesi olarak 4',6-diamidino-2-fenilindol kullanılan floresan mikroskopisi, MiapaCa-2 kanser hücrelerinin morfolojik değişikliklerini ve ekstre ile tedavi sonrasında apoptotik cisimlerin varlığını saptamak amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, *S. chinensis*'in polifenol bakımından zengin ekstresinin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde, A549 insan akciğer kanseri hücrelerinde, HCT-116 ve COLO 205 insan kolon kanseri hücrelerinde ve MiapaCa-2 insan pankreas kanseri hücrelerinde güçlü sitotoksik etkiye neden olduğunu göstermiştir. COLO 205 ve MCF-7 kanser hücre serileri büyüme inhibisyon oranı artış sergileyen ekstreyle tedaviye en duyarlı olanlar olarak görülmüştür. Floresan mikroskopisi, apoptozun karakteristik morfolojik özelliklerini ortaya çıkarmış ve PC hücrelerinde ekstre ile muameleden sonra apoptotik cisimlerin

görünümünü tespit etmiştir. Akış sitometrik analizi, ekstrenin G₀/G₁ hücre döngüsü durmasını doza bağlı bir şekilde tetiklediğini göstermiştir. Buna ek olarak, ekstre ile yapılan muamele, PC hücrelerinin mitokondriyal membran potansiyelinde önemli ve konsantrasyona bağlı bir azalmaya neden olmuştur (Zhao ve ark. 2015).

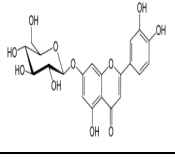
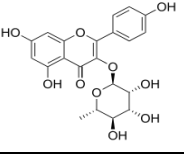
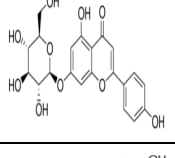
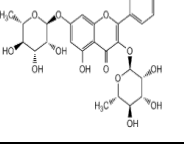
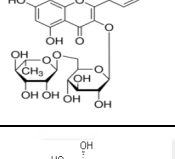
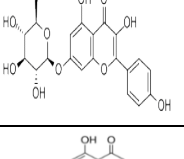
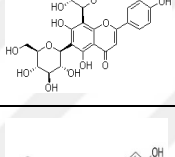
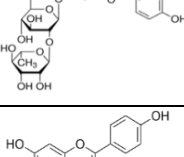
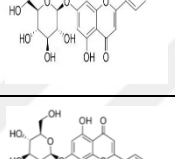
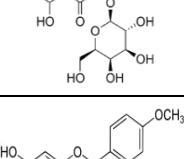
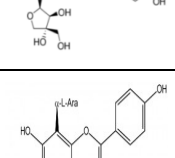
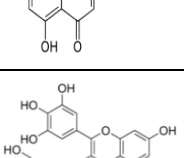
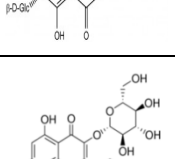
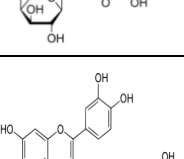
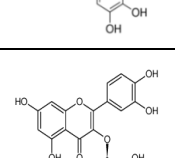
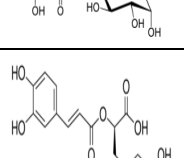
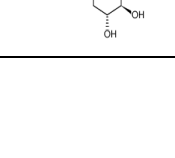
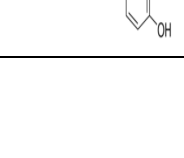
Genel olarak *Salvia* türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerin molekül formülleri ile yapı formülleri Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2. 1. *Salvia* türlerinden elde edilen bazı bileşiklerin molekül formülleri, isimleri ve yapı formülleri

Molekül Formülü	İsim	Yapı Formülü	Molekül Formülü	İsim	Yapı Formülü
$C_{20}H_{28}O_2$	Sugiol		$C_{20}H_{26}O_3$	Taksodion	
$C_{22}H_{34}O_7$	Forskalin		$C_{20}H_{26}O_4$	6-hidroksi salvinolon	
$C_{20}H_{24}O_2$	Kandidissiol		$C_{19}H_{18}O_3$	Tanşinon II-A	
$C_{16}H_{12}O_5$	Genkwamin		$C_{19}H_{20}O_3$	Kriptotaşinon	
$C_{18}H_{16}O_6$	Salvigenin		$C_{17}H_{14}O_6$	Sirsimaritin	
$C_{21}H_{20}O_{11}$	Astragalin		$C_{27}H_{32}O_{14}$	Naringin	
$C_{21}H_{20}O_{11}$	Luteolin 7-glukozit		$C_{17}H_{14}O_7$	Sirsiliol	
$C_{21}H_{20}O_{11}$	Orientin		$C_{21}H_{20}O_{11}$	Izoorientin	
$C_{27}H_{30}O_{15}$	Luteolin 7-rutinozıt		$C_{16}H_{12}O_6$	Diosmetin	

Çizelge 2. 2. *Salvia* türlerinden elde edilen bazı bileşiklerin molekül formülleri, isimleri ve yapı formülleri (devamı)

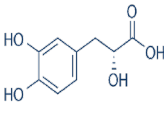
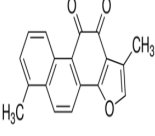
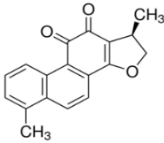
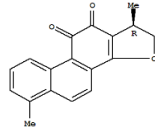
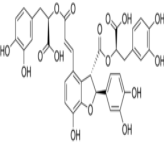
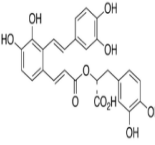
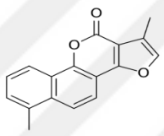
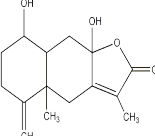
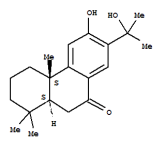
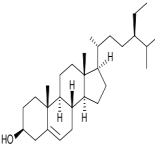
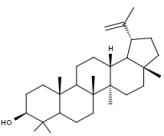
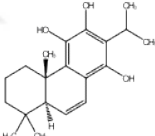
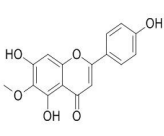
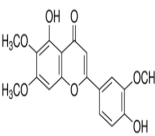
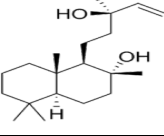
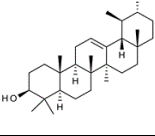
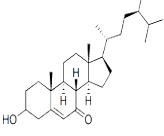
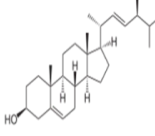
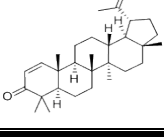
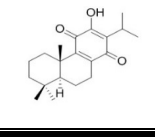
$C_{21}H_{20}O_{11}$	Sinarozit		$C_{21}H_{20}O_{10}$	Afzelin	
$C_{21}H_{20}O_{10}$	Apigenin 7-glukozit		$C_{27}H_{30}O_{14}$	Kaempferitrin	
$C_{27}H_{30}O_{15}$	Kemferol 3-O-β-rutinozid		$C_{21}H_{20}O_{11}$	Kemferol 7-O-glukozit	
$C_{27}H_{30}O_{15}$	Visenin-2		$C_{27}H_{30}O_{14}$	Apigenin 7-O-neohesperidozit	
$C_{21}H_{18}O_{11}$	Apigenin-7-glukuronit		$C_{21}H_{20}O_{11}$	Trifolin	
$C_{26}H_{28}O_{14}$	Apiin (Apigenin-7-(2-O-apiosilglukozit))		$C_{16}H_{12}O_5$	Akasetin	
$C_{26}H_{28}O_{14}$	Şaftozit (Apigenin 8-C-α-L-arabinozid 6-C-β-D-glukozit)		$C_{21}H_{20}O_{13}$	Mirisetin 3-O-β-D-Galaktopiranozit	
$C_{21}H_{20}O_{12}$	Kuersetin 3-β-D-glukozit		$C_{21}H_{20}O_{12}$	Hiperozid (Kuersetin 3-D-galaktozit)	
$C_{20}H_{18}O_{11}$	Mikvelianin (Kuersetin 3-glukuronit)		$C_{18}H_{16}O_8$	Rozmarinik asit	

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Çizelge 2. 3. *Salvia* türlerinden elde edilen bazı bileşiklerin molekül formülleri, isimleri ve yapı formülleri (devamı)

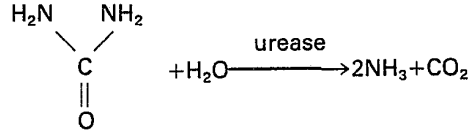
$C_{20}H_{18}O_{11}$	Reinutrin (Kuersetin-3-D-ksilozit)		$C_{30}H_{48}O_3$	Ursolik asit	
$C_{21}H_{20}O_{12}$	Mirisitrin		$C_{30}H_{48}O_3$	Oleanolik asit	
$C_{27}H_{30}O_{17}$	Kuersetin 3-O-(6''-O-malonil)-β-D-glukozit		$C_{17}H_{14}O_7$	Ramnazin (Kuersetin 3',7-dimetil eter)	
$C_{16}H_{12}O_7$	Ramnetin		$C_{21}H_{20}O_6$	Kurkumin	
$C_{21}H_{20}O_{11}$	Kuersitrin (Kuersetin 3-ramnozit)		$C_{15}H_{12}O_6$	Eriodiktol	
$C_{21}H_{20}O_{12}$	Izokuersitrin (Kuersetin 3-β-D-glukozit)		$C_{15}H_{10}O_5$	Genistein	
$C_{15}H_{24}O$	Spathulenol		$C_{15}H_{10}O_4$	Daidzein	
$C_{15}H_{14}O_6$	Kateşin		$C_{22}H_{18}O_{10}$	Epikateşin gallat	
$C_{15}H_{14}O_6$	Epikateşin		$C_{22}H_{18}O_{11}$	Epigallokateşin gallat	
$C_{30}H_{50}O$	Lupeol		$C_{30}H_{48}O$	Lupenon	

Çizelge 2. 4. *Salvia* türlerinden elde edilen bazı bileşiklerin molekül formülleri, isimleri ve yapı formülleri (devamı)

$C_9H_8O_5$	Danshensu		$C_{18}H_{12}O_3$	Tanşınon I	
$C_{18}H_{14}O_3$	Dihidrotanşınon I		$C_{18}H_{14}O_3$	15,16-Dihidrotanşınon I	
$C_{36}H_{30}O_{16}$	Salvianolik asit B		$C_{26}H_{22}O_{10}$	Salvianolik asit A	
$C_{17}H_{12}O_3$	Neo-tanşınlakton		$C_{15}H_{20}O_4$	İstanbulin D	
$C_{20}H_{28}O_3$	Hipargenin B		$C_{29}H_{50}O$	β -sitosterol	
$C_{20}H_{32}O$	Monoginol		$C_{20}H_{28}O_3$	Kriptanol	
$C_{16}H_{12}O_6$	Hispidulin		$C_{18}H_{16}O_7$	Sirsilineol	
$C_{20}H_{36}O_2$	Sklareol		$C_{30}H_{50}O$	α -Amyrin	
$C_{29}H_{48}O_2$	(3 β ,24S)-3-Hidroksistigmast-5-en-7-on		$C_{29}H_{48}O$	Stigmasterol	
$C_{30}H_{46}O$	Glokidon		$C_{20}H_{28}O_3$	Royleanon	

2.3. Üreaz

Üreaz enzimi (Üre amidohidrolaz; E.C. 3.5.1.5.), hidrolaz kategorisine giren, üreyi karbon dioksit ve amonyuma normal reaksiyonlara göre 1014 kat daha hızlı kataliz eden bir enzimdir (Kayastha ve Das 1999; Hirayama ve ark. 2000).



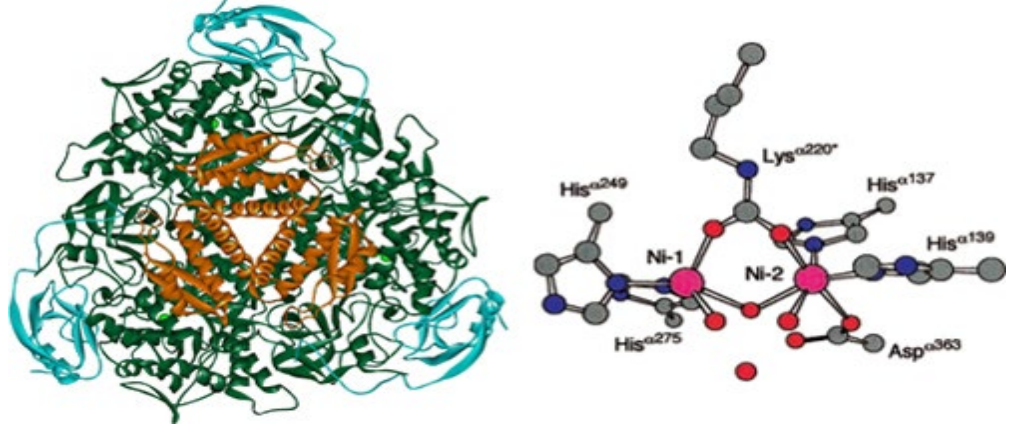
Şekil 2. 1. Üreaz reaksiyonu

Üreaz birçok bitki, lifli mantarlarda, alg, omurgasız ve bakterilerde bulunan bir enzimdir (Lubbers ve ark. 1996). Bilinen bütün üreazların amino asit dizilişleri yüksek derecede benzerlik gösteriyor olmasına rağmen bulunduğu kaynağa bağlı olarak üreaz enziminin bir, iki veya üç polipeptit zincirinden oluşmuş olabileceğini göstermektedir. Biyokimyasal açıdan ele alındığında en iyi karakterize edilen yeşil fasulye (*Canavalia ensiformis*) üreazıdır (Sirko ve Brodzik 2000).

Üreazın işlevi *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda oluşan üreyi hidroliz etmek ve oluşan ürünleri azot kaynağı olarak organizmanın kullanımına sunmaktır. Bu ürünlerden biri olan amonyum iyonu bitkiler ve toprak mikroorganizmaları tarafından alıkonup kullanılır. Bitkilerde üreaz muhtemelen savunma proteini olarak etki etmekte ve azot transport yollarına katılmaktadır (Mobley ve Hausinger 1989).

Üreaz üzerine yapılan biyokimyasal araştırmalar genellikle kristal yapısı (Blakeley ve Zerner 1984), aktif nikel merkezi (Burne ve Chen 2000) ve inhibitörleri üzerine odaklanmıştır (Andrews ve ark. 1986), (Otake ve ark. 1994). Üreaz ailesinde en çok kullanılan üreaz üyesi yeşil fasulye (*Canavalia ensiformis*) üreazıdır (Faye 1986; Follmer 2004).

Üreaz bilinmekte olan tek nikel içerikli hidrolazdır (Mulrooney 2005) ve 1 mM'lık EDTA içeren tampon çözeltileri ile yapılan enzim izolasyonlarında Ni^{+2} iyonlarının proteine sıkı bir şekilde bağlandıkları tespit edilmiştir (Mobley ve Hausinger 1989).



Şekil 2. 2. Üreaz enziminin üç boyutlu yapısı

Üreazın katalizi sonucunda birçok mekanizma önerisinde bulunulmuştur (Dixon ve ark. 1980; Ciurli ve ark. 1998). En çok kabul gören 1998 tarihinde Ciurli ve arkadaşları tarafından önerilmiş olan iki Ni^{+2} iyonunun farklı roller almaları üzerine olan yaklaşımdır. Bu iyonlardan bir tanesi üreyi bağlayarak aktive ederken, diğer Ni^{+2} iyonunu ise nukleofil olan suyu bağlayarak aktive eder (Ciurli ve ark. 1998).

2.4. Tirozinaz

Tirozinaz (EC 1.14.18.1, polifenol oksidaz), funguslarda, yüksek bitkilerde ve hayvanlarda bulunan, oksidaz ailesinden ve binükleer bakır içeren multifonksiyonel bir enzimdir (Şekil 2.3.). Melanin sentezinde iki farklı reaksiyonu (monofenollerin hidroksilasyonu ve *o*-difenollerin reaktif *o*-kinonlara oksidasyonu) katalizlemektedir.



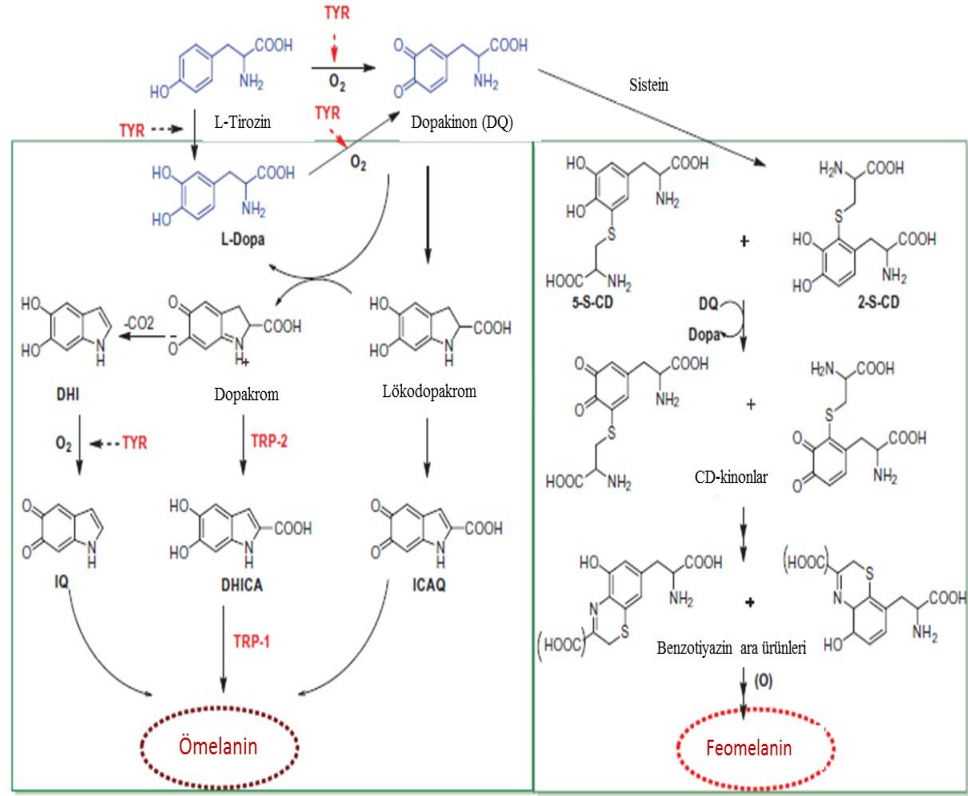
Şekil 2. 3. Tirozinaz enziminin üç boyutlu yapısı

Enzim 3 bölgeden oluşur ve merkez bölgesinde 2 adet bakır-bağlanma bölgesi (CU-A ve CU-B) bulunmaktadır. Enzimin aktif bölgesinde 6 adet histidin ünitesi bir çift

bakır iyonuna bağlanır ve bu yapı moleküler oksijen ve fenolik yapıdaki substrat ile etkileşir (Kim ve Uyama 2005), (Khan 2007), (Chang 2009).

Tirozinaz enzimiyle ilgili ilk biyokimyasal araştırmalar, 1895 yılında, kesildikten sonra hava ile temas edince önce kırmızı, sonra siyah renge dönen *Russula nigricans* adlı mantar türü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Enzim, birçok bitki ve hayvandan izole edilmiş veya kısmen saflaştırılmış olmasına karşın, çok azı yapısal olarak karakterize edilebilmiştir. Kimyasal yapıları en iyi şekilde karakterize edilen tirozinazlar *Streptomyces glaucescens*, *Neurospora crassa* ve *Agaricus bisporus*'tan (kültür mantarı) izole edilmiştir. *S. castaneoglobisporus*, *Bacillus megaterium* ve *A. bisporus*'dan elde edilen tirozinazların X-ışını kristalografisi ile kristal yapıları aydınlatılmış olup, insan tirozinazının X-ışını yapı aydınlatması henüz yapılmamıştır. *A. bisporus* mantarından izole edilen tirozinazın, memeli tirozinazı ile yüksek oranda homolog olması nedeniyle melanogenez çalışmalarına oldukça uygundur. Ticari olarak da kolayca temin edilebilir olması da, mantar kökenli tirozinazın enzim inhibisyonu çalışmalarında yaygın olarak kullanılmasına yol açmaktadır (Kim ve Uyama 2005), (Chang 2009), (Yoshimori ve ark. 2014).

Melanin pigmenti, “melanogenez” adı verilen kompleks bir süreç sonucunda sentezlenmektedir. Tirozinaz, melanin biyosentezindeki hız sınırlayıcı basamak olan, L-tirozinin 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin'e (L-DOPA) hidroksilasyonundan ve L-DOPA'nın dopakinona oksidasyonundan sorumludur. İnsanlarda dopakinonun siklizasyon ve oksidatif polimerizasyon gibi bir seri kompleks reaksiyon sonucu değişmesiyle melanin sentezlenmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2. 4. Melanogenez yolağı (Pillaiyar ve ark. 2017)

Melanogenez süreci, epidermiste yer alan melanositlerdeki “melanozom” adı verilen organellerde gerçekleşmektedir. Tirozinaz enzimi endoplazmik retikulum üzerinde bulunan melanozomal ribozomlar tarafından sentezlenir. Daha sonra glikolize olur ve inaktif formda melanozomlara taşınır. Melanogenez sonunda sentezlenen melaninin tipi, miktarı ve keratinositler etrafındaki dağılımı cildin gerçek tonunu belirler.

Melanin, güneş ışığından absorblanan UV radyasyondan cildi korumakta ve serbest oksijen radikallerini yok etmektedir. İnsan cildinde melanin fotoprotektif etki göstermesine karşın; aşırı üretimi veya düzensiz dağılımı söz konusu olduğunda hiperpigmentasyona neden olması istenmeyen bir durumdur. Melanin birikimi; hiperpigmentasyon ve melazma (güneş lekeleri), yaşa bağlı lekeler ve aktinik rahatsızlıklar gibi çeşitli dermatolojik rahatsızlıklara neden olmaktadır. Dolayısıyla tirozinaz enziminin inhibisyonu ile hiperpigmentasyon ve benzer cilt rahatsızlıklarının önlenmesi mümkün olabilmektedir ve kozmetik sektöründe tirozinaz inhibitörleri özellikle cilt beyazlatıcı (skin whitening / skin bleaching) veya leke açıcı (depigmentan)

ürünlerin bileşiminde sıklıkla yer almaktadır (Lin ve Fisher 2007), (Parvez ve ark. 2007), (Gillbro ve Olsson 2011), (Chang 2012).

Tirozinaz; inhibitörlerinin cilt beyazlatıcı etkilerinin ve dopamin nörotoksitesinin azaltılmasındaki potansiyel etkilerinin yanısıra, insektisit ilaçların geliştirilmesinde de hedef enzim durumundadır. Zira böceklerin melanogenez, parazit enkapsülasyonu ve skleritizasyon gibi normal gelişim sürecinde yer alan bir enzim olduğu için, inaktive edilmesi ile böceklere karşı öldürücü bir etki gözlenebilmektedir (Kubo ve ark. 2003), (Zhou ve ark. 2009), (Pan ve ark. 2011).

2.5. Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (LC-MS) Teknikleri

Kütle spektrometresi (MS) organik, organometalik ve biyoorganik bileşiklerin doğrulanması, yapı aydınlatılması ve miktar tayini için adli tıp, çevre, farmasötik, gıda ve diğer bilimsel alanlarda sık sık kullanılmaktadır. Bilinmeyen maddelerin yapılarının tayin edilmesi ve doğrulanması için yaygın olarak MS dedektörleri kullanılmaktadır (Watson ve Sparkman 2007), (Chiu ve Muddiman 2008).

2.6. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS) Teknikleri

Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS) yönteminde, bileşiklerin yapı aydınlatılmasında iki yöntem (kromatografi ve spektroskopi) bir arada kullanılır. GC/MS yöntemi pek çok alanda (sağlık, gıda, kozmetik vb.) analiz için kullanılmakta ve hem kalitatif hem de kantitatif sonuçlar alınabilmektedir. Özellikle bilinmeyen numuneye ait içerik analizlerinde etkin kullanımı vardır. GC/MS ile bir maddedeki en küçük miktarlardaki bileşenlerin bile yapısı aydınlatılabilir.

Gaz kromatografisinde sabit faz maddesi ince bir kolon içerisine emdirilir. Hareketli fazda helyum gibi inert gazlar kullanılır. Yöntemde ayrıştırılacak madde cihazda gaz hale getirilir ve hareketli faz yardımıyla kolon içerisine itilir. Bileşikler özelliklerine göre sabit fazda farklı sürelerde tutunur ve bu sayede birbirlerinden ayrılır.

Algılanması istenen bileşenlere bağlı olarak geliştirilmiş çok çeşitli gaz kromatografisi dedektörü vardır. Genelde analizler yapılırken FID (alev iyonizasyon dedektörü) dedektör sistemi olan cihazlar (GC-MS-FID) kullanılır.

En çok tercih edilen dedektör tipi kararlılığı ve denemelerdeki tekrarlanabilirliğinin yüksek oluşu nedeniyle FID'dır. En çok kullanılan dedektör olması yüksek hassasiyetinden ve stabilitesinden kaynaklıdır. Kütle akış hızına duyarlıdır. Organik maddeler kolondan çıkar, hidrojen alevinde yakılıp iyonlaştırılır ve oluşan pozitif iyonlar dedektörde akım değişikliğine sebep olur. Birim zamanda alevden geçen karbon miktarı ile oluşan akım doğru orantılıdır. C-H bağı içeren bütün bileşiklere duyarlı iken sadece kükürt bileşikleri, amonyak, su ve azot oksitlerine karşı duyarsızdır. FID dedektörü kullanarak metan, etan, propan, bütan, n-bütan, pentan, n-pentan ve C8 kadar olan diğer hidrokarbon gazlarının miktarı ve bileşimi yüksek hassasiyetle belirlenebilmektedir.

GC/MS yönteminin işleyişi ise şu şekildedir: numune cihaza bir enjeksiyon bölmesi üzerinden verilir ve burada buharlaştırılır. Hareketli faz olarak kullanılan inert gaz yardımıyla kolona gönderilir. Numunedeki maddeler kolon içindeki sabit fazda özelliklerine göre çeşitli sürelerde tutunurlar. Bu tutulma süresi alıkonma süresi (RT-retention time) olarak adlandırılır. Molekül ağırlığı küçük ve uçucu olan moleküller sabit fazda daha az tutunurlar. Kolon ısısının artmasıyla tutunan bileşikler uçuculuklarına göre gaz haline geçer ve taşıyıcı gaz yardımıyla kolonda taşınarak kütle spektrometresine gelirler. Bu kısımda bir filamentten elektronlarla bombardıman yapılır. Bu olaya elektron iyonlaştırması (EI) denir. Bu sayede oluşan iyonlar, kütle/yük oranlarına göre dedektörde kaydedilir. Elde edilen veriler spektrum olarak sunulur. Bu spektrumların değerlendirilmesi ve veri tabanlarındaki bileşiklerle karşılaştırılması ile bileşikler aydınlatılır (Dickens 1999).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

15 Temmuz 2015 tarihinde Hakkari iline *S. siirtica* Kahraman, Celep & Doğan bitkisi için arazi çalışması yapıldı. *S. siirtica* bitki örnekleri "C9 Hakkari, Meskan dağı, Ağaçlık meşelik alanlardan, 1456 m, 37°29'47" N, 43°31'36" E koordinatlarından, 15 Temmuz 2015 tarihinde, bitkiden 5 kg toplanarak gölgede kurutuldu ve herbaryum örnekleri M.Fırat dubletleri ile Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumuna (*M. Fırat 32599*) konuldu. 2016 ve 2017 yıllarında da aynı lokaliteden örnekler (200 gram) toplandı.

Çizelge 3. 1. *S. siirtica* Kahraman, Celep & Doğan türünün toplanma yerleri, toplanma zamanları ve herbaryum numaraları

	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
<i>S. siirtica</i> Kahraman, Celep & Doğan	C9 Hakkâri, Meskan dağı, Ağaçlık meşelik alanlar, 1456 m, 37°29'47" N, 43°31'36" E	15 Temmuz 2015	M. Fırat 32599 (VANF)
<i>S. siirtica</i> Kahraman, Celep & Doğan	C9 Hakkâri, Meskan dağı, Ağaçlık meşelik alanlar, 1456 m, 37°29'47" N, 43°31'36" E	11 Haziran 2016	M. Fırat 32734 (VANF)
<i>S. siirtica</i> Kahraman, Celep & Doğan	C9 Hakkâri, Meskan dağı, Ağaçlık meşelik alanlar, 1456 m, 37°29'47" N, 43°31'36" E	8 Haziran 2017	M. Fırat 33860 (VANF)

3.2. Ekstrelerin Hazırlanışı

3.2.1. Sekonder Metabolitler İçin Ekstrelerin Hazırlanması

S. siirtica'nın toprak üstü kısımları ve kök kısmı birbirinden ayrılıp gölgede kurutulduktan sonra bitki değirmeninde öğütüldü. Küçük parçalara ayrılan *S. siirtica* toprak üstü (1000.00 g) ve kök (191.70 g) kısımları önce oda sıcaklığında kloroform ile (5günx5 defa), sonrasında oda sıcaklığında etanol ile (5günx5 defa) masere edildi. Çözücüler rotary evaporatörde uçurulduktan sonra ham ekstreler elde edildi. Bitkinin toprak üstü kısmından 101.30 g etanol ve 56.45 g kloroform ekstreleri elde edildi. Bitkinin kök kısmından ise 11.63 g etanol ve 3.85 g kloroform ekstreleri elde edildi. Ekstreler hazırlandıktan sonra izlenen izolasyon aşamaları Şekil 3.1.'de verilmiştir.

3.2.2. LC-MS/MS İçin Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması

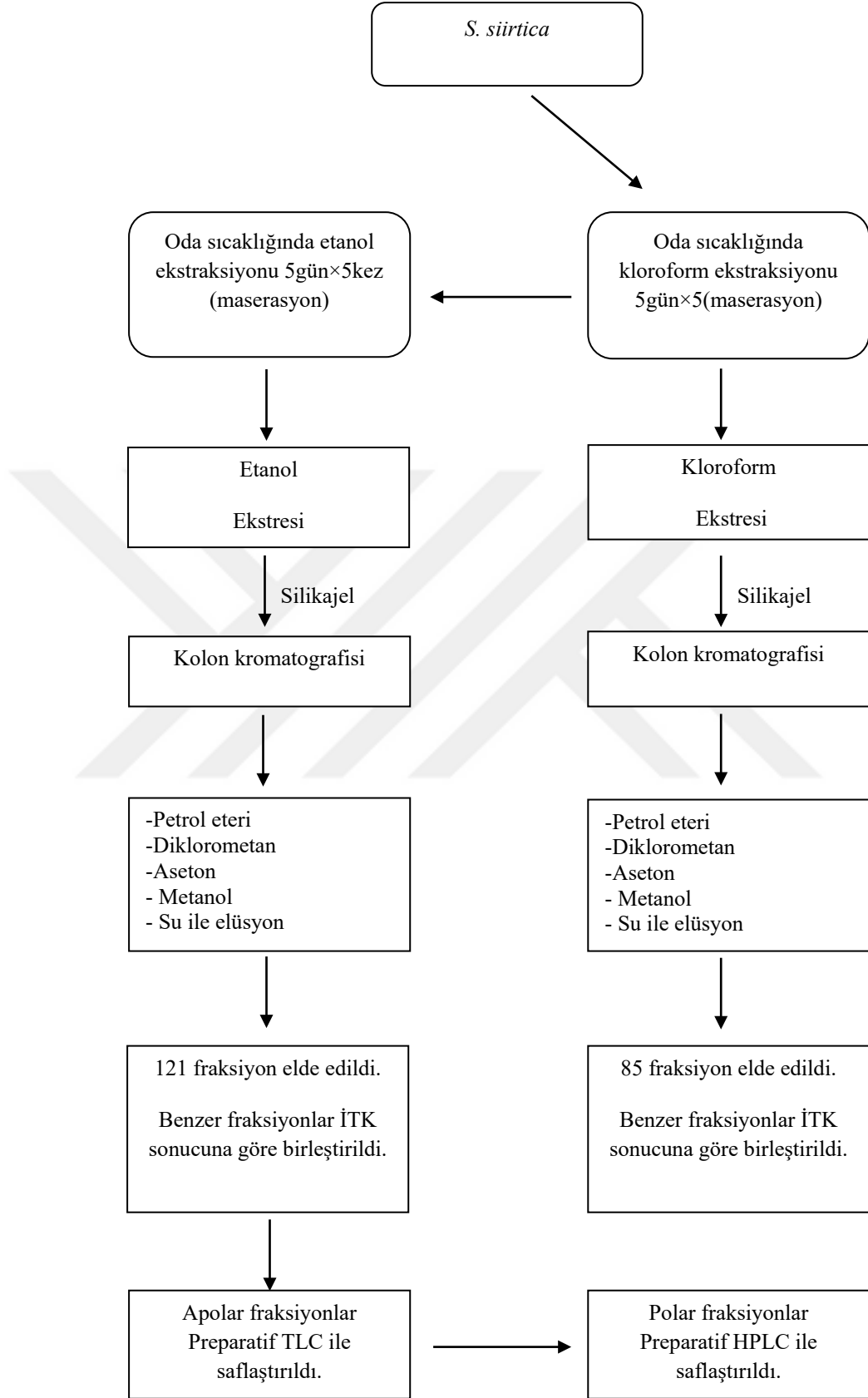
Kurutulmuş *S. siirtica*'nın kök, dal, yaprak, iek ve karışık kısımları etanol ile 5günx5 kez masere edilip, zcler rotary evaporatörde uçurularak ham ekstreler elde edildi.

3.2.3. Yağ Asidi İçin Petrol Eteri Ekstresinin Hazırlanması

S. siirtica'nın tüm kısımları gölgede kurutularak toz haline getirildi. Petrol eteri ile 5günx5 kez masere edildikten sonra zcler rotary evaporatörde uçuruldu ve ham ekstreler elde edildi.

3.2.4. n Biyolojik Aktiviteler İçin Ekstrelerin Hazırlanması

S. siirtica'nın tüm kısımları gölgede kurutularak toz haline getirildi. Kloroform ve etanol ile 5günx5 kez masere edilerek ham ekstreler hazırlandı.



Şekil 3. 1. *S. siirtica* türünün saflaştırma çalışmalarında kullanılan etanol ve kloroform ekstratlarının hazırlanması ve fraksiyonlandırılması

3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

3.3.1. Toplam Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton 1977).

$$\text{Absorbans} = 0,0413(\mu\text{g}) + 0,044 \quad (R^2 = 0,9958)$$

3.3.2. Toplam Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan ekstrelerin toplam flavonoit içerikleri kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi (Moreno ve ark. 2000).

$$\text{Absorbans} = 0,0362(\mu\text{g}) + 0,0172 \quad (R^2 = 0,9975)$$

3.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Hazırlanan ekstrelerin ve saf maddelerin antioksidan aktivite tayini β -karoten-linoleik asit renk açılım yöntemi (Miller 1971), DPPH serbest radikal giderim yöntemi (Blois 1958), ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Re ve ark. 1999) ve CUPRAC yöntemi (Apak ve ark. 2004) ile yapıldı.

3.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri

3.5.1. AChE ve BchE Aktivite Testleri

Örneklerin asetil- ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemi kullanılarak tespit edildi (Ellman ve ark. 1961). Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak asetilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise asetiltiyokolin iyodür kullanıldı. Butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise butiriltiyokolin iyodür kullanıldı.

3.6. Antiürez Enzim Aktivitesi

Ürez inhibisyon aktivitesi için enzim olarak ürez kullanıldı (Hina ve ark. 2015).

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

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.7. Antitirozinaz Enzim Aktivitesi

Tirozinaz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak tirozinaz kullanıldı (Hearing ve ark. 1987).

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

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.8. Kimyasal İçerik Tayinleri

3.8.1. LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi

S. siirtica ekstreleri için 37 bileşiğin kalitatif ve kantitatif analizinde daha önce grubumuz tarafından valide edilen metot kullanılmış olup Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezindeki (DÜBTAM) Shimadzu marka LC-MS/MS cihazı kullanıldı (Yılmaz 2015).

3.8.2. HPLC-IT-TOF-MS ile Kimyasal İçeriğin Taranması

3.8.2.1. HPLC-IT-TOF-MS Çalışma Şartları

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

HPLC çıkışından gelen sıvı kütle spektrometre girişindeki hem pozitif hem de negatif modda çalışan elektrosprey iyonlaştırma kaynağına (ESI) oradan da hibrit IT-TOF sistemine girmektedir. Çalışılan kütle aralığı 100-1000 (m/z) olarak belirlendi. Nebülizer gaz olarak 1.5 L/dk akış hızında N₂ kullanıldı. Arayüz (interface) ve dedektör

voltajları sırasıyla 4.5 kV ve 1.61 kV olarak belirlendi. CDL ve heat block sıcaklıklar ise 200°C olarak ayarlandı. MS1 spektrumları alındı ve iyon birikme zamanı 30 milisaniye olarak seçildi.

3.8.3. GC-MS/MS ile Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi

100 mg ekstre alınarak bazik ortamda KOH ile metil esterlerine çevrilerek Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DÜBTAM) bulunan Shimadzu marka GC-MS ile yağ asidi içerikleri tespit edildi (Kılıç ve ark. 2007).

3.9. Kromatografik Yöntemler

3.9.1. Kolon Kromatografisi

Ekstreleri fraksiyonlandırmak ve bu fraksiyonlardan saf madde elde etmek için yöntem olarak kolon kromatografisi kullanıldı. Sephadex LH-20 ve silikajel (Merck 1.07734) sütun dolgu maddesi olarak kullanıldı. Çok az miktarda ve uygun olan bir çözücüde çözülen ekstreler adsorban madde ile karıştırılarak kuruması için oda sıcaklığında bekletildi. Karışım kuruduktan sonra kolonun dip kısmına az bir miktarda pamuk yerleştirildi. Ekstrenin miktarına uygun olacak şekilde seçilen kolona ebatının 2/3'ü kadar silikajel dolduruldu ve ekstre kolonun en üstüne yerleştirildi. Apolar çözücü olan % 100 petrol eteri ile elüsyona başlandı. Polarite arttırılarak sırayla diklorometan, aseton ve metanol ile elüsyon işlemi sürdürüldü. En son % 100 metanol ile elüsyon işlemi bitirildi. Birbirine benzeyen fraksiyonlar İTK yapılarak birleştirildi. Saflaştırma işlemi için küçük boyutlardaki sütunlarla çalışmaya devam edildi ve adsorban madde olarak silika jel ile birlikte Sephadex LH-20 kullanıldı.

Sephadeks LH-20 ile hazırlanan sütunlarda karışımın polaritesine göre karar verilen iki farklı çözücü sistemi kullanıldı. Apolar özellikteki fraksiyonlarda 7:4:1 oranında hazırlanan hekzan:kloroform:metanol çözücü sistemi kullanılırken, polar özellikteki fraksiyonlarda %100 metanol kullanıldı. Fraksiyonlar önce sütunda kullanılan çözücü sisteminde çözülüp daha sonra sıvı Sephadeks LH-20 ile doldurulmuş sütunun üst kısmına eklendi.

Fraksiyonlar, sütunda kullanılacak çözücü sisteminde çözülerek sıvı halde Sephadex LH-20 ile doldurulmuş sütunun üst kısmına ilave edildi. Benzer fraksiyonlar İTK yapılarak birleştirildi.

3.9.2. İnce Tabaka Kromatografisi

İTK’de alüminyum üzerine silikajel kaplanmış olan hazır plaklardan (Merck 1.05554 / 20 x 20 cm) faydalanıldı. Maddeler tatbik edildikten sonra uygun olan çözücü sistemlerinde yürütüldü. Plak üzerinde meydana gelen lekeler, UV ışık yardımıyla işaretlendi. Plakaya serik sülfat belirteci püskürtüldü ve 105 °C’ye ayarlanan etüvde 5 dakika bekletilip lekeler iyice belirginleştirildi. Sonuç olarak maddeler birbirinden farklı Rf değerleri sebebiyle ayrılmış oldu.

Preparatif İTK yöntemi ayrılması istenen maddeyi az miktardaki karışımlardan elde etmek için yapıldı. Plaklara belli bir başlangıç çizgisi belirlendi ve çizginin tamamına karışım tatbik edildi. Sonrasında maddelerin ayrılmasını sağlayacak uygun bir çözücü sisteminde yürütme işlemi yapıldı. Farklı maddeler birbirinden ayrılan çizgiler halinde UV ışık altında belirlendi. Ayrılan çizgiler kesilip numaralandırılan erlenlere küçük parçalar halinde aktarıldı. Üzerlerine uygun çözücüler eklendi ve bir süre bekletildikten sonra süzüldü. En sonunda çözücüleri uçurulup maddeler saf halde elde edildi.

3.10. Spektroskopik Yöntemler

3.10.1. IR (Infrared) Spektroskopisi

Thermo FTIR Nicolet 6700 cihazında çalışıldı.

3.10.2. NMR (Nükleer Magnetik Rezonans) Spektroskopisi

Kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin ¹H NMR, ¹³C NMR, HMBC, HMQC spektrumları alındı. Referans olarak tetrametilsilan (TMS) ve çözücü olarak döterokloroform (CDCl₃) ve döterometanol (CD₃OD) kullanıldı.

3.10.3. Kütle Spektroskopisi

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

3.11. İstatistiksel Hesaplamalar

Antioksidan, antikolinesteraz, üreaz ve tirozinaz aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalaması \pm standart sapması olarak verildi. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu. Paralel lmler arasında anlamlı bir fark görülmedi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, *S. siirtica*'nın toprak üstü ve köklerinden ayrı ayrı hazırlanan etanol ve kloroform ekstralarının antioksidan aktivite tayinleri; başlıca dört yöntem olan DPPH serbest radikal giderim yöntemi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi, CUPRAC yöntemi ve β -karoten renk açılım yöntemleriyle yapıldı. Antikolinesteraz aktivite tayinleri ise asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzimlerine karşı Ellman metodu ile yapıldı. Tüm ekstraların toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Daha sonra bu ekstraların üreaz ve tirozinaz enzim aktiviteleri tespit edildi. Ayrıca toprak üstü ve köklerin etanol ekstralarından 21 sekonder metabolit izole edildi, saflaştırılan bu bileşiklerin yapıları IR, 1D- ve 2D-NMR ile kütle spektroskopik yöntemleriyle belirlendi. Yapısı belirlenen bileşiklerin antioksidan, antikolinesteraz, tirozinaz ve üreaz aktiviteleri de belirlendi.

4.1. Ekstrelerin Verimi

Aşağıdaki tablolarda kuru toz halindeki bitki örneklerinin ve bunlardan hazırlanan ekstraların miktarları ve % verimleri verilmiştir (Çizelge 4.1-4.4.). Çalışılan türün karışık kısımlarının etanol ve kloroform ekstralarının yüzde verimlerinin birbirlerine yakın olduğu belirlendi (Çizelge 4.1.). LC-MS/MS ile fenolik madde analizi için *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstraları içinde çiçek kısımlarından hazırlanan ekstrenin yüzde veriminin (%17.78) en yüksek olduğu tespit edildi (Çizelge 4.2.). İzolasyon çalışmaları için hazırlanan ekstralar için toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin yüzde veriminin (%10.13) en yüksek olduğu belirlendi (Çizelge 4.3.). 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan örneklerin petrol eteri ekstraları hazırlandı. Bu ekstraların yüzde verimlerinin çok yakın olduğu tespit edildi (Çizelge 4.4.).

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4. 1. Ön biyolojik aktivite deneylerinde kullanılacak *S. siirtica*'nın karışık kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri

Tür	Kodu	Kuru Miktar (g)	Ekstre (g)	% Verim
<i>S. siirtica</i> (Karışık-Etanol)	SS-KE	33.04	1.24	3.76
<i>S. siirtica</i> (Karışık-Kloroform)	SS-KK	24.54	0.81	3.29

Çizelge 4. 2. LC-MS/MS ile fenolik madde analizi için kullanılacak *S. siirtica* 'nın çiçek, yaprak, dal ve kök kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri

Tür	Kodu	Kuru Miktar (g)	Ekstre (g)	% Verim
<i>S. siirtica</i> (Çiçek)	SS-Ç	11.51	2.05	17.78
<i>S. siirtica</i> (Yaprak)	SS-Y	15.32	1.56	10.16
<i>S. siirtica</i> (Dal)	SS-D	17.17	1.33	7.76
<i>S. siirtica</i> (Kök)	SS-K	31.82	0.86	2.71

Çizelge 4. 3. İzolasyon çalışmaları için kullanılacak *S.siirtica* 'nın toprak üstü ve kök kısımlarının kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri

Tür	Kodu	Kuru Miktar (g)	Ekstre (g)	% Verim
<i>S. siirtica</i> (T.Ü-Etanol)	SS-TÜE	1000.00	101.30	10.13
<i>S. siirtica</i> (Kök-Etanol)	SS-KE	191.70	11.63	6.06
<i>S. siirtica</i> (T.Ü-Kloroform)	SS-TÜK	1000.00	56.45	5.64
<i>S. siirtica</i> (Kök-Kloroform)	SS-KK	191.00	7.73	4.04

Çizelge 4. 4. Yağ asidi analizi için kullanılacak *S.siirtica*'nın tüm kısımlarının karışımından elde edilen kuru bitki ve ekstre miktarları ile % verimleri

Tür	Kodu	Kuru Miktar (g)	Ekstre (g)	% Verim 2015/2016/2017
<i>S. siirtica</i>	SS-PE	50.00	1.46	2.66/2.92/2.54

4.2. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Sonuçları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Çalışılan *S. siirtica*'nın çeşitli

kısımlarının farklı ekstralarının toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları Çizelge 4.5.'te verilmiştir. Hazırlanan ana ekstralar içinde etanol ekstresinin kloroform ve petrol eteri ekstralarından daha yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edildi. Flavonoit içerik bakımından ise kloroform ekstresinin daha zengin olduğu belirlendi. Bu yüzden bu türdeki fenolik bileşiklerin polar, flavonoitlerin ise daha çok apolar özellikte olduğu söylenebilir. *S. siirtica*'nın farklı kısımlarının etanol ekstralarının yaprak kısımlarından hazırlanan ekstrenin hem fenolik içerik hem de flavonoit içerik bakımından daha zengin olduğu belirlendi (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4. 5. Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktar sonuçları^a

Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı (µg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre ^b	Toplam Flavonoit Miktarı (µg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre ^c
SS-PE	71.75±2.00	46.57±2.19
SS-KK	84.46±0.01	68.88±1.40
SS-KE	120.23±2.00	26.39±2.04
SS-K	138.14±8.47	24.01±0.82
SS-D	78.81±0.01	20.41±0.54
SS-Y	152.26±15.98	44.83±0.90
SS-Ç	105.65±2.00	42.42±0.36

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

b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik ($y=0,0413x + 0,044$ $R^2=0,9958$)

c: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik ($y=0,0362x + 0,0172$ $R^2=0,9975$)

4.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

Hazırlanan tüm ekstraların 4 farklı yöntemle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Çizelge 4.6.). Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α -Toc ve BHT kullanıldı. β -Karoten-linoleik asit yönteminde petrol eteri, kloroform ve etanol ekstralarının IC₅₀ değerleri yakın olmakla beraber etanol ekstresinin daha aktif olduğu (IC₅₀: 76.60±0.38) tespit edildi. Hazırlanan etanol ekstraları kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise kök kısımlarından hazırlanan ekstrenin daha aktif olduğu (IC₅₀: 11.78±0.38) belirlendi. DPPH serbest radikal giderim yönteminde ana ekstralar içinde sadece etanol ekstresinin aktif olduğu (IC₅₀: 108.08±1.55) tespit edildi. *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstraları içinden ise kök ekstralarının en aktif

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

olduğu (IC₅₀: 37.20±0.99), ABTS katyon radikal giderim yönteminde ise ana ekstraler içinde petrol eteri ve etanol ekstralarının aktif olduğu, etanol ekstraları içinden ise yine kök ekstresinin oldukça aktif olduğu belirlendi (IC₅₀: 25.15±0.30).

Çizelge 4. 6. *S. siirtica*'nın β-karoten-linoleik asit, DPPH ve ABTS aktivite sonuçları

Örnek	IC ₅₀ değerleri*		
	β-Karoten-linoleik asit	DPPH	ABTS
SS-PE	112.26±2.27	>1000	68.26±0.49
SS-KK	109.99±1.31	>1000	>1000
SS-KE	76.60±0.38	108.08±1.55	53.29±21.52
SS-K	11.78±0.38	37.20±0.99	25.15±0.30
SS-D	68.97±0.19	165.66±2.19	34.51±1.77
SS-Y	102.07±3.61	60.18±1.49	46.54±0.89
SS-Ç	333.62±9.22	86.96±0.17	67.09±0.46
BHA	1.50±0.01	7.88±0.20	17.59±0.10
α-TOC	2.10±0.10	16.30±0.79	9.74±0.42
BHT	1.30±0.03	58.86±0.50	13.25±0.27

*Sonuçlar 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir

Çalışılan *S. siirtica*'nın çeşitli ekstralarının CUPRAC aktivite sonuçları Çizelge 4.7.'de absorbans değerleri olarak verilmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde etanol ekstralarının petrol eteri ve kloroform ekstralarına göre çok daha aktif olduğu belirlendi. Etanol ekstraları içinden ise kök ve yaprak kısımlarından hazırlanan ekstraların daha aktif olduğu tespit edildi. Ayrıca etanol ekstralarından kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHA'dan daha aktif olduğu tespit edildi. Hazırlanan etanol ekstresi daha aktif olduğundan saf madde izolasyonu için bu ekstre tercih edildi.

Çizelge 4. 7. CUPRAC Aktivite sonuçları^{a,b}

Örnek	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100µg/mL
SS-PE	0.115±0.005	0.179±0.005	0.292±0.021	0.444±0.033
SS-KK	0.115±0.006	0.195±0.004	0.307±0.018	0.525±0.018
SS-KE	0.139±0.020	0.246±0.012	0.358±0.034	0.625±0.015
SS-K	0.213±0.029	0.370±0.040	0.668±0.029	1.465±0.052
SS-D	0.117±0.012	0.176±0.005	0.252±0.004	0.400±0.015
SS-Y	0.204±0.030	0.366±0.044	0.591±0.032	1.130±0.011
SS-Ç	0.196±0.022	0.321±0.065	0.460±0.024	0.832±0.061
BHT	0.605±0.086	1.344±0.035	2.256±0.042	3.587±0.007
BHA	0.205±0.014	0.365±0.027	0.616±0.029	1.171±0.110
α-TOC	0.305±0.023	0.746±0.057	1.528±0.068	1.940±0.066

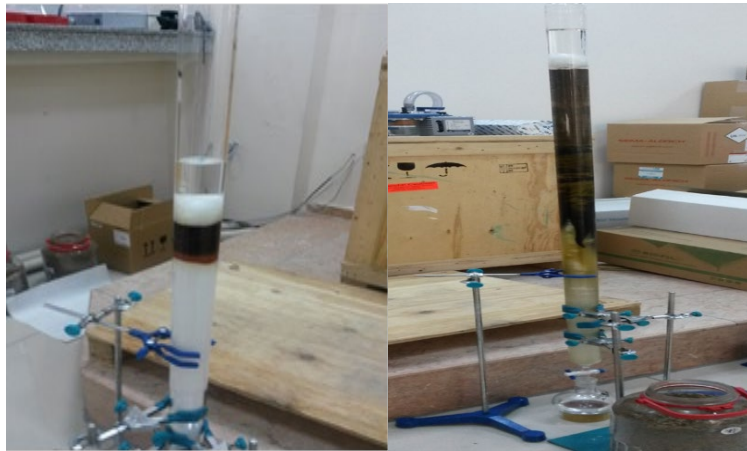
^aSonuçlar absorbans değeri olarak verilmiştir

^bSonuçlar 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir

4.4. Etanol Ekstrelerinin Fraksiyonlandırılması

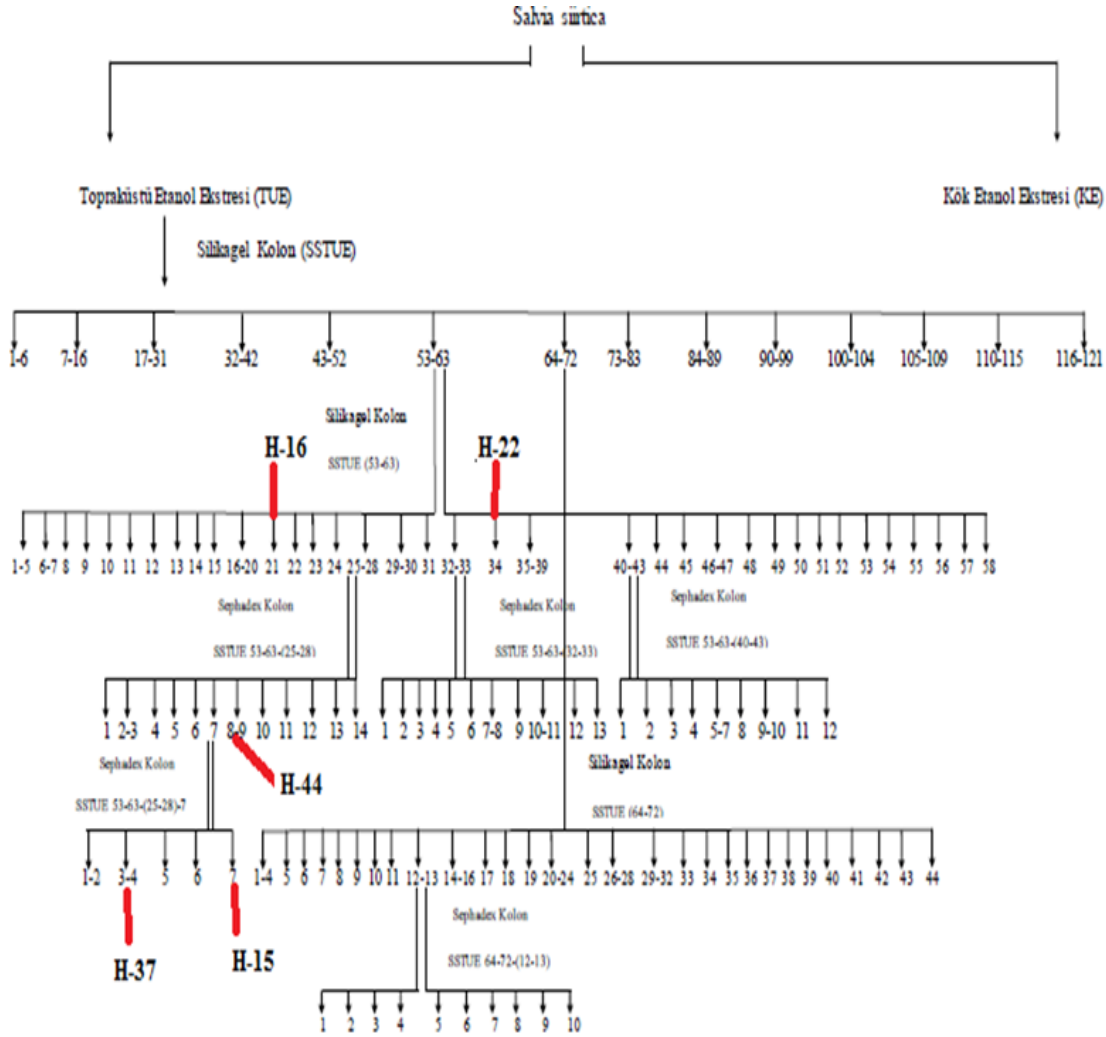
4.4.1. *S. siirtica*'nın Toprak Üstü Kısımının Etanol Ekstresinin (SSTÜE) Fraksiyonlandırılması

S. siirtica'nın toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra oda sıcaklığında 5 kez etanol ile masere edilerek 101.30 g ekstre elde edildi. Etanol ekstresi kurutulduktan sonra silikajelin adsorban olarak kullanıldığı bir kolon üzerinden fraksiyonlandırıldı (Şekil 4.1.).



Şekil 4. 1. *S. siirtica*'nın toprak üstü etanol ekstresinin kolonu

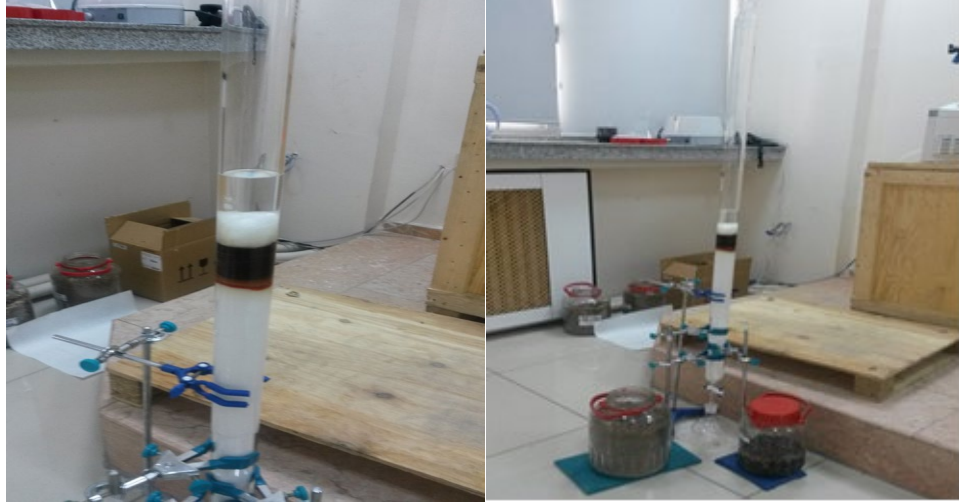
Elüsyona %100 petrol eteri ile başlanarak ve polariteyi belli oranda arttırarak %100 diklorometana; diklorometandan yine polarite arttırılarak %100 asetona ardından %100 metanole kadar ve son olarak %1 suya kadar devam edildi. İTK yapılarak benzer fraksiyonların birleştirilmesi ile toplam olarak 14 fraksiyon (her biri için ortalama 3 L çözücü kullanılarak) elde edildi (Çizelge 4.8.). Bu fraksiyonlar da miktarlarına göre silikajel kolon veya Sephadex kolon ile alt fraksiyonlara ayrıldı (Şekil 4.2.).



Şekil 4. 2. *S. siirtica*'nın toprak üstü etanol ekstresinin fraksiyonlandırılması

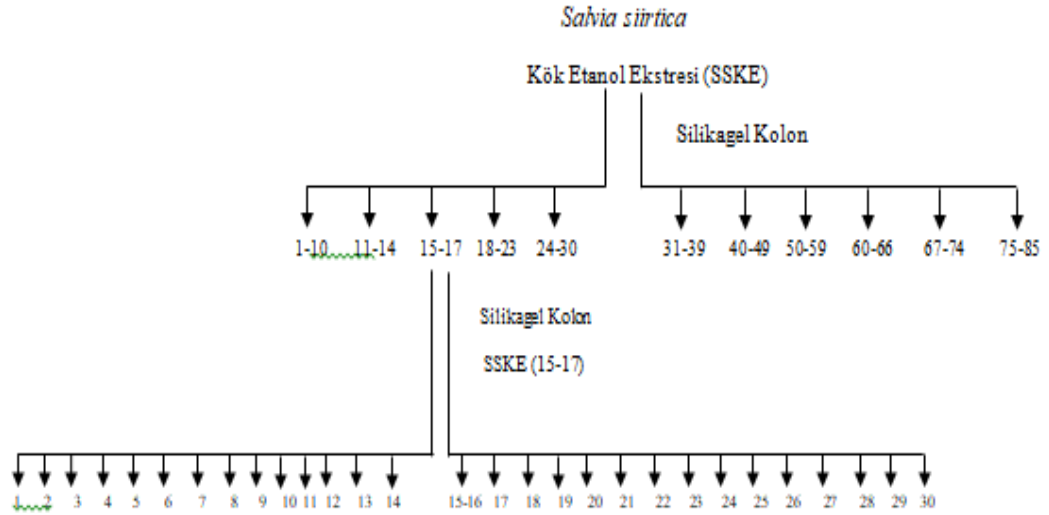
4.4.2. *S. siirtica*'nın Köklerinin Etanol Ekstresinin (SSKE) Fraksiyonlandırılması

S. siirtica'nın köklerinden hazırlanan etanol ekstresi çözücüsü uçurulduktan sonra silikajel kolonda fraksiyonlandırıldı (Şekil 4.3.).



Şekil 4. 3. *S. siirtica*'nın köklerinin etanol ekstresinin kolonu

Elüsyona apolar bir çözücü olan %100 petrol eteri ile başlandı ve polarite belli oranda arttırılarak sırasıyla diklorometan, aseton, metanol ve %10 suya kadar devam edildi. İTK sonuçlarına göre benzer fraksiyonların birleştirilmesi sonucu 11 fraksiyon elde edildi (Çizelge 4.8.). Bu fraksiyonlar da miktarlarına göre silikajel kolon veya sefadeks kolon ile alt fraksiyonlara ayrıldı (Şekil 4.4.).



Şekil 4. 4. *S. siirtica*'nın köklerinin etanol ekstresinin fraksiyonlandırılması

4.5. Ana Fraksiyonların Antioksidan Aktivite Sonuçları

S. siirtica'nın toprak üstü kısmının etanol ekstresinden 121, köklerinin etanol ekstresinden 85 fraksiyon elde edildi. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına

göre benzer fraksiyonlar birleştirilerek toprak üstü kısmının etanol ekstresinden toplamda 14, köklerinin etanol ekstresinden 11 fraksiyon elde edildi. Ana fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9.). Tüm antioksidan aktivite tayin yöntemlerinde standart olarak α -Toc ve BHT kullanıldı. Toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen 14 fraksiyon içinden SS-TÜE 73-83 fraksiyonunun DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemlerinde en aktif fraksiyon olduğu belirlendi. Köklerden hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen 11 fraksiyon içinden SSKE 50-59 fraksiyonunun daha aktif olduğu tespit edildi. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yönteminde *S. siirtica* bitkisinin toprak üstü kısmının etanol ekstresinin 73-83, 84-89, 116-121 numaralı fraksiyonları standart olarak kullanılan BHT'den daha iyi aktivite gösterdikleri belirlendi. ABTS katyon radikali giderim aktivitesinde ise toprak üstü kısmının etanol ekstresinin 73-83 ile köklerinin etanol ekstresinin 50-59 fraksiyonu her iki standarttan, toprak üstü kısmının etanol ekstresinin 84-89, 116-121 ile köklerin etanol ekstresinin 15-7, 60-66 numaralı fraksiyonların ise standart olarak kullanılan BHT'den daha aktif oldukları belirlendi. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemlerinde genel olarak polar fraksiyonların daha aktif olduğu tespit edildi. Toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen 14 fraksiyon içinden SS-TÜE 84-89 fraksiyonunun CUPRAC yönteminde en aktif fraksiyon, köklerden hazırlanan etanol ekstresinden elde edilen 11 fraksiyon içinden ise SSKE 50-59 fraksiyonunun en aktif olduğu tespit edildi. Aktivite sonuçlarına göre genel olarak toprak üstü kısmının fraksiyonlarının aktiviteleri köklerin fraksiyonlarından daha aktif olduğu saptandı. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve CUPRAC-Bakır(II) indirgeme kapasitesi sonuçları değerlendirildiğinde her üç yöntemde de en aktif olan toprak üstü 64-72, 73-83, 84-89, 116-121, kök 15-17, 18-23, 50-59 numaralı fraksiyonlardan öncelikle saf madde izolasyonuna gidildi. Daha az aktif olan toprak üstü 90-99 ve 110-115, toprak altı 31-39 ve 60-66 numaralı fraksiyonlardan da daha sonra saf madde elde edildi.

Çizelge 4. 8. *S. siirtica*'nın toprak üstü ve köklerinin etanol ekstraktlarının fraksiyonları, elde edildikleri çözücü sistemleri, miktarları ve antioksidan aktiviteleri

TOPRAK ÜSTÜ			IC ₅₀		
Fraksiyon kodu	Çözücü Sistemi	Miktar	DPPH	ABTS	
1	SS-TÜE 1-6	(%100PE)-(%80PE-%20DCM)	0.7712g	>1000	>1000
2	SS-TÜE 7-16	(%80PE-%20DCM)-(%50PE-%50DCM)	2.0540g	>1000	>1000
3	SS-TÜE 17-31	(%30PE-%70DCM)-(%100DCM)	5.4099g	>1000	>1000
4	SS-TÜE 32-42	(%100DCM)-(%90DCM-%10AC)	20.8021g	>1000	126.63± 4.13
5	SS-TÜE 43-52	(%90DCM-%10AC)-(%80DCM-%20AC)	25.3392g	>1000	140.27± 5.25
6	SS-TÜE 53-63	(%60DCM-%40AC)-(%40DCM-%60AC)	17.9346g	148.29± 3.45	57.53±2.14
7	SS-TÜE 64-72	(%40DCM-%60AC)-(%20DCM-%80AC)	4.7772g	74.64±1.53	14.93±0.52
8	SS-TÜE 73-83	(%100AC)-(%90AC-%10MEOH)	3.3805g	19.95±0.91	<10
9	SS-TÜE 84-89	(%90AC-%10MEOH)	4.5773g	50.01±1.02	10.25±0.35
10	SS-TÜE 90-99	(%80AC-%20MEOH)-(%60AC-%40MEOH)	18.1754g	105.82± 2.24	19.99±0.68
11	SS-TÜE 100-104	(%60AC-%40MEOH)-(%40AC-%60MEOH)	14.0944g	190.71± 4.45	46.18±2.04
12	SS-TÜE 105-109	(%40AC-%60MEOH)-(%20AC-%80MEOH)	6.4722g	132.52± 3.14	44.83±1.96
13	SS-TÜE 110-115	(%20AC-%80MEOH)-(%100MEOH)	8.3816g	81.51±1.95	33.04±1.21
14	SS-TÜE 116-121	(%100MEOH)-(%99MEOH-%1H ₂ O)	8.7716g	48.40±1,01	11.40±0.40
KÖK					
1	SSKE 1-10	(%100PE)-(%90PE-%10DCM)	0.0690g	>1000	239.68±9.14
2	SSKE 11-14	(%80PE-%20DCM)-(%60PE-%40DCM)	0.0641g	>1000	77.29±2.62
3	SSKE 15-17	(%60PE-%40DCM)-(%40PE-%60DCM)	0.5696g	>1000	11.81±0.44
4	SSKE 18-23	(%20PE-%80DCM)-(%10PE-%90DCM)	0.7485g	>1000	14.96±0.53
5	SSKE 24-30	(%10PE-%90DCM)-(%100DCM)	0.8378g	>1000	170.06±6.24
6	SSKE 31-39	(%100DCM)-(%90DCM-%10AC)	1.3531g	>1000	65.81±2.45
7	SSKE 40-49	(%90DCM-%10AC)-(%80DCM-%20AC)	1.6135g	>1000	97.10±3.14
8	SSKE 50-59	(%50DCM-%50AC)-(%20DCM-%80AC)	2.9328g	>1000	7.68±0.26
9	SSKE 60-66	(%100AC)-(%90AC-%10MEOH)	2.5548g	>1000	10.09±0.39
10	SSKE 67-74	(%50AC-%50MEOH)-(%20AC-%80MEOH)	10.8229g	>1000	118.75±3.45
11	SSKE 75-85	(%100MEOH)-(%90MEOH-%10H ₂ O)	0.7095g	>1000	153.69±5.6
	BHT			58.86±0.50	13.25±0.27
	α-TOC			16.30±0.79	9.74±0.42

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4. 9. *S. siirtica* 'nın toprak üstü ve köklerinin etanol ekstratlarının fraksiyonları ve CUPRAC aktiviteleri

TOPRAK ÜSTÜ				
Absorbans				
Kod	10µg/mL	25µg/mL	50µg/mL	100µg/mL
SS-TÜE 1-6	0.165±0.003	0.173±0.003	0.196±0.002	0.252±0.001
SS-TÜE 7-16	0.183±0.004	0.263±0.001	0.367±0.015	0.454±0.004
SS-TÜE 17-31	0.185±0.001	0.248±0.008	0.405±0.004	0.547±0.002
SS-TÜE 32-42	0.154±0.001	0.241±0.003	0.337±0.006	0.477±0.004
SS-TÜE 43-52	0.180±0.001	0.241±0.004	0.362±0.023	0.464±0.033
SS-TÜE 53-63	0.193±0.001	0.316±0.006	0.522±0.001	0.823±0.004
SS-TÜE 64-72	0.265±0.004	0.439±0.012	0.791±0.002	1.458±0.053
SS-TÜE 73-83	0.345±0.006	0.807±0.014	1.249±0.052	1.639±0.066
SS-TÜE 84-89	0.314±0.026	0.636±0.002	0.862±0.023	2.467±0.005
SS-TÜE 90-99	0.253±0.006	0.458±0.008	0.690±0.007	1.060±0.105
SS-TÜE 100-104	0.197±0.002	0.302±0.001	0.434±0.030	0.914±0.014
SS-TÜE 105-109	0.213±0.004	0.339±0.001	0.465±0.030	0.788±0.003
SS-TÜE 110-115	0.189±0.002	0.314±0.001	0.476±0.001	0.901±0.038
SS-TÜE 116-121	0.238±0.002	0.433±0.014	0.672±0.024	1.025±0.004
KÖK				
SSKE 1-10	0.164±0.001	0.222±0.012	0.304±0.003	0.423±0.002
SSKE 11-14	0.203±0.009	0.282±0.001	0.434±0.001	0.576±0.001
SSKE 15-17	0.242±0.004	0.457±0.017	0.773±0.006	1.208±0.012
SSKE 18-23	0.224±0.002	0.484±0.008	0.812±0.042	1.365±0.001
SSKE 24-30	0.225±0.002	0.340±0.001	0.490±0.013	0.740±0.016
SSKE 31-39	0.248±0.002	0.340±0.003	0.570±0.005	0.910±0.006
SSKE 40-49	0.200±0.001	0.272±0.010	0.419±0.011	0.613±0.016
SSKE 50-59	0.344±0.035	0.675±0.019	1.207±0.033	2.158±0.022
SSKE 60-66	0.205±0.016	0.386±0.007	0.580±0.002	1.064±0.033
SSKE 67-74	0.145±0.003	0.167±0.002	0.203±0.002	0.278±0.004
SSKE 75-85	0.168±0.003	0.185±0.005	0.204±0.004	0.366±0.017
BHT	0.305±0.023	0.746±0.057	1.528±0.068	2.551±0.066
α-TOC	0.605±0.086	1.344±0.035	2.256±0.042	3.987±0.007

Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir

SSTUE: *S. siirtica* bitkisinin toprak üstü kısmının etanol ekstresi

SSKE: *S. siirtica* bitkisinin kök etanol ekstresi

4.6. İzole Edilen Saf Maddelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

Elde edilen saf maddelerin antioksidan aktivitesi 3 yöntemle (DPPH Serbest Radikal Giderim, ABTS Katyon Radikal Giderim, CUPRAC-Bakır(II) indirgeme

kapasitesi) belirlendi (Çizelge 4.10.). Elde edilen fenolik bileşiklerin oldukça aktif oldukları tespit edildi. *S. siirtica*'nın majör bileşeni olan rozmarinik asidin 3 yöntemde de oldukça aktif olduğu belirlendi. DPPH serbest radikal giderim aktivitesinde rozmarinik asit (IC₅₀:1.21±0.06), kafeik asit (IC₅₀:3.56±0.03) ve luteolin 7-glikozit (IC₅₀:5.58±0.06) bileşiklerinin çok daha aktif olduğu belirlendi. ABTS katyon radikali giderim aktivitesinde yine rozmarinik asit (IC₅₀:1.70±0.07), kafeik asit (IC₅₀:1.65±0.06), p-kumarik asit (IC₅₀:1.03±2.47) ve ferulik asidin (IC₅₀:0.5±0.01) daha aktif olduğu tespit edildi. Yine aynı bileşiklerin CUPRAC-bakır(II) indirgeme kapasitesi yönteminde de daha aktif olduğu saptandı.

Çizelge 4. 10. Elde edilen ve yapısı aydınlatılan bileşiklerin antioksidan aktiviteleri

Kod	İsim	Antioksidan Aktivite		
		DPPH	IC ₅₀ ABTS	A _{0,5} CUPRAC
1	C-2 Rozmarinik Asit	1.21±0.06	1.70±0.07	1.21±0.01
2	C-4 Apigenin	45.87±1.43	2.57±0.05	124.70±4.23
3	C-6 Fumarik Asit	273.74±4.54	150.47±2.62	105.35±3.03
4	C-8 p-Kumarik Asit	176.38±8.66	1.03±0.02	14.42±0.12
5	C-9 Kafeik Asit	3.56±0.03	1.65±0.06	7.41±0.02
6	C-19 4-Hidroksibenzoik Asit	29.73±4.32	354.63±58.58	18.13±0.15
7	C-31 β-Sitosterol	72.11±1.94	154.34±2.12	22.17±0.98
8	C-32 Ferruginol	33.80±2.20	6.61±0.27	49.83±2.02
9	C-44 Salvigenin	62.05±26.49	19.13±2.78	49.83±1.54
10	C-45 Ursolik Asit	20.04±1.04	104.44±8.06	178.09±5.02
11	C-46 Oleanolik Asit	45.02±1.31	275.73±7.11	11.72±0.06
12	C-54 Luteolin 7-Glikozit	5.58±0.06	3.85±0.09	3.75±0.01
13	C-42 Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat	>1000	280.50±3.81	213.80±5.70
14	C-119 Stigmasterol	>1000	312.75±4.92	172.48±1.15
15	E-58 Bis(2-etilhekzil) ftalat	>1000	248.04±3.50	136.57±1.32
16	H-15 21α-Hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien	>1000	256.49±0.19	136.53±2.11
17	H-16 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien	>1000	189.49±1.52	117.50±2.29
18	H-22 2α,3β,21α-Trihidroksi urs-9(11),12-dien	>1000	131.51±2.58	221.66±9.43
19	H-37/44 1α,21α-Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien	>1000	236.69±0.93	189.30±2.37
20	H-116 4,12-Dihidroksi sapriparakinon	>1000	121.47±2.36	172.40±1.18
21	L-48 Sugiol	150.09±2.05	69.61±0.29	54.50±1.10

Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir

4.7. Ekstrelerin Antikolinesteraz Enzim Aktiviteleri

Hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz enzim aktiviteleri Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Ana ekstreler içinde etanol ekstresinin hem asetilkolinesteraz hem de butirilkolinesteraz yönteminde daha aktif olduğu belirlendi. *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarının etanol ekstreleri karşılaştırıldığında asetilkolinesteraz yönteminde yaprak kısımlarının etanol ekstresi (%İnhibisyon 55.61±1.01), butirilkolinesteraz yönteminde ise kök kısımlarının etanol ekstresinin (%İnhibisyon 71.74±0.57) daha aktif olduğu belirlendi.

Çizelge 4. 11. Ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları^a

Örnek	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
SS-PE	AD	AD
SS-KK	AD	18.17±0.46
SS-KE	68.17±1.32	57.81±1.49
SS-K	37.42±0.56	71.74±0.57
SS-D	35.92±1.21	AD
SS-Y	55.61±1.01	32.23±1.33
SS-Ç	39.35±0.21	33.04±0.65
Galantamin^b	86.14±0.38	80.18±0.46

^a 200µg/mL

^b Standart madde

AD: Aktif değil

4.8. İzole Edilen Saf Maddelerin Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzim Aktiviteleri

Elde edilen saf maddelerin antikolinesteraz enzim aktivitelerine asetil- ve butirilkolinesteraz olmak üzere iki yöntemle bakıldı. Sonuçlar Çizelge 4.12.'de verilmiştir. Özellikle elde edilen diterpen yapısındaki ferruginolün oldukça aktif olduğu tespit edildi. Bu bileşiğin asetilkolinesteraz yönteminde IC₅₀: 3.96 ve butirilkolinesteraz yönteminde ise IC₅₀: 15.57 değerlerinde aktivite gösterdiği belirlendi. Aynı zamanda 4,12-dihidroksi sapriparakinon ve sugiol bileşikleri asetilkolinesteraz enzimine karşı aktivite göstermezken butirilkolinesteraz enzimine karşı oldukça aktif oldukları (IC₅₀: 8.01±0.03 ve 9.07±0.12, sırasıyla) tespit edildi.

