

T.C.

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

FARKLI KOŞULLAR ALTINDA ELDE EDİLEN
Rosmarinus officinalis UÇUCU YAĞLARININ
KİMYASAL İÇERİKLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN
İNCELENMESİ VE KEMOMETRİK ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLARA İBRAHİMZADE

MART 2022

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

FARKLI KOŞULLAR ALTINDA ELDE EDİLEN
***Rosmarinus officinalis* UÇUCU YAĞLARININ**
KİMYASAL İÇERİKLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN
İNCELENMESİ VE KEMOMETRİK ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLARA İBRAHİMZADE

MART 2022

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

DİLARA İBRAHİMZADE tarafından hazırlanan **FARKLI KOŞULLAR ALTINDA ELDE EDİLEN *Rosmarinus officinalis* UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL İÇERİKLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ VE KEMOMETRİK ANALİZLERİ** başlıklı tezinin, 09/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU (**Jüri Başkanı**)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (**Danışman**)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Bihter ŞAHİN (**Üye**)
Kimya Anabilim Dalı,
Bandırma Onyedil Eylül Üniversitesi, Balıkesir

İmza:

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Ülkü ANIK
Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK
Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Öğr. Gör. Dr. Yusuf SICAK
İkinci Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Savunma Tarihi: 09/03/2022

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

DİLARA İBRAHİMZADE

09/03/2022

İMZA



ÖZET

FARKLI KOŞULLAR ALTINDA ELDE EDİLEN *Rosmarinus officinalis* UÇUCU YAĞLARININ KİMYASAL İÇERİKLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ VE KEMOMETRİK ANALİZLERİ

Dilara İBRAHİMZADE

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

İkinci (Ortak) Danışman: Öğr. Gör. Dr. Yusuf SICAK

Mart 2022, 122 sayfa

Bu tez çalışmasında, Muğla’da kültürü yapılan *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) türünün farklı koşullarda elde edilen uçucu yağlarının kimyasal içeriğinin GC-MS ile tespit edilmesi, antikolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz enzim inhibisyon potansiyellerinin ortaya konması ve verilerin kemometrik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Lamiaceae familyası türü olan *Rosmarinus officinalis* (Biberiye) hem süs hem kozmetik hem de tıbbi açıdan dünyanın birçok yerinde yetiştirilen bir kültür bitkisidir. Ülkemizde "Biberiye, Kuş dili" olarak bilinir ve anavatanı Kuzey Afrika ve Akdeniz ülkeleridir. *R. officinalis* iğneye benzeyen ince yapraklı, mor çiçekli ve çalı görünümlüdür. Akdeniz çevresinde yaygın olarak yetişen bitkinin genç sürgünleri baharat, kendisi ise süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Çiçeklerinin haşlanmasıyla şurup, çiçeklerinden ve yapraklarından "biberiye ispiertosu", kolonya vb. yapmaya yarayan değerli bir uçucu yağının kozmetikte özellikle cilt bakım ürünlerinde kullanıldığı bilinmektedir. *R. officinalis* çayının sindirim sistemine de faydalı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle *R. officinalis* türünün uçucu yağı çeşitli farmakopilere girmektedir. Avrupa Farmakopisinde “Rosemary Leaf ve Rosmarini folium” ismiyle yer almaktadır ve genel olarak uçucu yağı hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilmektedir. Ülkemizde geniş Akdeniz iklimi üzerinde kültürü yapılan bu önemli türün uçucu yağının içeriklerindeki kimyasalların standardizasyonu için kurutma türünün ve uçucu yağ çıkartımda kullanılan suyun pH’ın net olarak bilinmesi önem

taşımaktadır.

Fitoterapötik ve aromaterapötik kullanımı yaygın olan *R. officinalis* türünün uçucu yağının kimyasal içeriğinin çeşitli etmenlerle değişip değişmediğini, standardize edilemeyeceğinin araştırılmasının yapılması amaçlandı. Bu amaçla, Muğla-Köyceğiz yöresinden toplanan *R. officinalis*, parçalara bölünüp farklı şartlar altında kurutmaya bırakıldı. *R. officinalis* bitkisi toplandıktan hemen sonra, güneş altında ve karanlık ortamda 1., 2., 3., ve 4. gün, ve son olarak meyve kurutma makinesinde kurutuldu. Her bir kurutma yöntemi için ayrılan örneklerin herbiri ayrıca üçe bölünerek hidrodestilasyon işleminde sırasıyla, pH=5.8, pH=7.0 ve pH=8.0'e getirilmiş su kullanılarak uçucu yağlar çıkartıldı. Böylelikle 30 adet uçucu yağ elde edildi. Elde edilen uçucu yağların kimyasal içerikleri GC-MS cihazında analiz edilerek uçucu bileşenleri belirlendi. Ayrıca, tıpta ve kozmetikte kullanım alanı olan için *R. officinalis* türünün 30 adet uçucu yağının asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, tirozinaz, α -glukosidaz ve α -amilaz inhibisyon aktiviteleri test edildi.

Uçucu yağların majör bişenleri α -pinen (%0,001 ile %19,6), ecaliptol (%0,001 ile %53,2), camphor (%0,13 ile %18,6), borneol (%0,13 ile %35,4), verbenon (%0,24 ile %98,1), ilginç bir şekilde kurutma ve pH etkilerinden dolayı farklılık gösterdi. Avrupa Farmakopisinde yer alan diğer majör bileşenlerin camphen (%0,001 ile %5,5), β -pinene (%0,001 ile %4,9), myrcene (%0,001 ile %1,9), *p*-cymene (%0,001 ile %2,97), limonene (%0,001 ile %4,3), α -terpineol (%0,27 ile %12,1) ve bornyl acetate (%0,001 ile %7,8) de % bileşen miktarlarının yüksek oranda değiştiği izlendi.

Bu tez kapsamında *R. officinalis* bitkisinin uçucu yağının içeriğinin çeşitli etmenlerle değiştiği ve enzim inhibisyon deneylerinin farklılık gösterdiği görüldü. Hem GC-MS verilerine hem de biyoaktivitelere kemometrik yöntemlere tabii tutularak aradaki farklılıklar belirlendi. Meyve kurutma makinesi ile kurutulan bitki örneğinden elde edilen uçucu yağların Avrupa Farmokopisine en uygun olduğu tespit edildi. Bu tez çalışmasının sonuçları, bitki özütleme, uçucu yağ elde etme bakımından önemli olduğundan halk sağlığını korumak adına uçucu yağ üreten firmalar açısından önem arz ettiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *R. officinalis*, Uçucu Yağı İçeriği, Uçucu Yağın Farklı Etmenlerle İçeriğinin Değişimi, Antikolinesteraz Aktivite, Tirozinaz, α -Amilaz ve α -Glukosidaz İnhibisyon Aktiviteleri, Kemometri

ABSTRACT

INVESTIGATION AND CHEMOMETRIC ANALYSIS OF THE CHANGES IN THE CHEMICAL CONTENTS OF *Rosmarinus officinalis* ESSENTIAL OILS OBTAINED UNDER DIFFERENT CONDITIONS

Dilara İBRAHİMZADE

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

Co-supervisor: Dr. Yusuf SİCAK

March 2022, 122 pages

In this thesis, the chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* (Rosemary), cultured in Muğla, obtained under different conditions were determined using GC-MS. In addition, the inhibitory activities of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, tyrosinase, α -amylase and α -glucosidase were also studied. Furthermore, the percentage composition data of 29 major compounds of essential oil and the bioactivities data were subjected to chemometric analyses.

Rosmarinus officinalis (Rosemary), a member of the Lamiaceae family, is a cultivated plant grown in many parts of the world, both for ornamental, cosmetic and medicinal purposes. It is known as "Rosemary, Biberiye, Kuş dili" in our country, and its homeland is North Africa and Mediterranean countries. *R. officinalis* has needle-like thin leaves, purple flowers and a shrub-like appearance. The young shoots of the plant, a widely growing Mediterranean area, are used as a spice and an ornamental plant. A syrup by boiling its flowers, rosemary spirit and cologne from its flowers and leaves, etc., are prepared. It is known that a valuable essential oil is used in cosmetics, and especially in skincare products. Rosemary tea is known to be beneficial for the digestive system. Therefore, its essential oil is mentioned in various pharmacopoeias. It is available in the European pharmacopoeia as "Rosemary Leaf and Rosmarini folium". In general, the essential oil is obtained using the hydrodistillation method. To standardize the chemicals in the essential oil of this important species, which is cultivated in the broad Mediterranean climate in our country, the drying type of the

plant and the pH of the water used for essential oil extraction should be known clearly.

This study aims to investigate changes in the chemical composition of the essential oils of *R. officinalis* obtained using different methods for possible standardization. For this purpose, *R. officinalis* from Muğla was collected, divided into pieces, and left to dry under different conditions. Briefly, the plant samples, which were undried, dried under the sun and under the shadow on the 1st, 2nd, 3rd, and 4th days, and dried using a fruit dryer for one day, were used to obtain essential oils. The samples were also divided into three parts which each were submitted to hydrodistillation at pH=5.8, pH=7.0 and pH=8.0. The essential oils of the undried and dried parts of the plant were extracted with a Clevenger apparatus. Thus, 30 essential oils were obtained. The chemical contents of the essential oils obtained were analyzed using a GC-MS. In addition, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, tyrosinase, α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of 30 essential were tested oils since the essential oil of *R. officinalis* is used in medicine and cosmetics.

The composition of major compounds of essential oils were α -pinene (0.001% to 19.6%), eucalyptol (0.001% to 53.2%), camphor (0.13% to 18.6%), borneol (0.13% to 35%), verbenone (0.24% vs 98.1%), interestingly differed due to drying effects and pH effects. Other major components percentage included in the European Pharmacopoeia, namely, camphen (0.001% vs. 5.5%), β -pinene (0.001% vs. 4.9%), myrcene (0.001% vs. 1.9%), *p*-cymene (0.001% vs. 2.97), limonene (0.001% to 4.3%), α -terpineol (0.27% to 12.1%) and bornyl acetate (0.001% to 7.8%) also detected in different amounts.

Within the scope of this thesis, it was seen that the composition of the essential oil of the *R. officinalis* changed with various factors, and depending on composition, the enzyme inhibitory activity results differed from each other. Both GC-MS data and bioactivities were subjected to chemometric methods, and the differences were explained. Since the results of this thesis study are important in terms of plant extraction and essential oil obtaining, we think that the results of this study are crucial for companies producing essential oil to protect public health.

Keywords: *R. officinalis*, Essential Oil Content, Change of Content of Essential Oil with Different Factors, Anticholinesterase Activity, Tyrosinase, α -Amylase and α -Glucosidase Inhibition Activities, Chemometry



Anneme

ÖNSÖZ

Tez çalışmasının her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım. Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi, hoşgörü ve güler yüzünü esirgemeyen Sayın hocam Prof. Dr. Mehmet Emin DURU ve değerli bölüm hocalarıma saygı ve şükranlarımı sunarım.

Araştırma, çalışmalar ve laboratuvar analizleri esnasında yardım ve desteklerini gördüğüm ikinci danışmanım Öğr. Gör. Dr. Yusuf SİCAK'a, Yüksek Kimyager Cansel ÇAKIR'a, Öğr. Gör. Dr. Özge TOKUL ÖLMEZ'e, yüksek lisans öğrencisi Dilaycan ÇAM'a ve istatistik çalışmalarımı değerlendiren Doç. Dr. Hatice ÖZKOÇ'a ve laboratuvardaki tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamdaki biberiyelerin teminini sağlayan Osman TABANLI, Gülseren TABANLI ve Nursel TABANLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi, manevi fedakârlıklar yaparak beni yetiştiren bugünlere gelmemi sağlayan annem Ifada ABASSOVA ve babam Afgan IBRAHIMOV'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	V
ÖNSÖZ.....	X
İÇİNDEKİLER	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIV
ŞEKİLLER DİZİNİ	XV
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XVII
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam	1
1.2. Kaynak Özetleri	3
1.2.1. <i>R. officinalis</i> L.....	3
1.2.1.1. Botanik bilgiler	3
1.2.1.2. <i>R. officinalis</i> L.'in uçucu yağı ve kimyasal içeriği	4
1.2.1.3. <i>R. officinalis</i> L. tıbbi amaçlı kullanımı	6
1.2.2. Antikolinesteraz aktivite	8
1.2.3. Tirosinaz inhibisyon aktivite.....	14
1.2.4. <i>In vitro</i> antidiyabetik aktivite	15
1.2.4.1. α -Amilaz enzim inhibisyon aktivitesi.....	18
1.2.4.2. α -Glukosidaz inhibisyon aktivitesi	19
1.2.5. Uçucu yağlar	20
1.2.6. Kemometri.....	22
2. MALZEME VE YÖNTEM	24
2.1. <i>R. officinalis</i> L. Türünün Temini	24
2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler	25
2.3. Aletler ve Diğer Gereçler	25
2.4. Uçucu Yağların Hazırlanması	26
2.5. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Analizleri.....	26
2.5.1. Yoğunluk tayini.....	26
2.5.2. Kırılma indisi tayini	26
2.5.3. Optik çevirme tayini.....	27
2.6. Uçucu Yağların Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizleri.....	27
2.6.1. GC-MS şartları	28
2.6.2. GC-MS analizi	28
2.7. Biyoaktivitelerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	29

2.7.1. Antikolinesteraz aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler.....	29
2.7.2. Tirozinaz inhibisyon aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler.....	29
2.7.3. Antidiyabetik aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler.....	30
2.7.3.1. α -Amilaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler	30
2.7.3.2. α -Glukozidaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler	30
2.8. Enzim İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi	31
2.8.1. Antikolinesteraz aktivitenin belirlenmesi	31
2.8.1.1. Asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyon aktivite yöntemi.....	31
2.8.1.2. Bütilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktivite yöntemi.....	31
2.8.2. Tirozinaz inhibisyon aktivitenin belirlenmesi.....	32
2.8.3. α -Amilaz inhibisyon aktivitesi	32
2.8.4. α -Glukosidaz inhibisyon aktivitesi	32
2.9. İstatistiksel Analiz	32
3. BULGULAR VE İRDELEME.....	34
3.1. Uçucu Yağ Miktarı ve Verimleri	34
3.2. <i>R. officinalis</i> L. Uçucu Yağlarının Fizikokimyasal Özellikleri.....	35
3.2.1. Uçucu yağların kırılma indisleri yoğunlukları ve optik çevirme açıları tayini sonuçları.....	35
3.3. <i>R. officinalis</i> Türünün Uçucu Yağlarının GC-MS Analizi Sonuçları	36
3.3.1. 1UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları	36
3.3.2. Güneş altında kurutulan 2UY, 3UY, 4UY ve 5UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları.....	40
3.3.3. Gölgede kurutulan 6UY, 7UY, 8UY ve 9UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları.....	47
3.3.4. Meyve kurutucusunda kurutulan 10UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları	54
3.4. <i>R. officinalis</i> Türünün Uçucu Yağlarının Aktivite Sonuçları.....	57
3.4.1. Antikolinesteraz aktivitesi sonuçları	58
3.4.2. Tirozinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları	59
3.4.3. α -Glukosidaz ve α -amilaz inhibisyon aktiviteleri	60
3.5. Kemometrik Analiz ile Sonuçların Değerlendirilmesi.....	61
3.5.1. Major 29 bileşene göre kemometrik analizin değerlendirilmesi.....	61
3.5.1.1. Temel bileşen analizi sonuçlarının değerlendirilmesi	61
3.5.1.2. Hiyerarşik kümeleme analizi sonuçlarının değerlendirilmesi	65
3.5.2. Aktivite sonuçlarına göre kemometrik analizin değerlendirilmesi	66

3.5.2.1. Temel bileşen analizi sonuçlarının değerlendirilmesi	67
3.6. Farklı Kurutma ve Destilasyon Yöntemiyle Elde Edilen Yağlarda Majör Bileşenlerin Değişimlerinin Kimyası	70
3.6.1. Uçucu yağlarda pH etkisinin değerlendirilmesi	70
3.6.1.1. 1UY grubu (bitki kurutulmadan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	70
3.6.1.2. 2UY grubu (güneşte 1. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	71
3.6.1.3. 3UY grubu (güneşte 2. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	72
3.6.1.4. 4UY grubu (güneşte 3. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	73
3.6.1.5. 5UY grubu (güneşte 4. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	74
3.6.1.6. 6UY grubu (gölgede 1. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	75
3.6.1.7. 7UY grubu (gölgede 2. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	76
3.6.1.8. 8UY grubu (gölgede 3. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	77
3.6.1.9. 9UY grubu (gölgede 4. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	78
3.6.1.10. 10UY grubu (meyve kurutucusunda kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi	80
3.6.2. Uçucu yağlarda kurutmanın etkisinin değerlendirilmesi	81
3.6.2.1. Asidik ortamda elde edilen uçucu yağlarda kurutmanın etkisi	81
3.6.2.2. Nötral ortamda elde edilen uçucu yağlarda kurutmanın etkisi	81
3.6.2.3. Bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarda kurutmanın etkisi	82
3.6.3. Elde edilen tüm uçucu yağlarda içerik değişimine toplu bir bakış	84
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	92
ÖZGEÇMİŞ.....	105

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Avrupa Farmakopesine göre <i>R. officinalis</i> L.'in uçucu yağında aranan kimyasal bileşenler ve % miktarları.....	5
Çizelge 2.1. Örnekleme ve uçucu yağ çıkartma işlemleri.....	24
Çizelge 2.2. GC-MS cihazı analiz şartları.....	28
Çizelge 3.1. Uçucu yağ kütleleri ve % verimleri	35
Çizelge 3.2. Uçucu yağların fizikokimyasal özellikleri	36
Çizelge 3.3. Kurutulmayan örnekten elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları ve Avrupa Farmakopisi	37
Çizelge 3.4. Güneş altında kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları	40
Çizelge 3.5. Gölgede kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları.....	47
Çizelge 3.6. Meyve kurutucusunda kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları.....	54
Çizelge 3.7. <i>R. officinalis</i> uçucu yağlarının enzim inhibisyon aktiviteleri sonuçları ^a	57
Çizelge 3.8. <i>R. officinalis</i> örneklerine ait temel bileşenlerin loading (yükleme), eigenvalue (özdeğer), varyans ve kümülatif varyans değerleri.	61
Çizelge 3.9. Çizelge 2. <i>R.officinalis</i> örneklerine ait temel bileşenlerin skor değ	62
Çizelge 3.10. <i>R. officinalis</i> L. örneklerinin aktivite analizi sonuçları için temel bileşenlerin loading (yükleme), eigenvalue (özdeğer), varyans ve kümülatif varyans değerleri.	67
Çizelge 3.11. <i>R.officinalis</i> L. örneklerinin aktivite analizi sonuçları için temel bileşenlerin skor değerleri.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. AChE enziminin asetilkolini katalizi	9
Şekil 1.2. Bazı antikolinesteraz inhibitör ilaçları	14
Şekil 1.3. <i>R. officinalis</i> L. uçucu yağında tespit edilen bazı bileşenlerin kimyasal yapıları.....	22
Şekil 3.1. 1UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	39
Şekil 3.2. 2UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	43
Şekil 3.3. 3UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	44
Şekil 3.4. 4UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	45
Şekil 3.5. 5UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları yağlarının GC-MS kromatogramları ...	46
Şekil 3.6. 6UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	50
Şekil 3.7. 7UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları yağlarının GC-MS kromatogramları ...	51
Şekil 3.8. 8UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	52
Şekil 3.9. 9UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	53
Şekil 3.10. 10UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları	56
Şekil 3.11. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi sonuçları.	59
Şekil 3.12. Tirosinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları	60
Şekil 3.13. α -Glukosidaz ve α -amilaz inhibisyon aktivitesi sonuçları.....	61
Şekil 3.14. PC1 ve PC2 skor grafiği	65
Şekil 3.15. PC1 ve PC2 loading grafiği	65
Şekil 3.16. Öklit uzaklığı ve Ward metodu uygulanarak elde edilen Dendogram.....	66
Şekil 3.17. PC1 ve PC2 skor grafiği	68

Şekil 3.18. PC1 ve PC2 loading grafiği	68
Şekil 3.19. Öklit uzaklığı ve Ward metodu uygulanarak elde edilen Dendogram.....	69
Şekil 3.20. 1UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	71
Şekil 3.21. 2UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	72
Şekil 3.22. 3UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	73
Şekil 3.23. 4UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	74
Şekil 3.24. 5UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	75
Şekil 3.25. 6UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	76
Şekil 3.26. 7UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	77
Şekil 3.27. 8UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	78
Şekil 3.28. 9UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması	79
Şekil 3.29. 10UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştıır	80
Şekil 3.30. Asidik ortamda elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması	81
Şekil 3.31. Nötral ortamda elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması.....	82
Şekil 3.32. Bazik ortamda elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması	83
Şekil 3.33. Tüm uçucu yağların karşılaştırılması.....	84

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A		Asidik
AH	:	Alzheimer hastalığı
A β	:	β -amiloid
ACh	:	Asetilkolin
AChE	:	Asetilkolinesteraz
B	:	Bazik
BChE	:	Bütirilkolinesteraz
ChE	:	Kolinesterez enzimi
dk	:	Dakika
GC-MS	:	Gaz kromatografisi - Kütle spektrometresi
HCA	:	Hiyerarşik Kümelenme Analizi
N	:	Nötral
NIST	:	Ulusal Standart ve Teknoloji Enstitüsü
nm	:	Nanometre
PCA	:	Temel bileşen analizi
RI	:	Alıkonma alanı
Rt	:	Alıkonma zamanı
<i>t</i>	:	Eser %0,001
T2DM	:	Tip 2 diabetes mellitus
UY	:	Uçucu yağ
μ L	:	Mikrolitre

1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

İnsanlık tarihinin başlarından günümüze doğru çıkılan bir zaman yolculuğunda görülecektir ki; insanlar dertlerine ve hastalıklarına şifayı öncelikle doğada aramışlardır. İnsanoğlunun şifayı doğada aramasıyla başlayan bu yolculuk, yapılan bilimsel çalışmalar ve modern tıbbın gelişmesiyle süregelmiştir. Hastalıkların tanı ve tedavileri alanında oldukça ilerleme kaydedilmiştir. Günümüzde bu gelişmeler sayesinde hastalıkların tedavisinde çok farklı tıbbi yaklaşımlar ve yöntemler bulunmuştur. Bununla birlikte tıbbi anlamda değer taşıyan bitkisel kaynaklar da araştırılarak “bütüncül tedavi” ışığında “tamamlayıcı tedavi” uygulamalarında yerini almaktadır.

Alman psikiyatrist ve nöropatolog olan Alois Alzheimer (1864-1915) tarafından “presenil demans” olarak tanımlanan ve sonrasında yine Alman psikiyatrist Emil Kraepelin tarafından "Alzheimer hastalığı" (AH) olarak isimlendirilen bu hastalığa özellikle geriatrik bireylerde sıkça rastlanılmaktadır. Bu tip hastalıklarda en önemli risk faktörü yaştır. Her üç saniyede bir kişi demans hastası oluyor ve bunların üçte ikisi Alzheimer’a yakalanıyor. Yine Türkiye Alzheimer derneğinin verilerine göre hastalık kadınlarda daha çok görülüyor. Verilere göre her altı kadından biri Alzheimer hastası olurken; bu oran erkeklerde 1/11 olarak gözlemlenmiştir. Günümüzdeki mevcut hastaların çoğunluğunu da kadınlar oluşturmaktadır. Bu veriler ışığında hormonal ve biyolojik faktörlerin de bu hastalıkta etkili olduğunu düşünebiliriz. Başlangıç safhasında basit unutkanlıklarla başlayan Alzheimer hastalığı toplumda en sık görülen demans türlerinden biridir. Nörolojik bir hastalık olan Alzheimer ilerleyici türden bir hastalıktır. Hastanın beyin hücrelerinde kayıplar oluşur. Bu kayıplar zaman içinde artar ve hastalık ilerledikçe beyin git-gide küçülür. Basit unutkanlıklar zaman içinde hastanın yakın çevresini ve ailesini tanıyamayacağı kadar artar. Kişi duygu ve düşüncelerini kontrol etmekte zorlanır. Alzheimer hastalığının seyri, beyinde protein birikimine bağlı olarak, beyin sinir hücrelerinin birbiriyle olan bağlantısında kopmalar

sonucu, beyin sinir hücrelerinin ölmeye başlaması ve bunun hızlı bir şekilde devam etmesi şeklindedir. Ancak beyindeki protein birikiminin nedeni hala tam olarak bilinmemektedir. Sonuç şudur ki; ilerleyen yaşla birlikte belli oranda beyin hücre ölümleri olabilmekte iken; Alzheimer hastalarında bu hücre kayıpları çok erken yaşta başlar ve çok hızlı artarak ilerler. AH, 65 yaşın üzerindeki kişilerde %3-11, 85 yaşın üzerindeki kişilerde ise %20-47 oranında görülme sıklığına sahiptir. 65-85 yaş aralığında hastalığın görülme sıklığı her beş yılda bir iki katına çıkmaktadır.

AH, demansla birlikte seyreden, oldukça yaygın ve ilerleyici olan bir nörodejeneratif hastalıktır. Beyin anatomisindeki karakteristik değişimlerin çoğu asetilkolinesteraz nörotransmitterinin eksikliğinden kaynaklanır. Hastalık fizyopatolojik olarak iyi tanımlanmış olmasına rağmen kesin ana nedenleri henüz ortaya konulmamıştır. Mevcut Alzheimer tedavi protokolleri semptomatik tedavi üzerine olup özellikle kolinesteraz inhibitörleri üzerine odaklıdır.

Merkezi hastalıkları (depresyon, Parkinson, Alzheimer, vb.) tedavi edilemez kronik durumlardır ve muhtemelen bu nedenle, son yıllarda *R. officinalis*'te yeni çözümler bulmaya yönelik artan sayıda çalışma yapılmıştır. Depresyonla ilgili olarak, hareketsizlik süresinin azaldığını ve birkaç nörotransmitterin (dopamin, norepinefrin, serotonin ve asetilkolin) regülasyonunu ve TH, PC ve MAPK fosfataz (MKP-1) gibi fare beyinde gen ekspresyonunun azaldığını bildiren birkaç çalışma vardır (Machado vd., 2013; Sasaki vd., 2013). Bununla birlikte, rosmarinik asit, nörodejeneratif hastalıklara karşı potansiyele sahip görünmektedir. Bu bileşiğin kolinerjik ve nöroprotektif etkileri olduğu ve asetilkolinesterazı inhibe ettiği bulunmuştur (El Omri vd., 2012; Ozarowski vd., 2013). Bu bilgiler ışığında teze konu olan *R. officinalis*'in farklı koşullarda elde edilecek uçucu yağlarının kolinerjik etkiyi ortaya koyacak olan antikolinesteraz ve bütirilkolinesteraz aktivitelerinin araştırılması da amaçlanmaktadır.

Bu çalışmada, fitoterapötik ve aromaterapötik çalışmaları yaygın olan ve Muğla yöresinde yetişen *R. officinalis* türünün uçucu yağlarının kimyasal içeriklerinin çeşitli etmenlerle değişip değişmediğini, standardize edilip edilemeyeceğinin araştırmasının yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Muğla'dan toplanan *R. officinalis*, 4 farklı parçaya bölünüp kurutmaya bırakıldı. Bir parçası kurutmaya tabi tutulmadı. Diğer kısımlarda ise güneş altında ve karanlık ortamda 1., 2., 3., ve 4. gün kurutma ile meyve kurutma makinesinde 1 gün kurutma gerçekleştirildi. Bitkinin toplandığı günlük bitki

ve kurutulan tüm bitki kısımlarının uçucu yağı Clevenger aparatıyla çıkartıldı. Hidrodestilasyonda sırasıyla, pH=5.8, pH=7.0 ve pH=8.0'e getirilmiş su ile toplamda 30 adet uçucu yağ elde edildi. Elde edilen uçucu yağların kimyasal içerikleri GC veya GC-MS cihazında analiz edilerek tespit edildi. Ayrıca, elde edilen 30 adet uçucu yağın enzim inhibisyon aktiviteleri asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz enzimlerine karşı test edildi.

Bu çalışma kapsamında Güney Ege ve Batı Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen *R. officinalis* bitkisinin uçucu yağının standardize edilip edilmeyeceğinin ortaya konması temel amaçtır.

1.2. Kaynak Özetleri

1.2.1. *R. officinalis* L.

1.2.1.1. Botanik bilgiler

R. officinalis L. (1753)-Taksonomik Seri No.: 32677 (ITIS, 2018)- eskiden Labiatae olarak adlandırılan Lamiaceae familyasına ait bir bitkidir (Begum vd, 2013). Halk arasında biberiye, kuşdili (Türkçe), Rosemary (İngilizce), Alecrim (Portekizce) ve Romero (İspanyolca) adlarıyla bilinir (Muñoz-Centeno, 2002). Akdeniz'e özgü çalı tipi bir bitkidir; 2 m uzunluğa kadar büyür ve çok yıllık yeşil yapraklara sahiptir (Kokkini vd, 2003; Ribeiro-Santos vd, 2015).

R. officinalis'in kahverengi, dik, parlak koyu yeşil doğrusal yaprakları olan nadiren sürünen dalları vardır. Çiçekleri küçüktür ve hafif beyaz veya pembe taç ile aksiller ise pauciflorus verticillasters halinde düzenlenmiştir. Belirgin şekilde açıkta kalan iki yan organ androeciumu oluşturur ve filamentlerinin küçük bir yan dişi vardır (Tawfik vd.,1998; Muñoz-Centeno, 2002; Kokkini vd., 2003; Ribeiro-Santos vd., 2015).

Bu bitki kuru veya orta derecede nemli toprakta yetişir, anaerobik veya ıslanmış toprağı tolere etmez ve tuzluluğu ortalama olarak tolere eder. Akdeniz ikliminde çiçeklenme dönemi genellikle Mayıs ve Haziran ayları arasında, meyve verme ise ilkbahar ve yaz ayları arasında gerçekleşir (Ribeiro-Santos vd., 2015).

1.2.1.2. *R. officinalis* L. 'in uçucu yağı ve kimyasal içeriği

İlaç ve gıda endüstrilerindeki uygulamaları nedeniyle, *R. officinalis* uçucu yağı, -ISO No. 1342:2012 (ISO, 2018)-yüksek ticari öneme sahiptir (Kfoury vd., 2015). Yoğun ve baharatlı bir aromaya sahip renksiz veya soluk sarı bir sıvıdır. *R. officinalis* uçucu yağı, bitkinin toplam ağırlığının yaklaşık %1-2,5'ini temsil eder ve kimyasal bileşimi, diğer uçucu yağlar gibi, bitkinin toplandığı coğrafi alana, iklime, kullanılan bitkinin bir kısmına ve ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterir (Tawfik vd., 1998; Graber vd., 2010; Napoli vd., 2010; Yosr vd., 2013; Tawfeeq vd., 2016; Mouahid vd., 2017).

Tawfik (1998), yapraklardan elde edilen *R. officinalis* uçucu yağının çiçeklenme döneminde (%1,43) vejetatif faza (%1,23) kıyasla daha yüksek ekstraksiyon verimi gösterdiğini ve yazın toplanan bitkilerden elde edilen uçucu yağının, kışın toplanarak elde edilen uçucu yağ oranına kıyasla neredeyse iki kat daha fazla verim gösterdiğini belirtmiştir. Bu durumu bitki fenolojik aşamasından dolayı kimyasal bileşim değişikliği olarak açıklamıştır.

Bitkinin kullanılan kısmına göre *R. officinalis* uçucu yağının önemli bir fitokimyasal varyasyonu olduğunu ortaya koyan Yosr vd., (2013), yapraklardan elde edilen *R. officinalis* uçucu yağının ana bileşeni olarak 1,8-sineol (%35,8) sahip olduğunu, gövdeden çıkarılan yağda ise karyofilinin (%16,7) baskın olduğunu bildirmiştir. Çiçeklerden ekstrakte edilen yağda ana bileşik karyofillen oksittir (%11,9). Bu sonuçlar doğrultusunda, *R. officinalis* uçucu yağ eldesinde bitkinin yapraklarının en yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Rašković vd., 2014). Ekstraksiyon yöntemlerinin yağ bileşimi üzerindeki etkisinin bir örneğini araştırma konusu yapan Mouahid ve diğerleri yaptıkları çalışmada (2017), CO₂ süper kritik sıvısı ile *R. officinalis* uçucu yağ ekstraksiyonunu, geleneksel hidrodistilasyon yöntemiyle *R. officinalis* uçucu yağ ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında, verbenon (%34,16) ve bornyl asetat (%17,31) gibi bazı bileşiklerin konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir.

R. officinalis L. esansiyel yağının ana bileşenleri vejetatif evre ve biyoklimatik koşullara göre değişen oranlarda kafur (%5-21), 1,8-cineol (%15-55), α -pinene (%9-26), borneol (%1,5-5), camphene (%2,5-12), β -pinene (%2-9) ve limonene (%1,5-5)'dir. Ekstraktlarla ilgili olarak, *R. officinalis*'te esas olarak bulunan fitokimyasallar

rosmarinik asit, camphor, kafeik asit, ursolik asit, betulinik asit, karnosik asit ve karnosoldur (Royal Botanic Garden Edinburgh, 2014). Bu nedenle *R. officinalis* esas olarak fenolik bileşikler, di ve triterpenler ve uçucu yağlardan oluşur (Stearn, 1992).

R. officinalis L. esansiyel yağının, monoterpen hidrokarbonlar numune içeriğinde %20,9-65,6'sı arasında ve bunlar arasında en bol bulunan moleküllerin α -pinene (%11,8-39,8) ile camphene (%3,2-12,1) olduğunu ayrıca tanımlanan diğer monoterpen hidrokarbonların limonene, β -pinene, terpinolene ve β -myrcene'dir. *R. officinalis* L. esansiyel yağında oksijenli monoterpenler olarak sınıflandırılan bileşikler %27,7-74,3'ü arasında olup bu bileşiklerin büyük ölçüde 1,8-cineol (%0,1-62,7) ve ardından camphor (%2,6-30,5) ile temsil edildiği; borneol, linalool ve verbenone bileşenlerinin de *R. officinalis* L. esansiyel yağ bileşiminde önemli miktarda tanımlanmıştır. Uçucu yağ bileşiminin %0,6-7,2'si seskiterpenler olup β -caryophyllene en yüksek miktara sahip seskiterpendir. *R. officinalis* L. esansiyel yağında bulunan seskiterpen hiç biri tek başına %1'i geçmemiştir. "Diğerleri" adlı grup, toplam örnek içeriğinin %0,2-2,2'sini temsil etmektedir ki yine bu grubun hiçbir bileşiği %1'den fazla olmayıp oktan-3-on en temsili bileşen olarak göze çarpmaktadır.

R. officinalis uçucu yağların en fazla miktadaki kimyasal bileşen bakımından cineolifer (ana bileşen olarak 1,8-cineol), camphor (ana bileşen olarak camphor) ve α -pinene (ana bileşen olarak α -pinene) kemotiplere ayrılır (Tucker ve Maciarelo, 1986; Afoulous vd., 2013; Yosr vd., 2013; Napoli vd., 2015; Tomi vd., 2016;).

Çizelge 1.1. Avrupa Farmakopesine göre *R. officinalis* L.'in uçucu yağında aranan kimyasal bileşenler ve % miktarları

Uçucu Yağ Bileşeni	% Bileşen miktarı	
	İspanya Tipi	Fas ve Tunus Tipi
α -pinen	18-26	9-14
Kamfen	8-12	2.5-6
β -pinen	2-6	4-9
β -mirisen	1.5-5	1-2
Limonen	2.5-5	1.5-4
Sineol	16-25	38-55
<i>p</i> -simen	1-2.2	0.8-2.5
Kamfor	13-21	5-15
Bornil asetat	0.5-2.5	1-1.5
α -terpineol	1-3.5	1-2.6
Borneol	2-4.5	1.5-5
Verbenon	0.7-2.5	4 $\geq$

İspanya, Fas ve Tunus'un farmakopesine göre *R. officinalis* L. uçucu yağında bulunan kimyasal bileşenler ve % bileşen miktarı Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

R. officinalis'te en yaygın polifenoller apigenin, diosmin, luteolin, genkwanin ve fenolik asitlerdir (> %3), özellikle rosmarinik asit, klorojenik asit ve kafeik asittir (Frozza, vd., 2012).

1.2.1.3. *R. officinalis* L. tıbbi amaçlı kullanımı

R. officinalis L., bitki molekülleri ile organik sistemler arasındaki etkileşimden dolayı çeşitli farmakolojik etkileri teşvik edebilir. *R. officinalis* L astım, ateroskleroz, katarakt, renal kolik, hepatotoksisite, peptik ülser, inflamatuvar hastalıklar, iskemik kalp hastalığını hafifletme yeteneği (al-Sereiti vd., 1999; Hsieh vd., 2007), antiülser (Amaral vd., 2013), kalp ve beyinde lipid peroksidasyonunun azalması (Posadas vd., 2009), karnosik asit ve karnosolün antianjiyogenik ve nöroprotektif etkileri (Kayashima ve Matsubara, 2012), ateroskleroz ile ilgili problemlerin önlenmesi (Sinkovic vd., 2011), antikanser ve antiproliferatif etkiler (Cheung ve Tai, 2007; Menghini vd., 2010; Yeşil-Çeliktas vd., 2010; Kontogianni vd., 2013), antiviral (Nolkemper vd., 2006), antimikrobiyal (Bernardes vd., 2010), hepatoprotektif (Ramadan vd., 2013), nefroprotektif (El Saied, 2014) ve radyokoruyucu-antimutajenik kapasiteler (Del Baño vd., 2006); glisemi azalması (al-Hader vd., 1194), kas gevşetici ve kutanöz alerji tedavisi (Tabassum ve Hamdani, 2014); depresif davranışı tedavi etme yeteneği (Machado vd., 2012) ve içeriğindeki rosmarinik asitten dolayı antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri (Scheckel vd., 2008; Karthik vd., 2011), hiperkolesterolemi ve oksidatif stresin kontrolü ve fiziksel ve zihinsel yorgunluğun giderilmesi (Fernández vd., 2014), miyokardiyal kan basıncının düşürücü (Karthik vd., 2011) gibi oldukça geniş bir farmakolojik aktivite spektrumuna sahiptir.

Biberiye yaprakları %0,3-2,5 arasında uçucu yağ bulunur ve en önemli bileşenleri 1,8-sineol (%15-30), kafur (%5-25) ve borneol (%10-20)'dür. Yapısında bulunan diterpenik bileşiklerden karnosol ve karnosik asit nöroprotektif etki gösterir (Bayrak ve Akgül, 1989; Baratta vd., 1998a; Fu vd., 2007; Gachkar vd., 2007). Biberiye yapısındaki bu polifenolik diterpenler sayesinde hastalığın tedavisinde terapötik anlamda potansiyel taşır. *R. officinalis*'in yine bünyesinde bulunan polifenolik yapıdaki rosmarinik asit ile de Alzheimer'a karşı kullanılabilmektedir. Yürütülen bazı

çalışmalarda fareler üzerinde yapılan deneylerde, rosmarinik asit ile beslenen grubun kontrol grubuna kıyasla beyinde dopamin sinyal yolunun arttığı ortaya çıkmıştır. Serebral kortekste ise norepinefrin, dopamin ve levadopa gibi monoamin seviyeleri artış göstermiştir. Beyinde rosmarinik asit tarafından başlatılan monoamin artışının Alzheimer tedavisinde etkili olacağı düşünölmektedir. Habtemariam, 2016 yılında yaptığı çalışmada biberiye bitkisindeki fenolik diterpenlerin antioksidan özelliğinin yanı sıra bu kimyasalın amiloid plak oluşumu ve agregasyonunu inhibe ederek Alzheimer semptomlarının ve komplikasyonlarının kontrolünde yararlı olduğunu rapor etmiştir. Klinik araştırmalarla ilgili olarak, Pengelly vd., 2010 yılında yaptıkları çalışmada kurutulmuş biberiye yaprağı tozunun bilişsel performans üzerindeki olası akut etkilerini araştırmak için randomize, plasebo kontrollü, çift kör, tekrarlanan ölçümler çaprazlama çalışmasını gerçekleştirmiştir. Bu alışma, normal olarak mutfak tüketiminde kullanılan dozda biberiye tozu kullanarak, yaşlanma sırasında bilişsel işlevin potansiyel olarak yararlı bir tahmincisi olan önemli bellek hızı bildirdi. Bu alışma, düşük doz biberiyenin hafıza ve biliş üzerindeki etkileri üzerine gelecekteki çalışmaların değerini genişletiyor (Pengelly vd., 2012).

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae), oğu Akdeniz ölkesinde yabani olarak yetişen küçük, yaprak dökmeyen bir bitkidir (Atti-Santos vd., 2005). Bu bitki, çeşitli tümör hücre dizileri üzerinde özellikle antiproliferatif etkiler göstermiştir. Popölasyona dayalı bir çalışmada, kanser insidansında genel riskin azalmasının, biberiye de dahil olmak üzere bu şıfalı otları tüketen hastalarla ilişkili olduğunu ileri sürölmüştür (Petiwala vd., 2013). *Rosmarinus officinalis* L., uzun zamandır anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerle ilişkilendirilmiştir (Cheung ve Tai, 2007). Biberiye yapraklarının suyla kaynatılması da geleneksel olarak, özellikle Türkiye'de diyabet hastalarını tedavi etmek için, kullanılmıştır (Bakırel vd., 2008).

Son zamanlarda diyabetik sıçanlarda *R. officinalis* 'in hipoglisemik aktivitesi rapor edilmiştir (Bakırel vd., 2008; Ramazan vd., 2013). Bununla birlikte, bu antihiperglisemik etkilerden sorumlu aktif bileşikler ve bunların etki mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı, *R. officinalis* 'in iki flavonoid bakımından zengin fraksiyonunun, yani *n*-butanol fraksiyonu (BUT) ve dietil eter fraksiyonunun (DE) *Saccharomyces cerevisiae*'nin α -glukozidazı üzerindeki inhibitör etkilerini *in vitro* olarak araştırmaktır. Antidiyabetik etki, hem normal hem de streptozotosin (STZ) ile indöklenen diyabetik farelerde *in vivo* olarak da

araştırılmıştır. Ayrıca tokluk glikoz seviyesinin düşürülmesi, oral glikoz tolerans testi (OGTT), hipoglisemik etki ve bağırsak glikoz taşıyıcılarının inhibisyonu dahil olmak üzere farklı testler araştırılmıştır (Bakırel vd., 2008; Ramazan vd., 2013).

Diabetes mellitus, dünyadaki en yaygın metabolik bozukluklardan biridir. Diyabet tedavisinde insülin ve oral hipoglisemik ajanlar kullanılır; bununla birlikte, bu ilaçlar hastalığı iyileştirmez ve önemli yan etkileri vardır (Rahimifard vd., 2014). Biberiyenin birkaç *in vivo* çalışmada kan şekerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Tu vd., 2013).

1.2.2. Antikolinesteraz aktivite

AH, demansın en yaygın biçimlerinden biridir. AH, bilişsel işlevde ve dil yeteneğinde azalmaya neden olan merkezi sinir sisteminin kronik bir sendromudur. Kolinerjik eksiklik AH ile ilişkilidir ve AH tedavisi için doğal olarak türetilen inhibitörler, sentetik analoglar ve hibritler dâhil olmak üzere çeşitli kolinesteraz inhibitörleri geliştirilmiştir. Şu anda, AH için mevcut ilaçlar ağırlıklı olarak kolinesteraz inhibitörleridir. Bununla birlikte, bu ilaçların etkinliği, olumsuz yan etkilere neden olabileceğinden ve hastalığın ilerlemesini tamamen durduramadığından sınırlıdır. AH çok faktörlü bir hastalık olduğundan, ikili veya çok hedefli inhibitörler geliştirilmiştir. AH'yı tedavi etmek için kullanılan inhibitörlerin klinik uygulamaları ve sınırlamaları mevcuttur (Sharma, 2019).

AH, dünya çapında demans vakalarının %60 - 70'ini oluşturur ve tahmini küresel insidans 24,3 milyon vakadır. AH, merkezi sinir sisteminin ilerleyici bozulmasına neden olan kronik bir sendromdur. AH, karar verme, dil, hafıza, öğrenme, yönelim ve yargıda ilerleyici eksikliklere neden olur (Khachaturian, 1985). AH için en önemli risk faktörü yaşlanmadır (Kuhn, 2003). Ancak fiziksel egzersiz demans oranını azaltabilir (Cheng, 2016).

Kolinesteraz enzimi (ChE), AH için önemli bir terapötik hedeftir (Silman ve Sussman, 2005). AH'li hastalarda bilişsel işlevlerdeki düşüşün başlıca nedenleri beyindeki kolinerjik nöronların bozulması ve nörotransmisyon kaybıdır (Bartus vd., 1982). Kolinerjik hipoteze (Bartus vd., 1982) göre AH'nin temel nedeni asetilkolin (ACh) sentezindeki azalmadır. Bu nedenle, potansiyel terapötik stratejilerden biri, asetilkolinesterazın (AChE) biyolojik aktivitesini inhibe ederek beyindeki kolinerjik seviyeleri arttırmaktır. Bu nedenle, ACh'nin bozulmasını sınırlamak için AChE

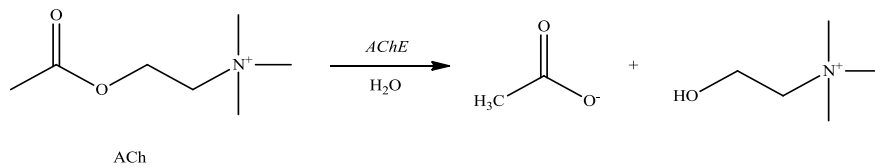
inhibitörleri kullanılır. AChE inhibitörleri, ACh konsantrasyonunu artırarak sinir hücrelerinin işlevini artırabilir (Tabet, 2008).

Amiloid öncü proteinden türetilen bir proteolitik fragman olan β -amiloidin ($A\beta$) ilerleyici sentezi ve agregasyonu, AH patogeneğinde rol oynayan en kritik faktörlerdir (Karran, 2011). Bu nedenle, hem AChE aktivitesini hem de $A\beta$ agregasyonunu inhibe etmek için takrin hibritleri (Camps vd., 2009; Luo vd., 2011; Tang vd., 2011) ve donepezil bazlı (Camps vd., 2008) ikili inhibitörler geliştirilmiştir. AChE ve $A\beta$ parçalayıcı enzim 1'in çeşitli ikili inhibitörlerini tasarlamak için hesaplamalı yaklaşımlar kullanılmıştır (Gupta vd., 2010).

Ek olarak, tauopati AH patolojisinin önemli bir yönüdür ve τ protein hiperfosforilasyonu, mikrotübülle ilişkili protein τ 'nin hücre içi nörofibriler yumaklarının oluşumuna ve ardından nörodejenerasyona yol açar (Perl, 2010; Takashima, 2010). τ proteinini hedefleyen terapiler, hiperfosforilasyonunu ve kümelenmesini azaltır ve önler (Noble vd., 2013; Iqbal vd., 2014; Anand ve Sabbagh, 2015). Geliştirilmekte olan birkaç ilaç, τ fosfatazları aktive ederek veya τ kinazları inhibe ederek τ fosforilasyonunu engelleyen metiltiyoninyum dâhil olmak üzere faz III klinik denemelerindedir (Panza vd., 2016; Congdon ve Sigurdsson, 2018).

AH çok faktörlü bir bozukluk olduğundan, araştırmacılar dikkatlerini, protein yanlış katlanması ve ilişkili $A\beta$ agregasyonu, τ agregasyonu, metal dishomeostazisi, oksidatif stres ve azalan ACh seviyeleri dâhil olmak üzere AH'de yer alan çok sayıda faktörü inhibe etmek için çok hedefli ilaçlar geliştirmeye çevirmişlerdir. Ancak, çok hedefli AH ilaçlarını belirlemek için çok az çalışma yapılmıştır (Russo vd., 2013; Azam vd., 2014).

AChE (EC 3.1.1.7) (Silman ve Sussman, 2008) periferik sinir sistemini ve merkezi sinir sistemini içeren kolinerjik sinir sisteminde yer alan önemli bir enzimdir. AChE, kolin ve asetat iyonları üretmek için ACh'nin hidrolizini katalize eder (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. AChE enziminin asetilkolini katalizi

AChE'nin aktif bölgesi büyük bir hidrofobik boşluktur. AChE, esteratik alt bölge ve

anyonik substrat bağlama iki alt bölgeden oluşur. ACh, merkezi sinir sisteminde yaygın olarak dağıtılan bir nörotransmitterdir. anyonik substrat bağlanma bölgesi, ACh'nin pozitif yüklü kuaterner aminine bağlanır ve diğer katyonik substratlara ve inhibitörlere bağlanabilir (Silman ve Sussman, 2008; Lotta, 2011). Esteratik alt bölge ise, Ser200, Glu327 ve His440'tan (Tripathi, 2008) oluşan bir katalitik üçlü içerir. Katalitik üçlü enzim yüzeyinden ~20 Å uzaklıkta, tabana doğru genişleyen dar bir geçidin dibinde bulunur. Katalitik üçlünün bir parçası olarak Ser200, proton transferi ile kolin esterlerinin hidrolizinden sorumludur (Silman ve Sussman, 2008; Lotta, 2011). Ek olarak, aromatik bir amino asit ile ACh'nin katerner amonyumu arasında katyon- π etkileşimi mevcuttur (Silman ve Sussman, 2008).

Prototipik bir ACh-bağlayıcı protein olan *Torpedo californica* AChE'deki (TcAChE) aktif bölgenin kendine özgü yapısal özelliği, yüksek sayıda aromatik kalıntının (~14 amino asit) (López-Arrieta ve Schneider, 2006) varlığından oluşur. Trp84, AChE-ACh etkileşimi için en önemli aromatik amino asittir ve alanin ile ikamesi, reaktivitede 3.000 kat azalma ile sonuçlanır (Tougu, 2001). AChE, bu bölgelere ek olarak, substrata özgünlük kazandıran bir "açıl cebine" ve kataliz sırasında negatif oksijen iyonlarıyla etkileşime giren ve AChE'in katalitik etkinliğini artıran bir "oksianyon deliğine" sahiptir (Zhang vd., 2002).

BuChE, psödokolinesteraz veya plazma (kolin)esteraz olarak da bilinen bütirilkolinesteraz (EC 3.1.1.8), birçok farklı kolin bazlı esteri hidrolize eden spesifik olmayan bir kolinesteraz enzimidir. İnsanlarda karaciğerde yapılır, esas olarak kan plazmasında bulunur ve BChE geni tarafından kodlanır (Allderice vd., 1991).

RBC veya eritrosit kolinesteraz olarak da bilinen nöronal asetilkolinesteraza çok benzerdir. "Serum kolinesteraz" terimi genellikle kandaki bu enzimlerin her ikisinin seviyelerini yansıtan bir klinik teste atıfta bulunmak için kullanılır. Plazmadaki BChE aktivitesi tahlili, hem hiperkolinesterazemi hem de hipokolinesterazemi patolojik süreçleri gösterdiğinden karaciğer fonksiyon testi olarak kullanılabilir. BChE'nin yarı ömrü yaklaşık 10 ila 14 gündür. Bütirilkolin (BCh), vücutta doğal olarak oluşmayan sentetik bir bileşiktir. AChE ve BChE arasında ayırım yapmak için bir araç olarak kullanılır (Whittaker, 1980).

AH'yı tedavi etmek için bir dizi ChE inhibitörü AChE ve BChE olarak geliştirilmiştir (Weinstock, 1999; Ogura vd., 2000). Donepezil, galantamin, rivastigmin ve memantin,

şu anda piyasada bulunan için kullanılan dört ilaçtır (Rogers ve Friedhoff, 1996; Olin ve Schneider, 2001; Bar-On vd., 2002). Bununla birlikte, bu ilaçların etkinliği sınırlıdır ve bu ilaçlar, özellikle daha yüksek dozlarda, doza bağlı çeşitli yan etkiler göstermiştir (Weinstock, 1999; Ogura vd., 2000). Galantamin ve donepezil AChE inhibitörleridir (Weinstock, 1999), rivastigmin ise hem AChE hem de BChE geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Özellikle donepezil, BChE ile karşılaştırıldığında AChE için oldukça seçicidir. Takrin, donepezil, rivastigmin ve fizostigminin AChE inhibitör potensleri (IC_{50} değerleri) sırasıyla 77; 6,7; 4,3 ve 0,67 nM'dir (Ogura vd., 2000).

Eserine olarak da bilinen, Fizostigmin (Physostigmine) ilk olarak 1864 (Holmstedt, 1972) yılında Calabar fasulyesinden izole edilmiş bir AChE inhibitörüdür (Thal vd., 1983). Fizostigmin kan-beyin bariyerini geçebilmesine rağmen, bu ilacın kısa yarı ömrü ve çok sayıda yan etkisi nedeniyle dar bir terapötik indeksi vardır. Yaygın yan etkileri arasında ishal, mide krampları, artan tükürük üretimi ve aşırı terleme yer alır (Coelho ve Birks, 2001). Bu dezavantajlardan dolayı fizostigmin AH tedavisi için onaylanmamıştır.