Çizelge 4. 12. İzole edilen saf maddelerin asetil- ve butiril-kolinesteraz enzim aktivite sonuçları^a

No	Kod	İsim	Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesi		Butirikolinesteraz Enzim Aktivitesi	
			% İnhibisyon	IC ₅₀	% İnhibisyon	IC ₅₀
1	C-2	Rozmarinik Asit	A.D	>1000	A.D	>1000
2	C-4	Apigenin	A.D	>1000	86.24 ±1.45	16.45 ±0.32
3	C-6	Fumarik Asit	A.D	>1000	25.41 ±0.62	180.95 ±2.66
4	C-8	p-Kumarik Asit	A.D	>1000	11.40±0.99	746.34±10.32
5	C-9	Kafeik Asit	A.D	>1000	A.D	>1000
6	C-19	4-Hidroksibenzoik Asit	A.D	>1000	A.D	>1000
7	C-31	β-Sitosterol	A.D	>1000	A.D	>1000
8	C-32	Ferruginol	95.76 ±1.54	3.96 ±0.08	84.92 ±1.21	15.57 ±0.24
9	C-44	Salvigenin	A.D	>1000	A.D	>1000
10	C-45	Ursolik Asit	53.99±2.34	49.89±1.54	68.50±2.90	32.34±1.03
11	C-46	Oleanolik Asit	40.12 ±1.16	60.60 ±2.08	43.00 ±1.28	62.12 ±2.14
12	C-54	Luteolin 7-Glikozit	A.D	>1000	A.D	>1000
13	C-42	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat	A.D	>1000	31.37±0.80	74.17 ±1.95
14	C-119	Stigmasterol	A.D	>1000	11.84±0.01	140.98±5.23
15	E-58	Bis(2-etilhekzil) ftalat	A.D	>1000	A.D	>1000
16	H-15	21α-Hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien	A.D	>1000	44.83±1.27	58.73 ±1.44
17	H-16	3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien	A.D	>1000	37.48±0.64	79.39 ±1.36
18	H-22	2α,3β,21α-Trihidroksi urs-9(11),12-dien	A.D	>1000	18.44±0.42	239.45 ±4.78
19	H-37/44	1α,21α-Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien	A.D	>1000	15.89±1.72	230.40 ±4.56
20	H-116	4,12-Dihidroksi sapriparakinon	A.D	>1000	86.38±3.60	8.01±0.03
21	L-48	Sugiol	A.D	>1000	61.09±2.98	9.07±0.12

^a50 mg/L

Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir

AD: Aktif değil

4.9. Ekstrelerin Üreaz ve Tirozinaz Aktiviteleri

Hazırlanan tüm ekstrelerin üreaz ve tirozinaz enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.13.'te verilmiştir. Genel olarak çalışılan konsantrasyonlarda tüm ekstrelerin antiüreaz enzim aktivitesi göstermediği, antitirozinaz enzim aktivitelerinin ise düşük olduğu tespit edildi. *S. siirtica*'nın karışık kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin (SS-KE) antitirozinaz enzim aktivitesinin 200 µg/mL konsantrasyonda en yüksek (%İnhibisyon: 29.86±9.84) olduğu belirlendi.

Çizelge 4. 13. Ekstrelerin tirozinaz ve üreaz aktivite sonuçları^a

No	Kod	Tirozinaz Enzim Aktivitesi		Üreaz Enzim Aktivitesi	
		%İnhibisyon	Ekivalent kojik asit µg/mg ekstre	%İnhibisyon	Ekivalent tioüre µg/mg ekstre
1.	SS-PE	5.76±2.95	1.26±0.02	AD	-
2.	SS-KK	AD	-	AD	-
3.	SS-KE	29.86±9.84	7.85±0.14	AD	-
4.	SS-Ç	10.94±1.59	2.68±0.04	AD	-
5.	SS-Y	15.43±1.31	3.91±0.05	AD	-
6.	SS-K	18.12±2.46	4.64±0.06	AD	-
7.	SS-D	15.16±4.63	3.83±0.05	AD	-

^a200 mg/L

AD:Aktif değil

4.10. İzole Edilen Saf Maddelerin Üreaz ve Tirozinaz Enzim Aktiviteleri

Yapısı aydınlatılan bileşiklerin tirozinaz ve üreaz enzim aktiviteleri Çizelge 4.14.'te verilmiştir. Genel olarak saflaştırılan bileşiklerin de elde edilen ekstreler gibi hem tirozinaz hem de üreaz enzimine karşı düşük aktivite gösterdiği belirlendi. Tirozinaz enzim aktivitesinde kafeik asidin 12.5 µg/mL konsantrasyonda (%İnhibisyon: 14.15±0.44), üreaz enzim aktivitesinde ise ursolik asitin (%İnhibisyon: 33.70±1.86) daha aktif olduğu belirlendi.

Çizelge 4. 14. İzole edilen saf maddelerin üreaz ve tirozinaz enzim aktivite sonuçları^a

No	Kod	İsim	Tirozinaz Enzim Aktivitesi		Üreaz Enzim Aktivitesi	
			% İnhibisyon	Ekivalent kojik asit µg/mg ekstre	% inhibisyon	Ekivalent tioure µg/mg ekstre
1	C-2	Rozmarinik Asit	12.11±2.98	105.58±3.16	AD	-
2	C-4	Apigenin	AD	-	AD	-
3	C-6	Fumarik Asit	AD	-	AD	-
4	C-8	p-Kumarik Asit	AD	-	AD	-
5	C-9	Kafeik Asit	14.15±0.44	125.24±3.29	AD	-
6	C-19	4-Hidroksibenzoik Asit	AD	-	AD	-
7	C-31	β-Sitosterol	AD	-	AD	-
8	C-32	Ferruginol	2.81±0.01	15.95±0.14	AD	-
9	C-44	Salvigenin	AD	-	AD	-
10	C-45	Ursolik Asit	AD	-	33.70±1.86	125.68±7.45
11	C-46	Oleanolik Asit	9.06±0.50	76.24±4.37	AD	-
12	C-54	Luteolin 7-Glikozit	AD	-	AD	-
13	C-42	Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat	AD	-	AD	-
14	C-119	Stigmasterol	AD	-	AD	-
15	E-58	Bis(2-etilhekzil) ftalat	AD	-	AD	-
16	H-15	21α-Hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien	AD	-	AD	-
17	H-16	3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien	AD	-	22.32±1.10	89.56±1.37
18	H-22	2α,3β,21α-Trihidroksi urs-9(11),12-dien	AD	-	AD	-
19	H-37/44	1α,21α-Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetildioksümetilen) urs-9(11),12-dien	AD	-	11.30±1.20	44.69±1.12
20	H-116	4,12-Dihidroksi sapriparakinon	AD	-	AD	-
21	L-48	Sugiol	AD	-	39.83±1.05	158.33±7.83

^a12,5 mg/L

Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

AD:Aktif değil

4.11. *S. siirtica*'nın Fenolik İçerik Bakımından LC-MS/MS ile Taranması

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

(LOD/LOQ ($\mu\text{g/L}$)), %95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik ($k=2$) (U (%)) Çizelge 4.15.'te verilmiştir.

4.11.1. *S. siirtica*'nın Çeşitli Kısımlarının ve Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Fenolik İçerik Analizi

S. siirtica'nın çeşitli kısımlarının ve ekstrelerinin fenolik içeriği LC-MS/MS ile belirlendi (Çizelge 4.16.). Genel olarak etanol ekstresinin, petrol eteri ve kloroform ekstrelerinden fenolik içerik bakımından daha zengin olduğu tespit edildi. Etanol ekstreleri kendi içlerinde karşılaştırıldığında p-kumarik asit bakımından yaprak, kafeik asit bakımından kök, rozmarinik asit bakımından kök, protokateşik asit bakımından kök, fumarik asit bakımından dal, malik asit bakımından çiçek, apigenin bakımından çiçek ve kosmosin bakımından ise yaprak ekstresinin daha zengin olduğu tespit edildi. Standart maddelerin LC-MS/MS kromatogramı ile *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarının ve ekstrelerinin LC-MS/MS analiz kromatogramları Şekil 4.5. ve 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4. 15. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler

No	Ana İtler	RT	Ana İyon (m/z) ^a	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ²	RSD% ^d		Lin eerte		Gerikazanım (%)		
								Aynı Gün	Farklı Günler	Aynı Gün	Farklı Günler	Aynı Gün	Farklı Günler	
1	Kumaran	17.40	147.05	91.0-103.2	Poz	y=33.64x-89700	0.994	0.01306	0.01239	1000-20000	208.4/28.4	0.99947	1.00081	0.0237
2	Hesperidin	12.67	610.90	303.1-465.1	Poz	y=1340.27x-43769	0.998	0.00945	0.01126	25-1000	3.4/4.2	1.01733	1.01263	0.0262
3	p-Kumarik asit	11.53	162.95	119.3-93.3	Neg	y=3199.20x-13002	0.992	0.01820	0.01727	25-1000	7.3/9.1	1.00617	1.01224	0.0516
4	o-kumarik asit	15.45	162.95	119.4-93.3	Neg	y=1219.34x-10915	0.999	0.02730	0.02566	25-1000	24.4/31.1	0.98344	0.99061	0.0513
5	Gallik asit	3.00	168.85	125.2-79.2	Neg	y=226.76x+38152	0.998	0.01601	0.01443	250-10000	95.5/106.9	1.00004	1.00454	0.0282
6	Kafeik asit	8.80	178.95	135.2-134.3	Neg	y=3963.32x-178156	0.998	0.01454	0.01469	25-1000	18.4/22.4	1.00917	0.98826	0.0354
7	Vanilik asit	8.57	166.90	152.3-108.3	Neg	y=33.84x-12097	0.999	0.00528	0.00619	1000-20000	122.2/139.7	1.00093	1.04095	0.0508
8	Salisilik asit	11.16	136.95	93.3-65.3	Neg	y=5286.26x-309192	0.989	0.01016	0.01242	25-1000	5.0/6.5	1.00989	0.99013	0.0329
9	Kimik asit	1.13	190.95	85.3-93.3	Neg	y=41.06x+10671	0.996	0.00259	0.00274	250-10000	75.8/79.4	1.00288	0.98778	0.0082
10	4-OH-benzoik asit	7.39	136.95	93.3-65.3	Neg	y=409.03x+12079	0.998	0.01284	0.01538	250-10000	33.2/38.1	0.99662	1.00038	0.0289
11	Ferulik asit	12.62	192.95	178.3	Neg	y=80.45x-31782	0.997	0.00708	0.00619	250-10000	36.6/42.0	0.99987	1.00289	0.0494
12	Klorojenik asit	7.13	353.15	191.2	Neg	y=781.36x-18697	0.998	0.00058	0.00076	25-1000	62.8/1	1.00806	0.99965	0.0069
13	Rozmarinik asit	14.54	359.00	161.2-197.2	Neg	y=909.67x-201692	0.994	0.02014	0.01751	100-5000	6.6/8.8	0.99206	1.03431	0.0713
14	Protokatesik asit	4.93	152.95	108.3	Neg	y=297.75x+50590	0.995	0.01236	0.01296	100-5000	28.2/31.4	0.99404	1.01070	0.0411
15	Sinamik asit	25.61	147.00	103.15-77.3	Neg	y=9.06x-12403	0.996	0.00648	0.00816	5000-20000	821.8/859.7	1.00051	0.99927	0.0143
16	Sinapnik asit	12.66	222.95	208.3-149.2	Neg	y=141.96x-73294	0.992	0.01446	0.01517	250-10000	78.7/86.1	1.00164	0.99962	0.0281
17	Fumarik asit	1.48	115.00	71.4	Neg	y=64.99x-11592	0.997	0.00336	0.00460	100-5000	28.1/34.5	0.99748	0.99867	0.0124
18	Vanilin	10.87	151.00	136.3-92.2	Neg	y=446.10x+70934	0.998	0.00696	0.00793	250-10000	44.3/53.1	0.99679	0.99611	0.0280

Çizelge 4.15. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (devamı)

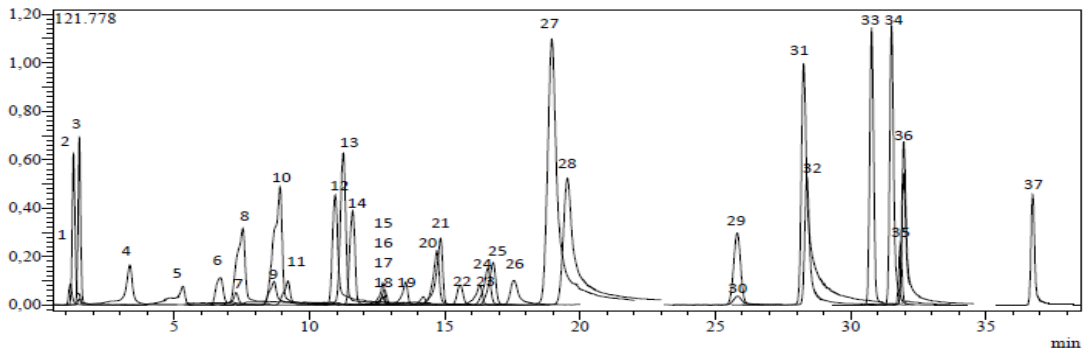
No	Analitler	RT	Ana İyon(m/z) ^b	Parçalanma İyonları	İyon Modu	Kalibrasyon Denklemi	R ²	RSD% ^d			Lineerite Aralığı (µg/L)	LODLOQ (µg/L) ^c		Geri Kazanım (%)		U ^f
								Aynı Gün	Farklı Günler	R ²		Aynı Gün	Farklı Günler	Aynı Gün	Farklı Günler	
19	Protokatekol	6.48	109.00	108.35-91.3	Neg	y=30.61x+14735	0.996	0.01313	0.01339	0.01339	1000-20000	261.17284	0.99987	0.99936	0.0235	
20	Malik asit	1.23	133.00	115.2-71.3	Neg	y=316.95x+42041	0.999	0.00477	0.00527	0.00527	250-10000	55.3/67.5	1.01266	0.99836	0.0113	
21	Sirnjik asit	9.02	196.95	182.2-167.3	Neg	y=42.33x-52547	0.996	0.01049	0.01345	0.01345	1000-20000	212.5/235.3	0.99922	0.99977	0.0238	
22	Hesperetin	31.76	300.95	164.2-136.2	Neg	y=876.67x+48916	0.997	0.03209	0.02605	0.02605	25-1000	5.6/6.9	0.98850	0.99435	0.0562	
23	Naringenin	30.68	270.95	151.2-119.3	Neg	y=4315.1x+178410	0.995	0.02054	0.02019	0.02019	25-1000	5.4/6.4	0.99883	1.01002	0.0521	
24	Rutin	12.61	609.05	300.1-271.1	Neg	y=561.91x+16879	0.997	0.00473	0.00624	0.00624	25-1000	5.5/6.5	1.00994	0.98017	0.0159	
25	Kersetin	28.17	300.90	151.2-179.2	Neg	y=1198.48x+480562	0.990	0.01589	0.01360	0.01360	100-5000	23.3/28.9	0.98470	1.00103	0.0543	
26	Kersitrin	16.41	447.15	301.1-255.1	Neg	y=339.39x+58910	0.999	0.01528	0.02320	0.02320	100-5000	22.0/25.2	0.99726	1.00620	2.0079	
27	Apigenin	31.43	268.95	117.3-151.2	Neg	y=45483.6x+29252	0.990	0.02304	0.02204	0.02204	25-1000	5.4/6.3	1.01444	1.01331	0.0650	
28	Knstin	36.65	252.95	143.3-119.4	Neg	y=2032.13x+95393	0.993	0.00490	0.00630	0.00630	25-1000	5.4/6.2	1.00338	1.00437	2.0083	
29	Likiritigenin	25.62	254.95	119.3-135.1	Neg	y=2384.96x+59141	0.996	0.01849	0.01738	0.01738	25-1000	5.5/6.6	1.00333	0.99957	0.0341	
30	İzokersitrin	13.42	463.00	300.1-271.1	Neg	y=803.23x+4981	0.999	0.00682	0.00515	0.00515	25-1000	5.4/6.3	1.00394	1.00722	0.0133	
31	Apigetrin	16.59	431.00	268.2-239.2	Neg	y=1775.5x+91121	0.993	0.01797	0.01607	0.01607	25-1000	5.4/6.1	1.01394	1.00419	0.0397	
32	Rofolin	16.11	577.05	269.2-211.1	Neg	y=237.15x+11887	0.999	0.00747	0.01528	0.01528	100-5000	23.1/27.9	1.01046	1.01739	0.0941	
33	Nikotiflorin	14.68	593.05	285.1-255.2	Neg	y=498.38x+79274	0.991	0.00737	0.00875	0.00875	100-5000	22.4/25.5	1.02558	1.00970	0.0276	
34	Fisetin	19.30	284.95	135.2-121.3	Neg	y=547.46x+274791	0.991	0.00357	0.00820	0.00820	250-10000	54.4/61.4	0.99877	1.00031	0.0148	
35	Luteolin	28.27	284.75	133.2-151.2	Neg	y=3272.65x+150557	0.997	0.00375	0.00696	0.00696	25-1000	5.4/6.5	1.00772	0.99524	0.0174	
36	Mirisetin	18.72	317.00	179.2-151.3	Neg	y=583.55x+205727	0.999	0.00652	0.00711	0.00711	250-10000	53.2/57.2	0.99982	1.00042	0.0126	
37	Kamferol	31.88	284.75	255.1-117.3	Neg	y=26.29x+87358	0.992	0.01436	0.01070	0.01070	1000-20000	206.6/214.3	0.99971	0.99851	0.0209	

Çizelge 4. 16. *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarının ve ekstralarının LC-MS/MS ile fenolik içerik analizi

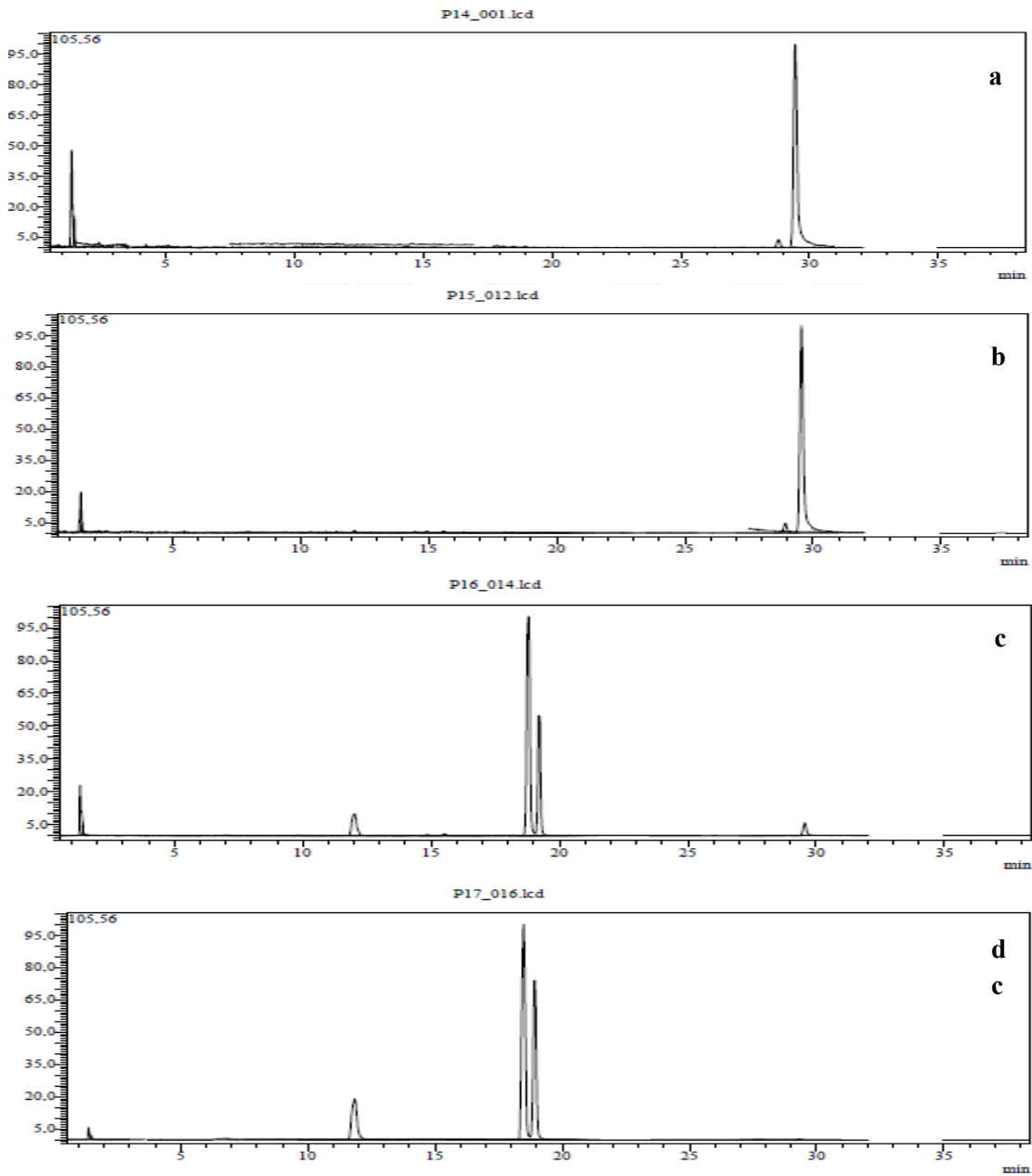
Analit no	SS-PE	SS-KK	SS-KE	SS-K	SS-D	SS-Y	SS-Ç
1	-	-	-	-	-	-	-
2	1,15	2,92	2,11	0,6	1,97	1,05	2,36
3	0,21	4,66	43,2	23,64	17,36	157,34	70,97
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	127,65	96,18
6	-	1,09	153,77	695,75	227,96	538,63	402,64
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	11	10,25	14,53	5,11	35,49
9	-	-	-	-	-	701,6	196,24
10	-	-	-	61,92	84,35	93,95	98,42
11	-	-	-	48,62	-	47,93	-
12	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	3689,05	12285,62	4057,02	10037,49	7746
14	-	-	87,23	762,84	317,89	322,85	174,88
15	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-
17	482,75	255,33	2458,9	2178,98	15319,4	5142,12	2719,98
18	-	-	21,77	72,06	17,77	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-
20	357,47	219,86	2796,63	1296,3	4253,56	3616,12	14470,96
21	-	-	-	180,29	143,8	135,1	-
22	-	-	-	-	-	-	-
23	5,46	10,45	2,51	2,06	-	12,79	15,2
24	-	-	10,3	-	-	17,65	-
25	-	-	-	-	-	15,84	16,48
26	-	-	-	-	-	-	-
27	90,6	138,81	69,9	8,4	29,35	261,86	378,39
28	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-
30	4,18	-	9,43	16,19	6,72	47,26	19,88
31	-	-	14,89	5,29	8,45	146,36	33,35
32	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-

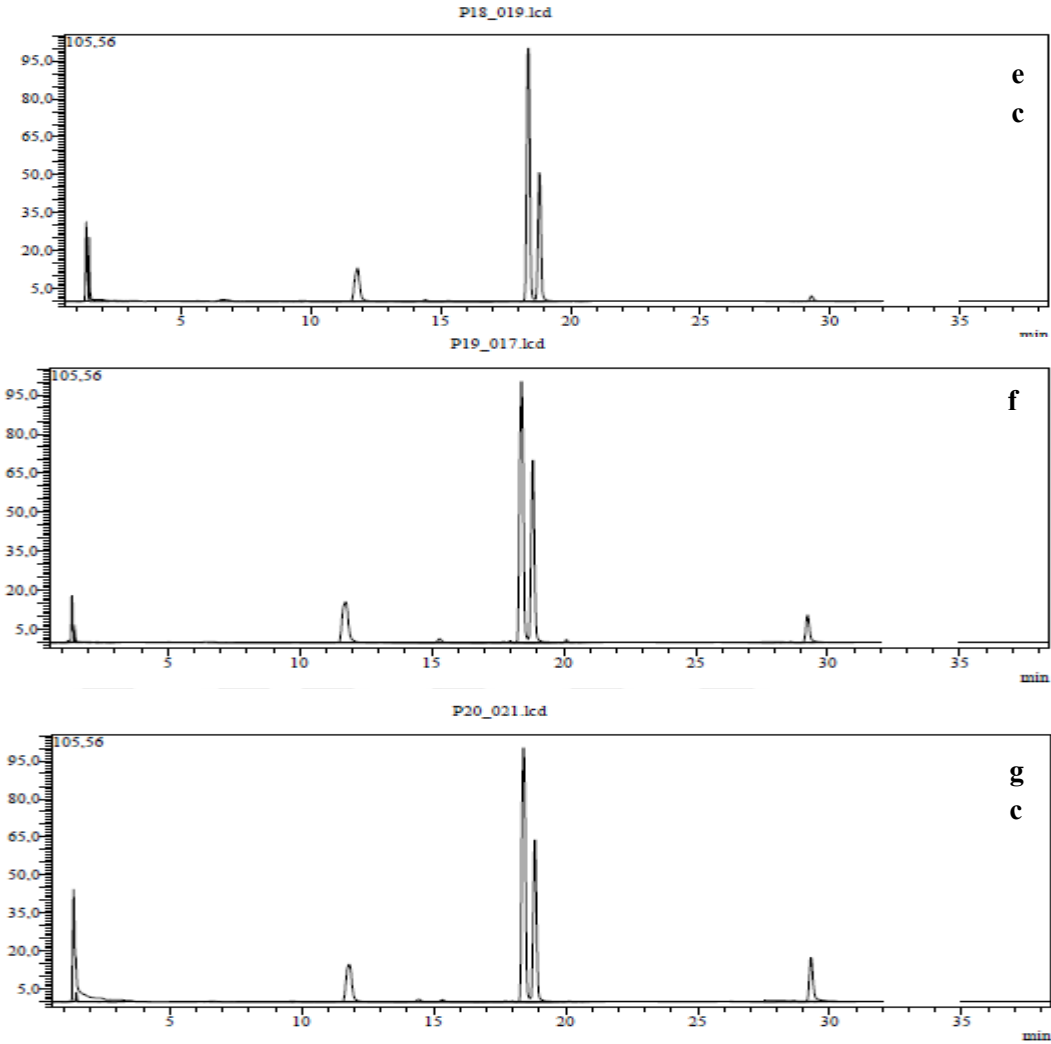
1:Kumarin, 2:Hesperidin, 3:p-Kumarik asit, 4:o-Kumarik asit, 5:Gallik asit, 6:Kafeik asit, 7:Vanilik asit, 8:Salisilik asit
9:Kinik asit, 10:4-OH-Benzoik asit, 11:tr-Ferulik asit, 12:Klorojenik asit, 13:Rozmarinik asit, 14:Protokateşik asit, 15:Sinnamik asit,
16:Sinapinik asit, 17:Fumarik asit, 18:Vanilin, 19:Pirokatekol, 20:Malik asit, 21:Sirinjik asit, 22:Hesperetin, 23:Naringenin,
24:Rutin, 25:Kuersetin, 26:Kuersitrin 27:Apigenin, 28:Krisin, 29:Likuiritigenin, 30:Izokuersitrin, 31:Kosmosin, 32:Rhoifolin,
33:Nikotiflorin, 34:Fisetin, 35:Luteolin, 36:Myrisetin, 37:Kemferol

4.BULGULAR VE TARTIŞMA



Şekil 4. 5. Standart maddelerin LC-MS/MS kromatogramı





Şekil 4. 6. *S. siirtica* 'nın a) karışık kısmının petrol eteri b) karışık kısmının kloroform c) karışık kısmının etanol d) kök etanol e) dal etanol f) yaprak etanol g) çiçek etanol ekstralarının LC-MS/MS analiz kromatogramları

4.12. HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları

S. siirtica 'nın kök kısmının kloroform (SS-KK) ve etanol ekstraları (SS-KE) LC-MS IT-TOF cihazında optimize edilen kapsamlı 75 dakikalık bir metotla analiz edilerek genel fitokimyasal profili belirlendi ve farklı sekonder metabolit sınıflarından 54 sekonder metabolit tespit edildi. Molekül formülleri tespit edilen fitokimyasalların isimleri, alıkonma zamanları, tespit edilen iyon formları, ölçülen m/z değerleri (tam kütle olarak) Çizelge 4.17.'de verilmiştir. HPLC-IT-TOF-MS taramasına ait kromatogramlar (TIC) ise Şekil 4.7.'de verilmiştir.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

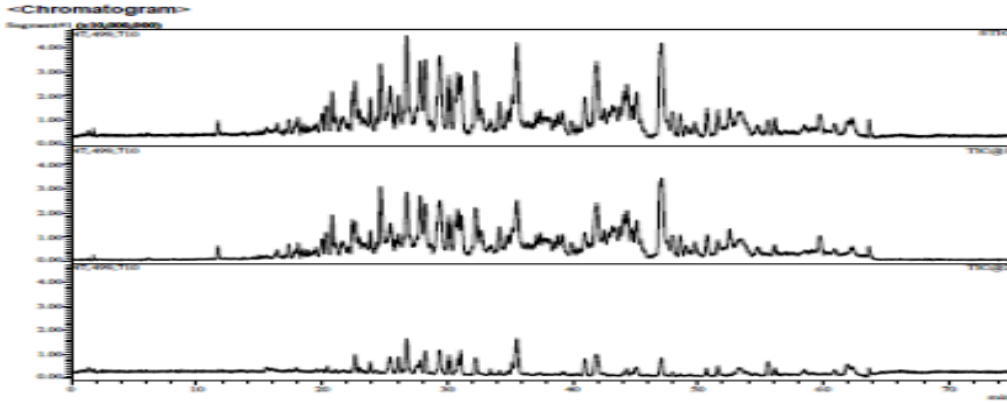
Çizelge 4. 17. *S. siirtica*'nın HPLC-IT-TOF-MS sonuçları

No	Molekül Formülü	Molekülün Adı	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M-H] ⁻	R.T.	SS-KK	SS-KE
1.	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	Behenik asit			339,3269	55.59-62.76		*
2.	C ₂₂ H ₄₀ O	2-Oktadesilfuran		338,3417		47.00-47.92	*	*
3.	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	Ursolik asit /Oleanolik asit			455,3531	34.36-34.9	*	*
4.	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	Betulonik Aldehit/Faradione	439,3571			27.85-34.86	*	
5.	C ₂₂ H ₄₂ O	Z-5-Metil-6-heneikosen-11-on		340,3574		52,52	*	*
6.	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	Lignoserik asit/tetrakosanoik asit			367,3582	61,97		*
7.	C ₂₂ H ₃₈ O	(Hekzadesiloksi)benzen/2,4-Dioktilfenol		336,3261		42,48	*	*
8.	C ₂₃ H ₄₀ O ₄	Persin	381,2999			40,99	*	*
9.	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	Sirsilineol/Santin/Eupatilin	345,0969			20,3	*	*
10.	C ₃₄ H ₄₀ O ₉	Skortekhinon F	593,2745			39,91	*	
11.	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	Salvigenin	329,102			24.68-25.00-27.78	*	*
12.	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	2-Monolinolenin	353,2686			35,2		*
13.	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	Moronik asit (3-oksoolean-18-en-28-oik asit)	455,352			22.65-32.74	*	
14.	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	Sirsimaritin/4'-Metilkapillarisin/Velutin	315,0868			22,82	*	*
15.	C ₃₅ H ₆₂ O ₃	2-(p-Hidroksifenil)etil eikosaheptanoik asit ester		548,5037		53.32-53.46	*	
16.	C ₃₀ H ₄₄ O ₂	Ganoderal A	437,3414			26.76-28.27-32.74	*	
17.	C ₃₈ H ₆₂ O ₉	Goyaglikozit C	663,4467			56,32		*
18.	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	Rubiarbonon A	515,3672			26.75-30.09	*	
19.	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	Asetilaleuritolik asit	499,3782			41.81-47.77	*	*
20.	C ₃₄ H ₅₀ O ₅	Atelliferin E	539,3731			29.39-30.83	*	*
21.	C ₂₆ H ₃₆ O ₄	Lupulon A	413,2686			20,83	*	
22.	C ₂₅ H ₃₆ O ₅	Manoalide/ Shortolid A		434,2901		22,4	*	
23.	C ₃₂ H ₄₈ O ₄	Oleanolik asetat	497,3625			26.75-28.28	*	*
24.	C ₃₄ H ₅₂ O ₅	22-Ketone,di-Ac -(3β,22β)-12-Oleanen-3,22,24-triol	541,3888			44,43	*	*
25.	C ₃₂ H ₄₈ O ₃	(23S)-16,23-epoksi 14(15,30)abeo-20xi-dammara-13,15(30),16-trien-3β-yl asetat	481,3676			27.83-29.56-31.17	*	

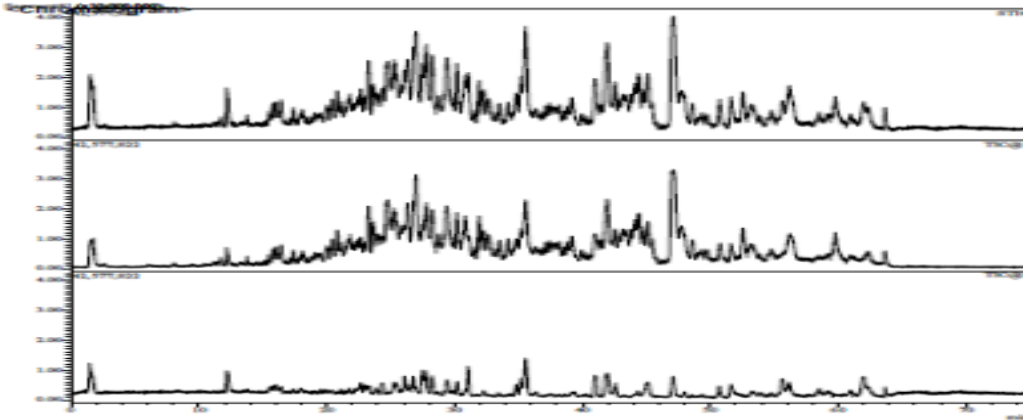
Çizelge 4. 17. *S. siirtica*'nın HPLC-IT-TOF-MS sonuçları (devamı)

26.	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	11-Hidroksiheksadekanoik asit			271,2289	31,06	*	*
27.	C ₃₀ H ₄₄ O	ursa-5,12,20(30)-trien-18aH-3-on	421,3465			27.81-30.61	*	
28.	C ₁₇ H ₂₄ O ₄	Gingerdion/1-(4-hidroksi-3-metoksifenil)dekan-3,5-dion	293,1747			41,97	*	*
29.	C ₄₀ H ₅₀ O ₃	4-Ketolloksantin			577,3687	26,77	*	
30.	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Gemfibrozil/Nardosinon	251,1642			20.48-35.53	*	*
31.	C ₃₄ H ₅₀ O ₄	5-dehidrokarounidiol diasetat	523,3782			34,18	*	
32.	C ₃₄ H ₅₂ O ₆	2α,3α-diasetiltarakser-14-en-28-oik asit	557,3837			29,42	*	
33.	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₅	5,7,8-trihidroksikumarin-5-β-gentiobiosid		536,161		59,75	*	*
34.	C ₄₀ H ₅₀ O ₂	Rhodoksantin			561,3738	41,92	*	
35.	C ₃₆ H ₄₄ O ₉	Nimbolinin D	621,3058			49,09	*	
36.	C ₂₀ H ₂₀ O ₂	Salvilenon	293,1536			26,96		*
37.	C ₂₀ H ₂₂ O ₂	Tilimantin A	295,1693			31,92		*
38.	C ₂₁ H ₂₄ O ₃	Kordiaquinon B	325,1777			26,36		*
39.	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	Prednison/Sfenanlignan	359,1794			23,25		*
40.	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	2,3-Dehidrosalvipison/erykristanol A	311,1642			25,3		*
41.	C ₂₁ H ₂₄ O ₄	Rasemosol	341,1747			28,28		*
42.	C ₁₇ H ₁₀ O ₅	Euplektin	293,0455			1,5		*
43.	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	Prednison/Deltason/Prednisonum/Orason/Prednison		376,2118		23,62		*
44.	C ₂₉ H ₄₈ O ₂	(3β,24S)-3-Hidroksistigmast-5-en-7-on	429,3727			49,32	*	*
45.	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	Sugiol/6,7-dehidrosalviol	301,2162			27,74		*
46.	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	Karnosol/6-Hidroksisalvinolon/7,20-Epoksiroyleanon			329,1758	28.45-30		*
47.	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	Karnosik asit/7α-Hidroksiroyleanon			331,1915	27.10-30		*
48.	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	Genistein/ Apigenin	271,0601			17,4	*	*
49.	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	Genkwanin/akasetin	285,0758			21,8-24,7	*	*
50.	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	Hipargenin B/Kriptanol/Royleanon	317,2111			25,50-27,60	*	*
51.	C ₃₀ H ₄₆ O	Glokidon	423,3621			39,70-42,00-43,30-43,90-47,20	*	*
52.	C ₂₅ H ₅₄ O ₄	Tanımlanamadı		436,436		35,17	*	
53.	C ₃₈ H ₄₈ O	Tanımlanamadı			519,3632	35,55	*	*
54.	C ₄₁ H ₄₈ O	Tanımlanamadı	557,3778			32,23	*	

SS-KK



SS-KE



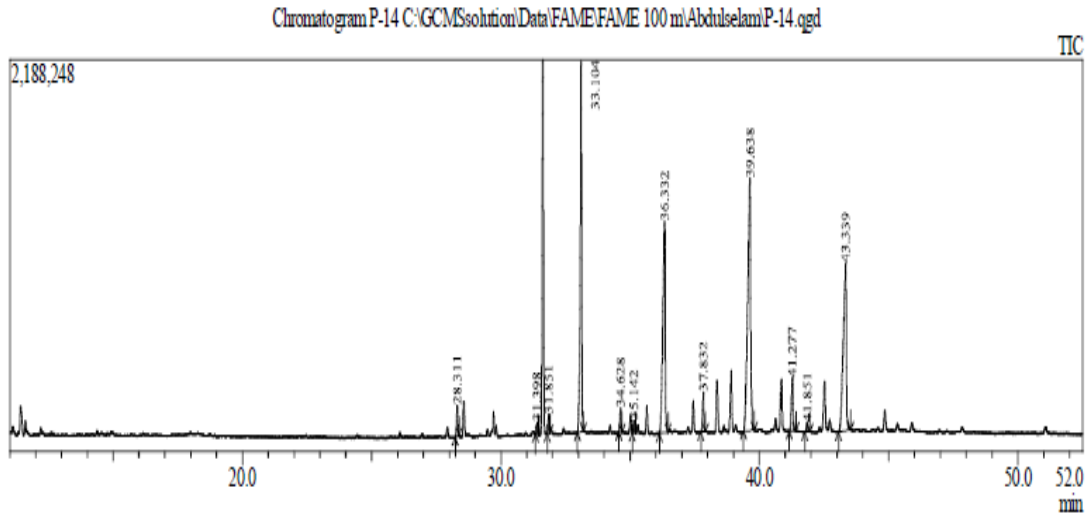
Şekil 4. 7. *S. siirtica*'nın kök kloroform (SS-KK) ve kök etanol (SS-KE) ekstrelerinin sırasıyla toplam, pozitif ve negatif HPLC-IT-TOF-MS kromatogramları

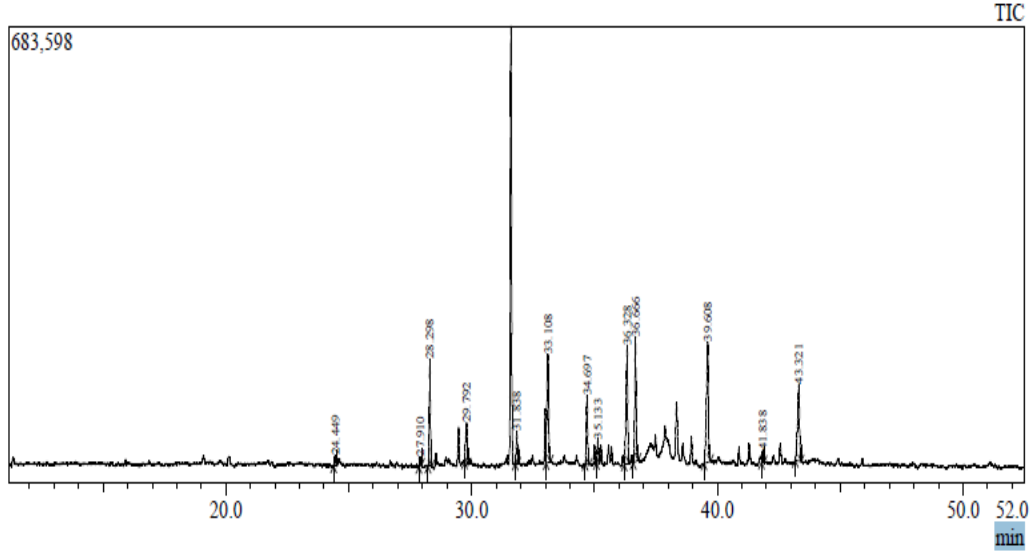
4.13. GC-MS/MS ile Belirlenen Yağ Asidi Analizi Sonuçları

S. siirtica'nın 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan örneklerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi profili GC-MS ile belirlendi (Çizelge 4.18; Şekil 4.8. ve 4.9.). Ekstrelerin yağ asidi içeriklerinin %100'ü belirlendi. 2015 ve 2016 yıllarında toplanan örneklerden hazırlanan ekstrelerin ana bileşenlerinin erusik asit (%29.03 ve 17.34 sırasıyla) olduğu tespit edildi. 2017 yılında toplanan örneklerden hazırlanan ekstrenin ana bileşeninin ise oleik asit (%20.37) olduğu belirlendi. Genel olarak ekstrelerin bileşimindeki yağ asitlerin daha çok doymamış olduğu görülmektedir. 2015, 2016 ve 2017 yıllarında toplanan örneklerin yağ asidi bileşimi karşılaştırıldığında genel olarak ekstrelerin içerik bakımından değişmediği fakat özellikle 2017 yılında toplanan örneklerden hazırlanan ekstrenin ana bileşenin değiştiği tespit edildi.

Çizelge 4. 18. 2015-2017 yıllarında toplanan *S. siirtica* 'nın yağ asidi bileşimi

RT	Bileşen	SS-PE 2015/2016/2017
27.93	2-Palmitoleik asit	-/-
28.31	Palmitik asit	1.45/11.24/8.56
29.76	Palmitoleik asit	-/4.72/2.67
31.39	cis-10-Heptadekanoik asit	0.5/-
31.85	Stearik asit	0.84/3.06/1.34
33.10	Oleik asit	21.34/14.79/20.37
34.62	Linoleik asit	1.08/7.05/2.93
34.69	Heksidekadienoik asit	-/-
35.14	Araşidonik asit	0.57/2.12/1.93
36.33	cis-11-Eikosenoik asit	19.47/14.69/16.30
36.66	Linolenik asit	-/12.66/8.74
37.83	cis-11,14-Eikosadienoik asit	2.11/-/1.96
38.40	Behenik asit	-/-
39.63	Erusik asit	29.03/17.34/12.73
41.27	cis-13,16-Dokosadienoik asit	3.46/-/1.67
41.85	Lignoserik asit	0.54/1.12/2.95
43.33	Nervonik asit	19.61/11.22/17.85

Şekil 4. 8. *S. siirtica* 'nın 2015 yılı yağ asidi analizi kromatogramı



Şekil 4. 9. *S. siirtica*'nın 2016 yılı yağ asidi analizi kromatogramı

4.14. Saf Madde İzolasyonu ve Saf Maddelerin Yapı Tayini

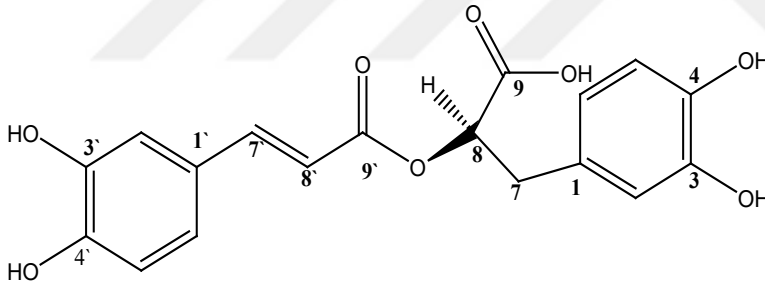
Çizelge 4.19.'da elde edilen ve yapıları aydınlatılan maddelerin listesi verilmiştir. Saf maddelerin yapı tayinleri IR, ^1H - ve ^{13}C -NMR ile 2D-NMR ile kütle spektrumları değerlendirilerek yapıldı. Genel olarak tüm ekstraller silikajel kolonlarda Aseton/MeOH: 9/1 sistemi ve sonrasında gelen polar fraksiyonlar C-18 kolondan sabit MeOH/Su:70/30 çözücü sistemi ile fraksiyonlandırıldı. Bu fraksiyonlar C-18 kolonda, DAD dedektörlü preparatif HPLC'de MeOH/Su:50/50 sabit çözücü sistemi ile çalışıldı.

Çizelge 4. 19. Yapısı aydınlatılan bileşikler

No	İsim
1	Rozmarinik Asit
2	Apigenin
3	Fumarik Asit
4	p-Kumarik Asit
5	Kafeik Asit
6	4-Hidroksibenzoik Asit
7	β -Sitosterol
8	Ferruginol
9	Salvigenin
10	Ursolik Asit
11	Oleanolik Asit
12	Luteolin 7-Glikozit
13	Bis-(2-etil heksil) benzen-1,2 dikarboksilat
14	Stigmasterol
15	Bis(2-etilheksil) tereftalat
16	21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien
17	3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien
18	2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien
19	1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien
20	4,12-Dihidroksi sapriparakinon
21	Sugiol

4.14.1. Rozmarinik Asit

S. siirtica'nın toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin çok sayıdaki fraksiyonundan preparatif HPLC ile MeOH/Su:50/50 sisteminde beyaz renkte katı halde elde edildi. Preparatif HPLC'de DAD dedektörde UV max dalga boyu 332 nm olan pik toplandı. Farklı saflıklarda olmak üzere yaklaşık 150 mg elde edildi (Şekil 4.10). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) δ 7,03 (brs), 6,75 (d, J=6 Hz), 6,99 (d, J=6 Hz), 2,96 (brd, J=12 Hz), 2,92 (dd, J=13,8; 9,6 Hz), 6,22 (d, J=12Hz), 6,50 (d, J=2 Hz), 6,65 (brs), 6,63 (d, J=6 Hz), 7,45 (d, J=18 Hz) ve 5.01'de (m) görülen pikler sırasıyla H-2, H-5, H-6, H-7a, H-7b, H-8, H-2', H-5', H-6', H-7' ve H-8' protonlarına aittir (Exarchou ve ark. 2001), (Guan ve ark. 2017). Validasyonu yapılmış olan metod ile LC-MS-IT-TOF'ta çalışıldığında bu maddenin rosmarinik asit standardı ile aynı alıkonma zamanına sahip olduğu görüldü ve izlenen [M-H]⁻ piki (m/z 359.0772 (C₁₈H₁₆O₈)) ile L-77 maddesinin rosmarinik asit olduğu doğrulandı. Çizelge 4.20.'de L-77'nin ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 4.11-4.14.).

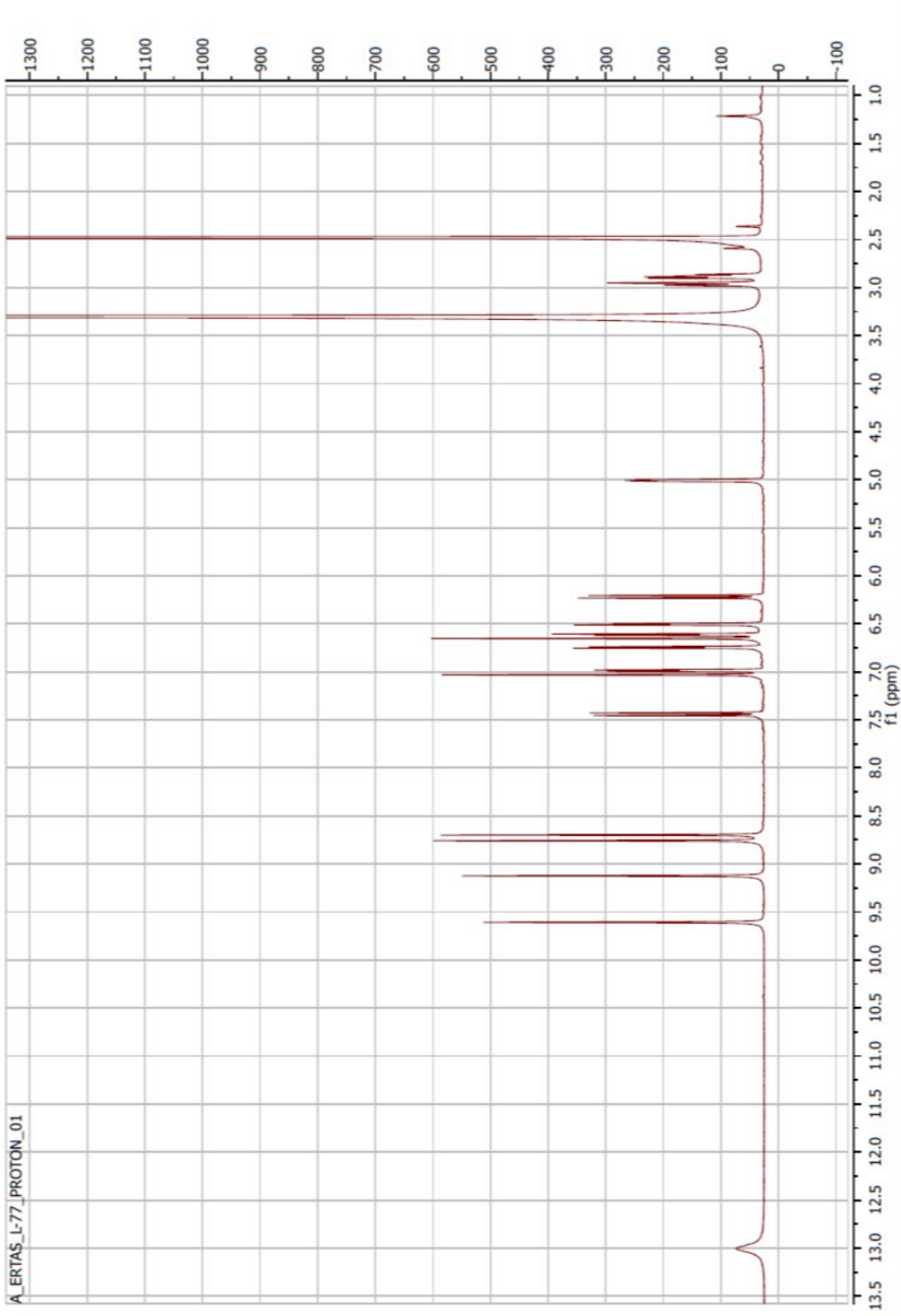


Şekil 4. 10. Rozmarinik asit

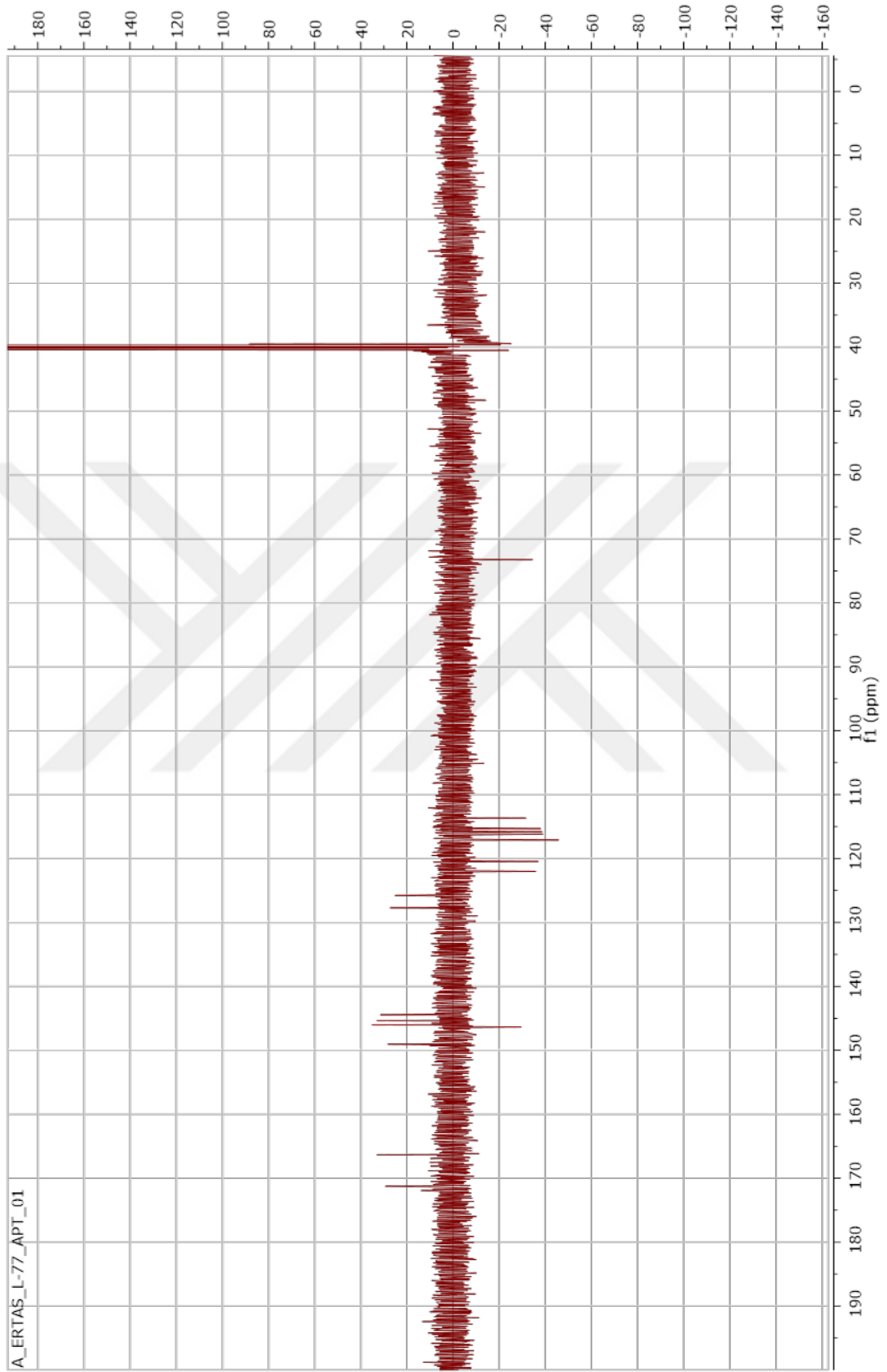
Çizelge 4. 20. Rozmarinik asit bileşiminin NMR değerleri

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

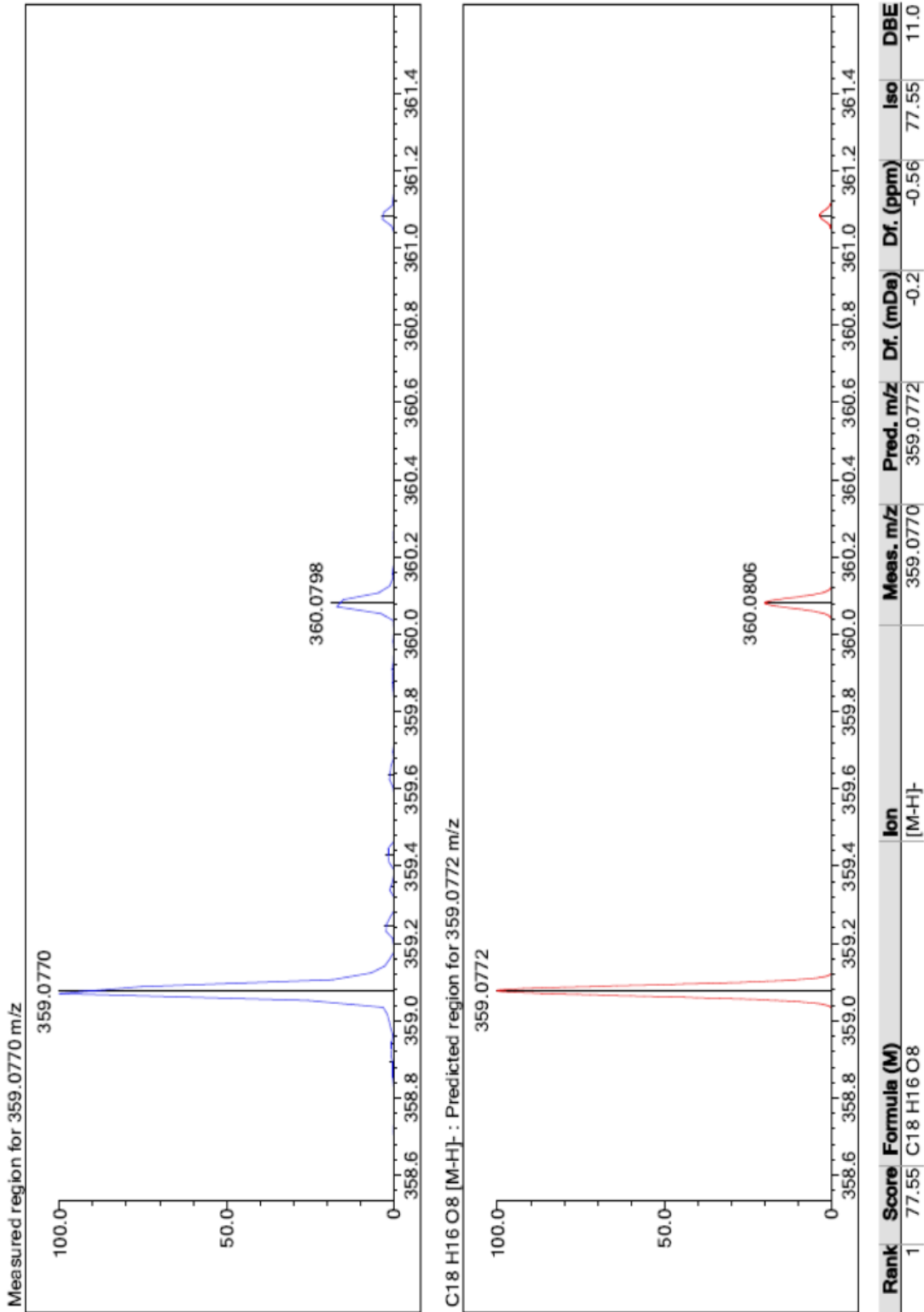
4.BULGULAR VE TARTIŞMA



Şekil 4. 11. Rozmarinik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



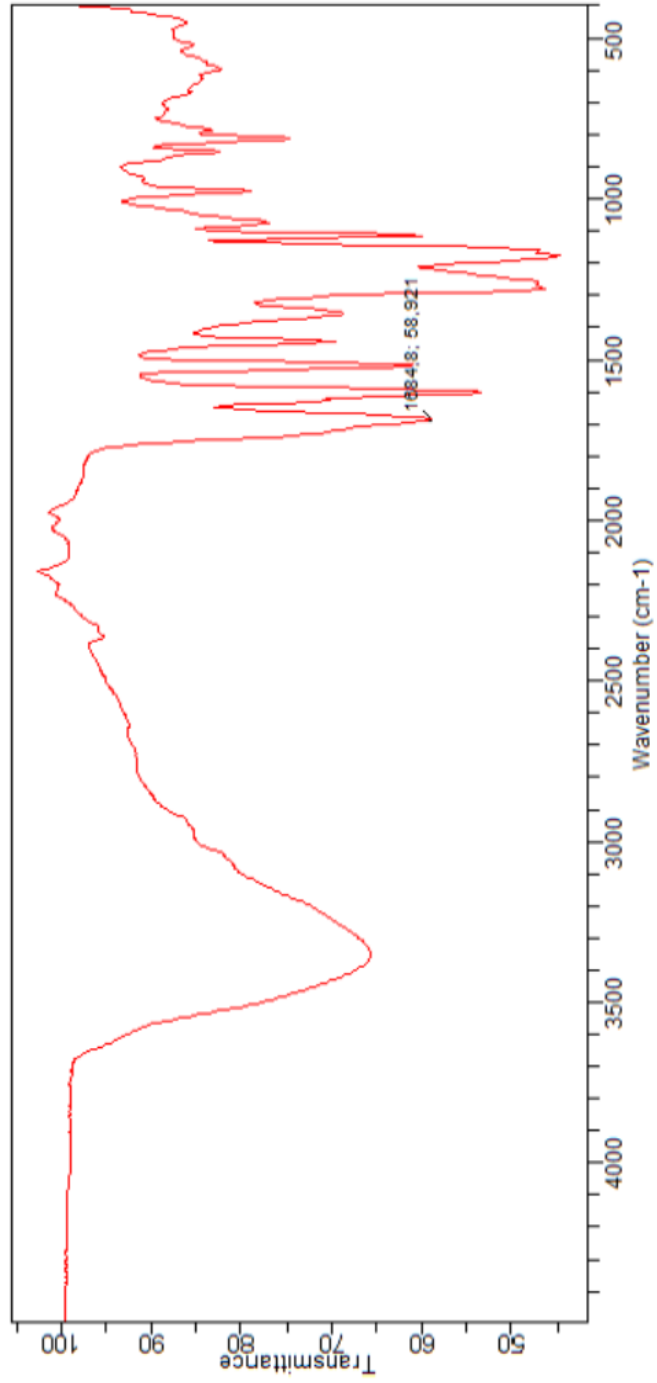
Şekil 4. 12. Rozmarinik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



Şekil 4. 13. Rozmarinik asit LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID: ROSMARINİK ASİT
Sample Scans: 128
Background Scans: 128
Resolution: 8
System Status: Good
File Location: C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\ROSMARINİK ASİT_2018-05-10T14-37-23.a2r

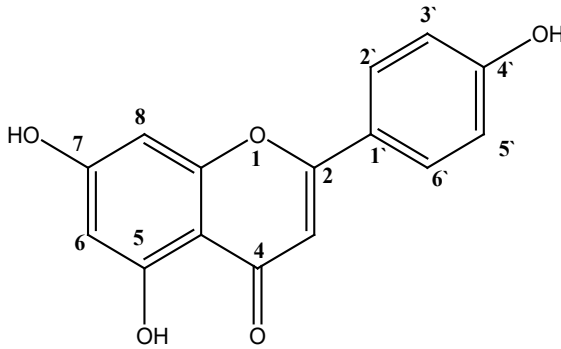
Method Name: zeynep
User: Admin
Date/Time: 05.10.2018 2:37:23
Range: 4500 - 400
Apodization: Triangular



Şekil 4. 14. Rozmarinik asit bileşiğinin IR spektrumu

4.14.2. Apigenin

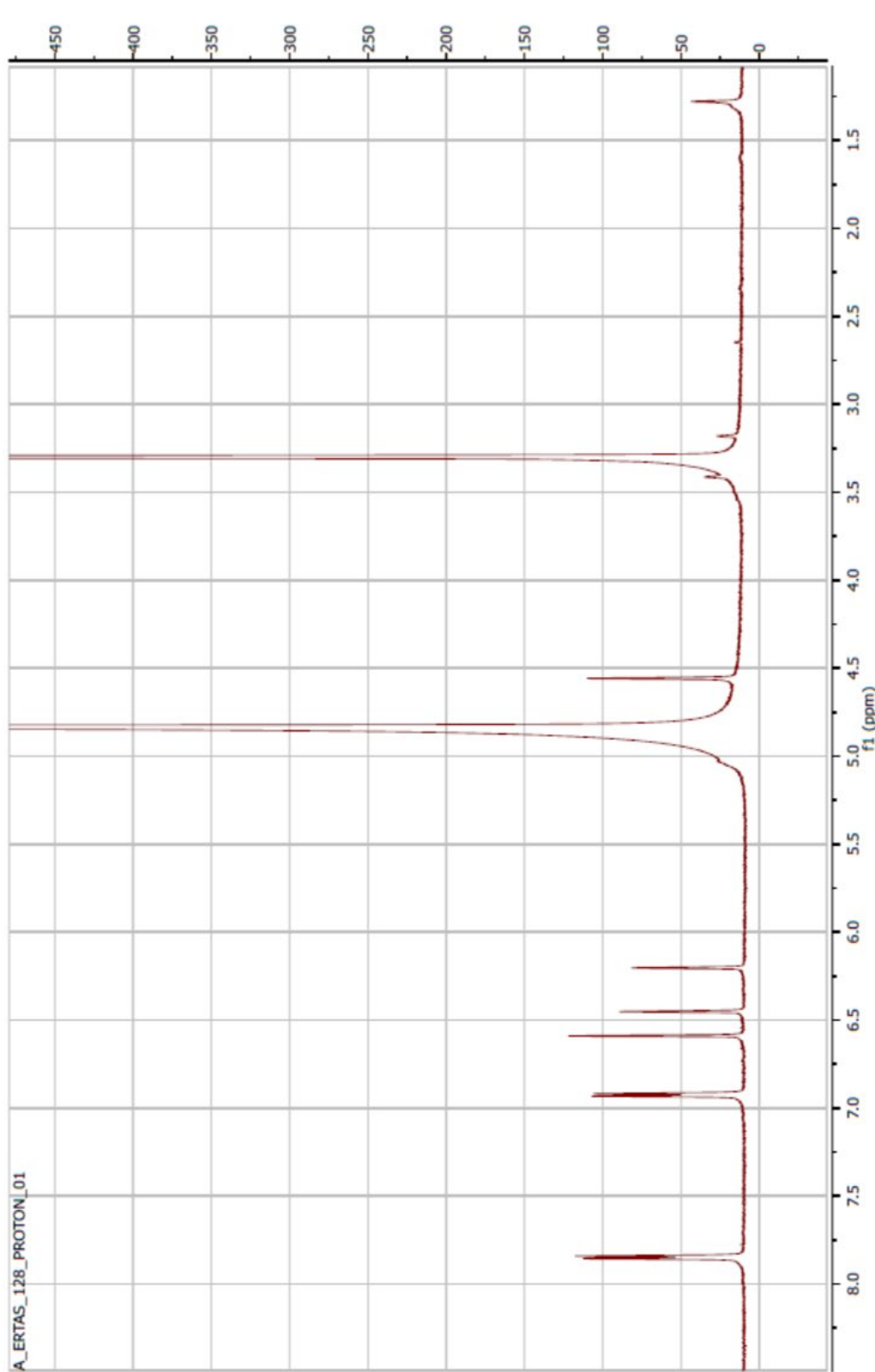
Toprak üstü kısımların etanol ekstralarının %50 Aseton/Metanol ve sonrası fraksiyonları birleştirilip C-18 kolonda MeOH/SU:70/50 sabit çözücü sisteminden geçirilerek alt fraksiyonlara ayrıldı. Bu alt fraksiyonların MeOH/Su:50/50 çözücü sisteminde preparatif HPLC’de 342 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon veren pik toplandı. Toplam 20 mg sarımsak renkte toz halinde elde edildi (Şekil 4.15.). ¹H-NMR spektrumunda (CD₃OD, 600 MHz) δ 6.59s, 6.20s, 6.45s, 7.85 d (*J*=8.4 Hz) ve 6.92 d (*J*=7.8 Hz) ppm’de proton sinyalleri izlendi. Aromatik bölgede izlenen proton sinyalleri yapının fenolik veya flavonoid yapısında olabileceğini düşündürdü. İleri NMR teknikleri ile çalışılmadan önce LC-MS-IT-TOF sistemi ile madde analiz edildi. Bu bileşik validasyonu yapılmış metot ile çalışıldığında apigenin ile aynı alıkonma süresine sahip olduğu belirlendi. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen *m/z* 269.0450 [M-H]⁻ piki C₁₅H₁₀O₅ kapalı formülünü önerdi. NMR ve kütle spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında bu bileşiğin apigenin olduğu doğrulandı (Ulubelen ve ark. 1994), (Alwahsh ve ark. 2015). Çizelge 4.21.’de C-128 kodlu bileşiğin ¹H ve ¹³C NMR değerleri verildi (Şekil 4.16-4.19.).



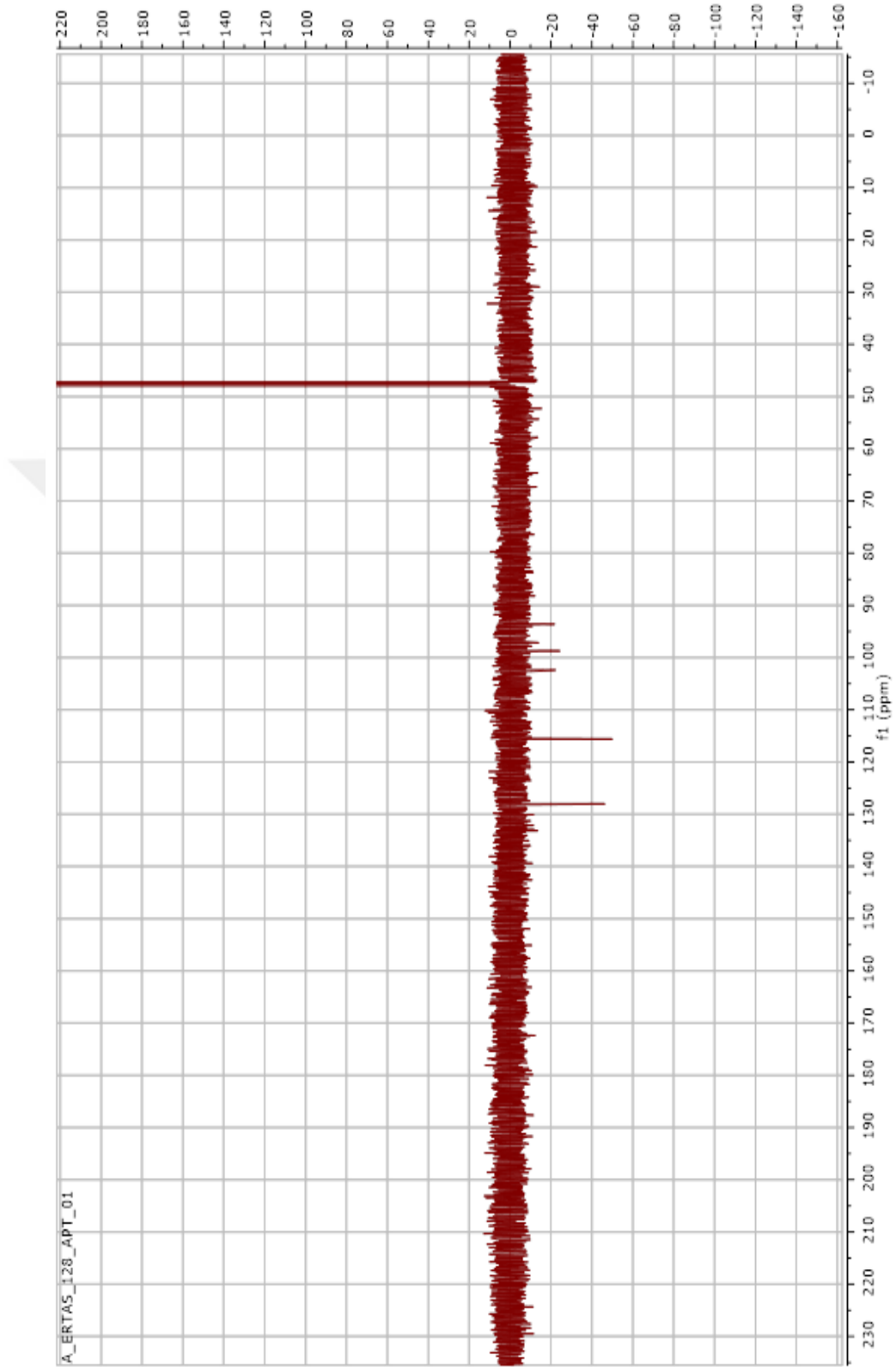
Şekil 4. 15. Apigenin

Çizelge 4. 21. Apigenin bileşiğinin ¹H NMR değerleri

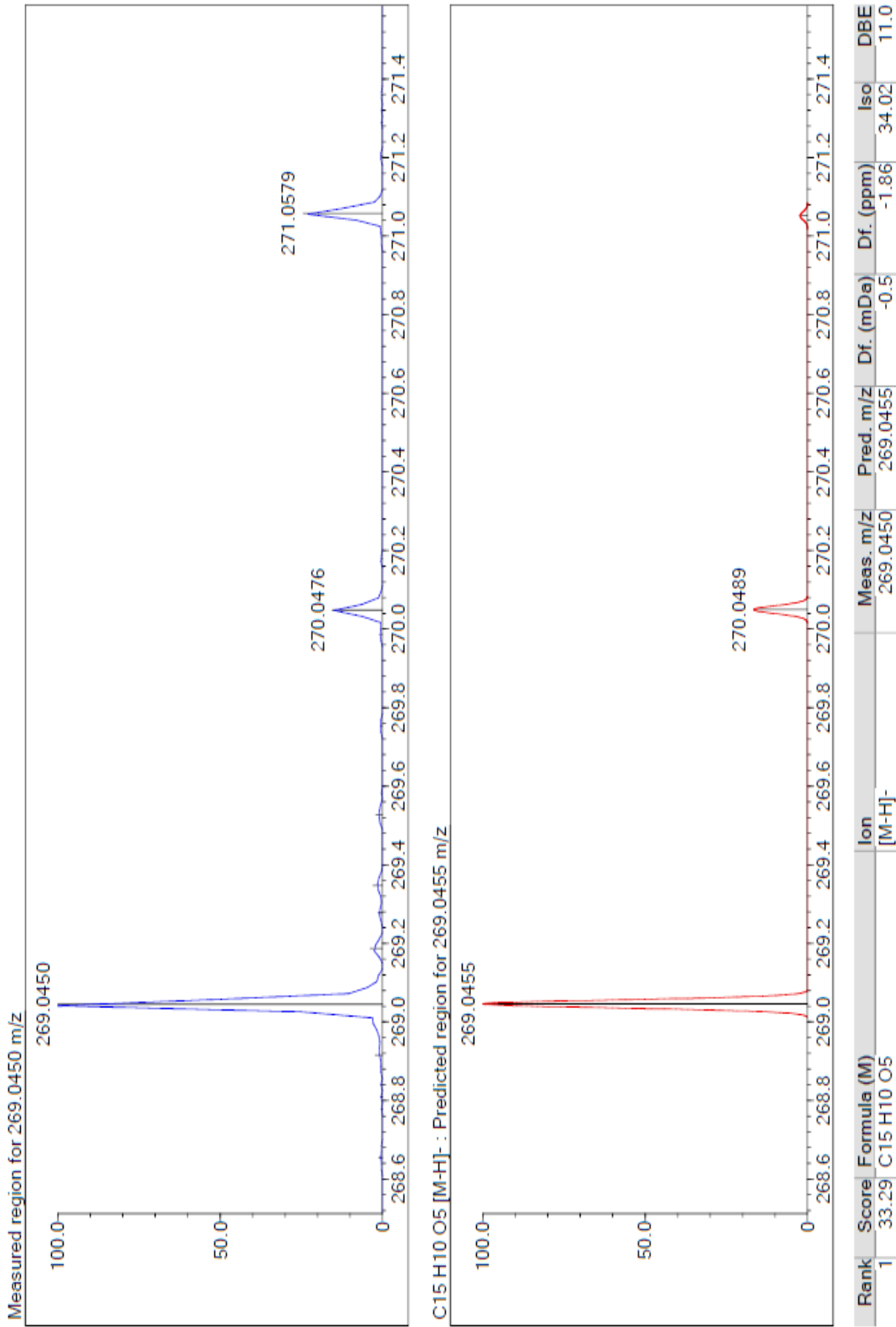
Pozisyon	¹ H-NMR
1	-
2	-
3	6.59s
4	-
5	-
6	6.20s
7	-
8	6.45s
9	-
10	-
1'	-
2', 6'	7.85 <i>d</i> (<i>J</i> =8.4 Hz)
3', 5'	6.92 <i>d</i> (<i>J</i> =7.8 Hz)
4'	-
5-OH	-



Şekil 4. 16. Apigenin bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)



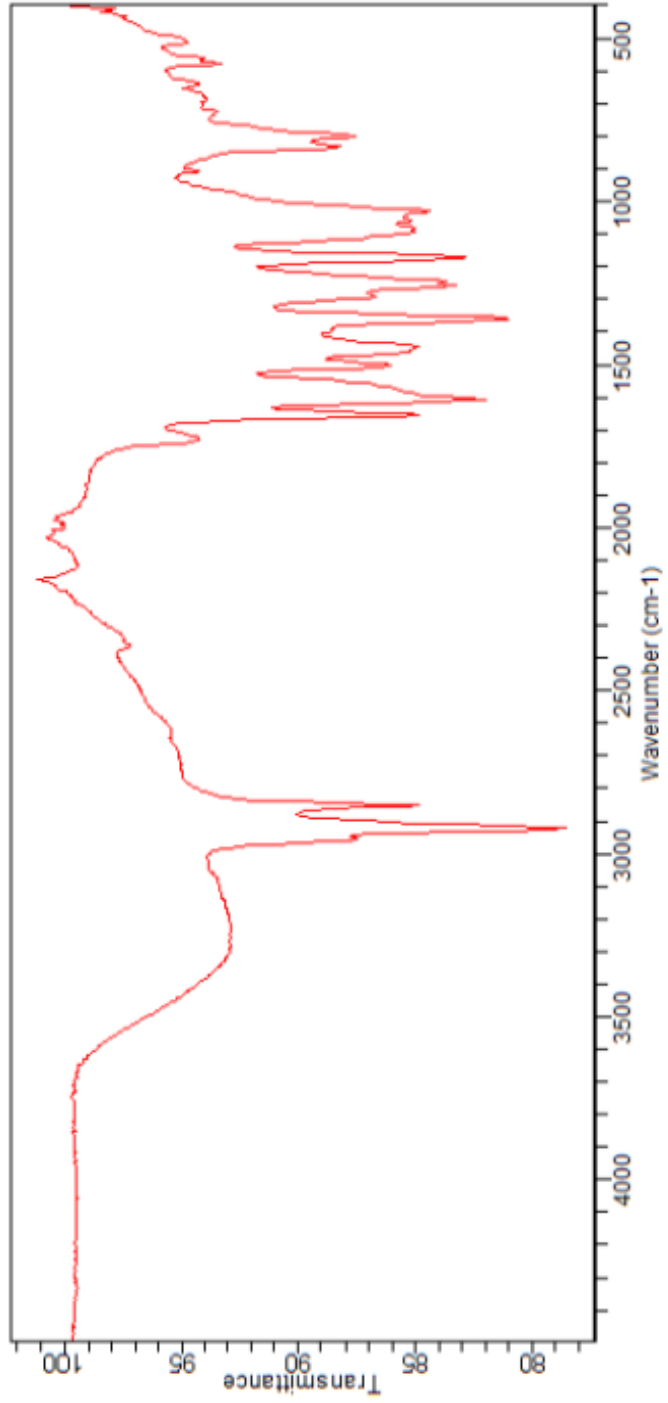
Şekil 4. 17. Apigenin bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



Şekil 4. 18. Apigenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

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

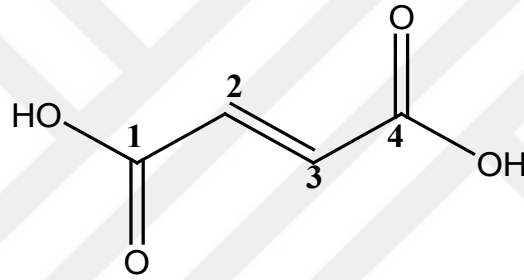
Method Name: zeynep
User: Admin
Date/Time: 05.09.2018 5:27:31
Range: 4500 - 400
Apodization: Triangular



Şekil 4. 19. Apigenin bileşiğinin IR spektrumu

4.14.3. Fumarik Asit

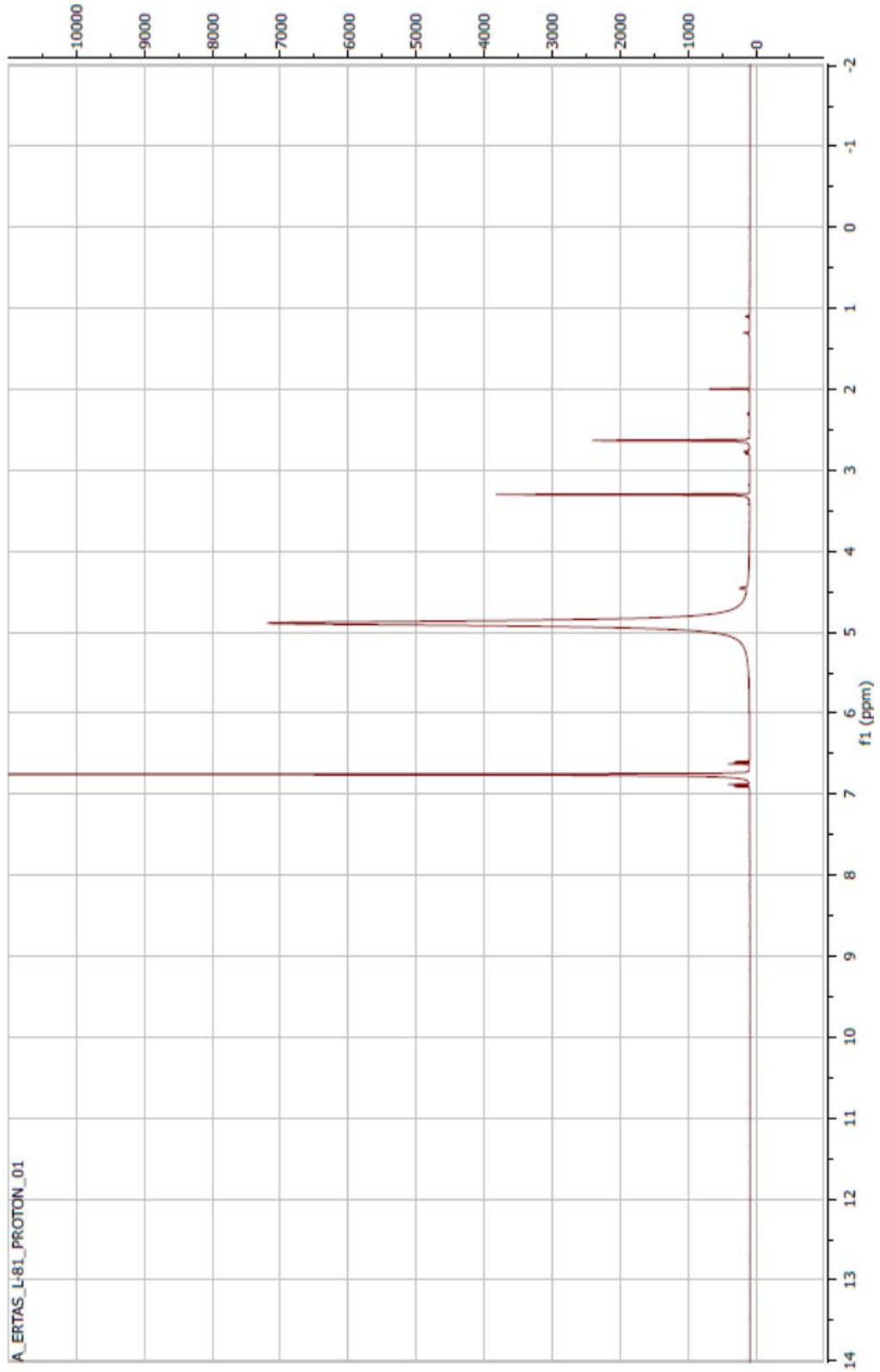
S. siirtica'nın toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinden preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle aseton/MeOH:9.5/0.5 çözücü sisteminde elde edildi. Beyaz katı halde yaklaşık 10 mg elde edildi (Şekil 4.20.). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) spektrumunda δ 6,76 ppm'de rezonans olan singlet protonunu izlendi. Moleküldeki tek protonun olefinik proton olduğu düşünüldü. APT (150 MHz, CD_3OD) spektrumu incelendiğinde δ 135.33 ve δ 167.82 ppm'de rezonans olan sırasıyla 1 metin ve 1 katerner karbon görüldü. NMR değerleri maddenin simetrik olabileceğini düşündürdü. Literatür araştırması sonucu bitkilerde bol bulunan organik asitlerden biri olan fumarik asit olduğu belirlendi (Selyani ve Dinçer 2018). Çizelge 4.22.'de bu bileşiğin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 4.21-4.22.).