Takrin ilk olarak 1930'larda sentezlenen ve başlangıçta bir kas gevşetici antagonisti ve solunum uyarıcısı olarak kullanıldı (Karis vd., 1966). Takrin, 1980'li yıllardan beri AH'li hastalarda kullanılmakta olup, 1993 yılında FDA tarafından onaylanmıştır ve 2013 yılında sonlandırılmıştır. Takrin, AChE'nin (Harel vd., 1993) 'anyonik bölgesinde' bulunan Phe330 ve Trp84 amino asit kalıntılarıyla etkileşime girer. Takrin, hem AChE hem de BChE'nin etkili bir inhibitörüdür (Fernández-Bachiller vd., 2010). Ancak mide bulantısı, kusma, iştahsızlık, ishal ve sakarlık gibi birçok yan etkisi nedeniyle takrin kullanımı sınırlıdır (Farlow vd., 1992). Ek olarak, takrin ile tedavi edilen hastalar, bu ilacın neden olduğu hepatotoksisite nedeniyle kan takibi gerektirir. Takrinin kısa yarılanma ömrü ve yüksek dozda olumsuz yan etkileri nedeniyle uzun süreli terapötik aktiviteyi sürdürmek için çoklu doz rejimleri gereklidir (Watkins vd., 1994). Yukarıda belirtilen yan etkiler ve karaciğer toksisitesi nedeniyle takrin kesildi.

1996 yılında, donepezil ilacı, hafif ila orta dereceli AH'nin tedavisi için onaylandı (Rogers ve Friedhoff, 1996). Ancak donepezil uykusuzluk, mide bulantısı, iştahsızlık, ishal, kas krampları ve kas güçsüzlüğü gibi çeşitli yan etkiler gösterir (Rogers vd., 1998). Yüksek doz donepezil ile tedavi edilen hastalarda düşük kan basıncı, şiddetli kusma, kas güçsüzlüğü, şiddetli mide bulantısı, solunum problemleri ve bradikardi şikâyetleri bulunmaktadır (Rogers vd., 1998). Donepezil, ChE'yi inhibe

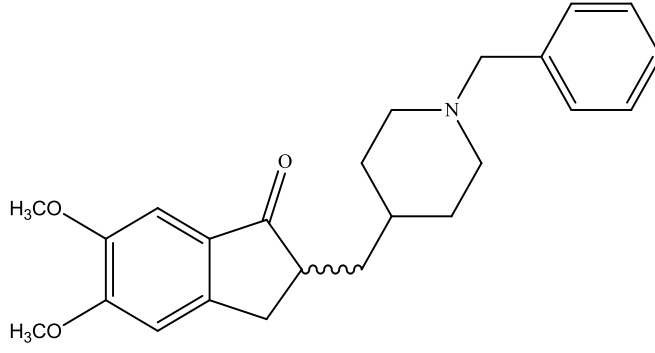
etmenin yanı sıra ek etki mekanizmalarına da sahip olabilir (Jacobson ve Sabbagh, 2008). Donepezil sadece nörotransmitter düzeyde değil, aynı zamanda, glutamat ile indüklenen eksitotoksitenin çeşitli yönlerinin inhibisyonu, inflamatuvar sitokinlerin erken ekspresyonunun azaltılması, inflamatuvar sitokinlerin erken ekspresyonunun azaltılması dâhil, AH'nin patogeneğinde yer alan hemen hemen tüm aşamalarda moleküler ve hücresel düzeyde de etki eder. AChE'nin nöroprotektif izoformunun indüklenmesi ve oksidatif stresin neden olduğu etkilerin azaltılması (Jacobson ve Sabbagh, 2008). Donepezil, AChE'nin (Kryger vd., 1999) aktif ve periferik anyonik bölgelerinin (PAS) aynı anda inhibisyonuna neden olan benzersiz bir moleküler yapı sergiler. Ancak donepezil, oksianyon deliği veya katalitik triad ile doğrudan etkileşime girmez (Kryger vd., 1999).

Rivastigmin, 2000 yılında hafif ila orta dereceli AH'nin tedavisi için onaylanmıştır. Ayrıca bu ilaç, Parkinson hastalığı ile ilişkili demansın tedavisinde kullanılmıştır (Inglis, 2002). Rivastigminin kesin etki mekanizması net olmamakla birlikte, farmakolojik etkisini kolinerjik fonksiyonu artırarak gösterebileceği varsayılmıştır (Bar-On vd., 2002). Rivastigmin tartarat, hem BChE hem de AChE'yi hedefler. Rivastigmin tartarat, rivastigmini vücuttan hızla atılan çeşitli fenolik türevlere ayıran AChE'ye bağlanan bir karbamattır (Onor vd., 2007). Karbamat kısmı, ACh hidrolizi sırasında ACh'nin asetat kısmından daha fazla afinite ile AChE'nin ES'sine bağlanır. Bu nedenle enzim belirli bir süre inaktif olur (Onor vd., 2007). Bu etki, olağandışı yavaş aktivasyon kinetiğini açıklayabilir (Bar-On vd., 2002). Rivastigminin mide ağrısı, kilo kaybı, ishal, iştahsızlık, bulantı ve kusma gibi önemli yan etkileri vardır (Corey-Bloom vd., 1998). Aşırı dozda rivastigmin düzensiz, hızlı veya yavaş nefes alma, göğüs ağrısı ve yavaş veya düzensiz kalp atışı gibi çok sayıda semptomu neden olabilir (Corey-Bloom vd., 1998).

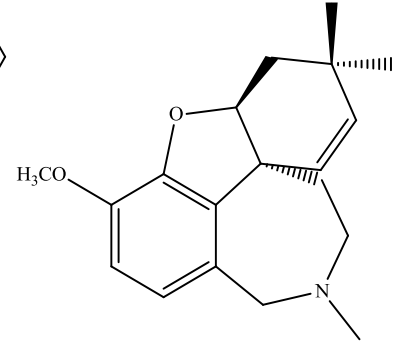
Galantamin, nergis soğanları dahil birçok bitkide bulunan bir alkaloiddir (Fraser vd., 2017). Galantamin, Rusya ve Doğu Avrupa ülkelerinde on yıllardır miyopati, miyasteni ve merkezi sinir sistemi ile ilişkili duyu ve motor kusurların tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır (de Souza vd., 2011). Galantaminin ayrıca nikotinik kolinerjik reseptörlere bağlandığı da gösterilmiştir. ChE'ye karşı etkinliği 1950'lerde belirlendi; Nivalin adıyla pazarlanmakta ve çeşitli nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Pernov, 1961). Galantamin, AH tedavisi için 2001 yılında onaylanmıştır (Olin ve Schneider, 2001). Galantaminin AH'nin bilişsel

semptomlarının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle, galantamin dozajında kademeli bir artış, bu ilacın tolere edilebilirliğini artırabilir (Tariot vd., 2000). Galantaminin başlıca yan etkileri arasında konvülsiyonlar, şiddetli mide bulantısı, mide krampları, kusma, düzensiz nefes alma, kafa karışıklığı, kas zayıflığı ve gözlerde sulanma yer alır (Mehta vd., 2012).

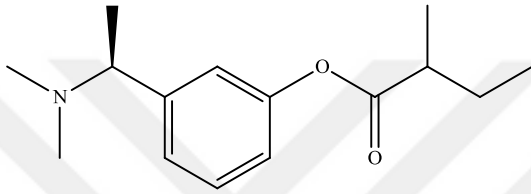
Metrifonat, uzun etkili bir organofosfat AChE inhibitörüdür ve şistozomiyaz tedavisinde kullanılır (Nordgren vd., 1981). Metrifonat, farmakolojik olarak aktif bir metabolit olan 2,2-diklorovinil dimetil fosfat yoluyla kolinerjik sinir iletimini iyileştirebilir ve AH tedavisi için test edilmiştir (Cummings vd., 1998). Günde bir kez uygulanan metrifonat, hafif ila orta dereceli AH'li hastaların bilişsel işlevini iyileştirebilir (Cummings vd., 1998). Metrifonatın tolere edilebilirliği iyidir, ancak uzun süreli kullanımı nöromüsküler iletim ve solunum felci ile ilgili sorunlar da dahil olmak üzere olumsuz yan etkilere neden olur (López-Arrieta ve Schneider, 2006). Bu nedenle, bu ilacın gelişimi, Faz III klinik denemeleri sırasında kesintiye uğramıştır. şekil 1.2.'de bazı antikolinesteraz inhibitör ilaçları verilmiştir.



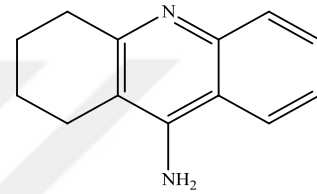
Donepezil



Galantamin



Risvastigmin



Takrin

Şekil 1.2. Bazı antikolinesteraz inhibitör ilaçları

1.2.3. Tirozinaz inhibisyon aktivite

Tirozinaz (EC 1.14.18.1), melanin üretimini kontrol eden hız sınırlayıcı bir oksidaz enzimidir. Oksidazlara dair ilk bilgi Schoenbein'in *Boletus luridus*'un (bir oksijen aktive edici ajan) varlığını belirlediği 1856'da oldu. Bu ajan, bitkideki bazı materyaller için aerobik solunum nedeniyle mavi bir pigment sağladı. Yoshida adlı bir bilim adamının lak ağacının lateksinde lakkaz enzimini keşfetmesi ile oksidazlar için bir sonraki atılımı gerçekleştirmiştir (Yoshida, 1883). Bertand'a (Bertrand, 1895) öncülük eden bazı girişimler, mantarlarda enzimin varlığını buldu. Bu atılım, Bertand ve Bourquelot, dikkatlerini mantarlara odakladıklarında, *Rissila foetm*lerinde ve *R. nigrians*'ta oksidasyon meydana geldikçe rengin kırmızıya döndüğünü ve son olarak koyu kahverengi siyahımsı bir renkle bittiğini keşfettilerinde geldi. İlginç bir şekilde, *R. nigricans*'ın suyunda kristalli bir madde ayrılmıştır. Meyve suyunda bulunan oksidaz ile temas ettirdikleri bu madde, aerobik oksidasyona girerek önce kırmızı renkli bir solüsyon ve son olarak da melanine benzeyen siyah bir ürün verir. *R. nigricans*'tan elde edilen meyve suyu durumunda, kristalli bir madde ayrılmıştır. Bu

kristalli malzemenin daha sonra Bertrand (Bertrand, 1896) tarafından amino asit, tirozin olduğu gösterildi. Daha ileri çalışmaları, diğer bileşiklerin aerobik oksidasyonunun katalizasyonunu ortaya çıkardı. Bileşiklerin herhangi biri üzerinde hidroksil grupları bulunmadığında, oksidazlar oksidasyonları gerçekleştiremedi. Araştırmanın odak noktası daha sonra Tirozin enzimine doğru sürüklenmek üzere değiştirildi ve bitkiler ve hayvanlarda pigmentasyona yönelik bağlantılı rol, bunun tirozinin yanı sıra *p*-hidroksifenil amin-*p*-hidroksifenil etil amin, *p*-hidroksifenil metil amin, *p*-hidroksifenil propiyonik asit, *p*-hidroksifenil asetik asit, *p*-kresol ve fenol gibi diğer birkaç aromatik monohidrik fenolün aerobik oksidasyonunu katalize ettiğini buldu.

Öte yandan, yukarıdaki bileşiklerde hidroksil grubu bulunmadığında, oksidaz herhangi bir oksidasyon meydana getiremezdi. Enzimle ilgili bu daha önceki çalışmaların hemen ardından ilgi, enzimin tirozin üzerindeki etkisine ve hayvan ve bitki pigmentasyonu ile bağlantılı olarak melanin oluşumundaki rolüne odaklandı. İlginin bu yöne odaklanması aşağıdaki gerçeklerden kaynaklanıyordu: birincisi, tirozinazın daha önce bilinen iki oksitleyici enzim olan lakkaz ve peroksidazdan farklı olduğu, diğer ikisinin yapamadığı tirozin oksidasyonunu katalize etmesi bakımından farklı olduğu bulundu. İkincisi ise, tirozinin oksidasyon ürününün melanin veya ona çok benzeyen bir ürün olduğu ortaya çıktı. Biyolojik ürünlerde (Nelson ve Dawson, 2006) tirozin varlığının tespiti için enzimin kullanılmasını önermiştir. Tirozinaz, iki melanin sentez reaksiyonunda doğrudan yer alır. Monofenol hidroksilasyonu ve *o*-difenol'den *o*-kinon'a (Lerch, 1995), bu da melanin oluşumuyla sonuçlanan daha fazla reaksiyondan geçer (Kumar vd., 2011). Bilimsel araştırmalar, bu bakır içeren enzimin hayvan ve bitki dokularında tirozin, melanin ve diğer pigmentlerden oksidasyon ile katalize olduğunu kanıtlamıştır. Bitkilerde patates gibi bitkiler havada bırakıldığında istenmeyen kahverengi renkten sorumlu enzimdir (Stevens vd., 1998). Tirozinaz, deri melanositlerinde, özellikle melanozomlarda bulunur. TYR geni, insanlarda tirozinazın kodlanmasından sorumlu genidir (Barton vd., 1988).

1.2.4. *In vitro* antidiyabetik aktivite

Diabetes mellitus terimi WHO'ya göre, insülin sekresyonundaki, insülin etkisindeki veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein

metabolizması bozuklukları ile birlikte kronik hiperglisemi ile karakterize çoklu etiyolojiye sahip metabolik bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır. Diabetes mellitusun etkileri arasında uzun süreli hasar, işlev bozukluğu ve çeşitli organların yetersizliği yer alır. Diabetes mellitus, susuzluk, poliüri, bulanık görme ve kilo kaybı gibi karakteristik semptomlara sahip olabilir (Joshi vd., 2015). Diyabetin, İnsüline Bağlı Diabetes Mellitus (IDDM, Tip 1), İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM Tip 2) ve Gestasyonel diyabet (Tip 3) türleri bulunmaktadır.

İnsülin ve oral hipoglisemik ilaçlar tedavi diyabet için ön görülmektedir. Bu tedavi, hem tokluk hiperglisemiyi sınırlamada hem de öğünler arasında hipoglisemiyi önlemede oldukça başarılı olan doğayı taklit etmeyi amaçlamalıdır. İnsan insülini, sığır insülini, domuz insülini gibi farklı insülin preparatları mevcuttur. İnsülin tedavisi komplikasyon ve yan etkilerden muaf değildir. En önemli yan etkisi, uygun olmayan dozda insülin alındığında ve öğünler ile insülin enjeksiyonu arasında uyumsuzluk olduğunda kilo artışı ve hipoglisemidir. β -hücresi plazma zarındaki sülfonilüre reseptörlerine bağlanarak ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının kapanmasına neden olarak hücre zarının depolarize olmasına yol açarlar. Tip 2 DM hastalarına sülfonilüre verilmesi pankreastan insülin salınımını artırır ve ayrıca hormonların hepatik klirensini azaltarak insülin seviyelerini daha da yükseltebilir. İntravenöz olarak değil de oral yoldan verildiğinde periferik glukoz alımını arttırdığı ve hepatik glukoz çıkışını yaklaşık %20-30 oranında azalttığı gösterilmiştir. Glikozun bağırsaktan emiliminin bozulması da bir etki mekanizması olarak öne sürülmüştür (Deshumukh ve Jain, 2015).

Diyabet tedavisi için bir diğer tedavi yöntem ise anti-diyabetik bitkisel ürünler hakkında farklı yazarlar tarafından çeşitli literatür incelemeleri vardır, ancak en bilgilendirici olanı, hipoglisemik özellikleri nedeniyle kabul edilen 300'den fazla bitki türünü belgeleyen Atta-ur-Rahman'ın incelemesidir. Bu derleme, bitkileri botanik isimlerine, menşei ülkelerine göre sınıflandırmıştır; Kullanılan kısımlar ve aktif maddelerin doğasıdır. Böyle bir bitki *Momordica charantia*'dır (Aile: Cucurbitaceae). DSÖ, dünya çapında tıbbi amaçlar için kullanılan 21.000 bitkiyi listelemiştir. Bu 2500 tür arasında, 150 türün ticari olarak oldukça büyük ölçekte kullanıldığı Hindistan'da bulunmaktadır. Hindistan, şifalı bitkilerin en büyük üreticisidir ve dünyanın botanik bahçesi olarak adlandırılmaktadır (Deshumukh ve Jain, 2015).

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), yüksek kan şekeri seviyeleri ile karakterizedir ve

nefropati, nöropati, retinopati ve kardiyovasküler hastalık gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir (Canivell ve Gomis, 2014; Pecoits-Filho vd., 2016). T2DM en yaygın sağlık sorunlarından biri olmaya devam ediyor ve dünya çapında 4,9 milyon ölüm insidansı ile diyabet vakalarının %90'ını oluşturuyor (Adeloye vd., 2017). T2DM'de tokluk hiperglisemiye kontrol etmenin terapötik yaklaşımlarından biri diyet karbonhidatlarının sindirimini engellemektir. Pankreatik α -amilaz (E.C. 3.2.1.1), nişasta gibi diyet karbonhidatlarını sindirim sisteminde basit monosakkaritlere parçalayan anahtar bir enzimdir. Bunlar ayrıca α -glukosidazlar tarafından emilim sırasında kan dolaşımına giren glikoza indirgenir. Bu nedenle α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibe edilmesi, karbonhidrat sindirimini baskılayabilir, glukoz alımını geciktirebilir ve sonuç olarak kan şekeri düzeylerini düşürebilir (Kajaria vd., 2016). Akarboz, vogliboz ve miglitol gibi ilaçlar pratikte -glukosidaz ve α -amilazı inhibe etseler de şişkinlik, karın rahatsızlığı, ishal ve gaz gibi istenmeyen yan etkiler üretirler (Derosa ve Maffioli, 2012).

Diabetes mellitus (DM) önemli bir metabolik bozukluktur; (Panunti vd., 2004). Diyabetik hastalarda kan şekeri düzeyi, yemekten hemen sonra önemli oranda yükselir, diyabetik komplikasyonların gelişmesiyle ilişkili olduğu düşünülen bir rahatsızlıktır (Ceriello, 2005). Diyabet, küresel sağlığa yönelik en büyük tehditlerden birisi dir. İnsidansı hızla artıyor ve mevcut büyüme hızı kontrolsüz devam ederse, 2030'da toplam sayının 435 milyonu aşacağı düşünülmektedir (Uluslararası Diyabet Federasyonu, 2009).

Çok sayıda bitki ve bitkisel ürünler, laboratuvarlarda güçlü antidiyabetik olarak değerlendirilmiş ve onaylanmıştır. Bu bağlamda, antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş binden fazla bitki türü bulunmaktadır (Marles ve Farnsworth 1995). Bitkisel ilaçlar önemli bir etkinliğe, düşük yan etki insidansına, düşük maliyete sahiptir ve nispeten güvenlidir (Ali vd., 2006). Antidiyabetik bitki özleri, insülin salınımının uyarılması (Zheng vd., 2007), pankreatik β -hücresinin oksidatif strese karşı korunması (Al-Attar ve Zari, 2010) ve glikoz taşıyıcılarının sayısını artırma (Arya vd., 2007) dahil olmak üzere farklı etki durumlarıyla aktiftir. (Gholamhoseinian vd., 2009). karbonhidrat hidrolize edici enzimlerin, α -amilaz ve α -glukosidazın sindirim kanalındaki inhibisyonu ve glikoz taşıyıcılarının inhibisyonu yoluyla elde edilir (Ye vd., 2002).

Bu bitkilerin biyolojik eylemleri, bitki ürünlerinin kimyasal bileşimi ile ilgilidir.

Fenolik bileşikler, alkaloidler, flavonoidler, terpenoidler, kumarinler ve glikozitler açısından zengin bitkisel ürünler genellikle diyabete karşı olumlu etki göstermektedir (Modak vd., 2007).

1.2.4.1. α -Amilaz enzim inhibisyon aktivitesi

Amilazların tarihi, 1811'de Kirchhoff tarafından ilk nişasta parçalayıcı enzimin keşfedilmesiyle başlamış olup, bunu sindirim amilazları ve malt amilazlarıyla ilgili birkaç rapor izledi. 1930'da Ohlsson, çok daha sonraları, şekerlerin anomerik formuna göre malttaki nişasta sindirim enzimlerini α ve β amilazlar olarak sınıflandırmayı önerdi. Amilazlar, hidrolit enzimleri, nişasta hidrolizini düşük moleküler ağırlıklı şeker moleküllerine katalize eder. Doğada nişasta, polisakkaritler için selülozdan sonra en bol bulunan besin deposudur ve dünyanın erişilebilir ana karbon ve enerji kaynağıdır (Buleon vd., 1988; Sharma ve Satyanarayana, 2013). α -amilaz ailesi, glikozidik bağlar α -1,1, α -1,4, α -1,6 (Van der Maare vd., 2002) ile bağlanan glikoz kalıntıları olarak işlev gören farklı substrat ve metal iyonu spesifikliğine sahip bir grup amilaz içerir.

Amilazlar, hidrolaz sınıfına (Enzim komisyonu, EC3) veya transferazlara (Enzim Komisyonu, EC 2) göre geniş bir şekilde sınıflandırılabilir. Hidrolaz sınıflarına göre üç ana gruba ayrılırlar; sırasıyla endoamilazlar, eksoamilazlar ve dallanma enzimlerinden oluşan bir, iki ve üçüncü grup şeklindedir. Bu sınıflandırma, polisakkaritlerin bağ bölünmesi için özgülüklerine dayanmaktadır (Castro vd., 2018).

α -Amilaz (EC 3.2.1.1), kalsiyum metalloenzim, glikojenaz veya 1,4- α -D-glukanglukanohidrolaz olarak da bilinir (Benjamin vd., 2013; Demirkan vd., 2005). Amiloz ve maltoz maltotrisi ve maltoz, glikoz üretmek ve amilopektin dekstrini kısıtlamak için α -1,4 bağlarını keyfi olarak hidrolize edip uzun zincirli şekerleri bölmektedir (Rajagopalan ve Krishnan, 2008). α -Amilazlar bitkilerden, hayvanlardan, bakterilerden (*Bacillus*) ve mantarlardan (ascomyestler ve basidomisetler) elde edilmektedir (Benjamin vd., 2013). (EC 3.2.1.1) (1,4- α -D-glukanohidrolaz; glikojenaz) amilaz, nişasta zincirinde rastgele pozisyonlarda çalışan ve uzun zincirli karbonhidratların maltotrioz'a, amiloz, maltoz veya amilopektin; maltoz, glikoz ve minimal dekstrin parçalanmasına yol açan kalsiyum metallo enzimidir. α -amilaz, β -amilazdan daha hızlı işlev görür ve hayvanlarda amilopektin körlüğünün ana sindirim

enzimidir.

Endoamilazlar olarak bilinen ilk amilaz grubu, EC 3.2.1.1 ile α -amilaz enziminden oluşur. Bu enzim, uzun zincirli substratların iç bölgelerindeki α -1,4 bağlarını parçalama veya atak yaparak saldırma yeteneğine sahiptir ve bu da oligodekstrinlerin salınmasına yol açar. Ekzoamilazlar olarak bilinen ikinci amilaz grubu ise, EC 3.2.1.3 ile glukoamilaz, EC 3.2.1.20 ile α -glukosidaz ve EC 3.2.1.2 ile β -amilazdan oluşur. Bu gruptaki enzimler, düşük moleküler ağırlıklı ürünleri (örn., glikoz, maltoz) serbest bırakmak için uzun zincirli veya kısa zincirli substratların kırılmasından sorumlu enzimleri temsil eder. Son olarak, izoamilazlar (EC 3.2.1.68) ve pullulanaz (EC 3.2.1.41) gibi enzimleri içeren dallanma amilazlardır. Amilaz enziminin bu üçüncü grubu, sadece amilopektin ve diğer küçük substratların (örn., izomaltoz) yapısındaki α -1,6 bağlantıları üzerinde etkilidir. Pullulanazın, pullulan ve glikojendeki α -1,6 bağlantılarının parçalanmasını katalize ettiği rapor edilmiştir (Cinelli vd., 2015; Castro vd., 2018).

1.2.4.2. α -Glukosidaz inhibisyon aktivitesi

α -Glukosidaz (EC 3.2.1.20), di- ve oligo-sakkaritler ve aril glikozitler üzerinde glukoamilazinkine benzer şekilde hareket eden bir ekzoenzim olup glikoz molekülü üretmektedir. Bu enzim hayvan, bitki, bakteri veya mantar kaynaklı olabilir. Tüm bitkiler, hücre içi bir enzim olarak α -glukosidaz içerir ve çimlenmiş ve çimlenmemiş tahıllarda bulunur. Domuz serumundan elde edilen nötr α -glukosidaz, substrata çok özel göründü. Maltooligosakkaritler, fenil α -maltoside, nigeroz, çözünür nişasta, amiloz, amilopektin ve β -limit dekstrinleri hidrolize eder. İzomaltoz ve fenil α -glikozit zorlukla hidrolize edildi. 3 ve daha fazla glikoz ünitesinden oluşan izomaltooligosakkaritler, bu enzim tarafından saldırıya uğramamaktadır (Tomasik ve Horton, 2012).

α -Glukosidaz inhibitörleri, ince bağırsakta kompleks karbonhidratların enzimatik bozunmasını bloke eder. Bu bileşikler, kilo alımı veya hipoglisemi riskini artırmadan tokluk glikozu düşürür ve glisemik kontrolü iyileştirir. Akarboz, T2DM tedavisinde en çok kullanılan α -glukozidaz inhibitörlerinden biridir. Bir birincil müdahale çalışması olan STOP-NIDDM (insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitusu önleme çalışması) çalışmasında, akarboz tedavisi, bozulmuş açlık glukoz toleransı (Chiasson

vd., 2003) olan 1429 hastada T2DM insidansının önemli ölçüde daha düşük olması ve majör kardiyovasküler olay riskinin yarıya inmesi ile ilişkilendirilmiştir. Akarboz gastrointestinal kanalda lokal olarak etki ettiğinden sistemik biyoyararlanımı düşüktür. Bu nedenle, taşıma proteinlerinin bu ajanın terapötik etkisinde bir rol oynaması olası görünmemektedir. Oral akarboz dozunun %2'sinden azı, değişmemiş ilaç olarak gastrointestinal sistemden emilir. Akarboz, yalnızca gastrointestinal sistemde, öncelikle bağırsak mikroflorası ve daha az ölçüde sindirim enzimleri tarafından metabolize edilir. α -amilaz içeren sindirim enzimi preparatları, akarbozun etkisini azaltabilir ve birlikte alınmamalıdır (Hiele vd., 1992). Son zamanlarda, α -glukosidaz inhibitörlerinin sadece birkaç farmakogenetik çalışması rapor edilmiştir. Bu çalışmaların tümü, T2DM tedavisinde akarboz kullanmıştır.