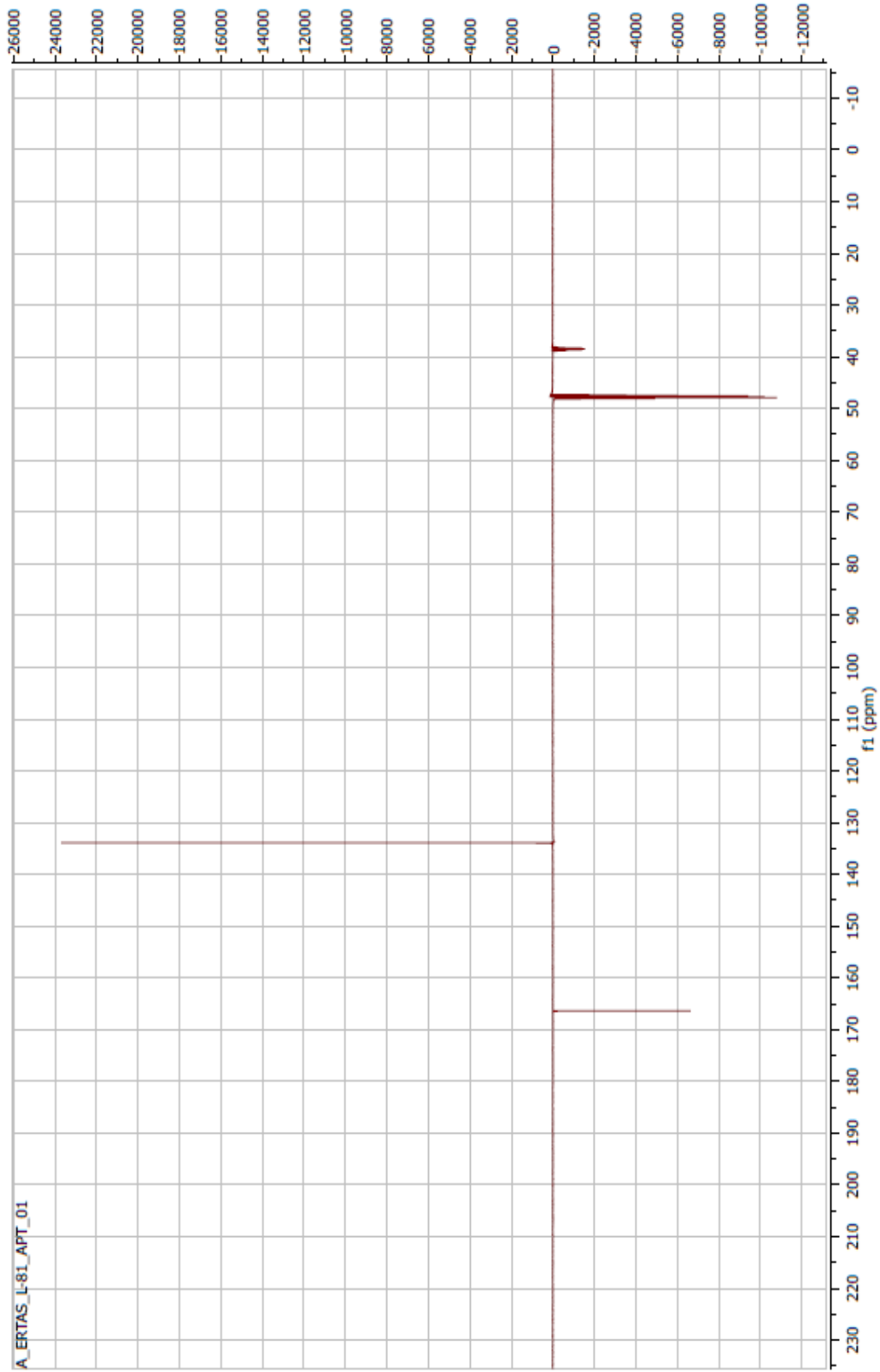
Şekil 4. 20. Fumarik asit

Çizelge 4. 22. Fumarik asit bileşiğinin NMR değerleri

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



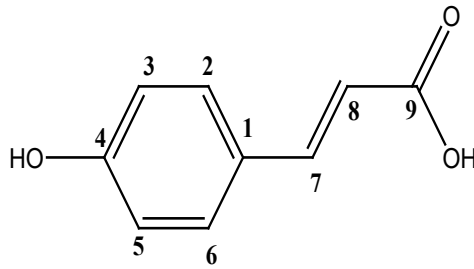
Şekil 4. 21. Fumarik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



Şekil 4. 22. Fumarik asit bileşiğinin ¹³C NMR (APT) spektrumu (CD₃OD, 150 MHz)

4.14.4. p-Kumarik Asit

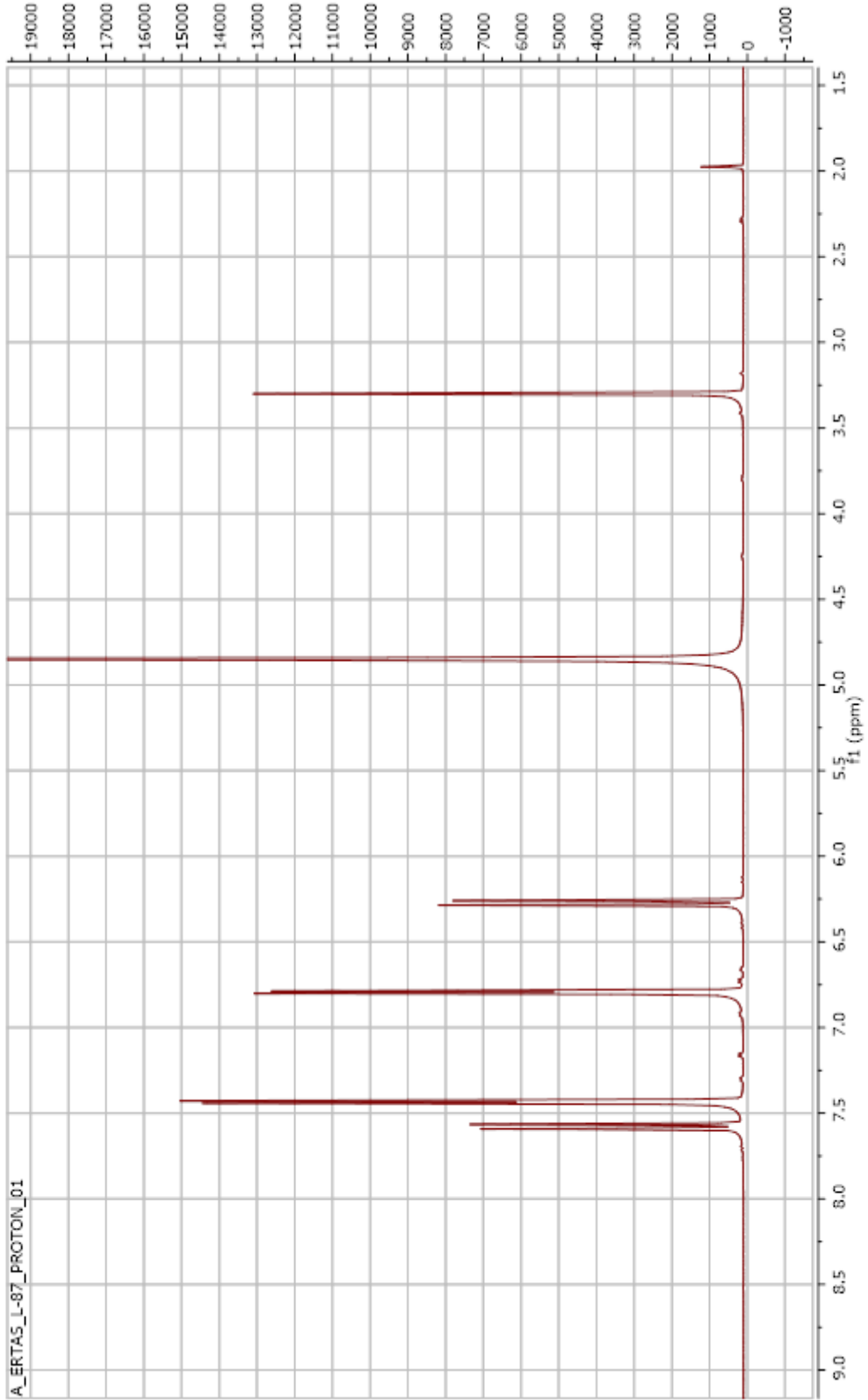
S. siirtica'nın toprak üstü kısmının etanol ekstresinin polar fraksiyonlarından preparatif HPLC ile elde edildi. HPLC'de 310 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren pik toplandı. Toplam 22 mg sarımsak renkte toz halde elde edildi (Şekil 4.23.). $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CD_3OD , 600 MHz) δ 7.44 (*d*, $J=8.4$ Hz, 2H) ve 6,80 (*d*, $J=7.8$ Hz, 2H) ppm'de aromatik bölge sinyalleri izlendi. δ 6.27 ve 7.58 ppm'de izlenen sinyallerin 15.6 Hz'lik bölünmesi bu iki protonun *cis* pozisyonunda olduğunu düşündürdü. APT (CD_3OD , 150 MHz) spektrumunda çift bağların bulunduğu bölgede δ 131.1, 116.9, 146.37 ve 116.1 ppm'de karbonları izlendi. Sinyallerin integralleri incelendiğinde ve proton NMR ile değerlendirildiğinde δ 131.1 ve 116.9 ppm'de izlenen karbon sinyallerinin 2 şer karbona karşılık geldiği anlaşıldı. Ayrıca δ 127.4 ppm'de çift bağ taşıyan, δ 161.2 ppm'de oksijenlenmiş ve δ 171.3 ppm'de karbonil olmak üzere katerner karbonlar izlendi. LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 163.0390 $[\text{M-H}]^-$ piki $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ kapalı formülünü önerdi. NMR ve kütle spektrumları birlikte değerlendirildiğinde ve literatür verileri ile kıyaslandığında bu bileşiğin p-kumarik asit olduğu doğrulandı (Viswanath ve ark. 2017). Çizelge 4.23.'te bu bileşiğin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 4.24-4.27.).



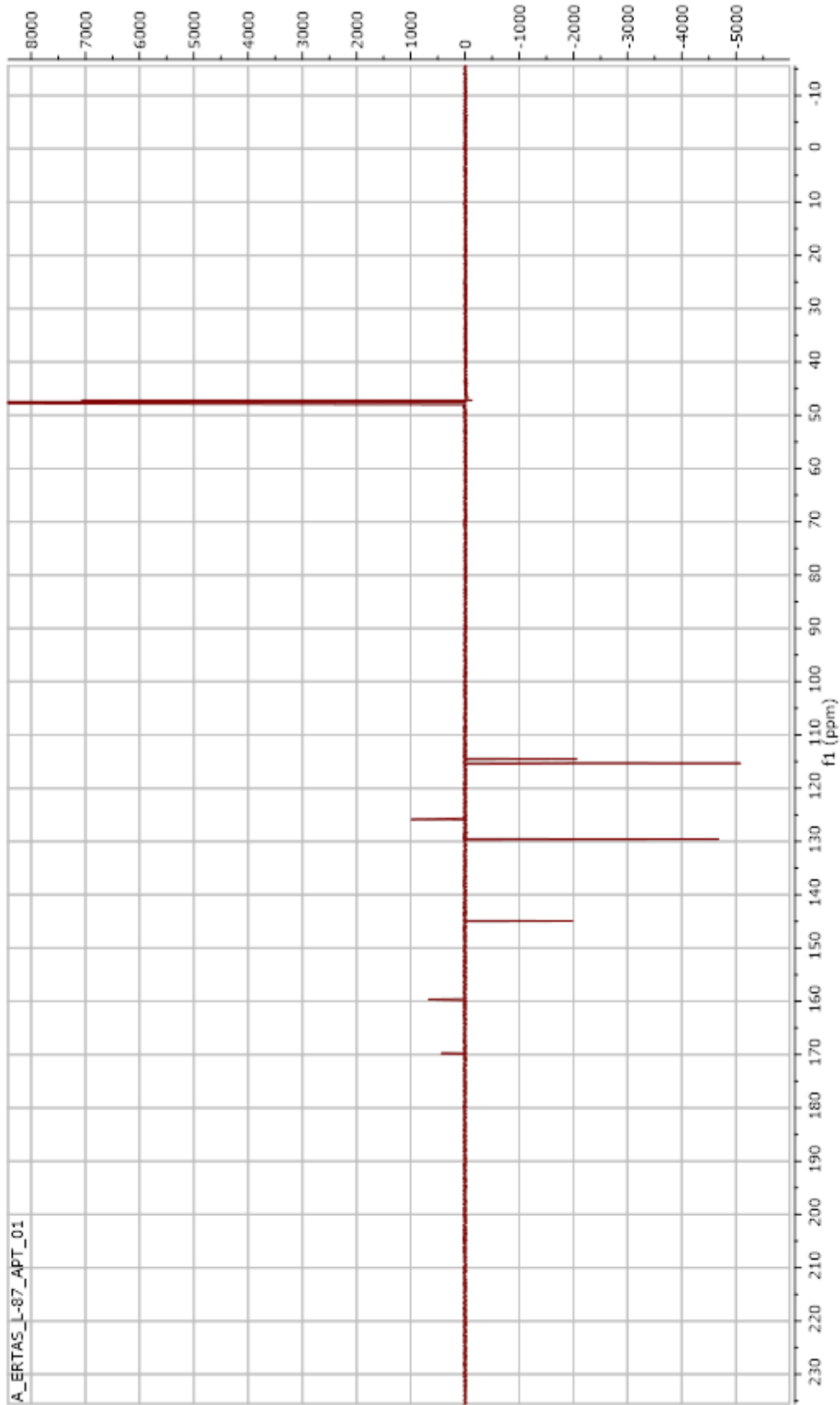
Şekil 4. 23. p-Kumarik asit

Çizelge 4. 23. p-Kumarik asit bileşiminin NMR değerleri

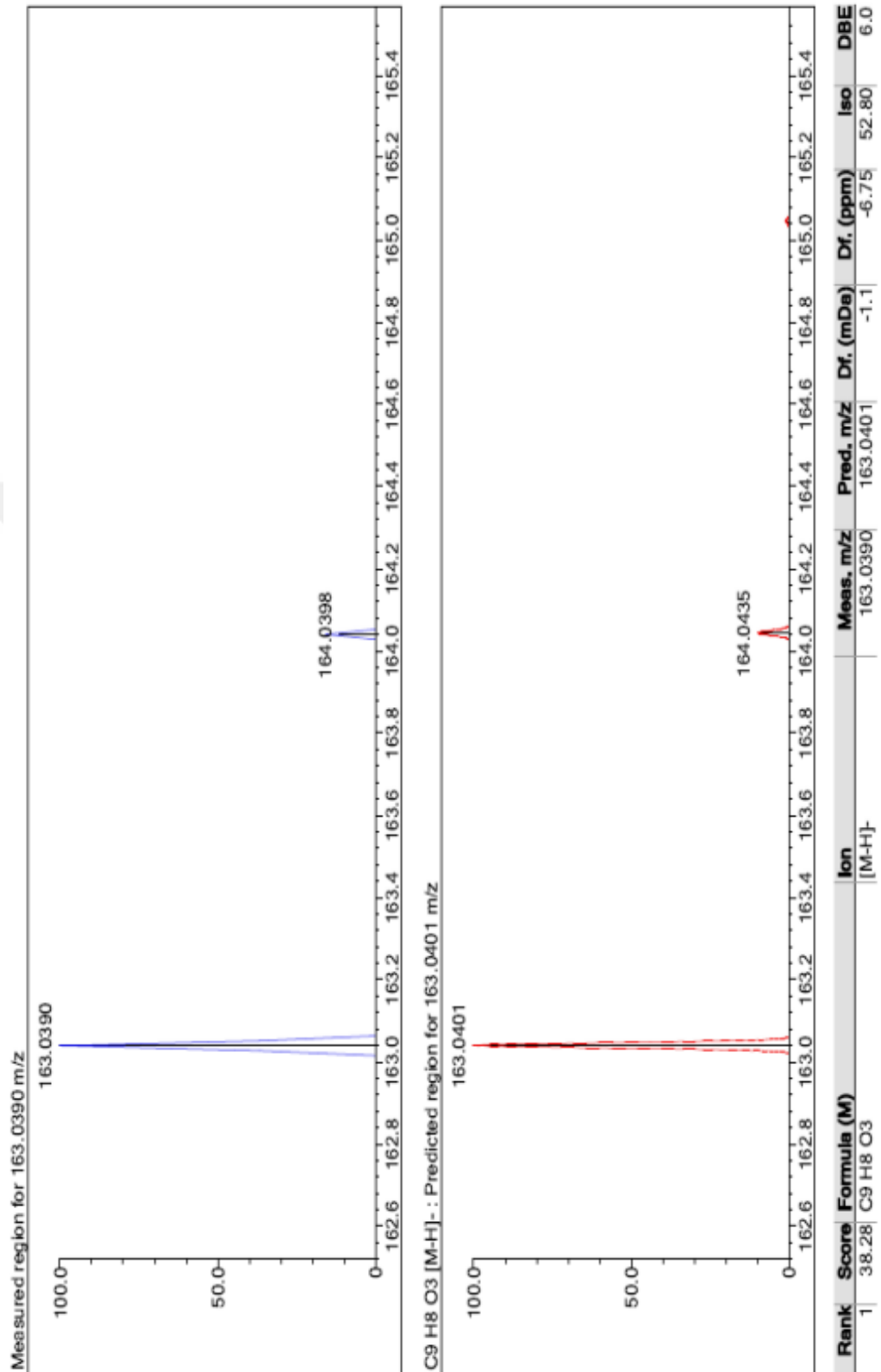
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	127.4	-
2	131.1	7.44 <i>d</i> (<i>J</i> =8.4 Hz)
3	116.9	6,80 <i>d</i> (<i>J</i> =7.8 Hz)
4	161.2	-
5	116.9	6,80 <i>d</i> (<i>J</i> =7.8 Hz)
6	131.1	7.44 <i>d</i> (<i>J</i> =8,4 Hz)
7	146.4	6.27 <i>d</i> (<i>J</i> =15.6 Hz)
8	116.1	7.58 <i>d</i> (<i>J</i> =15.6 Hz)
9	171.3	-



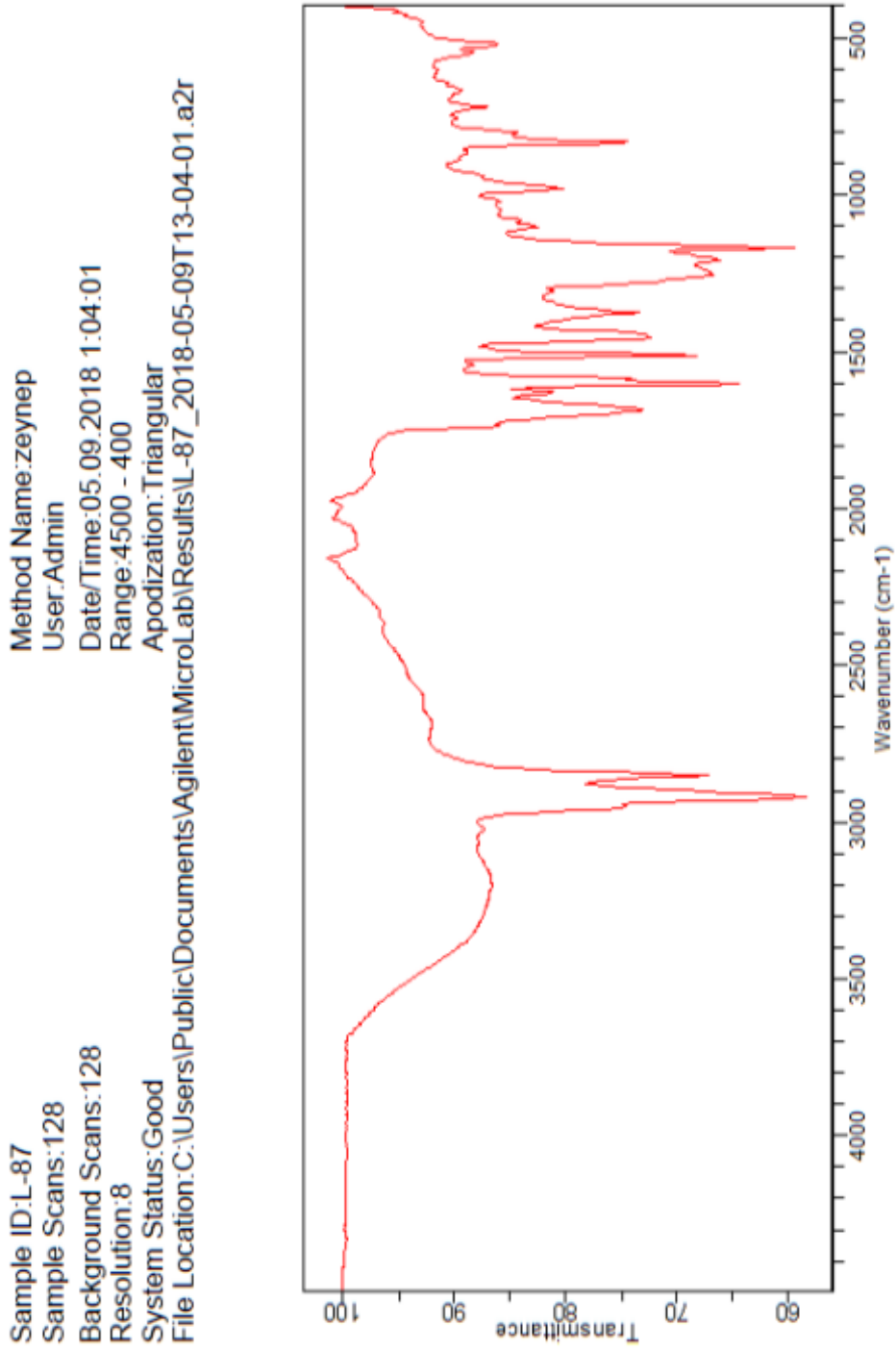
Şekil 4. 24. p-Kumarik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



Şekil 4. 25. p-Kumarik asit bileşiğinin ¹³C NMR (APT) spektrumu (CD₃OD, 150 MHz)



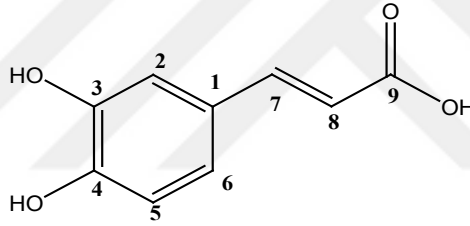
Şekil 4. 26. p-Kumarik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı



Şekil 4. 27. p-Kumarik asit bileşiğinin IR spektrumu

4.14.5. Kafeik Asit

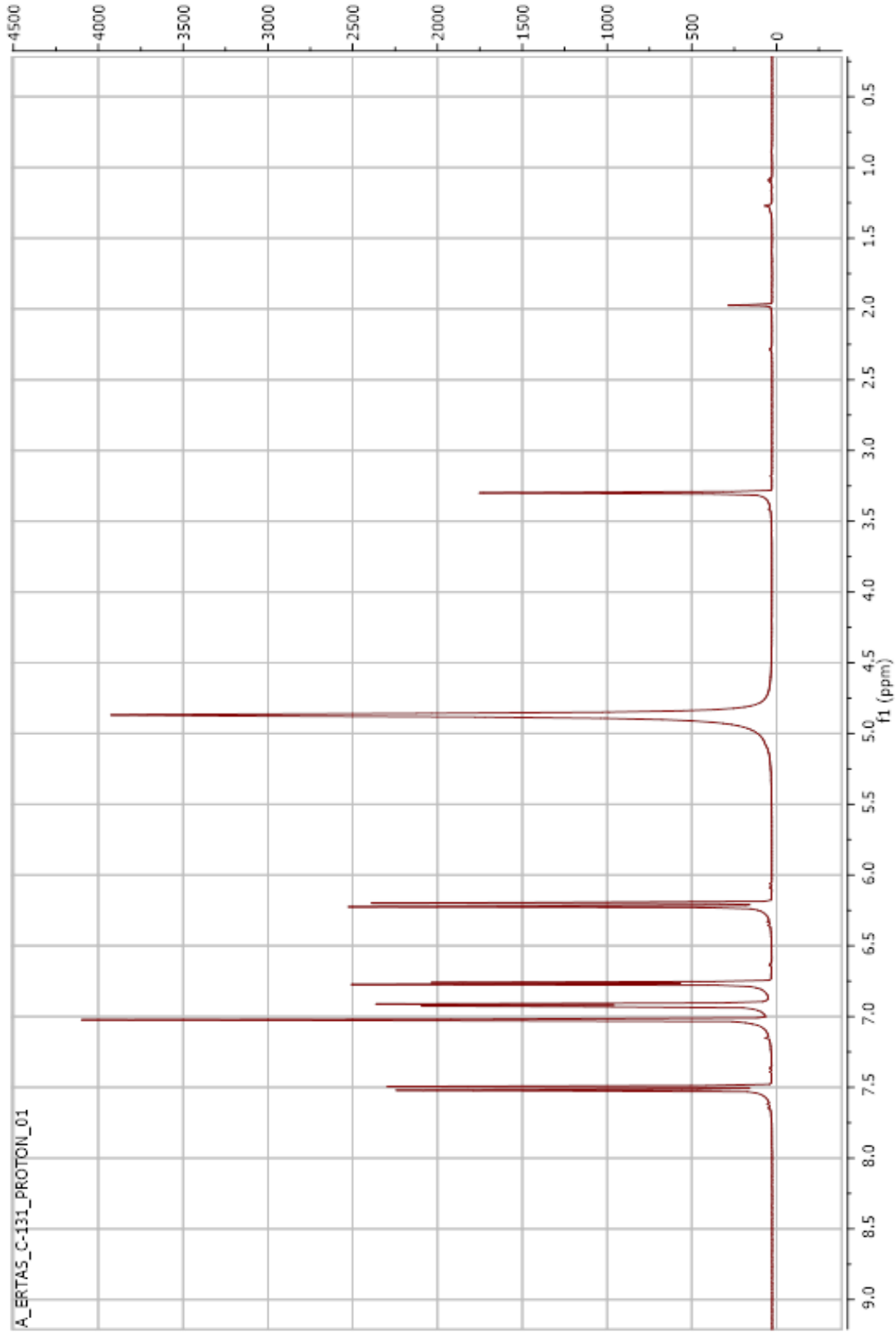
S. siirtica'nın kök kısımlarının etanol ekstratlarından preparatif HPLC ile elde edildi. Beyaz katı halinde 72 mg olarak elde edildi (Şekil 4.28.). $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CD_3OD , 600 MHz) δ 7,02 brs, 6,77 d ($J=7.8$ Hz), 6,92 d ($J=7.8$ Hz), 7,51 d ($J=15.6$ Hz) ve 6,23 d ($J=15.6$ Hz) ppm'de sinyalleri izlendi. APT (CD_3OD , 150 MHz) spektrumunda çifte bağ bölgesinde, δ 116.6, 122.9, 146.8 ve 115.2 ppm'de karbon sinyalleri izlendi. Ayrıca δ 128.04, 146.9 ve 149.5 ppm'de 3 adet katerner karbon ve δ 171.4 ppm'de karbonil katerner karbonu izlendi. LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen m/z 179.0332 $[\text{M-H}]^-$ piki $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ kapalı formülünü önerdi. $^1\text{H-NMR}$ ve APT spektrumları birlikte değerlendirildiğinde bu bileşiğin kafeik asit olduğu doğrulandı (Swislocka ve ark. 2012). Çizelge 4.24.'te bu bileşiğin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri verildi (Şekil 4.29-4.32.).



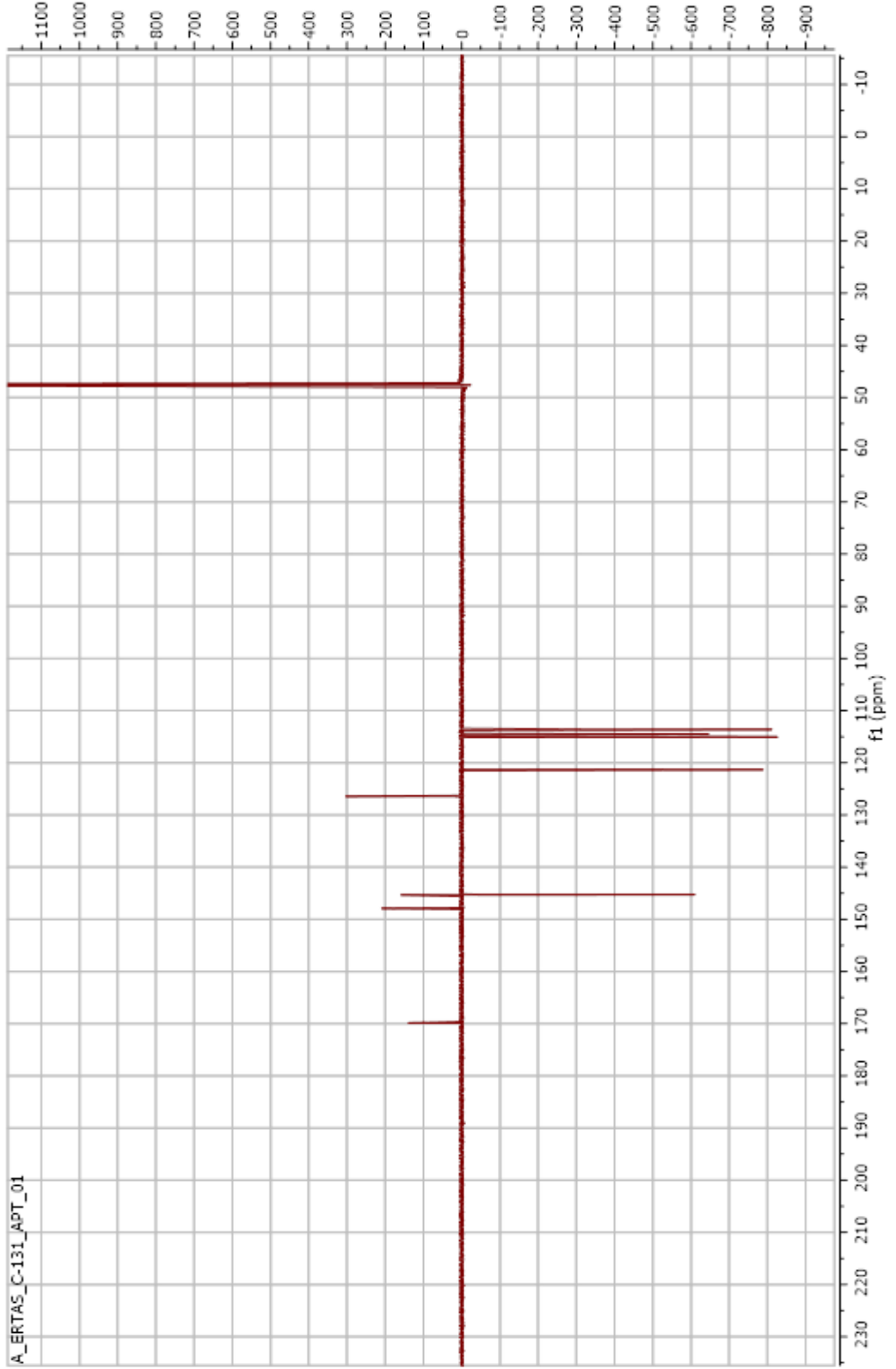
Şekil 4. 28. Kafeik asit

Çizelge 4. 24. Kafeik asit bileşiğinin NMR değerleri

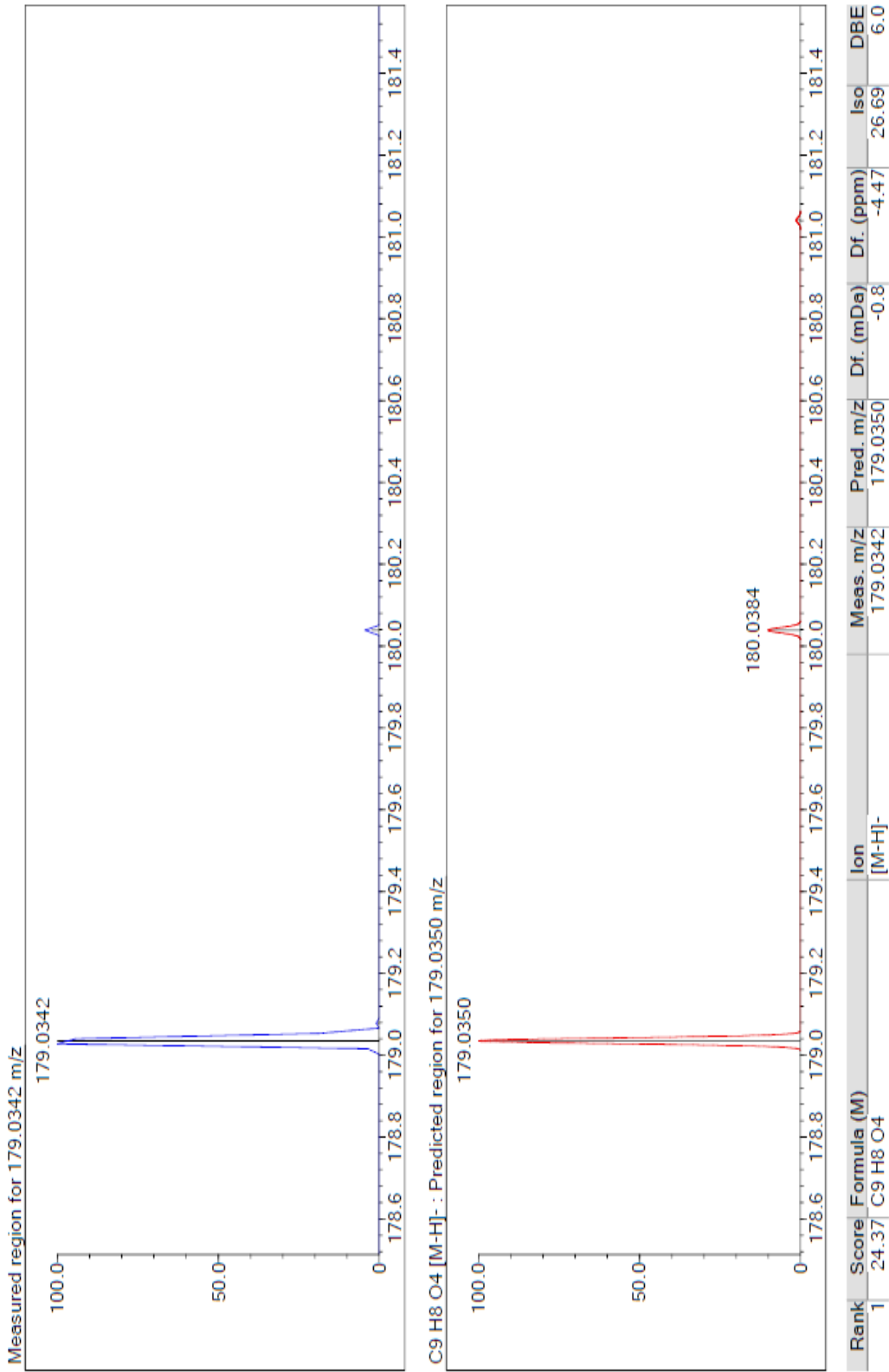
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	128.04	-
2	116.10	7,02 brs
3	146.90	-
4	149.50	-
5	116.60	6,77 d ($J=7.8$ Hz)
6	122.90	6,92 d ($J=7.8$ Hz)
7	146.80	7,51 d ($J=15.6$ Hz)
8	115.20	6,23 d ($J=15.6$ Hz)
9	171.40	-



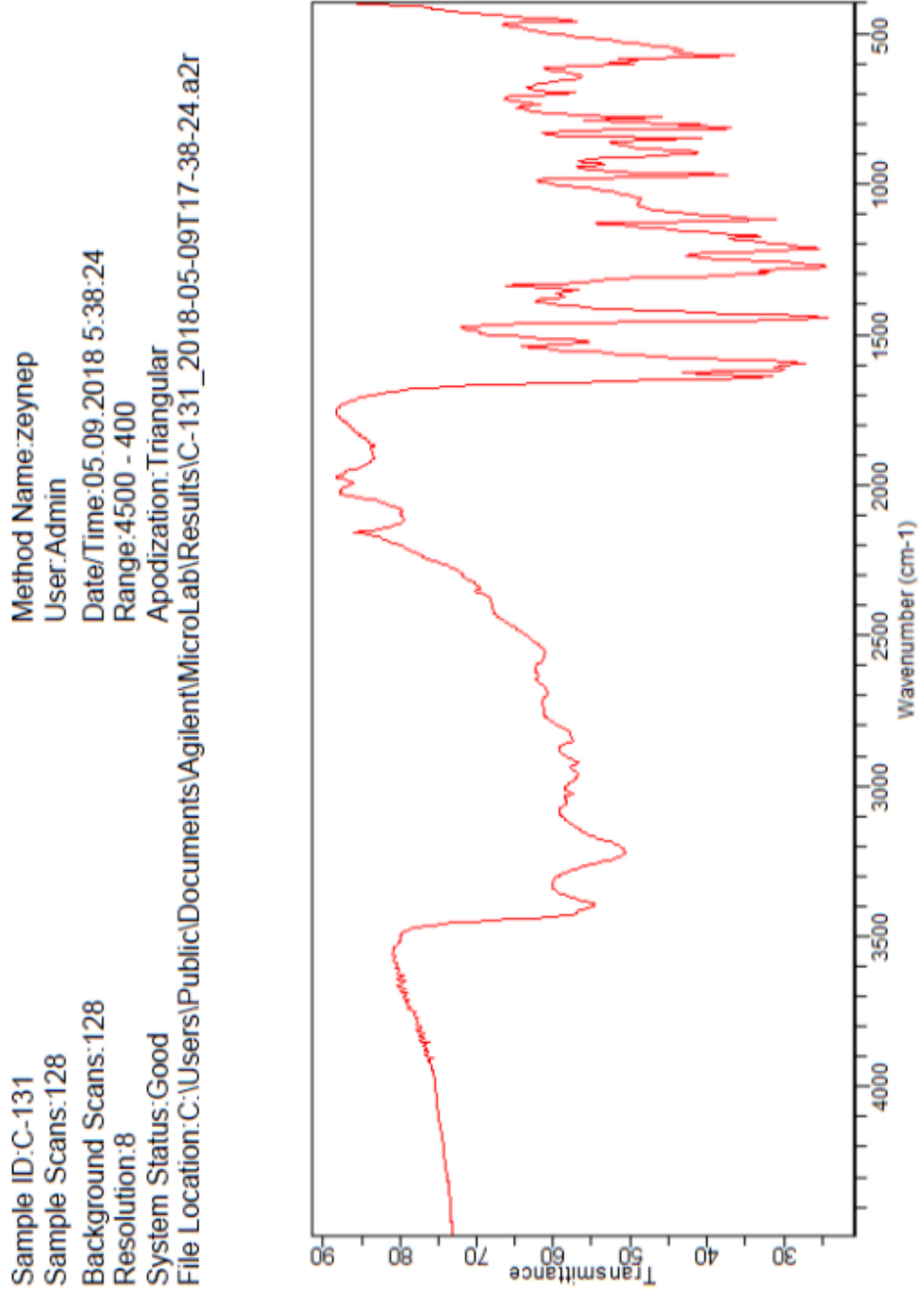
Şekil 4. 29. Kafeik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



Şekil 4. 30. Kafeik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



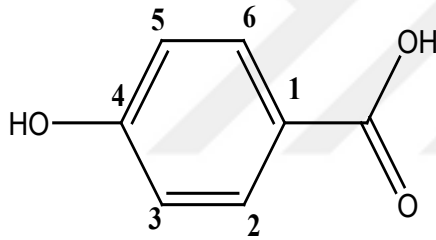
Şekil 4. 31. Kafeik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı



Şekil 4. 32. Kafeik asit bileşiminin IR spektrumu

4.14.6. 4-Hidroksi Benzoik Asit

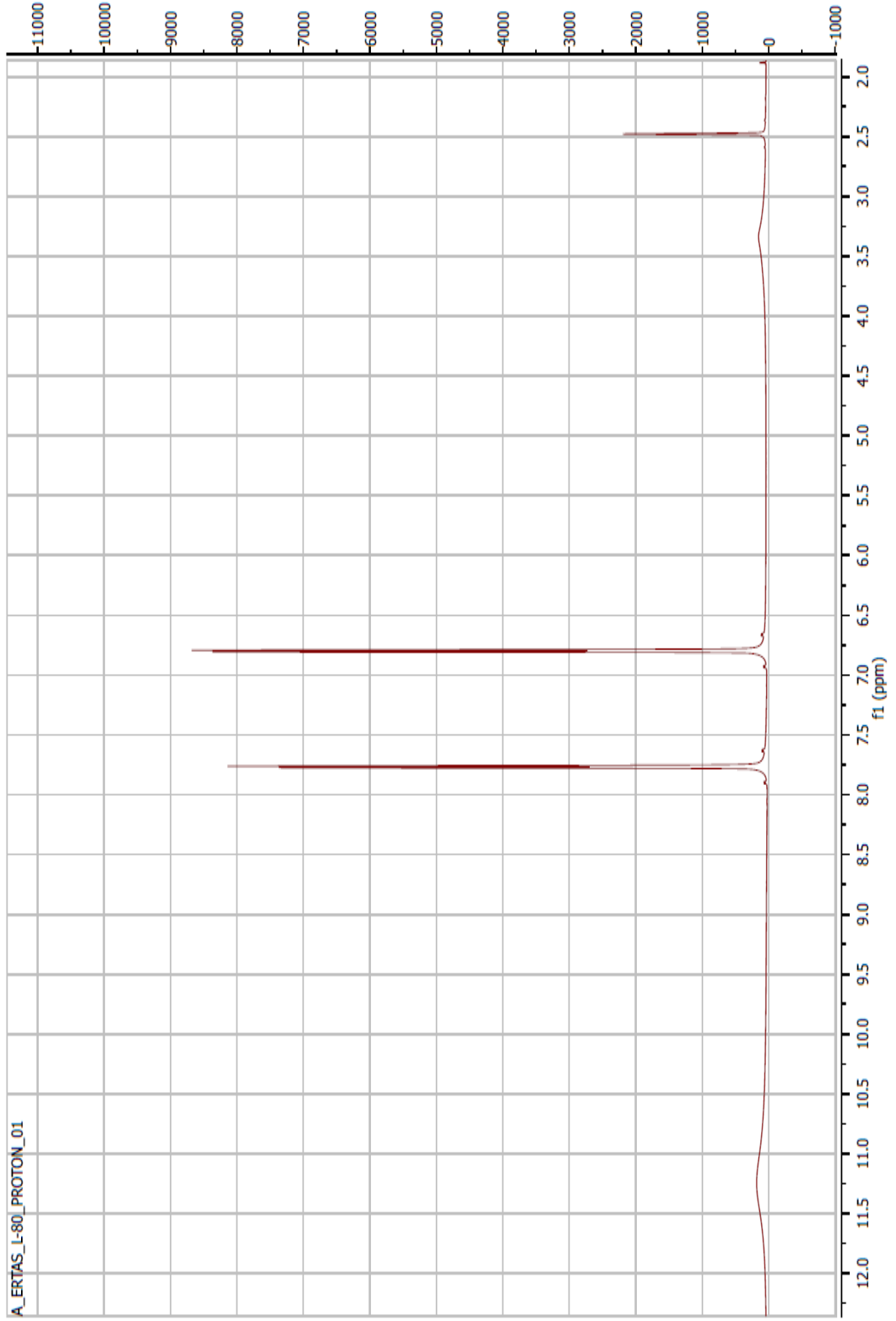
Preperatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle diklorometan/aseton:9.8/0.2 çözücü sisteminde elde edildi. 42 mg beyaz toz olarak elde edildi (Şekil 4.33.). Aynı zamanda preperatif HPLC ile MeOH/Su:1/1 çözücü sisteminde de elde edildi. Hem $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) hem de $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) da sadece fenolik bölgede ve 11.25 ppm'de yayvan pik vermesi bileşiğin basit bir fenolik asit olacağını düşündürdü. $^1\text{H-NMR}$ 'da 6,81 (J=7,4 Hz) ve 7,75 (J=8,2 Hz) ppm'de 2'şer protonluk pik vermesi yapının simetrik ve para konumunda –OH grubunun varlığına (2,4 ppm) işaret etmiştir. $^1\text{H NMR}$ sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ piki m/z 167,0354'e ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$) dayanarak bu bileşiğin 4-hidroksi benzoik asit olduğu saptandı ve NMR değerleri (Çizelge 4.25.) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Şekil 4.34-4.37.).



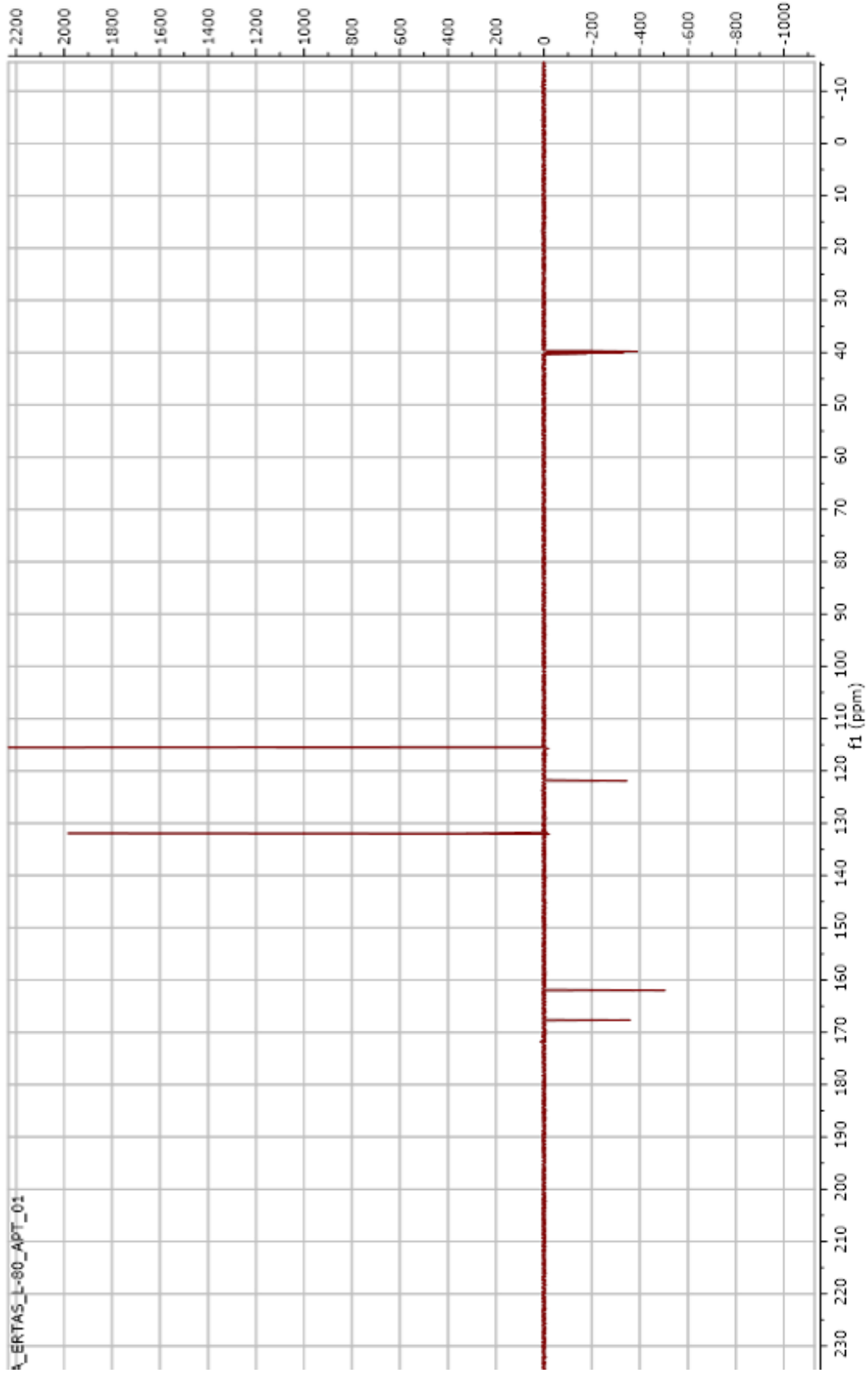
Şekil 4. 33. 4-Hidroksi benzoik asit

Çizelge 4. 25. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin NMR değerleri

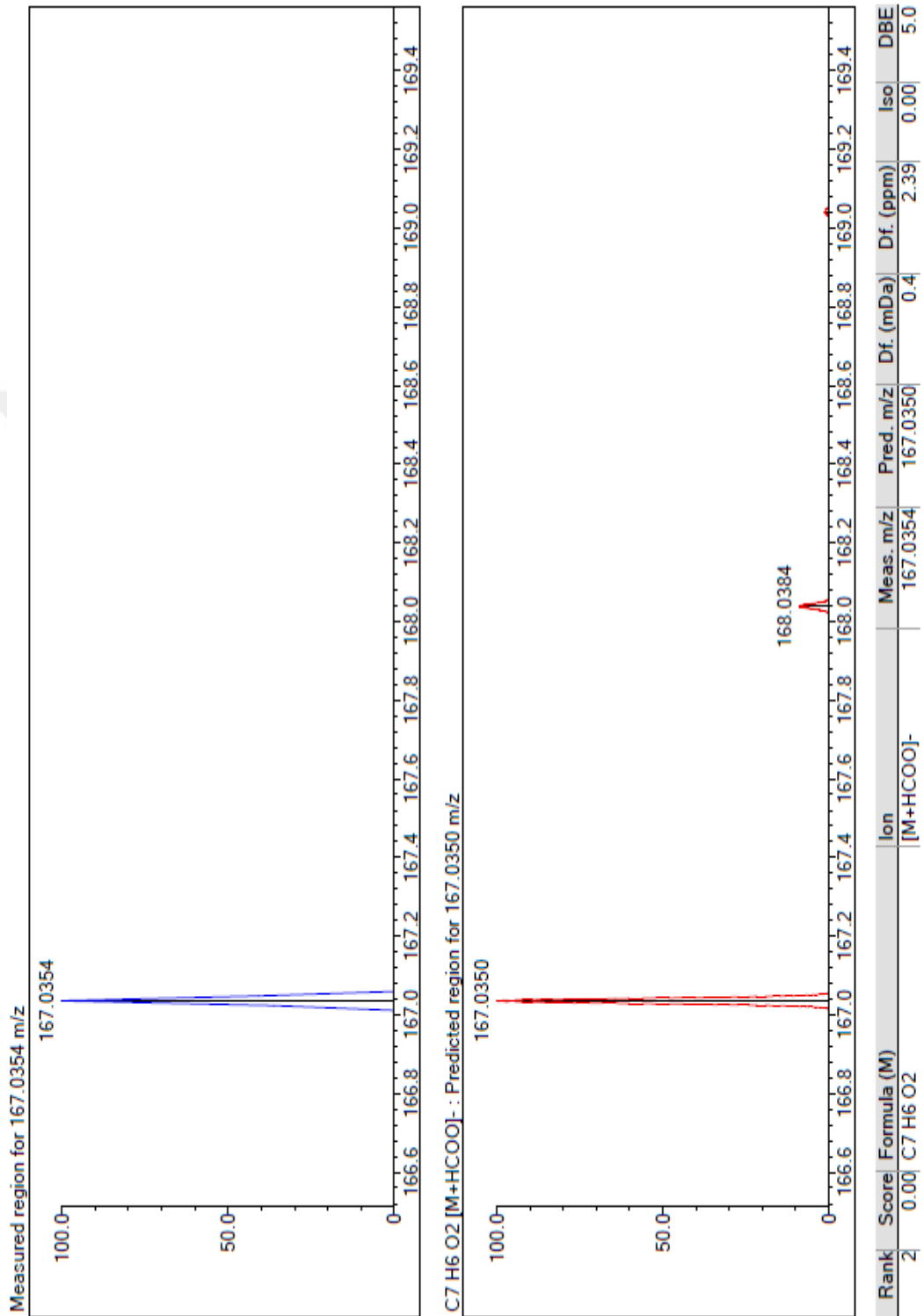
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	121,93	-
2	115,53	6,81 d (J=7,4 Hz)
3	131,93	7,75 d (J=8,2 Hz)
4	162,00	-
5	131,93	7,75 d (J=8,2 Hz)
6	115,53	6,81 d (J=7,4 Hz)
7-COOH	167,65	-



Şekil 4. 34. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



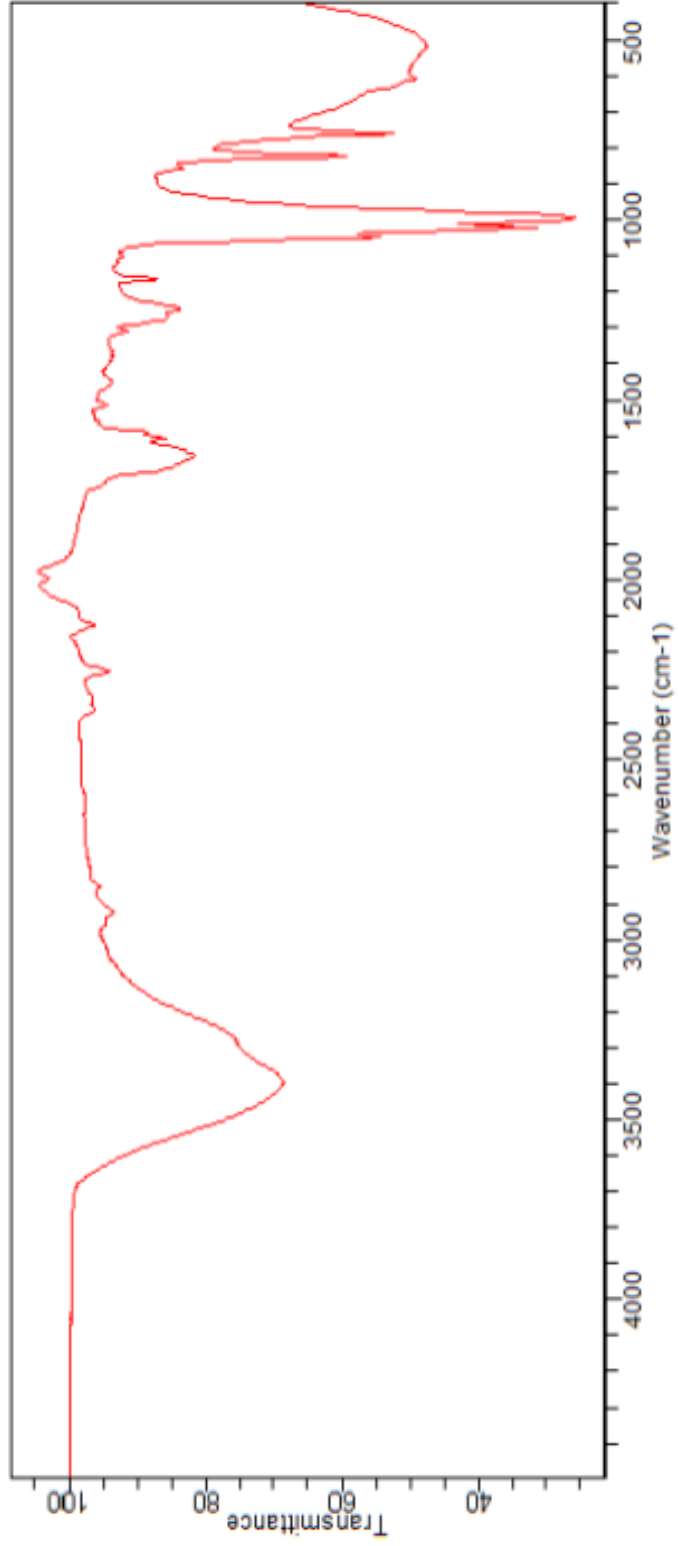
Şekil 4. 35. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin ¹³C NMR (APT) spektrumu (CD₃OD, 150 MHz)



Şekil 4. 36. 4-Hidroksi benzoik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

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

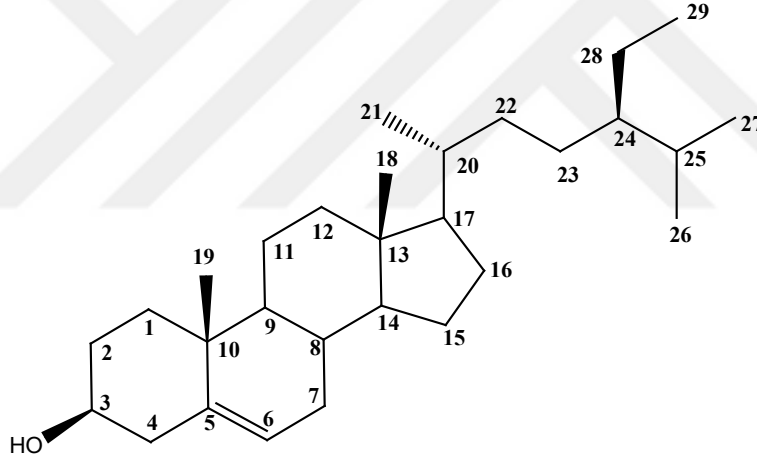
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.09.2018 1:10:57
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 37. 4-Hidroksibenzoik asit bileşiğinin IR spektrumu

4.14.7. β -Sitosterol

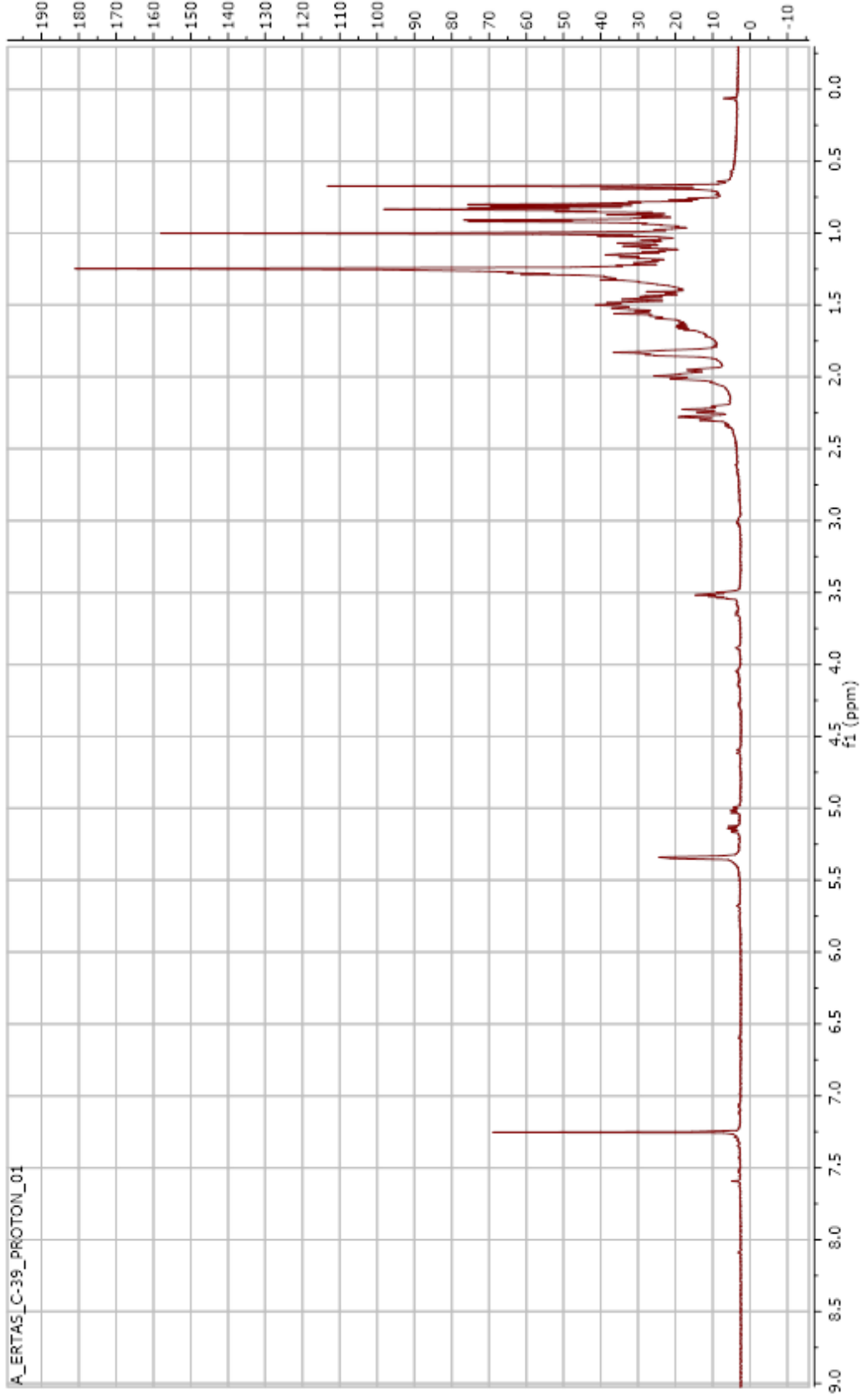
Hem toprak üstü hem de köklerin etanol ekstraherinden elde edildi. Fraksiyonların preparatif ince tabaka kromatografisi yapıldıktan sonra DCM:AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde İTK'sı yapıldı. Renksiz olan bu bileşik 172 mg olarak elde edildi (Şekil 4.38.). ^1H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ piki 459,3831'e ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$) dayanarak bu bileşiğin β -sitosterol (Stigmast-5-en-3 β -ol) olduğu saptandı ve NMR değerleri (Çizelge 4.26.) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Ertaş ve ark. 2015). Nitekim ince tabaka kromatografisinde yapılan karşılaştırma sonucunda da standart madde ile aynı R_f değerinde ve aynı karakteristik renkte izlendi (Şekil 4.39-4.45.).



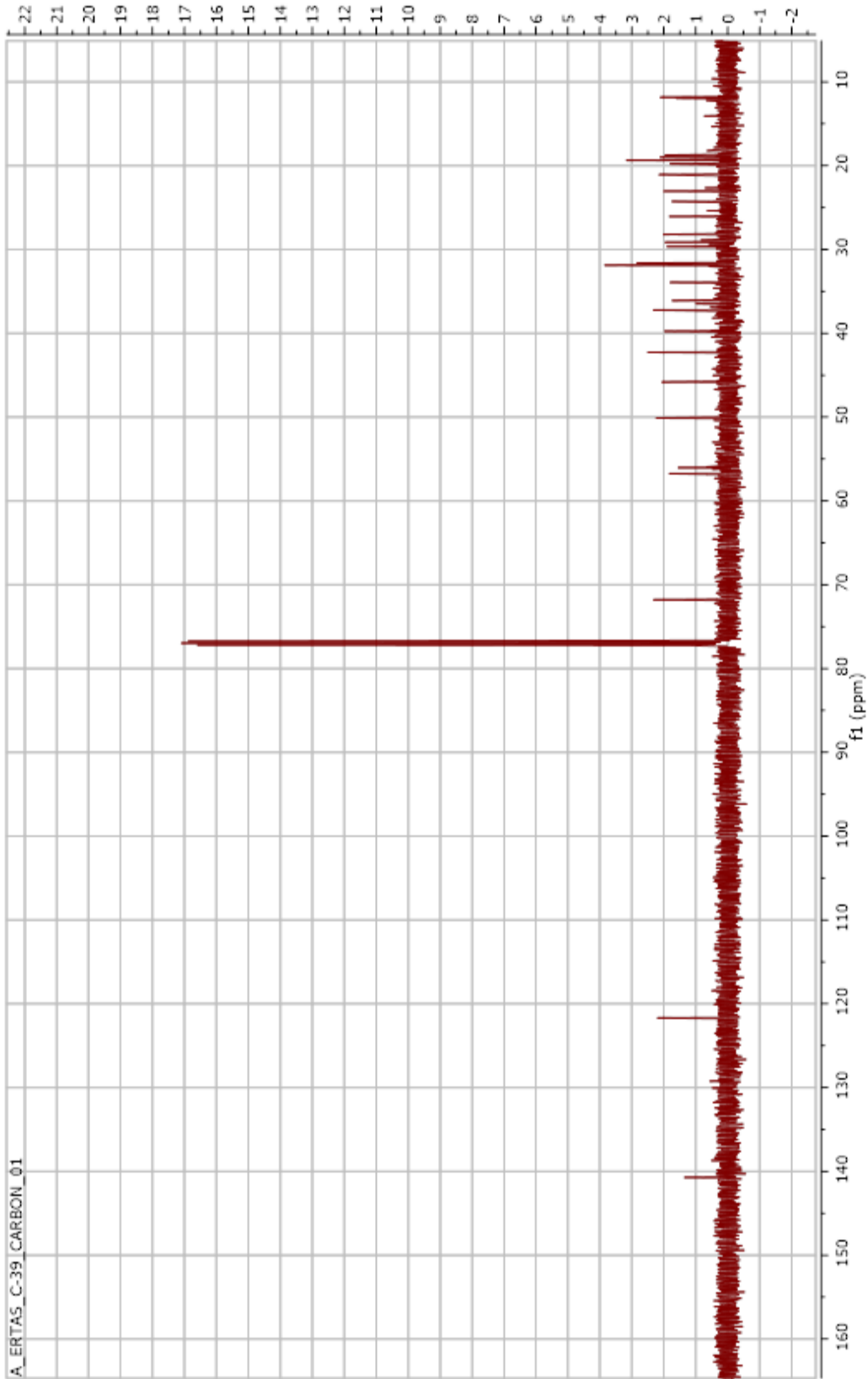
Şekil 4. 38. β -Sitosterol

Çizelge 4. 26. β -Sitosterol bileşiğinin NMR değerleri

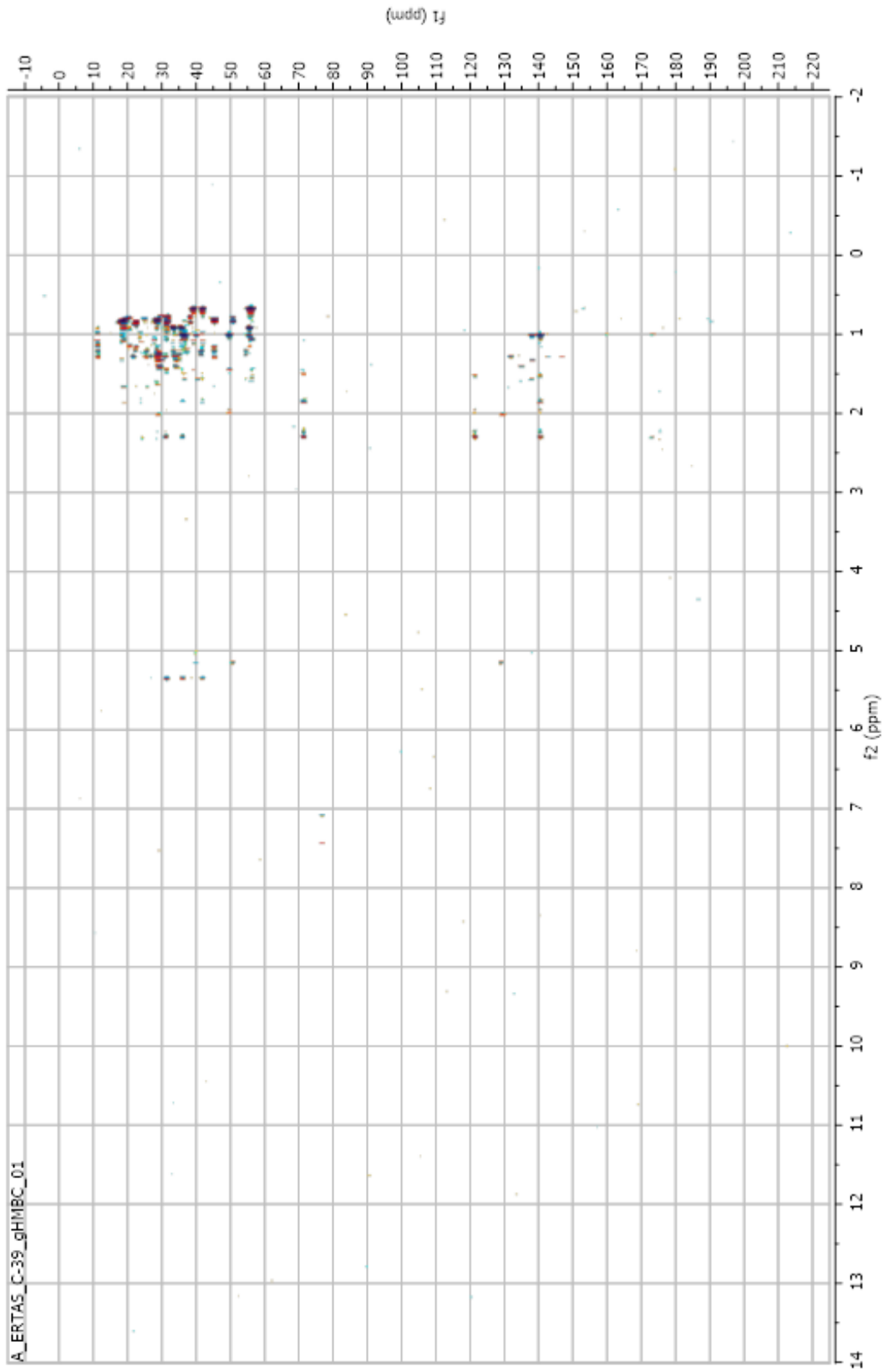
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	39,7	-
2	31,9	-
3	71,8	3,52 m
4	42,3	2,26 dt (J=20,1; 10,6 Hz)
5	140,7	
6	121,7	5,35 m
7	33,9	1,96 m
8	31,8	-
9	50,1	-
10	36,5	-
11	23,0	-
12	37,2	1,99 m
13	39,8	-
14	56,8	-
15	21,1	-
16	31,7	1,84 m
17	56,1	-
18	12,0	0,67 s
19	18,8	1,00 s
20	36,1	-
21	19,0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



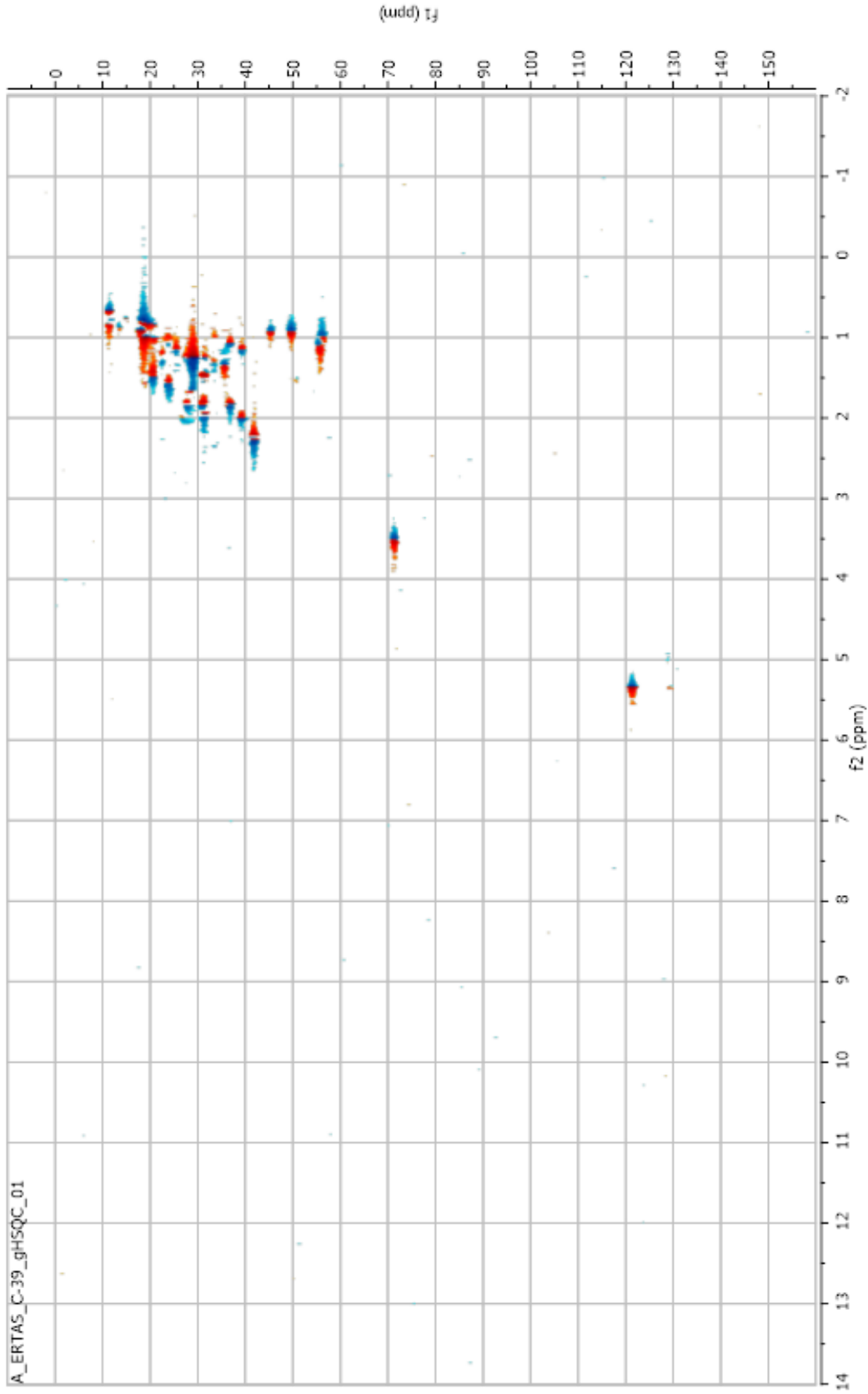
Şekil 4. 39. β -Sitosterol bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



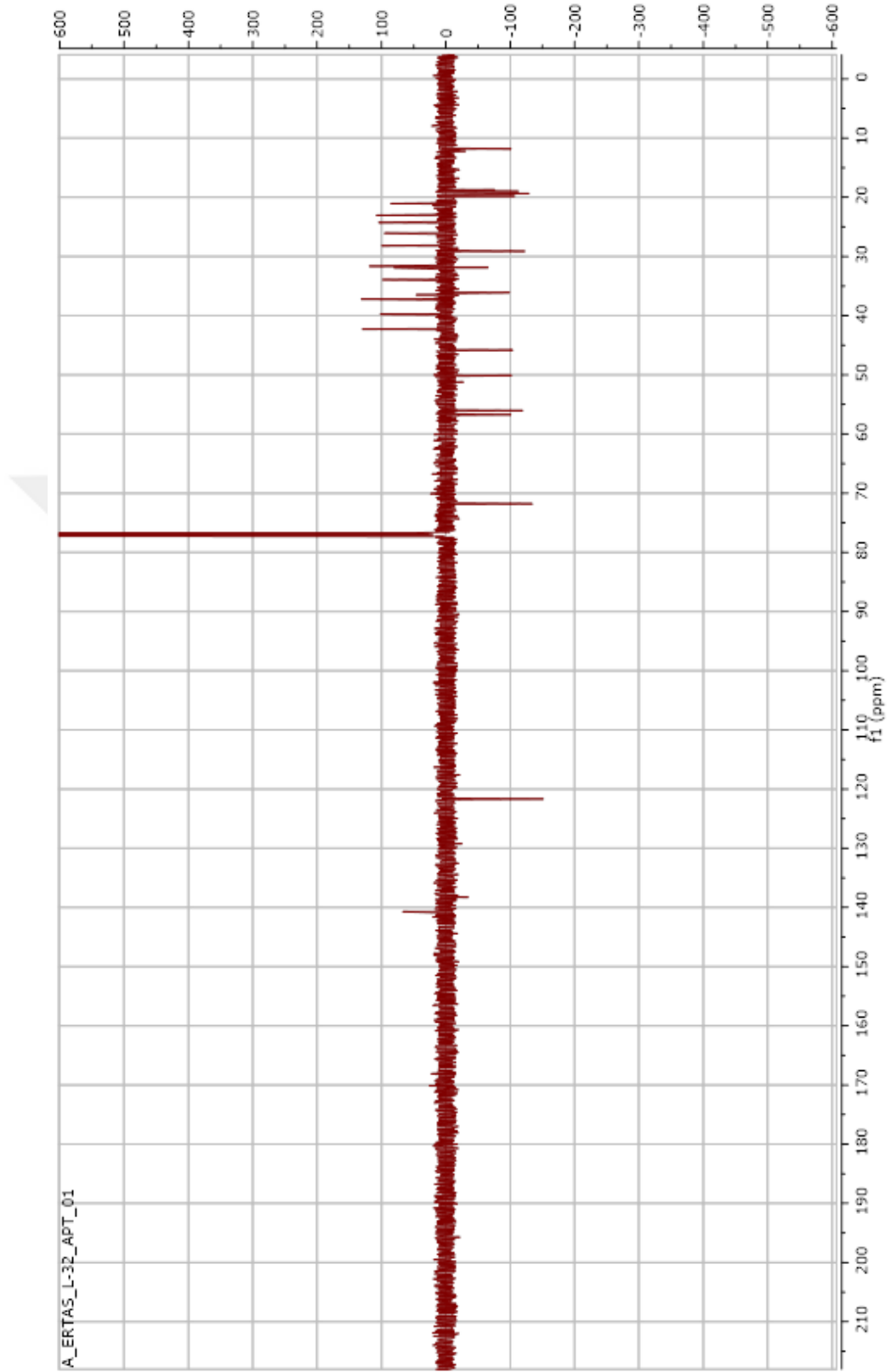
Şekil 4. 40. β -Sitosterol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



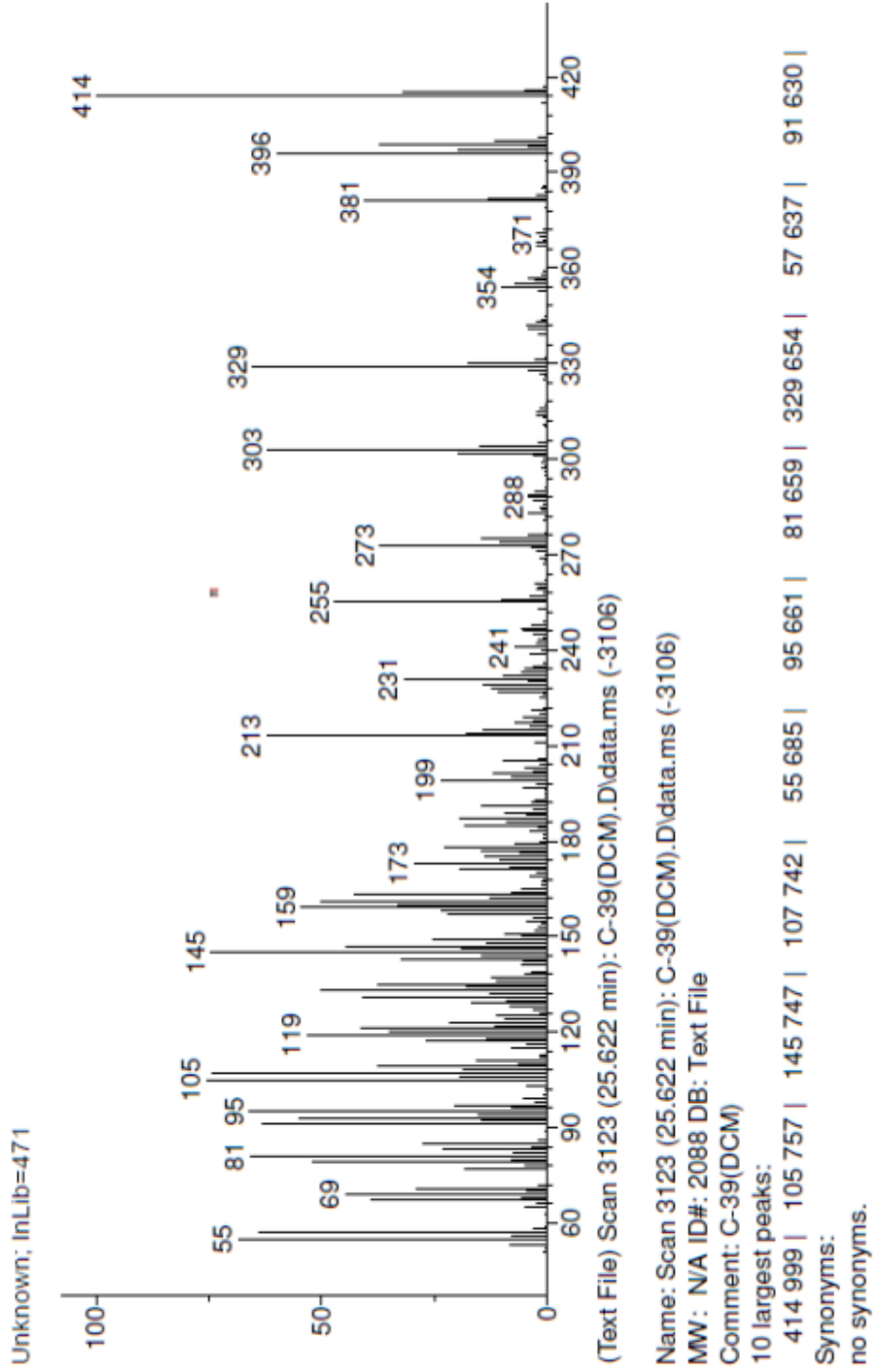
Şekil 4. 41. β -Sitosterol bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



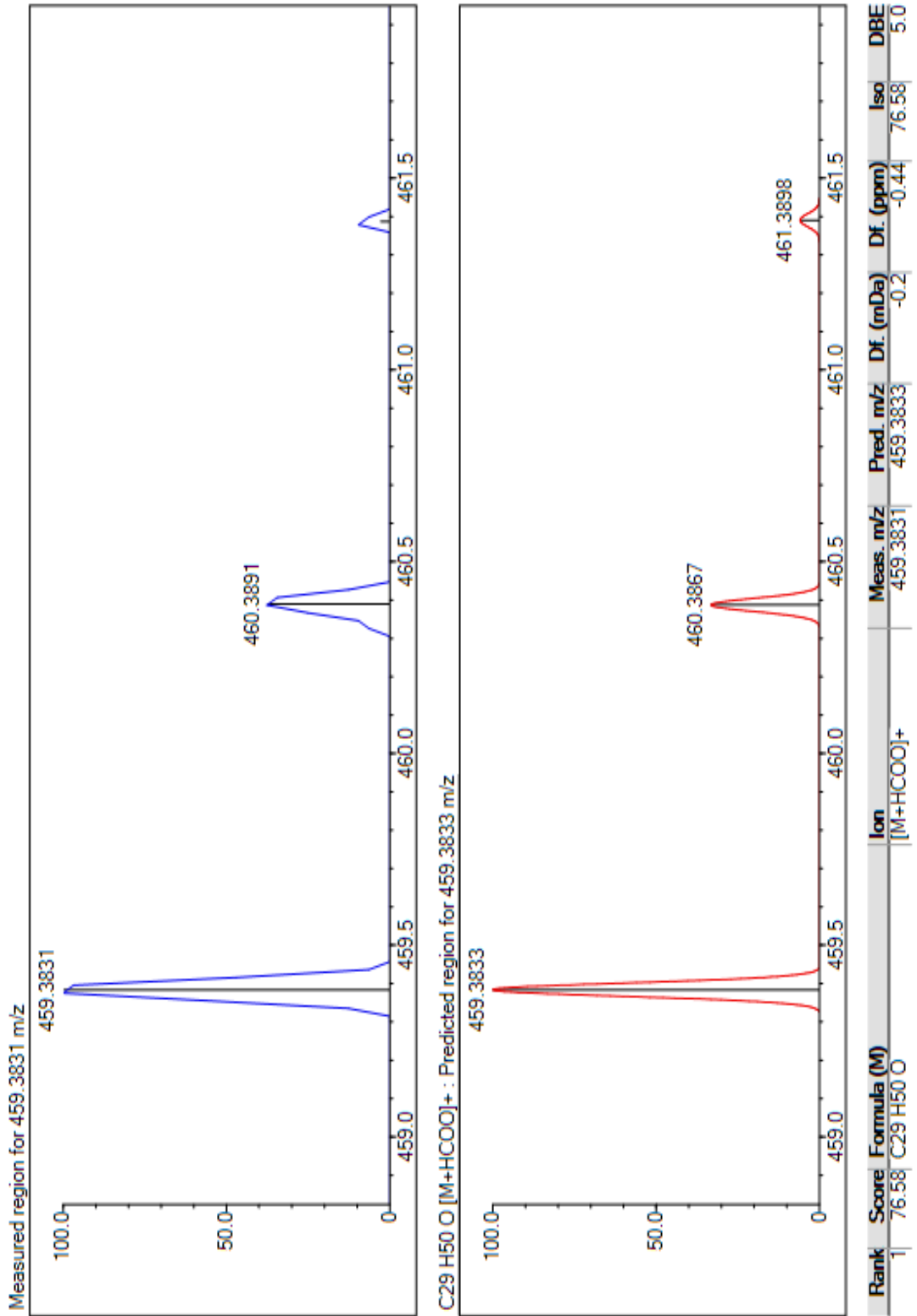
Şekil 4. 42. β -Sitosterol bileşiğinin HMQC spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



Şekil 4. 43. β -Sitosterol bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



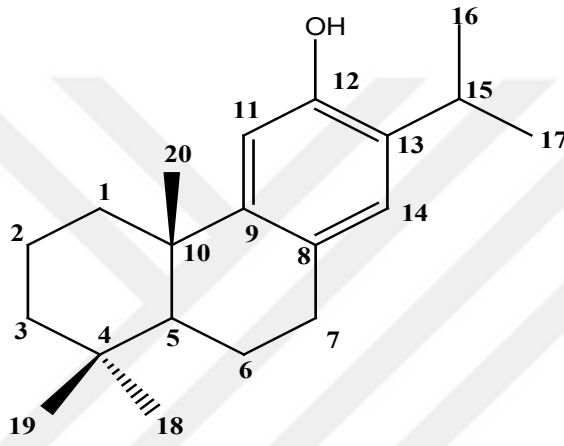
Şekil 4. 44. β -Sitosterol bileşiğinin GC-MS kromatogramı



Şekil 4. 45. β -Sitosterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.8. Ferruginol

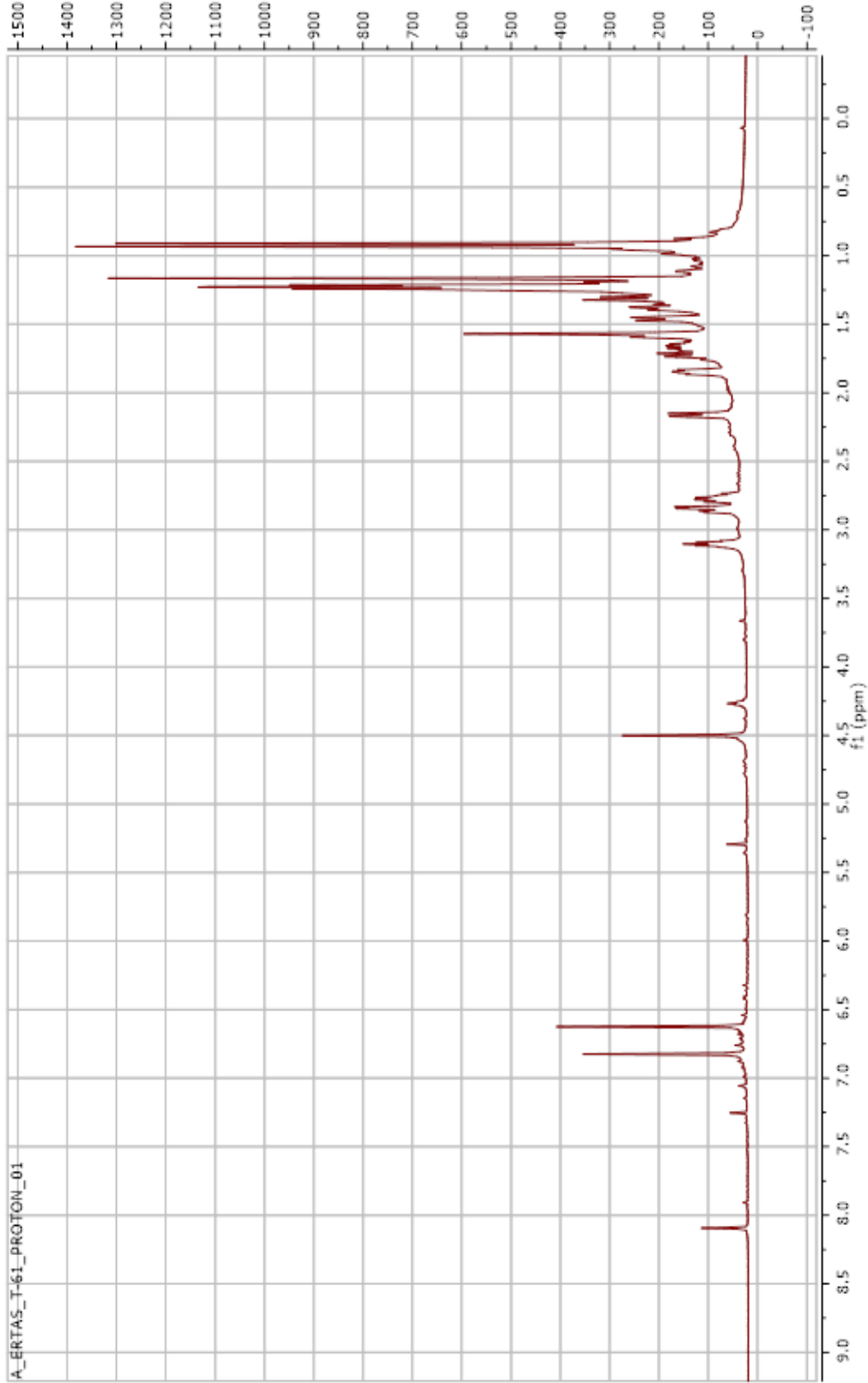
Hem toprak üstü hem de köklerin etanol ekstrelerinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde yaklaşık 80 mg elde edildi (Şekil 4.46.). ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve GC-MS'te izlenen [M⁺] piki *m/z* 286'e (C₂₀H₃₀O) dayanarak bu bileşiğin bir abietan diterpen olan ferruginol olduğu belirlendi (Ulubelen ve ark. 1991). NMR değerleri (Çizelge 4.27; Şekil 4.47-4.52.) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı.



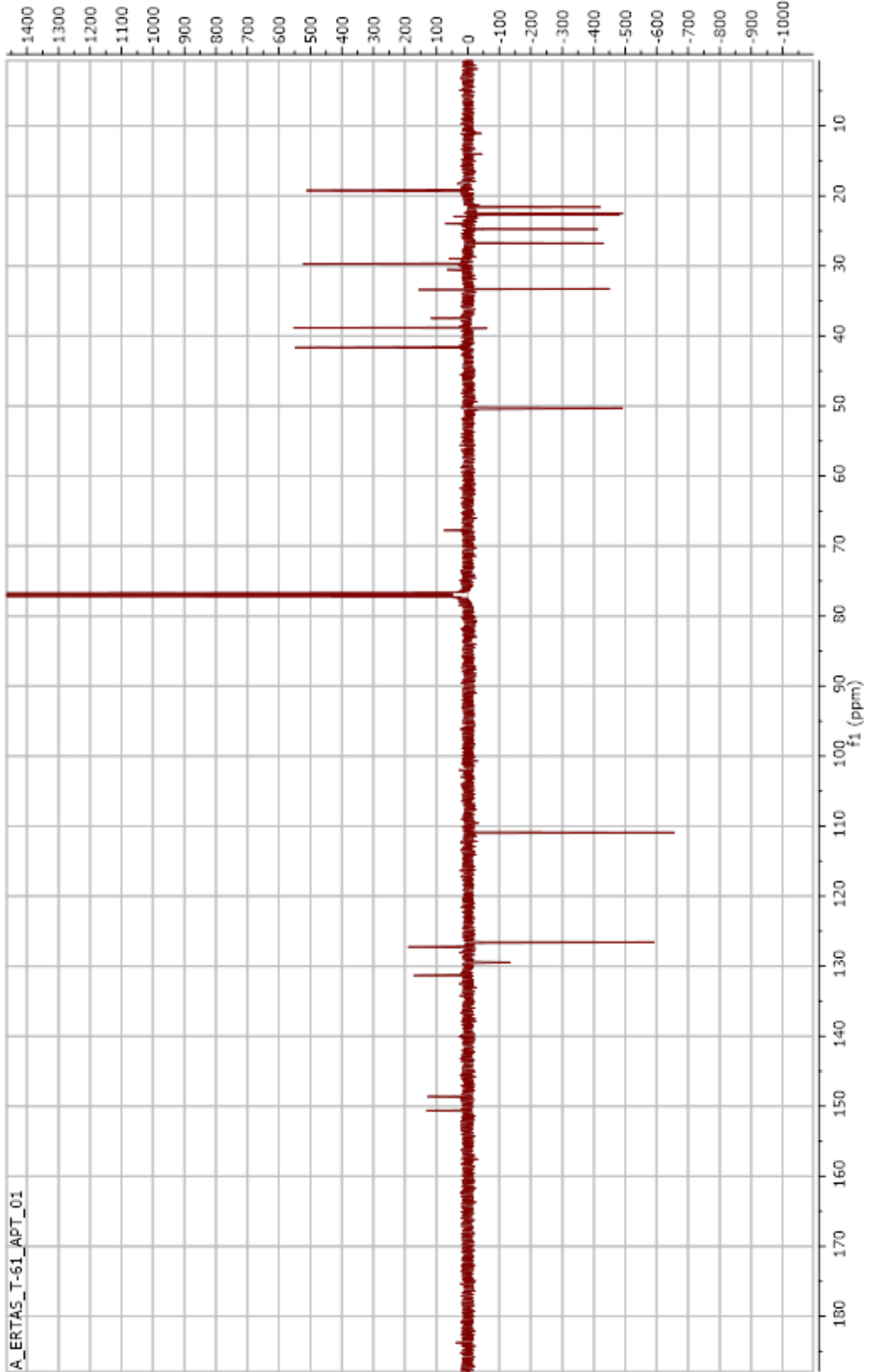
Şekil 4. 46. Ferruginol

Çizelge 4. 27. Ferruginol bileşiğinin NMR değerleri

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

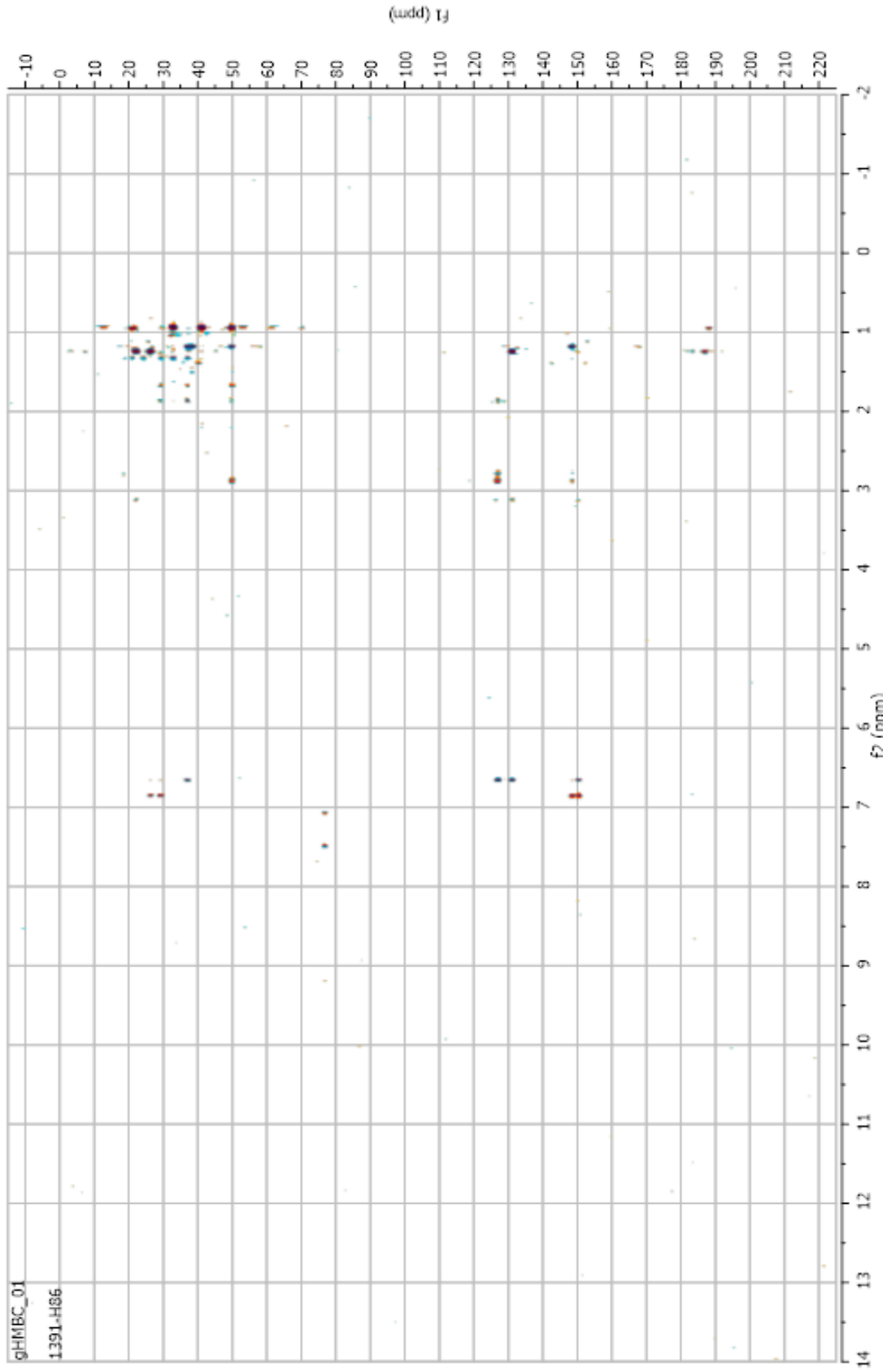


Şekil 4. 47. Ferruginol bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)

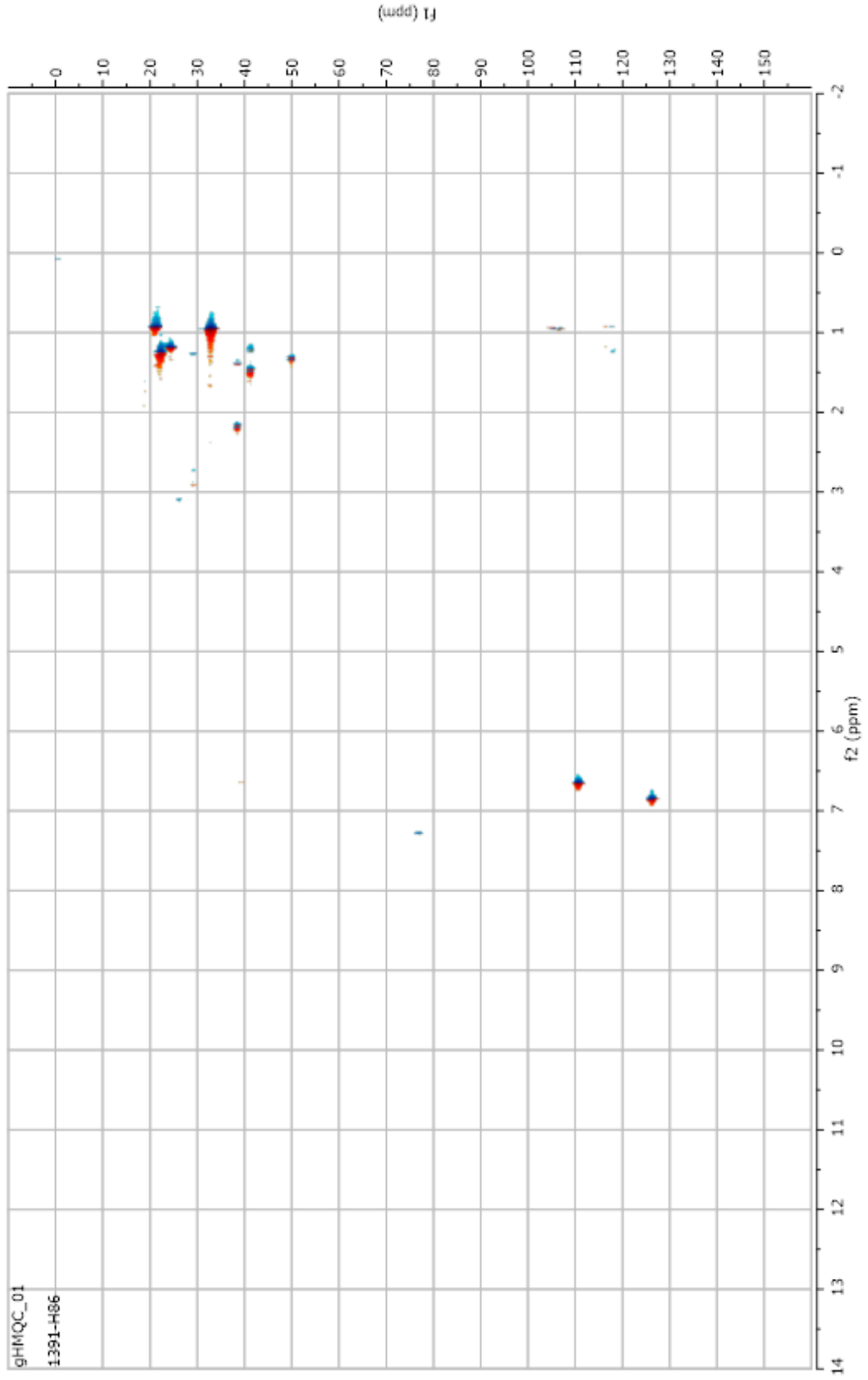


Şekil 4. 48. Ferruginol bileşiğinin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)

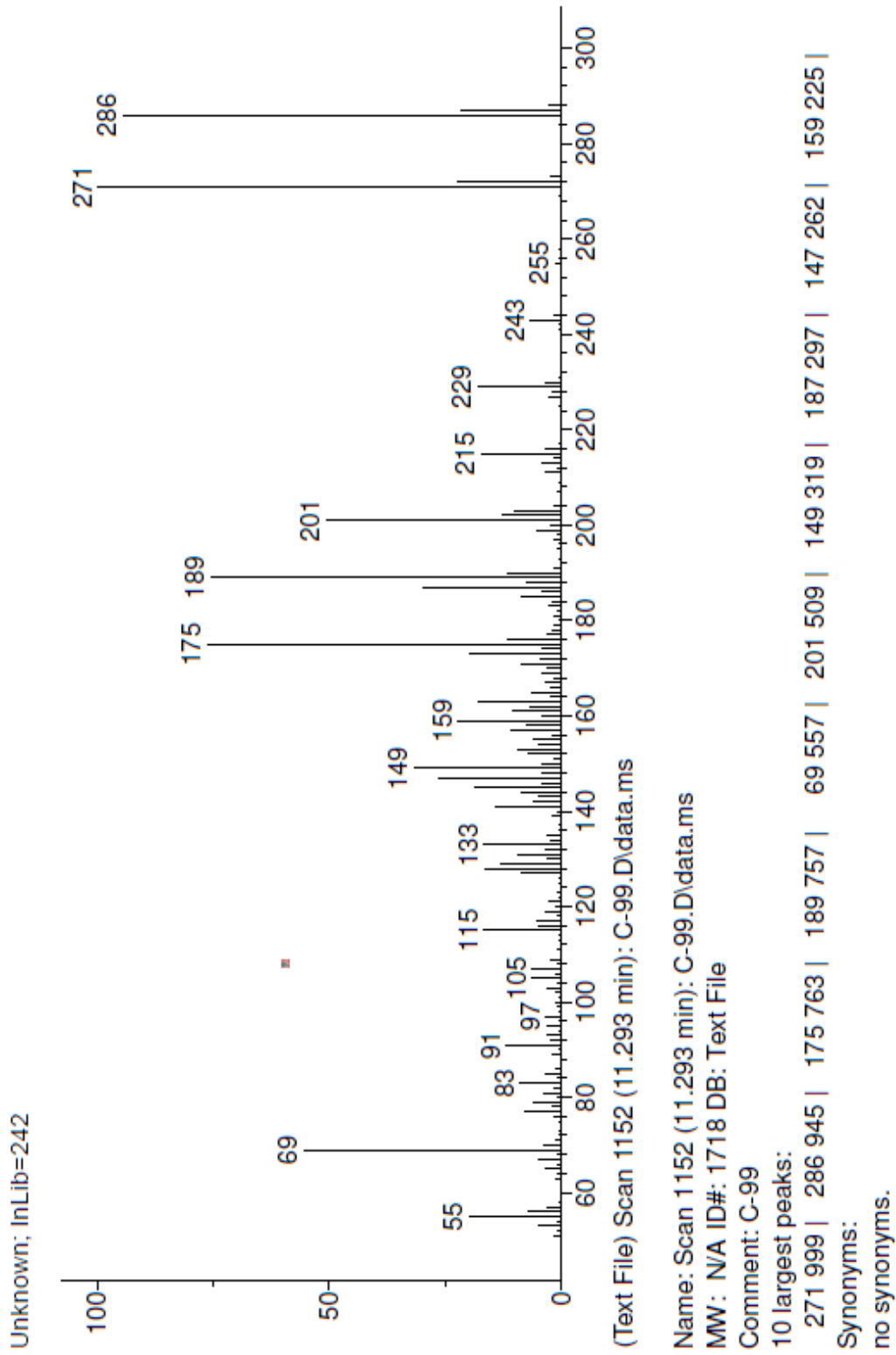
4.BULGULAR VE TARTIŞMA



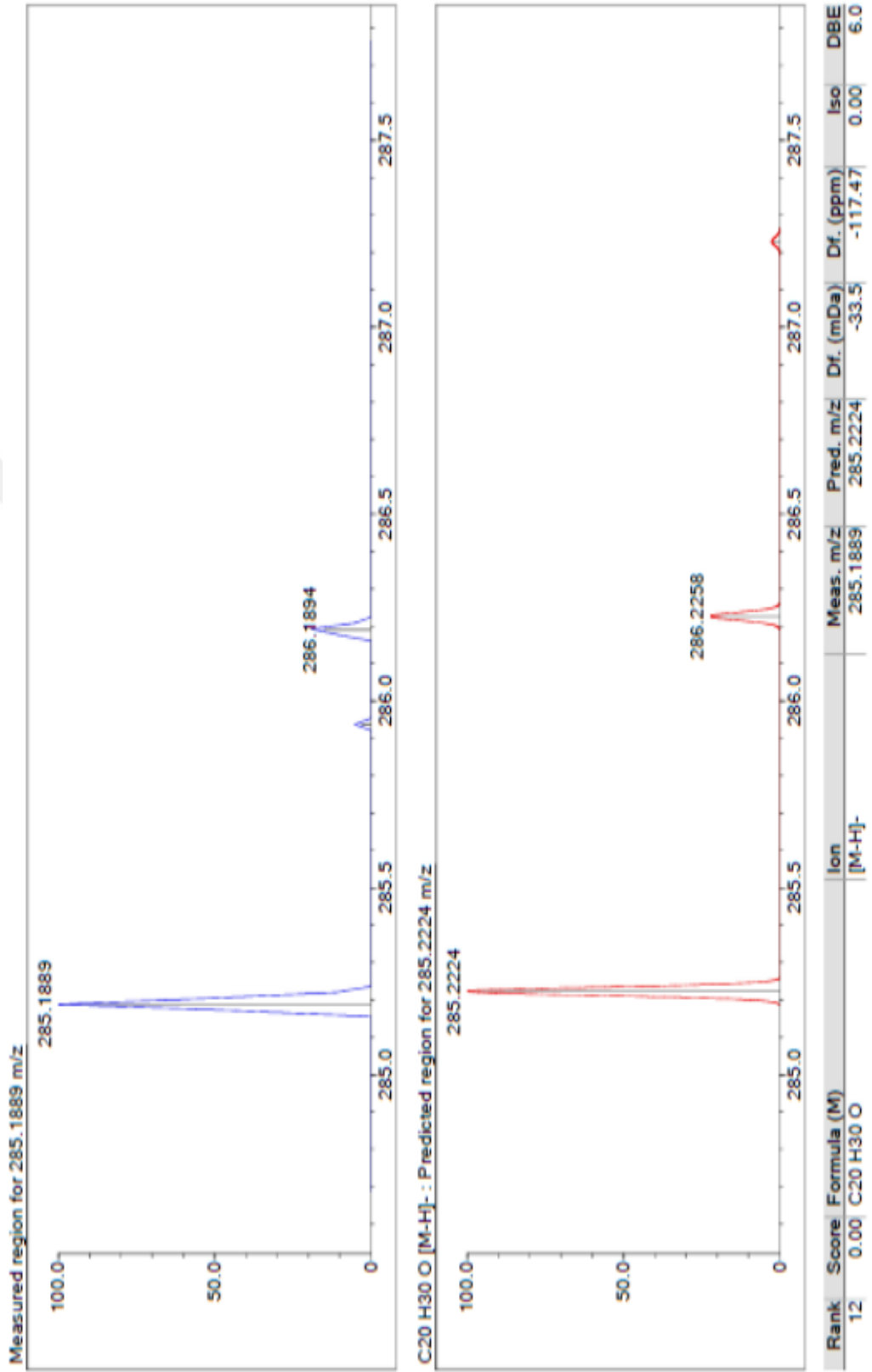
Şekil 4. 49. Ferruginol bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 4. 50. Ferruginol bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



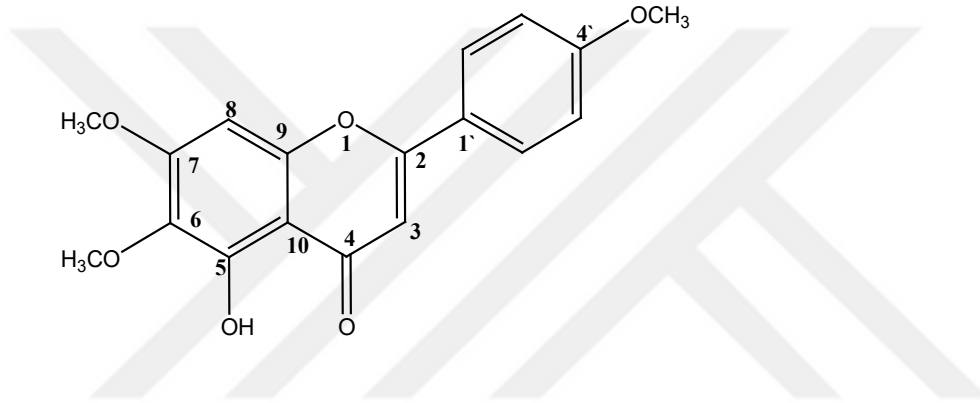
Şekil 4. 51. Ferruginol bileşiğinin GC-MS kromatogramı



Şekil 4. 52. Ferruginol bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.9. Salvigenin

Toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinden preparatif ince tabaka kromatografisi ile diklorometan/aseton:9.8/0.2 çözücü sisteminde elde edildi. 42 mg sarı kristal olarak elde edildi (Şekil 4.53.). Sarı renkli kristaller halinde, UV ışık altında (366 nm) koyu-mor renkli olarak gözlendi. ^1H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{H}]^+$ piki m/z 329,1005, bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan salvigenin olduğunu gösterdi ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Kolak ve ark. 2009). Çizelge 4.28.'de H-14 kodlu maddenin ^1H - ve ^{13}C -NMR değerleri verildi (Şekil 4.54-4.59.).

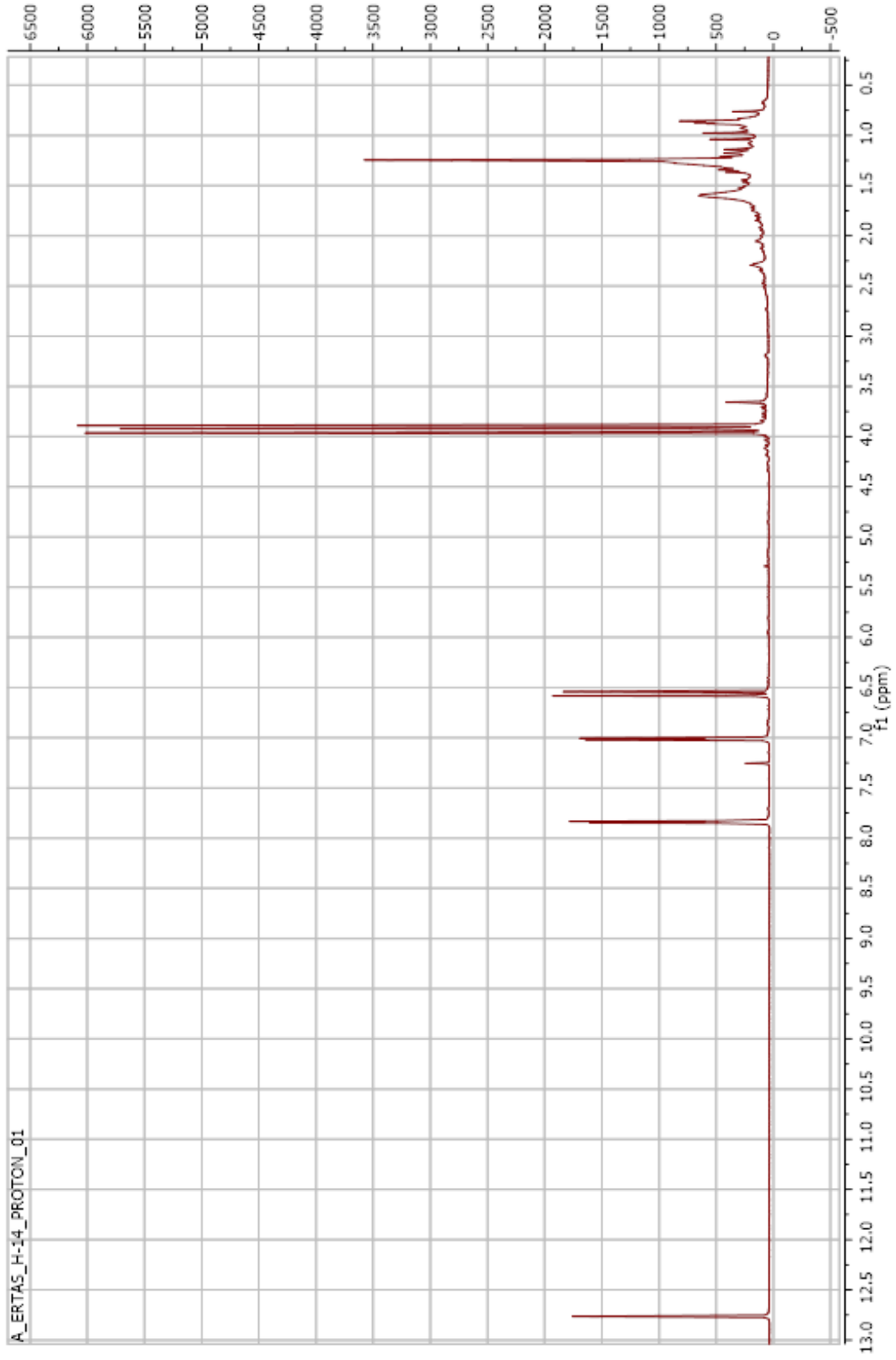


Şekil 4. 53. Salvigenin

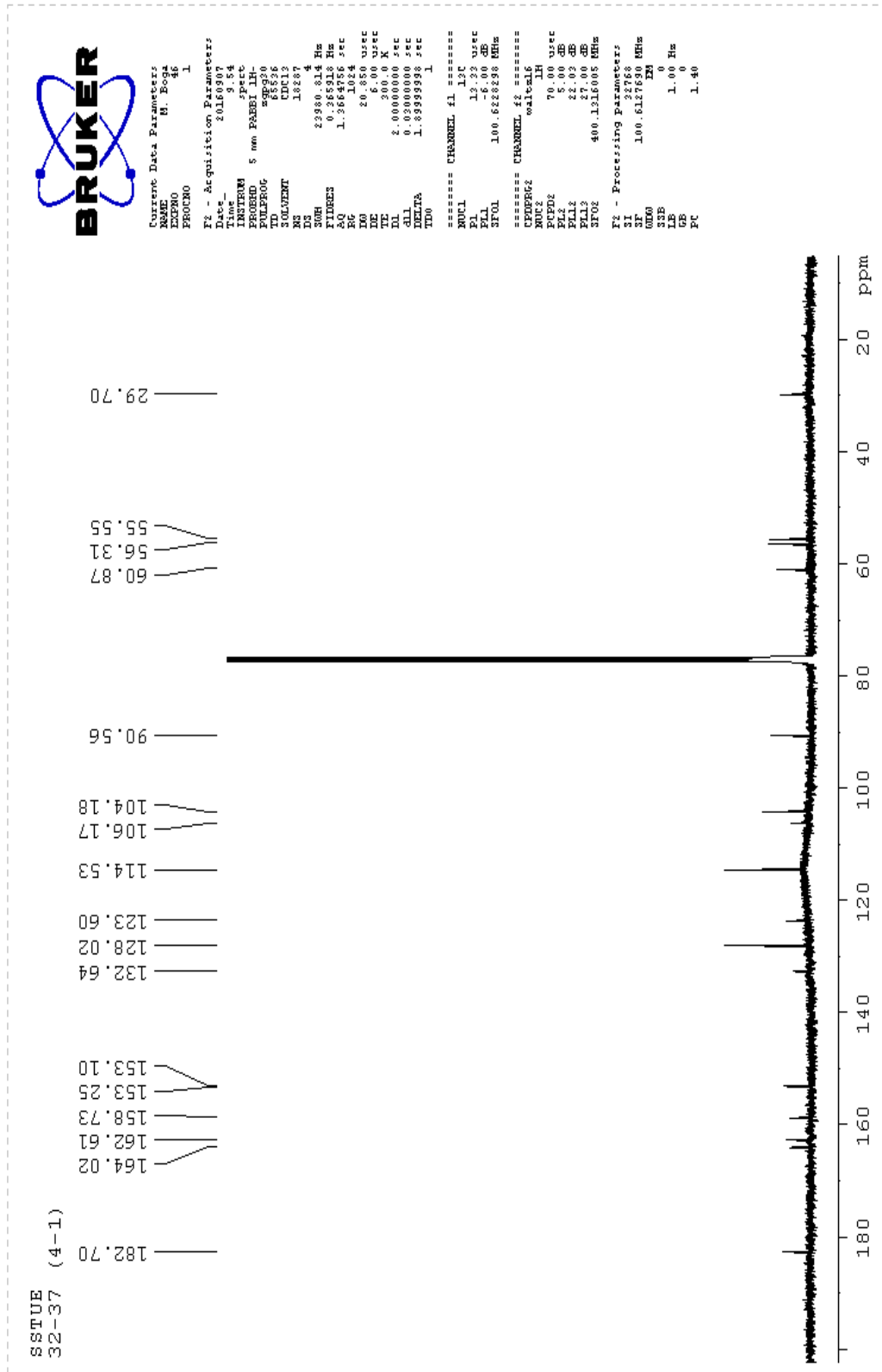
Çizelge 4. 28. Salvigenin bileşiğinin NMR değerleri

Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	106,1	-
2	164,0	-
3	104,1	6,54 s
4	182,7	-
5	153,1	-
6	132,6	-
7	158,7	-
8	90,5	6,58 s
9	153,0	-
10	106,1	-
1'	123,7	-
2'	127,9	7,84 d (J=8,6 Hz)
3'	114,5	7,02 d (J=8,6 Hz)
4'	162,6	-
5'	114,5	7,02 d (J=8,6 Hz)
6'	127,9	7,84 d (J:8,6 Hz)
6-OCH ₃	55,5	3,89 s
7-OCH ₃	56,3	3,92 s
4'-OCH ₃	60,8	3,96 s
Hidrojen bağı	-	12,70 s

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

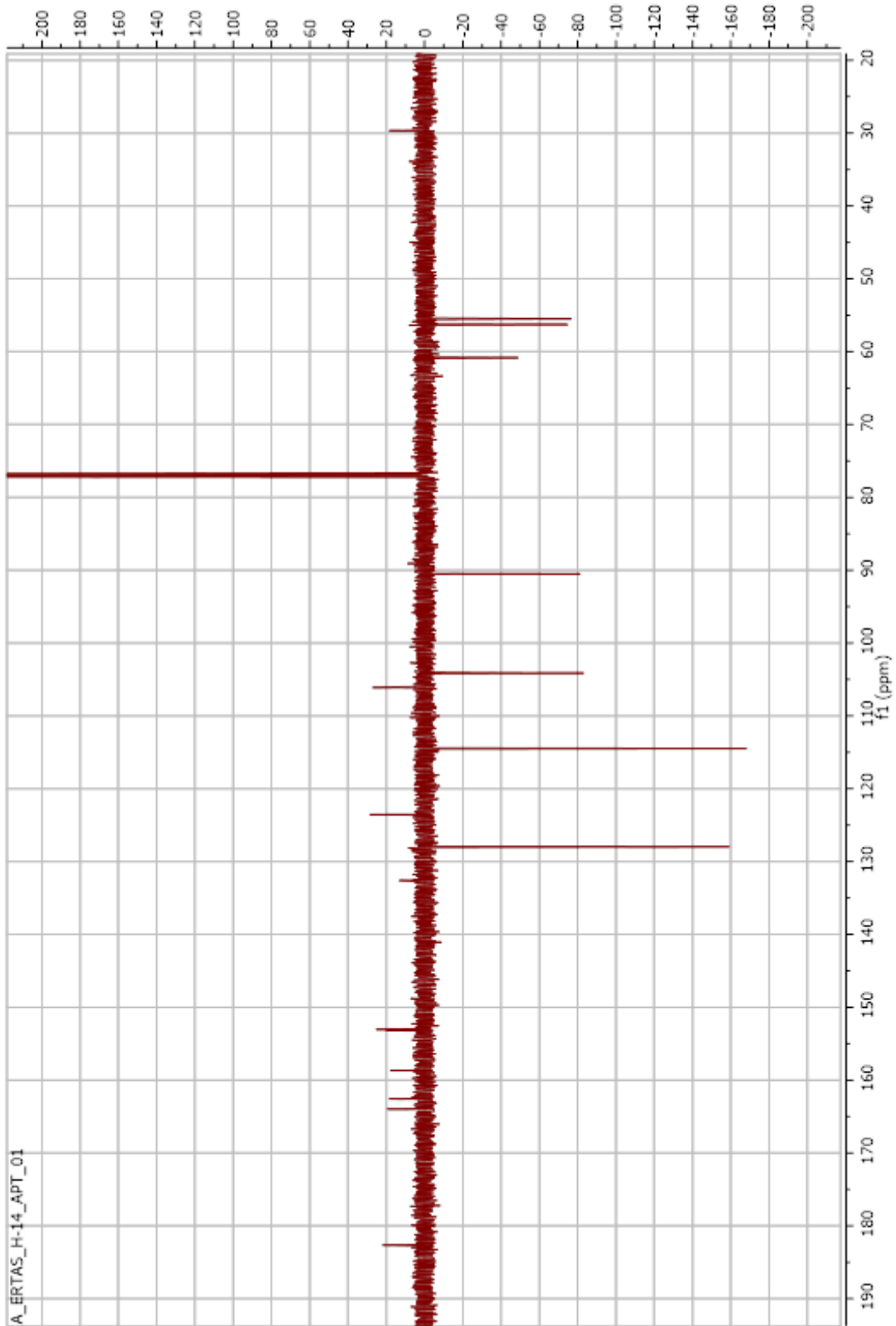


Şekil 4. 54. Salvigenin bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)

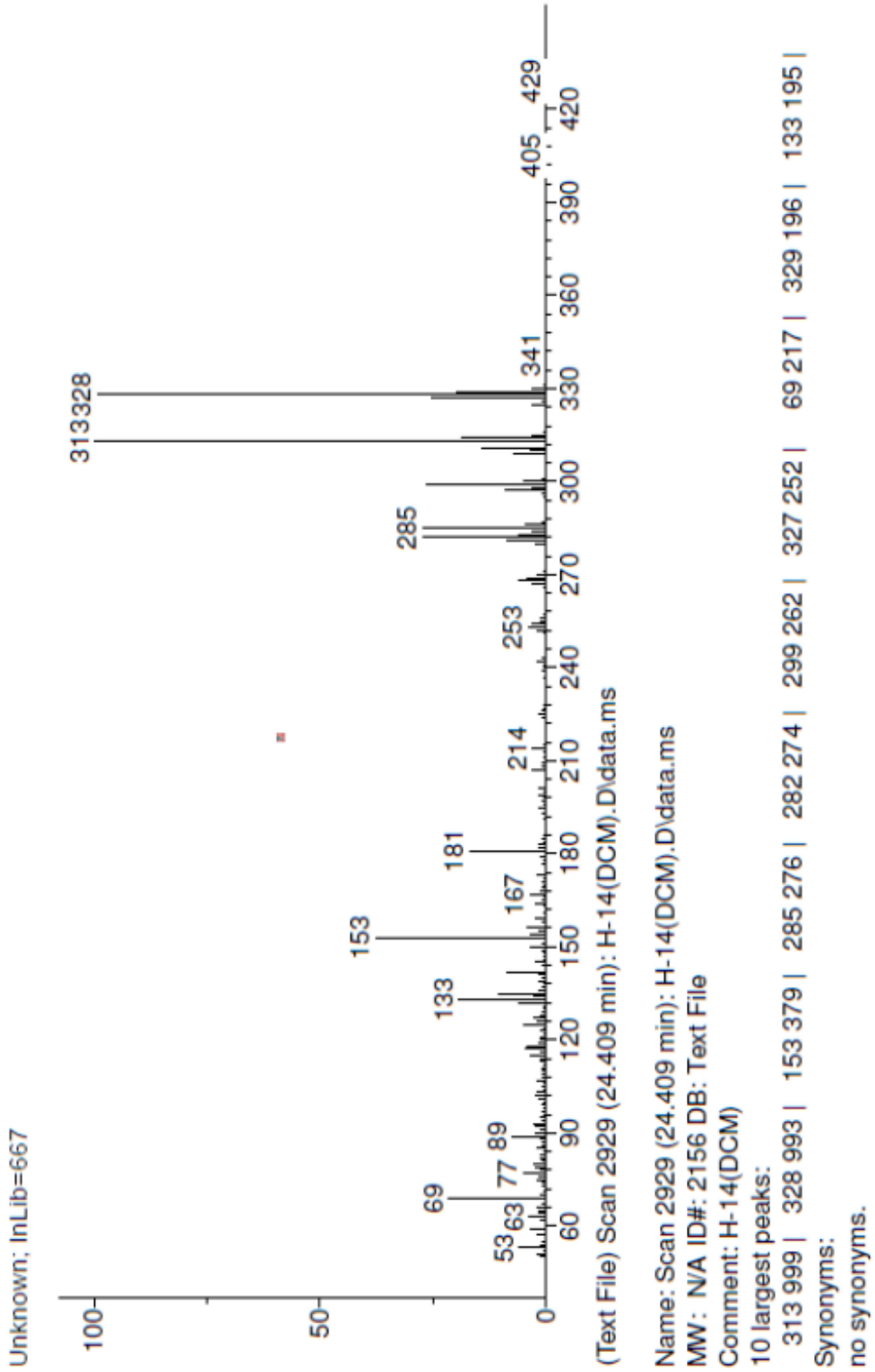


Şekil 4. 55. Salvigenin bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)

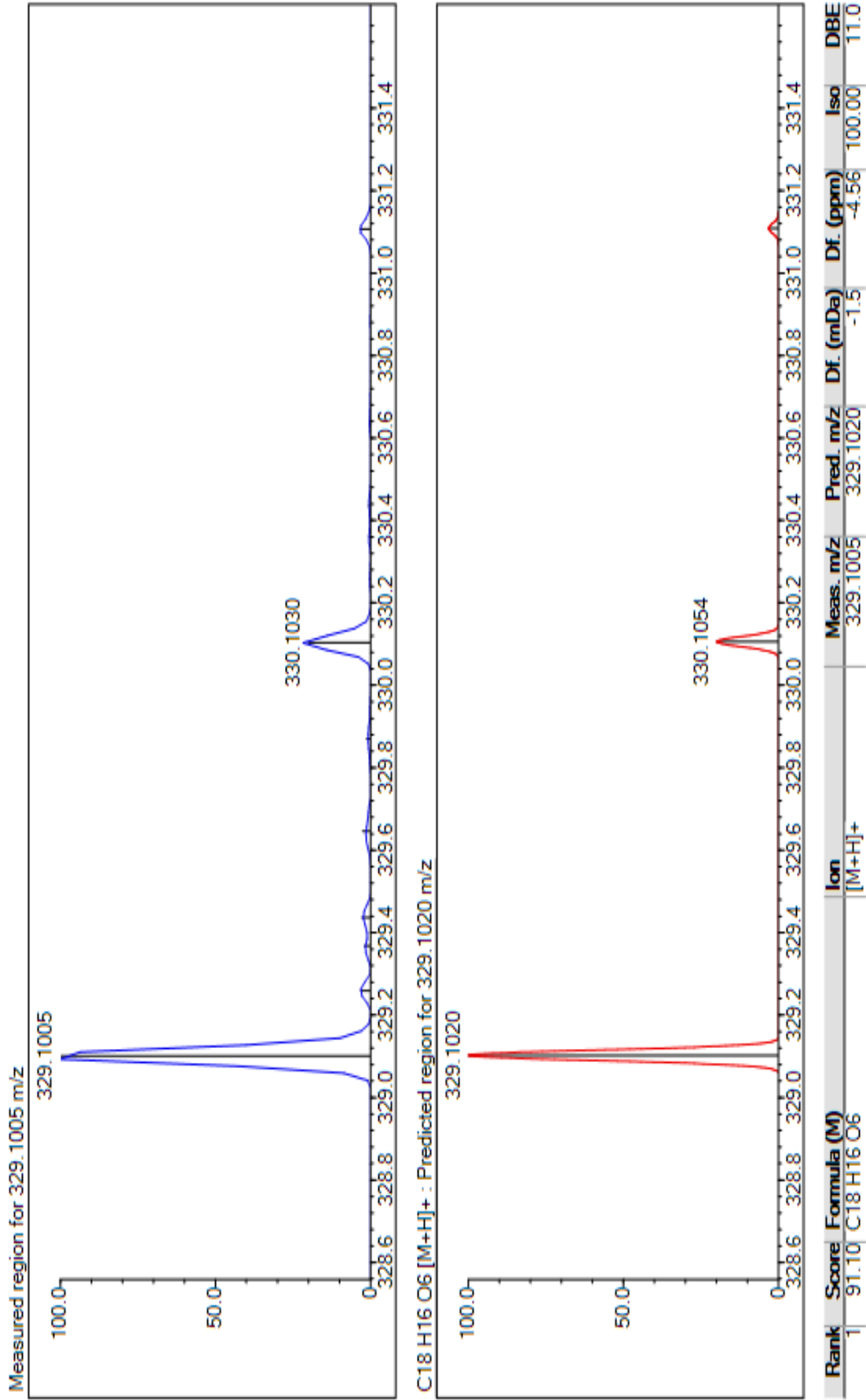
4.BULGULAR VE TARTIŞMA



Şekil 4. 56. Salviagenin bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



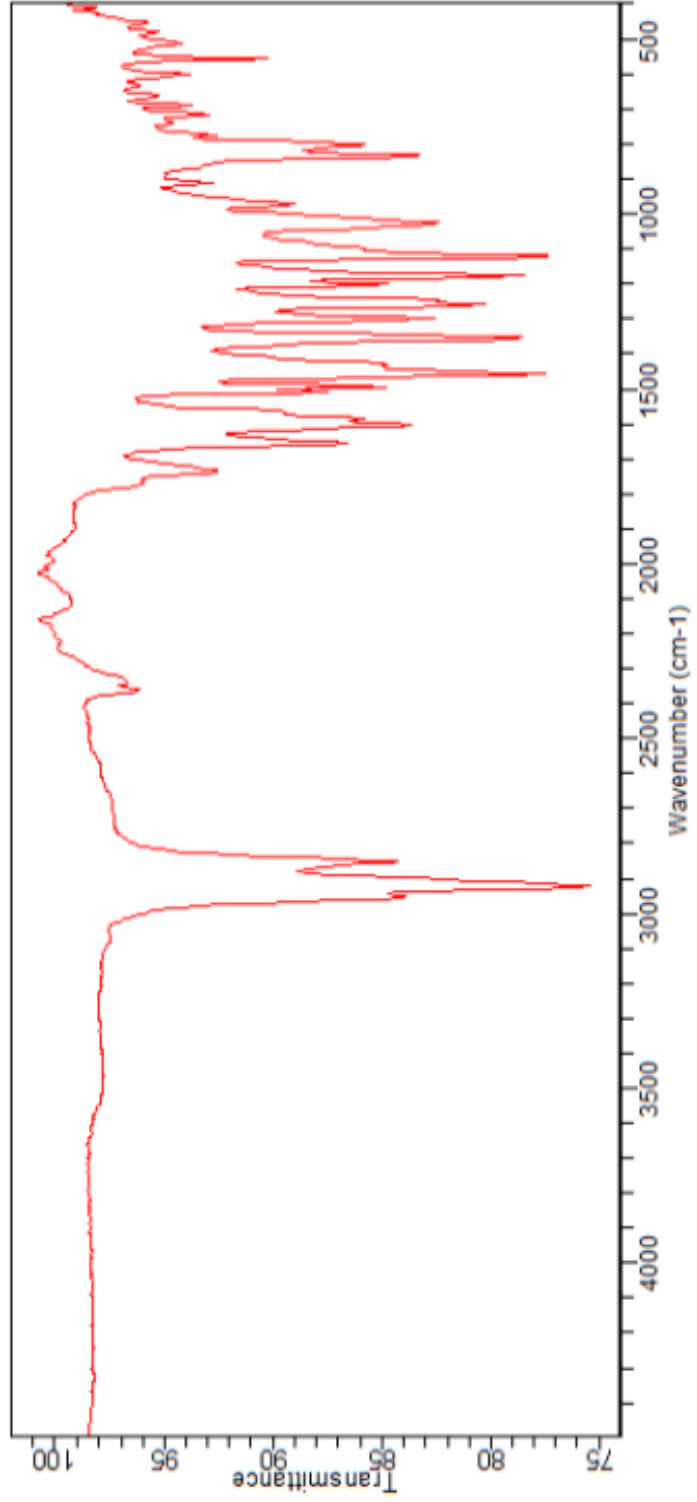
Şekil 4. 57. Salvigenin bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 4. 58. Salviagenin bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:H-14
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\H-14_2018-05-09T16-24-18.a2r

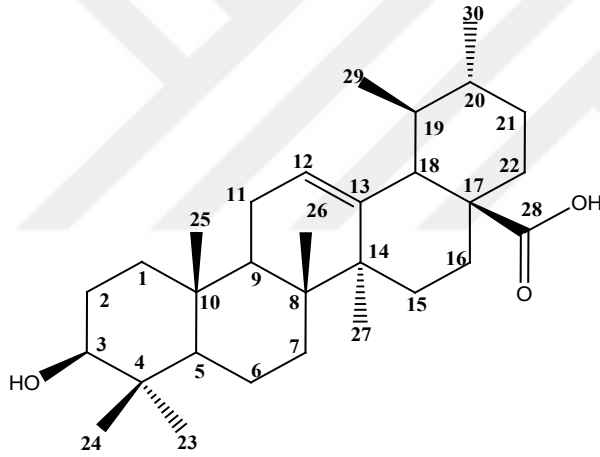
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.09.2018 4:24:18
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 59. Salvigenin bileşiğinin IR spektrumu

4.14.10. Ursolik Asit

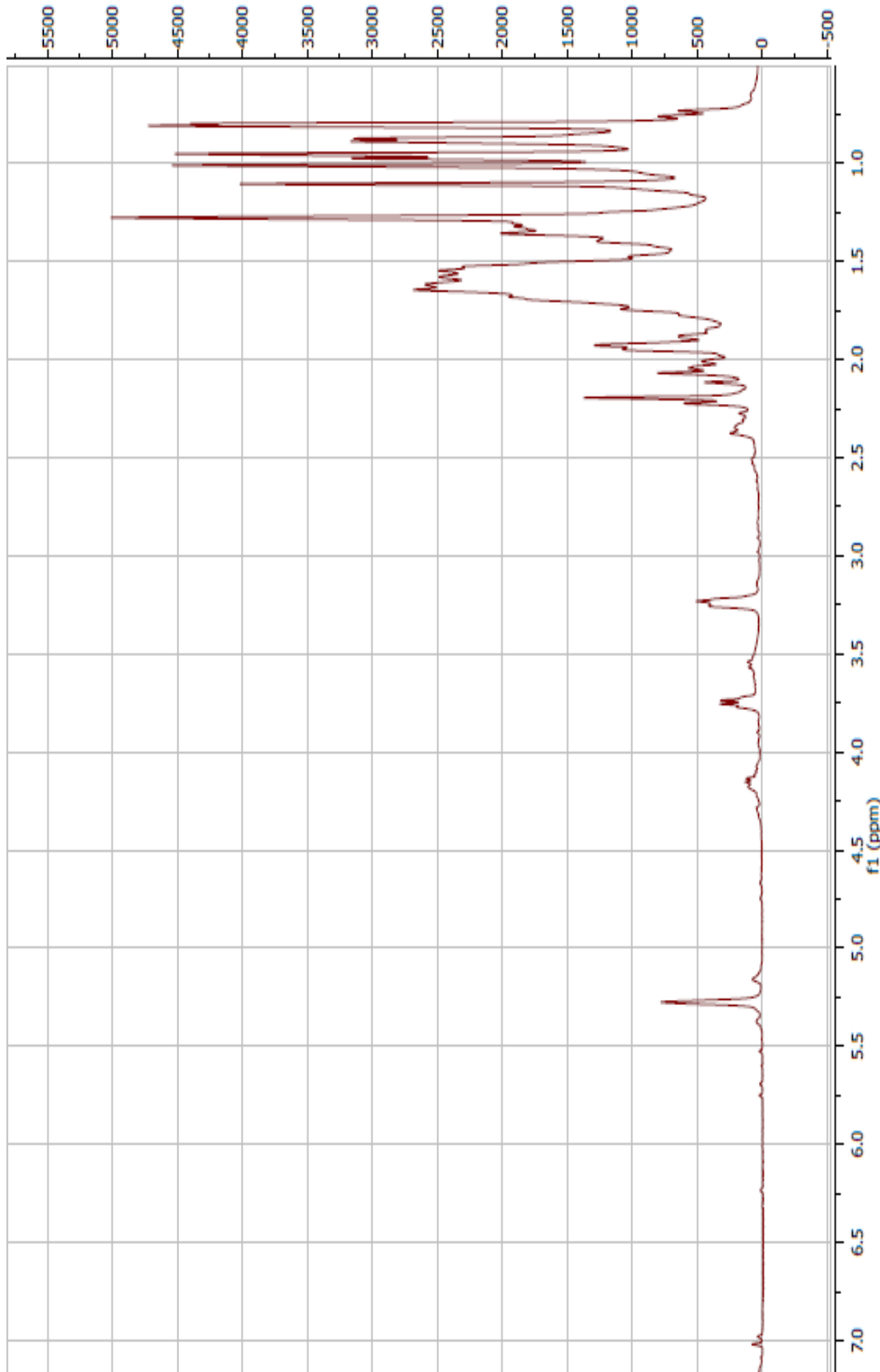
Toprak üstü kısmının etanol ekstresinin ana kolonundan elde edildi. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre en iyi ayrılma (1Ac: 9DCM) çözücü sisteminde 2 kez yürütülerek gözlemlendi. Preparatif İTK ile bu çözücü sisteminde saflaştırma işlemi yapıldı. Beyaz renkli olan bu bileşik amorf halde 6 mg elde edildi (Şekil 4.60.). Silikajel plakta UV lamba altında (254nm) görülmeyen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C’de yakıldığında pembe-mor renk aldı. ¹H NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen [M+Na]⁺ piki *m/z* 479,3500’e (C₃₀H₄₈O₃) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan ursolik asit (3β-hidroksi-urs-12-en-28-oik asit) olduğu saptandı, NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Ertaş ve ark. 2015). Çizelge 4.29.’da ¹H- ve ¹³C-NMR değerleri verildi (Şekil 4.61-4.63.).



Şekil 4. 60. Ursolik Asit

Çizelge 4. 29. Ursolik asit bileşiğinin NMR değerleri

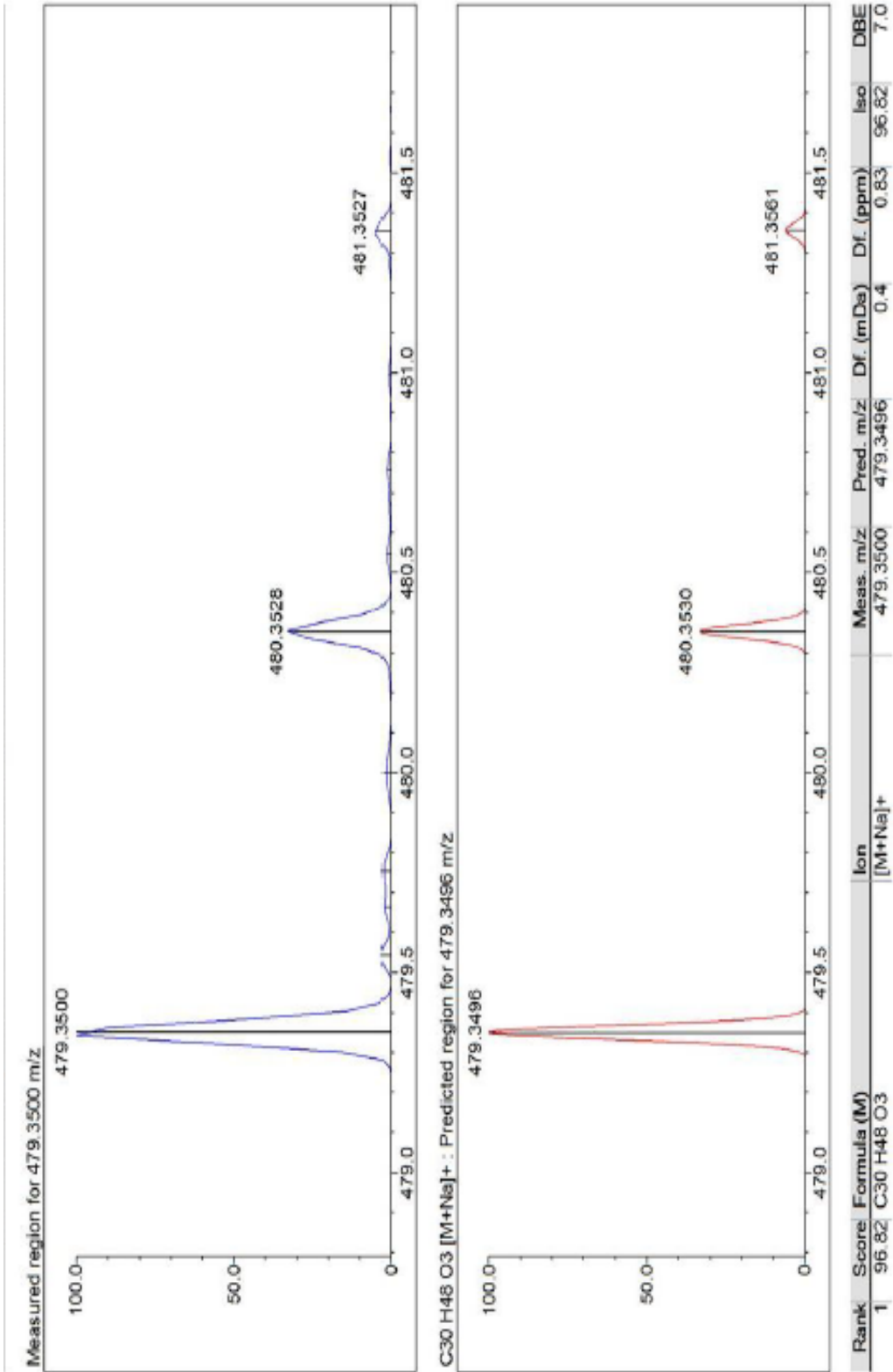
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	39,1	-
2	27,2	-
3	79,2	3,20 dd (10,8;4,5 Hz)
4	39,4	-
5	55,1	-
6	19,1	-
7	33,5	-
8	39,2	-
9	47,5	-
10	37,1	-
11	23,6	-
12	123,2	5,30 t (J = 2,5 Hz)
13	143,5	-
14	41,5	-
15	28,1	-
16	23,6	-
17	46,5	-
18	40,1	2,16 d (J=11 Hz)
19	38,9	-
20	38,7	-
21	33,8	-
22	32,6	-
23	28,1	1,01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



Şekil 4. 61. Ursolik asit bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



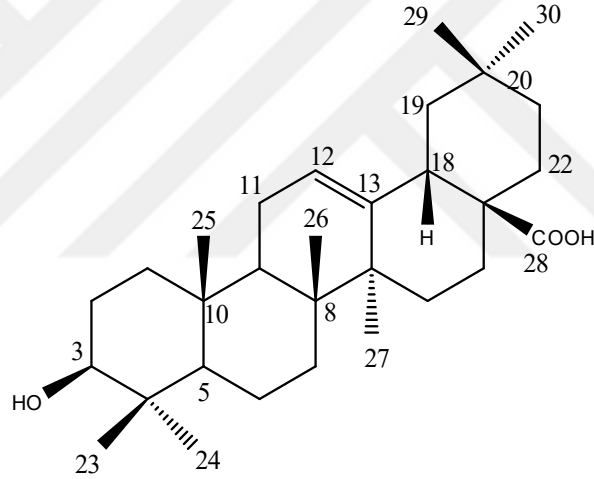
Şekil 4. 62. Ursolik asit bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 4. 63. Ursolik asit bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.11. Oleanolik Asit

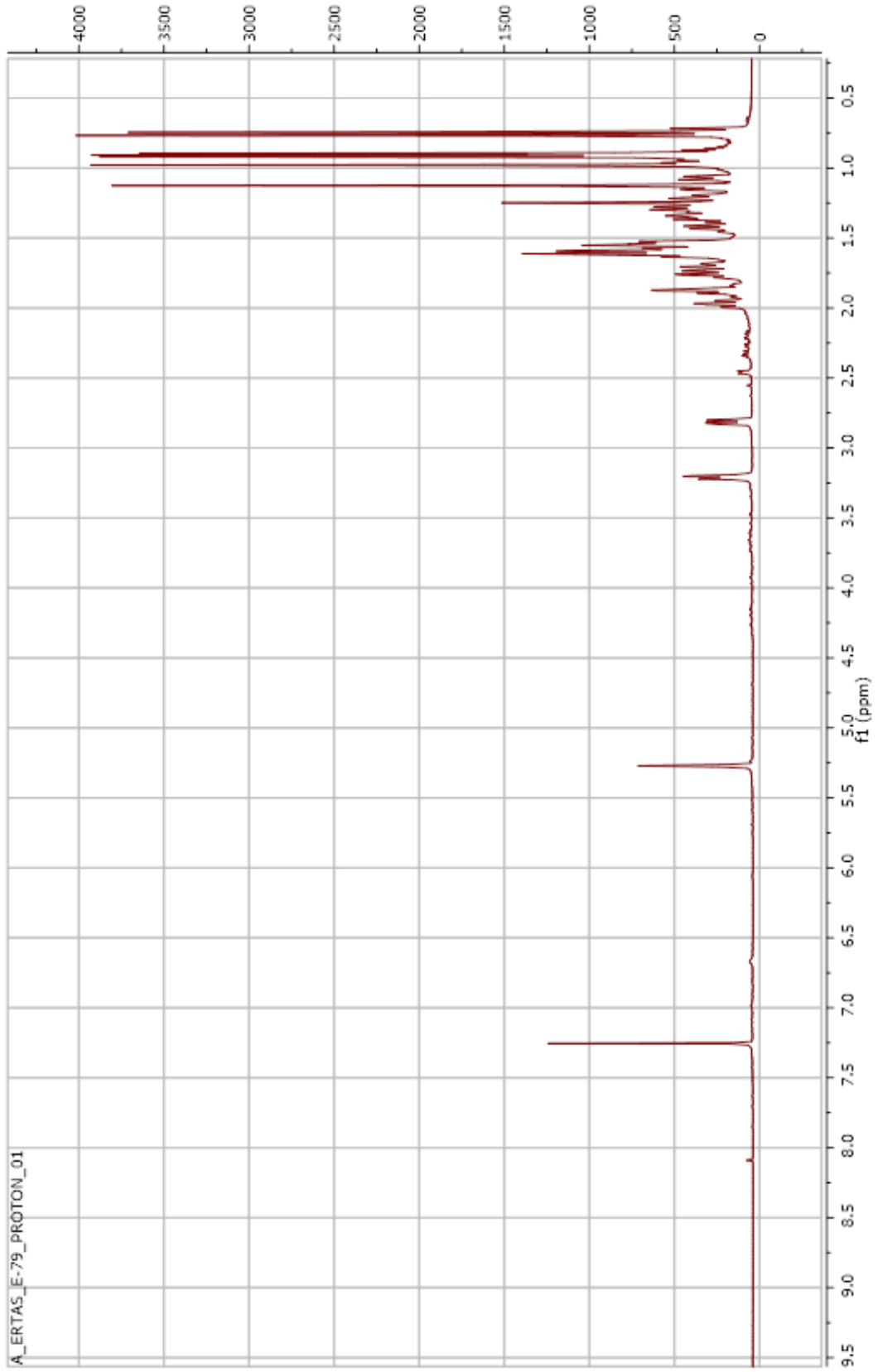
Toprak üstü kısmının etanol ekstresinin ana kolonundan elde edildi. Beyaz renkli olan bu bileşik silika jel kaplı plakta UV lamba altında (254 nm) görülmedi. Serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C’de yakıldığında pembe-mor renk aldı (Şekil 4.64.). ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF’ta izlenen [M+Na]⁺ piki *m/z* 479,3500’e (C₃₀H₄₈O₃) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan oleanolik asit (3β-hidroksiolean-12-en-28-oik asit) olduğu saptandı ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Ertaş ve ark. 2015). Çizelge 4.30.’da ¹H- ve ¹³C-NMR değerleri verildi (Şekil 4.65-4.68.).