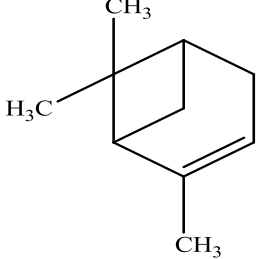
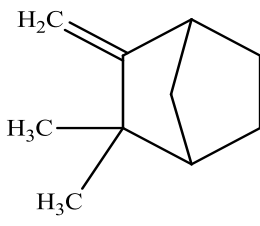
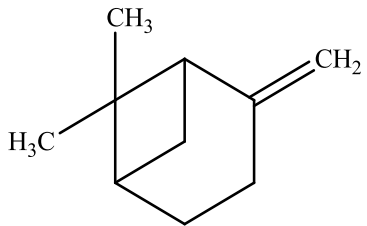
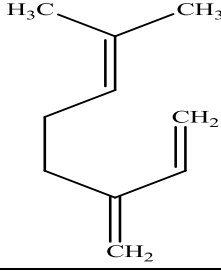
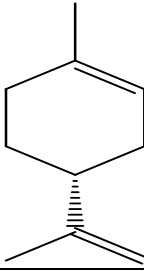
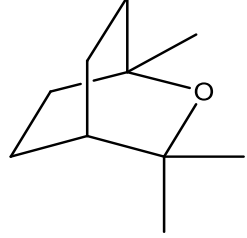
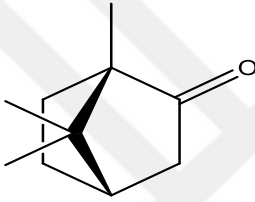
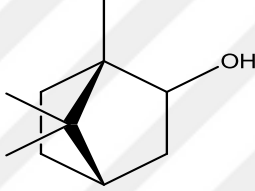
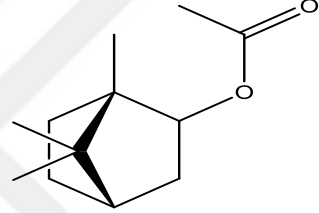
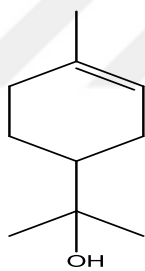
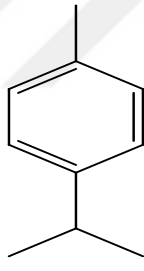
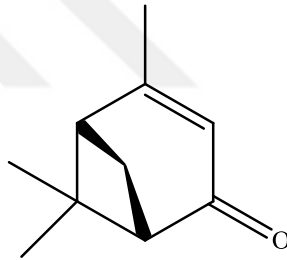
1.2.5. Uçucu yağlar

Aromatik ve baharatlı bitkilerin karakteristik kokusu ve lezzetinden sorumlu olan (Silveira ve Sávd, 2013) terpenler, izopren birimleri tarafından oluşturulan moleküller, genellikle uçucu yağlarda en bol bulunan ve çeşitli olanlardır. ISO, uçucu yağları, hidrodistilasyon dâhil olmak üzere buhar damıtma yoluyla veya aynı prensibe sahip alternatif bir işlemle ham bitki materyalinin çeşitli kısımlarından su buharı ile sürüklenebilen ürün olarak tanımlar (de Groot ve Schmidt, 2016). Bu ürün, uçucu bileşiklerin karmaşık karışımları olmakla birlikte genellikle büyük miktarlarda terpenler, esas olarak monoterpenler, seskiterpenler ve her iki gruba da uymayan bileşenler "diğerleri" olarak üç kategoride sınıflandırılmıştır (de Melo vd., 2011). Uçucu yağlar önemli ölçüde gıda ve koku endüstrilerinin yanı sıra temizlik ürünleri, kozmetikler, mumlar ve tütsülerin geliştirilmesinde kullanılır (de Groot ve Schmidt, 2016).

Endüstriyel olarak en yaygın kullanılan ekstraksiyon tekniği, daha hızlı ve büyük miktarlar için daha uygun olan buharla damıtmadır. Öte yandan, laboratuvarlarda tercih edilen teknik, Clevenger tipi cihazlar kullanılarak hidrodistilasyon olup, daha yavaş olmasına rağmen, yağı daha düşük sıcaklıklarda uçucu hale getirmesine rağmen, buhar distilasyonu ile bozunabilecek ısıl kararsız bileşiklerin bütünlüğünü korur (de Groot ve Schmidt, 2016). Diğer yöntemler arasında soğuk pres damıtma, kuru damıtma ve mikrodalgaların neden olduğu daha yüksek sıcaklık gradyanı nedeniyle

%65'e kadar daha az ekstraksiyon süresi gerektiren modifiye bir hidrodistilasyon yöntemi olan mikrodalga destekli hidrodistilasyon yer alır (Filly vd., 2014; Karakaya vd., 2014; Patel, 2015).

Uçucu yağların kimyasal bileşimi sadece bitki türüne değil aynı zamanda bitkinin yaşına, türüne, toplanan kısmına, kökenine, iklimine, toprağına, kullanılan zirai kimyasallara, stoklama süresine, hazırlamaya ve diğer faktörlere de bağlıdır. Bu varyasyon genellikle nitel olmaktan çok niceldir ve bu nedenle, uçucu yağlarla yapılan denemeler, her zaman bitki materyalinin biyolojik bir karakterizasyonunu ve yağın fitokimyasal profilini sağlamalı ve verilerin tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu sağlamalıdır (Freires vd., 2015). Şu anda, uçucu yağların bileşiminin analizi için standart yöntem, Kütle Spektroskopisi ile birleştirilmiş Gaz Kromatografisidir (Waseen ve Low, 2014).

		
α -Pinene	Camphene	β -Pinene
		
β -Myrcene	Limonene	Cineol
		
Camphor	Borneol	Bornyl acetate
		
α -Terpineol	<i>p</i> -Cymene	Verbenon

Şekil 1.3. *R. officinalis* L. uçucu yağında tespit edilen bazı bileşenlerin kimyasal yapıları

1.2.6. Kemometri

Kemometri, 1970’li yıllarda istatistik ve matematiksel metotlarla birlikte bilgisayar ve yazılım programlarının kullanıldığı kimya uygulamaları için bir terimdir. Kemometri, 1972 yılında İsveçli Svante Wold ve Amerikalı Bruce R. Kowalski tarafından orataya atılmış ve 1974 yılında uluslararası kemometri derneğince bu kavramı bir disiplin haline alan ilk resmi açıklama yapılmıştır (Dinç, 2007). Kemometri, kimyasal verileri analiz ederek en uygun kimyasal bilgileri sağlamak ve kimyasal sistemler hakkında bilgi edinmek için optimum deneysel prosedürleri tasarlamak veya seçmek için

matematik ve istatistiksel kullanılan bir kimya disiplini. Kemometrik yöntemlere rağbet, kimya ana bilim dalında kompleks numunelerin analizinde kimyasal verilerin daha hızlı bir şekilde edinilmesini, işlenmesini ve yorumlanmasını, tüm verilerin aynı anda görüntülenmesine, hızlı, doğru, kesin ve güvenilir sonuçlara ulaşmak için esnek ve çok yönlü çözümler sunmasına bağlıdır. Son yıllarda gelişmiş analitik cihazlardan elde edilen çok değişkenli ve çok boyutlu ölçüm verilerinin işlenmesi bakımından kemometrik yöntemler kullanımı birçok araştırma ve araştırmacı grubu tarafından ilgi odağı haline gelmiştir. Doğrusal olmayan kompleks sistemlerde nitel ve nicel analizlerde yapay zeka yöntemleri gibi yapay sinir ağları yöntemleri, kemometrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kemometri, kimya, adli tıp, biyoloji, gıda kimyası, çevre kimyası, arkeoloji gibi birçok anabilim dalı alanlarında kullanılmaktadır. Organik kimyacılar, reaksiyon koşullarının optimizasyonunda deneysel tasarımda, farmasötik kimyacılar, ilaç dizaynında ve yapı-aktivite ilişkisi çalışmalarında kullanılmaktadır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. *R. officinalis* L. Türünün Temini

Çalışma materyalimizi oluşturan *R.officinalis* (Biberiye) Muğla-Köyceğiz'den tarafımızdan toplandı. Tez çalışmasında planlanan örnekleme ve uçucu yağ elde etme işlemleri Çizelge 2.1'de ayrıntılı verilmektedir.

Çizelge 2.1. Örnekleme ve uçucu yağ çıkartma işlemleri

Örnekleme	Bekleme ve kurutma şekli	Kod	pH değeri	Analiz Kodu
a) Bitki kurutulmadan	Aynı gün	1UY	pH:5,8	1UY-A
			pH:7,0	1UY-N
			pH:8,0	1UY-B
b) Bitki topladıktan sonra güneş altında kurutularak	1. gün	2UY	pH:5,8	2UY-A
			pH:7,0	2UY-N
			pH:8,0	2UY-B
	2. gün	3UY	pH:5,8	3UY-A
			pH:7,0	3UY-N
			pH:8,0	3UY-B
	3. gün	4UY	pH:5,8	4UY-A
			pH:7,0	4UY-N
			pH:8,0	4UY-B
	4. gün	5UY	pH:5,8	5UY-A
			pH:7,0	5UY-N
			pH:8,0	5UY-B
c) Bitki topladıktan sonra gölgede kurutularak	1. gün	6UY	pH:5,8	6UY-A
			pH:7,0	6UY-N
			pH:8,0	6UY-B
	2. gün	7UY	pH:5,8	7UY-A
			pH:7,0	7UY-N
			pH:8,0	7UY-B
	3. gün	8UY	pH:5,8	8UY-A
			pH:7,0	8UY-N
			pH:8,0	8UY-B
	4. gün	9UY	pH:5,8	9UY-A
			pH:7,0	9UY-N
			pH:8,0	9UY-B
d) Bitki toplandıktan sonra meyve kurutma makinesinde kurutularak		10UY	pH:5,8	10UY-A
			pH:7,0	10UY-N
			pH:8,0	10UY-B

2.2. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Etanol, *n*-hekzan, E. Merck'den (Darmstadt, Almanya) temin edildi. Susuz magnezyum sülfat, L-DOPA, kojik asit, L-mimosin, amonyum asetat, neokuprin, 5,5'-ditiyobis(2-nitro-benzoik asit) (DTNB), asetiltiyokolin iyodür (AcI), bütiriltiyokolin klorür (BuCl), yılan balığından asetilkolinesteraz [AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425.84 U/mg], at serumundan bütirilkolinesteraz [BChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg], üreaz Tip III-Jack Beans [EC 3.5.1.5, 21 U/mg], tirozinaz mantarı [EC 1.14.18.1, ≥ 1000 U/mg], sodyum klorür, sodyum karbonat, hidroklorik asit, sodyum dihidrojen fosfat, potasyum hidrojen ftalat, 4-nitrofenil- α -D-glukopiranosil, α -amilaz, α -glukosidaz ve lugol. Tüm kimyasal ve çözücüler GC derece saflıktadır.

2.3. Aletler ve Diğer Gereçler

- Döner buharlaştırıcı (Heidolph Laborata 4000 Efficient Rotary Evaporator)
- Abbe refraktometresi
- Polarimetre
- Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi cihazı (GC/MS) (Varian 3900)
- Otomatik pipetler (2-20 μ L, 10-100 μ L, 20-200 μ L, 100-1000 μ L ve 1-5 mL) Eppendorf, Almanya
- He tüpleri (GC grade)
- Hassas Terazî (Sartorius CPA225D)
- Ultrasonik banyo (Çalışkan Lab-ULT4030)
- Etüv (Binder ED115, Tuttinger-Almanya)
- Mantolu ısıtıcı
- Armudi balon, balonlar, cam vialler, spatül, dereceli silindirler, filtre kâğıdı
- Elisa Reader (SpectraMax PC340, Molecular Device, ABD)

2.4. Uçucu Yağların Hazırlanması

Toplanan bitkinin uçucu yağı Hidrodestilasyon yöntemiyle Amerikan tipi Clevenger Aparatı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla balona doldurulan bitkinin yarısına kadar su ilave edildi ve 4 saat boyunca mantolu ısıtıcıda kaynamaya bırakılarak uçucu yağ elde edildi. Toplama kapındaki uçucu yağ-su karışımı *n*-hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabii tutuldu. Organik faz, susuz MgSO₄ ile kurutulduktan sonra, *n*-hekzan döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak uçucu yağlar elde edildi. Uçucu yağlar viallere alınıp tartılarak etiketlendi ve buzdolabında bekletildi. Uçucu yağların verimi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\%verim = \frac{\text{uçucu yağ miktarı (gram)}}{\text{biberiyenin miktarı (gram)}} \times 100$$

2.5. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Analizleri

2.5.1. Yoğunluk tayini

Yoğunluk tayini için 1 mL' lik hassas ayarlı kap kullanıldı. Kap önce boş, sonra destile su ve daha sonra da yağ numunesi ile doldurularak tartıldı ve yoğunluk aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$d = \frac{c - a}{b - a}$$

Burada

a: Boş kabın tartımı (g)

b: Su ile dolu olan kabın tartımı (g)

c: Yağ ile dolu olan kabın tartımı (g)

2.5.2. Kırılma indisi tayini

Elde edilen uçucu yağların kırılma indeksleri Abbe refraktometresi'nden doğrudan 20°C de okundu.

2.5.3. Optik çevirme tayini

Uçucu yağın optik çevirme açısı polarimetre ile yapıldı. Bu amaçla 100 µL uçucu yağın 10 mL 'lik balon jojede petrol eteri ile çözeltisi hazırlandı. 2 dm 'lik polarimetre tüpünde sodyum lambası altında α değeri okundu ve yağın çevirme açısı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$[\alpha]_{20}^D = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c \cdot d}$$

Burada α -cihazın gösterdiği çevirme açısıdır

l- Polarimetre tüpünün uzunluğu (dm)

C- Konsantrasyonu (g/100 mL)

d- Yoğunluk (g/mL)

2.6. Uçucu Yağların Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizleri

Su destilasyonu ile elde edilen uçucu yağların bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla gaz kromatografisi ile ayrılan her bileşen iyonlaştırılarak kütle spektrumları alındı. Elde edilen sonuçlar, standart maddelerin gaz kromatografisindeki R_t değerleri ile karşılaştırılıp doğrulandı. GC-MS tablolarıyla ilgili kullanılan teşhis yöntemleri :

- 1) Gaz kromatografisi şahit madde kontrolü
- 2) Kütle spektrumu
- 3) Literatür karşılaştırılması
- 4) RI

t : Eser miktar

4 farklı metotla bitkisel materyalden elde edilen uçucu yağların gaz kromatogramları alındı. *R. officinalis* L. bitkisinden su destilasyonu ile elde edilen uçucu yağların integrasyon sonuçları, yüzdeleri ile birlikte 91 bileşen tespit edildi. Bu bileşenlerin teşhisi için, aynı şartlarda, şahit madde verilerek pik çıkması yöntemi uygulandı. Hidrodestilasyon ile elde edilen uçucu yağların bağıl konsantrasyonları (%) ve teşhis metotları Tablo 3.3, Tablo 3.4, Tablo 3.5'te verilmektedir.

2.6.1. GC-MS şartları

Elde edilen tüm biberiye uçucu yağların kimyasal içerik analizi Çizelge 2.4'te verilen şartlar kullanılarak, GC-MS analizi gerçekleştirildi.

Çizelge 2.2. GC-MS cihazı analiz şartları

Kolon	: Rtx®-5 kapiler kolon (30 m x 0.25mm, 0.25µm)
Taşıyıcı Gaz	: He
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250 °C
Kolon sıcaklığı	: Fırın sıcaklığı 60°C de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 225 °C' ye 3° C/dk. hızla çıkarıldı ve 225 °C'de 10 dakika bekletildi. 300°C' ye 25° C/dk. hızla çıkarıldı ve 3 dakika bekletildi. (Toplam 76 dk.)
Kolon basıncı	: 12 psi
Split Oranı	: 1:20
Trap sıcaklığı	: 150 °C
Transfer hattı	: 180 °C
Manifold sıcaklığı	: 120 °C
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle aralığı	: 28-450 m/z
Enjeksiyon miktarı	: 0,2 µL
Segment Başlama süresi	: 5 dk.
Scan time	: 1 sn.

2.6.2. GC-MS analizi

Uçucu yağlardan 10 µL Hamilton injektörle alınarak gaz kromatografisi mertebesinde saflıkta 100 µL *n*-hekzan ile seyreltildi. Seyreltilen uçucu yağlar Varian 2100T GC-MS cihazına (Rtx® 5, 30 m, 0.25 mmID, 0.25 µm) 0,2 µL enjeksiyon yapıldı. Çizelge 2.2'de verilen şartlar kullanılarak GC-MS analizi gerçekleştirildi. NIST14 MS Search yazılımı ve NIST kütüphaneleri kullanılarak bileşenlerin yapıları tayin edildi. Uçucu yağlarda yer alan maddelerin % oranları, pik alanlarının Varian WS 6.20 uygulaması kullanılarak hesaplanmasıyla bulundu. Kuru bitkilerde yer alan maddelerin % kütleleri için aşağıdaki eşitlik kullanıldı:

$$\%mg/100g \text{ bitki} = \left[\left(\frac{\text{pik alanı}}{\text{toplam alan}} \right) * 100 \right]$$

2.7. Biyoaktivitelere Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.7.1. Antikolinesteraz aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponun hazırlanması: Stok çözeltiler için, 8,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı. 1,56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

0,1 M ve pH=7 fosfat tamponu hazırlamak için, stok NaH_2PO_4 'den 39 mL, stok Na_2HPO_4 'den de 61 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL ye seyreltilti.

0,1 M ve pH=8 fosfat tamponu hazırlamak için, stok Na_2HPO_4 'den 94,7 mL, stok NaH_2PO_4 'den de 5,3 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL'ye seyreltilti.

DTNB çözeltisinin hazırlanması: 16 mg DTNB, 1 mL pH=7 fosfat tamponunda çözüldü. 7,5 mg NaHCO_3 1 mL pH=7 fosfat tamponunda çözüldü. Her iki çözelti bir balonjojeye alınıp iyice karıştırıldı ve üzerine 2 mL pH=7 fosfat tamponu ilave edildikten sonra çözelti 4 mL pH=8 fosfat tamponuyla seyreltilti.

AcI (Asetiltiyokolin iyodür) hazırlanması: 16 mg AcI, 4 mL deiyonize suda çözüldü.

BuCI (Bütiriltiyokolin klorür) hazırlanması: 4 mg BuI, 4 mL deiyonize suda çözüldü.

AChE hazırlanması: 0,2 mg AchE, 4 mL pH=8 fosfat tamponunda çözüldü.

BchE hazırlanması: 0,2 mg BchE, 1 mL pH=8 fosfat tamponunda çözüldü.

2.7.2. Tirozinaz inhibisyon aktivite yönteminde kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponu hazırlanması: Stok çözeltiler için, 8,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ deiyonize su yardımıyla toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı. 1,56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

0,05 M ve pH=6,8 fosfat tamponu hazırlamak için stok Na_2HPO_4 'den 49 mL, stok NaH_2PO_4 'den de 51 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL'ye seyreltilti.

Tirozinaz enziminin hazırlanması: 1 mg Tirozinaz mantarı 0,05 M'lık 250 μL pH=6,8 fosfat tamponunda çözüldü.

L-Dopa'nın hazırlanması: 8,4 mg L-DOPA, 5 mL saf suda çözüldü.

2.7.3. Antidiyabetik aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler

2.7.3.1. α -Amilaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponunun hazırlanması: Stok çözeltiler için, 0,712g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı. 0,624 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı.

6 mM NaCl hazırlanması: 70,2 mg NaCl, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

20 mM ve pH=6,9, 6 mM NaCl içeren fosfat tamponu hazırlamak için, stok NaH_2PO_4 'den 45 mL, stok Na_2HPO_4 'den de 55 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 6 mM NaCl çözeltisi ile 200 mL ye seyreltilti.

50 μL %0,05'lik nişasta çözeltisi hazırlanması: 50 mg nişasta deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

1 M HCl hazırlanması: 0,85 mL derişik HCl deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

α -amilaz enziminin hazırlanması: 1 mg α -amilaz, 3 mL 20 mM pH=6,9 + 6 mM NaCl fosfat tamponunda çözüldü.

2.7.3.2. α -Glukozidaz inhibisyon aktivite belirleme yönteminde kullanılan çözeltiler

Fosfat tamponunun hazırlanması: Stok çözeltiler için, 0,356 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı. 0,312 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deiyonize su yardımıyla çözünerek toplam hacim 200 mL'ye tamamlandı.

10 mM fosfat tamponunun (pH=6,9) hazırlanması: stok NaH_2PO_4 'den 45 mL, stok Na_2HPO_4 'den de 55 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL ye seyreltilti.

10 mM fosfat tamponunun (pH=6) hazırlanması: stok NaH_2PO_4 'den 86,75 mL, stok Na_2HPO_4 'den de 13,25 mL alındı ve pH kontrolüyle son hacim 200 mL ye seyreltilti.

25 μL 0,5 mM 4-nitrophenyl- α -D-glukopiranozil (PNPG), 1,51 mg p-NPG 10 mL 10 mM pH=6,9 fosfat tamponunda çözüldü.

0,1 M 90 μL sodyum karbonat hazırlanması: 1,06 g Na_2CO_3 deiyonize su yardımıyla toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

α -Glukozidaz enziminin hazırlanması: 1 mg α -glukozidaz, 1 mL 10 mM pH=6 fosfat tamponunda çözüldü.

2.8. Enzim İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.8.1. Antikolinesteraz aktivitenin belirlenmesi

Biberiye uçucu yağların antikolinesteraz aktivitesi AchE ve BchE inhibisyon aktiviteleri Ellman vd., (1961) metoduna göre saptandı. Her iki test için pozitif kontrol olarak galantamin ve kontrol olarak etanol kullanıldı.

2.8.1.1. Asetilkolinesteraz (AchE) inhibisyon aktivite yöntemi

Biberiye uçucu yağların AchE inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemine göre belirlendi (Ellman vd., 1961). 96 kuyucuklu mikrolakaların her bir kuyucuğuna 0,1 M pH=8,0 fosfat tamponundan 160 µL, farklı konsantrasyonlarındaki 2 mL stok biberiye uçucu yağ çözeltilerinden 10 µL ve 10 µL yılan balığından elde edilen AchE'in çözeltisinden ilave edilip ilk ölçüm alındı ve oda koşullarında 15 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 10 µL DTNB çözeltisi ile substrat olarak 10 µL AcI ilavesi yapılır yapılmaz 412 nm dalga boyunda 10 dk kinetik absorbans ölçümü yapıldı.

2.8.1.2. Bütilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktivite yöntemi

Biberiye uçucu yağların BChE inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemine göre belirlendi (Ellman vd., 1961). Enzim olarak at serumundan elde edilen bütilkolinesteraz, substrat olarak bütililtiyokolin klorür, aktivitenin ölçümü için ise sarı renkli 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. 96 kuyucuklu mikrolakaların her bir kuyucuğuna 0,1 M pH=8,0 fosfat tamponundan 160 µL, farklı konsantrasyonlarındaki 2 mL stok biberiye uçucu çözeltilerinden 10 µL ve 10 µL at serumundan elde edilen BChE'in çözeltisinden ilave edilip ilk ölçüm alındı ve oda koşullarında 15 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 10 µL DTNB çözeltisi ile substrat olarak 10 µL BuCI ilavesi yapılır yapılmaz 412 nm dalga boyunda 10 dk kinetik absorbans ölçümü yapıldı.

2.8.2. Tirozinaz inhibisyon aktivitenin belirlenmesi

R. officinalis uçucu yağların tirozinaz inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik yöntem kullanılarak tespit edildi (Hearing, 1987; Khatib vd., 2005). Enzim olarak tirozinaz mantarı, substrat olarak ise L-DOPA kullanıldı. Mikroplatelere sırasıyla 150 µL 0,005 M pH=6,8 fosfat tamponu, 10 µL farklı konsantrasyonlardaki stok uçucu yağ çözeltileri, 20 µL tirozinaz mantarından hazırlanan tirozinaz enzimi ilavesinin ardından numuneler 3 dk karıştırıldı ve 37°C’de 10 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda mikropate 20 µL L-DOPA çözeltisi ilave edilir edilmez numunelerin 37°C’de 10 dk 475 nm dalga boyunda kinetik absorbensleri ölçüldü.

2.8.3. α-Amilaz inhibisyon aktivitesi

25 µL farklı konsantrasyonlarda *R. officinalis* uçucu yağlarının üzerine 25 µL enzim (pH: 6,9 fosfat tamponu, 6 mM NaCl ile çözülür) ilave edildikten sonra 10 dk 37°C’de inkübasyona bırakılıp, üzerine 50 µL nişasta çözeltisi eklendikten sonra yine 10 dk 37°C’de inkübasyona bırakıldı. 25 µL 0,1 M HCl ile 100 µL lugol çözeltisi ilave edildikten sonra 565 nm’de absorbens ölçümü yapıp (Quan vd., 2019), standart madde olarak akarboz kullanıldı.

2.8.4. α-Glukosidaz inhibisyon aktivitesi

50 µL 0,01 M pH:6,9 fosfat tamponu, 25 µL 0,5 mM 4-nitrofenil-α-D-glukopiranosil (p-NPG) birlikte çözülür. Üzerine 10 µL farklı konsantrasyonlarda *R. officinalis* uçucu yağı eklenir. 25 µL enzim çözeltisi (pH: 6 fosfat tamponunda çözülür) ilave edildikten sonra 20 dk 37°C’de inkübasyona bırakıldı. Son olarak da üzerine 90 µL 0,1 M Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek 400 nm’de absorbens ölçümü yapıp (Kim vd., 2010), standart madde olarak akarboz kullanıldı.

2.9. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar Minitab 17.1.0 istatistiksel yazılım programı ile hazırlandı. Bu çalışmada 10 adet *Rosmarinus officinalis* (biberiye) bitkisine ait GC-

MS sonuçları ve Aktivite sonuçları temel bileşen analizi (PCA) ve kümeleme analizi (HCA) yöntemleri kullanılarak kemometrik olarak değerlendirildi.



3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. Uçucu Yağ Miktarı ve Verimleri

Elde edilen biberiye uçucu yağ miktarları ve % verimleri Çizelge 3.1’de verildi. Uçucu yağların verimleri karşılaştırıldığında, güneş altında kurutulan bitkinin 1. günü örneklerinin asidik su ile elde edilen uçucu yağının (2UY-A) verimi %0,74, güneş altında kurutulan bitkinin 1. günü örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (2UY-B) verimi %0,52, güneş altında kurutulan bitkinin 2. günü örneklerinin nötral su ile elde edilen uçucu yağının (3UY-N) verimi %0,65, güneş altında kurutulan bitkinin 4. günü örneklerinin asidik su ile elde edilen uçucu yağının (5UY-A) verimi %0,54, meyve kurutucusunda kurutulan bitkinin örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (10UY-B) verimi %0,56 ile yüksek verim bulundu.