Şekil 4. 64. Oleanolik asit

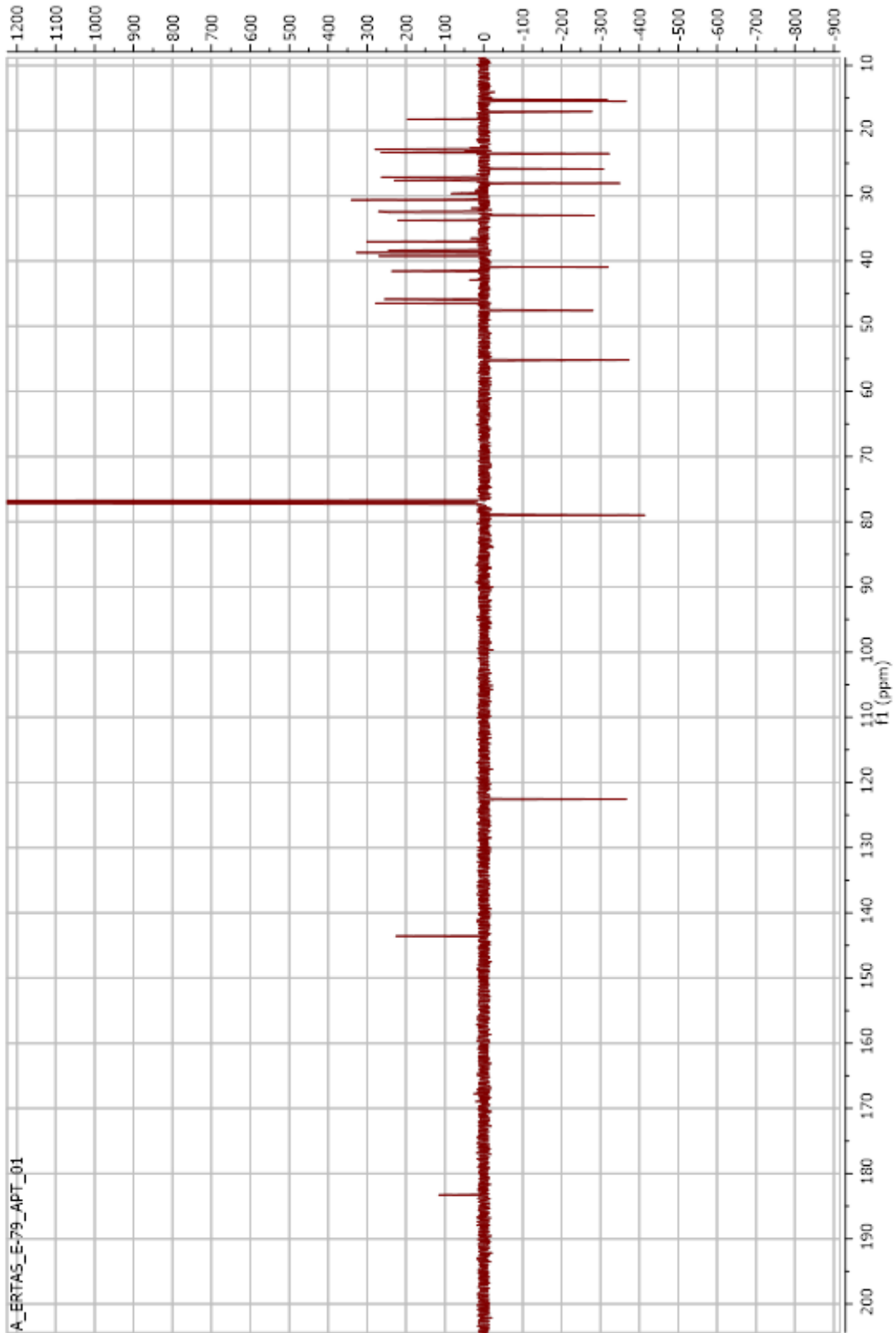
Çizelge 4. 30. Oleanolik asit bileşiminin NMR değerleri

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

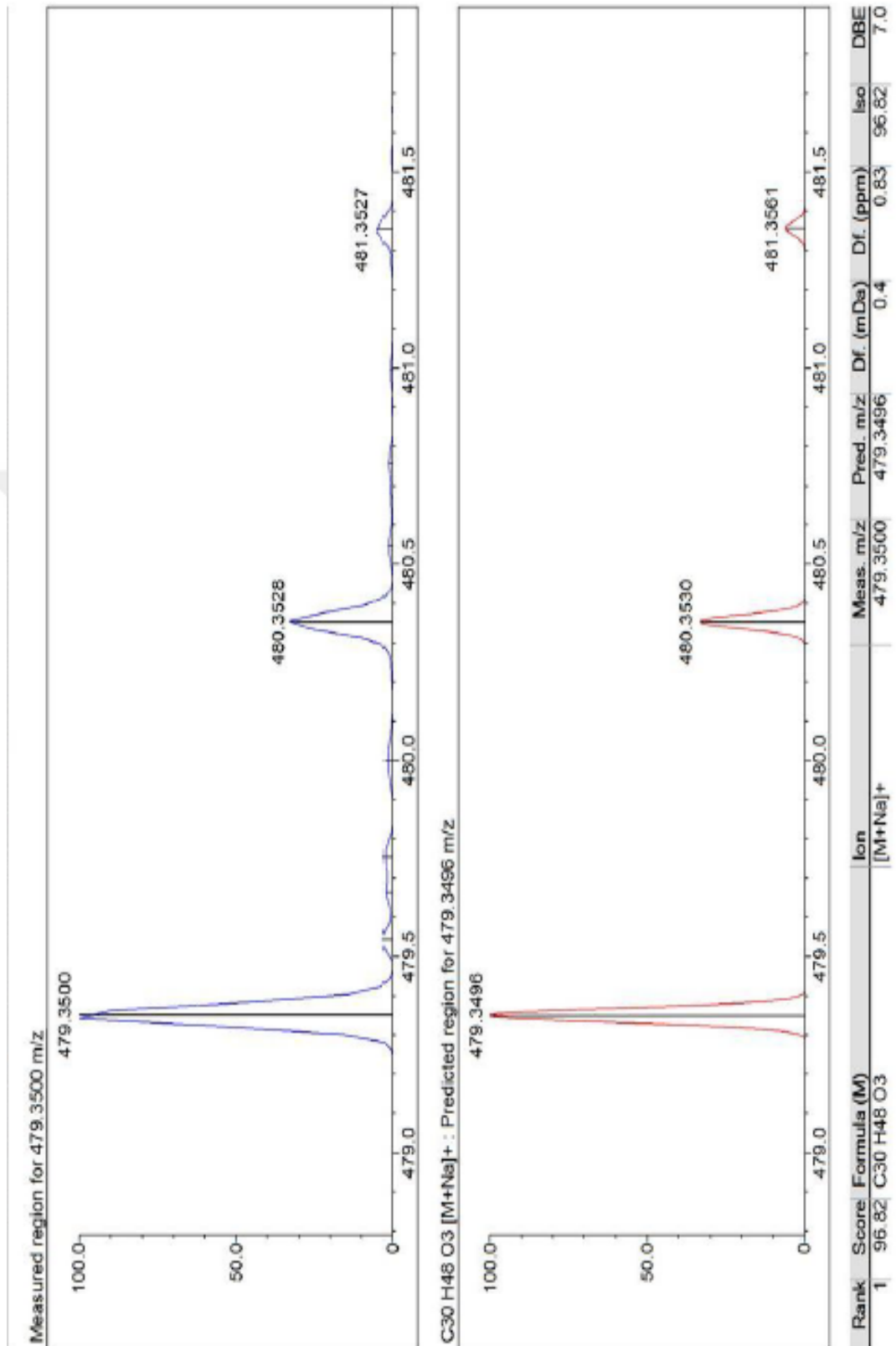


Şekil 4. 65. Oleanolik asit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)

4.BULGULAR VE TARTIŞMA



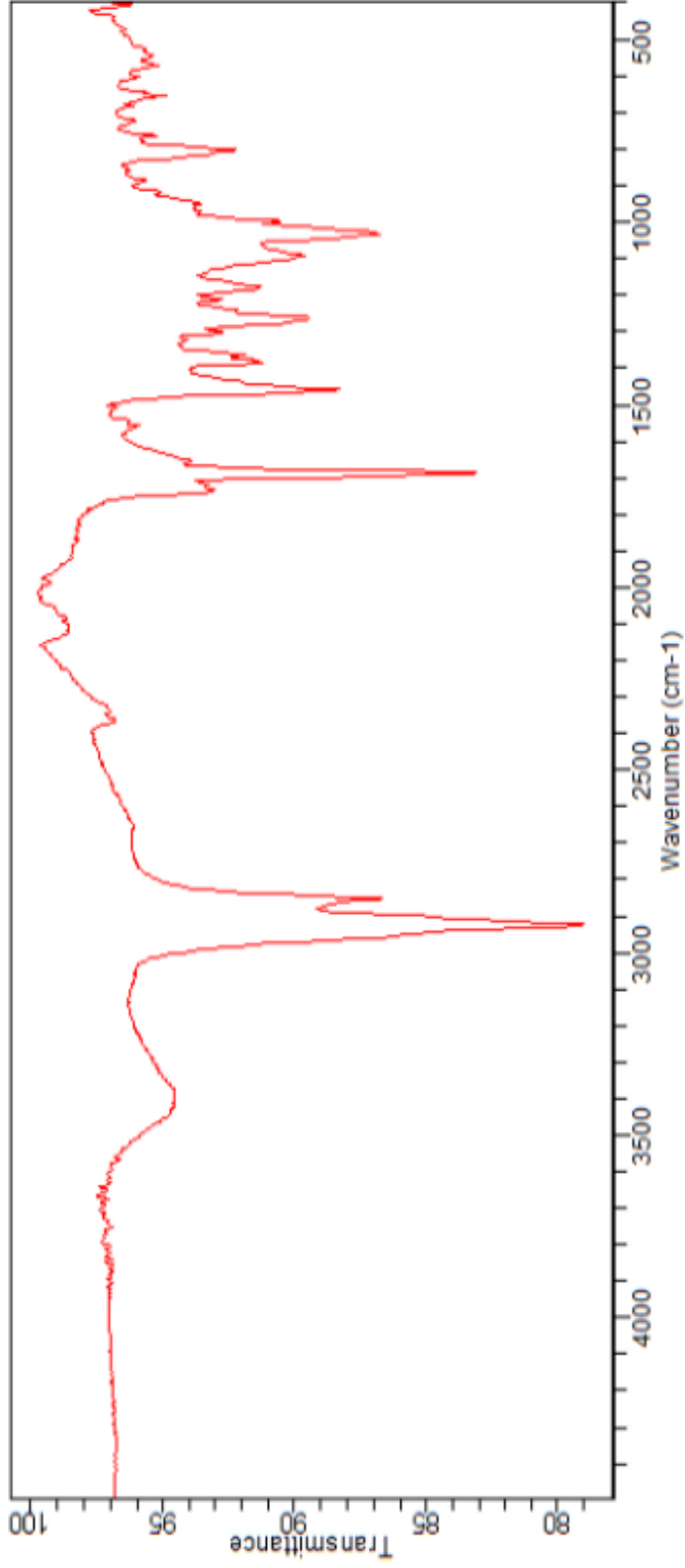
Şekil 4. 66. Oleanolik asit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



Şekil 4. 67. Oleanolik asit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

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

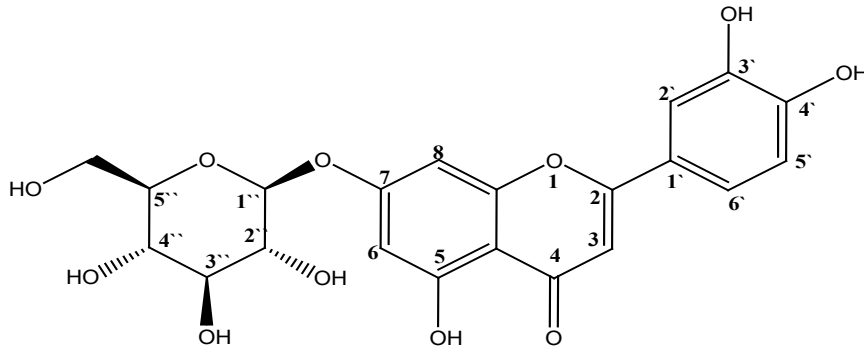
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 12:16:18
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 68. Oleanolik asit bileşiğinin IR spektrumu

4.14.12. Luteolin 7-Glikozit

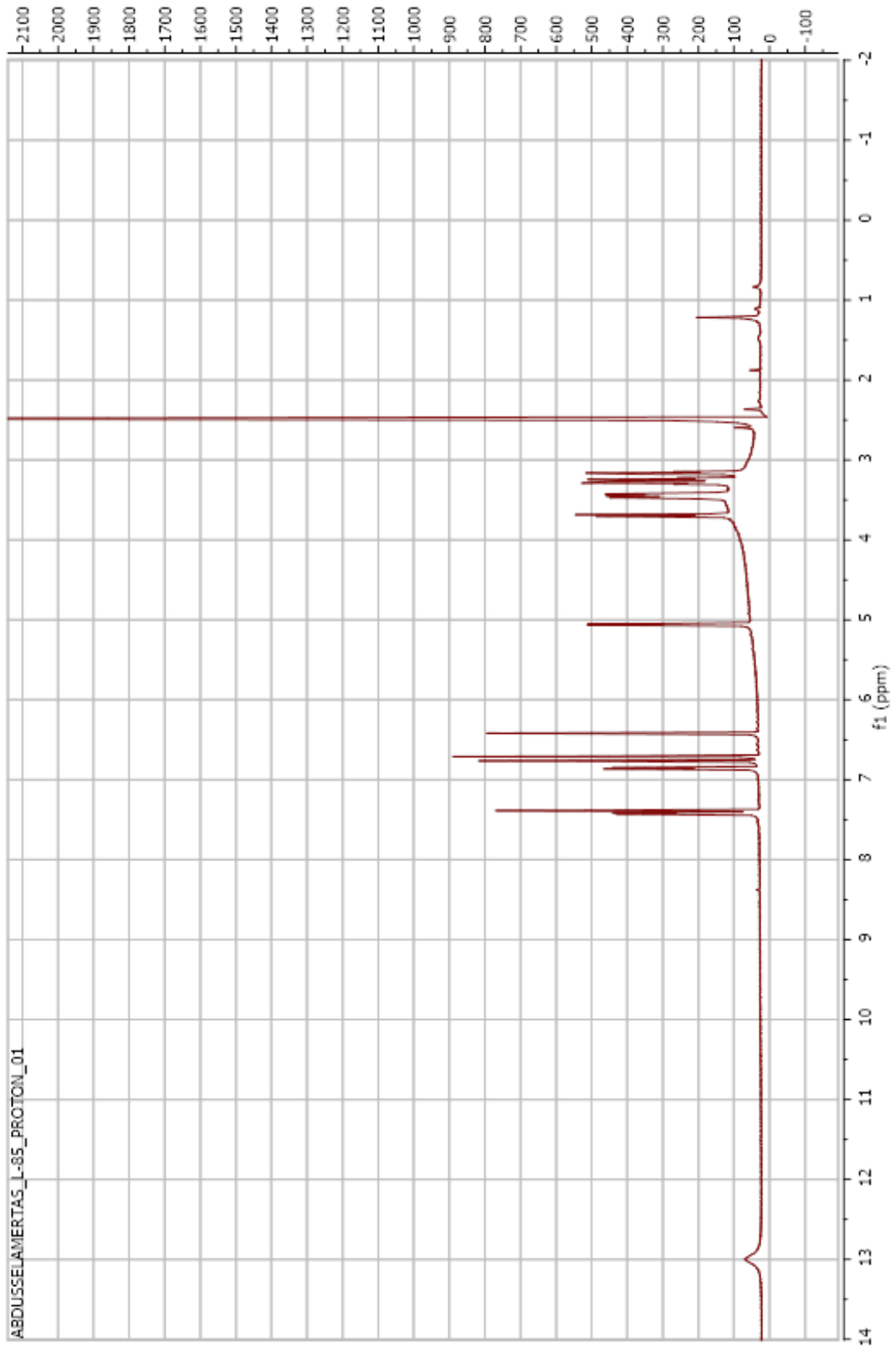
Toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinden preparatif HPLC'de MeOH/Su çözücü sisteminde elde edildi (Şekil 4.69.). $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CD_3OD , 600 MHz) δ 7.44- 6.44 ppm'de aromatik bölgede 6 sinyal izlendi. δ 3.71 ve 3.25 ppm arasında bir şeker molekülündeki hidroksillenmiş protonları gösteren protonlarla birlikte δ 5.08 *d* ($J=7.3$ Hz) ppm'de şeker olduğu düşünülen molekülün anomerik protonu izlendi. APT (CD_3OD , 150 MHz) spektrumu değerlendirildiğinde yapıda δ 181.7 çıkan pikin konjuge bir keton grubunun bağlı olduğu katerner karbonuna ait olduğu düşünüldü. Bunlara ilaveten δ 161.1, 145.9 ve 150.7 ppm'de oksijenlenmiş karbonlar izlendi. Bu sinyaller genelde aromatik halkalara OH grubu bağlandığında izlenebilmektedir. Aromatik bölgede izlenen protonlar ve şeker molekülüne ait sinyaller birlikte değerlendirildiğinde yapının şeker bağlı bir flavonoit olabileceği düşünüldü. Daha ileri NMR analizlerine devam etmeden önce elde edilen spektral değerler literatür ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucu δ 6.73 *s*, 6.44 *s*, 6.78 *s*, 7.40 *s*, 6.87 *d* ($J=8.2$ Hz) ve 7.44 *d* ($J=8.4$ Hz) ppm'de izlenen sinyallerin luteolin iskeletine ait olduğu belirlendi. δ 5.08 *d* ($J=7.3$ Hz) ppm'de izlenen anomerik proton ile 3.71- 3.25 ppm de izlenen diğer protonların glukoz yapısı ile örtüştüğü belirlendi. $^1\text{H-}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen M-H piki m/z 447.0933 ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$) ne dayanarak bu bileşiğin luteolin 7-glikozit olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Çizelge 4.31.) kıyaslanarak yapı doğrulandı (Lu ve Foo 2000), (Sun ve ark. 2009), (Gohari ve ark. 2011), (Şekil 4.70-4.73.).



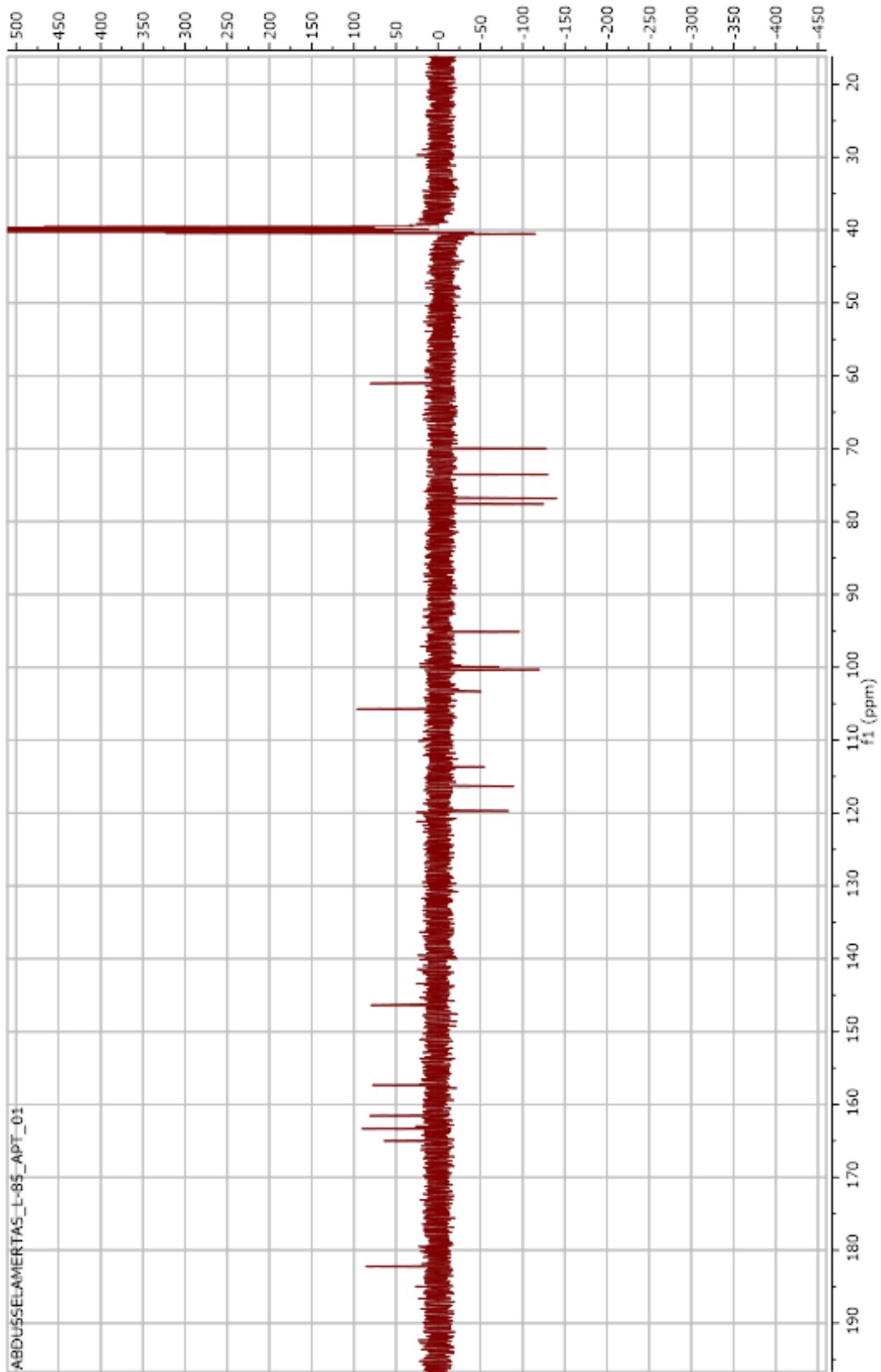
Şekil 4. 69. Luteolin 7-glikozit

Çizelge 4. 31. Luteolin 7-glikozit bileşiğinin NMR değerleri

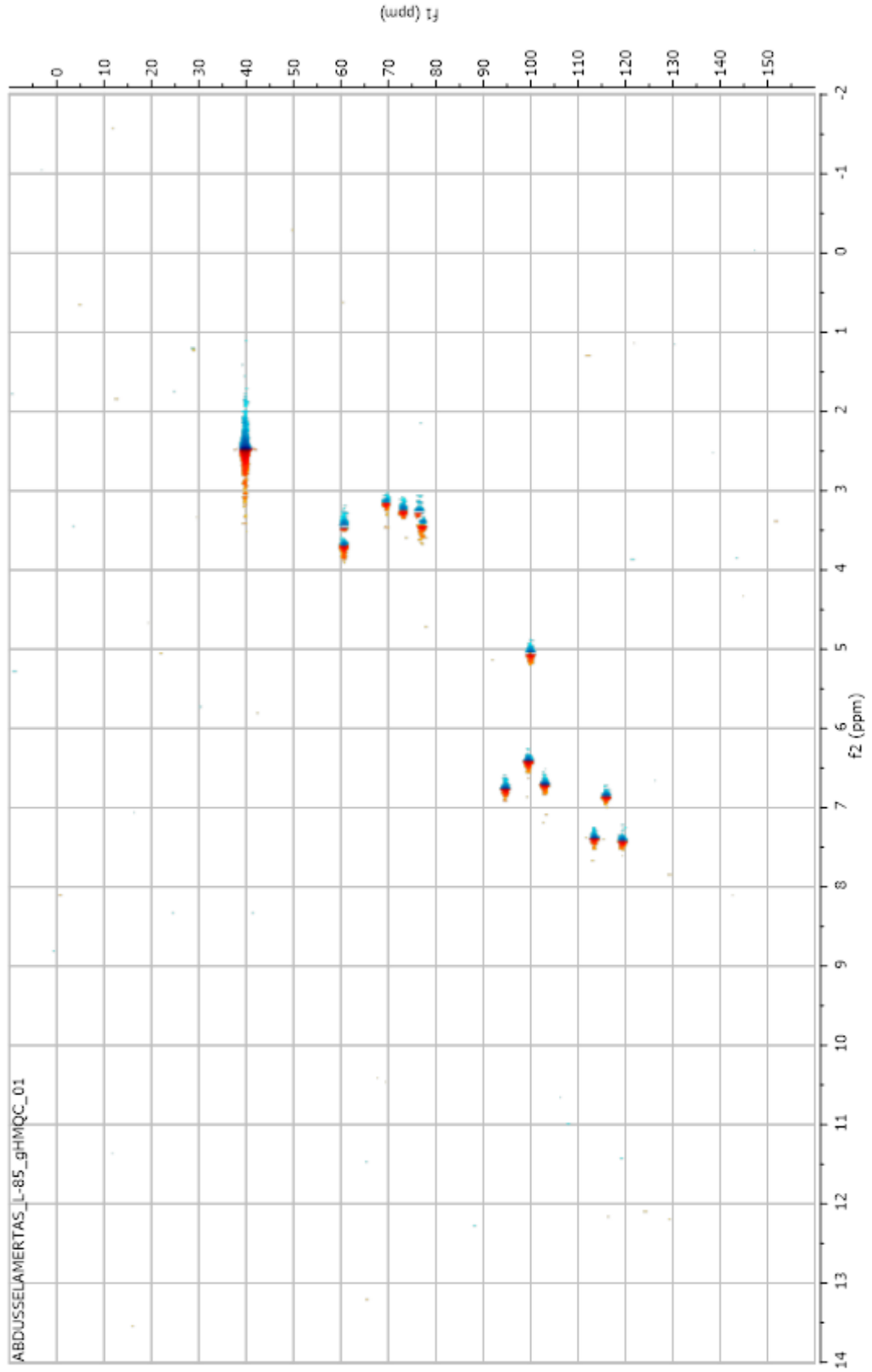
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	-	-
2	164.5	-
3	102.9	6.73 <i>s</i>
4	181.7	-
5	161.1	-
6	99.46	6.44 <i>s</i>
7	162.9	-
8	94.6	6.78 <i>s</i>
9	156.9	-
10	105.5	-
1'	120.7	-
2'	113.2	7.40 <i>s</i>
3'	145.9	-
4'	150.7	-
5'	115.9	6.87 <i>d</i> (<i>J</i> =8.2 Hz)
6'	119.2	7.44 <i>d</i> (<i>J</i> =8.4 Hz)
1''	99.8	5.08 <i>d</i> (<i>J</i> =7.3 Hz)
2''	73.0	3.30 <i>m</i>
3''	76.4	3.26 <i>m</i>
4''	69.5	3.25 <i>t</i> (<i>J</i> =8.9 Hz)
5''	77.1	3.43 <i>m</i>
6''	60.6	3.71 <i>d</i> (<i>J</i> =7.3 Hz) - 3.43 <i>m</i>



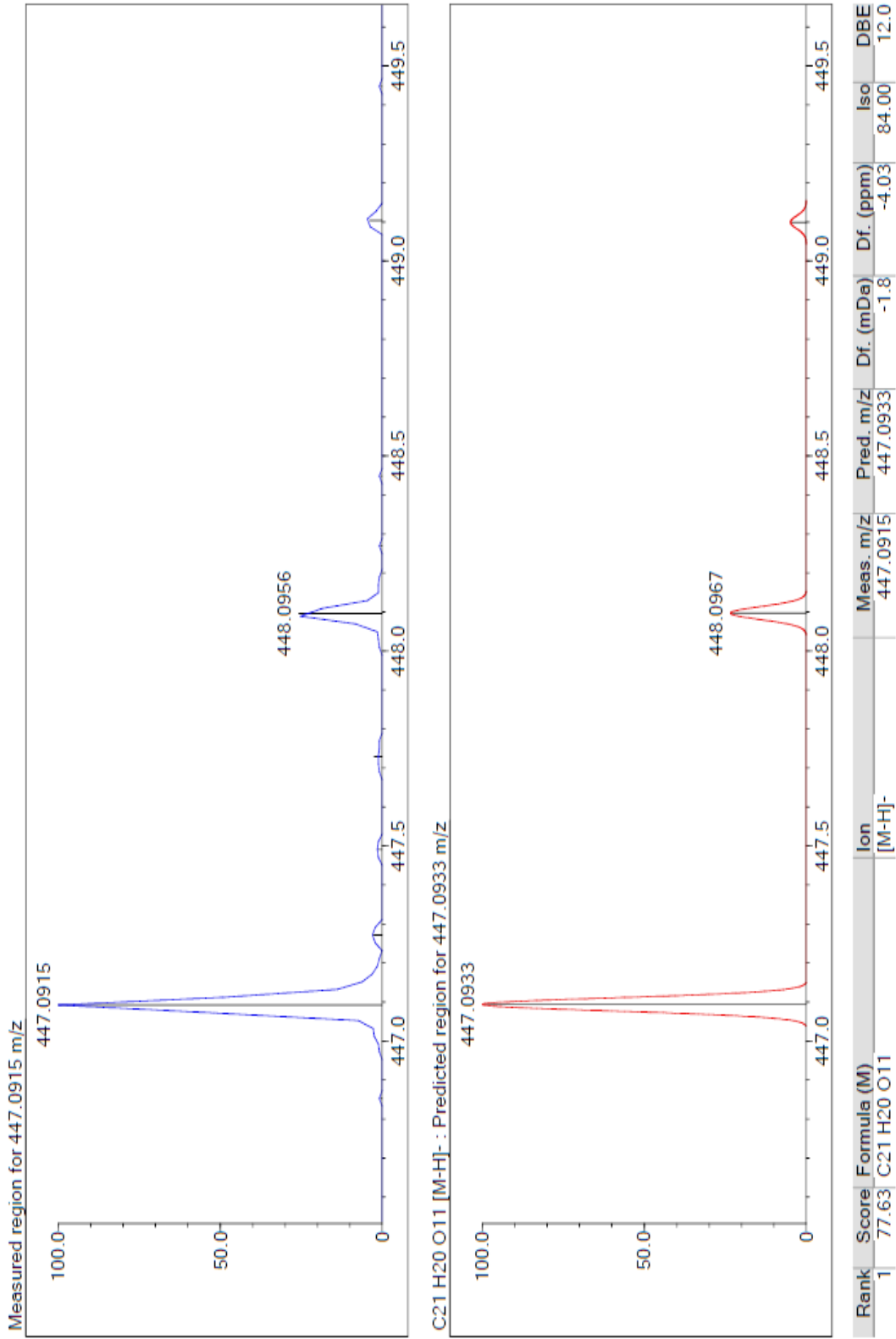
Şekil 4. 70. Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , 600 MHz)



Şekil 4. 71. Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CD_3OD , 150 MHz)



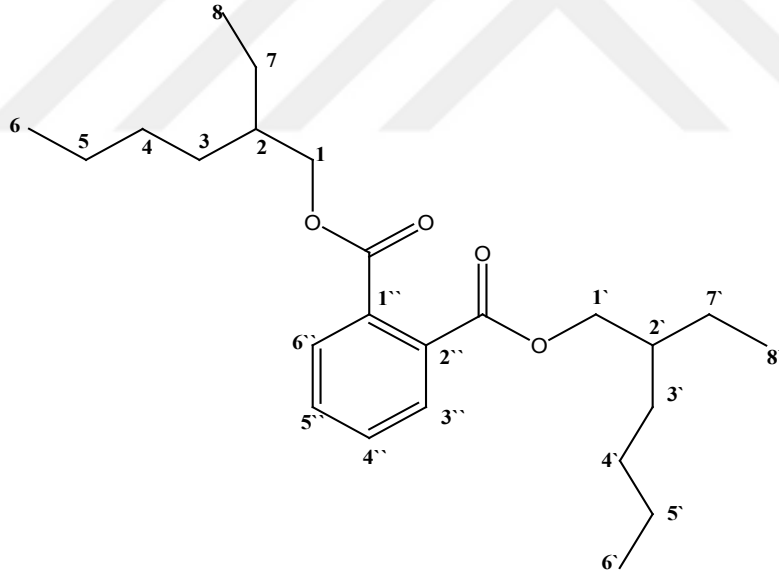
Şekil 4. 72. Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin HMQC spektrumu (CD₃OD, 600 MHz)



Şekil 4. 73. Luteolin 7-Glikozit bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.13. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat = Bis-(2-etilhekzil) ftalat

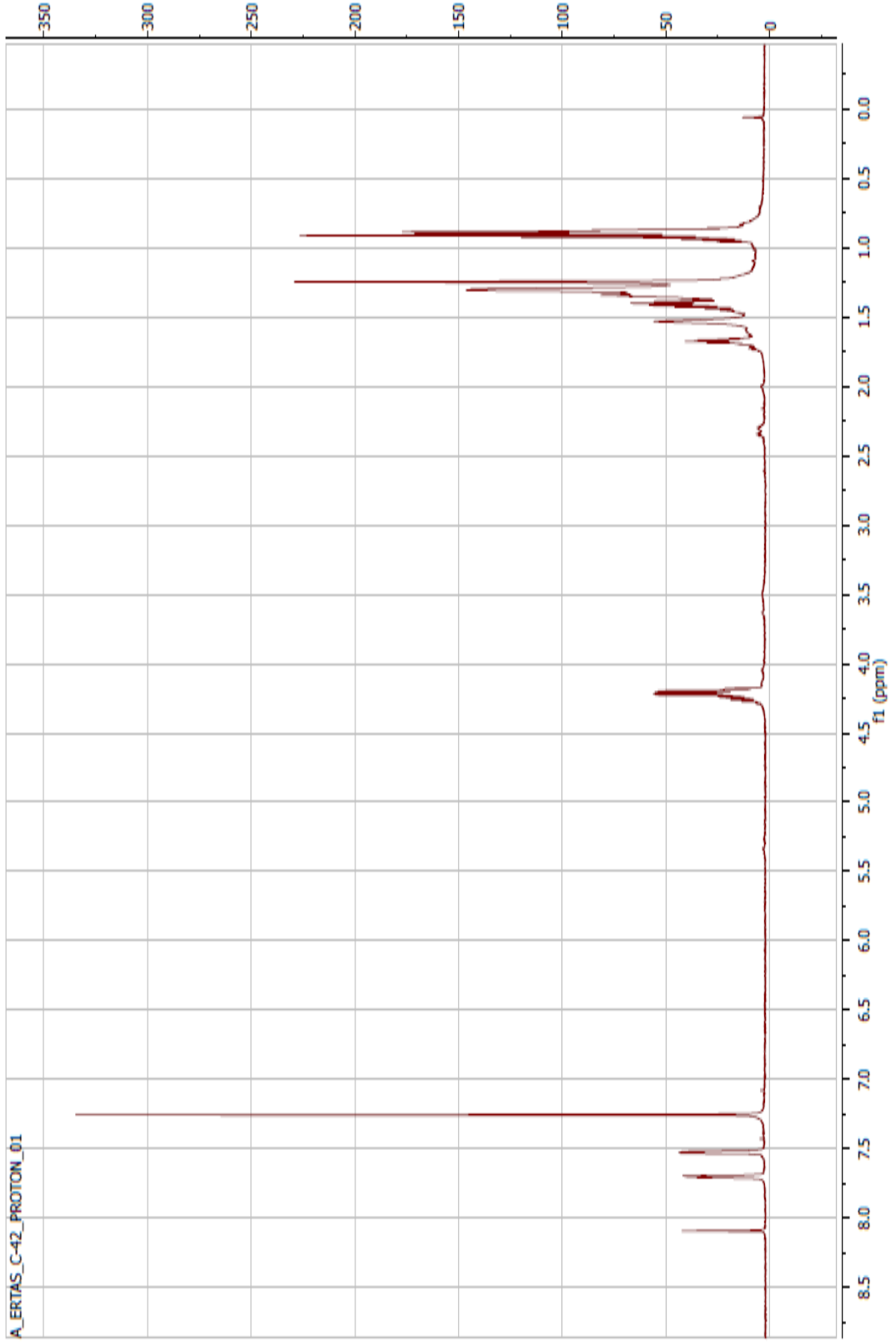
S. siirtica'nın hem toprak üstü hem de kök kısımlarının etanol ekstralarının çok sayıda fraksiyonundan (24 tane) preparatif ince tabaka kromatografisi ile petroleteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 300 mg olarak elde edildi (Şekil 4.74.). Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında açık mor görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) önce sarı bekleyince mor renk aldı. ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) spektrumunda 7,70 (2H, dd, J = 3,42; 5,86 Hz) H-3'' ve H-6'', 7,52 (2H, dd, J = 3,42; 5,86) H-4'' ve H-5'', 4,21 (4H, pentet, J = 5,86 Hz) H-1 ve H-1', 1,55 (2H, m) H-2 ve H-2', 1,32-1,22 (8 CH₂, m), 0,93 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-6 ve Me-6', 0,89 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-8 ve Me-8' pikleri izlendi.¹H ve ¹³C NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF ta izlenen M+H pikine *m/z* 391.2843 (C₂₄H₃₈O₄) dayanarak bu bileşiğin bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Çizelge 4.32.) kıyaslanarak yapı doğrulandı (Ertaş ve ark. 2015), (Şekil 4.75-4.78.).



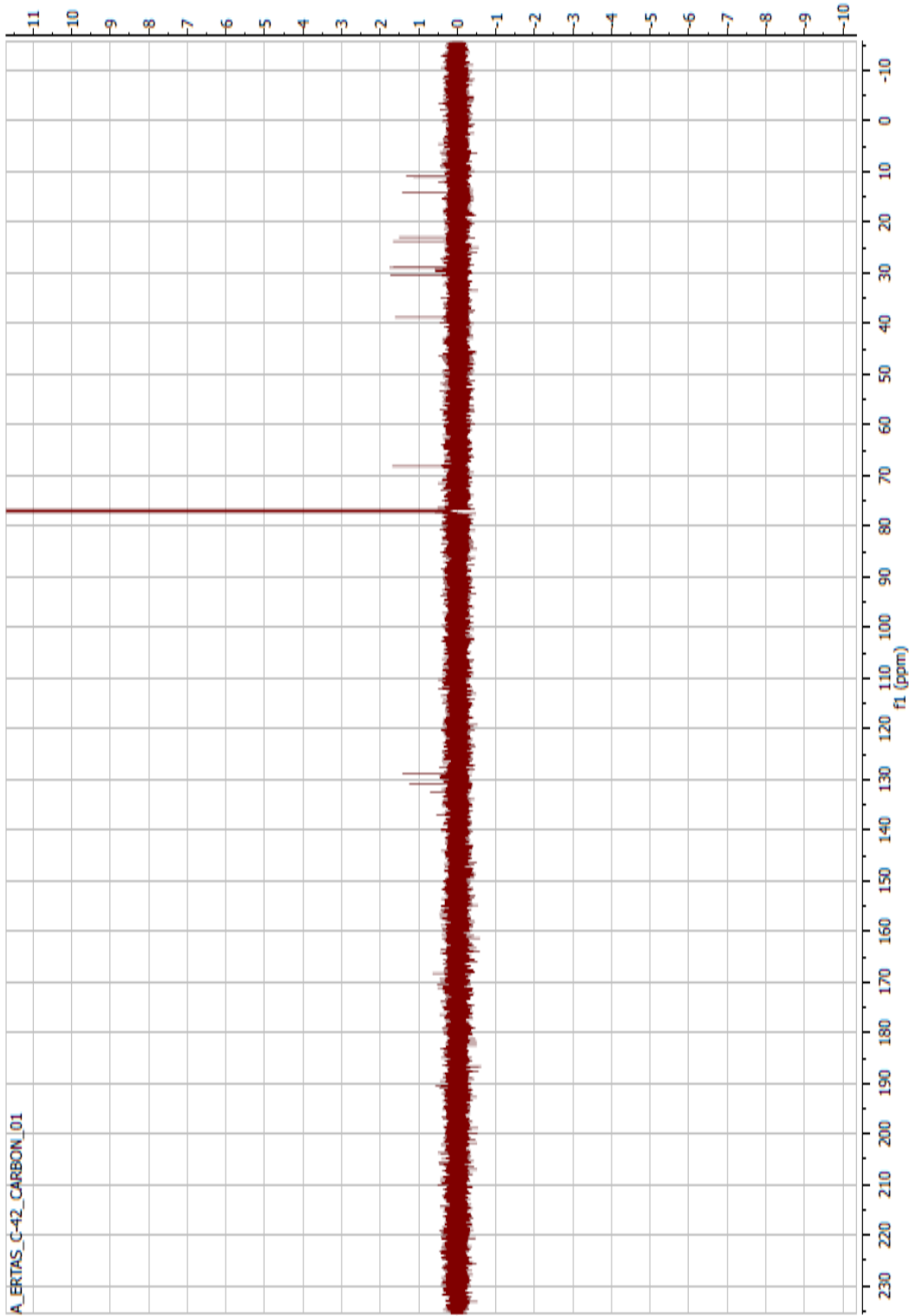
Şekil 4. 74. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat

Çizelge 4. 32. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin NMR değerleri

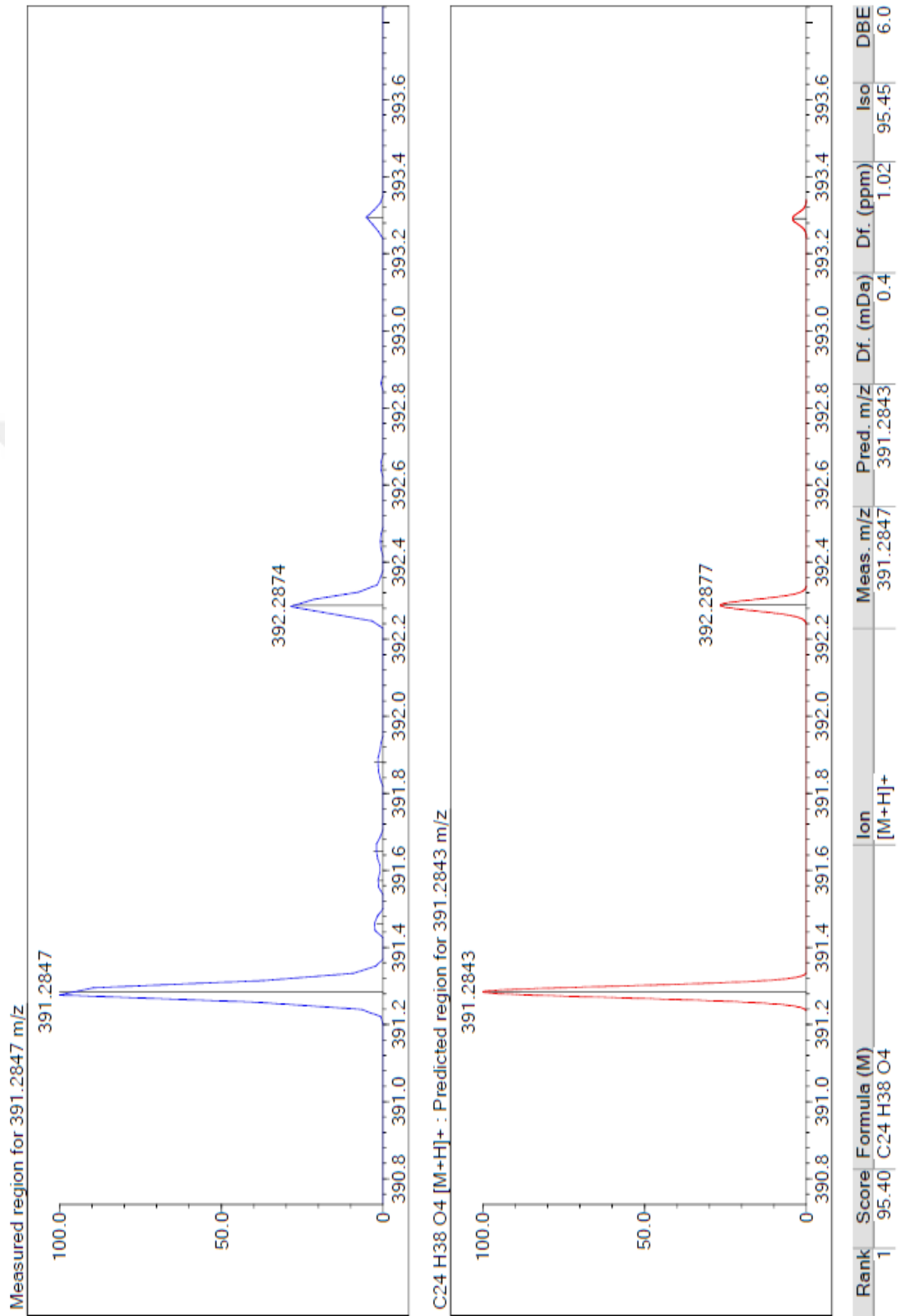
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1, 1'	67,70	4,21 pentet (J = 5,86 Hz)
2, 2'	39,04	1,55 m
3, 3'	30,53	1,32-1,22 m
4, 4'	28,69	1,32-1,22 m
5, 5'	22,96	1,32-1,22 m
6, 6'	10,65	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7, 7'	23,86	1,32-1,22m
8, 8'	13,64	0,89 t (J = 5,00 Hz)
1'', 2''	132,82	-
4'', 5''	131,35	7,52 dd (J = 3,42; 5,86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



Şekil 4. 75. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



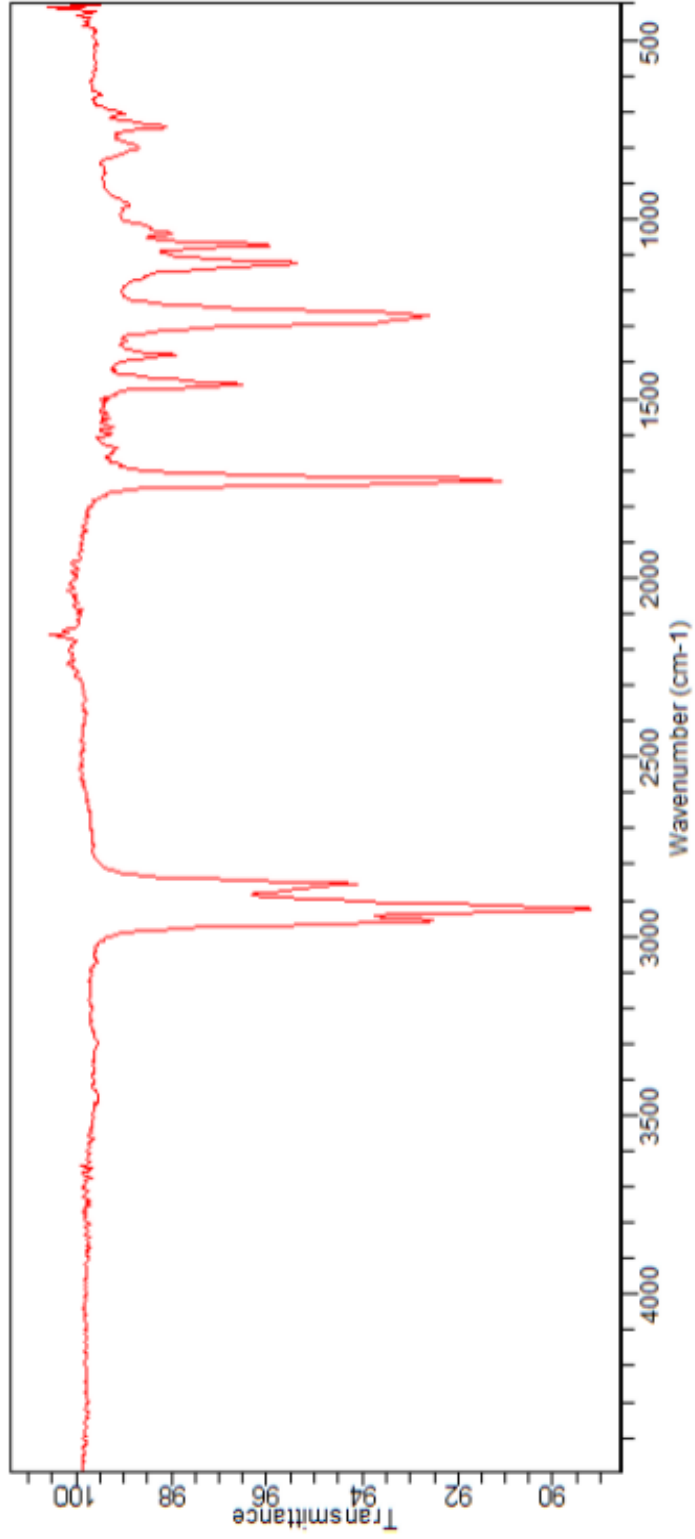
Şekil 4. 76. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşğinin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 4. 77. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

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

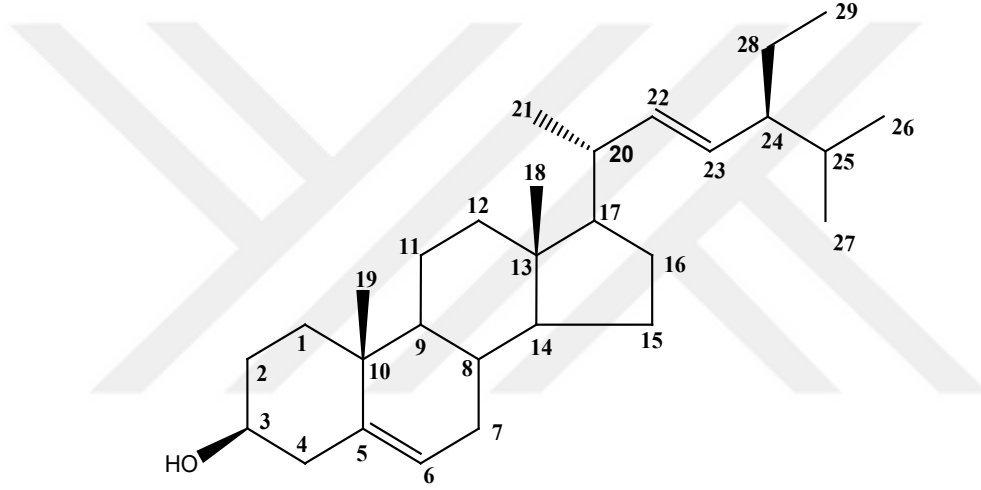
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 12:30:12
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 78. Bis-(2-etilhekzil) benzen-1,2 dikarboksilat bileşiminin IR spektrumu

4.14.14. Stigmasterol

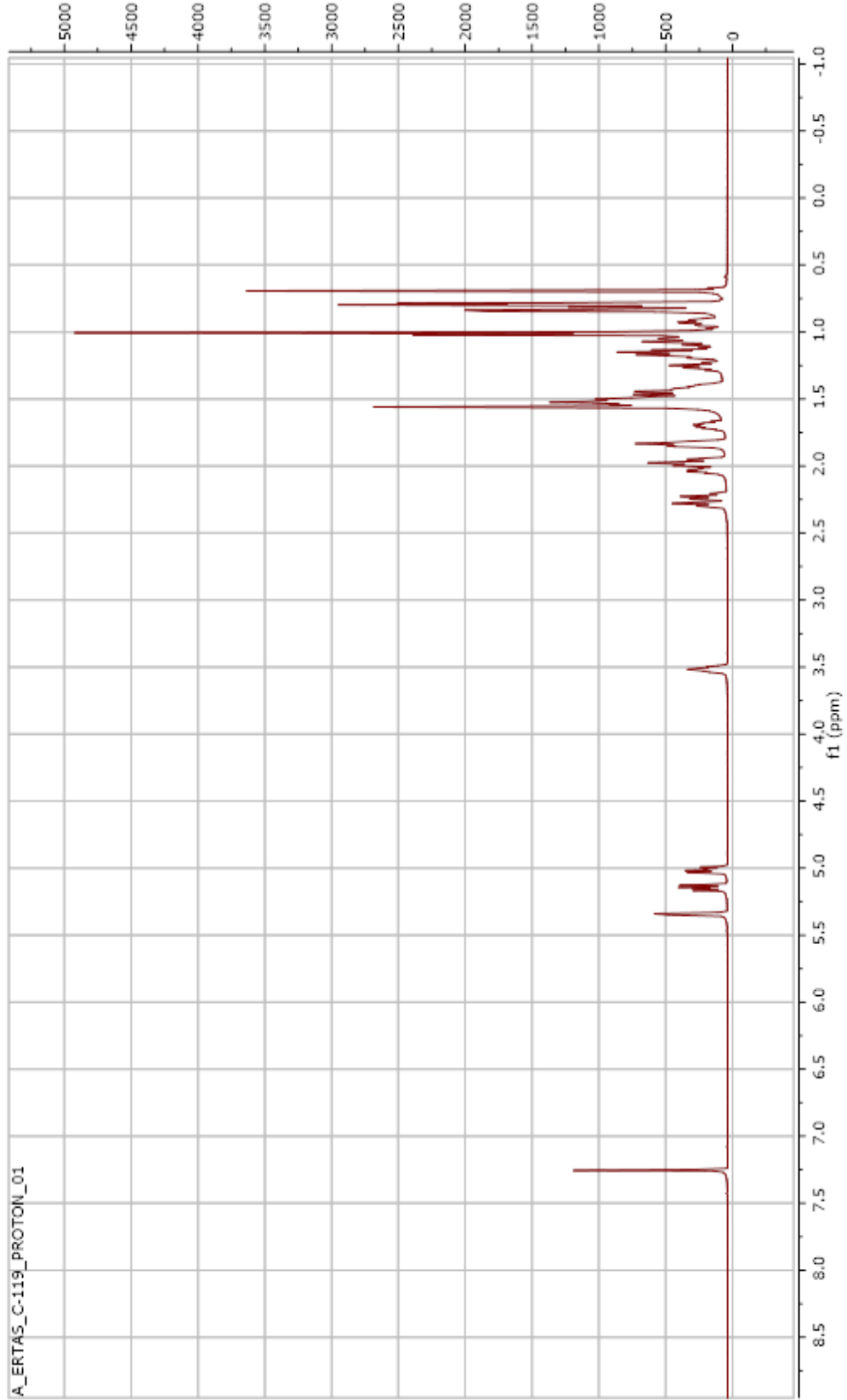
Hem toprak üstü hem de kök kısımlarının etanol ekstratlarından preparatif ince tabaka kromatografisi ile petroleteri/diklorometan:1/9 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 56 mg olarak elde edildi (Şekil 4.79). ^1H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{Na}]^+$ piki m/z 435,3587'ye ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$) dayanarak bu bileşiğin *Salvia* türlerinde çok yaygın olan stigmasterol (stigmasta-5,22-dien-3-ol) olduğu saptandı ve NMR değerleri literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Kolak ve ark. 2005). Çizelge 4.33.'te ^1H - ve ^{13}C -NMR değerleri verildi (4.80-4.82.).



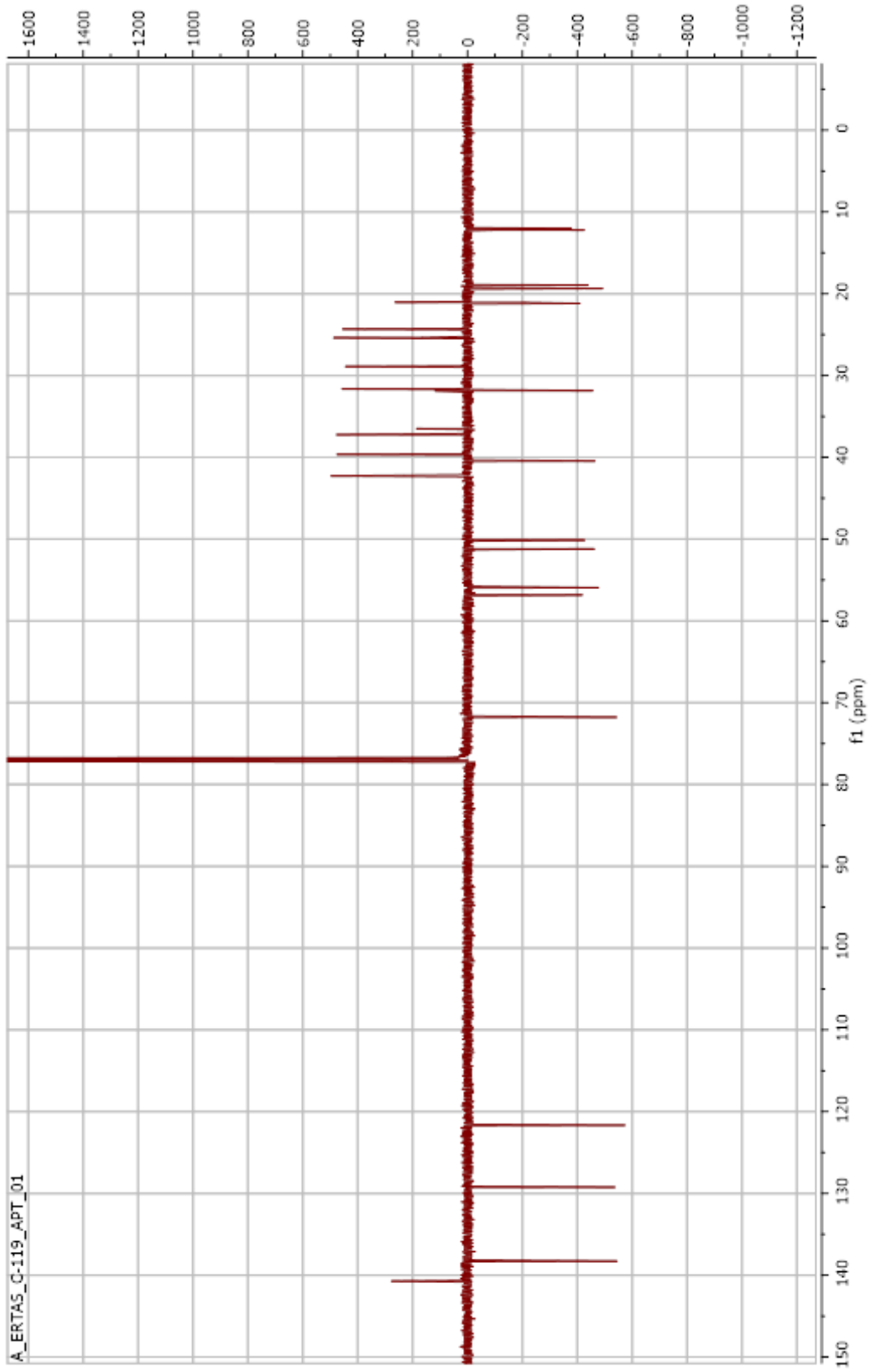
Şekil 4. 79. Stigmasterol

Çizelge 4. 33. Stigmasterol bileşiğinin NMR değerleri

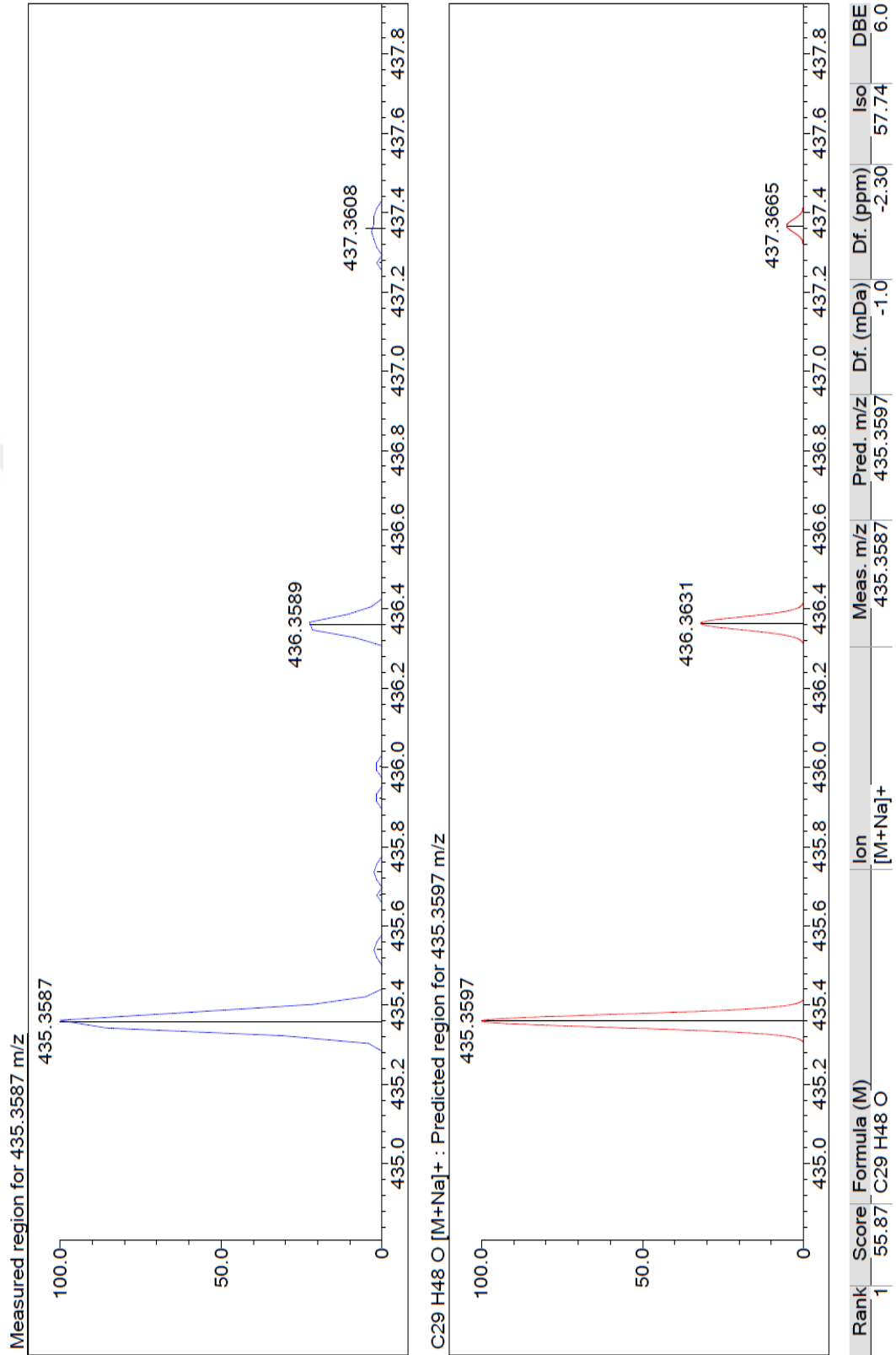
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	37,2	-
2	31,9	-
3	71,8	3,52 dt (J=11; 8,7 Hz)
4	42,3	-
5	140,7	-
6	121,7	5,35 d (J=2,5 Hz)
7	31,8	-
8	31,9	-
9	51,2	-
10	36,5	-
11	21,2	-
12	39,7	-
13	42,2	-
14	56,8	-
15	24,3	-
16	28,9	-
17	55,9	-
18	12,2	0,69 s
19	19,4	1,01 s
20	40,6	-
21	21,7	0,83 d (J=6 Hz)
22	138,3	5,02 dd (J=15,1; 8,6 Hz)
23	129,3	5,15 dd (J=15,1;8,7 Hz)
24	50,1	-
25	31,9	-
26	21,1	0,81 d (J=6 Hz)
27	19,0	0,84 d (J=6 Hz)
28	25,4	-
29	12,1	0,97 t (J=8,6 Hz)



Şekil 4. 80. Stigmasterol bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



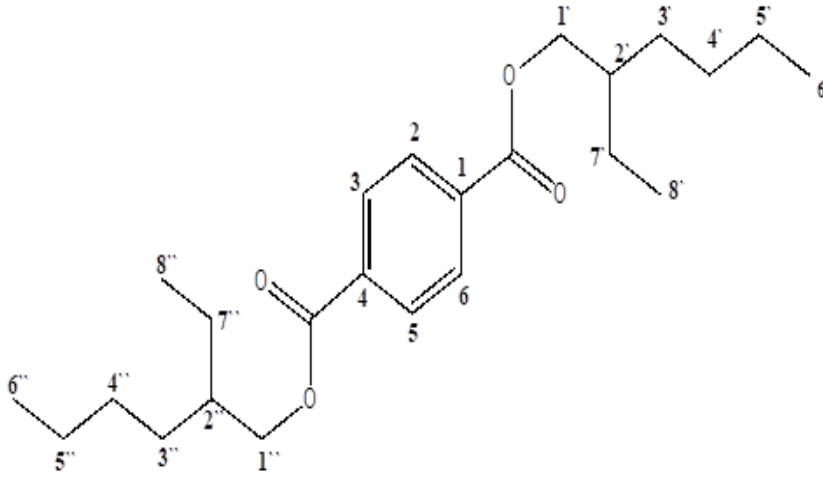
Şekil 4. 81. Stigmasterol bileşiğinin ¹³C NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 150 MHz)



Şekil 4. 82. Stigmasterol bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.15. Bis (2-etilhekzil) tereftalat

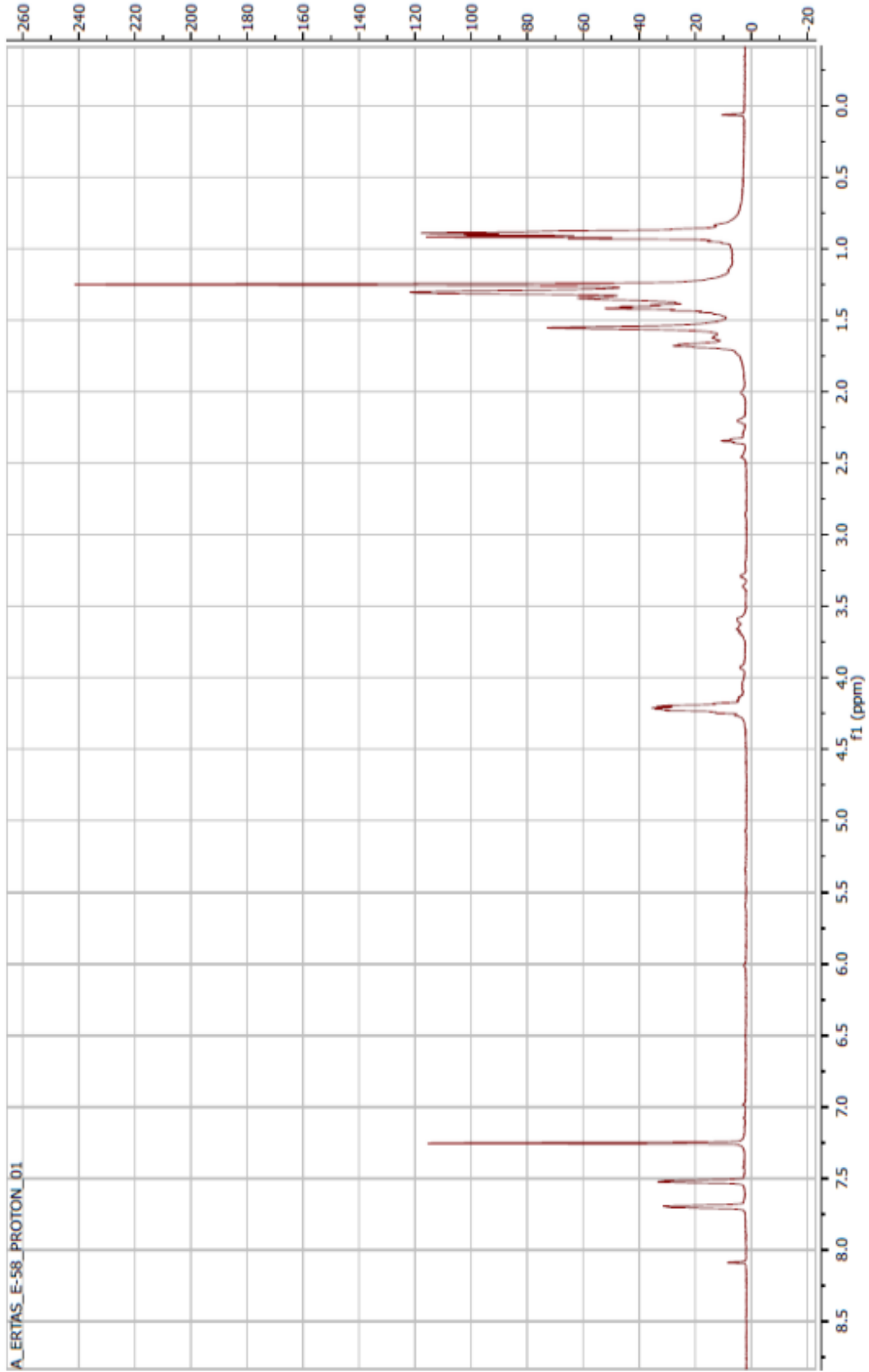
Hem toprak üstü hem de kök kısımların etanol ekstratlarının çok sayıda fraksiyonundan preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/3 çözücü sisteminde beyaz renkte toz halde yaklaşık 210 mg olarak elde edildi (Şekil 4.83.). Silikajel plakta UV lamba (254 nm) altında açık mor görülen bileşik serik sülfat belirteci püskürtülüp yakıldığında (105°C) önce sarı bekleyince mor renk aldı. ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) spektrumunda δ 8,09 (4H, m) H-2, 3, 5 ve 6, 4,26 (4H, pentet, J = 5,86 Hz) H-1' ve H-1'', 1,56 (2H, m) H-2' ve H-2'', 1,33-1,46 (8 CH₂, m), 0,93 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-6' ve Me-6'', 0,89 (6H, t, J = 5,00 Hz) Me-8' ve Me-8'' pikleri izlendi. ¹³C NMR değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen M+H piki *m/z* 391.2844 (C₂₄H₃₈O₄) ne dayanarak bu bileşiğin bis (2-etilhekzil) tereftalat olduğu saptandı ve literatür ile NMR değerleri (Çizelge 4.34.) kıyaslanarak yapı doğrulandı (Kolak ve ark. 2005), (Şekil 4.84-4.88.).