Topladıktan hemen sonra asidik su ile elde edilen uçucu yağının (1UY-A) verimi %0,09, topladıktan hemen sonra bazik su ile elde edilen uçucu yağının (1UY-B) verimi %0,03, güneş altında kurutulan bitkinin 3. günü örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (4UY-B) verimi %0,02, gölgede kurutulan bitkinin 1. günü örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (6UY-B) verimi %0,03, gölgede kurutulan bitkinin 2. günü örneklerinin nötral su ile elde edilen uçucu yağının (7UY-N) verimi %0,05, gölgede kurutulan bitkinin 3. günü örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (8UY-B) verimi %0,06, gölgede kurutulan bitkinin 4. günü örneklerinin nötral su ile elde edilen uçucu yağının (9UY-N) verimi %0,08, gölgede kurutulan bitkinin 4. günü örneklerinin bazik su ile elde edilen uçucu yağının (9UY-B) verimi %0,05 diğerlerine nazaran çok düşük bulundu.

Çizelge 3.1. Uçucu yağ kütleleri ve % verimleri

Uçucu Yağ Kodları	Uçucu yağ miktarı (g)	% Verim	Uçucu Yağ Kodları	Uçucu yağ miktarı (g)	% Verim
1UY-A	0,4229	0,09	6UY-A	1,0819	0,22
1UY-N	0,5295	0,11	6UY-N	1,6085	0,32
1UY-B	0,1434	0,03	6UY-B	0,1688	0,03
2UY-A	3,7105	0,74	7UY-A	1,3362	0,33
2UY-N	1,8339	0,37	7UY-N	0,1878	0,05
2UY-B	2,5838	0,52	7UY-B	0,3512	0,18
3UY-A	0,3399	0,11	8UY-A	0,1637	0,16
3UY-N	1,9535	0,65	8UY-N	0,3281	0,33
3UY-B	1,2301	0,41	8UY-B	0,0623	0,06
4UY-A	1,3889	0,28	9UY-A	0,2657	0,19
4UY-N	0,5637	0,11	9UY-N	0,1104	0,08
4UY-B	0,1211	0,02	9UY-B	0,064	0,05
5UY-A	2,6874	0,54	10UY-A	0,73	0,15
5UY-N	0,1461	0,03	10UY-N	0,5787	0,12
5UY-B	2,3486	0,47	10UY-B	2,7966	0,56

3.2. *R. officinalis* L. Uçucu Yağlarının Fizikokimyasal Özellikleri

3.2.1. Uçucu yağların kırılma indisleri yoğunlukları ve optik çevirme açıları tayini sonuçları

Uçucu yağların kırılma indisleri, yoğunlukları ve optik çevirme açıları tayini sonuçları Çizelge 3.2’de verilmektedir. Uçucu yağların tamamının fizikokimyasal özellikleri az elde edilmeleri ve analizlerde tükenmeleri nedeniyle bazılarında yapılamadı.

Sonuçlara göre fizikokimyasal özelliklerin birbirlerinden anlamlı derecede farklılık

gösterdiği izlenmektedir. Bu farklılığın, tabiki uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan farklı yöntemlerden dolayı kimyasal içeriklerindeki değişimden kaynaklandığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 3.2. Uçucu yağların fizikokimyasal özellikleri

Uçucu Yağlar	n_{20}^o	d_{20}	$[\alpha]_{20}^D$	Uçucu Yağlar	n_{20}^o	d_{20}	$[\alpha]_{20}^D$
1UY-A	1,4491	0,8089	+64,5102	6UY-A	1,4512	-	-
1UY-N	1,4253	-	-	6UY-N	-	0,8146	+37,6724
1UY-B	-	-	-	6UY-B	1,4566	-	-
2UY-A	1,4622	0,7769	+50,3039	7UY-A	1,4529	0,8146	+19,3300
2UY-N	1,4565	0,7872	+29,9335	7UY-N	1,4575	-	-
2UY-B	1,4486	0,6007	+54,3439	7UY-B	1,4338	0,8593	+43,8759
3UY-A	1,4629	0,7517	+55,5057	8UY-A	-	-	-
3UY-N	1,4600	0,7540	+58,0807	8UY-N	-	-	-
3UY-B	1,4458	0,7654	+38,7423	8UY-B	-	-	-
4UY-A	1,4540	0,7082	+47,5520	9UY-A	1,4419	0,9096	-
4UY-N	-	-	-	9UY-N	-	-	-
4UY-B	-	-	-	9UY-B	-	-	-
5UY-A	1,4725	0,8776	+12,8358	10UY-A	-	0,9999	-
5UY-N	-	-	-	10UY-N	1,4507	0,0097	-0,000
5UY-B	1,4401	0,9394	+1,8354	10UY-B	1,4630	0,9998	+3,5637

3.3. *R. officinalis* L. Türünün Uçucu Yağlarının GC-MS Analizi Sonuçları

Farklı koşullarda muhafaza edilen biberiyelerden elde edilen uçucu yağların yöntem 2.5.'te belirtilen şartlarda GC-MS analizleri yapılmış ve Varian MS Workstation yazılımı ile elde edilen veriler NIST kütüphanesi kullanılarak tanımlanan maddelerin sonuçları çizelge 3.3 ve çizelge 3.6'da verildi.

3.3.1. 1UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

R. officinalis L.'in kurutulmadan (1UY grubu) pH'ları 5.8(A), 7.0(N) ve 8.0(B)'e ayarlanan suyla hidrodestile edilen uçucu yağların GC-MS kromotogramları Şekil 3.1'de GC-MS analiz sonuçları ise Çizelge 3.3'de verilmektedir. Analiz sonucunda farklı pH'lardaki uçucu yağlarda 91 bileşen tespit edildi ve yapıları aydınlatıldı.

Çizelge 3.3. Kurutulmayan örnekten elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları ve Avrupa Farmakopisi

RI	Rt (Dk)	Bileşimin Adı	Kurutulmayan örnek			İspanyol		Tunus ve Fas	
			1.UY			En az	En fazla	En az	En fazla
			A %	N %	B %				
930	6,21	α -Thujene	t	t	t				
937	6,62	α -Pinene	0,02	0,7	3,6	18	26	9,0	14,0
950	7,19	Camphene	t	0,04	0,02	8,0	12,0	2,5	6,0
957	7,41	Thuja-2,4(10)-diene	t	0,04	t				
972	8,07	3,7,7-Trimethyl cyclohepta-1,3,5-triene	t	t	t				
980	8,32	β -Pinene	t	t	t	2,0	6,0	4,0	9,0
985	8,49	1-Octen-3-ol	0,02	0,04	t				
988	8,86	3-Octanone	t	t	t				
992	8,95	Myrcene	t	0,04	0,02	1,5	5,0	1,0	2,0
1000	9,51	α -Phellandrene	t	t	t				
1010	9,77	3-Carene	t	t	t				
1020	10,06	α -Terpinene	t	0,04	t				
1028	10,43	p-Cymene	t	0,04	0,02	1,0	2,2	0,8	2,5
1027	10,61	Limonene	0,02	0,6	0,02	2,5	5,0	1,5	4,0
1039	10,78	Eucaliptol	2,8	1,1	3,4	16,0	25,0	38,0	55,0
1044	11,11	trans-Ocimene	t	t	t				
1050	11,39	Benzene acetaldehyde	t	t	t				
1058	12,06	γ -Terpinene	t	0,04	t				
1075	12,84	cis-Linaloloxide	t	t	t				
1088	13,49	Terpinolene	t	0,04	t				
1091	13,53	p-Cymenene	t	t	t				
1098	14,09	Linalool	4,4	1,7	2,6				
1096	14,28	Fenchone	t	t	t				
1118	14,73	Fenchylalcohol	t	t	t				
1122	15,17	cis-2-Menthenol	t	t	t				
1123	15,34	2 Pinene-7-one	0,5	0,04	0,02				
1139	15,97	Sabinol	t	t	t				
1143	16,11	cis-Verbenol	0,2	0,2	0,02				
1144	16,21	Camphor	17,4	9,4	5,7	13,0	21,0	5,0	15,0
1145	16,42	cis- β -Terpineol	t	t	t				
1166	16,50	α -Fellandren-8-ol	t	t	t				
1047	16,86	Isopulegol	t	t	t				
1172	17,05	cis-3-Pinanone	0,7	0,4	0,02				
1174	17,17	Pinocarvone	0,3	0,04	0,02				
1173	17,29	Borneol	16,4	14,6	8,8	2,0	4,5	1,5	5,0
1175	17,51	iso-Borneol	t	t	t				
1177	17,71	cis-Pinocamphone	2,1	1,1	0,02				
1180	17,88	Terpinen-4-ol	1,9	1,2	0,02				
1184	18,31	p-Cymene-8-ol	0,6	0,7	0,02				
1190	18,55	α -Terpineol	4,3	3,3	3,0	1,0	3,5	1,0	2,6
1194	18,86	Myrtenol	0,9	0,9	0,02				
1225	19,23	iso-Bornylformate	2,1	2,1	2,3				
1204	19,47	Verbenone	31,7	28,1	10,0	0,7	2,5		
1230	19,97	cis-Carveol	0,02	0,04	0,02				
1240	20,46	Citronellal	t	t	t				
1264	20,78	P-Menth-2-en-trans-7-ol	1,6	1,7	1,9				
1248	21,05	trans-Shisool	2,6	3,3	2,9				
1252	21,17	Carvone	t	t	t				
1255	21,73	trans-Geraniol	t	t	t				
1259	21,91	trans-Myrtenol	0,02	0,04	0,02				
1265	22,55	Carvone	0,1	0,3	0,02				
1278	23,17	Bornyl acetate	1,1	0,8	4,8	0,5	2,5	0,1	1,5
1285	23,67	Carvacrol	0,02	0,04	0,02				
1290	23,96	Thymol	0,1	0,1	0,1				
1246	25,47	α -Terpinyl acetate	0,02	0,04	t				
1348	25,76	Piperitenone	0,7	0,7	0,02				
1350	25,81	exo-2-hidroxy cineole acetate	t	t	t				
1356	26,50	Eugenol	0,4	0,04	0,02				
1344	26,78	Dihydro carveol acetate	0,02	0,04	0,02				
1376	27,27	α -Copaene	0,02	0,7	0,02				
1394	28,42	Jasmone	t	t	t				
1401	28,70	Methyl Eugenol	0,8	1,1	2,3				
1418	29,21	β -Caryophyllene	1,6	7,4	4,0				
1461	30,06	Alloaromadendrene	t	t	t				
1452	30,73	α -Humulene	0,9	2,0	4,8				
1481	31,60	Cadina-19(6),4-diene	t	t	t				
1510	31,74	r-Cadinene	0,02	1,0	0,02				
1512	31,87	α -Muurokene	t	t	t				
1513	32,53	Valencene	0,02	0,5	0,02				
1536	32,77	α -Cadinene	0,02	0,2	0,02				
1508	33,10	β -Bisobolene	0,02	0,3	0,02				
1515	33,33	γ -Cadinene	0,3	1,1	0,02				
1524	33,73	δ -Cadinene	0,1	2,4	3,9				
1528	34,09	Cadina-1(2)4-diene	t	t	t				
1541	34,53	Cadina-1,3,5,9-tetraene	t	t	t				
1575	35,96	Spathulenol	t	t	t				
1581	36,19	Caryophyllene oxide	0,8	1,5	9,5				
1602	37,27	Humulene epoxide	0,02	0,5	2,2				
1600	38,03	epi-Cubenol	0,02	0,4	1,6				
1582	38,18	Globulol	0,02	0,5	0,02				
1605	38,35	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol	0,02	0,8	2,7				
1637	38,50	r-Cadinol	0,02	0,9	3,1				
1643	38,68	α -Muurokol	t	t	t				
1650	39,06	α -Cadinol	0,02	0,4	1,4				
1641	39,17	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol	0,6	2,3	7,4				
1645	39,71	Alloaromadendren oxide	0,02	0,10	2,80				
1648	39,82	Cadelene	t	t	t				
1684	40,16	α -Bisabolol	0,02	0,6	1,1				
1908	48,40	Isopimara-9(11),15-diene	t	t	t				
1915	48,62	Farnesyl acetone	0,02	0,04	2,1				
2052	53,20	Abieta-8,11,13-trien	0,02	0,04	0,02				

Çizelge 3.3. devamı

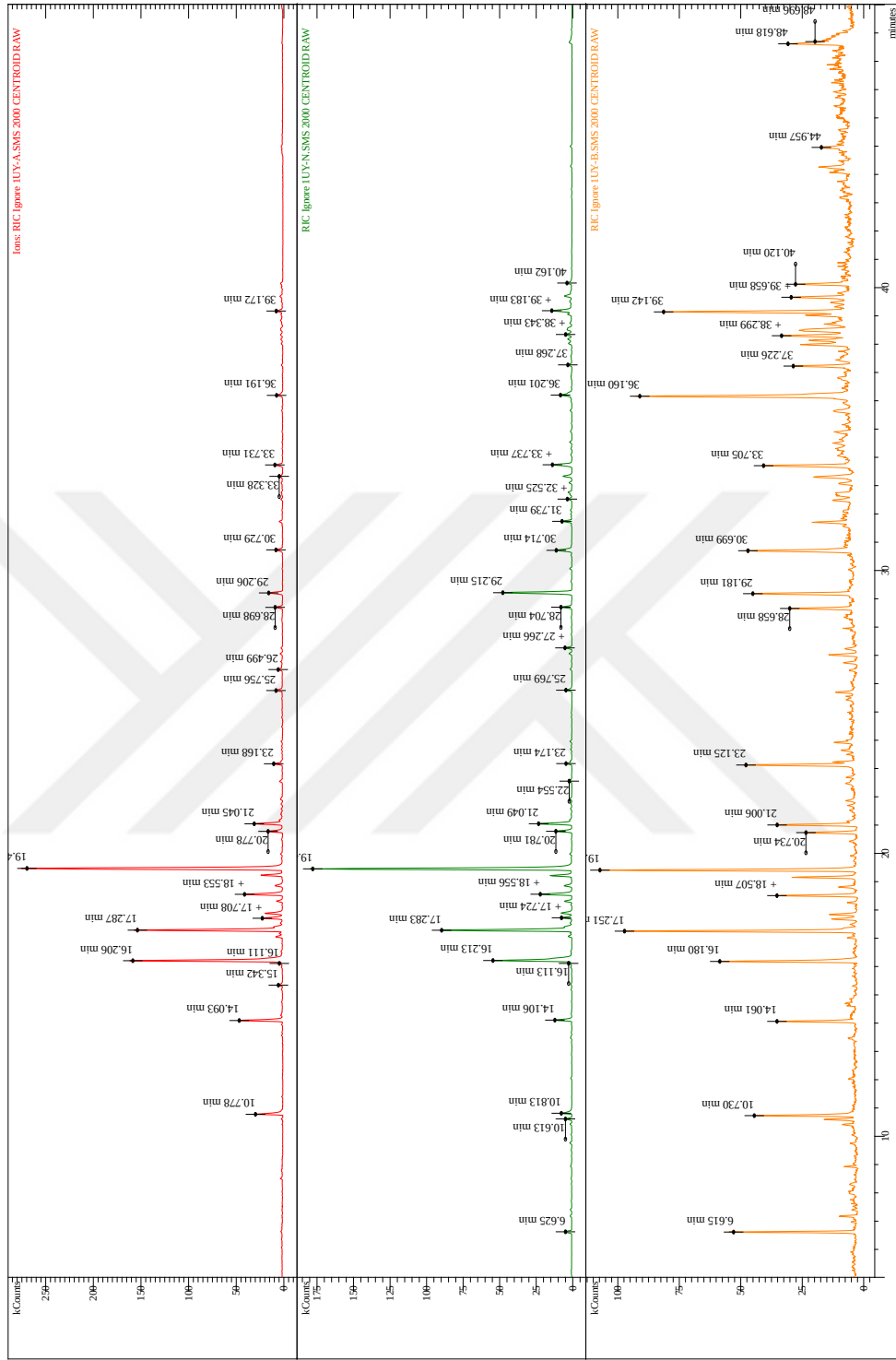
	%	%	%
Total identified (%)	100	99,7	100
Monoterpenler	0,04	1,6	3,7
Monoterpenoitler	93,8	73,1	48,1
Seskiterpenler	3,0	15,6	12,8
Seskiterpenoidler	1,6	8,04	34,8
Diterpenler	0,02	0,04	0,02
Diğerleri	0,02	0,04	t

RI: Rtx®-5 Kolonundaki Retention Index A: pH: 5.8 de elde edilen uçucu yağ, N: pH: 7.0 da elde edilen uçucu yağ, B: pH: 8.0 da elde edilen uçucu yağ t: eser < %0,001

Bitkiyi topladıktan hemen sonra (kurutmadan) farklı pH'lardan elde edilen uçucu yağlar arasında asidik ortamda (pH:5,8) elde edilen yağda verbenone (%31,7), camphor (%17,4), borneol (%16,4), linalool (%4,4), α -terpineol (%4,3), eucaliptol (%2,8), *trans*-shisool (%2, 6), *iso*-bornylformate (%2,1), *cis*-pinocamphone (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%28,1), borneol (%14,6), camphor (%9,4), β -caryophyllene (%7,5), *trans*-shisool (%3,3), α -terpineol (%3,3), δ -cadinene (%2,4), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%2,3), *iso*-bornylformate (%2,1), α -humulene (%2,0) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%10,0), caryophyllene oxide (%9,5), borneol (%8,9), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%7,5), camphor (%5,7), bornyl acetate (%4,8), α -humulene (%4,8), β -caryophyllene (%4,0), δ -cadinene (%3,9), α -pinene (%3,7), eucaliptol (%3,4), τ -cadinol (%3,1), α -terpineol (%3,0), *trans*-shisool (%2,9), alloaromadendiren oxide (%2,8), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol (%2,7), linalool (%2,6), methyl eugenol (%2,4), *iso*-bornylformate (%2,3), humulene epoxide (%2,2), farnesyl acetone (% 2,1) major bileşenler olarak belirlendi.

Chromatogram Plots

Plot 1: ... dilara ibrahimzade\gc-ms ucucu yag\uy-a.s.ms Ions: RCI ignore
 Plot 2: ... dilara ibrahimzade\gc-ms ucucu yag\uy-n.s.ms RCI ignore
 Plot 3: ... dilara ibrahimzade\gc-ms ucucu yag\uy-b.s.ms RCI ignore



Şekil 3.1. IUY kodlu örneklerin asidik, nötr ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

3.3.2. Güneş altında kurutulan 2UY, 3UY, 4UY ve 5UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

R. officinalis 'in güneşte 1. gün, 2. gün, 3. gün ve 4. gün kurutulan ve kodlanan 2UY, 3UY, 4UY ve 5UY kodlu pH'sı 5,8; 7,0 ve 8,0'e ayarlanan hidrodestile edilen uçucu yağların GC-MS kromotogramları Şekil 3.2-Şekil 3.5'de GC-MS analiz sonuçları ise Çizelge 3.4'te verilmektedir. Analiz sonucunda suyun 5,8(A); 7,0(N) ve 8,0(B) gibi üç farklı pH'da elde edilen uçucu yağlarda 91 bileşen olduğu tespit edildi ve tamamının yapıları aydınlatıldı.

Çizelge 3.4. Güneş altında kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

RI	Rt (Dk)	Bileşimin Adı	Güneşte Kurutulan Örnekler											
			2UY			3UY			4UY			5UY		
			A %	N %	B %	A %	N %	B %	A %	N %	B %	A %	N %	B %
930	6,21	α -Thujene	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1
937	6,62	α -Pinene	17,5	19,6	8,5	3,8	9,7	3,7	4,6	0,01	0,03	3,6	0,7	8,2
950	7,19	Camphene	2,6	3,5	1,2	1,1	1,6	1,1	1,2	0,01	t	1,4	0,2	3,1
957	7,41	Thuja-2,4(10)-diene	0,6	0,1	0,01	0,02	0,6	0,4	0,4	0,01	t	t	t	0,1
972	8,07	3,7,7-Trimethyl cyclohepta-1,3,5-triene	0,03	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
980	8,32	β -Pinene	0,6	0,7	0,01	0,02	0,4	0,2	0,2	0,01	t	0,2	0,03	0,2
985	8,49	1-Octen-3-ol	0,1	0,2	t	0,02	0,2	0,3	0,2	0,01	t	0,1	0,1	0,1
988	8,86	3-Octanone	t	t	t	t	t	0,1	0,1	t	t	t	t	0,04
992	8,95	Myrcene	1,9	1,9	1,2	0,4	1,4	0,7	0,8	0,1	t	0,5	0,1	0,6
1000	9,51	α -Phellandrene	0,3	0,3	0,01	0,02	0,01	0,2	0,2	0,01	t	t	t	t
1010	9,77	3-Carene	0,4	0,7	0,01	0,7	0,6	0,7	0,6	0,01	t	t	t	t
1020	10,06	α -Terpinene	0,5	0,5	0,01	0,02	0,5	0,2	0,2	0,01	t	t	t	0,05
1028	10,43	p-Cymene	1,6	1,7	1,3	1,2	1,6	1,2	1,4	0,01	t	2,2	0,3	2,1
1027	10,61	Limonene	3,9	4,3	3,2	2,3	3,7	2,8	2,7	0,01	t	1,1	0,2	2,4
1039	10,78	Eucaliptol	11,2	14,0	10,3	8,5	10,7	10,1	9,1	0,1	0,03	46,2	18,0	53,2
1044	11,11	trans-Ocimene	0,04	0,05	0,01	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1050	11,39	Benzene acetaldehyde	0,06	0,02	t	t	t	0,04	0,01	0,01	t	t	t	t
1058	12,06	γ -Terpinene	0,7	0,6	0,6	0,02	0,6	0,2	0,3	0,01	t	t	t	t
1075	12,84	cis-Linaloloxide	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,03	0,1
1088	13,49	Terpinolene	1,0	1,0	1,1	t	1,0	0,7	0,7	0,01	t	0,04	0,03	0,1
1091	13,53	p-Cymenene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1098	14,09	Linalool	3,2	4,1	4,6	5,0	4,4	4,7	4,5	0,4	3,1	1,1	0,7	1,1
1096	14,28	Fenchone	0,2	t	0,01	0,3	0,4	0,5	0,4	0,01	t	t	t	t
1118	14,73	Fenchylalcohol	0,1	0,1	t	t	t	0,1	0,1	0,01	t	0,1	0,1	0,1
1122	15,17	cis-2-Menthenol	0,05	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1123	15,34	2 Pinene-7-one	0,4	0,5	0,01	0,6	0,6	0,8	0,7	0,1	t	0,2	0,1	0,2
1139	15,97	Sabinol	0,05	0,1	t	t	t	0,1	0,2	0,01	t	0,1	0,05	0,1
1143	16,11	cis-Verbenol	0,1	0,1	t	t	t	t	0,1	0,01	t	t	t	t
1144	16,21	Camphor	10,7	13,2	14,4	17,3	13,0	17,6	16,3	0,4	3,6	16,8	9,3	15,4
1145	16,42	cis- β -Terpineol	0,05	0,04	t	t	t	0,04	t	t	t	0,02	0,03	0,1
1166	16,50	α -Fellandren-8-ol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1047	16,86	Isopulegol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,03	0,04
1172	17,05	cis-3-Pinanone	0,5	0,6	0,6	1,1	0,7	1,1	1,2	0,01	t	0,2	0,1	0,2
1174	17,17	Pinocarvone	0,2	0,3	0,01	0,02	0,2	0,3	0,3	0,01	t	0,1	0,03	0,1
1173	17,29	Borneol	5,4	6,9	9,9	15,4	9,1	13,4	13,2	10,8	21,2	5,7	6,3	3,9
1175	17,51	iso-Borneol	t	t	t	t	t	0,1	0,2	t	t	t	t	t
1177	17,71	cis-Pinocamphone	1,3	1,7	1,7	2,2	1,6	2,2	2,1	0,1	t	0,03	t	t
1180	17,88	Terpinen-4-ol	1,4	1,4	1,1	1,9	1,7	1,5	1,6	0,1	1,9	1,0	0,6	0,6
1184	18,31	p-Cymene-8-ol	0,2	0,2	0,01	0,6	0,3	0,5	0,4	0,1	0,03	0,1	0,2	0,05
1190	18,55	α -Terpineol	2,7	2,1	3,8	3,2	3,2	2,9	3,2	2,1	6,4	5,4	8,6	2,6
1194	18,86	Myrtenol	0,3	0,3	0,01	0,7	0,5	0,6	0,6	0,1	1,1	0,1	0,1	0,04
1225	19,23	iso-Bornylformate	1,1	0,8	1,7	1,4	1,5	1,3	1,6	0,4	3,8	0,04	0,1	t
1204	19,47	Verbenone	17,5	9,9	22,5	22,0	20,3	16,3	17,1	42,6	24,2	0,6	0,5	0,2
1230	19,97	cis-Carveol	0,1	0,1	0,01	0,02	0,01	0,1	0,2	0,01	t	0,1	0,2	0,04
1240	20,46	Citronellal	t	t	t	t	t	0,07	t	t	t	t	0,1	t
1264	20,78	P-Menth-2-en-trans-7-ol	0,7	0,5	0,1	1,1	0,1	1,1	1,2	0,4	3,7	t	t	t
1248	21,05	trans-Shisool	0,1	0,8	1,5	1,7	1,4	1,9	2,2	4,4	7,3	t	0,04	t
1252	21,17	Carvone	0,2	t	0,01	0,02	0,01	0,2	0,2	0,01	t	t	t	t
1255	21,73	trans-Geraniol	0,2	0,1	0,01	0,02	0,3	0,01	t	0,01	t	t	t	t
1259	21,91	trans-Myrtenol	0,05	0,05	t	0,02	0,01	0,1	0,1	0,01	t	t	t	t
1265	22,55	Carvone	0,1	0,1	0,01	0,02	0,01	0,2	0,1	0,1	t	t	0,05	t
1278	23,17	Bornyl acetate	3,4	2,7	3,9	1,6	2,7	1,9	1,5	0,1	0,03	0,3	0,1	0,3
1285	23,67	Carvacrol	0,1	0,02	t	0,02	0,01	0,02	t	0,01	t	0,6	2,3	0,1
1290	23,96	Thymol	0,1	0,03	0,01	0,02	0,01	0,06	t	0,01	t	10,0	42,6	1,1
1246	25,47	α -Terpinyl acetate	0,1	0,04	t	t	t	t	t	0,01	t	t	t	t
1348	25,76	Piperitenone	0,1	0,1	0,01	0,5	0,01	0,4	0,4	0,4	1,8	t	t	t
1350	25,81	exo-2-hidroxy cineole acetate	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1356	26,50	Eugenol	0,01	0,02	0,01	t	t	t	0,01	0,1	t	0,2	0,4	0,05
1344	26,78	Dihydro carveol acetate	0,1	0,1	0,01	0,02	0,01	0,1	t	t	t	t	t	t
1376	27,27	α -Copaene	0,1	0,2	0,01	0,6	0,01	0,3	0,4	0,1	0,03	0,05	t	t
1394	28,42	Jasmone	0,1	0,02	0,01	t	t	t	t	0,01	t	t	t	t
1401	28,70	Methyl Eugenol	0,2	0,1	0,01	0,02	0,4	0,3	0,4	4,0	2,3	0,1	0,4	t
1418	29,21	β -Caryophyllene	1,8	1,6	3,5	2,3	2,4	1,9	1,9	6,1	4,2	0,1	0,05	0,04
1461	30,06	Alloaromadendrene	t	0,04	t	t	t	0,1	0,1	t	t	t	t	t