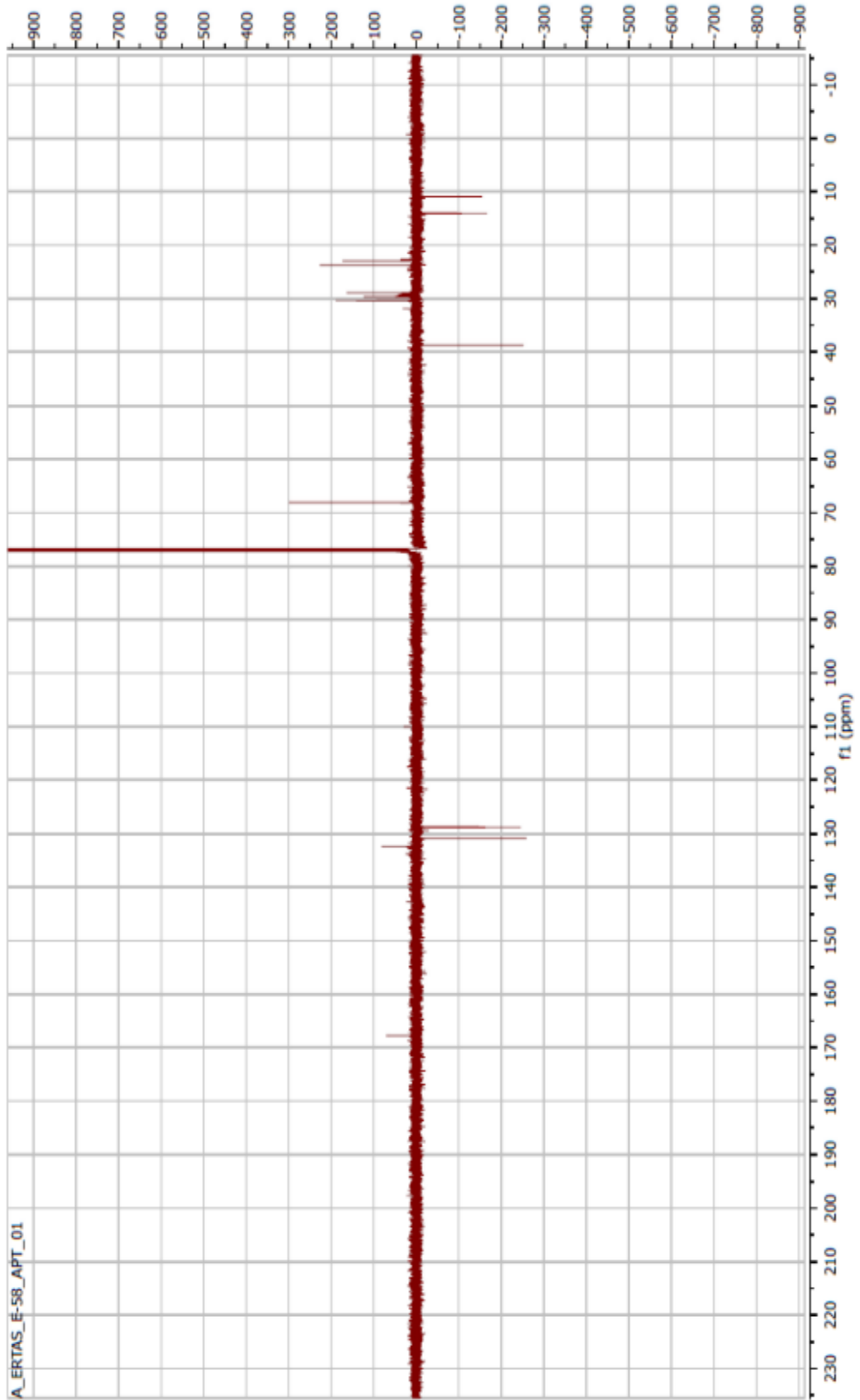
Şekil 4. 83. Bis (2-etilhekzil) tereftalat

Çizelge 4. 34. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiminin ¹H NMR değerleri

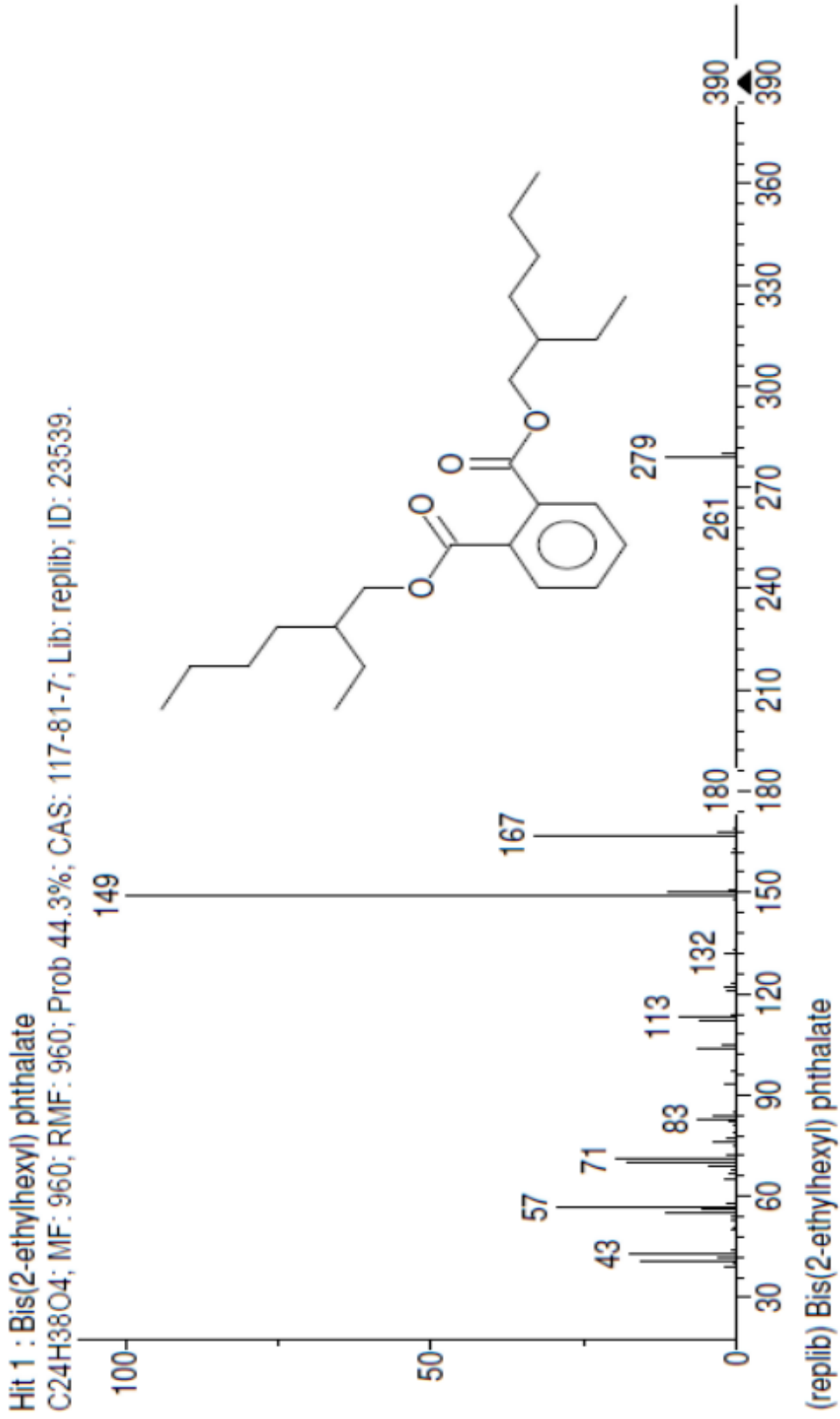
Pozisyon	¹ H-NMR
1	-
2	8,09 m
3	8,09 m
4	8,09 m
5	8,09 m
6	8,09 m
7	-
8	-
1'	4,26 pentet (J = 5,86 Hz)
2'	1,56 m
3'	1,33-1,46 m
4'	1,33-1,46 m
5'	1,33-1,46 m
6'	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7'	1,33-1,46 m
8'	0,89 t (J = 5,00 Hz)
1''	4,26 pentet (J = 5,86 Hz)
2''	1,56 m
3''	1,33-1,46 m
4''	1,33-1,46 m
5''	1,33-1,46
6''	0,93 t (J = 5,00 Hz)
7''	1,33-1,46 m
8''	0,89 t (J = 5,00 Hz)



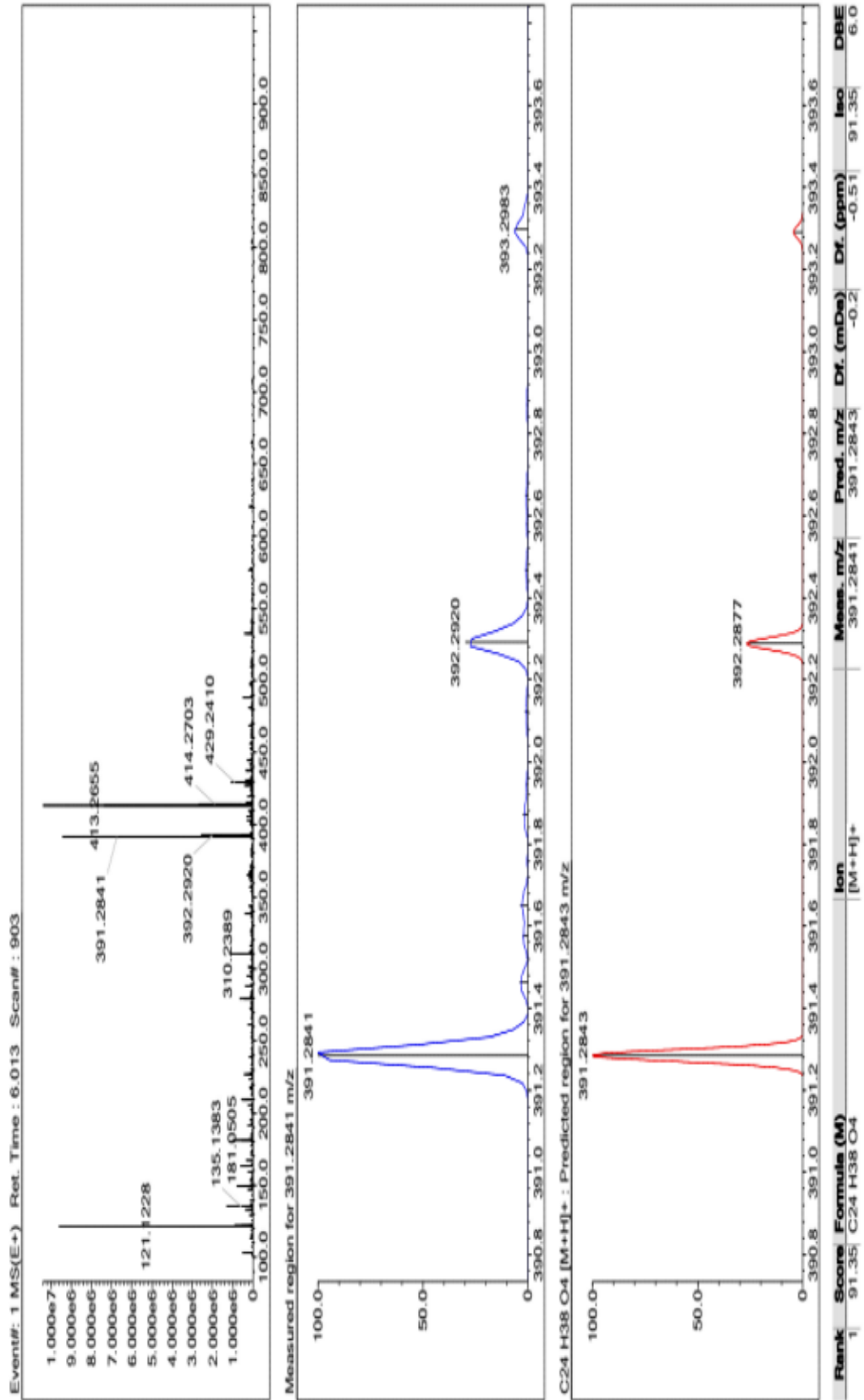
Şekil 4. 84. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



Şekil 4. 85. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



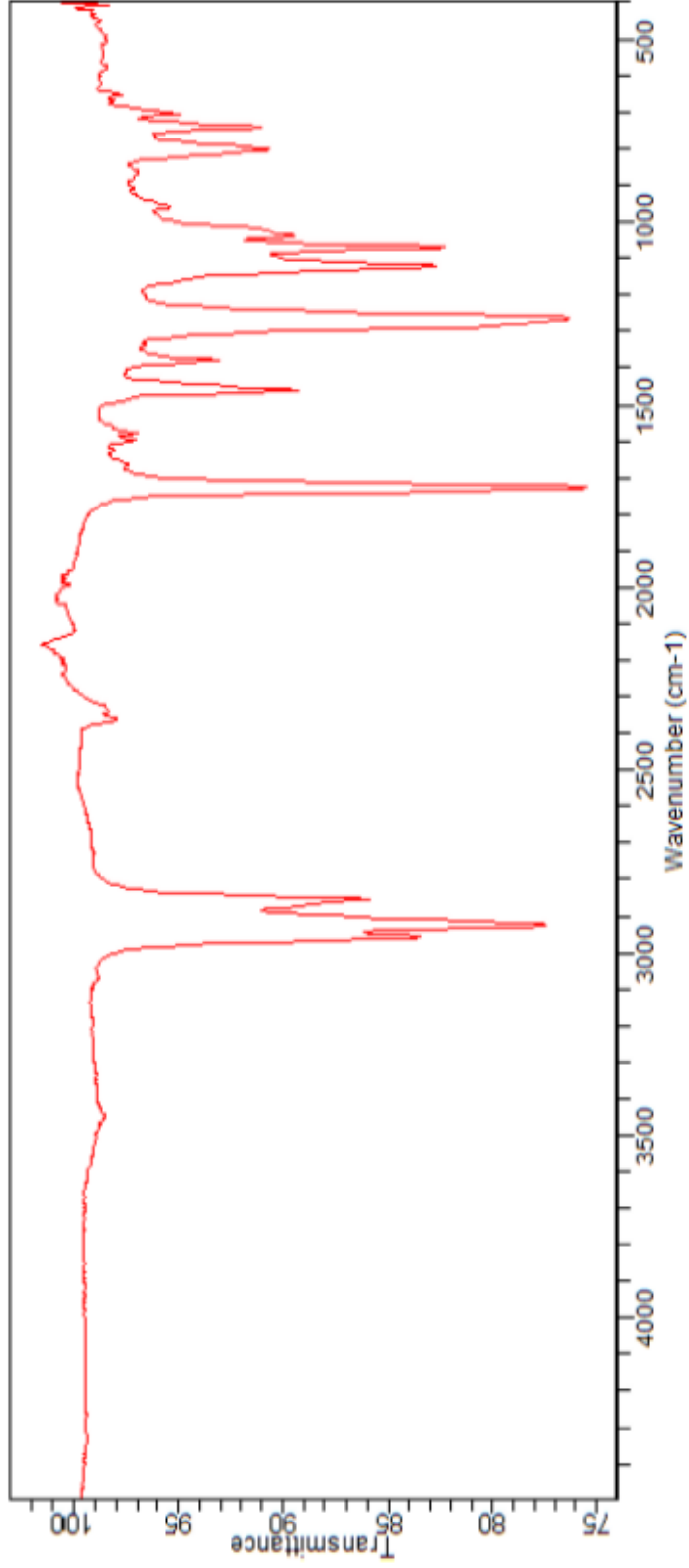
Şekil 4. 86. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 4. 87. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

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

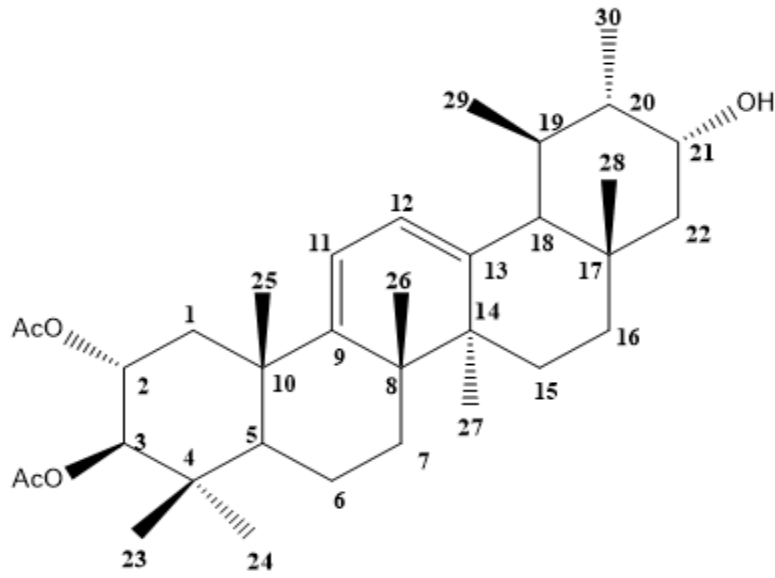
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 2:15:21
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 88. Bis (2-etilhekzil) tereftalat bileşiminin IR spektrumu

4.14.16. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien

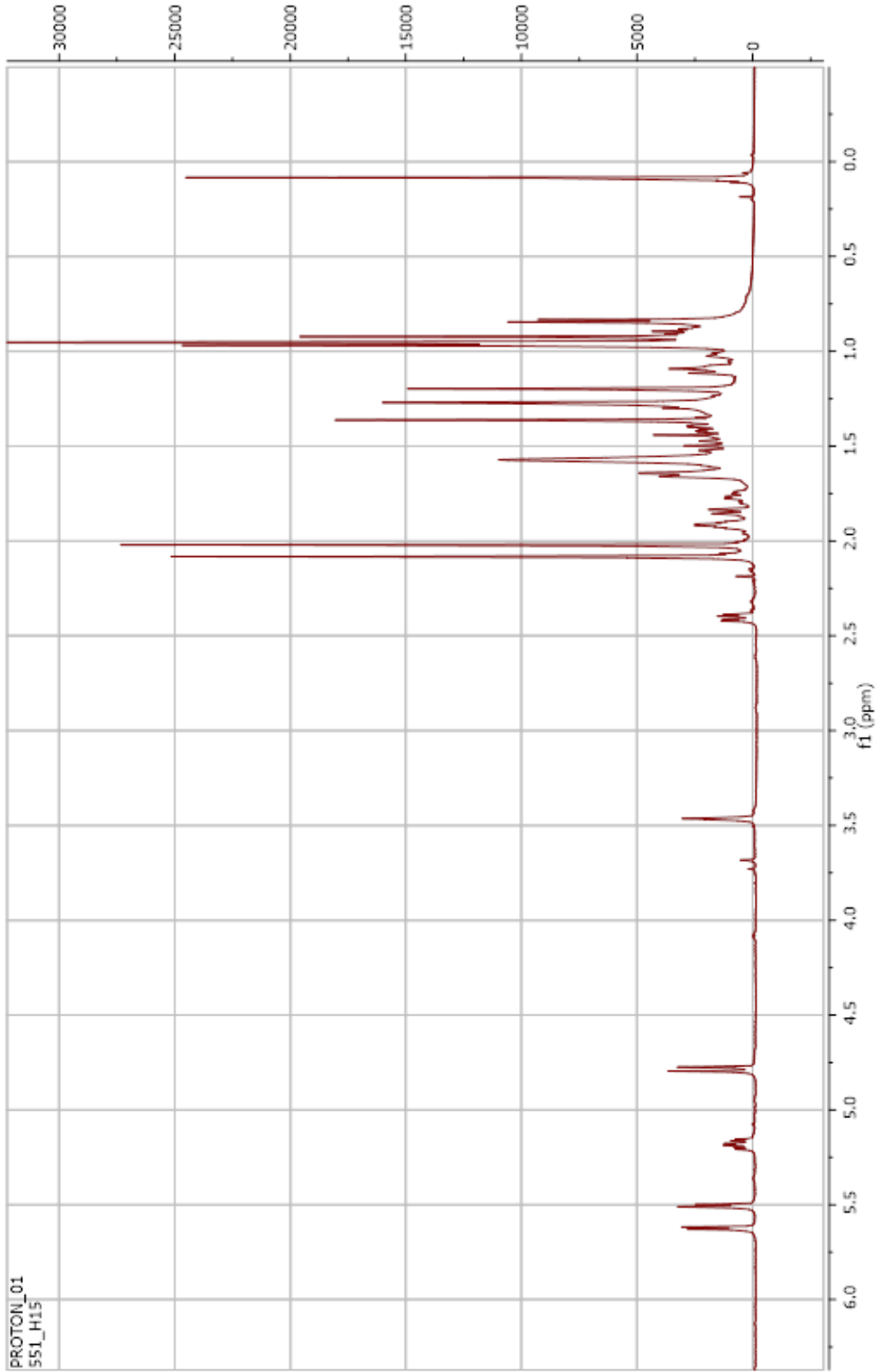
S. siirtica'nın toprak üstü etanol ekstresinden elde edilmiştir. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde yaklaşık 3,8 mg beyaz renkte kristal şekilde elde edilmiştir (Şekil 4.89.). Silikajel plakta UV lamba altında (254 nm) kahverengi tonunda görünen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C'de yakıldığında koyu kahve bir renk aldı. ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 0.93- 0.8 ppm'de 6 metil singleti, 2 tane metil dubleti izlendi. Ayrıca δ 2.04 ve 1.98 ppm'de izlenen 2 adet metilin asetil metili olabileceği görüldü. δ 3.43, 4.75 (*d*, *J*= 12 Hz) ve 5.15 ppm'de oksijenlenmiş protonlar izlendi, Ayrıca δ 1.2 ve 1.7 ppm arasında metilen sinyalleri izlendi. Yalnızca proton spektrumuna bakılarak yapının 2 tanesi asetil metili olmak üzere toplam 10 metil grubuna sahip, asetilenmiş ve hidroksillenmiş triterpen yapısı olabileceği görüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 10 metil, 6 metilen, 9 metin, 9 katerner karbon izlendi. Bunların arasında δ 75.96, 80.6 ve 70.6 ppm'de 3 tane karbonun oksijene bağlı olduğu görüldü. δ 3.43 ve δ 4.75 (*d*, *J*= 12 Hz) ppm'de izlenen oksijenlenmiş proton bize asetil grubunun buradan bağladığını göstermektedir Ayrıca kapling sabitlerine göre δ 3.43 *m* ppm'deki metin α , δ 4.75 ppm'deki metinin β pozisyonunda olduğu anlaşılmaktadır. HMBC, APT ve ¹H-NMR spektrumları yanyana değerlendirildiğinde, hidroksillenmiş proton, asetil grubu ve vinilik metil gruplarının yerleri tespit edildi. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen *m/z* 558.4162. [M+NH]⁺ piki C₃₄H₅₂O₅ kapalı formülünü önerdi. GC-EI-MS ile elde edilen spektrumda su kopması sonucu sıkça izlenen *m/z* 522. [M-H₂O]⁺ piki C₃₄H₅₂O₅ kapalı formülünü destekledi. Literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında NMR değerleri Çizelge 4.35.'te verilen bu bileşiğin ilk kez *S. siirtica*'dan izole edilen yeni bir triterpen (Şekil 4.89.) olduğu tespit edildi ve ismi 21 α -hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien olarak belirlendi (Tuyen ve ark. 1998), (Topçu ve ark. 2004), (Xiaoxia ve ark. 2008), (Şekil 4.90-4.97.).



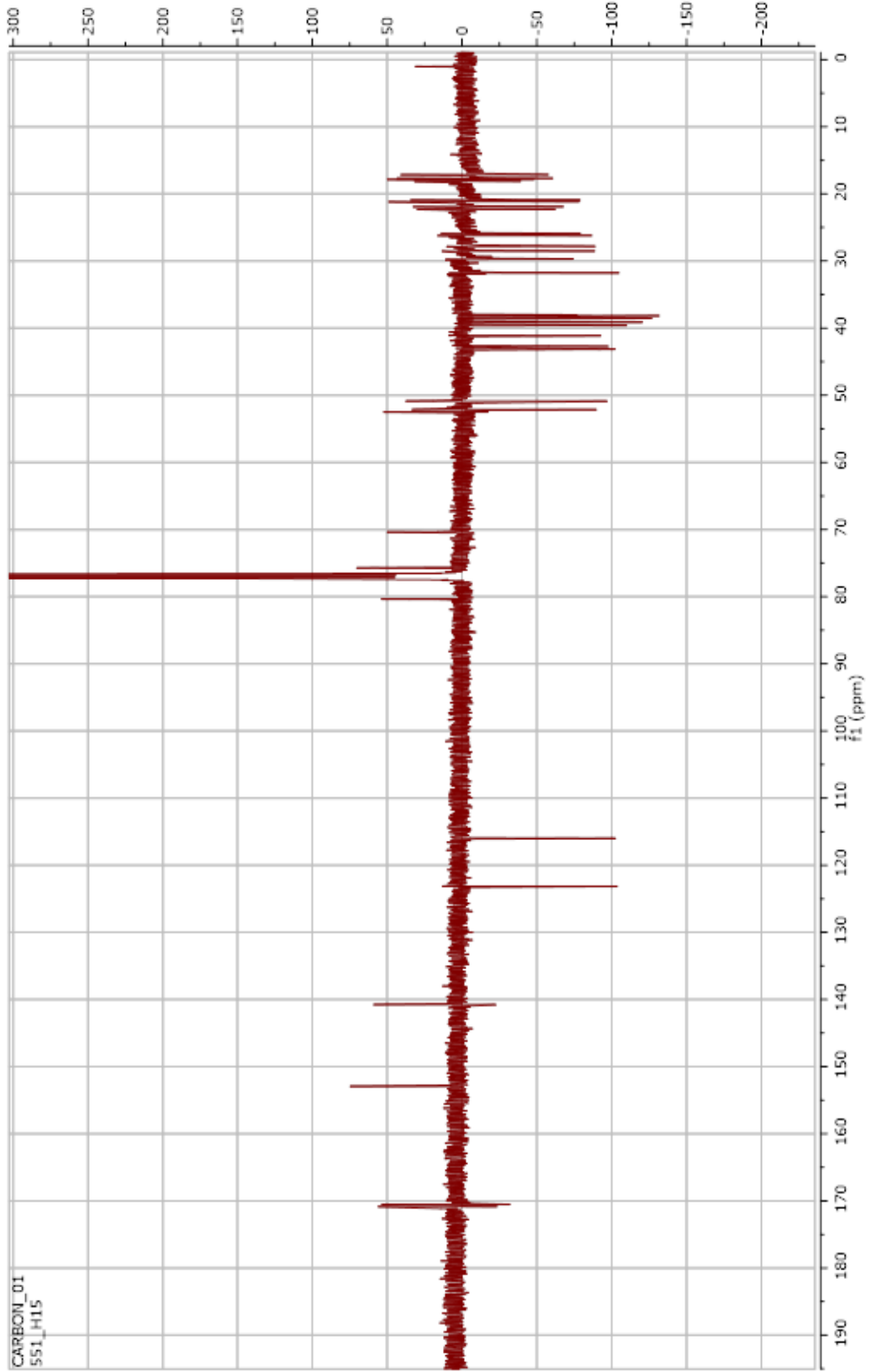
Şekil 4. 89. 21 α -hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien

Çizelge 4. 35. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri

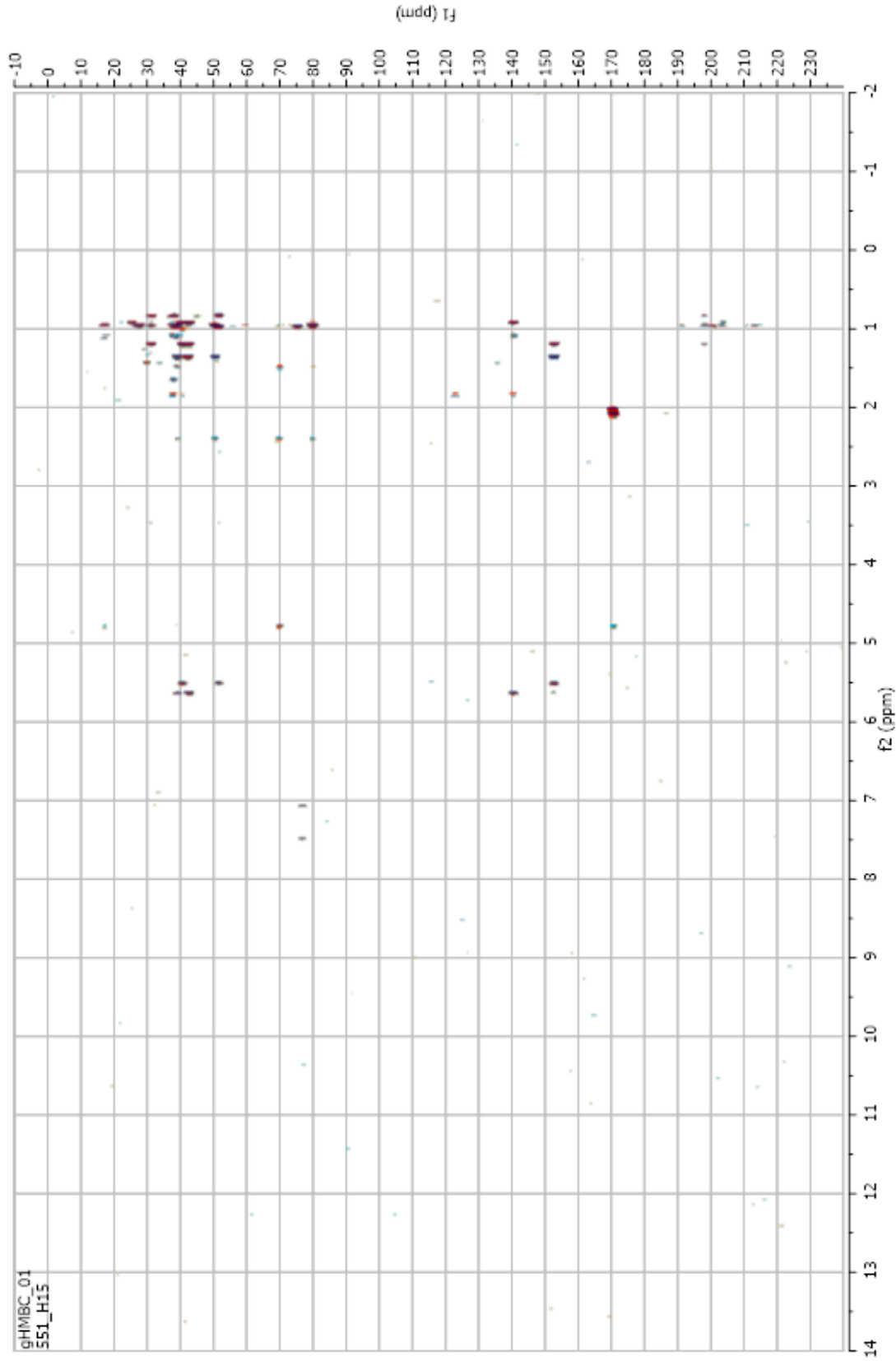
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR	HMBC
1	42.96	1.42;1.50	C-3, C-9, C-10
2	75.96	3.43 <i>m</i>	C-4
3	80.61	4.75 <i>d</i> (<i>J</i> = 12 Hz)	Ac
4	51.1	-	
5	52.3	2.37 <i>m</i>	C-3, C-4, C-10
6	21.1	1.21 <i>m</i>	
7	26.4	1.32 <i>m</i>	
8	39.3	-	
9	153.2	-	
10	38.2	-	
11	116.2	5.59 <i>d</i> (<i>J</i> = 6.6 Hz)	C-8, C-9
12	123.4	5.47 <i>d</i> (<i>J</i> = 7.2 Hz)	C-11, C-13, C-14, C-18
13	140.9	-	
14	43.0	-	
15	26.4	1.32 <i>m</i>	
16	32.0	1.73 <i>m</i>	
17	42.9	-	
18	51.1	1.81 <i>d</i> (12.6 Hz)	C-13, C12
19	43.9	1.50 <i>m</i>	
20	43.9	1.50 <i>m</i>	
21	70.6	5.15 <i>m</i>	
22	38.7	1.61 <i>d</i> (3 Hz)	
23	28.0	0.93 <i>s</i>	C-5, C-24 C-4
24	28.7	0.92 <i>s</i>	C-5, C-23 C-4
25	18.0	0.92 <i>s</i>	C-1, C-2 C-3,C-4, C-5, C-10,
26	18.0	0.92 <i>s</i>	C-8, C-9, C-14
27	21.0	0.92 <i>s</i>	C-8, C-9, C-14, C-15
28	21.0	0.92 <i>s</i>	C-17, C-18, C-21, C-22
29	17.9	0.92 <i>d</i> (<i>J</i> = 9.6 Hz)	C-19, C-18, C-20, C-21
30	17.3	0.80 <i>d</i> (<i>J</i> = 7.8 Hz)	C-19, C-18, C-20
2-COOCH ₃	171.0/21.15	2.04	
3-COOCH ₃	171.7/21.38	1.98	



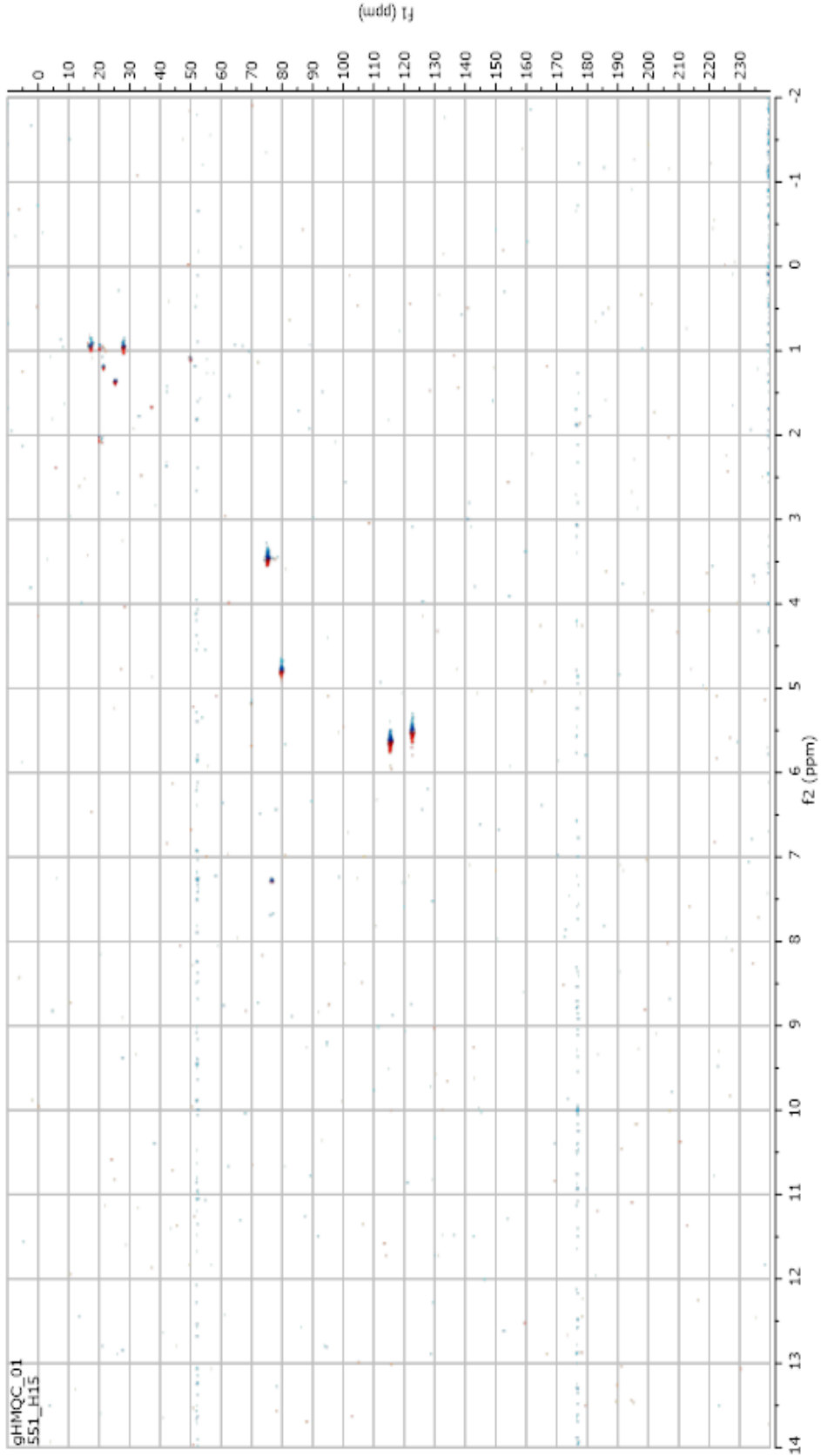
Şekil 4. 90. 21α-Hidroksi-2α,3β-diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



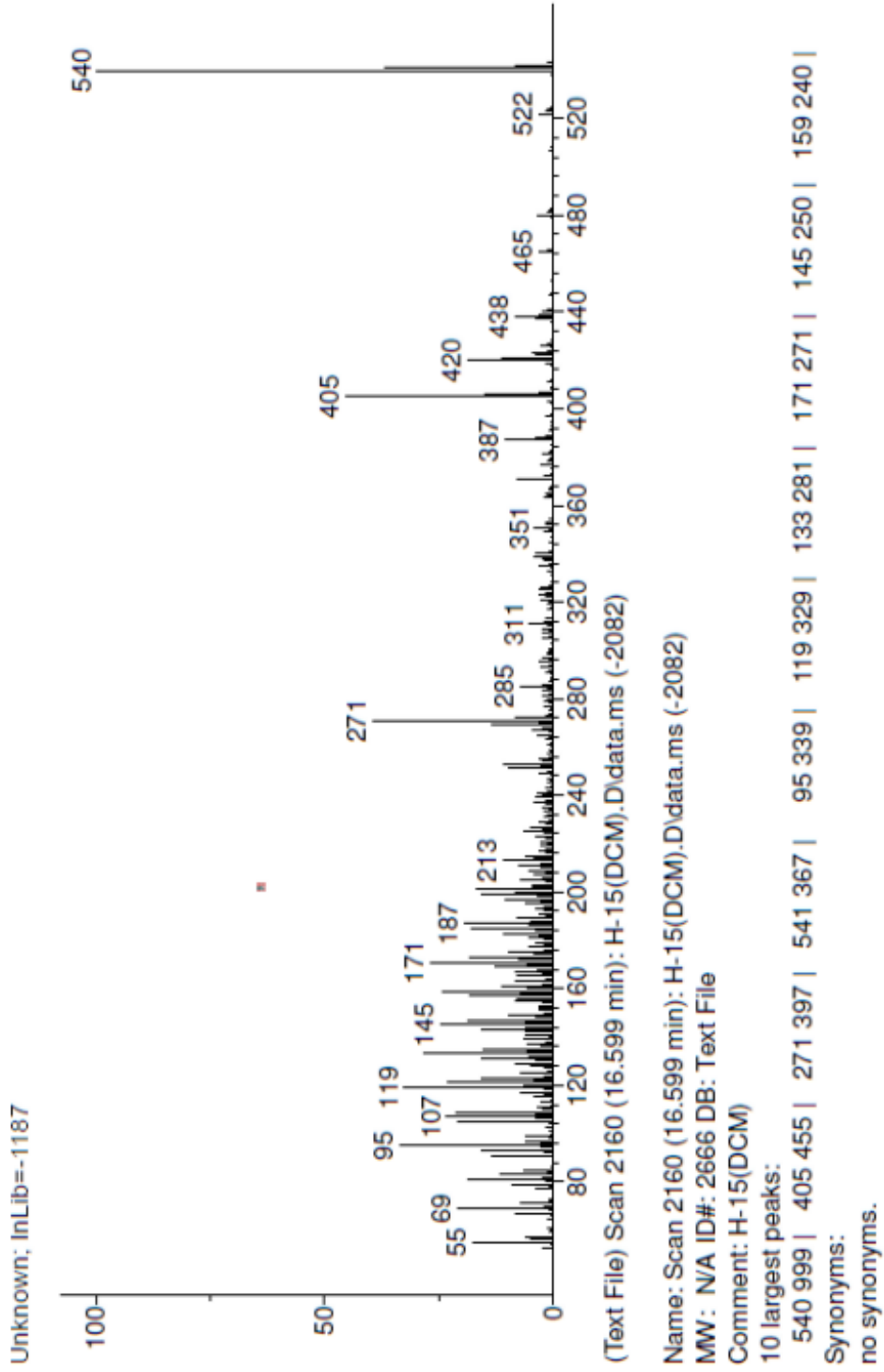
Şekil 4. 91. 21α -Hidroksi- $2\alpha,3\beta$ -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



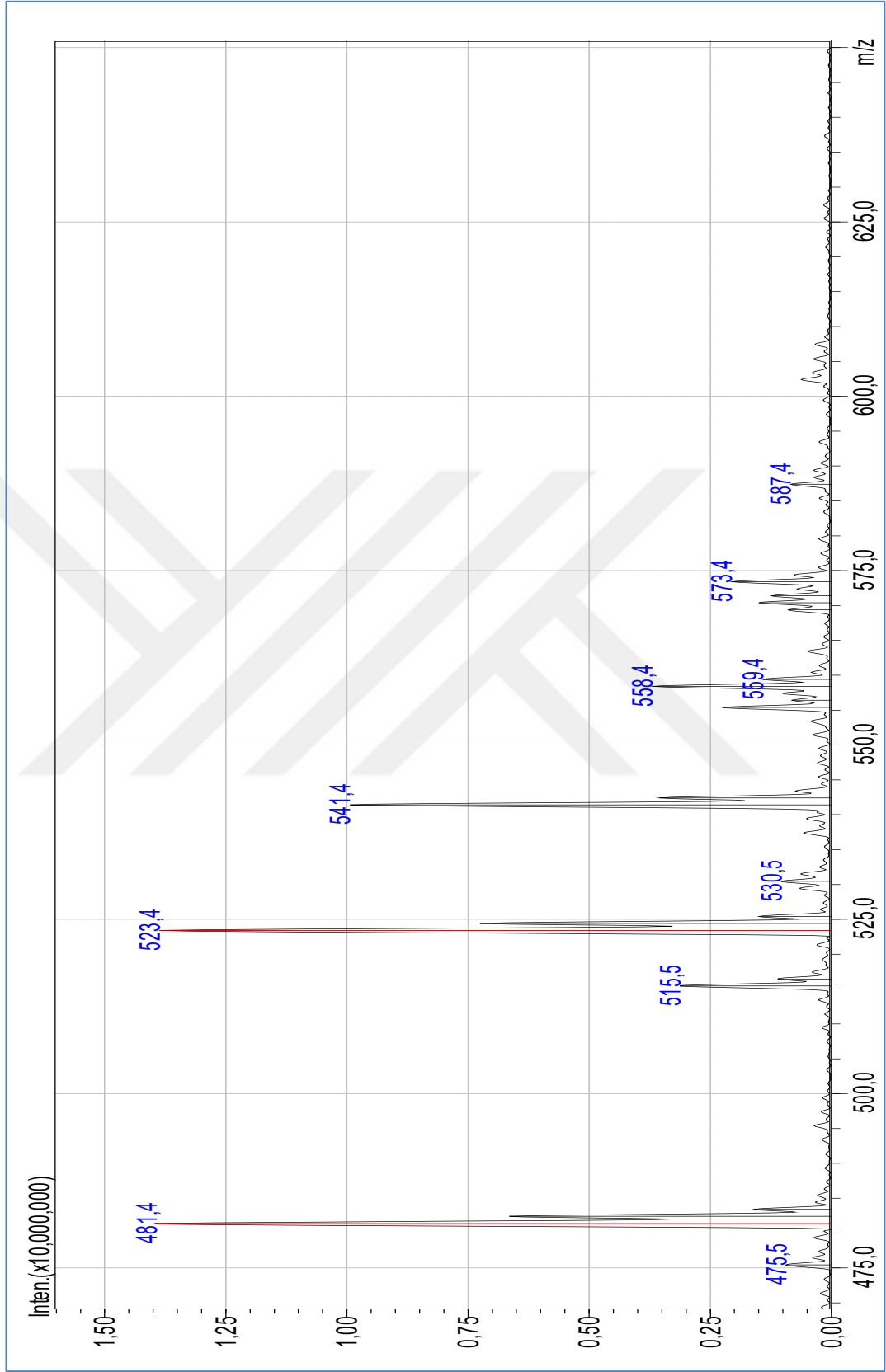
Şekil 4. 92. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşığının HMBC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



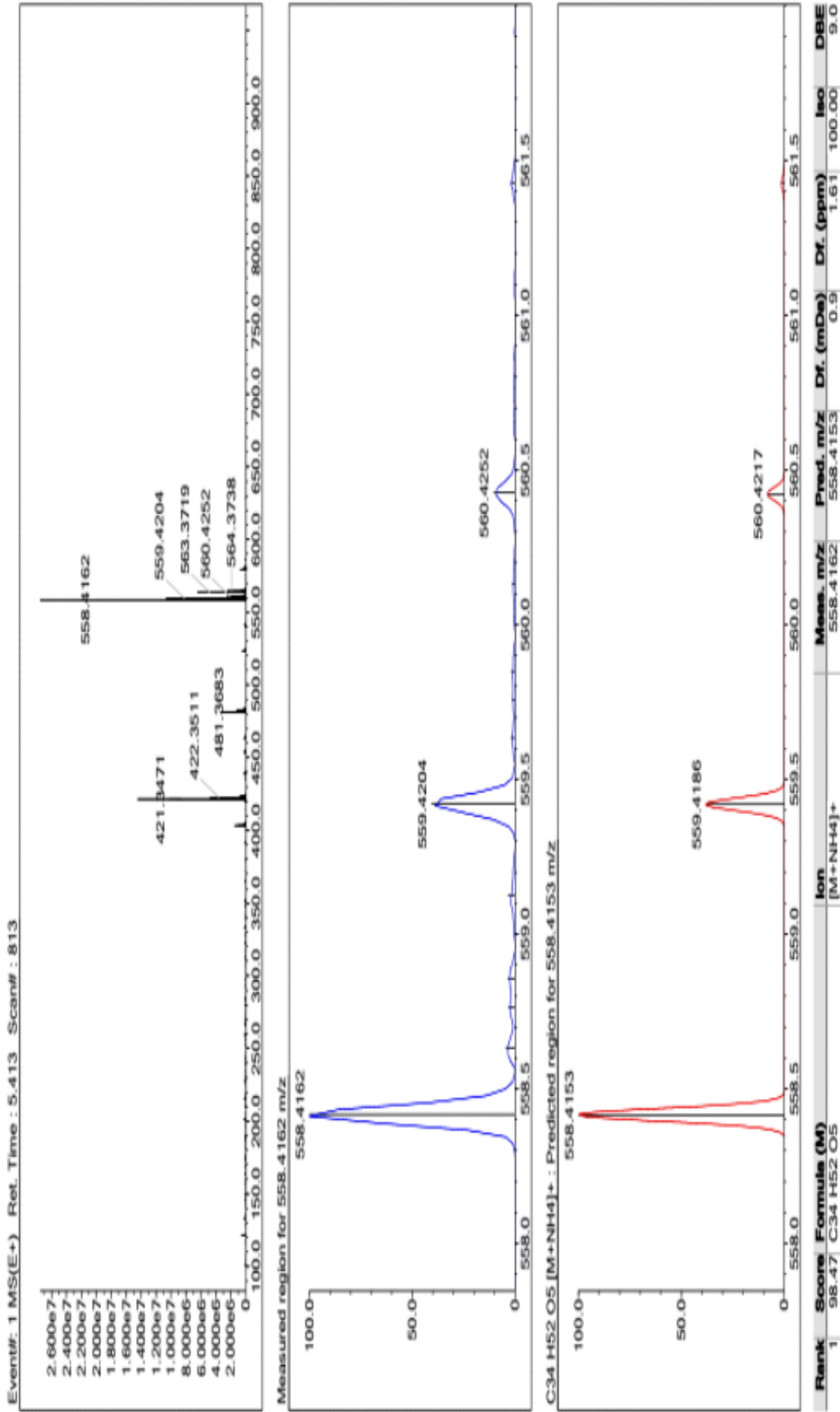
Şekil 4. 93. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiminin HMQC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)

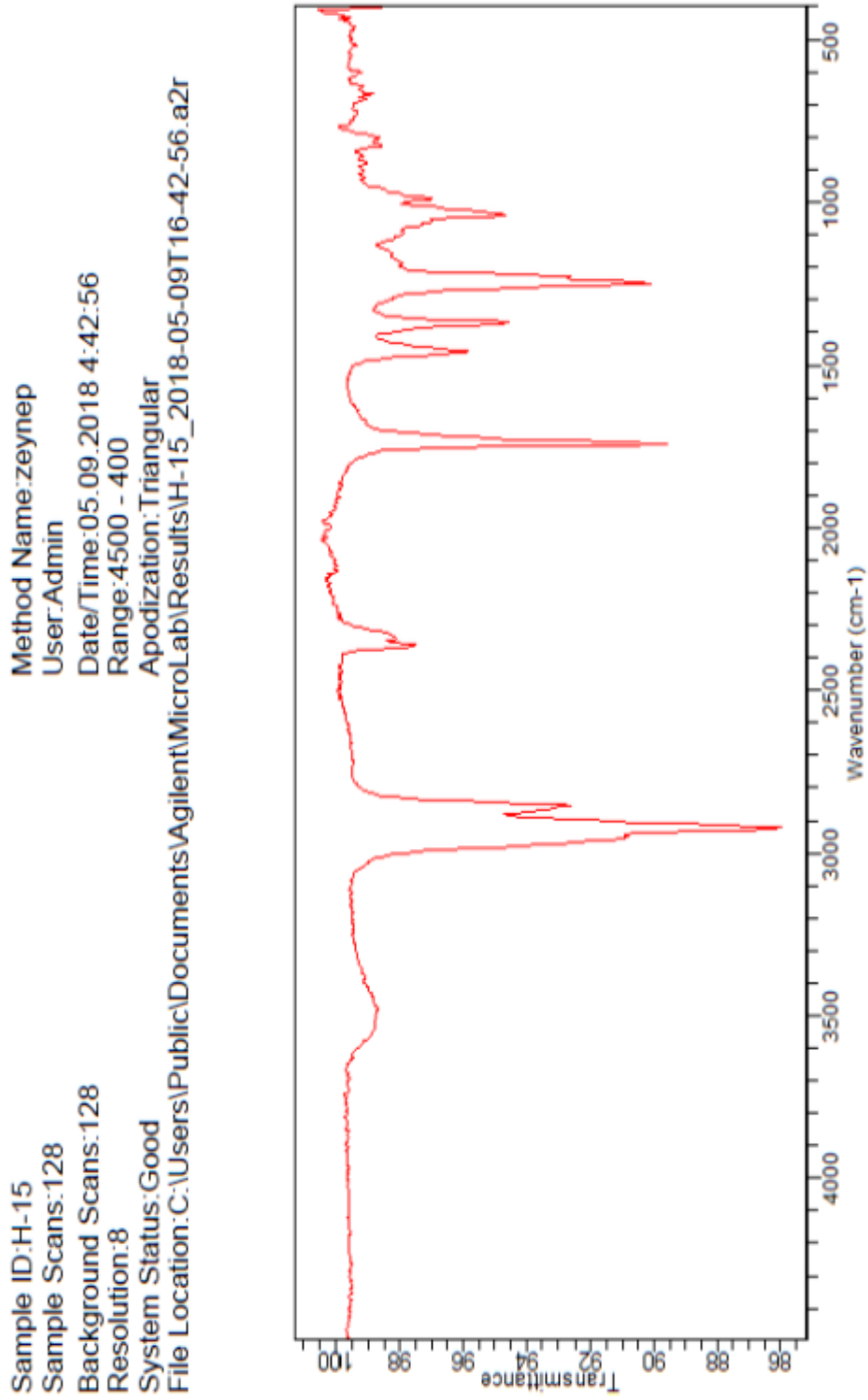


Şekil 4. 94. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 4. 95. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiminin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)

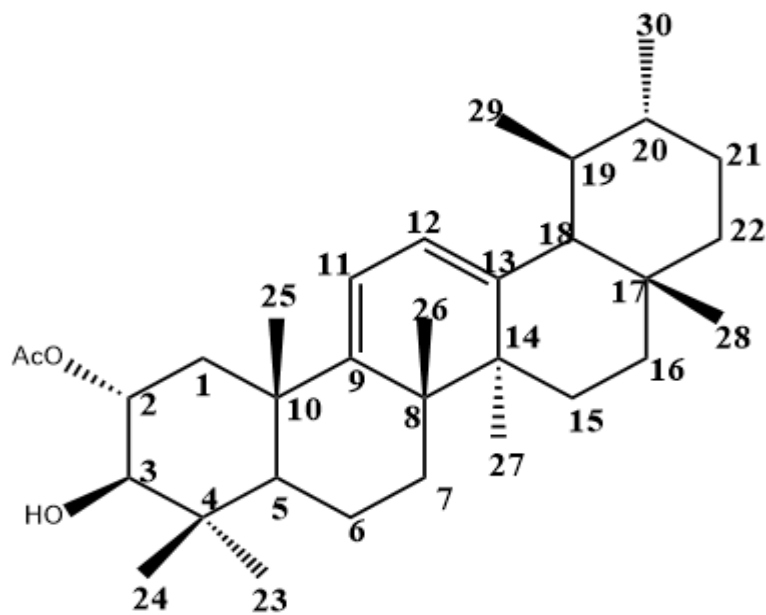
Şekil 4. 96. 21 α -Hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı



Şekil 4. 97. 21α -Hidroksi- $2\alpha,3\beta$ -diasetoksi urs-9(11),12-dien bileşığının IR spektrumu

4.14.17. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien

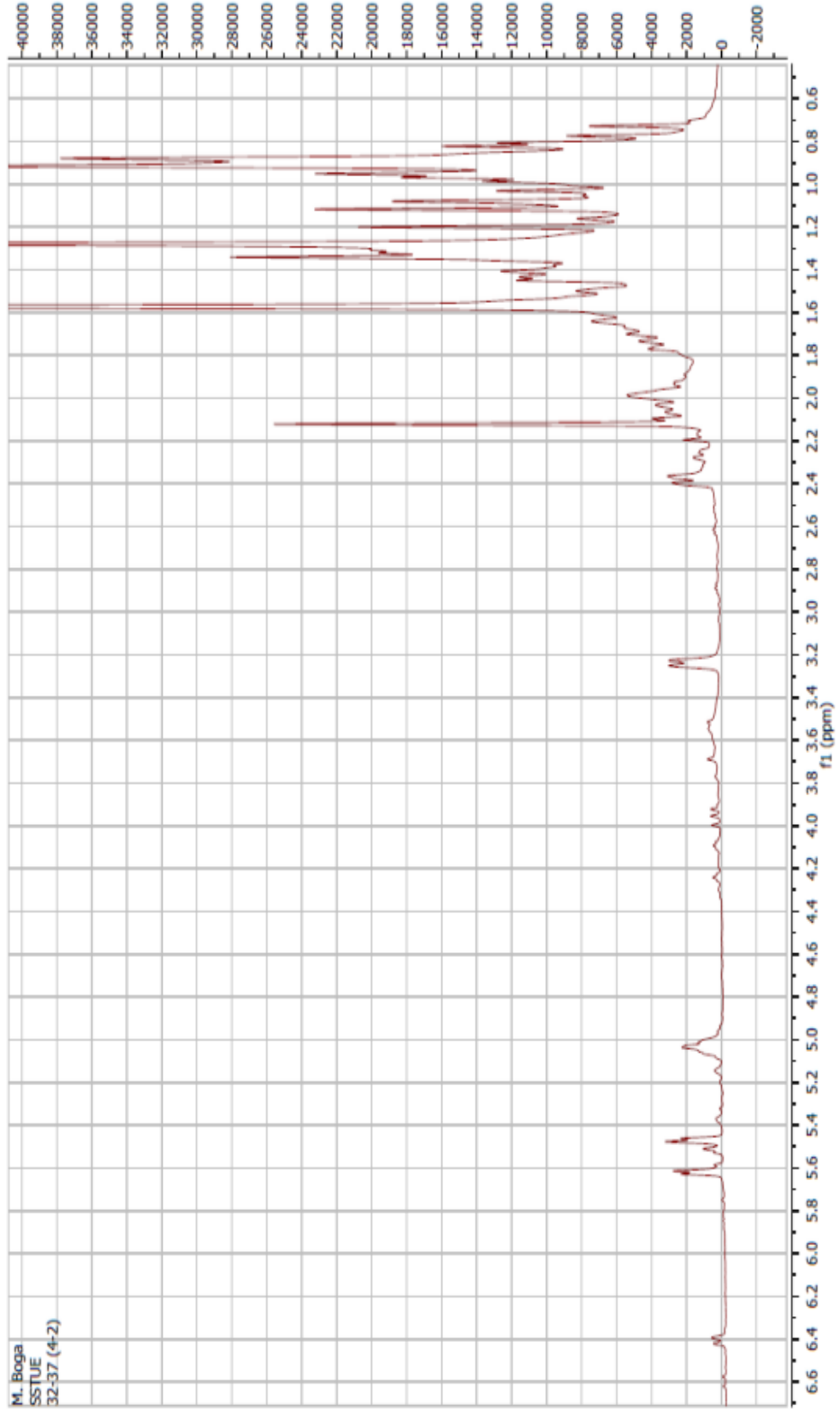
S. siirtica'nın toprak üstü etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 6/1 çözücü sisteminde yaklaşık 3,8 mg beyaz renkte kristal şekilde elde edildi (Şekil 4.98.). Silikajel plakta UV lamba altında (254 nm) kahverengi tonunda görünen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C'de yakıldığında koyu kahverengi bir renk aldı. ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 0.95-0.80 ppm'de 6 metil singleti, 2 tane metil dubleti izlendi. Ayrıca δ 2.07 ppm'de izlenen 1 adet metilin asetil metili olabileceği görüldü. δ 4.99 *m*, ve 3.19 *d* (*J*= 9.4 Hz) ppm'de oksijenlenmiş protonlar izlendi, Ayrıca δ 1.1 ve 1.7 ppm arasında metilen sinyalleri izlendi. Yalnızca proton spektrumuna bakılarak yapının 1 tanesi asetil metili olmak üzere toplam 9 metil grubuna sahip, asetilenmiş ve hidroksillenmiş triterpen yapısı olabileceği görüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 9 metil, 7 metilen, 8 metin, 8 katerner karbon izlendi. Bunların arasında δ 76.9 ve 80.2 ppm'de 2 tane karbonun oksijene bağlı olduğu görüldü. δ 4.99 *m* ppm'de izlenen oksijenlenmiş proton bize asetil grubunun buradan bağladığını göstermektedir. HMBC, APT ve ¹H-NMR spektrumları birlikte değerlendirildiğinde, hidroksillenmiş proton, asetil grubu ve vinilik metil gruplarının yerleri tespit edildi. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen *m/z* 505.3639 [M+Na]⁺ piki C₃₂H₅₀O₃ kapalı formülünü önerdi. GC-EI-MS ile elde edilen spektrumda metil kopması sonucu sıkça izlenen *m/z* 467 [M-CH₃]⁺ piki C₃₂H₅₀O₃ kapalı formülünü destekledi. Literatürde verilen değerler ile karşılaştırıldığında NMR değerleri Çizelge 4.36.'da verilen bu bileşiğin ilk defa *S. siirtica*'dan izole edilen yeni bir triterpen (Şekil 4.98.) olduğu tespit edildi ve ismi 3 β-hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien olarak belirlendi (Tuyen ve ark. 1998), (Topçu ve ark. 2004), (Xiaoxia ve ark. 2008), (Hamid ve ark. 2017), (Şekil 4.99-4.105.).



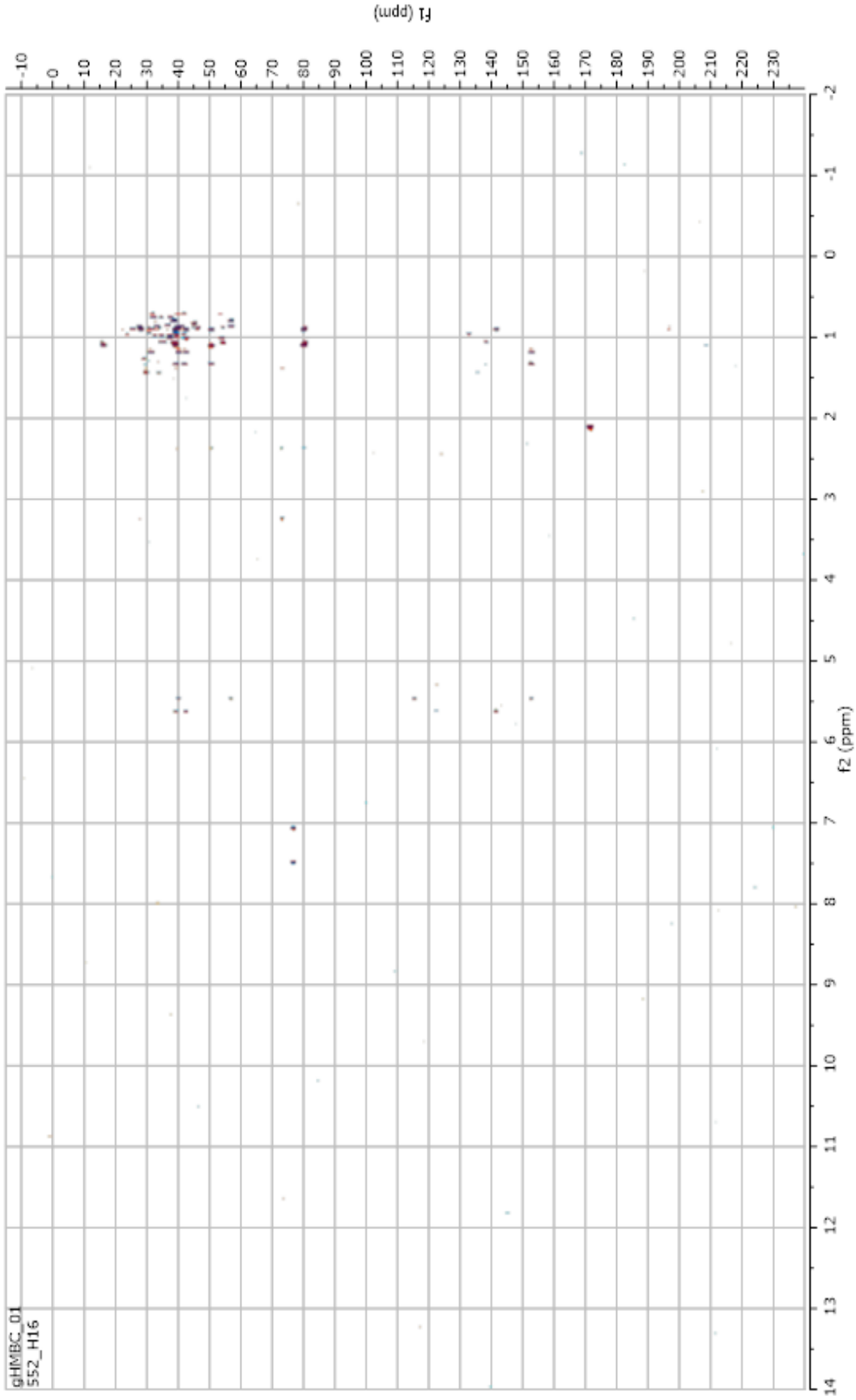
Şekil 4. 98. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien

Çizelge 4. 36. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri

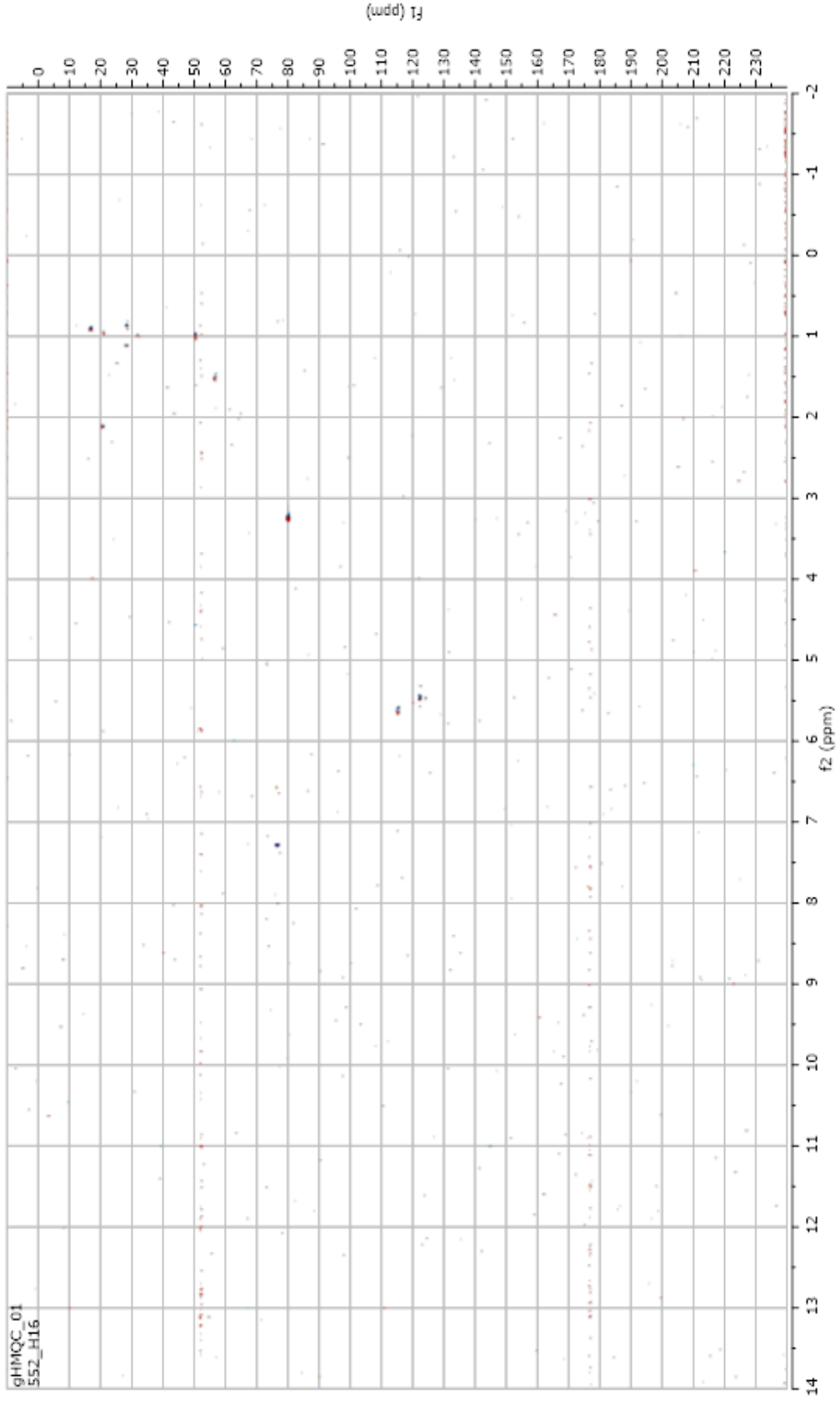
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR	HMBC
1	41.8	1.71-1.50 <i>m</i>	
2	76.9	4.99 <i>m</i>	
3	80.2	3.19 <i>d</i> (<i>J</i> =9.4 Hz)	
4	38	-	
5	50.8	0.86 <i>m</i>	
6	21.0	1.3-1.5 <i>m</i>	C-9
7	28.0	1.3-1.5 <i>m</i>	C-9
8	39.8	-	
9	153.0	-	
10	36	-	
11	114.7	5.58 <i>d</i> (<i>J</i> =6 Hz)	C-12, C-13, C-8
12	128.3	5.42 <i>d</i> (<i>J</i> =5.7 Hz)	C-18, C-14, C-11, C-19
13	141.0	-	
14	42.0	-	
15	25.7	1.3- 1.1 <i>m</i>	
16	28.0	1.3- 1.1 <i>m</i>	
17	33.0	-	
18	56.2	1.52 <i>m</i>	
19	39.0	1.48 <i>m</i>	
20	39.0	1.47 <i>m</i>	
21	21.0	1.3- 1.5 <i>m</i>	
22	45.8	1.6- 1.3 <i>m</i>	
23	17.0	0.83 <i>s</i>	C-3,C-4, C-5, C-6, C-24
24	28.1	0.95 <i>s</i>	C-3,C-4, C-5, C-6, C-23
25	18.0	0.9 <i>s</i>	C-1,C-4, C-5, C-6, C-10
26	28.7	1.07 <i>s</i>	C-9, C-14
27	21.0	0.95 <i>s</i>	C-8,C-12, C-13, C-14, C-15
28	28.0	0.95 <i>s</i>	C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22
29	17.5	0.85 <i>d</i> (<i>J</i> =7.6 Hz)	C-17,C-18, C-19, C-20, C-22
30	21.4	0.77 <i>d</i> (<i>J</i> =6.3 Hz)	C-17,C-18, C-19, C-20, C-22
2-COOCH ₃	21.2-171.6	2.07	



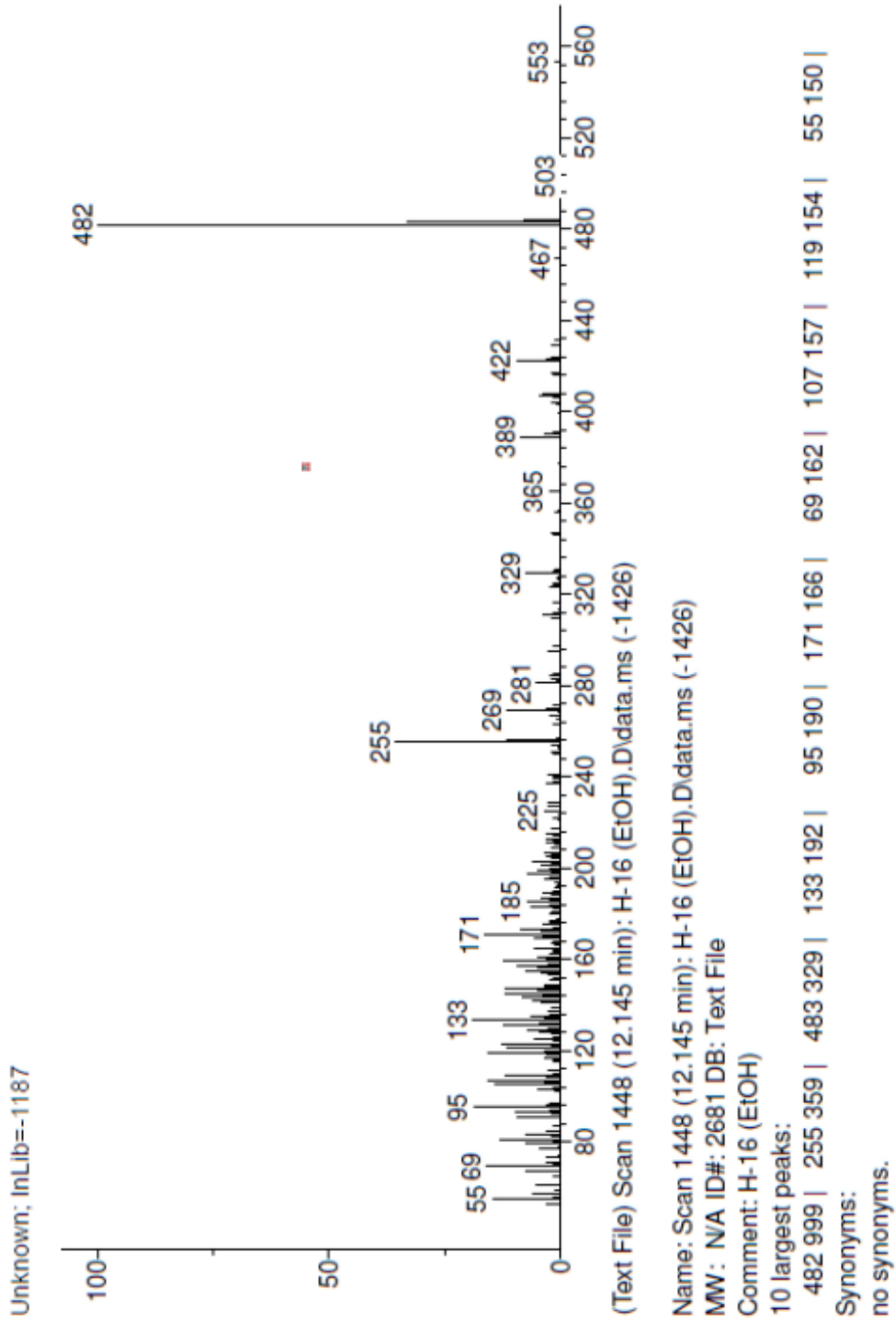
Şekil 4. 99. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



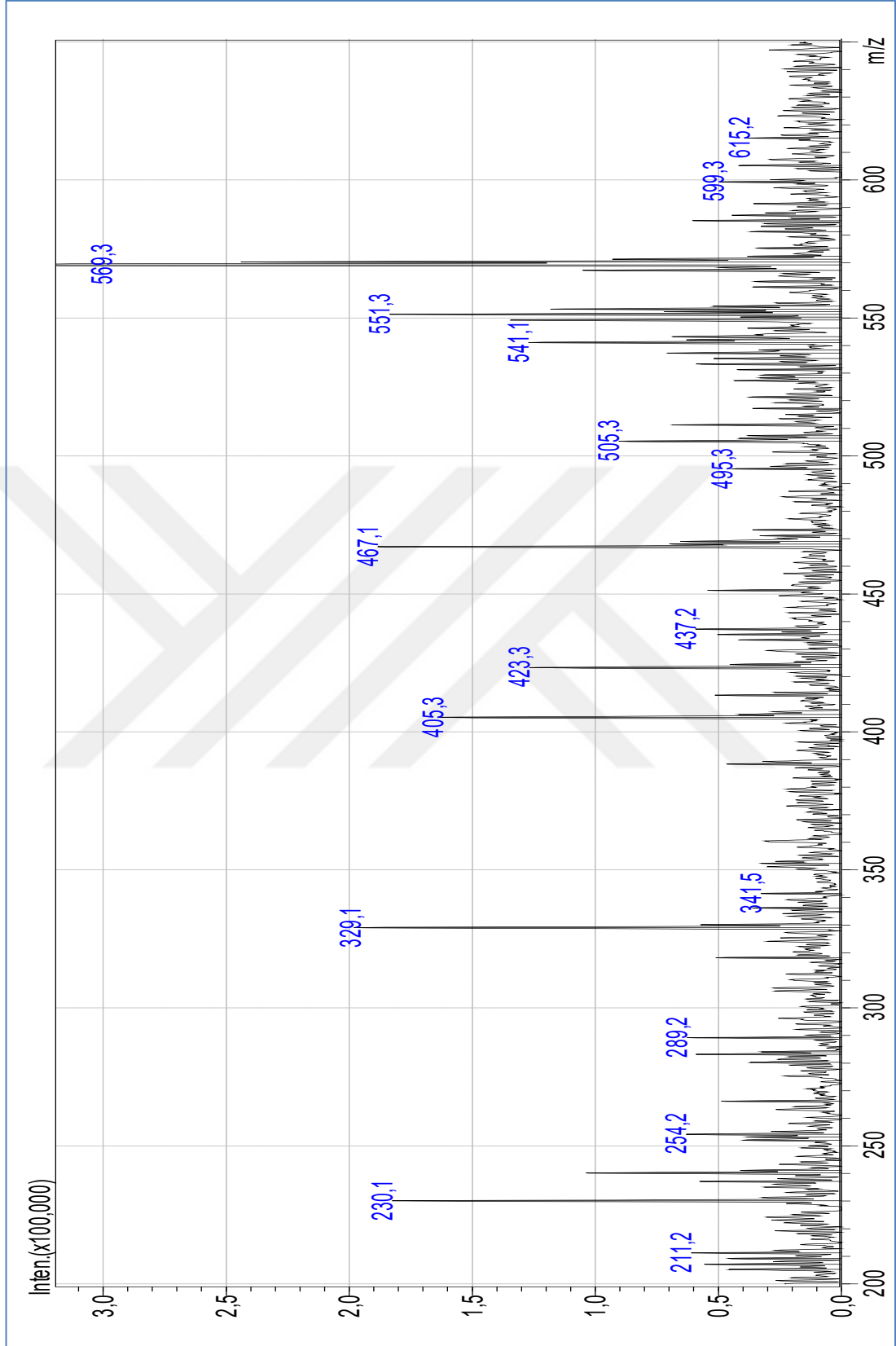
Şekil 4. 100. 3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMBC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



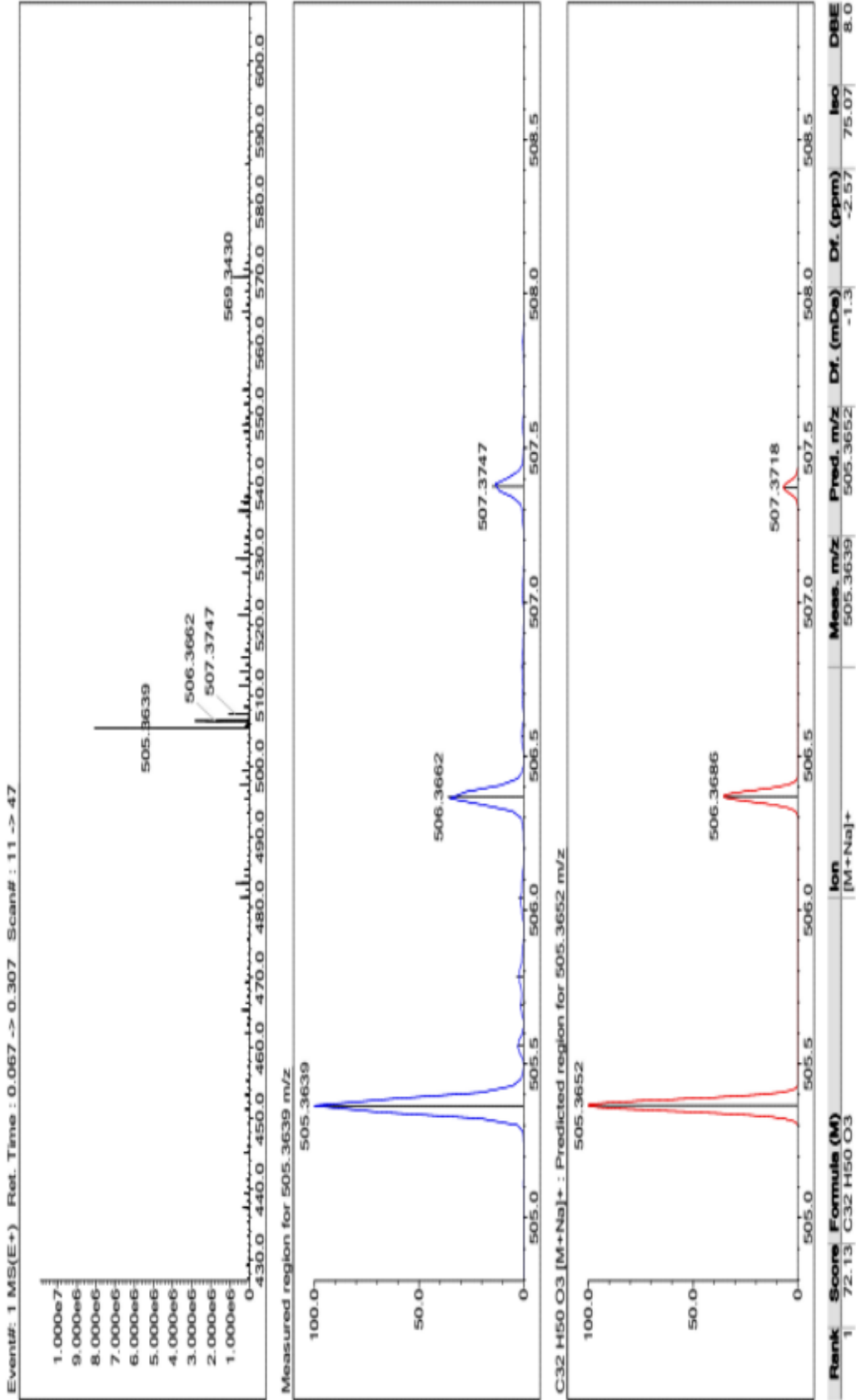
Şekil 4. 101. 3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 4. 102. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu



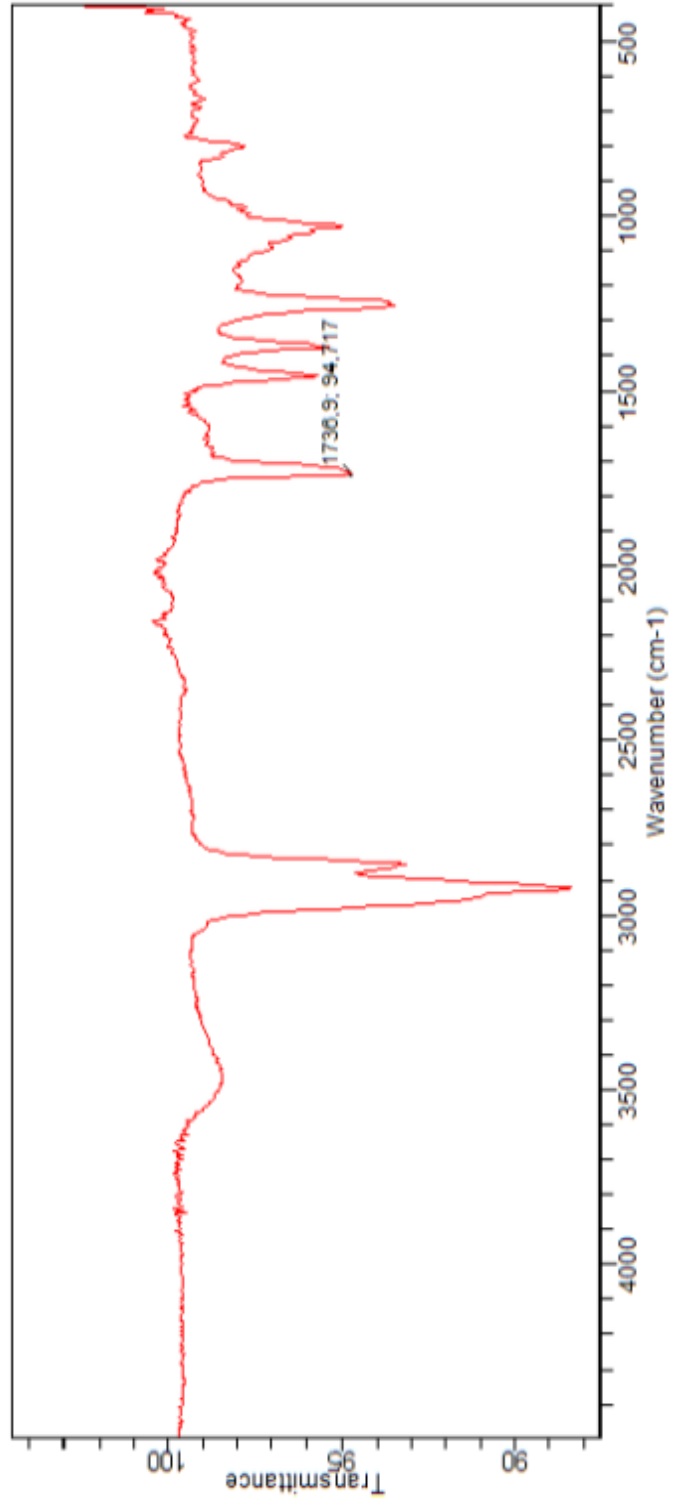
Şekil 4. 103. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)



Şekil 4. 104. 3β-Hidroksi-2α-asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

Sample ID:H-16
Sample Scans:128
Background Scans:128
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\H-16_2018-05-10T15-45-12.a2r

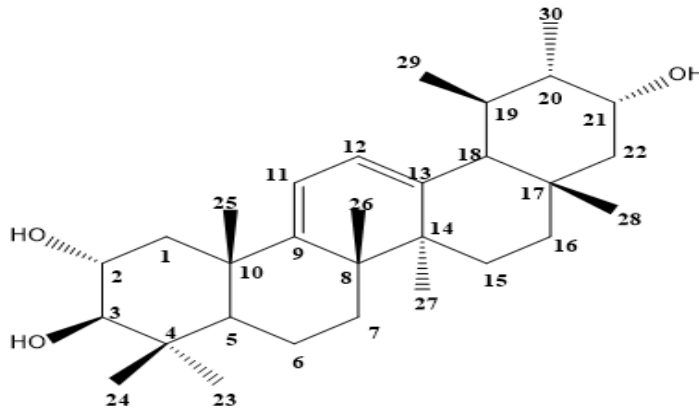
Method Name:zeynep
User:Admin
Date/Time:05.10.2018 3:45:12
Range:4500 - 400
Apodization:Triangular



Şekil 4. 105. 3 β -Hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin IR spektrumu

4.14.18. 2 α , 3 β , 21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien

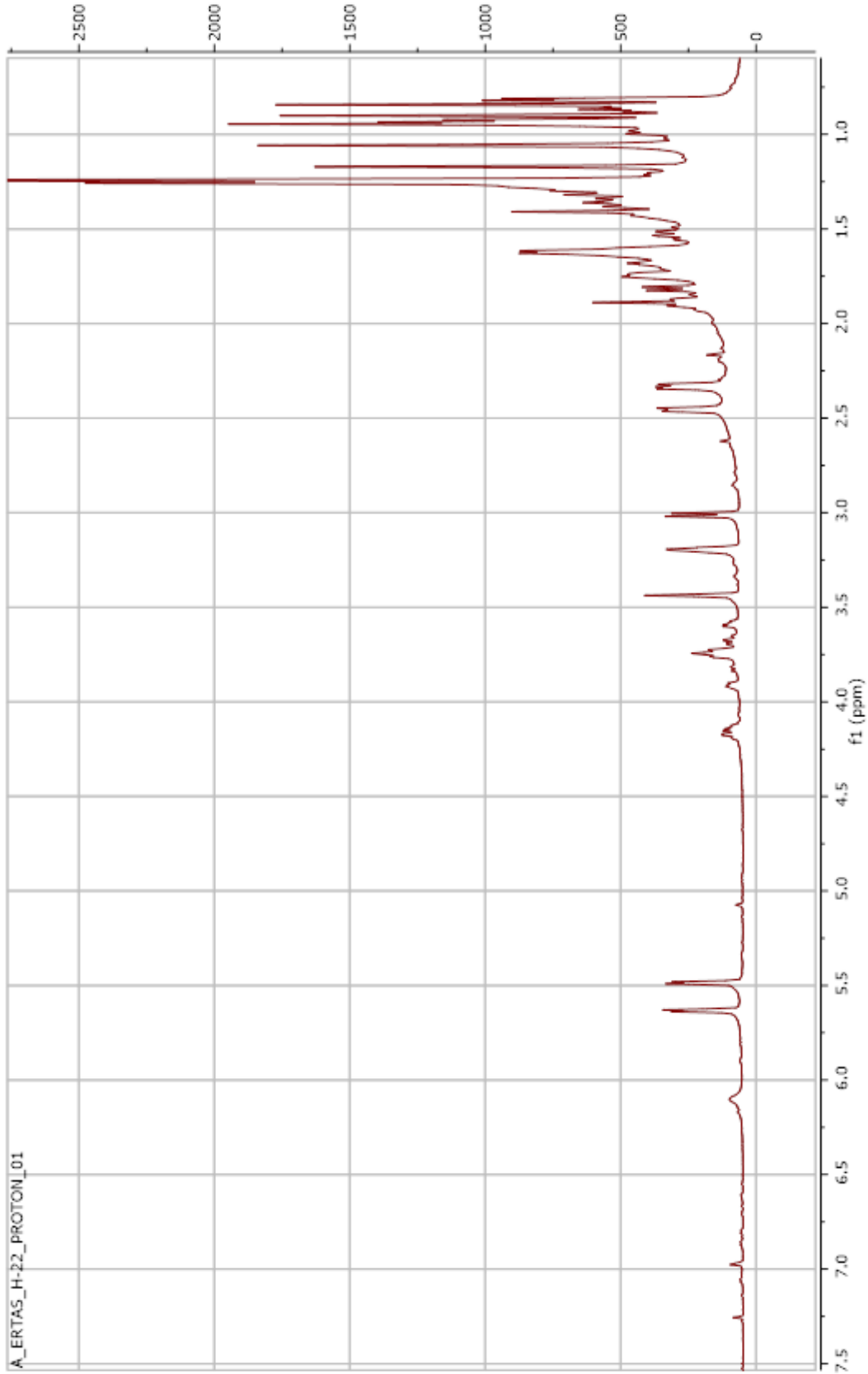
S. siirtica türünün toprak üstü etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 9.8/0.2 çözücü sisteminde yaklaşık 3,8 mg beyaz renkte kristal şekilde elde edildi (Şekil 4.106.). Silikajel plakta UV lamba altında (254 nm) kahverengi tonunda görünen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C’de yakıldığında koyu kahverengi bir renk aldı. ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 1.1- 0.80 ppm’de 6 metil singleti, 2 tane metil dubleti izlendi. δ 3.44 ve 3.01 (*d*, *J*= 9.5 Hz) ppm’de oksijenlenmiş protonlar izlendi. Ayrıca δ 1.1 ve 1.7 ppm arasında metilen sinyalleri izlendi. Yalnızca proton spektrumuna bakılarak yapının toplam 8 metil grubuna sahip ve hidroksillenmiş triterpen yapısı olabileceği görüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 8 metil, 6 metilen, 10 metin, 6 katerner karbon izlendi. Bunların arasında δ 75.9, 83.7 ve 69.4 ppm’de 3 tane karbonun oksijene bağlı olduğu görüldü. LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen *m/z* 479.3509 [M+Na]⁺ piki C₃₀H₄₈O₃ kapalı formülünü önerdi. GC-EI-MS ile elde edilen spektrumda su ayrılması sonucu izlenen *m/z* 438 [M-H₂O]⁺ piki C₃₀H₄₈O₃ kapalı formülünü destekledi. Literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında NMR değerleri Çizelge 4.37.’de verilen bu bileşiğin *S. siirtica*’dan ilk defa izole edilen yeni bir triterpen (Şekil 4.106.) olduğu tespit edildi ve ismi 2 α ,3 β ,21 α -trihidroksi urs-9(11),12-dien olarak belirlendi (Tuyen ve ark. 1998), (Topçu ve ark. 2004), (Xiaoxia ve ark. 2008), (Hamid ve ark. 2017), (Şekil 4.107-4.112.).