Çizelge 3.4. devamı

RI	Rt (Dk)	Bileşimin Adı	Güneşte Kurutulan Örnekler											
			2UY			3UY			4UY			5UY		
			A	N	B	A	N	B	A	N	B	A	N	B
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1452	30,73	α -Humulene	0,4	0,4	0,01	0,8	0,7	0,7	0,7	4,7	2,6	0,05	0,2	t
1510	31,74	γ -Cadinene	0,2	0,2	0,01	0,02	0,01	0,3	0,3	0,1	0,03	0,03	t	t
1512	31,87	α -Murolene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1513	32,53	Valencene	0,1	0,1	0,01	0,02	0,01	0,2	0,1	0,04	0,02	t	t	t
1536	32,77	α -Cadinene	0,1	0,04	0,01	0,02	0,01	0,2	0,1	0,01	t	t	0,1	t
1508	33,10	β -Bisobolene	0,04	0,02	0,01	t	t	0,1	t	0,01	t	t	0,1	t
1515	33,33	γ -Cadinene	0,1	0,1	0,01	0,02	0,01	0,4	0,4	0,1	0,03	0,1	0,2	0,1
1524	33,73	δ -Cadinene	0,3	0,3	0,01	1,0	0,7	0,8	0,8	7,2	4,1	0,05	0,1	0,02
1528	34,09	Cadina-1(2)4-diene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1541	34,53	Cadina-1,3,5,9-tetraene	0,02	t	t	t	t	0,1	t	t	t	t	t	t
1575	35,96	Spathulenol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	t
1581	36,19	Caryophyllene oxide	0,2	0,1	0,01	0,02	0,01	0,4	0,4	6,3	2,6	0,1	1,4	0,02
1602	37,27	Humulene epoxide	0,04	0,02	0,01	t	t	0,1	t	0,01	t	0,03	0,2	t
1600	38,03	epi-Cubenol	0,01	t	t	t	0,01	0,1	0,05	0,01	t	t	t	t
1582	38,18	Globulol	t	t	t	t	t	t	t	t	1,1	0,05	0,4	t
1605	38,35	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol	0,02	t	t	t	t	t	t	t	t	0,05	0,5	t
1637	38,50	γ -Cadinol	0,03	t	t	t	t	0,1	t	t	t	0,02	0,3	t
1643	38,68	α -Murolol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1650	39,06	α -Cadinol	t	t	t	t	t	0,04	t	0,01	t	t	0,03	t
1641	39,17	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol	0,05	t	t	0,02	0,01	0,2	0,4	7,1	3,7	0,4	1,5	0,04
1645	39,71	Alloaromadendren oxide	t	t	t	t	t	t	0,02	0,01	t	0,2	0,6	0,02
1648	39,82	Cadelene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	t
1684	40,16	α -Bisabolol	t	t	t	0,02	0,01	0,1	t	0,01	t	t	0,2	t
1908	48,40	Isopimara-9(11),15-diene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	t
1915	48,62	Farnesyl acetone	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
2052	53,20	Abieta-8,11,13-trien	0,01	0,01	0,01	t	t	t	t	0,01	t	t	0,1	t
Total identified (%)			99,1	99,8	99,0	100	100	99,6	99,8	100	100	99,8	98,9	100
Monoterpenler			31,8	35,0	17,2	9,6	21,7	12,1	13,3	0,2	0,03	9,04	1,6	16,1
Monoterpenoitler			62,3	61,1	76,2	85,3	73,2	80,6	79,2	66,9	80,5	89,3	91,1	79,6
Seskiterpenler			2,76	3,0	3,6	4,8	3,8	5,1	4,8	18,4	11,0	0,4	0,8	0,2
Seskiterpenoidler			0,3	0,1	0,02	0,1	0,04	1,01	0,9	13,4	7,4	0,8	5,2	0,1
Diterpenler			0,01	0,01	0,01	t	t	t	t	0,01	t	t	0,2	t
Diğerleri			0,2	0,2	t	0,02	0,2	0,4	0,3	0,02	t	0,1	0,1	0,1

RI: Rtx®-5 Kolonundaki Retention Index A: pH: 5,8 de elde edilen uçucu yağ, N: pH: 7,0 da elde edilen uçucu yağ, B: pH: 8,0 da elde edilen uçucu yağ t: eser < %0,001

Bitkiyi topladıktan sonra 1., 2., 3. ve 4. gün olarak güneşte kurutup farklı pH'lardan elde edilen uçucu yağlar arasında asidik ortamda (pH:5,8) 1.gün (2UY) elde edilen yağda verbenone (% 17,5), α -pinene (%17,5), eucaliptol (%11,2), camphor (% 10,7), borneol (% 5,4), limonene (%3,9), linalool (% 3,2), α -terpineol (%2,7) ve camphene (%2,6) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda α -pinene (%19,6), eucaliptol (%14,0), camphor (%13,2), verbenone (% 9,9), borneol (%6,9), limonene (%4,3), linalool (%4,1), camphene (%3,5) ve α -terpineol (%2,1), major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%22,5), camphor (% 14,4), eucaliptol (%10,3), borneol (%9,9), α -pinene (%8,5), linalool (%4,6), bornyl acetate (%3,9), α -terpineol (%3,8), β -caryophyllene (%3,5), limonene (%3,2) major bileşenler olarak belirlendi.

Güneşte kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 2.gün (3UY) elde edilen yağda verbenone (% 22,0), camphor (% 17,3), borneol (%15,4), eucaliptol (% 8,5), linalool (%5,0), α -pinene (% 3,8), α -terpineol (%3,2), β -caryophyllene (%2,3), cis-pinocamphone (%2,2) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (% 20,3), camphor (%13,0), eucaliptol (%10,7), α -pinene (%9,7), borneol (% 9,1), linalool (%4,4), α -terpineol (%3,2), bornyl acetate (%2,7), β -caryophyllene (%2,4), cis-pinocamphone (%1,6) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda camphor (%17,6),

verbenone (%16,3), borneol (%13,4), linalool (%4,7), α -pinene (%3,7), α -terpineol (%2,9), *cis*-pinocamphone (%2,2), *trans*-shisool (%7,3), major bileşenler olarak belirlendi.

Güneşte kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 3.gün (4UY) elde edilen yağda verbenone (%17,1), camphor (%16,3), borneol (%13,2), eucaliptol (% 9,1), α -pinene (%4,6), linalool (%4,5), α -terpineol (%3,2), *trans*-shisool (%2,2), major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%42,6), borneol (%10,8), δ -cadinene (%7,2), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%7,1), caryophyllene oxide (%6,3), β -caryophyllene (%6,1), α -humulene (%4,7), *trans*-shisool (%4,4), methyl eugenol (%4,0), α -terpineol (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%24,2), borneol (%21,2), *trans*-shisool (%7,3), α -terpineol (%6,4), β -caryophyllene (%4,2), δ -cadinene (%4,1), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%3,7), camphor (%3,6), linalool (%3,1), α -humulene (%2,6), caryophyllene oxide (%2,6), methyl eugenol (%2,3) major bileşenler olarak belirlendi.

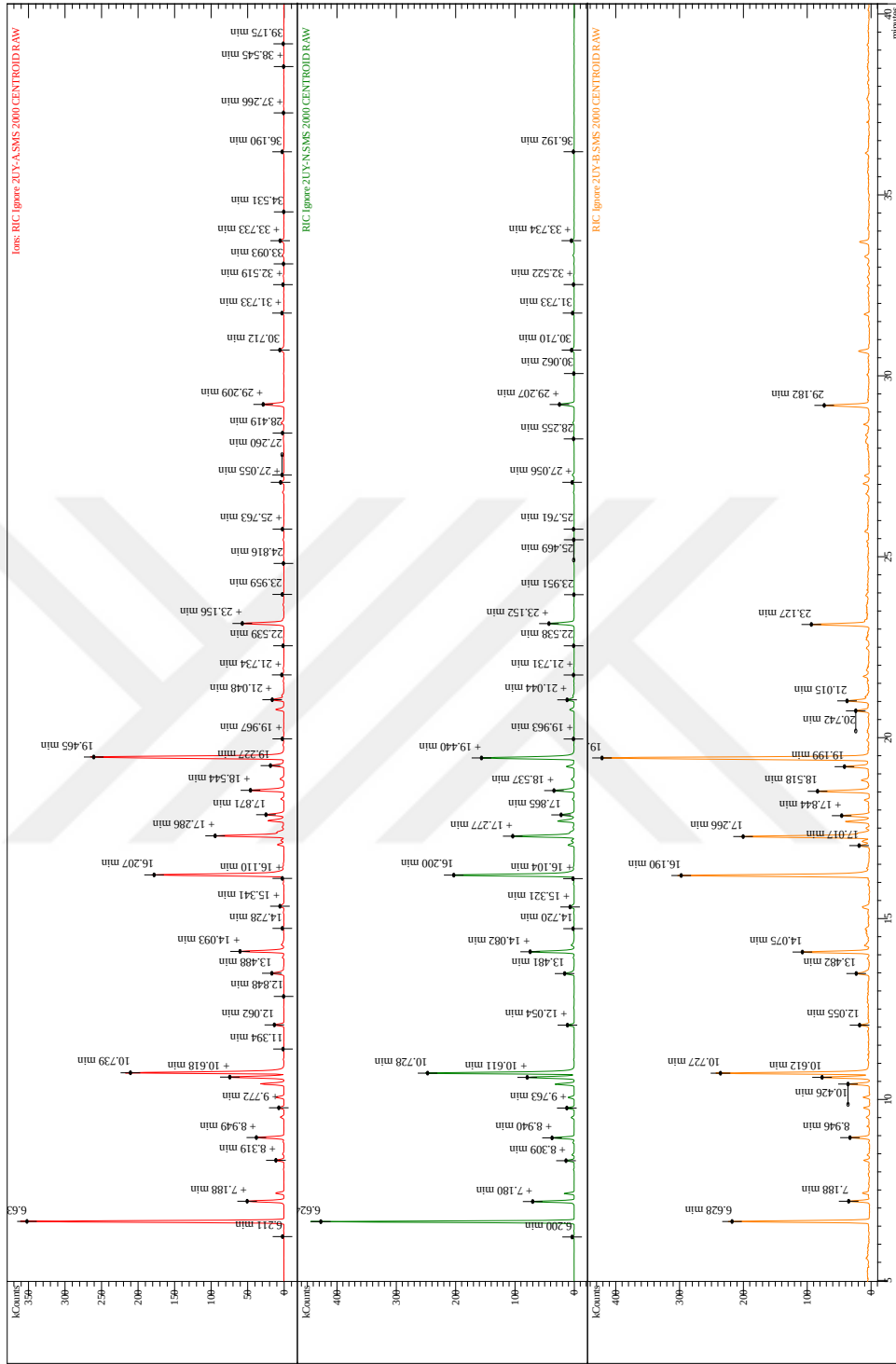
Güneşte kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 4.gün (5UY) elde edilen yağda eucaliptol (% 46,2), camphor (%16,8), thymol (%10,0), borneol (%5,7), α -terpineol (%5,4), α -pinene (%3,6), *p*-cymene (%2,2), camphene (%1,4) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda thymol (%42,6), eucaliptol (%18,0), camphor (%9,3), α -terpineol (%8,6), borneol (%6,3), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%1,5) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda eucaliptol (%53,2), camphor (%15,4), α -pinene (%8,2), borneol (%3,9), camphene (%3,1), α -terpineol (%2,6), limonene (%2,4), carvacrol (%2,3), *p*-cymene (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi.

Chromatogram Plots

Plot 1: ... dilara Ibrahimzade-ns ucucu yağ2uy-ns.ms Ions: RIC Ignore

Plot 2: ... dilara Ibrahimzade-ns ucucu yağ2uy-ns.ms RIC Ignore

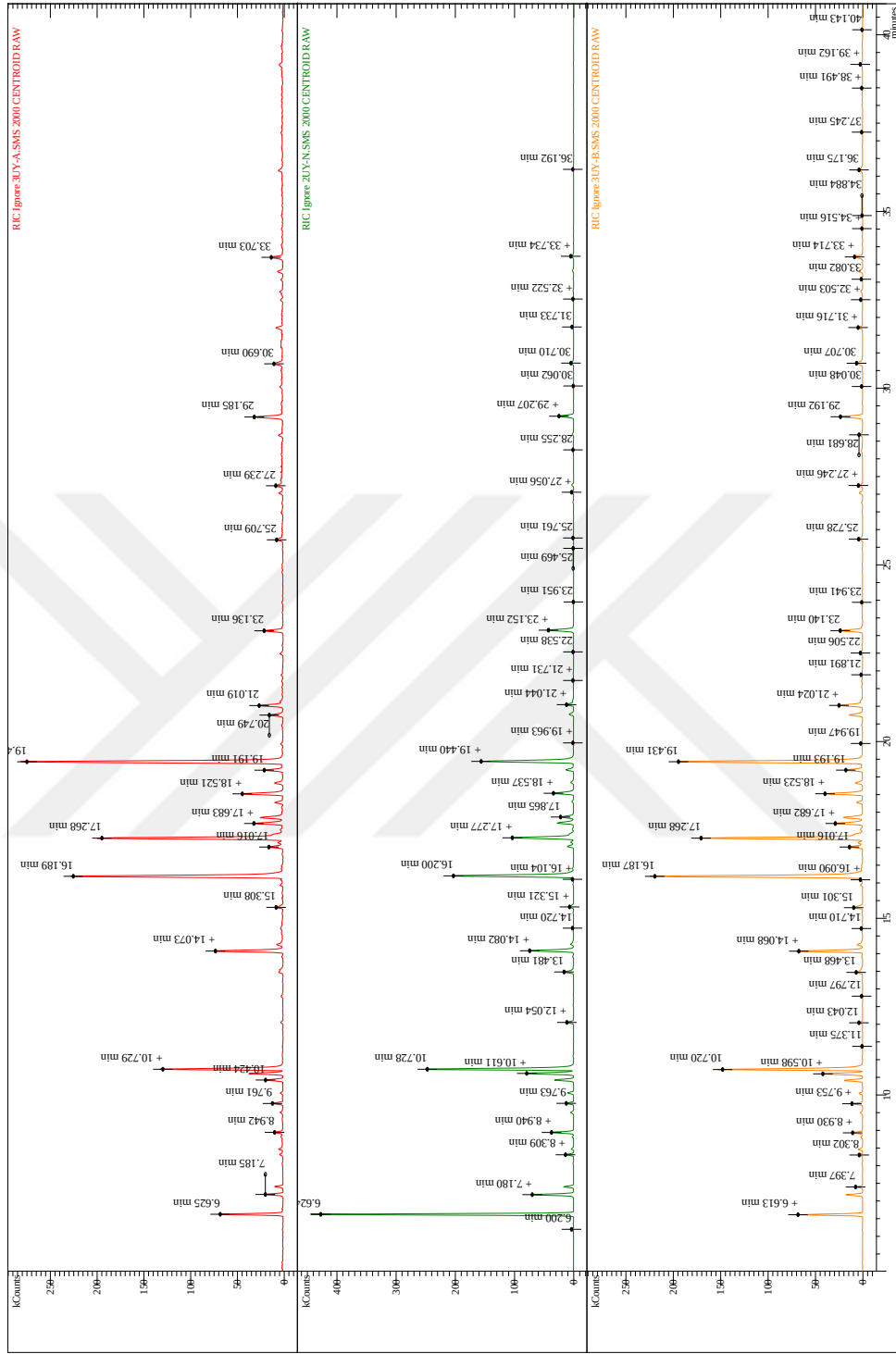
Plot 3: ... dilara Ibrahimzade-ns ucucu yağ2uy-b.ms RIC Ignore



Şekil 3.2. 2UY kodlu örneklerin asidik, nötr ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

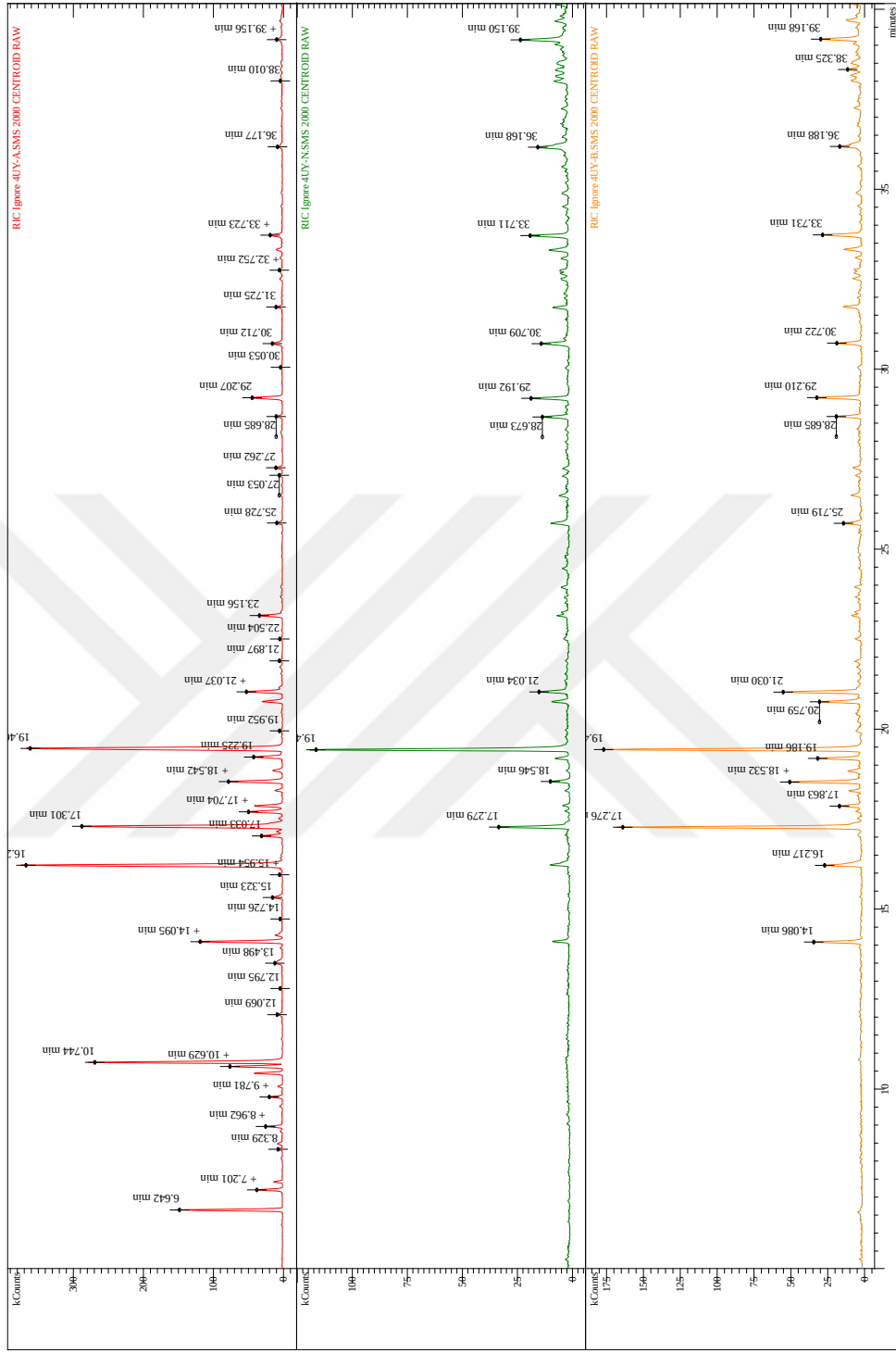
Plot 1: ... dilara ibrahimzade-ge-ns ucucu yağ3uy-a.s.ms RIC Ignore
 Plot 2: ... dilara ibrahimzade-ge-ns ucucu yağ2uy-n.s.ms RIC Ignore
 Plot 3: ... dilara ibrahimzade-ge-ns ucucu yağ3uy-b.s.ms RIC Ignore



Şekil 3.3. 3UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazık ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

Plot 1: ... dilana ibrahimzade\gc-ns ucucu yağ\4uy-a.s.ms RIC Ignore
 Plot 2: ... dilana ibrahimzade\gc-ns ucucu yağ\4uy-n.s.ms RIC Ignore
 Plot 3: ... dilana ibrahimzade\gc-ns ucucu yağ\4uy-b.s.ms RIC Ignore



Şekil 3.4. 4UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazık ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

Plot 1: ... dilana ibrahimzade-gc-ns ucucu yag5uy-a.sms RIC ignore
 Plot 2: ... dilana ibrahimzade-gc-ns ucucu yag5uy-a.sms RIC ignore
 Plot 3: ... dilana ibrahimzade-gc-ns ucucu yag5uy-b.sms RIC ignore



Şekil 3.5. 5UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

3.3.3. Gölgede kurutulan 6UY, 7UY, 8UY ve 9UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

R. officinalis 'in gölgede 1. gün, 2. gün, 3. gün ve 4. gün kurutulan ve 6UY, 7UY, 8UY ve 9UY kodlu örneklerin pH'sı 5,8; 7,0 ve 8,0'e ayarlanan su ile hidrodestile edilen uçucu yağların GC-MS kromatogramları Şekil 3.6-Şekil 3.9'da GC-MS analiz sonuçları ise Çizelge 3.5'te verilmektedir. Analiz sonucunda suyun 5,8(A); 7,0(N) ve 8,0(B) gibi üç farklı pH'da elde edilen uçucu yağlarda 91 bileşen olduğu tespit edildi ve tamamının yapıları aydınlatıldı.

Çizelge 3.5. Gölgede kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

RI	Rt (dk)	Bileşimin Adı	Güneşte Kurutulan Örnekler											
			6UY			7UY			8UY			9UY		
			A	N	B	A	N	B	A	N	B	A	N	B
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
930	6,21	α -Thujene	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
937	6,62	α -Pinene	0,1	8,7	4,1	2,6	t	t	t	t	t	t	t	t
950	7,19	Camphene	t	2,3	t	1,1	t	t	t	t	t	t	t	t
957	7,41	Thuja-2,4(10)-diene	t	0,7	t	0,3	t	t	t	t	t	t	t	t
972	8,07	3,7,7-Trimethyl cyclohepta-1,3,5-triene	t	0,1	t	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t
980	8,32	β -Pinene	t	0,4	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
985	8,49	1-Octen-3-ol	0,17	0,2	t	0,2	t	0,03	t	t	t	t	t	t
988	8,86	3-Octanone	t	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
992	8,95	Myrcene	0,02	1,0	0,03	0,5	t	t	t	t	t	t	t	t
1000	9,51	α -Phellandrene	t	0,3	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
1010	9,77	3-Carene	t	1,1	t	0,7	t	t	t	t	t	t	t	t
1020	10,06	α -Terpinene	t	0,4	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
1028	10,43	p-Cymene	0,1	1,2	0,03	1,4	t	t	t	t	t	t	t	t
1027	10,61	Limonene	0,2	3,7	1,6	2,4	t	t	t	t	t	t	t	t
1039	10,78	Eucaliptol	3,6	9,1	0,03	8,3	0,1	1,7	10,7	t	t	1,9	0,1	t
1044	11,11	trans-Ocimene	t	0,04	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1050	11,39	Benzene acetaldehyde	t	t	t	0,04	t	t	t	t	t	t	t	t
1058	12,06	γ -Terpinene	0,02	0,40	t	0,10	t	t	t	t	t	t	t	t
1075	12,84	cis-Linaloloxide	0,1	0,01	t	0,1	t	0,3	t	t	t	t	t	t
1088	13,49	Terpinolene	0,1	0,9	t	0,2	t	t	0,2	t	t	t	t	t
1091	13,53	p-Cymene	t	t	t	0,3	t	t	t	t	t	t	t	t
1098	14,09	Linalool	4,8	4,2	0,03	3,1	0,4	6,8	4,1	1,4	9,3	5,9	2,8	1,8
1096	14,28	Fenchone	0,3	0,4	t	0,3	t	0,1	t	t	t	t	t	t
1118	14,73	Fenchylalcohol	0,1	0,1	t	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t
1122	15,17	cis-2-Menthenol	0,1	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
1123	15,34	2 Pinene-7-one	0,5	0,2	t	0,5	t	0,5	0,2	t	t	t	t	t
1139	15,97	Sabinol	0,1	0,1	t	0,2	t	0,2	0,3	t	t	t	t	t
1143	16,11	cis-Verbenol	0,2	0,2	t	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t
1144	16,21	Camphor	15,9	14,3	0,1	17,7	1,4	18,6	13,5	t	12,8	17,5	7,2	3,8
1145	16,42	cis- β -Terpineol	0,02	0,02	t	0,04	t	t	0,1	t	t	t	t	t
1166	16,50	α -Fellandren-8-ol	0,10	0,04	t	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t
1047	16,86	Isopulegol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1172	17,05	cis-3-Pinanone	0,1	0,8	t	1,5	t	1,08	1,1	t	t	1,6	0,3	t
1174	17,17	Pinocarvone	0,3	0,3	t	0,3	t	0,2	0,3	t	t	t	t	t
1173	17,29	Borneol	17,0	11,3	0,1	16,3	6,9	17,9	18,1	t	18,5	19,7	12,1	15,9
1175	17,51	iso-Borneol	0,1	0,1	t	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t
1177	17,71	cis-Pinocamphe	2,3	2,1	t	2,2	0,2	2,5	1,9	t	1,8	2,9	0,8	0,6
1180	17,88	Terpinen-4-ol	1,8	1,4	t	1,5	0,4	2,8	2,04	t	3,9	2,1	1,2	1,3
1184	18,31	p-Cymene-8-ol	0,6	0,3	t	0,5	0,9	0,8	0,7	t	0,02	0,6	1,3	1,4
1190	18,55	α -Terpineol	3,7	2,5	0,3	2,8	1,6	4,5	5,8	t	5,1	5,1	4,7	5,4
1194	18,86	Myrtenol	0,8	0,5	t	0,6	0,4	0,8	1,1	t	0,02	0,9	0,8	1,3
1225	19,23	iso-Bornylformate	1,9	1,2	0,03	1,7	1,4	1,7	2,1	t	2,2	2,2	2,2	3,1
1204	19,47	Verbenone	23,1	14,8	4,1	14,5	47,4	31,3	28,1	98,1	33,9	27,1	52,0	41,7
1230	19,97	cis-Carveol	0,2	0,1	t	0,1	0,1	0,2	0,3	t	0,02	0,02	0,4	0,8
1240	20,46	Citronellal	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1264	20,78	P-Menth-2-en-trans-7-ol	1,4	0,1	t	1,6	1,8	1,5	1,9	t	2,3	1,9	2,0	3,02
1248	21,05	trans-Shisool	2,1	1,1	t	3,2	3,8	2,7	3,3	t	0,3	2,8	3,4	6,3
1252	21,17	Carvone	0,1	0,03	t	0,1	t	0,1	0,03	t	t	t	t	t
1255	21,73	trans-Geraniol	0,1	t	t	t	t	t	0,2	t	t	t	0,7	t
1259	21,91	trans-Myrtenol	0,2	0,1	t	0,1	0,2	0,1	0,2	t	t	t	t	t
1265	22,55	Carvone	0,3	0,1	t	0,2	0,5	0,3	0,3	t	t	t	0,7	0,6
1278	23,17	Bornyl acetate	2,1	2,1	1,5	0,9	0,2	0,2	t	0,1	t	0,8	t	t
1285	23,67	Carvacrol	0,1	0,04	t	0,2	0,8	0,1	0,1	t	0,01	0,01	0,3	0,3
1290	23,96	Thymol	0,1	0,1	0,03	0,1	0,9	0,1	t	t	t	t	0,4	0,5
1246	25,47	α -Terpinyl acetate	0,06	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1348	25,76	Piperitenone	0,6	0,3	0,03	0,4	2,0	0,6	0,9	t	1,0	0,6	1,5	1,8
1350	25,81	exo-2-hidroxy cineole acetate	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1356	26,50	Eugenol	0,1	0,04	0,03	0,05	0,3	0,1	0,3	t	t	t	t	1,1
1344	26,78	Dihydro carveol acetate	0,1	0,1	t	0,05	t	t	t	t	t	t	t	t
1376	27,27	α -Copaene	0,5	0,2	0,03	0,4	0,1	t	t	t	t	t	t	t
1394	28,42	Jasmone	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1401	28,70	Methyl Eugenol	0,6	0,4	0,03	0,6	2,3	0,5	0,6	0,1	t	t	1,0	1,4
1418	29,21	β -Caryophyllene	3,6	2,1	11,2	1,8	0,9	0,03	t	t	t	1,1	t	t
1461	30,06	Alloaromadendrene	0,1	0,1	t	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	t
1452	30,73	α -Humulene	1,4	0,8	6,8	0,8	1,2	0,1	0,3	t	1,4	1,1	1,3	0,6
1481	31,60	Cadina-19(6),4-diene	0,05	t	t	0,02	t	t	t	t	t	t	t	t