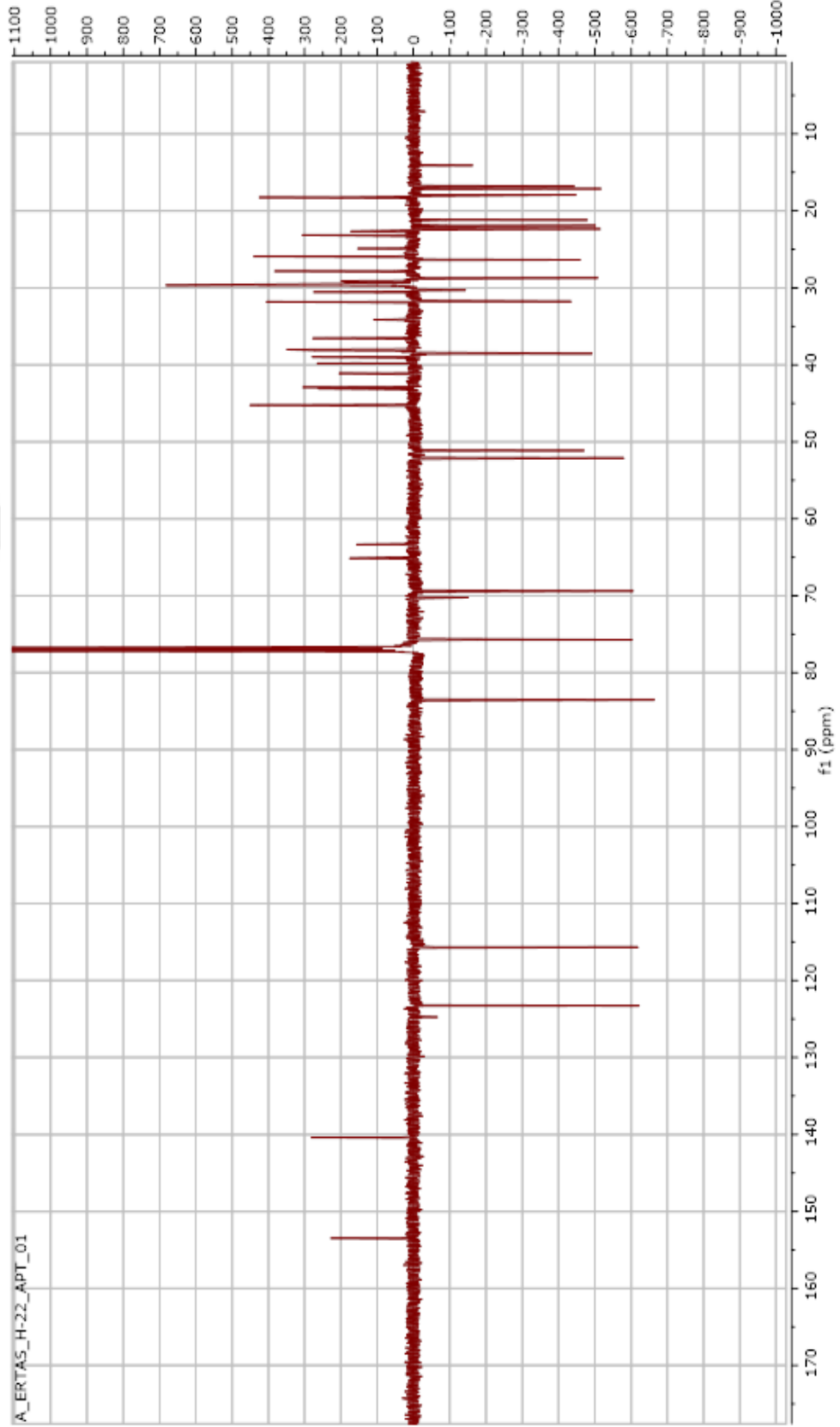
Şekil 4. 106. 2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien

Çizelge 4. 37. 2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri

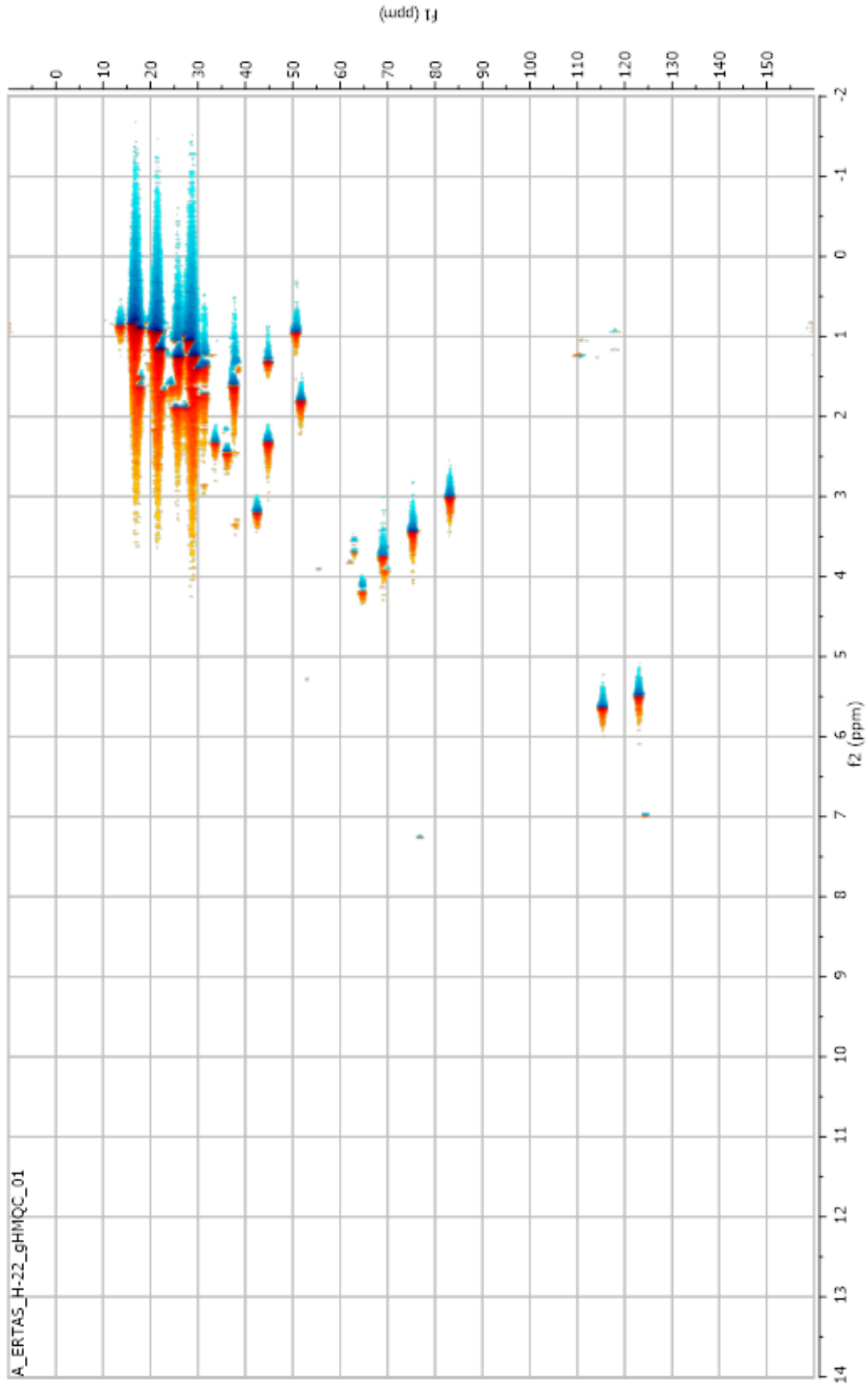
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	36.8	1.64 <i>m</i>
2	75.97	3.44 <i>m</i>
3	83.77	3.01 <i>d</i> (J=9.5 Hz)
4	38.2	-
5	51.3	0.94 <i>m</i>
6	18.48	1.6-1.1 <i>m</i>
7	32.0	1.4-1.35 <i>m</i>
8	41.3	-
9	153.7	-
10	38.78	2.43 <i>m</i>
11	115.9	5.64 <i>d</i> (J=5.5 Hz)
12	123.5	5.49 <i>d</i> (J=5.4 Hz)
13	140.6	-
14	43.3	-
15	26.1	1.3-1.5 <i>m</i>
16	29.0	1.3-1.6 <i>m</i>
17	34.3	-
18	52.3	1.82 <i>d</i> (J=10.7 Hz)
19	38.7	1.62 br <i>d</i> (J=7.4 Hz)
20	38.7	1.62 br <i>d</i> (J=7.4 Hz)
21	69.43	3.75 <i>t</i> (J=10.4 Hz)
22	45.48	2.32- 1.35 <i>m</i>
23	17.05	0.85 <i>s</i>
24	28.9	0.95 <i>s</i>
25	18.1	0.85 <i>s</i>
26	17.3	0.90 <i>s</i>
27	22.15	1.17 <i>s</i>
28	28.9	1.06 <i>s</i>
29	17.36	0.82 <i>d</i> (J=6.1 Hz)
30	21.43	0.93 <i>d</i> (J=6.4 Hz)



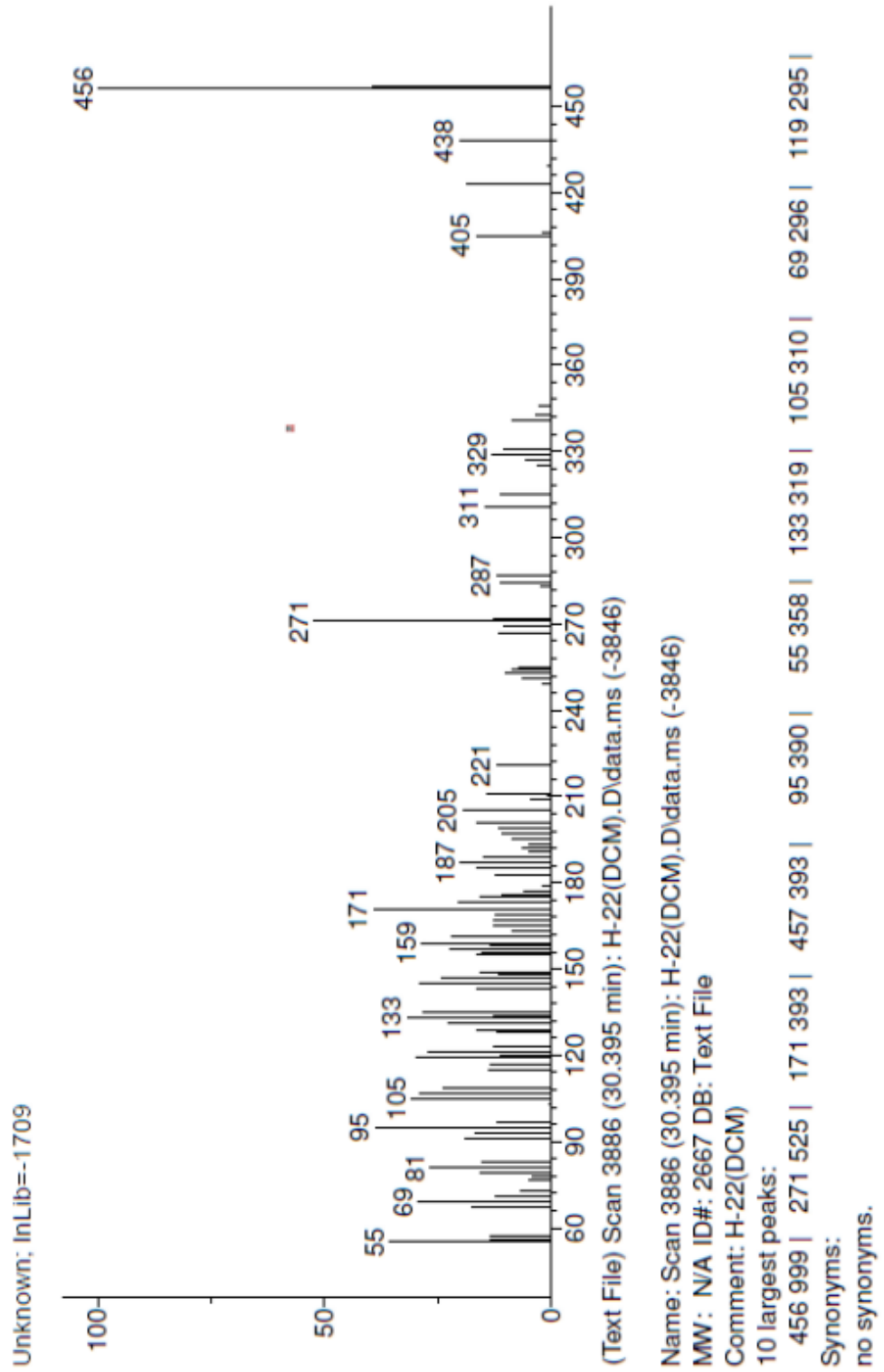
Şekil 4. 107. 2α,3β,21α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



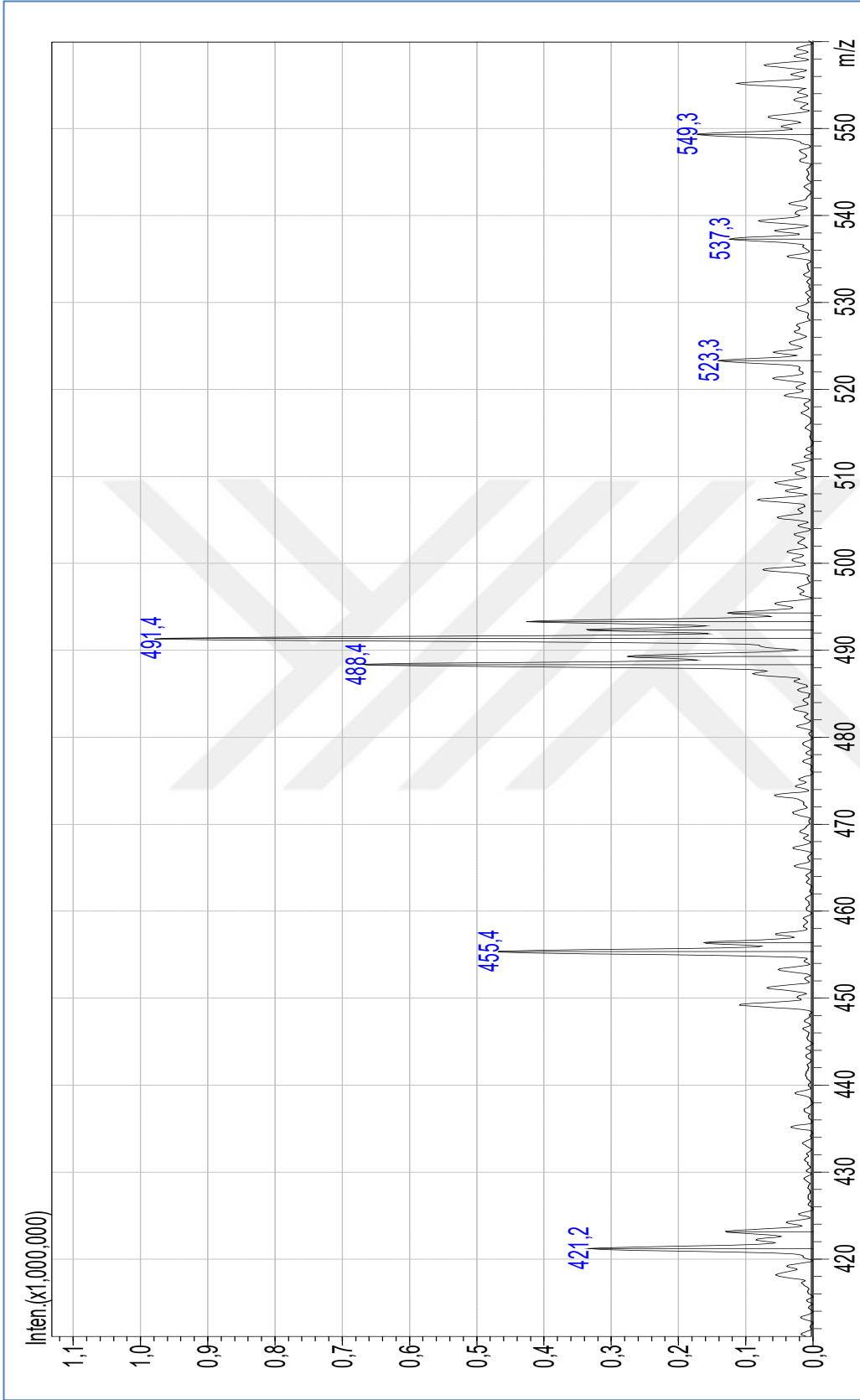
Şekil 4. 108. $2\alpha,3\beta,21\alpha$ -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



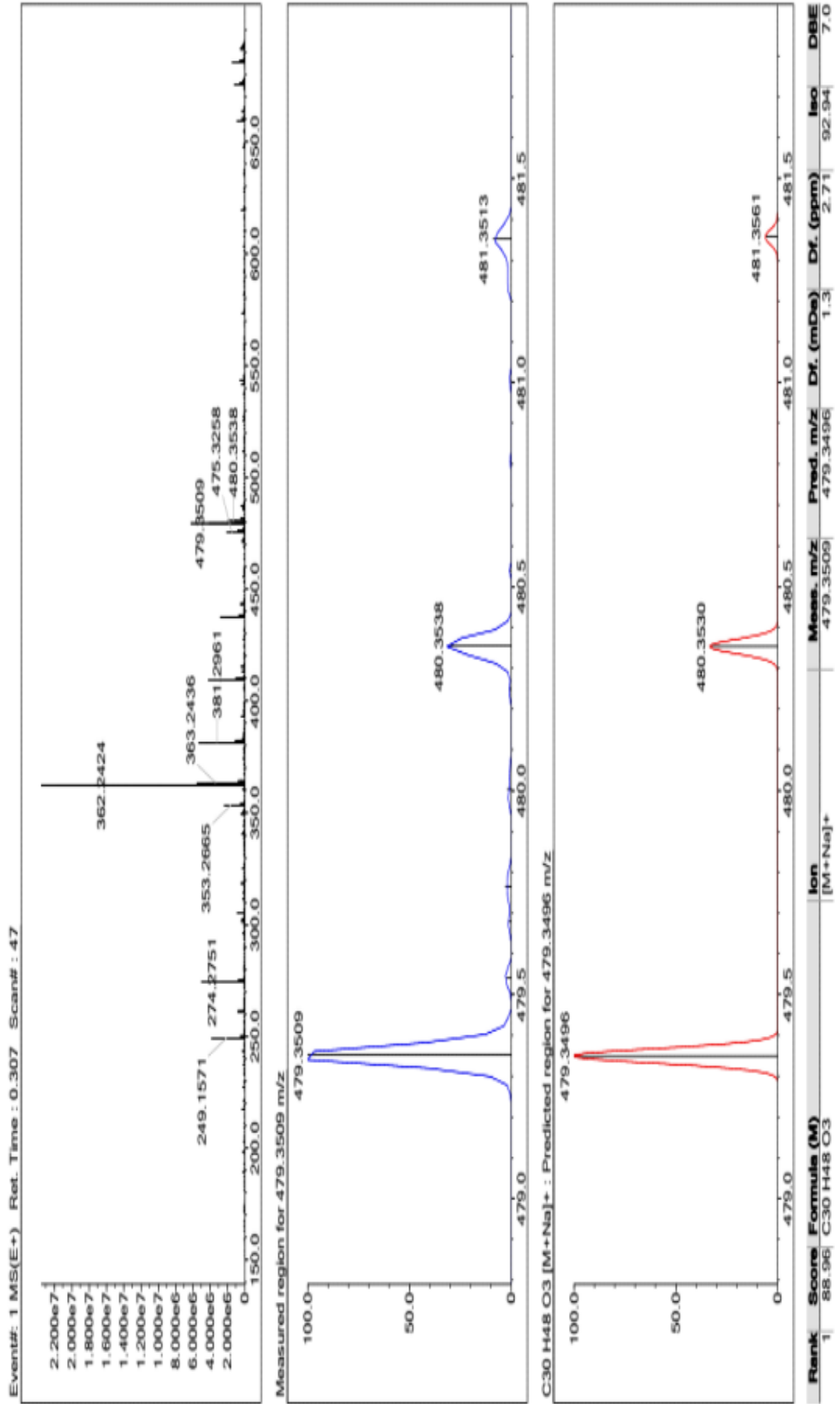
Şekil 4. 109. 2 α ,3 β ,21 α -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin HMQC spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 4. 110. $2\alpha,3\beta,21\alpha$ -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin GC-MS spektrumu



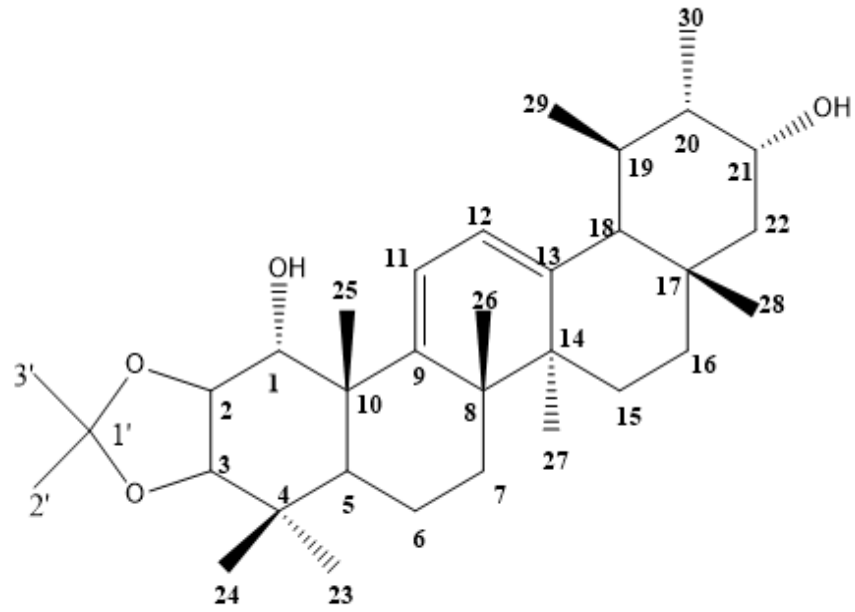
Şekil 4. 111. $2\alpha,3\beta,21\alpha$ -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Negatif mod)



Şekil 4. 112. $2\alpha,3\beta,21\alpha$ -Trihidroksi urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.19. 1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien

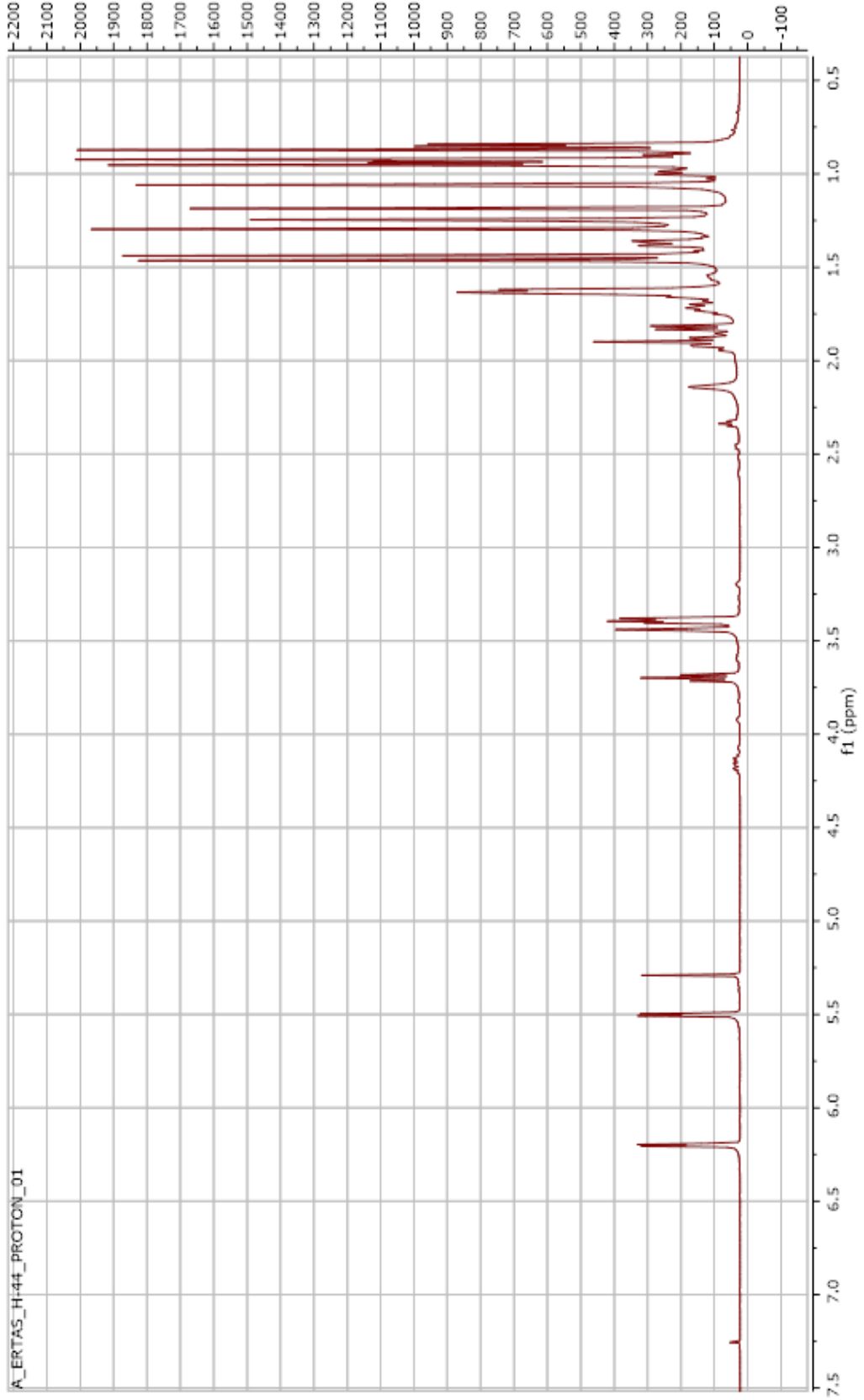
S. siirtica'nın toprak üstü etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile DCM:AC 9/1 çözücü sisteminde yaklaşık 3,8 mg beyaz renkte kristal şeklinde elde edildi (Şekil 4.113.). Silikajel plakta UV lamba altında (254 nm) kahverengi tonunda görünen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C'de yakıldığında koyu kahverengi bir renk aldı. ¹H-NMR spektrumunda (CD₃Cl, 600 MHz) δ 1.3- 0.80 ppm'de 6 metil singleti, 2 tane metil dubleti ve δ 1.46- 1.44 ppm'de 2 tane daha metil grubu izlendi. δ 3.44 *m*, 3.40 (*d*, *J*= 5 Hz), 3.48 (*d*, *J*= 4.4 Hz) ve 3.70 (*t*, *J*= 9.8 Hz) ppm'de oksijenlenmiş protonlar izlendi, Ayrıca δ 1.1 ve 1.9 ppm arasında metilen sinyalleri izlendi. Yalnızca proton spektrumuna bakılarak yapının toplam 8 + 2 metil grubuna sahip ve hidrosillenmiş triterpen, metil dubletlerinden de anlaşılacağı üzere ursan yapısı olabileceği görüldü. APT (CD₃Cl, 150 MHz) ve HSQC spektrumları birlikte değerlendirildiğinde yapıda 10 metil, 5 metilen, 10 metin, 8 katerner karbon izlendi. Bunların arasında δ 76.0, 78.2, 85.2 ve 77.1 ppm'de 4 tane karbonun oksijene bağlı olduğu görüldü. δ 1.46- 1.44 ppm'de izlenen metil singletlerinin alışılmış ursan iskeletinde sık görülmeyen şekilde A halkasına bir oksijen köprüsü ile bağlanmış olabileceği görüldü. Ayrıca LC-MS-IT-TOF ile elde edilen kütle spektrumunda izlenen *m/z* 535.3769 [M+Na]⁺ piki C₃₃H₅₂O₄ kapalı formülünü önerdi. GC-EI-MS ile elde edilen spektrumda su ayrılmasını takiben metil kopması sonucu izlenen sonuca izlenen *m/z* 479 [M-H₂O-CH₃]⁺ piki, (C₃₃H₅₂O₄) molekül formülünü doğrulamaktadır. Ayrıca moleküler iyon piki şiddetli şekilde *m/z* 512 [M]⁺ piki yapının kararlı olduğunu göstermektedir. Literatürde verilen spektral değerler ile karşılaştırıldığında NMR değerleri Çizelge 4.38.'de verilen bu bileşiğin ilk defa *S. siirtica*'dan izole edilen yeni bir triterpen (Şekil 4.113.) olduğu tespit edildi ve ismi 1 α , 21 α -dihidroksi- 2,3 – (1',1'-dimetil -dioksimetil) urs-9(11),12-dien olarak belirlendi (Tuyen ve ark. 1998), (Topcu ve ark. 2004), (Xiaoxia ve ark. 2008), (Hamid ve ark. 2017), (Şekil 4.114-4.120.).



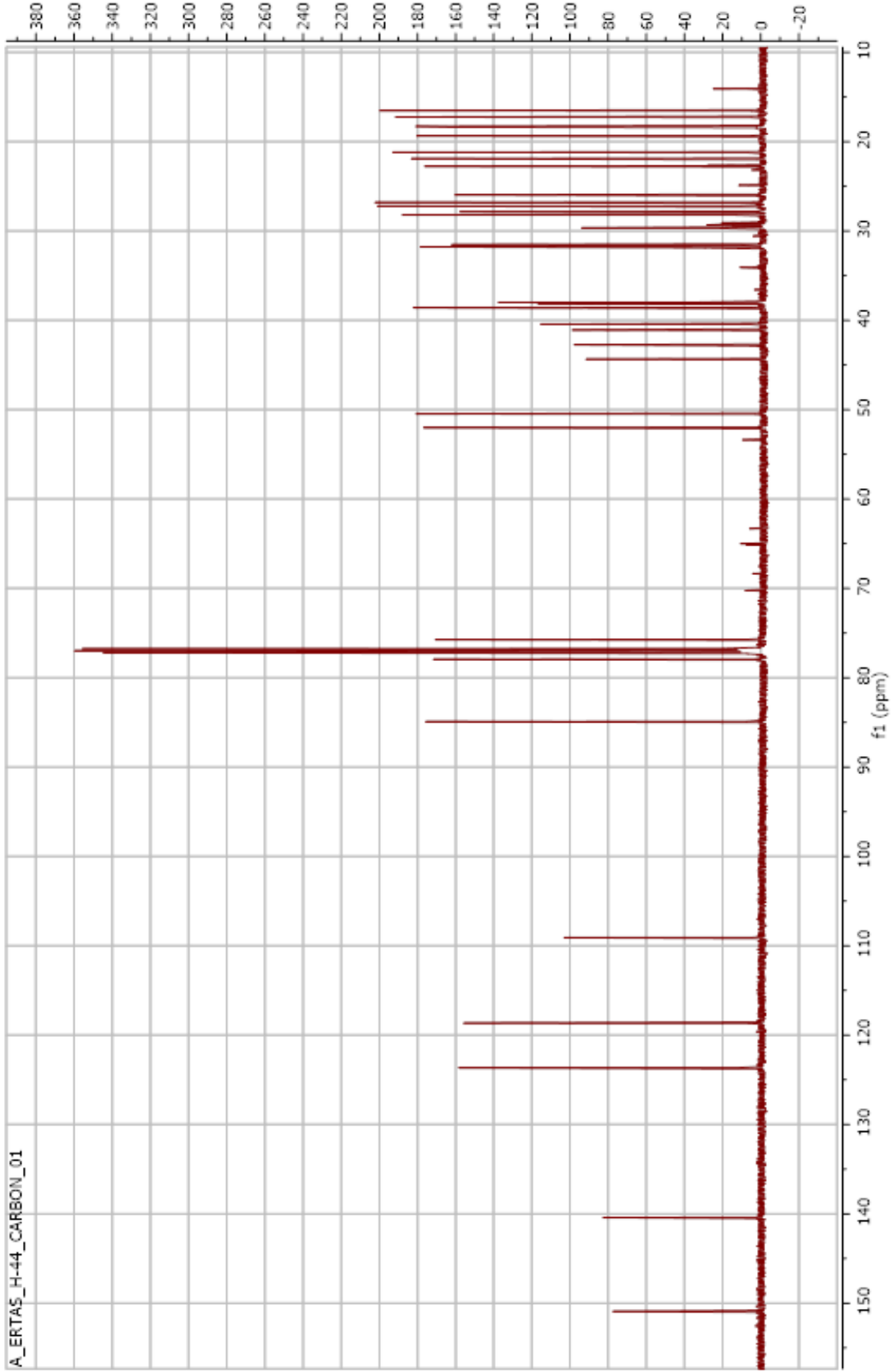
Şekil 4. 113. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien

Çizelge 4. 38. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen)urs-9(11),12-dien bileşiğinin NMR değerleri

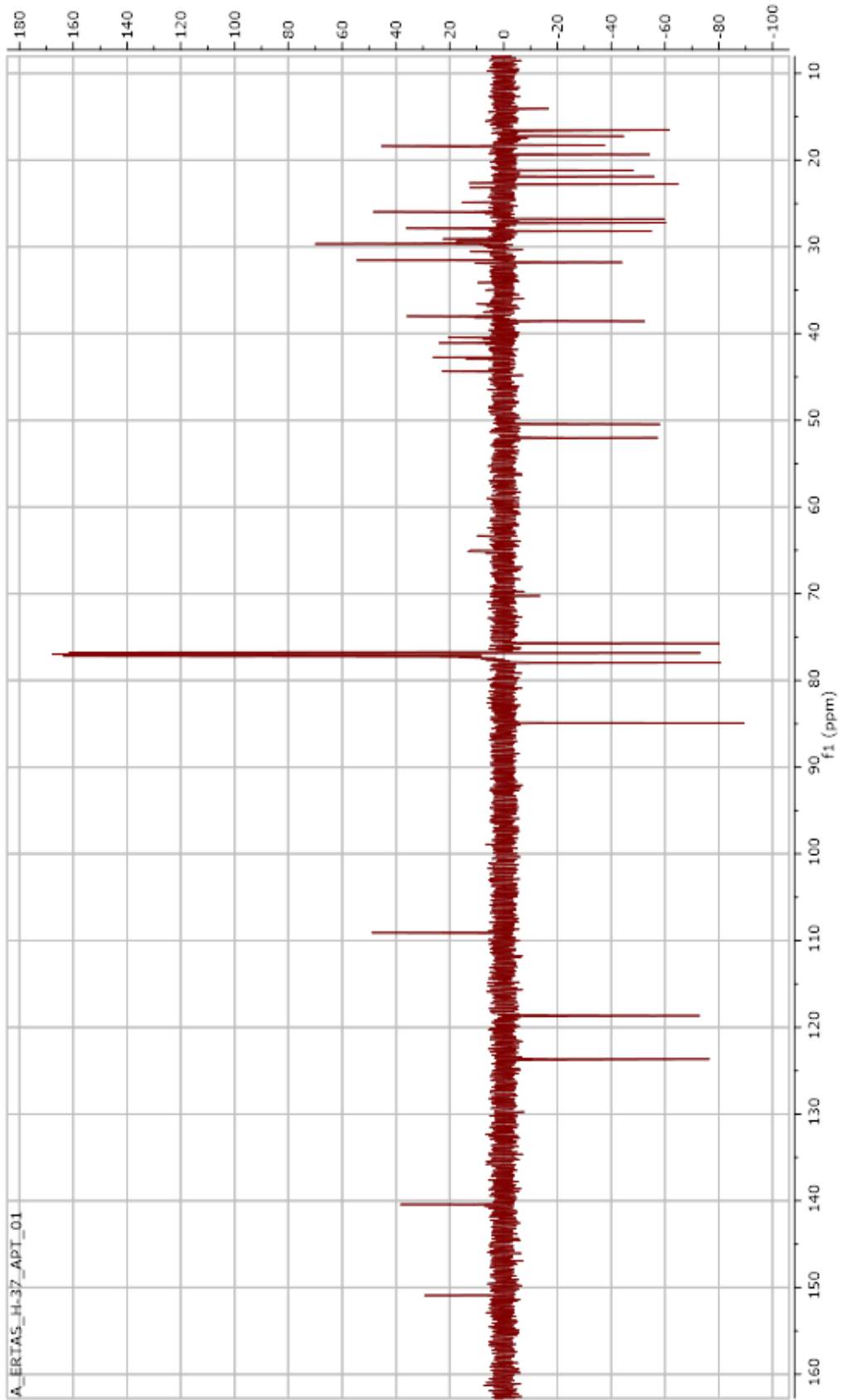
Pozisyon	$^{13}\text{C-NMR}$	$^1\text{H-NMR}$
1	76.0	3.44 <i>m</i>
2	78.2	3.40 <i>d</i> ($J=5$ Hz)
3	85.2	3.48 <i>d</i> ($J=4.4$ Hz)
4	38.2	-
5	50.7	0.91 <i>m</i>
6	18.63	1.7-1.1 <i>m</i>
7	31.8	1.7-1.4 <i>m</i>
8	41.3	-
9	151.2	-
10	38.4	-
11	118.9	6.2 <i>d</i> ($J=5.7$ Hz)
12	123.9	5.5 <i>d</i> ($J=5.7$ Hz)
13	140.7	-
14	44.6	-
15	26.2	1.9-1.1 <i>m</i>
16	28.1	1.25-1.1 <i>m</i>
17	29.6	-
18	55.3	1.82 <i>d</i> ($J=10.8$ Hz)
19	38.8	1.63 <i>d</i> ($J=8.6$ Hz)
20	38.8	1.63 <i>d</i> ($J=8.6$ Hz)
21	77.1	3.70 <i>t</i> ($J=9.8$ Hz)
22	29.9	1.25 <i>m</i>
23	17.5	0.87 <i>s</i>
24	21.4	0.95 <i>s</i>
25	18.5	0.92 <i>s</i>
26	19.6	1.30 <i>s</i>
27	23.1	1.19 <i>s</i>
28	28.4	1.06 <i>s</i>
29	16.78	0.85 <i>d</i> ($J=6.2$ Hz)
30	22.16	0.94 <i>d</i> ($J=6.5$ Hz)
1'	109.3	-
2'	27.5	1.46 <i>s</i>
3'	27.1	1.44 <i>s</i>



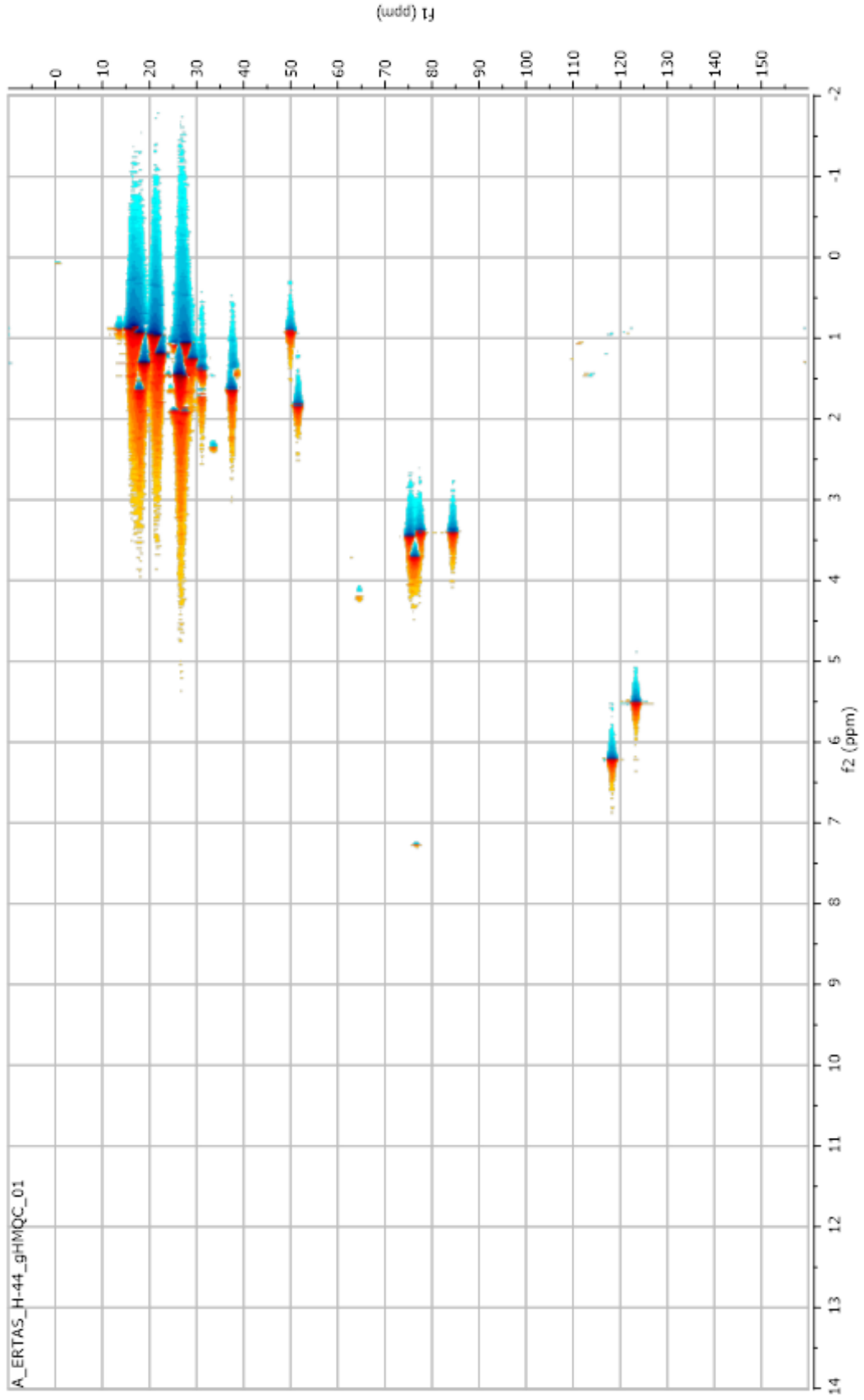
Şekil 4. 114. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiminin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



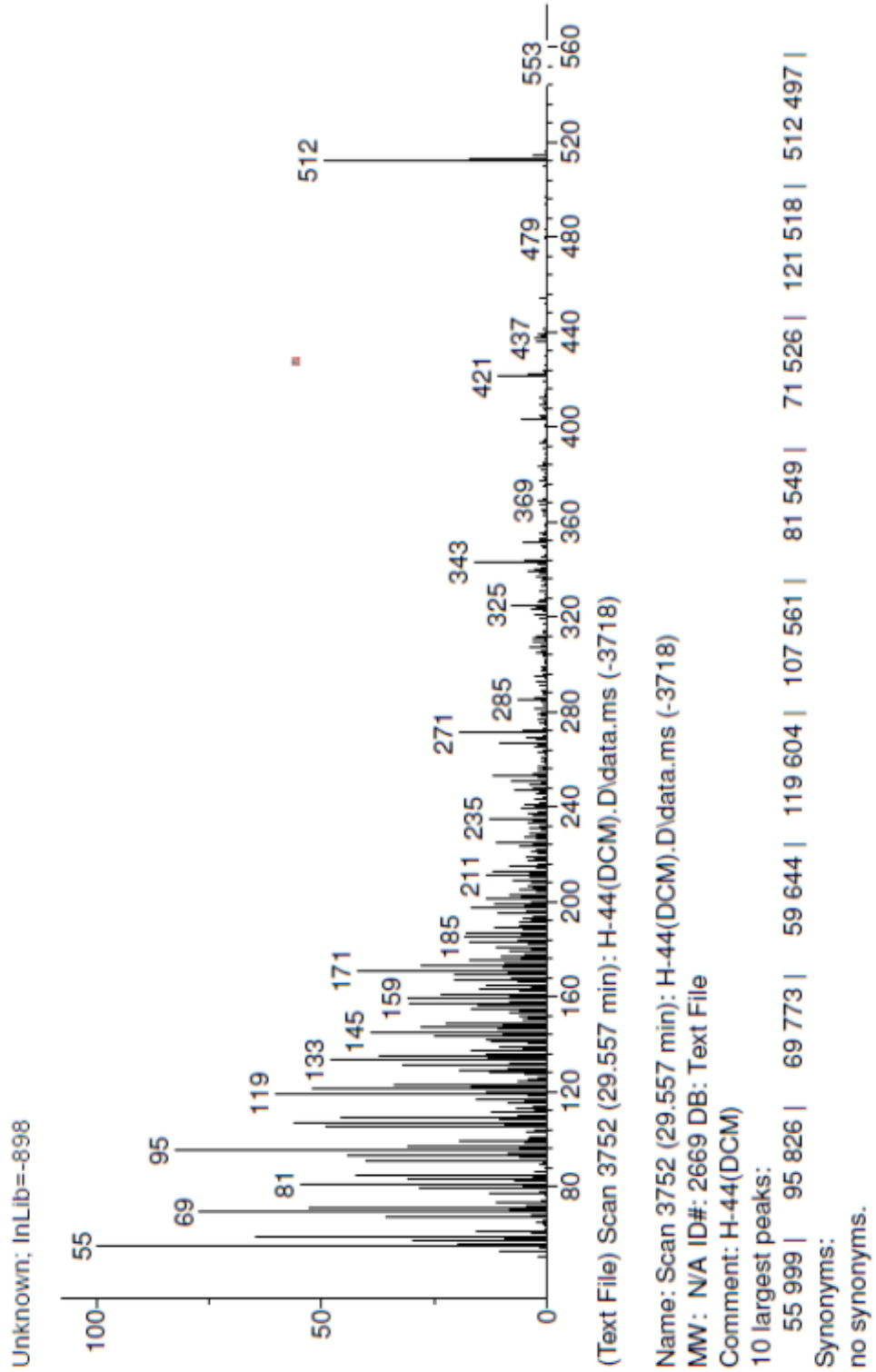
Şekil 4. 115. 1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



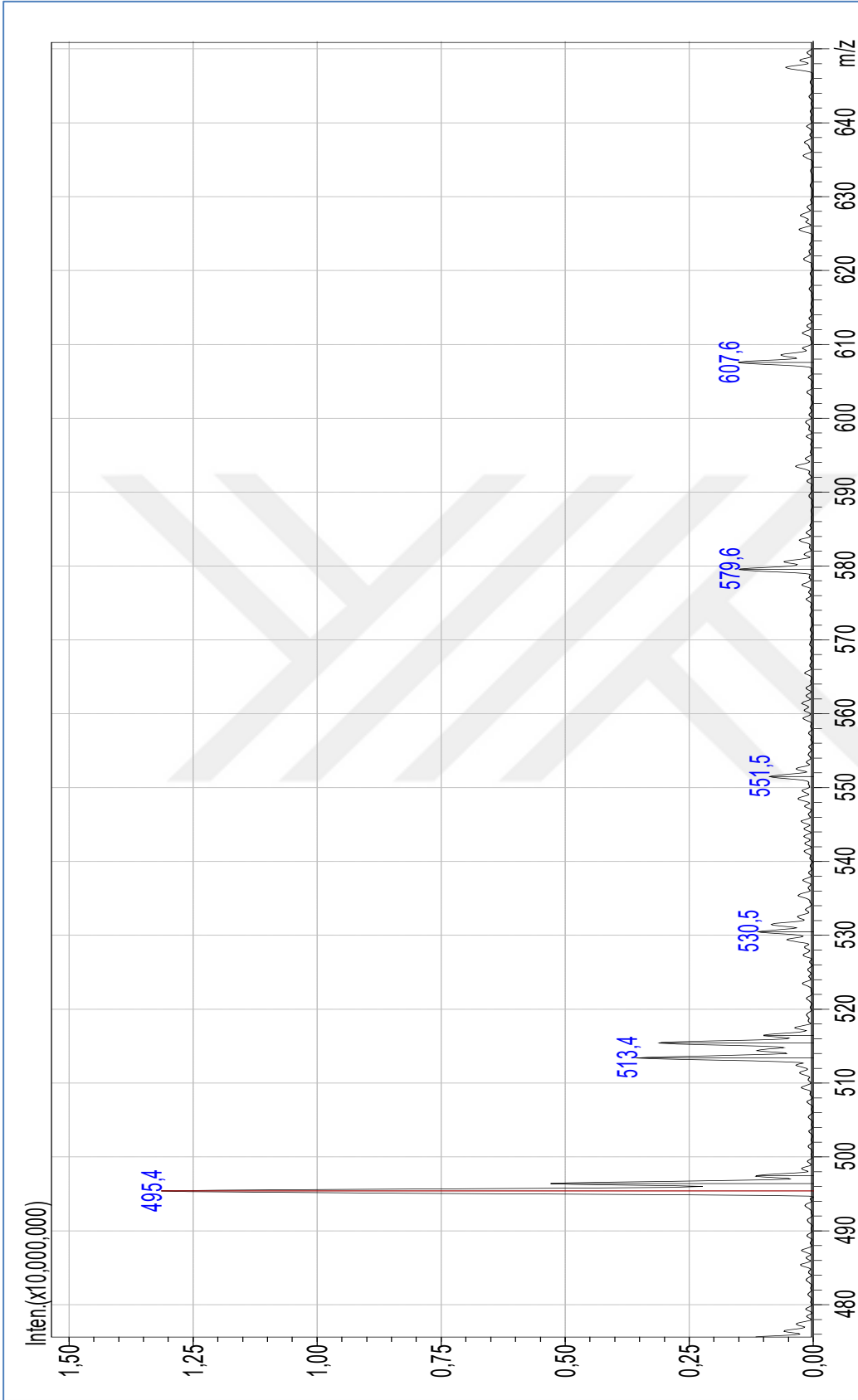
Şekil 4. 116. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin ¹³C NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



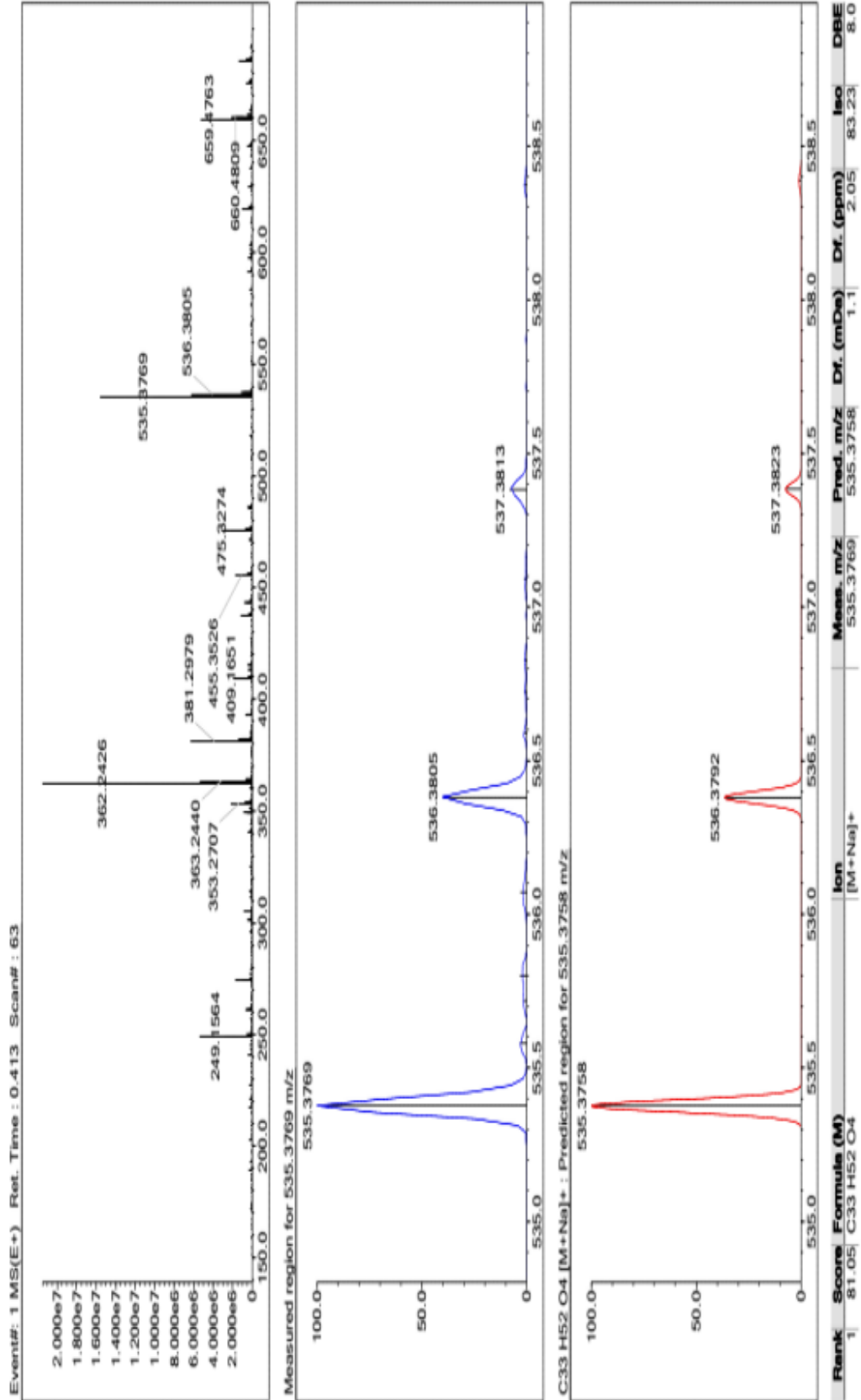
Şekil 4. 117. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiminin HMQC spektrumu ($CDCl_3$, 600 MHz)



Şekil 4. 118. $1\alpha,21\alpha$ -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiminin GC-MS spektrumu



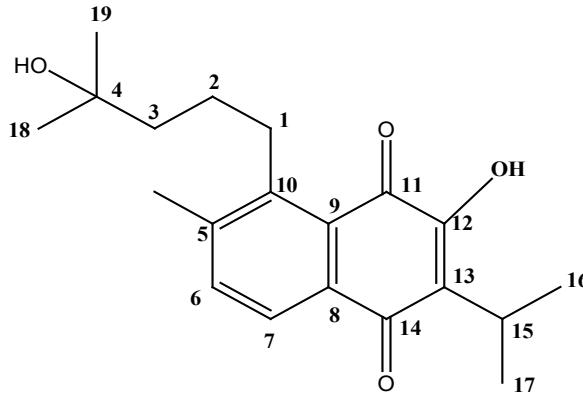
Şekil 4. 119. 1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksimetilen) urs-9(11),12-dien bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)



Şekil 4. 120. 1 α ,21 α -Dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

4.14.20. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon

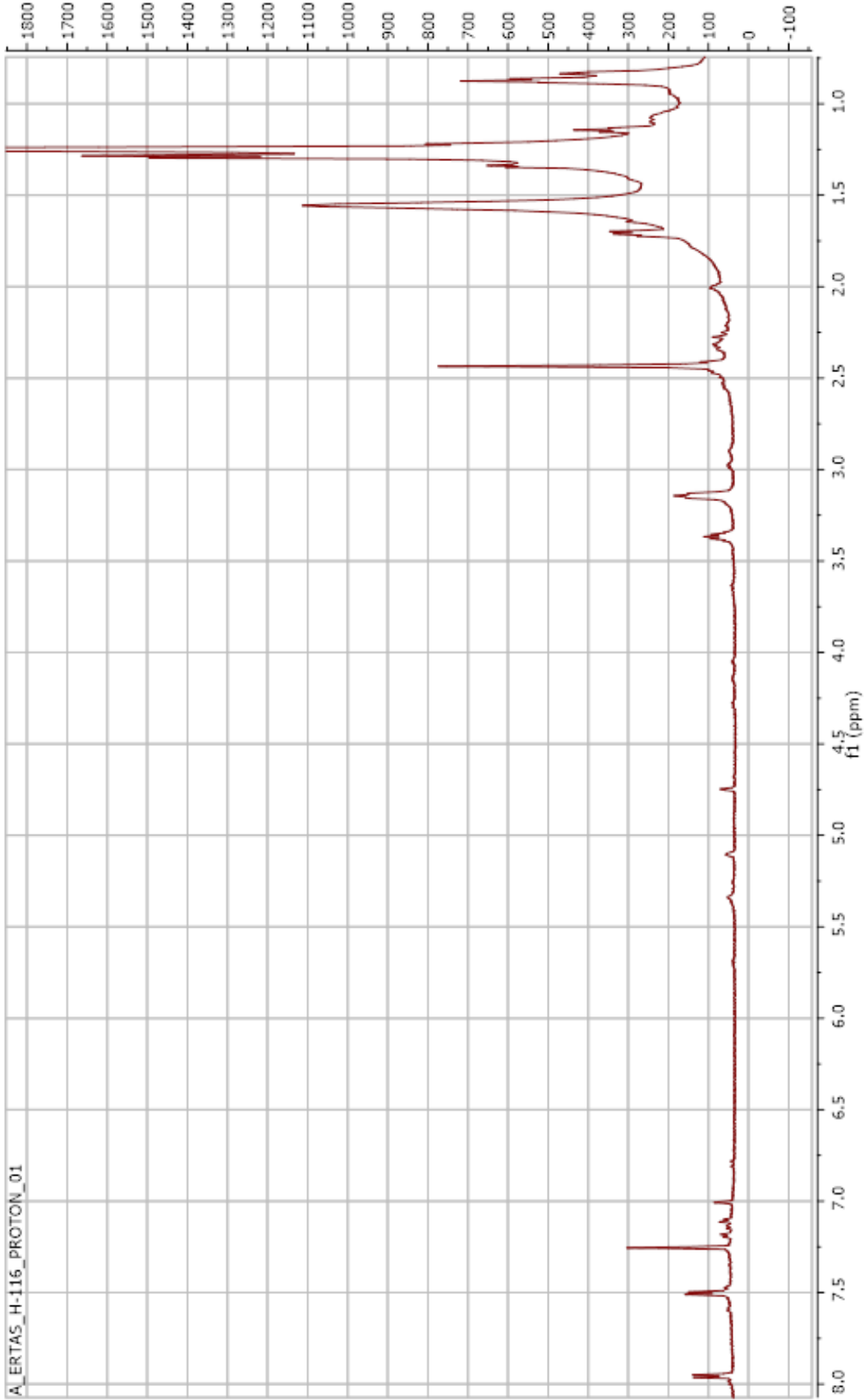
S. siirtica'nın sadece toprak altı kısmının etanol ekstresinden preparatif ince tabaka kromatografisi ile saf diklorometan çözücü sisteminde elde edildi. Amorf beyaz toz şeklinde 1,55 mg elde edildi (Şekil 4.121.). Silika jel plakta UV lamba altında (254 nm) sarı görülen bileşik, serik sülfat belirteci püskürtülüp etüvde 105°C'de yakıldığında sarı renk aldı. ¹H NMR (CD₃Cl, 600 MHz) spektrumunda 5 metil sinyali (1,25 d, 125 d, 1,50 s, 150 s, ve 2,43 s) sinyali izlendi. Bunlardan 1.25 ppm'deki metil sinyallerinin 7,3 Hz lik dubletler halinde ve 3.35 ppm'de ise bir metin protonunun septet halinde izlenmesi yapıda bir isopropil grubunun varlığını göstermiştir, bu sinyaller yapının abietan bir diterpen olabileceğine işaret etmiştir. Ayrıca 7,50 ile 7,95 ppm (J=7,6 Hz)'deki pikler aromatik komşu 2 protona işaret etmiştir. Ayrıca 7,26 ppm'de brd s pik ise –OH'a işaret etmiştir. Bunların yanı sıra GC-MS kütle spektrumunda moleküler piki, kapalı formülü (C₂₀H₂₆O₄)'ye karşılık gelen *m/z* 330'da ayrıca M-OH piki de 312'de izlenmiştir. ¹H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-APCI-MS'ta izlenen [M+Na]⁺ piki 353,3 (C₂₀H₂₆O₄) dayanarak bu bileşiğin 4,12-dihidroksi sapriparakinon olduğu saptandı ve NMR değerleri (Çizelge 4.39.) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Topçu ve ark. 1995), (Şekil4.122-4.125.).



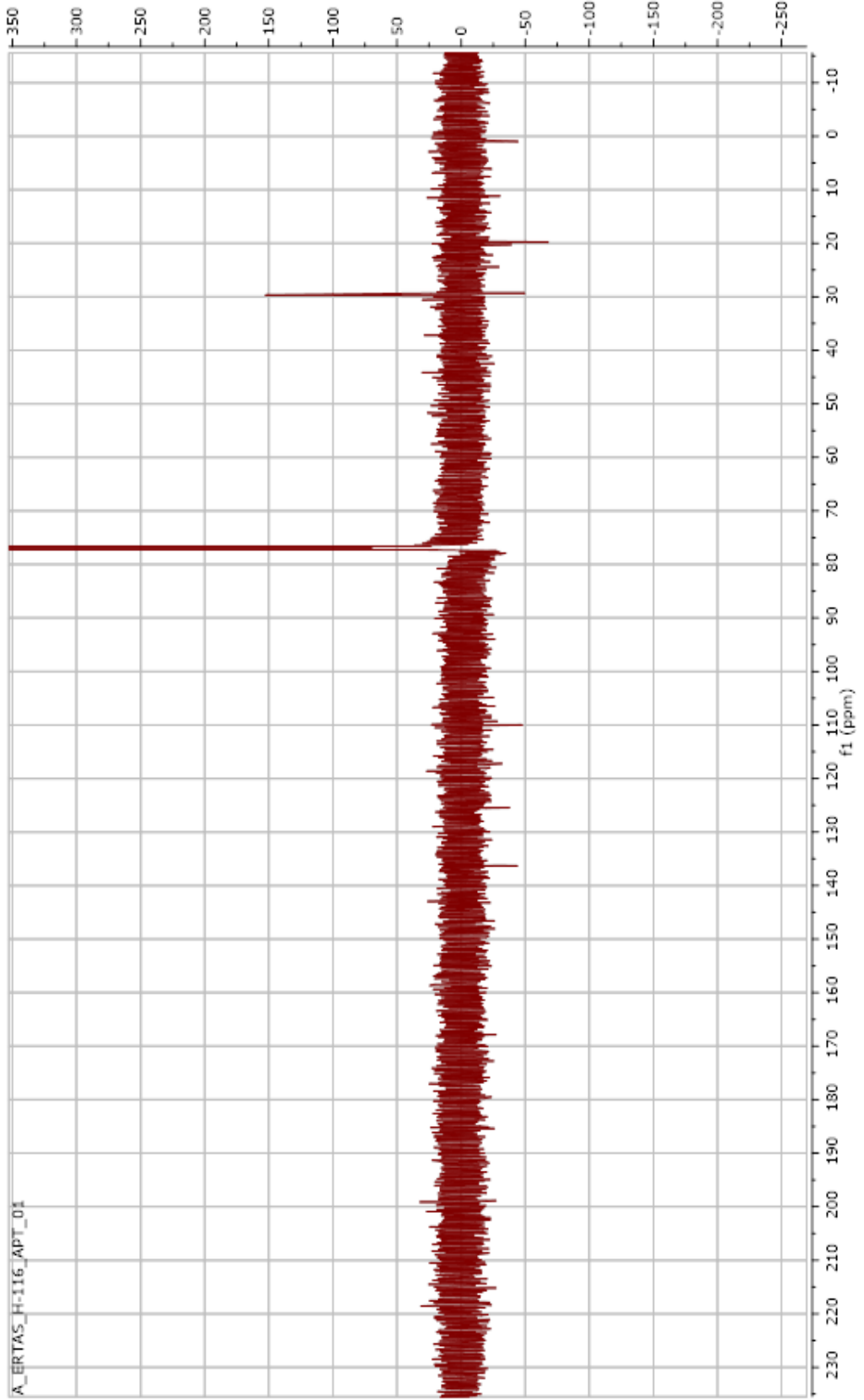
Şekil 4. 121. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon

Çizelge 4. 39. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin NMR değerleri

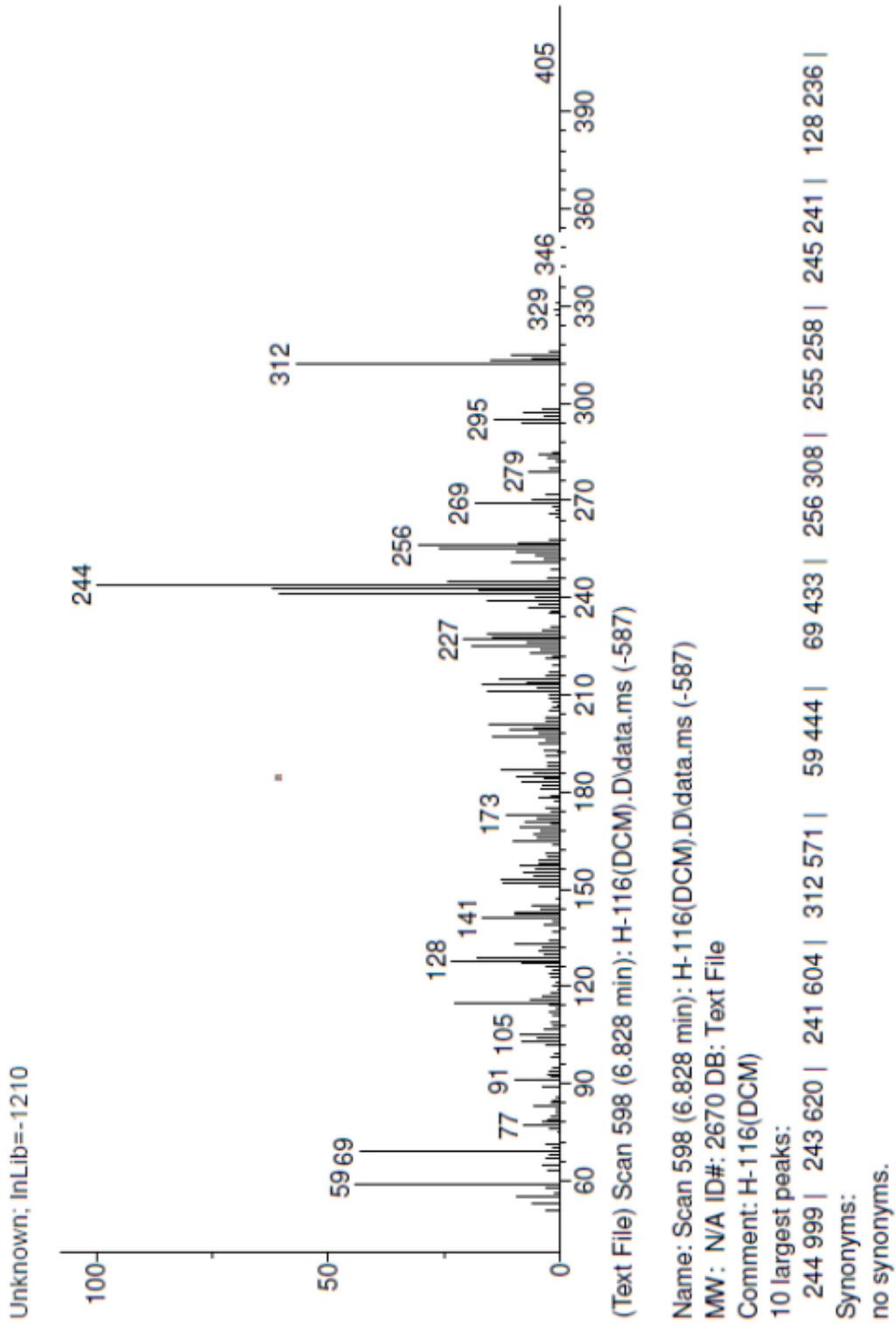
Pozisyon	¹ H-NMR
1	3,15 t
2	-
3	-
4	-
5	-
6	7,50 d (J=7,6 Hz)
7	7,95 d (J=7,6 Hz)
8	-
9	-
10	-
11	-
12	-
13	-
14	-
15	3,35 septet (J=7 Hz)
16	1,25 d (J=7,3 Hz)
17	1,25 d (J=7,3 Hz)
18	1,50 s
19	1,50 s
20	2,43 s
12-OH	7,26 br s



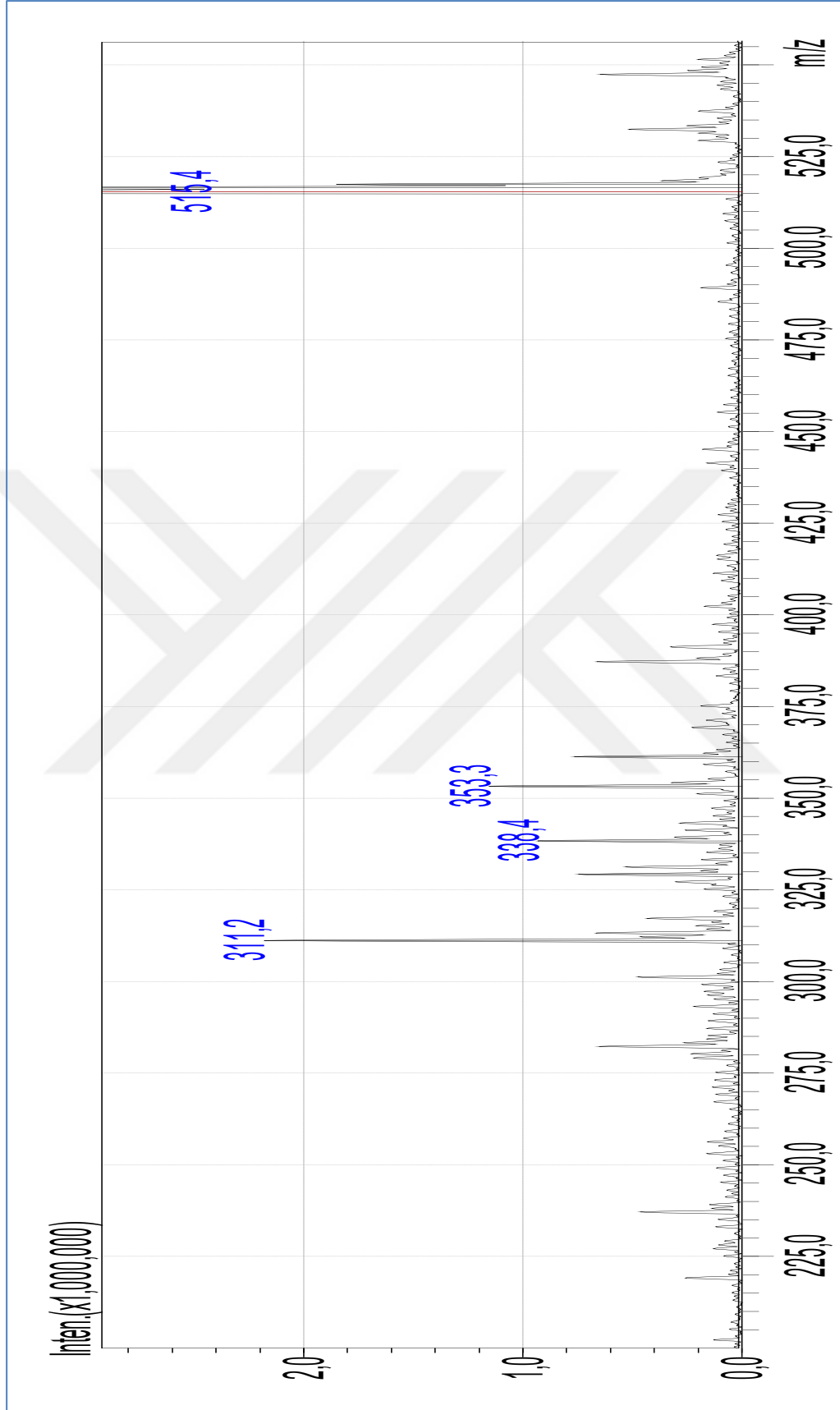
Şekil 4. 122. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 600 MHz)



Şekil 4. 123. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



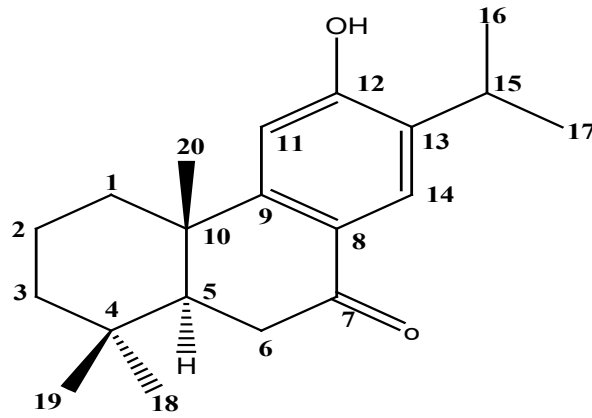
Şekil 4. 124. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin GC-MS spektrumu



Şekil 4. 125. 4,12-Dihidroksi sapriparakinon bileşiğinin LC-APCI-MS spektrumu (Pozitif mod)

4.14.21. Sugiöl

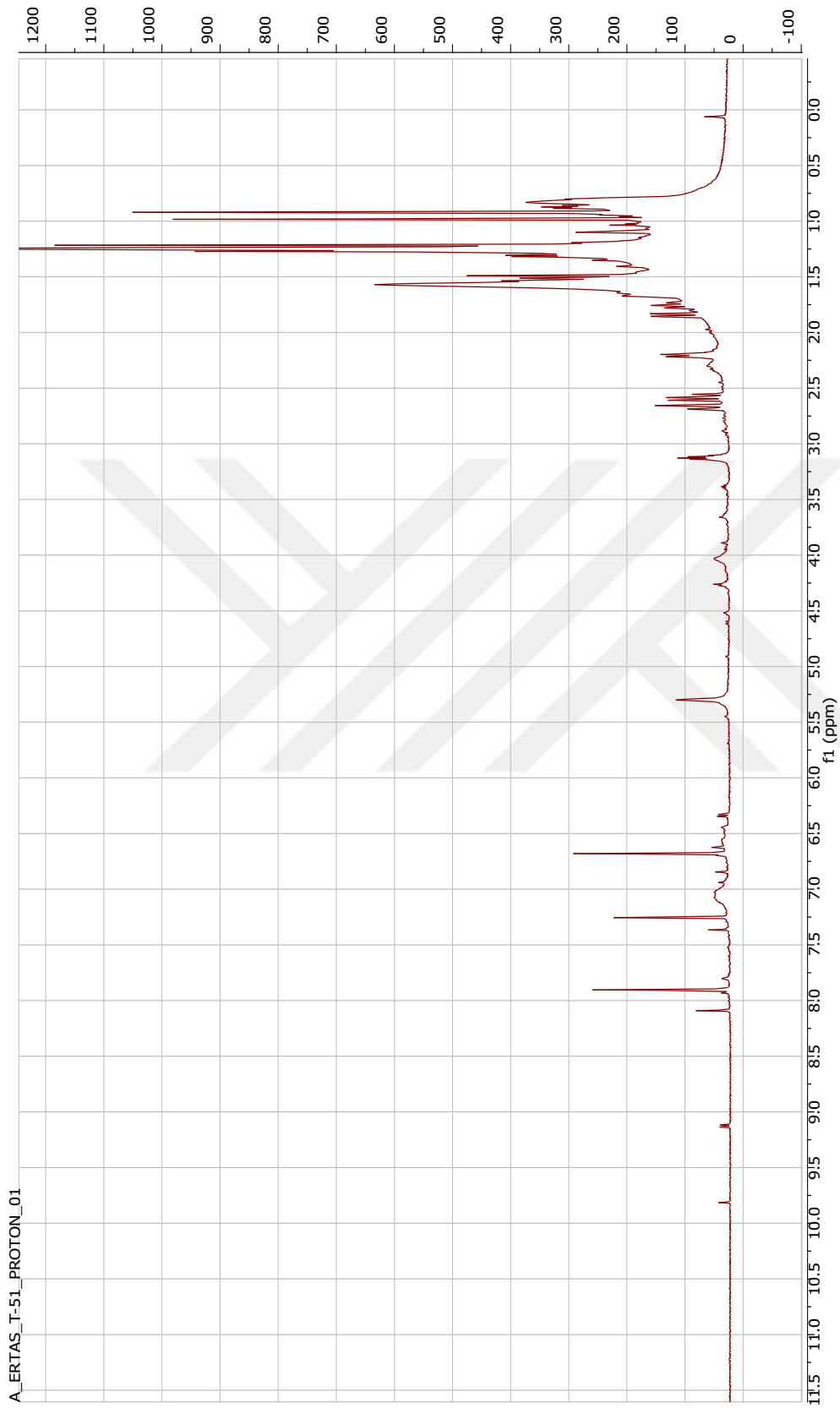
S. siirtica'nın toprak altı kısımlarının etanol ekstresinden elde edildi. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile petrol eteri/diklorometan:1/9 çözücü sisteminde yaklaşık 14 mg elde edildi (Şekil 4.126.). ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) spektrumunda üç metil sinyali 0,92, 0,99 ve 1,22 ppm'de singletler halinde ve iki metil sinyali dubletler halinde 1,25 ve 1,27 ppm'de ($J=7,1$ Hz) izlendi. Spektrumda 3,13 ppm'de izlenen metil sinyalinin bu iki metil dubleti ile yaptığı etkileşim sonucu septet şeklinde izlenmesiyle bir isopropil grubunun varlığı anlaşıldı. 6,68 ve 7,91 ppm'de izlenen singlet sinyalleri halkada bir aromatikliğin varlığını kuvvetlendirdi. ^1H NMR'da 2,68 ppm'de izlenen dd ($J=1,8;17$ Hz) H-1 ve 2,59 ppm'de dd keto grubuna komşu protona (H-6) işaret etmiştir. Keton grubunun varlığı nedeniyle H-14, ferruginol'den (6,83 ppm) farklı olarak daha aşağı alanda (7,91 ppm) izlenmiştir. Kütle spektrumunda moleküler piki kapalı formülü olan ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) ye karşılık gelen m/z 300'de ayrıca $\text{M}-\text{CH}_3$ piki de 285'te izlenmiştir. ^1H NMR sinyallerinin kayma değerleri ve LC-MS-IT-TOF'ta izlenen $[\text{M}+\text{H}]^+$ piki m/z 301.2165'e ($\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$) dayanarak bu bileşiğin sugiöl olduğu saptandı ve NMR değerleri (Çizelge 4.40.) literatür değerleri ile kıyaslanarak yapı doğrulandı (Topçu ve ark. 2007), (Kolak ve ark. 2005), (Şekil 4.127-4.131.).