Çizelge 3.5. devamı

Rİ	Rt (dk)	Bileşimin Adı	Güneşte Kurutulan Örnekler											
			6UY			7UY			8UY			9UY		
			A	N	B	A	N	B	A	N	B	A	N	B
			%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
1510	31,74	τ -Cadinene	0,7	0,2	2,6	0,5	0,5	t	t	t	t	t	t	t
1512	31,87	α -Murolene	0,1	t	t	0,08	t	t	t	t	t	t	t	t
1513	32,53	Valencene	0,2	0,1	t	0,2	t	t	t	t	t	t	t	t
1536	32,77	α -Cadinene	0,3	0,1	t	0,2	t	t	t	t	t	t	t	t
1508	33,10	β -Bisobolene	0,2	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t
1515	33,33	γ -Cadinene	0,6	0,3	3,4	0,5	0,9	0,03	t	t	t	t	t	t
1524	33,73	δ -Cadinene	1,3	0,6	7,8	0,1	1,9	0,03	t	t	t	1,0	t	t
1528	34,09	Cadina-1(2)4-diene	0,1	t	t	0,03	t	t	t	t	t	t	t	t
1541	34,53	Cadina-1,3,5,9-tetraene	0,1	0,05	t	0,1	0,4	t	t	t	t	t	t	t
1575	35,96	Spathulenol	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1581	36,19	Caryophyllene oxide	0,8	0,5	10,6	0,7	3,9	0,3	0,4	t	3,2	0,1	1,4	1,5
1602	37,27	Humulene epoxide	0,1	0,1	2,4	0,1	0,5	0,1	t	t	t	t	t	0,4
1600	38,03	<i>epi</i> -Cubenol	0,1	0,1	2,9	0,1	1,0	t	t	t	t	t	t	t
1582	38,18	Globulol	0,1	t	2,3	0,1	0,1	0,04	t	t	t	t	t	0,5
1605	38,35	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol	0,1	0,1	3,7	0,1	1,2	0,03	t	t	t	t	t	0,6
1637	38,50	τ -Cadinol	0,2	0,2	4,8	0,2	1,7	0,03	t	t	t	t	t	t
1643	38,68	α -Murolol	t	0,02	0,9	t	0,4	t	t	t	t	t	t	t
1650	39,06	α -Cadinol	0,05	0,05	1,7	0,1	0,7	t	t	t	t	t	t	0,3
1641	39,17	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol	0,3	0,3	11,4	0,4	4,8	0,3	0,6	t	2,7	1,1	1,1	2,9
1645	39,71	Alloaromadendiren oxide	0,1	0,1	3,1	0,1	1,3	t	t	t	t	t	t	0,9
1648	39,82	Cadelene	t	0,02	t	0,03	0,6	t	t	t	t	t	t	t
1684	40,16	α -Bisabolol	0,1	0,1	3,2	0,1	1,2	0,03	t	0,1	1,2	t	t	t
1908	48,40	Isopimara-9(11),15-diene	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
1915	48,62	Farnesyl acetone	t	t	6,8	t	t	t	t	t	t	t	t	t
2052	53,20	Abieta-8,11,13-trien	0,02	0,03	2,1	0,05	0,1	0,03	t	t	t	t	t	t
		Toplam tanımlanan	99,3	99,4	100	99,4	98,8	99,8	99,8	100	100	100	100	100
		Monoterpenler	0,5	21,	5,8	9,9	t	t	0,2	t	t	t	t	t
		Monoterpenoitler	85,6	68,7	6,3	80,2	74,0	98,5	98,3	99,7	91,2	93,6	95,9	92,1
		Seskiterpenler	9,2	4,6	31,8	4,1	6,6	0,2	0,3	t	1,4	3,2	1,3	0,6
		Seskiterpenoidler	1,9	1,6	53,8	2,0	16,8	0,8	1,0	0,1	7,1	1,2	2,5	7,1
		Diterpenler	0,02	0,03	2,1	0,05	0,1	0,03	t	t	t	t	t	t
		Diğerleri	0,2	0,3	t	0,3	t	0,03	t	t	t	t	t	t

RI: Rtx®-5 Kolonundaki Retention Index A: pH: 5.8 de elde edilen uçucu yağ, N: pH: 7.0 da elde edilen uçucu yağ, B: pH: 8.0 da elde edilen uçucu yağ t: eser < %0,001

Bitkiyi topladıktan sonra 1.2.3. ve 4. gün olarak gölgede kurutup farklı pH'lardan elde edilen uçucu yağlar arasında asidik ortamda (pH:5,8) 1.gün elde edilen yağda verbenone (%23,1), borneol (%17,0), camphor (%15,9), linalool (%4,8), α -terpineol (%3,7), β -caryophyllene (%3,6), eucaliptol (%3,6), *trans*-shisool (%3,0), *cis*-pinocamphone (%2,3), bornyl acetate (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%14,8), camphor (%14,4), borneol (%11,3), eucaliptol (%10,0), α -pinene (%8,70), linalool (%4,20), limonene (%3,7), α -terpineol (%2,5), camphene (%2,3), *cis*-pinocamphone (%2,1), bornyl acetate (%2,10), β -caryophyllene (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%11,4), β -caryophyllene (%11,2), caryophyllene oxide (%10,6), δ -cadinene (%7,8), farnesyl acetone (%6,8), α -humulene (%6,8), τ -cadinol (%4,8), verbenone (%4,1), α -pinene (%4,1), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol (%3,8), γ -cadinene (%3,4), α -bisabolol (%3,3), alloaromadendiren oxide (%3,1), *epi*-cubenol (%2,9), τ -cadinene (%2,6), humulene epoxide (%2,4), globulol (%2,3), abieta-8,11,13-trien (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi.

Gölgede kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 2.gün elde edilen yağda camphor (%17,7), borneol (%16,3), verbenone (%14,5), eucaliptol (%8,3), linalool (%4,0),

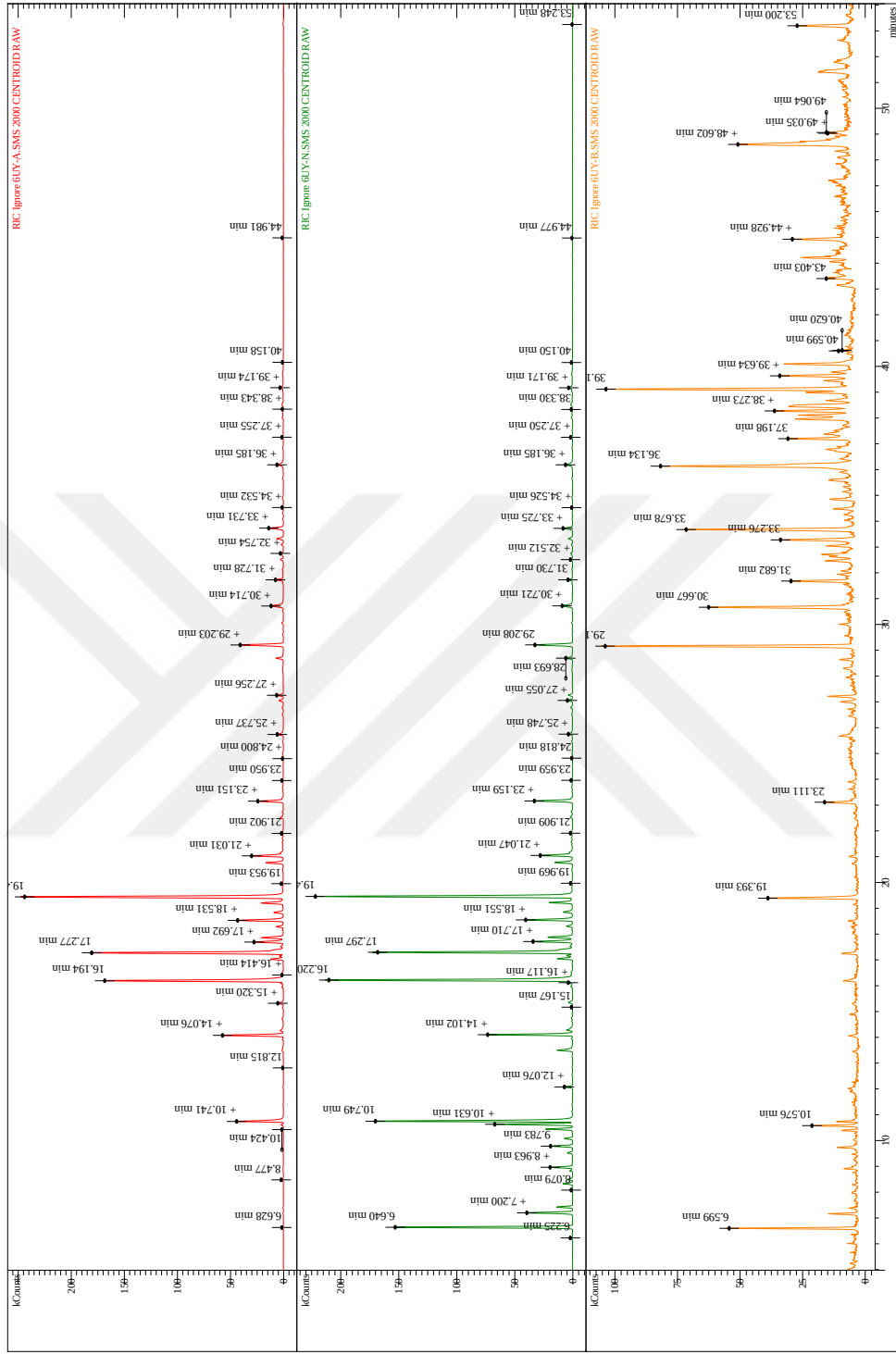
trans-shisool (%3,2), α -terpineol (%2,8), α -pinene (%2,6), limonene (%2,4), *cis*-pinocamphone (%2,2) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%47,4), borneol (%7,0), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%4,8), caryophyllene oxide (%3,9), *trans*-shisool (%3,8), methyl eugenol (%2,3), piperitenone (%2,0) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%31,4), camphor (%18,6), borneol (%17,8), linalool (%6,8), α -terpineol (%4,5), terpinen-4-ol (%2,8), *trans*-shisool (%2,7), *cis*-pinocamphone (%2,5) major bileşenler olarak belirlendi.

Gölgede kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 3.gün elde edilen yağda verbenone (%28,1), borneol (%18,1), camphor (%13,5), eucaliptol (%10,7), α -terpineol (%5,8), linalool (%4,1), *trans*-shisool (%3,2), *iso*-bornylformate (%2,1), terpinen-4-ol (%2,0) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%98,2) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%33,9), borneol (%18,5), camphor (%12,8), linalool (%9,3), α -terpineol (%5,2), terpinen-4-ol (%3,9), caryophyllene oxide (%3,3), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%2,7), *p*-menth-2-en-*trans*-7-ol (%2,3), *iso*-bornylformate (%2,2) major bileşenler olarak belirlendi.

Gölgede kurutulmanın asidik ortamda (pH:5,8) 4.gün elde edilen yağda verbenone (%27,1), borneol (%19,7), camphor (%17,5), linalool (%5,9), α -terpineol (%5,1), *cis*-pinocamphone (%2,9), *trans*-shisool (%2,8), *iso*-bornylformate (%2,2), terpinen-4-ol (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda verbenone (%52,0), borneol (%12,1), camphor (%7,2), α -terpineol (%4,7), *trans*-shisool (%3,4), linalool (%2,8), *iso*-bornylformate (%2,2), *p*-menth-2-en-*trans*-7-ol (%2,0) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda verbenone (%41,7), borneol (%15,9), *trans*-shisool (%6,3), α -terpineol (%5,4), camphor (%3,8), *iso*-bornylformate (%3,1), *p*-menth-2-en-*trans*-7-ol (%3,0), caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol (%2,9) major bileşenler olarak belirlendi.

Chromatogram Plots

Plot 1: .. dilara ibrahimzade-gc-ms ucucu yağ(guy-a.sms RIC Ignore
 Plot 2: .. dilara ibrahimzade-gc-ms ucucu yağ(guy-n.sms RIC Ignore
 Plot 3: .. dilara ibrahimzade-gc-ms ucucu yağ(guy-b.sms RIC Ignore



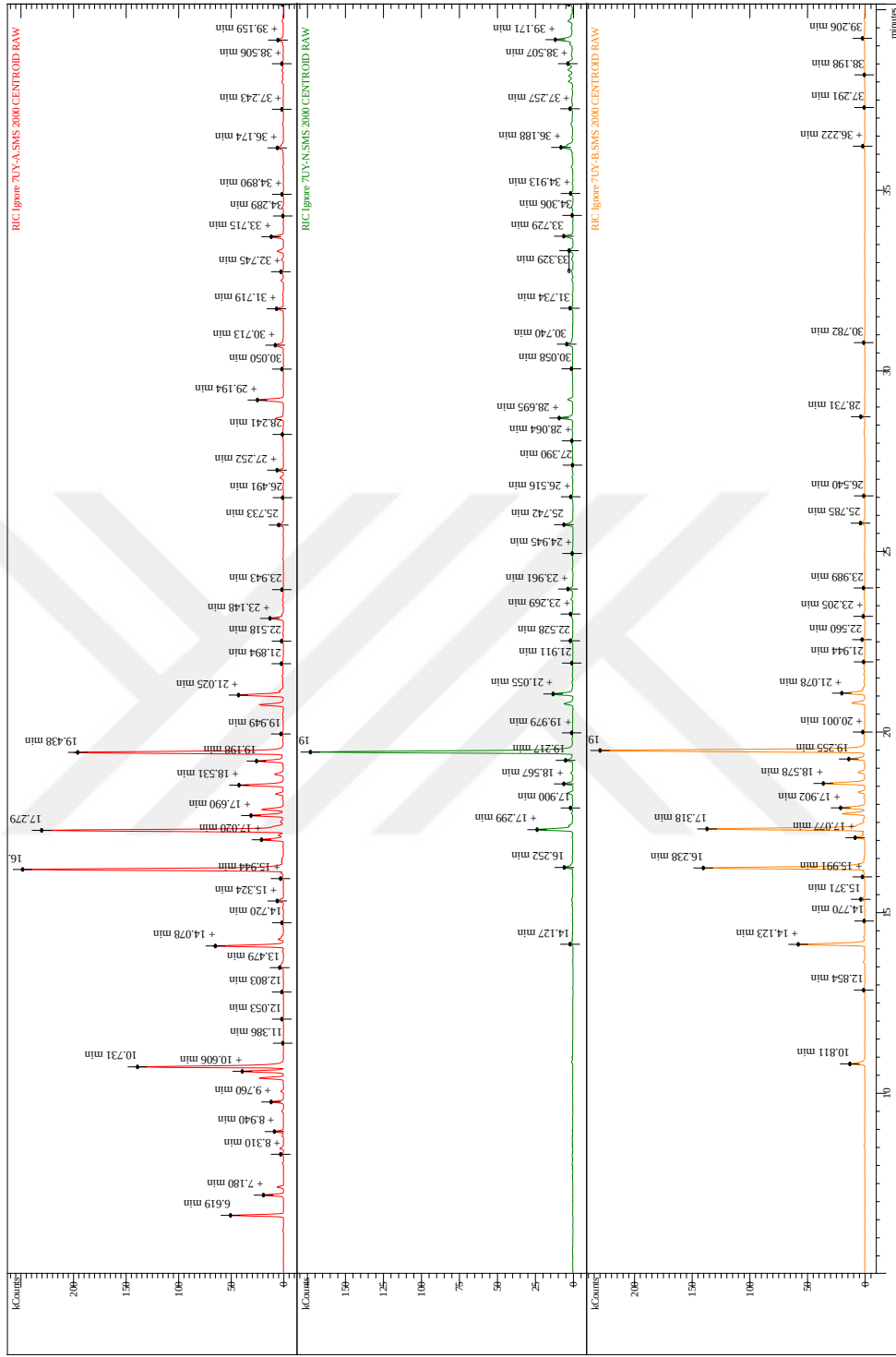
Şekil 3.6. 6UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazık ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

Plot 1: ...dlara Ibrahimzade'ge-nu ucucu yağ/7uy-a.s.ms RIC ignore

Plot 2: ...dlara Ibrahimzade'ge-nu ucucu yağ/7uy-n.s.ms RIC ignore

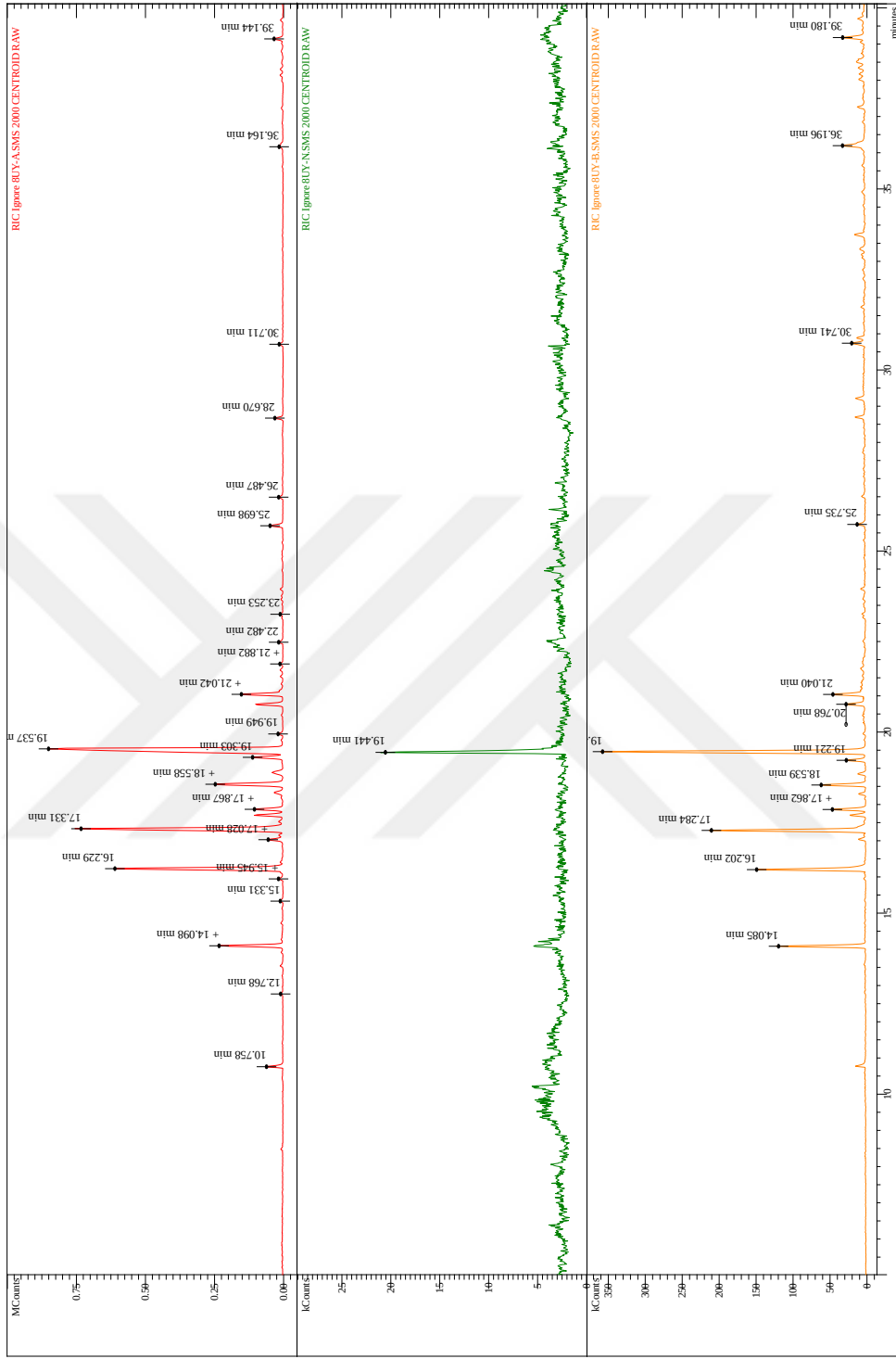
Plot 3: ...dlara Ibrahimzade'ge-nu ucucu yağ/7uy-h.s.ms RIC ignore



Şekil 3.7. 7UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazık ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

Plot 1: ... d1lara Ibrahimzade-ge-ms ucucu yağ8uy-a.sms RIC Ignore
 Plot 2: ... d1lara Ibrahimzade-ge-ms ucucu yağ8uy-n.sms RIC Ignore
 Plot 3: ... d1lara Ibrahimzade-ge-ms ucucu yağ8uy-b.sms RIC Ignore



Şekil 3.8. 8UY kodlu örneklerin asidik, nötr ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

Chromatogram Plots

Plot 1: ... diara ibrahimzade-gc-ns ucucu yag9uy-a.sms RIC ignore
 Plot 2: ... diara ibrahimzade-gc-ns ucucu yag9uy-n.sms RIC ignore
 Plot 3: ... diara ibrahimzade-gc-ns ucucu yag9uy-b.sms RIC ignore



Şekil 3.9. 9UY kodlu örneklerin asidik, nötral ve bazık ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

3.3.4. Meyve kurutucusunda kurutulan 10UY kodlu uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

R. officinalis’in meyve kurutucusunda kurutulularak kodlanan 10UY kodlu örneklerin pH’sı 5.8(A), 7.0(N) ve 8.0(B)’e ayarlanan su ile hidrodestile edilen uçucu yağların GC-MS kromatogramları Şekil 3.10’de GC-MS analiz sonuçları ise Çizelge 3.6’da verilmektedir. Analiz sonucunda suyun 5,8; 7,0 ve 8,0 gibi üç farklı pH’da elde edilen uçucu yağlarda 91 major bileşen olduğu tespit edildi ve tamamının yapıları aydınlatıldı.