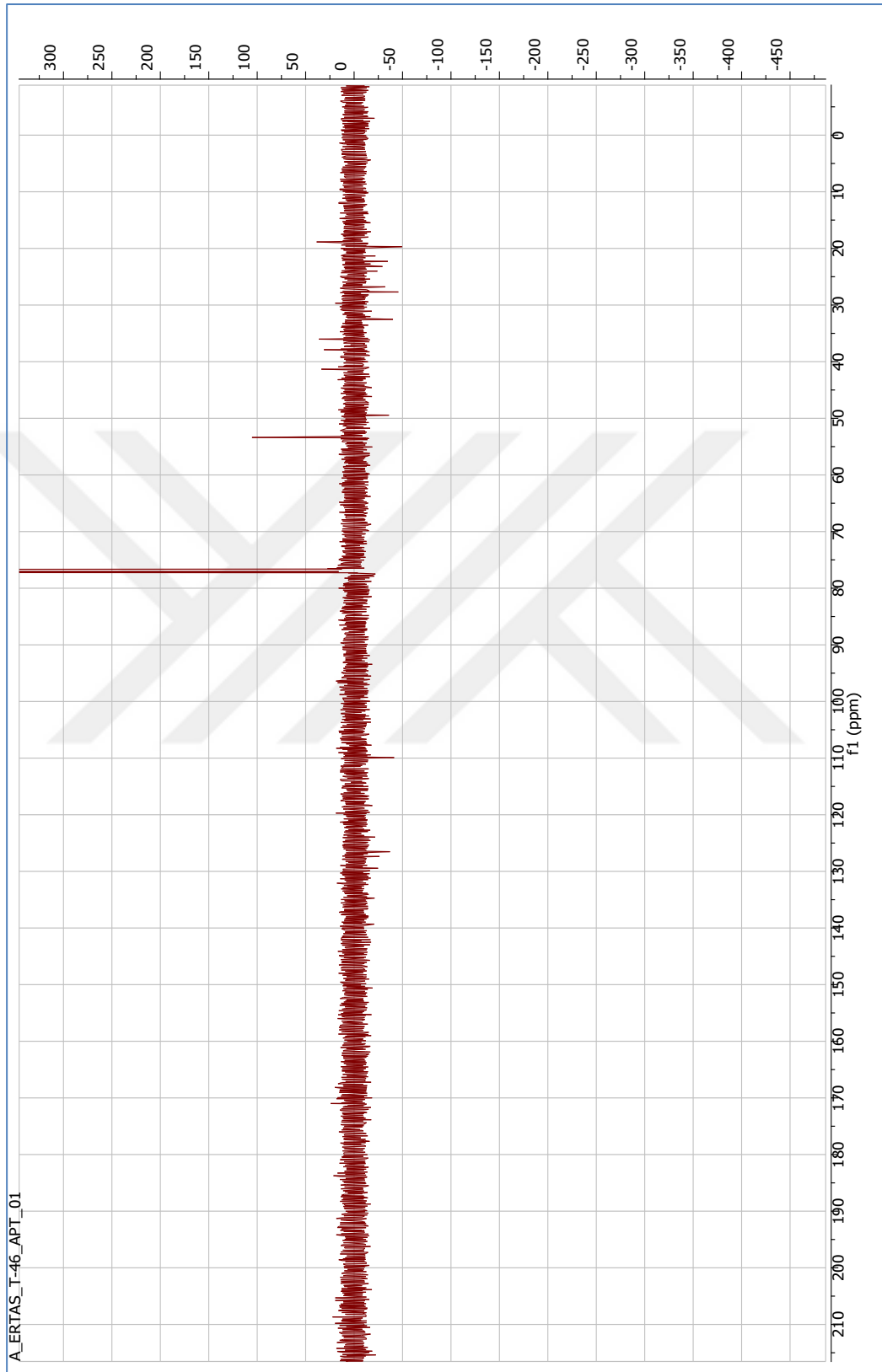
Şekil 4. 126. Sugiöl

Çizelge 4. 40. Sugiol bileşiğinin NMR değerleri

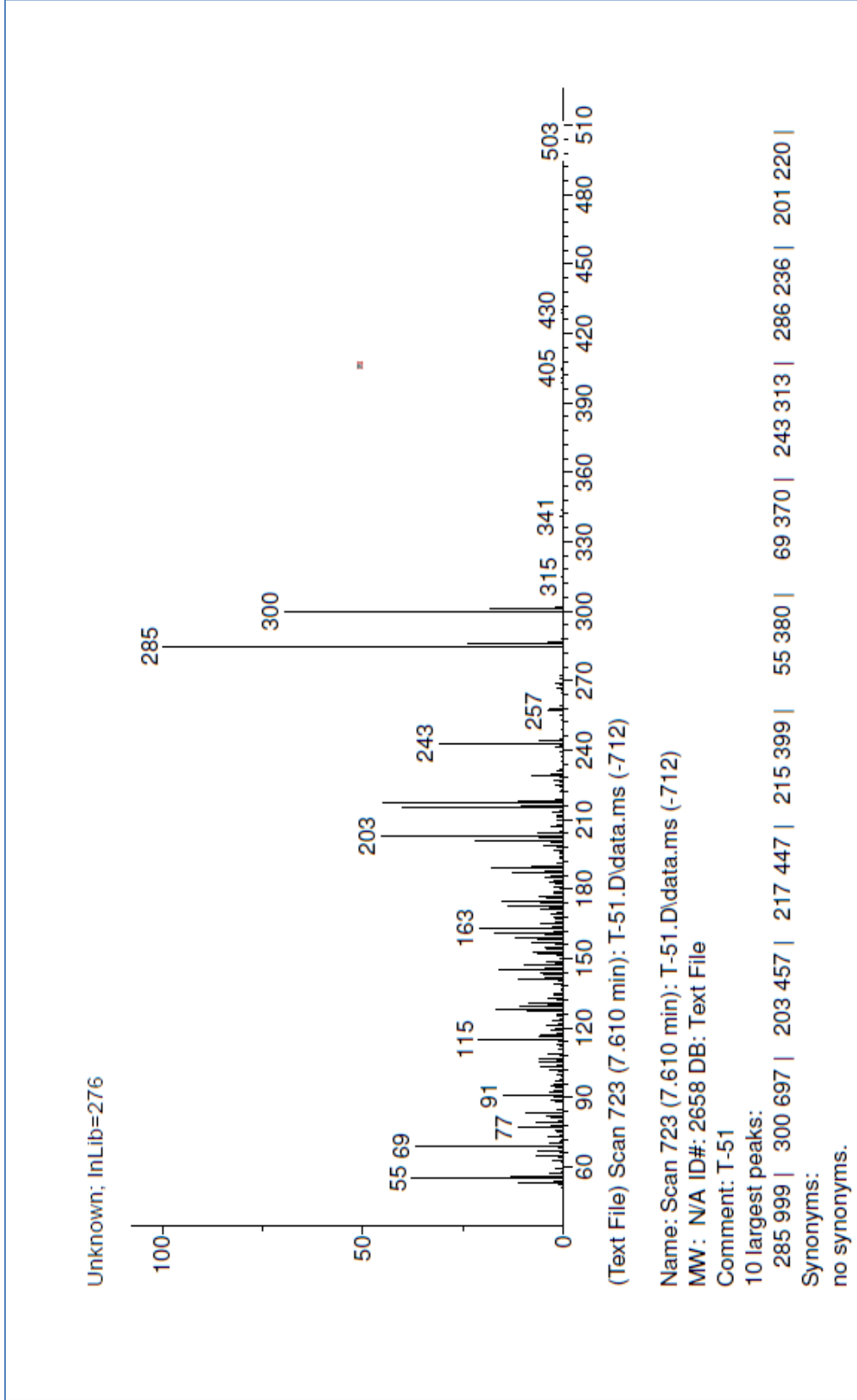
Pozisyon	¹³ C-NMR	¹ H-NMR
1	38,5	1,56 dd (J=1,8; 13 Hz) 2,68 dd (J=1,8; 13 Hz)
2	19,1	-
3	40,9	-
4	33,5	-
5	50,2	-
6	19,3	2,59 dd
7	209,3	-
8	124,6	-
9	154,8	-
10	38,0	-
11	110,9	6,68 s
12	160,3	-
13	133,7	-
14	126,6	7,91 s
15	26,7	3,13 septet (J=7,0 Hz)
16	22,6	1,25 d (J=7,1 Hz)
17	22,3	1,27 d (J=7,1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



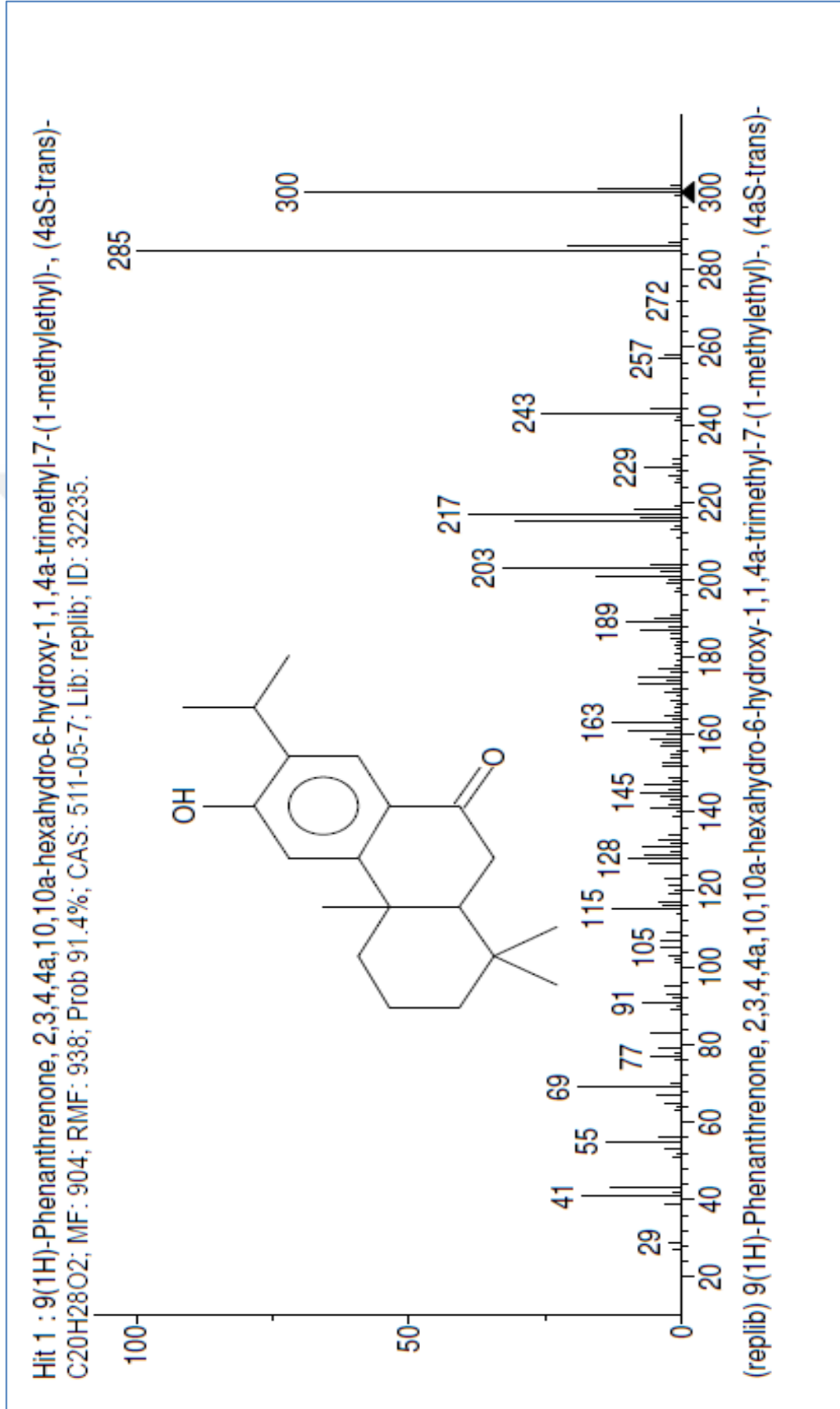
Şekil 4. 127. Sugiol bileşiminin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 600 MHz)



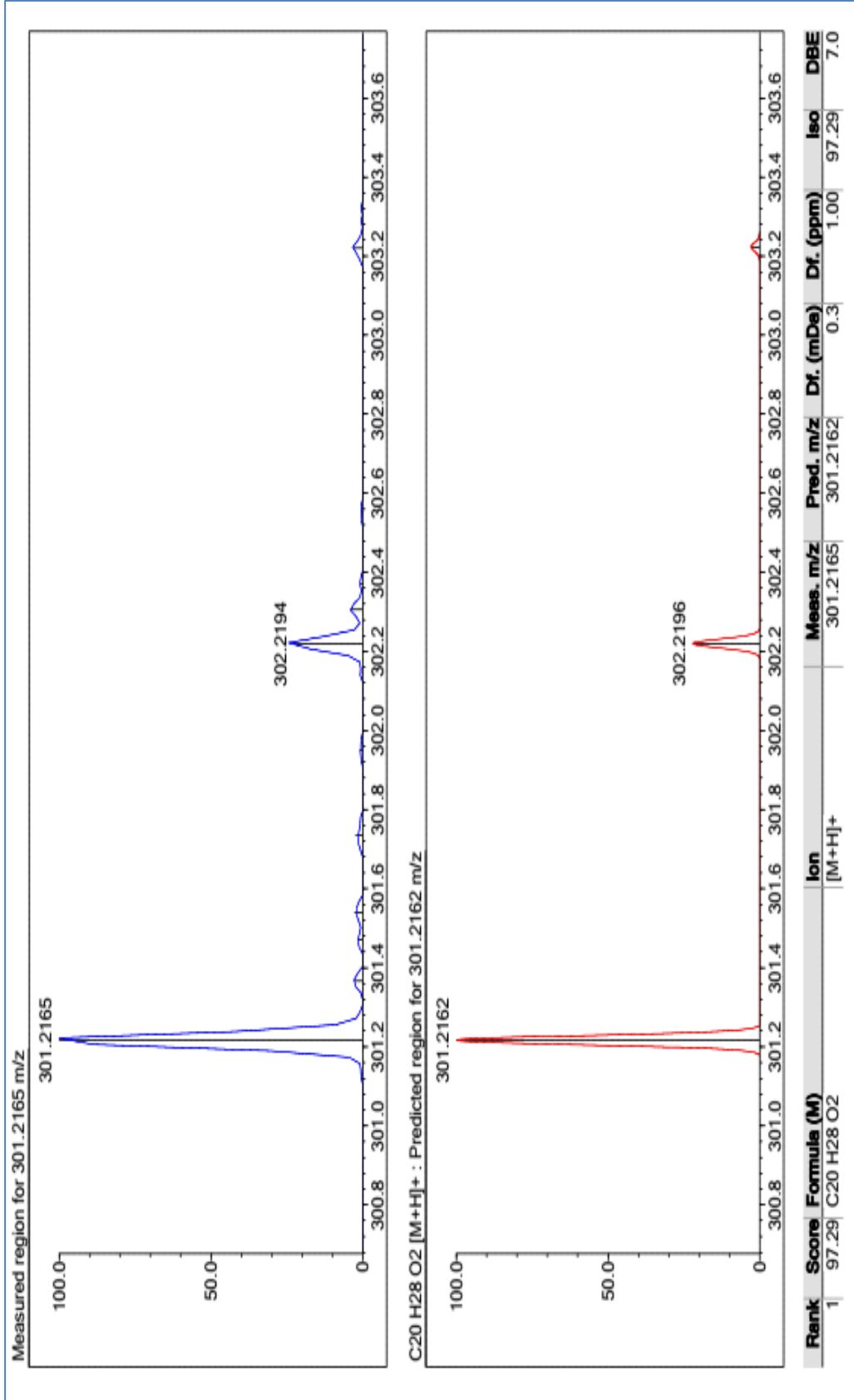
Şekil 4. 128. Sugiol bileşiğinin ^{13}C NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 150 MHz)



Şekil 4. 129. Sugiol bileşiminin GC-MS spektrumu-1



Şekil 4. 130. Sugiol bileşiğinin GC-MS spektrumu-2



Şekil 4. 131. Sugiol bileşiminin LC-MS-IT-TOF kromatogramı

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizin doğu bölgesinde yetişen ve endemik bir tür olan *S. siirtica*'nın Hakkari'den toplanıp herbaryum örnekleri oluşturuldu (M. Fırat 32599 (VANF), M. Fırat 32734 (VANF), M. Fırat 33860 (VANF)). *S. siirtica*'nın, kloroform ve etanol ekstreleri hazırlanarak antioksidan, antikolinesteraz, tirozinaz ve üreaz enzim aktivitelerinin araştırılması ve yine ekstrelerin kimyasal profili ışığında preparatif HPLC ve diğer klasik kromatografik yöntemlerin kullanılması ile sekonder metabolitlerini saflaştırmak amaçlandı. Saflaştırılan bu sekonder metabolitlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi sonrasında antikolinesteraz, üreaz ve tirozinaz enzim aktiviteleri belirlendi. Ayrıca bu türün yaprak, dal, çiçek, kök ve bunların karışımından hazırlanan etanol ekstresi ile karışık kısımların kloroform ve petrol eteri ekstreleri hazırlanmış olup, bu ekstrelerin LC-MS/MS ile bazı flavonoit ve fenolik bileşiklerin miktar tayinlerinin yapılması amaçlandı. Bunlara ek olarak bu türün tüm bölümlerinin petrol eteri ekstresi hazırlanarak GC-MS/MS ile yağ asidi profilinin belirlenmesi amaçlandı.

Ekstre verimleri değerlendirildiğinde toprak üstü kısımlardan hazırlanan ekstrelerin veriminin yüksek olduğu belirlendi (Çizelge 4.1-4.4.). Yine etanol ekstre verimlerinin kloroform ve petrol eteri ekstrelerine göre daha yüksek olduğu belirlendi. Türün çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstreleri içinde çiçek kısımlarından hazırlanan ekstrenin yüzde veriminin (%17.78) en yüksek olduğu tespit edildi. Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi (Çizelge 4.5.). Etanol ekstrelerinin toplam fenolik-flavonoit içeriğinin kloroform ekstresinin içeriğinden zengin olması bu türün içerdiği fenolik ve flavonoit bileşiklerin daha çok polar özellikte olması anlamına gelmektedir. Ayrıca tüm ekstrelerde toplam fenolik içeriğin toplam flavonoit içerikten daha zengin olduğu görülmektedir. Ayrıca *S. siirtica*'nın çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstreleri kendi içinde değerlendirildiğinde yaprak kısımlarından hazırlanan ekstrenin daha zengin olduğu belirlendi. Genel olarak bu türün toprak üstü kısımlarının kök kısımlarına göre hem fenolik hem de flavonoit bakımından daha zengin olduğu söylenebilir.

S. siirtica'nın çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerin fenolik içerikleri LC-MS/MS ile belirlendi. Genel olarak *S. siirtica* türünün majör bileşiklerinin rozmarinik, kafeik, malik ve fumarik asit olduğu tespit edildi. Özellikle SS-K ve SS-Y ekstrelerinin rozmarinik asit bakımından çok zengin olduğu (12285.62 ve 10037.49 µg bileşik/g ekstre, sırasıyla) tespit edildi. Literatürde bu türün fenolik içeriği ile ilgili çalışma mevcut değildir.

Hazırlanan tüm ekstrelerin 4 farklı yöntemle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Çizelge 4.6-4.7.). Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α -Toc ve BHT kullanıldı. *S. siirtica* türünün toplam fenolik içerik bakımından zengin olan etanol ekstrelerinin yine çalışılan 4 antioksidan yöntemde daha aktif olduğu görülmektedir. Türün çeşitli kısımlarından hazırlanan etanol ekstreleri kendi içinde değerlendirildiğinde özellikle kök (SS-K) ekstresinin çok daha aktif olduğu belirlendi. Özellikle CUPRAC, DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal giderim yöntemlerinde gösterdikleri aktivite, içerdikleri toplam fenolik içerik ile paralellik göstermiştir.

S. siirtica'nın toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinden 121, köklerinin etanol ekstresinden 85 fraksiyon elde edildi. Yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirilerek toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinden toplamda 14, köklerinin etanol ekstresinden 11 fraksiyon elde edildi. Ana fraksiyonların DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri belirlendi (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9.). DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ve ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemlerinde genel olarak polar fraksiyonların daha aktif olduğu tespit edildi. Aktivite sonuçlarına göre genel olarak toprak üstü kısımlarının fraksiyonlarının aktiviteleri köklerinin fraksiyonlarından daha aktif olduğu belirlendi. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve CUPRAC-Bakır(II) indirgeme kapasitesi sonuçlarına bakıldığında her üç yöntemde de en aktif olan toprak üstü 64-72, 73-83, 84-89, 116-121 ve kök 15-17, 18-23, 50-59 numaralı fraksiyonlardan, ardından daha az aktif olan toprak üstü 90-99 ve 110-115, kök 31-39 ve 60-66 numaralı fraksiyonlarından saf madde izolasyonuna gidildi.

Daha sonrasında elde edilen 21 saf maddenin antioksidan aktivitesi 3 yöntemle (DPPH Serbest Radikal Giderim, ABTS Katyon Radikal Giderim, CUPRAC) belirlendi.

Bu maddelerin genel olarak çok aktif oldukları özellikle de fenolik bileşiklerin oldukça aktif oldukları tespit edildi. Ayrıca bu türün çok güçlü bir antioksidan özelliğe sahip rozmarinik asit içeriği de düşünüldüğünde *S. siirtica* türünün zenginleştirilmiş ekstralarının gıda koruyucu olma potansiyellerinin olduğu görülmektedir.

Literatüre baktığımızda *S. siirtica* türünün antioksidan kapasitesi ve total fenolik-flavonoit içeriği ile ilgili çalışma mevcut değildir. Fakat bu türün ait olduğu *Salvia* cinsine ait diğer türler ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalara baktığımızda; *S. sclarea* L. türüyle yapılan bir çalışmada bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarının metanol ekstralarının toplam fenolik içerikleri gallik aside eşdeğer olarak sırasıyla 116.22 ve 106.72 µg/mg olarak belirlenmiştir. Ekstrelerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla IC₅₀=73 ve 81.33 µg/mg). β-Karoten/linoleik asit yönteminde de iyi antioksidan aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (Sırasıyla inhibisyon yüzdeleri %40.25 ve %47.58) (Safaei-Ghomi ve ark. 2016).

S. trichoclada Benth, *S. verticillata* L. ve *S. fruticosa* Mill. türlerinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraların DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. Tüm ekstraların ve rozmarinik asidin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Demirezer ve ark. 2015). *S. mirzayanii* Rech. f. & Esfand, *S. santolinifolia* Boiss. ve *S. choloroleuca* türlerinin metanol ekstralarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH serbest radikal giderimi, β-karoten renk giderimi testleri uygulanmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda, *S. choloroleuca* türünde daha güçlü olmak üzere çalışılan türlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Asadi ve ark. 2011). *S. pocolata* Nab. türünün toprak üstü kısmıyla yapılan çalışmada 2 triterpenoit, 1 diterpenoit, 4 flavonoit ve 1 steroid izole edilmiştir. İzole edilen saf bileşiklerden ursolik asit ve β-sitosterol ile ham ekstrenin antioksidan aktiviteleri süperoksit anyon radikali giderimi, β-karoten renk giderimi ve ABTS katyon radikali giderimi (>100 µg/mL) yöntemleri ile belirlenmiştir. Ekstrenin total fenolik ve flavonoit içerikleri sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlenmiştir. Ham ekstrenin fenolik bileşikler bakımından zengin olduğu, ham ekstre ve β-sitosterol bileşiğinin β-karoten renk giderim yönteminde önemli derecede inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Test edilen bileşikler arasında bir süperoksit anyon radikali temizleyici olarak Sclareol en yüksek etkinliği sergilemiştir (Kolak ve ark. 2009).

S. nemorosa L. türünün kimyasal bileşimi, enzim inhibisyonu, toksisitesi, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, bu türün metanol ekstresinin yüksek fenolik ve flavonoit içeriğe sahip olduğu (sırasıyla 294 mg GAE/g ve 117 mg QE/g ekstre) ayrıca güçlü DPPH serbest radikal giderim aktivitesi gösterdiği görülmüştür ($IC_{50}=82 \mu\text{g/mL}$). Fenolik bileşenler, HPLC-DAD ile karakterize edilmiş ve rozmarinik asitin ana bileşik olarak (7584 $\mu\text{g/g}$ ekstre) tespit edildiği 11 bileşen tanımlanmıştır (Bahadori ve ark. 2017). *S. brachyantha* (Bordz.) Pobed, *S. aethiopsis* L. ve *S. microstegia* Boiss.&Balansa türlerinin metanol ekstrelerinin fenolik içeriklerinin tanımlanması ve nicelendirilmesi RP-HPLC/MS ile yapılmış, antioksidan aktiviteleri CUPRAC, FRAP ve DPPH yöntemleri ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar toplam 18 fenolik bileşiğin varlığını göstermiştir. Bunların en fazla miktarı, *S. microstegia*'da kemferol ve *S. brachyantha* ve *S. aethiopsis*'te rozmarinik asit olarak belirlenmiştir. Diğer önemli fenolik bileşiklerin apigenin, luteolin, p-kumarik asit ve klorojenik asit olduğu bulunmuştur. Çalışılan tüm türlerin, BHA, BHT ve askorbik asit gibi standart antioksidanlara kıyasla orta derecede ve daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tohma ve ark. 2016).

S. verticillata L. türünün metanol ekstresinden başlıca antioksidan bileşikleri tanımlamak için yapılan çalışmada, ham ekstre DPPH ve β -karoten/linoleik asit yöntemlerinde güçlü antioksidan aktiviteler göstermiştir. Etil asetat fraksiyonu diğer fraksiyonlara kıyasla güçlü bir serbest radikal giderim aktivitesi sergilemiştir. Kromatografi yöntemleri kullanılarak etil asetat fraksiyonunun daha fazla fraksiyonlanması ve saflaştırılması ile yüksek antioksidan kapasiteli bir bileşik olan krizoeriol izole edilmiştir. Bu bileşiğin IC_{50} (DPPH) değeri 93.32 mM olarak belirlenmiştir (Nickavar ve ark. 2016). *S. barrelieri* Ettlign türüyle yapılan bir çalışmada, bitkinin toprak altı bölümünden elde edilen diterpenlerin aktiviteleri DPPH serbest radikal giderimi, süperoksit anyon radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikal giderim ve CUPRAC metotları kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Kolak ve ark. 2009). Toplan ve ark. (2017), Kıbrıs'a özgü *S. veneris* Hedge türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin ve uçucu yağının, fenolik bileşenlerinin kompozisyonu GC-MS ve LC-MS/MS ile araştırmışlardır. Antioksidan aktivitesi, TEAC testi (Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi) ve DPPH ile belirlenmiştir. LC-MS/MS sonucuna

göre, metanol ekstresinde rozmarinik asit esas bileşik olmak üzere, toplam fenol içeriği, 100 mg ekstrede 19 ± 0.20 mg gallik asit olarak belirlenmiştir. Ayrıca, ekstredeki rozmarinik asitin kantitatif analizi de incelenmiştir. *S. veneris*'in toprak üstü kısımlarında, 16.26 mg/g değerinde yüksek düzeyde rozmarinik asit bulunmuştur.

Çeşitli habitatlarda yetişen 4 *Salvia* türünün metanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ile fenolik içeriklerinin incelendiği bir çalışmada spektrofotometrik olarak hesaplanan toplam fenolik içeriğin *S. officinalis* L. ekstreleri için 112.93-161.37 02 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında ve *S. argentea* L. ekstresi için 67.67-72.02 mg GAE/g kuru ağırlık aralığında değiştiği belirlenmiştir. HPLC analizi ekstrelerde özellikle kafeik asit türevleriyle beraber flavonoit ve birçok fenolik asitin varlığını ortaya çıkarmıştır. Rozmarinik asitin analiz edilen ekstrelerde en bol bulunan bileşik olduğu ve *S. officinalis* örneklerinde en yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (13680.22-18378.00 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık). *S. officinalis*'in metanol ekstreleri ABTS (644.85-766.30 $\mu\text{g/mL}$) ve DPPH (10.08-3.37 $\mu\text{g/mL}$) analizleri ile değerlendirildiğinde en güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir (Ben Farhat ve ark. 2013). *S. syriaca* L. türünün bileşenlerinin, antidiyabetik, anti-Alzheimer, genel toksisite ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, bitkinin metanol ekstresi ve uçucu yağının fitokimyasal bileşimi, sırasıyla, GC-MS ve ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi teknikleri kullanılarak tanımlanmıştır. *S. syriaca*'nın uçucu yağı, güçlü sitotoksiste, antioksidan, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktivite göstermiştir. HPLC analiz sonuçlarına göre; rutin, kersetin, apigenin, rozmarinik asit ve ferulik asit en çok bulunan fenolik bileşenlerdir (Bahadori ve ark. 2017).

Genel olarak çalıştığımız türün sonuçlarına ve literatürdeki diğer *Salvia* türleri ile ilgili çalışmalara baktığımızda bu cinse ait türlerin oldukça yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Sonuçlar literatür verileri ve içerik analizleri ile beraber değerlendirildiğinde diğer *Salvia* türlerinde olduğu gibi bu yüksek antioksidan aktivitenin fenolik içerikten, özellikle rozmarinik asit ve türevlerinden kaynaklandığı söylenebilir.

S. siirtica'dan hazırlanan ekstrelerin düşük ve orta derecede asetil- ve butiril-kolinesteraz enzim aktivitesi gösterdikleri belirlendi. Türün yaprak kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin asetilkolinesteraz (%İnhibisyon: 68.17 ± 1.32),

butirilkolinesteraz yönteminde ise kök kısımlarının etanol ekstresinin (%İnhibisyon:71.74±0.57) daha aktif olduğu belirlendi. Özellikle elde edilen diterpen (ferruginol, sugiol ve 4,12-dihidroksi sapriparakinon) yapısındaki bileşiklerin butirilkolinesteraz enzimine karşı oldukça aktif oldukları belirlendi. *S. siirtica*'dan hazırlanan ekstrelerin ve elde edilen bileşiklerin antikolinesteraz aktiviteleri ilk kez bu tez çalışmasında incelendi. Fakat literatüre baktığımızda *Salvia* cinsi ile ilgili daha önce yapılmış pek çok antikolinesteraz çalışması mevcuttur. Halfon ve ark. (2019), *S. cassia* Samuelss. Rech. Fil bitkisinin etanol, su ve diklorometan ekstrelerinin antikolinesteraz aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, su ekstresinin iyi derecede antikolinesteraz aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

14 *Salvia* türüyle yapılan başka bir çalışmada ise Ellman metodu kullanılarak türlerin kolinesteraz inhibisyonu belirlenip çalışılan türler arasından *S. cryptantha* Montbret & Aucher ex Benth. türünün toprak üstü kısmının diklorometan ve etanol ekstrelerinin AChE'ye (%İnhibisyon 56.22±4.18) ve BChE'ye (%İnhibisyon 33.80±4.18) karşı en aktif olduğu belirlenmiştir (Orhan ve ark. 2013). *S. chrysophylla* Stapf türünün toprak üstü diklorometan ekstresiyle yapılan bir çalışmada bitkiden izole edilen salvigenin, sitosterol, oleanoik asit ve ursolik asit bileşiklerinin yapıları aydınlatılmıştır. Kolinesteraz aktivitelerinin (AChE ve BChE) Ellman yöntemiyle incelenmesi sonucunda triterpenoit olan ursolik asit ve oleanolik asidin AChE'ye karşı seçici aktivite gösterdiği, sclareolün ise her iki enzimle de oldukça iyi aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Çulhaoğlu ve ark. 2016).

S. officinalis L. türünün yapraklarından elde edilen fenolik içerik bakımından zengin olan ekstresinin AChE enzimini inhibe etme kabiliyeti donepezilden çok daha fazla çıkmıştır (Pacifico ve ark. 2017). *S. officinalis* L.'nin toprak üstü kısmının metanol ekstresinden izole edilmiş olan fenolik diterpenlerin AChE'yi inhibe etme yetenekleri Ellman metodu kullanılarak test edilmiştir. 7 α -Metoksirosmanol ve izorosmanol bileşiklerinin 500 μ M konsantrasyonda AChE aktivitesini sırasıyla %50 ve %65 oranında inhibe ettikleri belirlenmiştir (Sallam ve ark. 2016). *S. hispanica* L.'nin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörleri olarak etki yapma potansiyelinin değerlendirildiği bu çalışmada, AChE ve BChE'ye karşı en yüksek inhibe edici aktivite tohum etanol ekstrelerinde gözlenmiştir. Protokateşik, hidroksibenzoik ve kumarik asitin yanı sıra kersetin ve izokersetinin varlığı ile AChE ve BChE inhibitörleri olarak

ekstrelerin aktivitesi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Cisowska ve ark. 2019). *S. trichoclada* Bentham, *S. verticillata* L. ve *S. fruticosa* Mill. türlerinin farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin Ellman yöntemiyle AChE inhibitör aktivitesi belirlenmiştir. *S. trichoclada*'nın metanol ekstresi, AChE üzerinde en yüksek inhibisyonu göstermiştir (Demirezer ve ark. 2015).

Literatürde *Salvia* cinsi ile ilgili çalışmalara bakıldığında ve bu tez kapsamında yapılan çalışmalar beraber değerlendirildiğinde, bu cinse ait türlerin yüksek bir antikolinesteraz enzim aktivite potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Yine literatür verileri ışığında özellikle bu cinsten elde edilen diterpen yapısındaki bileşikler ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği söylenebilir.

S. siirtica'dan hazırlanan ekstrelerin üreaz enzim aktivitelerinin olmadığı fakat düşük derecede tirozinaz enzim aktivitesi gösterdikleri belirlendi. Bu türün tüm kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinin orta derecede tirozinaz enzim aktivitesi gösterdiği belirlendi. Elde edilen saf maddelerin üreaz ve tirozinaz enzim aktivitelerinin düşük olduğu belirlendi.

S. siirtica'nın 2015, 2016 ve 2017 yılında toplanan örneklerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi profili GC-MS/MS ile belirlendi. Üç yılda da toplanan örneklerden hazırlanan ekstrelerin ana bileşenlerinin oleik, cis-11-eikosenoik, erusik ve nervonik asit olduğu tespit edildi. *S. siirtica*'nın tüm bitki kısımlarının kloroform ve etanol ekstreleri LC-MS IT-TOF cihazında optimize edilen kapsamlı 75 dakikalık bir metotla analiz edilerek genel fitokimyasal profili belirlendi ve 54 sekonder metabolit tespit edildi. Molekül formülleri tespit edilen fitokimyasalların isimleri, alıkonma zamanları, tespit edilen iyon formları, m/z değerleri (tam kütle olarak) tezde ayrıntılı olarak verildi.

Antioksidan aktivite bakımından aktif olan fraksiyonların izolasyon çalışmaları sonucunda 4'ü yeni olmak üzere toplam 21 madde elde edildi. Bu yeni triterpen bileşikleri 21 α -hidroksi-2 α ,3 β -diasetoksi urs-9(11),12-dien, 3 β -hidroksi-2 α -asetoksi urs-9(11),12-dien, 2 α ,3 β ,21 α -trihidroksi urs-9(11),12-dien ve 1 α ,21 α -dihidroksi-2,3-(1',1'-dimetil-dioksümetilen) urs-9(11),12-dien olarak adlandırıldı. Diğer bileşiklerin ise triterpen yapısındaki ursolik ve oleanolik asit, steroid yapıda β -sitosterol ve stigmasterol, diterpen yapısında ferruginol, sugiol ve 4,12-dihidroksi sapriparakinon olduğu fenolik-

flavonoit yapıda olanların ise salvigenin, apigenin, luteolin 7-glikozit, rozmarinik asit, fumarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, 4-hidroksibenzoik asit, bis-(2-etil hekzil) benzen-1,2 dikarboksilat, bis(2-etil hekzil) tereftalat olduğu belirlendi.

Literatürde *S. siirtica* türünün izolasyonu ile ilgili çalışma mevcut değildir. Fakat bu türün ait olduğu *Salvia* cinsi ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Literatürde *Salvia* cinsi ile ilgili çalışmalara baktığımızda; *S. buchananii* Hedge'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen diklorometan ekstresinin fitokimyasal incelemesi, ursolik (UA) ve oleanolik (OA) asitin yanı sıra bilinen sekiz klerodan diterpenin ve üç yeni klerodan diterpenin izolasyonunu sağlamıştır. Bu bileşiklerin yapıları kapsamlı 1D ile 2D NMR ve HR-MS spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Bisio ve ark. 2015). *S. syriaca* L. türünün kök kısımlarından hazırlanan aseton ekstresi ile yapılan bir çalışmada; saflaştırılan bileşiklerin yapıları, ursolik asit, korozolik asit, β -sitosterol, urs-12-en-2 α ,3 β -diol ve daucosterol olarak belirlenmiştir (Bahadori ve ark. 2016).

S. albocaerulea Linden türünden sugiol bileşiği ve *S. forskahlei* L. türünden forskalinon bileşiği izole edilmiştir (Ulubelen ve ark. 1996). *S. chrysophylla* Stapf türünün toprak üstü diklorometan ekstresiyle yapılan bir çalışmada bitkiden izole edilen salvigenin, sitosterol, oleanoik asit ve ursolik asit bileşiklerinin yapıları aydınlatılmıştır (Çulhaoğlu ve ark. 2016). *S. poculata* Nab. türünün toprak üstü kısmıyla yapılan çalışmada 2 triterpenoit (2a, 3a-dihidroksi-24-nor- 4 (23), 12-oleanadien-28-oik asit ve ursolik asit), 1 diterpenoit (sklareol), 4 flavonoit (5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon, cirsimaritin, eupatilin, salvigenin) ve 1 steroit (β -sitosterol) izole edilmiştir (Kolak ve ark. 2009).

S. ceratophylla L. ile yapılan bir çalışmada; daha önce tanımlanmayan yeniden düzenlenmiş iki abietan tipi diterpen olan ceratol ve ceratodiol, bilinen üç abietan-diterpenoit olan 1-ketoetiyopinon, ferruginol ve 12-deoksisalvipison bu bitkinin köklerinden izole edilmiştir. Saflaştırılan bileşiklerin yapıları, 1D ve 2D NMR ve yüksek çözünürlüklü elektrosprey kütle spektrumları dahil olmak üzere, spektroskopik verilerin analizlerine dayanarak karakterize edilmiştir (Mirzaei ve ark. 2019). *S. trichoclada* Bentham'ın toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin sekonder metabolitler açısından incelendiği çalışmada lupeol, lupenon, glochidon, monoginol A, oleanolik asit, ursolik asit, β -sitosterol, apigenin-7-O-ramnozid ve

rozmarinik asit olmak üzere dokuz bileşik izole edilmiş olup bu bileşiklerin yapıları 1D ve 2D-NMR spektroskopik teknikler kullanılarak aydınlatılmıştır (Çulhaoğlu ve ark. 2015).

Genel olarak elde ettiğimiz bileşiklerin daha önce çalışılan Türk *Salvia* 'larından elde edildiği görülmektedir. Fakat *S. Siirtica* türünden elde edilen triterpen yapısındaki dört yeni bileşiğin ise ilk defa tarafımızdan elde edildiği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında, Lamiaceae familyasının üyesi ve endemik bir tür olan *S. siirtica* bitkisinin kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ilk kez belirlendi. Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasının, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan *Salvia* türlerinin kimyasal içeriğinin ve çeşitli aktivitelerinin incelenmesinin doğal aktif maddelerin bulunması açısından bilim dünyasına katkı sunacağı açıktır. Dolayısıyla güçlü antioksidan özelliğine sahip bu türün uygun formlarının ve izole edilen bazı sekonder metabolitlerinin tıp, eczacılık ve kozmetik vs. alanlarında kullanılabileceği ön görülmektedir.



6. KAYNAKLAR

Alimpic, A., Knezevic, A., Milutinovic, M., Stevic, T., Savikin, K., Stajic, M., Markovic, S., Marin, P.D., Matevski, V., Duletic-Lausevic, S. 2017. Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. **Industrial Crops and Products**, 105: 1-9.

Altay, A., Bozoglu, F. 2017. *Salvia fruticosa* modulates mRNA expressions and activity levels of xenobiotic metabolizing CYP1A2, CYP2E1, NQO1, GPx, and GST enzymes in human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells. **Nutrition and Cancer**, 69(61): 892-903.

Alwahsh, M.A.A., Khairuddean, M., Chong, W.K. 2015. Chemical constituents and antioxidant activity of *Teucrium barbeyanum* Aschers. **Records of Natural Products**, 9: 159–163.

Andrews, R.K., Dexter, A., Blakeley, R.L., Zerner, B. 1986. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). On the inhibition of urease by amides and esters of phosphoric acid. **Journal of the American Chemical Society**, 108: 7124.

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

Asadi, S., Khodagholi, F., Ghahremanzamaneh, M. 2011. Chemical composition analysis, antioxidant, antiglycating activities and neuroprotective effects of *S. choloroleuca*, *S. mirzayanii* and *S. santolinifolia* from Iran. **American Journal Of Chinese Medicine**, 39(3): 615.

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

Bahadori, M., Valizadeh, H., Asghari, B., Dinparast, L., Farimani, M.M., Bahadori, S. 2015. Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L. **Journal of Functional Foods**, 18: 727-736.

Bahadori, M.B., Dinparast, L., Valizadeh, H., Farimani, M.M., Ebrahimi, S.N. 2016. Bioactive constituents from roots of *Salvia syriaca* L.: Acetylcholinesterase inhibitory activity and molecular docking studies. **South African Journal of Botany**, 106: 1-4.

Bahadori, M.B., Asghari, B., Dinparast, L., Zengin, G., Sarikurcu, C., Abbas-Mohammadi, M., Bahadori, S. 2017. *Salvia nemorosa* L.: A novel source of bioactive agents with functional connections. **LWT-Food Science and Technology**, 75: 42-50.

Bahadori, M.B., Dinparast, L., Zengin, G., Sarıkürkçü, C., Bahadori, S., Asghari, B., Movahhedini, N. 2017. Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. **International Journal of Food Properties**, 20: 1761-1772.

Bahadori, M.B., Eskandani, M., De Mieri, M., Hamburger, M., Nazemiyeh, H. 2018. Anti-proliferative activity-guided isolation of clerodermic acid from *Salvia nemorosa* L.:

- Geno/cytotoxicity and hypoxia-mediated mechanism of action. *Food and Chemical Toxicology*, 120: 155-163.
- Banerjee, S.K., Bonde, C.G. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia Retusa Spreng* Bark: Impact of dielectric constant and geographical location. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 817-822.
- Başer, K.H.C., Kırmır N. 2006. Essential oils of Lamiaceae plants of Turkey. *Acta Horticulturae*, 723: 163–171.
- Baytop, A. 1996. Farmasötik Botanik Ders Kitabı, 4. Baskı. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 3637. İstanbul.
- Ben Farhat, M., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J., Jordan, M. 2013. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49: 904-914.
- Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G. 1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 8: 331–337.
- Bisio, A., Schito, A.M., Parricchi, A., Mele, G., Romussi, G., Malafronte, N., Oliva, P. 2015. Antibacterial activity of constituents from *Salvia buchananii* Hedge (Lamiaceae). *Phytochemistry Letters*, 14: 170-177.
- Blakeley, R.L., Zerner, B. 1984. Jack bean urease: The first nickel enzyme. *Journal of Molecular Catalysis*, 23: 263-292.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Burne, R.A., Chen, Y.M. 2000. Bacterial ureases in infectious diseases. *Microbes and Infection*, 2: 533-542.
- Campos-Xolalpa, N., Alonso-Castro, A.J., Sanchez-Mendoza, E., Zavala-Sanchez, M.A., Perez-Gutierrez, S. 2017. Cytotoxic activity of the chloroform extract and four diterpenes isolated from *Salvia ballotiflora*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(3): 302-305.
- Casio, M.S., Burotti, S., Mannino, S., Benedetti, S. 2006. Use of an electrochemical method of the evaluate the antioxidant activity of herb extracts from Labiatae family. *Food Chemistry*, 97: 725-731.
- Cao, Y., Huang, B., Gao, C. 2017. *Salvia miltiorrhiza* extract dihydrotanshinone induces apoptosis and inhibits proliferation of glioma cells. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(3): 235-240.
- Chang, T.S. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6): 2440-2475.
- Chang, T.S. 2012. Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. *Materials*, 5(9): 1661-1685.

Chipault, J., Mizumo, G., Lundberg, W. 1956. The antioxidant properties of spices in foods. *Journal of Food Science*, 10: 209–211.

Chiu, C.M., Muddiman, D.C. 2008. What is Mass Spectrometry?, American Society for Mass Spectrometry, <http://www.asms.org/whatisms>.

Cisowska, J.K., Szymanowska, D., Maciejewska, P., Kmieciak, D., Michałowska, A.G., Kulczyński, B., Piontek, J.C. 2019. *In vitro* screening for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition and antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica*). *Electronic Journal of Biotechnology*, 37: 1-10.

Ciurli, S., Benini, S., Rypniewski, W.R., Wilson, K.S., Miletta, S., Mangani, S. 1998. Structural properties of the nickel ions in urease: novel insights into the catalytic and inhibition mechanisms. *Coordination Chemistry Reviews*, 190-192, 331-355.

Cragg, G.M., Newman, D.J. 2005. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure and Applied Chemistry*, 77: 7–24.

Çulhaoğlu B., Yapar G., Dirmenci T., Topçu, G. 2016. Bioactive constituents of *Salvia chrysophylla* Stapf. *Natural Product Research*, 27(4-5): 438-447.

Çulhaoğlu, B., Hatipoğlu, S.D., Dönmez, A.A., Topçu, G. 2015. Antioxidant and anticholinesterase activities of lupane triterpenoids and other constituents of *Salvia trichoclada*. *Medicinal Chemistry Research*, 24 (11): 3831-3837.

Davis, P.,H. 1982. Flora of Turkey and the East Eagen Islands. Vol.7, Edinburg: Edinburgh University Pres; pp.335-346.

Demirezer, L.O., Gurbuz, P., Kelicen, U., Kelicen, E.P., Bodur, M., Özenver, N., Uz, A., Güvenalp, Z. 2015. Molecular docking and ex vivo and in vitro anticholinesterase activity studies of *Salvia* sp and highlighted rosmarinic acid. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(5): 1141-1148.

Dickens, J.C. 1999. Predator-prey interactions: olfactory adaptations of generalist and specialist predators. *Agricultural and Forest Entomology*, 47-54.

Dixon, N.E., Riddles, P.W., Gazzola, C., Blakeley, R.L., Zerner, B. 1980. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). V. on the mechanism of action of urease on urea, formamide, acetamide, N-methylurea and related compounds. *Canadian Journal of Biochemistry*, 58: 1335-1344.

Duletic Lausevic, S., Alimpic Aradski, A., Savikin, K., Knezevic, A., Milutinovic, M., Stevic, T., Vukojevic, J., Markovic, S., Marin, P.D. 2018. Composition and biological activities of Libyan *Salvia fruticosa* Mill. and *S. lanigera* Poir. extracts. *South African Journal of Botany*, 117: 101-109.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biocheical Pharmacology*, 7: 88-95.

Ertaş, A., Gören, A.C., Haşimi, N., Tolan, V., Kolak, U. 2015. Chemical constituents of *Mentha longifolia* subsp. *noeana* with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *Records of Natural Products*, 9(1): 105-115.

- Exarchou, V., Troganis, A., Gerathanassis, I.P., Tsimidou, M., Boskou, D. 2001. Identification and quantification of caffeic and rosmarinic acid in complex plant extracts by the use of variable-temperature two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2–8.
- Farhat, M.B., Sotomayor, J.A., Jordán, M.J. 2019. Antioxidants of *Salvia aegyptiaca* L. residues depending on geographical origin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17: 486-491.
- Farhat, M.B., Sotomayor, J.A., Jordán, M.J. 2019. *Salvia verbenaca* L. essential oil: Variation of yield and composition according to collection. *Biochemical Systematics and Ecology*, 82: 35-43.
- Farimani, M.M., Miran, M. 2014. Labdane diterpenoids from *Salvia reuterana*. *Phytochemistry*, 108: 264–269.
- Farimani, M.M., Mohammadi, M.A. 2016. Two new polyhydroxylated triterpenoids from *Salvia urmiensis* and their cytotoxic activity. *Natural Product Research*, 30(23): 2648-2654.
- Faye, L., Greenwood, J.S., Chrispeels, M.J. 1986. Urease in jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) seeds is cytosolic protein. *Planta*, 168: 579-585.
- Fırat, M. 2013. Dictionary of Plant Names in Kurdish. Kalkan Ofset, Ankara.
- Fiore, G., Nencini, C., Cavallo, F., Capasso, A., Bader, A., Giorgi, G., Micheli, L. 2006. In vitro antiproliferative effect of six *Salvia* species on human tumor cell lines. *Phytotherapy Research*, 20: 701-703.
- Follmer, C., Pereira, F.V., Silveira, N.P., Carlini, C.R. 2004. Jack bean urease (EC 3.5.1.5) aggregation monitored by dynamic and static light scattering. *Biophysical Chemistry*, 111: 79-87.
- Forouzin, F., Jamei, R., Heidari, R. 2015. Compositional analysis and antioxidant activity of volatile components of two *Salvia* spp. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(11): 2009-2013.
- Fotovvat, M., Radjabian, T., Saboora, A. 2019. HPLC fingerprint of important phenolic compounds in some *Salvia* L. species from Iran. *Records of Natural Products*, 13(1): 37-49.
- Gezek, G., Hashemi, P., Kalaycıoğlu, Z., Kaygusuz, H., Sarioğlu, G., Döker, S., Dirmenci, T., Erim, F.B. 2019. Evaluation of some Turkish *Salvia* species by principal component analysis based on their vitamin B2, mineral composition, and antioxidant properties. *LWT*, 100: 287-293.
- Gillbro, J. M., Olsson, M. J. 2011. The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents—existing and new approaches. *International Journal of Cosmetic Science*, 33(3): 210-221.
- Gohari, A.R., Ebrahimi, H., Saeidnia, S., Foruzani, M., Ebrahimi, P., Ajani, Y. 2011. Flavones and flavone glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(2): 247–251.

- Grzegorzczak-Karolak, I., Kiss, A. 2018. Determination of the phenolic profile and antioxidant properties of *Salvia viridis* L. shoots: A comparison of aqueous and hydroethanolic extracts. *Molecules*, 23(6): 1468.
- Guan, C., Parrot, D., Wiese, J., Sönnichsen, F.D., Saha, M., Tasdemir, D., Weinberger, F. 2017. Identification of rosmarinic acid and sulfated flavonoids as inhibitors of microfouling on the surface of eelgrass *Zostera marina*. *Biofouling*, 33: 867–880.
- Guoqiang, J., Jia, L., Baoyin, R., Lin, Z., Lawrence, O., Likun, L., Jing, Z., Yawei, T., Weiling, L. 2017. Anti-tumor and chemosensitization effects of Cryptotanshinone extracted from *Salvia miltiorrhiza* Bge. on ovarian cancer cells in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 205: 33-40.
- Halfon, B., Çetin, Ö., Kökdil, G., Topçu, G. 2019. Chemical investigation and bioactivity screening of *Salvia cassia* extracts. *Records of Natural Products*, 13(2): 156-166.
- Hamid A.A., Aiyelaagbe O.O., Kaneez F., Luqman S., Negi A.S. 2017. Isolation, characterization and antiproliferative evaluation of constituents from stem extracts of *Alafia barteri Oliv. Hook .F.* *Medicinal Chemistry Research*, 26: 3407–3416.
- Hearing, V.J., Jiménez, M. 1987. Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *International Journal of Biochemistry*, 19: 1141-1147.
- Hina, Z., Ghazala, H.R., Arfa, K., Huma, S., Sabiha, T., Ajmal K. 2015. Anti-urease activity of *Mimusops elengi* Linn (Sapotaceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 6: 223-230.
- Hirayama, C., Sugimura, M., Saito, H., Nakamura, M. 2000. Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*. *Phytochemistry*, 53: 325-330.
- Ibrahim, T. 2012. Chemical composition and biological activity of extracts from *Salvia bicolor* Desf. growing in Egypt. *Molecules*, 17(10): 11315-11334.
- Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F. 2011. *Salvia siirtica* sp. nov. (Lamiaceae) from Turkey. *Nordic Journal of Botany*, 29: 397-401.
- Kamatou, G., Sandasi, M., Viljoen, A. 2018. An overview of the biological activities and essential-oil composition of three South African *Salvia* species. *Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry and Technology (FU Physy Chem Tech)*, 16,1.
- Kayastha, A.M., Das, N. 1999. A simple laboratory experiment for teaching enzyme immobilization with urease and its application in blood urea estimation. *Biochemical Education*, 27: 114-117.
- Khan, M.T.H. 2007. Molecular design of tyrosinase inhibitors: A critical review of promising novel inhibitors from synthetic origins. *Pure and Applied Chemistry*, 79(12): 2277-2295.
- Kılıç, T., Dirmenci, T., Gören, A.C. 2007. Chemotaxonomic evaluation of species of Turkish *Salvia*: Fatty acid composition of seed oils II. *Records of Natural Products*, 1: 17-23.
- Kim, Y. J., Uyama, H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(15): 1707-1723.

- Koçak, M., Sarıkürkçü, C., Cengiz, M., Koçak, S., Uren, M., Tepe, B. 2016. *Salvia cadmica*: Phenolic composition and biological activity. **Industrial Crops & Products**, 85: 204-212.
- Kolak, U., Topçu, G., Birteksöz, S., Ötük, G., Ulubelen, A. 2005. Terpenoids and steroids from the roots of *Salvia blepharochlaena*. **Turkish Journal of Chemistry**, 29: 177-186.
- Kolak, U., Hacıbekiroglu, I., Öztürk, M., Özgökçe, F., Topçu, G., Ulubelen, A. 2009. Antioxidant and anticholinesterase constituents of *Salvia poculata*. **Turkish Journal of Chemistry**, 33: 813-823.
- Kolak, U., Kabouche, A., Ozturk, M., Kabouche, Z., Topcu, G., Ulubelen, A. 2009. Antioxidant diterpenoids from the roots of *Salvia barrelieri*. **Phytochemical Analysis**, 20(4): 320-327.
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Nihei, K. I., Soria, F., Takasaki, M., Calderón, J.S., Céspedes, C.L. 2003. Tyrosinase inhibitors from galls of *Rhus javanica* leaves and their effects on insects. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 58(9-10): 719-725.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, 85: 633-640.
- Lee, A.R., Chang, W.L., Lin, H.C., King, M.L. 1987. Isolation and bioactivity of newtanshinones. **Journal of Natural Products**, 50: 157-61.
- Lehbili, M., Magid, A.A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Abedini, A., Morjani, H., Gangloff, S.C., Kabouche, Z. 2018. Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of triterpenes and flavonoids from the aerial parts of *Salvia barrelieri* Etl. **Natural Product Research**, 32(22): 2683-2691.
- Lima, R.K., Cardoso, M., Andrade, M., Guimarães, P., Batista, L., Nelson, D. 2012. Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *Myristica fragrans* Houtt and *Salvia microphylla* H.B.K. **Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS)**, 89(3): 523-528.
- Lin, J. Y., Fisher, D.E. 2007. Melanocyte biology and skin pigmentation. **Nature**, 445(7130): 843-850.
- Long, Z., Gamache, P., Guo, Z.M., Pan, Y.Y., Zhang, Y.H., Liu, X.D., Jin, Y., Liu, L.Y., Liang, L.N., Li, R.Y. 2017. A highly sensitive high performance liquid chromatography-electrochemical detection method for the determination of five phenolic compounds from *Salvia miltiorrhiza*. **Se Pu (Chinese Journal of Chromatography)**, 35(8): 897-905.
- Lu, Y., Foo, L.Y. 2000. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. **Phytochemistry**, 55(3): 263-267.
- Lubbers, M.W., Rodrigues, S.B., Honey, N.K., Thornton, R.J. 1996. Purification and characterization of urease from *Schizosaccharomyces pombe*. **Canadian Journal of Microbiology**, 42: 132-140.
- Ma, L.F., Wang, P.F., Wang, J.D., Tong, X.M., Shan, W.G., Zhang, H., Zhan, Z.J. 2017. New eudesmane sesquiterpenoids from *Salvia plebeia* R. Br. **Chemistry & Biodiversity**, 14(8).
- Miller, H.E. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 45: 91.

- Mirzaei, H.H., Firuzi, O., Schneider, B., Baldwin, I.T., Jassbi, A.R. 2017. Cytotoxic diterpenoids from the roots of *Salvia lachnocalyx*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 27(4): 475-479.
- Mirzaei, H.H., Firuzi, O., Chandran, J.N., Schneider, B., Jassbi, A.R. 2019. Two antiproliferative seco-4,5-abietane diterpenoids from roots of *Salvia ceratophylla* L. **Phytochemistry Letters**, 29: 129-133.
- Mobley, H.L.T., Hausinger, R.P. 1989. Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. **Microbiological Reviews**, 53: 85-108.
- Moghadam, S.B., Masoudi, R., Monsefi, M. 2018. *Salvia officinalis* induces apoptosis in mammary carcinoma cells through alteration of Bax to Bcl-2 ratio. **Iranian Journal of Science and Technology**, 42(1): 297-303.
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., Vettuone, M. A. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, 71(1-2): 109-114.
- Mulrooney, S.B., Ward, S.K., Hausinger, R.P. 2005. Purification and properties of the *Klebsiella aerogenes* UreE Metal-Binding Domain, a functional metallochaperone of urease. **Journal of Bacteriology**, 187: 3581-3585.
- Nickavar B., Rezaee J., Nickavar A. 2016. Effect-directed analysis for the antioxidant compound in *Salvia verticillata*. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, 15(1): 241-246.
- Odake, S., Morikawa, T., Tsuchiya, M., Imamura, L., Kobashi, K. 1994. Inhibition of *Helicobacter pylori* urease activity by hydroxamic acid derivatives. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, 17(10): 1329-1332.
- Orhan, I., Senol, F., Ozturk, N., Akaydin, G., Sener, B. 2012. Profiling of in vitro neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. **Food Chemistry**, 132(3): 1360-1367.
- Orhan, I., Şenol, F., Erçetin, T., Kahraman, A., Celep, F., Akaydin, G., Şener, B., Doğan, M. . 2013. Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (*Salvia*) species with their total phenol and flavonoid contents. **Industrial Crops & Products**, 41: 21-30.
- Ovidi, E., Triggiani, D., Valeri, M., Mastrogiovanni, F., Salvini, L., Bonechi, C., Taddei, A.R., Masci, V.L., Tiezzi, A. 2018. Biological effects of *Salvia officinalis* leaf extract on murine myeloma cells. **Pharmacognosy Magazine**, 14: 55.
- Ozarowski, M., Mikolajczak, P.L., Piasecka, A., Kujawski, R., Bartkowiak-Wieczorek, J., Bogacz, A., Szulc, M., Kaminska, E., Kujawska, M., Gryszczyńska, A. 2017. Effect of *Salvia miltiorrhiza* root extract on brain acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities, their mRNA levels and memory evaluation in rats. **Physiology & Behavior**, 173: 223-230.
- Ozarowski, M., Piasecka, A., Gryszczyńska, A., Sawikowska, A., Pietrowiak, A., Opala, B., Mikolajczak, P.L., Kujawski, R., Kachlicki, P., Buchwald, W. 2017. Determination of phenolic compounds and diterpenes in roots of *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia przewalskii* by two LC-MS tools: Multi-stage and high resolution tandem mass spectrometry with assessment of antioxidant capacity. **Phytochemistry Letters**, 20: 331-338.

- Pacifico, S., Piccolella, S., Lettieri, A., Nocera, P., Bollino, F., Catauro, M. 2017. A metabolic profiling approach to an Italian-sage leaf extract (SoA541) defines its antioxidant and anti-acetylcholinesterase properties. *Journal of Functional Foods*, 29: 1-9.
- Pan, Z. Z., Li, H. L., Yu, X. J., Zuo, Q. X., Zheng, G. X., Shi, Y., Liu, X., Lin, Y. M., Liang, G., Wang, Q. 2011. Synthesis and antityrosinase activities of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12): 6645-6649.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H. S., Bae, H. 2007. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytotherapy Research*, 21(9): 805-816.
- Paun, G., Neagu, E., Moroeanu, V., Ungureanu, O., Cretu, R., Ionescu, E., Tebrencu, C.E., Ionescu, R., Stoica, I., Radu, G.L. 2017. Phytochemical analysis and in vitro biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(4): 12751-12761.
- Pereira, O.R., Catarino, M.D., Afonso, A.F., Silva, A.M.S., Cardoso, S.M. 2018. *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* decoctions: antioxidant activities and inhibition of carbohydrate and lipid metabolic enzymes. *Molecules*, 23(12): 3169.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V. 2017. Skin whitening agents: Medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1): 403-425.
- Poyraz., I.E., Çiftçi, G.A., Öztürk, N. 2017. Phenolic contents, in vitro antioxidant and cytotoxicity activities of *Salvia aethiopsis* L. and *S. ceratophylla* L. (Lamiaceae). *Records of Natural Products*, 11(4): 345-355.
- Privitera, G., Luca, T., Castorina, S., Passanisi, R., Ruberto, G., Napoli, E. 2019. Anticancer activity of *Salvia officinalis* essential oil and its principal constituents against hormone-dependent tumour cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 9(1): 24-28.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. 2005. *Biology of Plants*. W. H. Freeman and Company, 7th ed, New York.
- 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 Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Russo, A., Cardile, V., Graziano, A., Avola, R., Bruno, M., Rigano, D. 2018. Involvement of Bax and Bcl-2 in induction of apoptosis by essential oils of three Lebanese *Salvia* species in human prostate cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1): 292.
- Rustaie, A., Hadjiakhoondi, A., Akbarzadeh, T., Safavi, M., Samadi, N., Sabourian, R., Khanavi, M. 2018. Phytochemical constituents and biological activities of *Salvia suffruticosa*. *Research Journal of Pharmacognosy*, 5(2): 25-32.
- Safaei-Ghomi J., Masoomi R., Jookar Kashi F., Batooli H. 2016. Bioactivity of the essential oil and methanol extracts of flowers and leaves of *Salvia sclarea* L. from central Iran. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 19(4): 885-896.

- Sallam, A., Mira, A., Ashour, A., Shimizu, K. Acetylcholine esterase inhibitors and melanin synthesis inhibitors from *Salvia officinalis*. 2016. *Phytomedicine*, 23(10): 1005-1011.
- Salvatore, S., Pellegrini, N., Brenna, O.V., Del Rio, D., Frasca, G., Brighenti, F. 2005. Antioxidant characterization of some Sicilian edible wild greens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9465-9471.
- Selyani, S., Dinçer M. 2018. Salt and co-crystal formation from the reaction of fumaric acid with different N-heterocyclic compounds: Experimental and DFT study. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 666(1): 65-78.
- Silva, B.P., Anunciacao, P.C., Matyelka, J.C.D., Della Lucia, C.M., Martino, H.S.D., Pinheiro-Sant'Ana, H.M. 2017. Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food Chemistry*, 221: 1709-1716.
- Sirko, A., Brodzik, R. 2000. Plant ureases: Roles and regulation. *Acta Biochimica Polonica*, 47: 1189-1195.
- Slinkard, K., Singleton, V. L. 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1): 49-55
- Sun, Y., Zhu, H., Wang, J., Liu, Z., Bi, J. 2009. Isolation and purification of salvianolic acid A and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* by high-speed counter-current chromatography and comparison of their antioxidant activity. *Journal of Chromatography B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 877: 733–737.
- Swislocka, R., Kowczyk-Sadowy, M., Kalinowska, M., Lewandowski, W. 2012. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, ¹H and ¹³C NMR) and theoretical studies of p-coumaric acid and alkali metal p-coumarates. *Spectroscopy*, 27(1): 35-48.
- Tabefam, M., Farimani, M.M., Danton, O., Ramseyer, J., Ebrahimi, S.N., Neuburger, M., Kaiser, M., Salehi, P., Potterat, O., Hamburger, M. 2018. Antiprotozoal isoprenoids from *Salvia hydrangea*. *Journal of Natural Products*, 81(12): 2682–2691.
- Tohma, H., Köksal, E., Kılıç, Ö., Alan, Y., Yılmaz, M.A., Gülçin, İ., Bursal, E., Alwasel, S.H. 2016. RP-HPLC/MS/MS Analysis of the phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia* L. species. *Antioxidants*, 5(4): 38.
- Topçu, G., Tan, N., Ulubelen, A., Sun, D., Watson, W. H. 1995. Terpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Salvia candidissima*. *Phytochemistry*, 40: 501-504.
- Topçu, G., Türkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J.K., Kingston, D.G. 2004. Highly hydroxylated triterpenes from *S. kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 67(1): 118-121.
- Topçu, G., Kolak, U., Balcı, K. 2007. Structure elucidation of a new rearranged abietane diterpene from a biologically active plant, *Salvia eriophora*. *Natural Product Communications*, 2: 981-986.
- Topçu, G., Ertaş, A., Kolak, U., Öztürk M., Ulubelen, A. 2007. Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *Arkivoc*, 7: 195–208.

Toplan, G.G., Kurkcuoglu, M., Goger, F., Iscan, G., Agalar, H.G., Mat, A., Baser, K.H.C., Koyuncu, M., Sariyar, G. 2017. Composition and biological activities of *Salvia veneris* Hedge growing in Cyprus. **Industrial Crops and Products**, 97: 41-48.

Tundis, R., Iacopetta, D., Sinicropi, M.S., Bonesi, M., Leporini, M., Passalacqua, N.G., Ceramella, J., Menichini, F., Loizzo, M.R. 2017. Assessment of antioxidant, antitumor and pro-apoptotic effects of *Salvia fruticosa* Mill. subsp *thomasi* (Lacaita) Brullo, Guglielmo, Pavone & Terrasi (Lamiaceae). **Food and Chemical Toxicology**, 106: 155-164.

Tuyen, N.V., Kim, D.S.H.L., Fong, H.S., Soejarto D.D., Khanh, T.C., Tri, M.V., Xuan, L.T. 1998. Structure elucidation of two triterpenoids from *Ficus fistulosa*. **Phytochemistry**, 50: 467-469.

Ulubelen, A., Topçu, G., Chen, S., Ca, P., Snyder, J. K. 1991. A new abietane diterpene from *Salvia wiedemannii* Boiss. **Journal of Organic Chemistry**, 56: 7354-7356.

Ulubelen, A., Topcu, G., Eriş, C., Sönmez, U., Kartal, M., Kurucu, S., Bozok-Johansson, C. 1994. Terpenoids from *Salvia sclarea*. **Phytochemistry**, 36(4): 971-974.

Ulubelen, A., Sönmez, U., Topcu, G., Johansson, C.B., 1996. An abietane diterpene and two phenolics from *Salvia forskahlei*. **Phytochemistry**, 42(1): 145-147.

Ulubelen, A., Öksüz, S., Kolak, U. 1999. Diterpenoids from roots of *Salvia bracteata*. **Phytochem**, 52(8): 1455-1459.

Uto, T., Tung, N.H., Ohta, T., Juengsanguanpornasuk, W., Hung, L.Q., Hai, N.T., Long, D.D., Thuong, P.T., Okubo, S., Hirata, S., Shoyama, Y. 2018. Antiproliferative activity and apoptosis induction by trijuganone C isolated from the root of *Salvia miltiorrhiza*. **Phytotherapy Research**, 32: 4.

Viswanath, A., Rao, A.L., Babu, P.S. 2017. Simple isolation and characterization of P-coumaric acid from *Cynodon dactylon* Linn. (Pers). **International Journal of Pharmacy and Analytical Research**, 6: 413-418.

Watson, J.T., Sparkman, O.D. 2007. Introduction of Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation. (4th Eds), John Wiley & Sons Ltd, ISBN 978-0-470-51634-8, West Sussex, England.

Xiaoxia M., Yang C., Zhang Y. 2008. Complete assignments of ¹H and ¹³C NMR spectral data for three polyhydroxylated 12-ursen-type triterpenoids from *Dischidia esquirolii*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 46: 571-575.

Yang, Y., Lu, W.Q., Wu, Z.J., Chen, W.S. 2017. A new diterpenoid from *Salvia przewalskii*. **Records Of Natural Products**, 11(4): 416-420.

Yılmaz M.A. 2015. Bazı *Achillea* L. Türlerinin Lcms-It/Tof ve Lc-Ms/Ms ile Metabolik Profillerinin Çıkarılması ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Doktora tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Yoshimori, A., Oyama, T., Takahashi, S., Abe, H., Kamiya, T., Abe, T., Tanuma, S.I. 2014. Structure-activity relationships of the thujaplicins for inhibition of human tyrosinase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 22(21): 6193-6200.

Zeng, H.T., Su, S.L., Xiang, X., Sha, X.X., Zhu, Z.H., Wang, Y.Y., Guo, S., Yan, H., Qian, D.W., Duan, J.N. 2017. Comparative analysis of the major chemical constituents in *Salvia miltiorrhiza* roots, stems, leaves and flowers during different growth periods by UPLC-TQ-MS/MS and HPLC-ELSD methods. *Molecules*, 22(5): 771.

Zhao, Q., Huo, X.C., Sun, F.D., Dong, R.Q. 2015. Polyphenol-rich extract of *Salvia chinensis* exhibits anticancer activity in different cancer cell lines, and induces cell cycle arrest at the G₀/G₁-phase, apoptosis and loss of mitochondrial membrane potential in pancreatic cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 4843-4850.

Zhou, S., Dong, Q., Li, S., Guo, J., Wang, X., Zhu, G. 2009. Developmental toxicity of cartap on zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 95(4): 339-346.





ÖZGEÇMİŞ

Adı : Hilal

Soyadı : SARUHAN FİDAN

Doğum Yeri : DİYARBAKIR/Bismil

Doğum Tarihi : 15/01/1987

Adres : Bağcılar Mah.1206/2 Sok. Hamravat Evleri A:13 Bağlar/DİYARBAKIR

Tel : 05433965998

E-posta : hilalsaruhan87@hotmail.com

İŞ BİLGİLERİ

2015 - DEVAM, ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ / DICLE ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ BÖLÜMÜ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

İş Tel: 04122411000 dahili 7534

2011-2013 ECZACI / HİLAL ECZANESİ (DİYARBAKIR/BİSMİL)

2010-2011 MESUL MÜDÜR / KENT ECZANESİ (DİYARBAKIR/MERKEZ)

2010-2011 HASTANE ECZACISI / DİYARBAKIR ÇINAR DEVLET HASTANESİ

2009-2010 HASTANE ECZACISI / DİYARBAKIR ÖZEL ALMAN HASTANESİ

EĞİTİM BİLGİLERİ

2014-Devam Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Endemik *Salvia siirtica* Türünün Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi / Yüksek lisans

2004-2009 Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi / Lisans

1999-2003 Diyarbakır Fatih Lisesi



DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

ADI VE SOYADI	HİLAL SARUHAN FİDAN
ÖĞRENCİ NO	14803009
EGİTİM – ÖĞRETİM YILI	2018-2019
YARIYIL	<input type="checkbox"/> Güz <input checked="" type="checkbox"/> Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	Endemik <i>Salvia sirtica</i> Türünün Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi

İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ

RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	264
BENZERLİK ORANI	%24
RAPORLAMA TARİHİ	26/07/2019

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 264 sayfalık kısmına ilişkin, 26/07/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %24 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- Kabul/Onay sayfaları hariç,
 Kaynakça hariç
 Alıntılar hariç/dâhil
 Diğer

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

Gereğini saygılarımla arz ederim.

(Öğrencinin Adı Soyadı)

Hilal SARUHAN FİDAN

(İMZA/TARİH)

26/07/2019

Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ

Tez Danışmanı

(İMZA/TARİH)

26/07/2019

Prof. Dr. Haluk AYDIN

Anabilim Dalı Başkanı

(İMZA/TARİH)

26/07/2019

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.