Çizelge 3.6. Meyve kurutucusunda kurutulan örneklerden elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları

RI	Rt (dk)	Bileşimin Adı	Kurutulmayan örnek			Meyve kurutucusunda kurutulan örnekler		
			10UY			10UY		
			A %	N %	B %	A %	N %	B %
930	6,21	α -Thujene	t	t	t	t	t	t
937	6,62	α -Pinene	0,02	0,7	3,6	0,7	5,7	13,2
950	7,19	Camphene	t	0,04	0,02	0,3	2,5	5,5
957	7,41	Thuja-2,4(10)-diene	t	0,04	t	t	t	t
972	8,07	3,7,7-Trimethyl cyclohepta-1,3,5-triene	t	t	t	t	t	t
980	8,32	β -Pinene	t	t	t	0,4	1,7	4,9
985	8,49	1-Octen-3-ol	0,02	0,04	t	0,5	0,5	0,3
988	8,86	3-Octanone	t	t	t	0,01	0,2	0,01
992	8,95	Myrcene	t	0,04	0,02	t	1,1	1,9
1000	9,51	α -Phellandrene	t	t	t	0,01	0,2	0,01
1010	9,77	3-Carene	t	t	t	0,01	0,1	0,01
1020	10,06	α -Terpinene	t	0,04	t	0,04	0,7	1,1
1028	10,43	p-Cymene	t	0,04	0,02	0,7	2,0	2,1
1027	10,61	Limonene	0,02	0,6	0,02	0,8	3,1	3,8
1039	10,78	Eucaliptol	2,8	1,1	3,4	20,7	40,5	43,0
1044	11,11	trans-Ocimene	t	t	t	0,1	0,3	t
1050	11,39	Benzene acetaldehyde	t	t	t	t	t	t
1058	12,06	γ -Terpinene	t	0,04	t	0,4	0,8	1,5
1075	12,84	cis-Linaloloxide	t	t	t	t	t	t
1088	13,49	Terpinolene	t	0,04	t	0,1	0,5	0,5
1091	13,53	p-Cymenene	t	t	t	t	t	t
1098	14,09	Linalool	4,4	1,7	2,6	1,7	0,9	0,7
1096	14,28	Fenchone	t	t	t	t	t	t
1118	14,73	Fenchylalcohol	t	t	t	0,3	0,1	t
1122	15,17	cis-2-Menthenol	t	t	t	t	t	t
1123	15,34	2 Pinene-7-one	0,5	0,04	0,02	t	t	t
1139	15,97	Sabinol	t	t	t	t	t	t
1143	16,11	cis-Verbenol	0,2	0,2	0,02	1,6	1,0	1,4
1144	16,21	Camphor	17,4	9,4	5,7	1,6	1,0	1,4
1145	16,42	cis- β -Terpineol	t	t	t	0,2	0,1	t
1166	16,50	α -Fellandren-8-ol	t	t	t	t	t	t
1047	16,86	Isopulegol	t	t	t	t	t	t
1172	17,05	cis-3-Pinanone	0,7	0,4	0,02	t	t	t
1174	17,17	Pinocarvone	0,3	0,04	0,02	t	t	t
1173	17,29	Borneol	16,4	14,6	8,8	35,4	19,7	10,6
1175	17,51	iso-Borneol	t	t	t	t	t	t
1177	17,71	cis-Pinocamphone	2,1	1,1	0,02	t	t	t
1180	17,88	Terpinen-4-ol	1,9	1,2	0,02	3,2	1,6	1,1
1184	18,31	p-Cymene-8-ol	0,6	0,7	0,02	0,2	0,1	t
1190	18,55	α -Terpineol	4,3	3,3	3,0	12,1	6,1	3,4
1194	18,86	Myrtenol	0,9	0,9	0,02	t	t	t
1225	19,23	iso-Bornylformate	2,1	2,1	2,3	t	t	t
1204	19,47	Verbenone	31,7	28,1	10,0	0,2	t	0,7
1230	19,97	cis-Carveol	0,02	0,04	0,02	t	t	t
1240	20,46	Citronellal	t	t	t	t	t	t
1264	20,78	P-Menth-2-en-trans-7-ol	1,6	1,7	1,9	t	t	t
1248	21,05	trans-Shisool	2,6	3,3	2,9	t	t	t
1252	21,17	Carvone	t	t	t	t	t	t
1255	21,73	trans-Geraniol	t	t	t	0,3	t	t
1259	21,91	trans-Myrtenol	0,02	0,04	0,02	t	t	t
1265	22,55	Carvone	0,1	0,3	0,02	t	t	t
1278	23,17	Bornyl acetate	1,1	0,8	4,8	7,8	4,2	2,3
1285	23,67	Carvacrol	0,02	0,04	0,02	0,2	0,1	t
1290	23,96	Thymol	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	t
1246	25,47	α -Terpinyl acetate	0,02	0,04	t	t	t	t
1348	25,76	Piperitenone	0,7	0,7	0,02	t	t	t
1350	25,81	exo-2-hidroxy cineole acetate	t	t	t	0,4	0,1	t
1356	26,50	Eugenol	0,4	0,04	0,02	t	t	t
1344	26,78	Dihydro carveol acetate	0,02	0,04	0,02	t	t	t
1376	27,27	α -Copaene	0,02	0,7	0,02	t	t	t
1394	28,42	Jasmone	t	t	t	t	t	t
1401	28,70	Methyl Eugenol	0,8	1,1	2,3	0,7	0,3	t
1418	29,21	β -Caryophyllene	1,6	7,4	4,0	6,1	3,5	1,9
1461	30,06	Alloaromadendrene	t	t	t	t	t	t

Çizelge 3.6. devamı

RI	Rt (dk)	Bileşimin Adı	Kurutulmayan örnek			Meyve kurutucusunda kurutulan örnekler		
			1UY			10UY		
			A	N	B	A	N	B
			%	%	%	%	%	%
1452	30,73	α -Humulene	0,9	2,0	4,8	0,7	0,3	t
1481	31,60	Cadina-19(6),4-diene	t	t	t	t	t	t
1510	31,74	τ -Cadinene	0,02	1,0	0,02	t	t	t
1512	31,87	α -Murolene	t	t	t	t	t	t
1513	32,53	Valencene	0,02	0,5	0,02	t	t	t
1536	32,77	α -Cadinene	0,02	0,2	0,02	t	t	t
1508	33,10	β -Bisobolene	0,02	0,3	0,02	t	0,1	t
1515	33,33	γ -Cadinene	0,3	1,1	0,02	t	t	t
1524	33,73	δ -Cadinene	0,1	2,4	3,9	t	t	t
1528	34,09	Cadina-1(2)4-diene	t	t	t	t	t	t
1541	34,53	Cadina-1,3,5,9-tetraene	t	t	t	t	t	t
1575	35,96	Spathulenol	t	t	t	t	t	t
1581	36,19	Caryophyllene oxide	0,8	1,5	9,5	1,4	0,5	t
1602	37,27	Humulene epoxide	0,02	0,5	2,2	t	t	t
1600	38,03	<i>epi</i> -Cubenol	0,02	0,4	1,6	t	t	t
1582	38,18	Globulol	0,02	0,5	0,02	t	t	t
1605	38,35	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol	0,02	0,8	2,7	t	0,1	t
1637	38,50	τ -Cadinol	0,02	0,9	3,1	t	t	t
1643	38,68	α -Murolol	t	t	t	t	t	t
1650	39,06	α -Cadinol	0,02	0,4	1,4	t	t	t
1641	39,17	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol	0,6	2,3	7,4	0,6	0,4	t
1645	39,71	Alloaromadendren oxide	0,02	0,10	2,80	0,3	0,1	t
1648	39,82	Cadelene	t	t	t	0,1	t	t
1684	40,16	α -Bisabolol	0,02	0,6	1,1	0,2	0,2	t
1908	48,40	Isopimara-9(11),15-diene	t	t	t	t	t	t
1915	48,62	Farnesyl acetone	0,02	0,04	2,1	t	t	t
2052	53,20	Abieta-8,11,13-trien	0,02	0,04	0,02	t	t	t
Toplam tanımlanan			100	99,7	100	100	100	100
Monoterpenler			0,1	1,6	3,8	3,7	19,0	34,5
Monoterpenoitler			94,2	73,1	48,4	85,	75,2	63,3
Seskiterpenler			3,1	15,7	12,8	7,8	3,9	1,9
Seskiterpenoitler			1,7	9,02	34,9	2,5	1,1	0,01
Diterpenler			0,02	0,03	0,02	t	t	t
Diğerleri			0,02	0,03	t	0,5	0,7	0,30

RI: Rtx®-5 Kolonundaki Retention Index A: pH: 5.8 de elde edilen uçucu yağ, N: pH: 7.0 da elde edilen uçucu yağ, B: pH: 8.0 da elde edilen uçucu yağ t: eser < %0,001

Bitkiyi topladıktan sonra Meyve kurutucusunda kurutup farklı pH ' lardan elde edilen uçucu yağlar arasında asidik ortamda (pH:5,8) 1. gün elde edilen yağda borneol (%35,4), eucaliptol (%20,7), α -terpineol (%12,1), bornyl acetate (%7,8), β -caryophyllene (%7,0), terpinen-4-ol (%3,2) major bileşenler olarak belirlendi. Daha sonra nötral ortamda (pH:7,0) elde edilen yağda eucaliptol (%40,5), borneol (%19,7), α -terpineol (%6,1), α -pinene (%5,8), bornyl acetate (%4,2), β -caryophyllene (%3,5), limonene (%3,2), camphene (%2,5), *p*-cymene (%2,0) major bileşenler olarak belirlendi. En son bazik ortamda (pH:8,0) elde edilen yağda eucaliptol (%43,0), α -pinene (%13,2), borneol (%10,6), camphene (%5,5), β -pinene (%4,9), limonene (%3,8), α -terpineol (%3,4), bornyl acetate (%2,4), *p*-cymene (%2,1) major bileşenler olarak belirlendi.

Chromatogram Plots

Plot 1: ...dlara Ibrahimzade'ge-ni ucuu yağ\10uy-a.s.ms Ions: RIC Ignore

Plot 2: ...dlara Ibrahimzade'ge-ni ucuu yağ\10uy-n.s.ms RIC Ignore

Plot 3: ...dlara Ibrahimzade'ge-ni ucuu yağ\10uy-b.s.ms RIC Ignore



Şekil 3.10. 10UY kodlu örneklerin asidik, nötr ve bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarının GC-MS kromatogramları

3.4. *R. officinalis* Türünün Uçucu Yağlarının Aktivite Sonuçları

Çeşitli yöntemlerle elde edilen uçucu yağların asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, tirosinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz enzimlerine karşı inhibisyon aktiviteleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.7'de IC₅₀ (μ g/mL veya mg/mL) olarak verilmektedir. 3UY-B, 5UY-N, 8UY-A ve 8UY-N örnekleri yeterli miktarda olmadığı için aktiviteler yapılamadı. Her bir aktivitenin yorumlanması kendi başlıkları altında verildi.

Çizelge 3.7. *R. officinalis* uçucu yağlarının enzim inhibisyon aktiviteleri sonuçları^a

Uçucu Yağ Kodları	AChE inhibisyon aktivitesi (IC ₅₀ μ g/mL)	BChE inhibisyon aktivitesi (IC ₅₀ μ g/mL)	Tirosinaz inhibisyon aktivitesi (IC ₅₀ mg/mL)	α -Amilaz inhibisyon aktivitesi (IC ₅₀ μ g/mL)	α -Glukosidaz inhibisyon aktivitesi (IC ₅₀ μ g/mL)
1UY-A	98,03±0,45	147,19±1,60	152,18±4,42	245,25±0,71	185,90±1,47
1UY-N	64,66±0,72	142,97±1,64	50,72±5,71	301,94±0,49	106,92±1,03
1UY-B	46,40±0,10	105,57±0,50	51,43±2,50	182,80±0,68	139,55±1,46
2UY-A	90,82±0,90	160,63±0,17	311,07±3,02	185,30±0,19	101,82±2,30
2UY-N	53,45±0,64	130,15±0,14	128,32±1,86	207,98±2,28	173,93±1,72
2UY-B	49,12±0,39	152,68±0,64	135,82±1,10	148,77±1,08	166,27±1,05
3UY-A	92,81±0,13	245,27±1,34	249,91±1,22	164,82±0,37	176,07±1,51
3UY-N	78,34±0,37	143,81±2,43	118,65±3,55	198,27±0,73	176,55±1,18
3UY-B	TE	TE	TE	TE	TE
4UY-A	58,19±0,97	67,68±1,01	204,82±5,37	129,63±0,39	131,86±1,27
4UY-N	114,41±0,71	113,67±0,59	223,62±1,66	267,02±1,12	141,82±1,20
4UY-B	105,26±0,83	94,40±0,83	121,34±1,92	253,23±0,02	149,17±1,67
5UY-A	111,01±0,54	82,32±1,56	202,42±0,31	157,38±0,88	121,81±1,65
5UY-N	TE	TE	TE	TE	TE
5UY-B	105,19±0,70	97,82±1,01	160,69±0,81	152,53±0,53	121,48±1,74
6UY-A	81,51±0,36	108,76±1,01	143,10±1,13	118,71±0,07	127,00±1,15
6UY-N	78,66±0,80	116,01±2,36	154,22±1,51	108,79±0,50	138,91±0,48
6UY-B	79,07±0,27	65,65±1,35	115,27±1,44	102,80±1,32	135,91±1,53
7UY-A	103,93±0,60	71,58±1,20	500,09±1,25	182,53±0,28	193,31±1,64
7UY-N	102,62±0,08	52,38±1,84	505,88±1,42	145,81±0,02	189,46±1,90
7UY-B	65,92±0,49	83,38±1,30	498,36±1,87	153,63±0,91	178,63±1,82
8UY-A	TE	TE	TE	TE	TE
8UY-N	TE	TE	TE	TE	TE
8UY-B	98,55±0,31	109,36±1,46	115,93±3,01	98,28±1,26	152,28±1,70
9UY-A	101,49±0,53	161,04±3,01	144,07±0,93	181,55±0,12	122,82±0,72
9UY-N	114,77±0,70	153,38±1,05	123,11±2,68	231,86±0,74	142,68±1,47
9UY-B	113,13±0,12	152,52±3,29	104,38±1,22	120,54±1,89	127,08±1,64
10UY-A	119,48±0,47	273,69±2,75	202,64±0,86	183,37±1,67	160,45±2,53
10UY-N	70,56±0,46	115,33±1,22	256,8±2,31	199,29±1,18	167,91±1,98
10UY-B	82,64±0,35	94,87±0,31	151,88±2,68	150,52±1,06	163,67±1,55
Galantamin ^b	5,01±0,11	48,34±0,44	TE	TE	TE
Kojik asit ^b	TE	TE	0,64±0,12	TE	TE
L-Mimosin ^b	TE	TE	0,67±0,06	TE	TE
Akarboz ^b	TE	TE	TE	25,14±0,60	63,95±1,29

^a Üç paralel deneyin sonuçları olup sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

^b Karşılaştırma için kullanılan standartlar

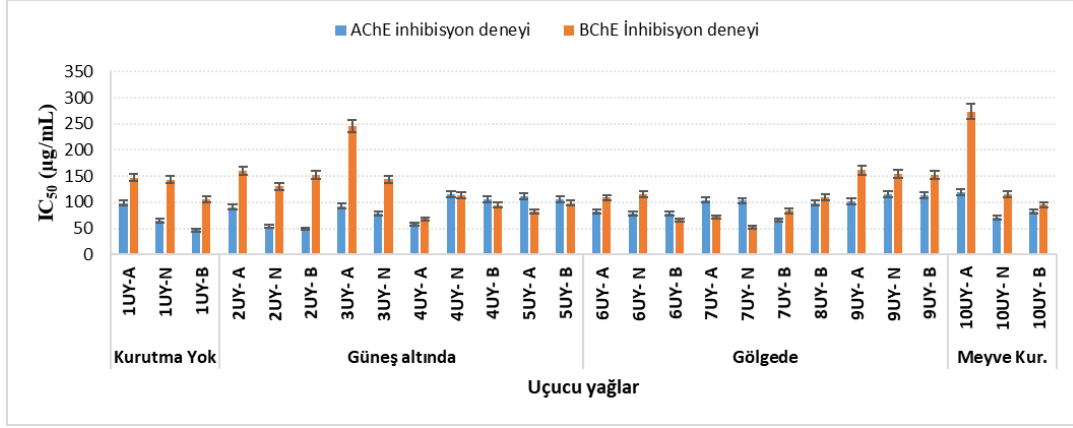
TE: Test edilmedi

3.4.1. Antikolinesteraz aktivitesi sonuçları

Biberiye uçucu yağlarının 4 farklı konsantrasyonlardaki antikolinesteraz inhibisyon aktivitesi asetilkolin (AChE) ve bütirilkolin (BChE) enzimlerine karşı Ellman metoduna göre kısım 2.8.1’de belirtilen yöntem ile test edilerek belirlendi.

AChE inhibisyon aktivitesi sonuçları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.11’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre en iyi aktivite gösteren uçucu yağlar sırasıyla 1UY-B ($46,40 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$) ve 2UY-B ($49,12 \pm 0,39$ $\mu\text{g/mL}$) örnekleridir. Buna ilaveten, IC_{50} değeri 50-100 $\mu\text{g/mL}$ arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 2UY-N ($53,45 \pm 0,64$ $\mu\text{g/mL}$), 4UY-A ($58,19 \pm 0,97$ $\mu\text{g/mL}$), 1UY-N ($64,66 \pm 0,72$ $\mu\text{g/mL}$), 7UY-B ($65,92 \pm 0,49$ $\mu\text{g/mL}$), 10UY-N ($70,56 \pm 0,46$ $\mu\text{g/mL}$), 3UY-N ($78,34 \pm 0,37$ $\mu\text{g/mL}$), 6UY-N ($78,66 \pm 0,80$ $\mu\text{g/mL}$), 6UY-B ($79,07 \pm 0,27$ $\mu\text{g/mL}$), 6UY-A ($81,51 \pm 0,36$ $\mu\text{g/mL}$), 10UY-B ($82,64 \pm 0,35$ $\mu\text{g/mL}$), 2UY-A ($90,82 \pm 0,90$ $\mu\text{g/mL}$), 3UY-A ($92,81 \pm 0,13$ $\mu\text{g/mL}$), 1UY-A ($98,03 \pm 0,45$ $\mu\text{g/mL}$) ve 8UY-B ($98,55 \pm 0,31$ $\mu\text{g/mL}$) şeklinde sıralanmaktadır. Geri kalan uçucu yağlar ise 100 $\mu\text{g/mL}$ ’nin üzerinde IC_{50} gösterdiği için asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi düşük olarak değerlendirilmiştir. Aynı şartlarda Alzheimer’lı hastalarda kullanılan galantamin ise $5,01 \pm 0,11$ $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri vermektedir. Bu sonuçlara göre hiçbir uçucu yağ galantaminden daha iyi aktivite vermediği halde 100 $\mu\text{g/mL}$ ’nin altında aktivite veren uçucu yağların iyi asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi gösterdiği söylenebilir.

BChE inhibisyon aktivitesi sonuçları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.11’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre en 50 $\mu\text{g/mL}$ ’nin altında IC_{50} gösteren uçucu yağ örneği bulunmamaktadır. Ancak, IC_{50} değeri 50-100 $\mu\text{g/mL}$ arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 7UY-N ($52,38 \pm 1,84$ $\mu\text{g/mL}$), 6UY-B ($65,65 \pm 1,35$ $\mu\text{g/mL}$), 4UY-A ($67,68 \pm 1,01$ $\mu\text{g/mL}$), 7UY-A ($71,58 \pm 1,20$ $\mu\text{g/mL}$), 5UY-A ($82,32 \pm 1,56$ $\mu\text{g/mL}$), 7UY-B ($83,38 \pm 1,30$ $\mu\text{g/mL}$), 4UY-B ($94,40 \pm 0,83$ $\mu\text{g/mL}$), 10UY-B ($94,87 \pm 0,31$ $\mu\text{g/mL}$), 5UY-B ($97,82 \pm 1,01$ $\mu\text{g/mL}$) şeklinde sıralanmaktadır. Geri kalan uçucu yağlar ise 100 $\mu\text{g/mL}$ ’nin üzerinde IC_{50} gösterdiği için asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi düşük olarak değerlendirilmiştir. Aynı şartlarda Alzheimer’lı hastalarda kullanılan galantamin ise $48,34 \pm 0,44$ $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri vermektedir. Bu sonuçlara göre hiçbir uçucu yağ galantaminden daha iyi aktivite vermediği halde galantamine yakın IC_{50} değerleri olan 7UY-N ve 6UY-B uçucu yağların bütirilkolinesteraz enzimine karşı yüksek aktivite gösterdiği söylenebilir.

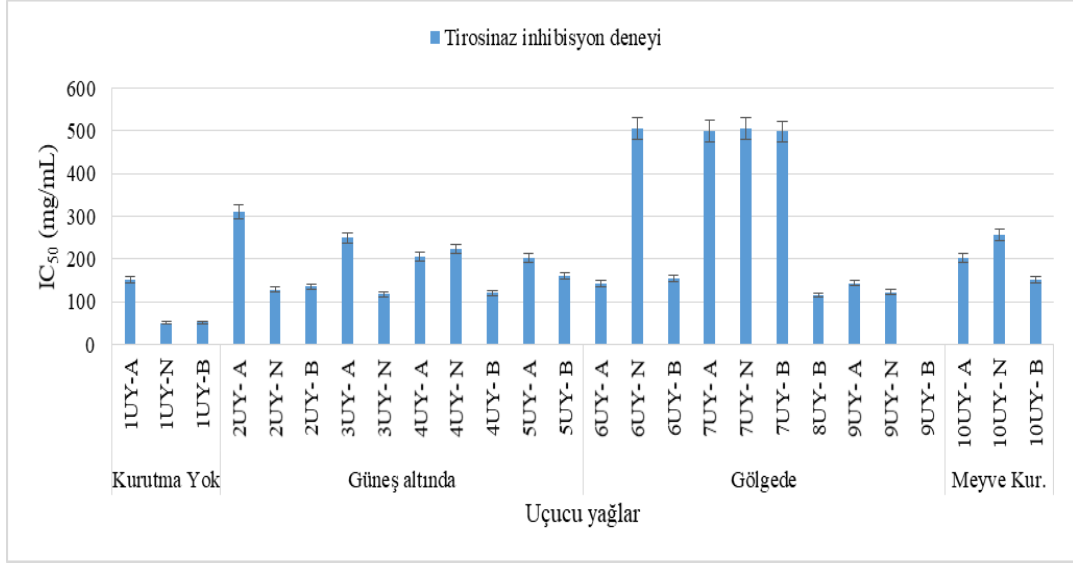


Şekil 3.11. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi sonuçları ($p<0,05$)

3.4.2. Tirosinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları

Biberiye uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarda hazırlanan stok çözeltilerden tirsoinaz inhibisyon etkileri bölüm 2.8.2’de belirtilen yöntem ile belirlendi. Tirosinaz aktivite test sonuçları Çizelge 3.7’de verilmektedir.

Tirosinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.12’de verilmektedir. Bu sonuçlara göre 50 mg/mL’nin altında IC_{50} gösteren uçucu yağ örneği bulunmamaktadır. Ancak, IC_{50} değeri 50-100 mg/mL arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 1UY-N ($50,72\pm5,71$ mg/mL) ve 1UY-B ($51,43\pm2,50$ mg/mL) şeklinde sıralanmaktadır. Geri kalan uçucu yağlar ise 115 mg/mL’nin üzerinde IC_{50} gösterdiği için tirosinaz inhibisyon aktivitesi düşük olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm uçucu yağlar kojik asitten daha az aktivite sergilediği görüldü. IC_{50} değerleri yüksek olan 1UY-N ve 1UY-B kodlu uçucu yağlarının tirosinaz inhibisyon aktivitesi tüm test edilen uçucu yağlar arasında en iyi etkiye sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 3.12. Tirosinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları ($p<0,05$)

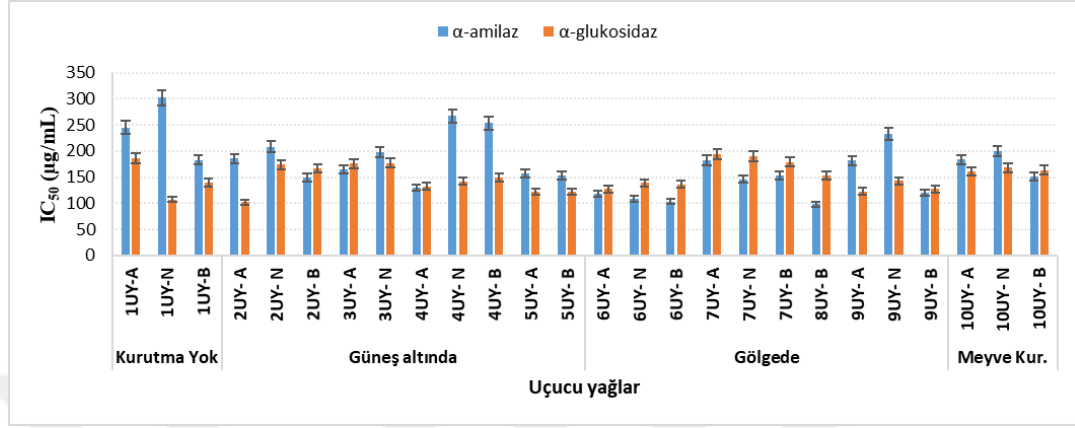
3.4.3. α -Glukosidaz ve α -amilaz inhibisyon aktiviteleri

Biberiye uçucu yağlarının *in vitro* antidiyabetik aktivitesi α -glukosidaz ve α -amilaz inhibisyon testleriyle 2.8.3 ve 2.8.4’de verilen yöntemlerle belirlenmiştir. α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyon aktiviteleri sonuçları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.13’de verilmektedir.

Bu sonuçlara göre en 50 $\mu\text{g/mL}$ ’nin altında IC₅₀ gösteren uçucu yağ örneği bulunmamaktadır. IC₅₀ değeri 100-122 $\mu\text{g/mL}$ arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 2UY-A (101,82±2,30 $\mu\text{g/mL}$), 1UY-N (106,92±1,03 $\mu\text{g/mL}$), 5UY-B (121,48±1,74 $\mu\text{g/mL}$), 5UY-A (121,81±1,65 $\mu\text{g/mL}$) ve 9UY-A (122,82±0,72 $\mu\text{g/mL}$) şeklinde sıralanmaktadır. Geri kalan uçucu yağlar ise 122 $\mu\text{g/mL}$ ’nin üzerinde IC₅₀ gösterdiği için α -glukosidaz inhibisyon aktiviteleri düşük olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm uçucu yağlar içerisinde 1UY-A ve 7UY-N uçucu yağlarının α -glukosidaz enzimine karşı düşük inhibisyon aktivite gösterdiği söylenebilir.

Bu sonuçlara göre en 50 $\mu\text{g/mL}$ ’nin altında IC₅₀ gösteren uçucu yağ örneği bulunmamaktadır. Ancak, IC₅₀ değeri 98-130 $\mu\text{g/mL}$ arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 8UY-B (98,28±1,26 $\mu\text{g/mL}$), 6UY-B (102,80±1,32 $\mu\text{g/mL}$), 6UY-N (108,79±0,50 $\mu\text{g/mL}$), 6UY-A (118,71±0,07 $\mu\text{g/mL}$), 9UY-B (120,54±1,89 $\mu\text{g/mL}$) ve 4UY-A (129,63±0,39 $\mu\text{g/mL}$) şeklinde sıralanmaktadır. Geri

kalan uçucu yağlar ise 130 µg/mL'nin üzerinde IC₅₀ gösterdiği için α-amilaz inhibisyon aktivitesi düşük olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm uçucu yağlar arasında yüksek IC₅₀ değerleri olan 1UY-N, 4UY-N ve 4UY-B uçucu yağların α-amilaz enzimine karşı düşük inhibisyon aktivite gösterdiği söylenebilir.



Şekil 3.13. α-Glukosidaz ve α-amilaz inhibisyon aktivitesi sonuçları (p<0,05)

3.5. Kemometrik Analiz ile Sonuçların Değerlendirilmesi

3.5.1. Major 29 bileşene göre kemometrik analizin değerlendirilmesi

3.5.1.1. Temel bileşen analizi sonuçlarının değerlendirilmesi

Bu çalışmada 10 adet *R.officinalis* (biberiye) bitkisinin 29 uçucu yağ bileşenine karşı temel kemometrik analizleri temel bileşen analizi (PCA) ve kümeleme analizi (HCA) teknikleri kullanılarak yapıldı. 10 örnek farklı kurutma yöntemleri ile kurutulduktan sonra farklı pH (5,8;7,0 ve 8,0)'lara ayarlanarak uçucu yağları elde edildi. Elde edilen yağlar GC-MS cihazında analiz edildi ve elde edilen sonuçlar kemometrik olarak değerlendirildi. Temel bileşen analizi sonuçlarına göre, özdeğeri (eigenvalue) 1'den büyük 8 değer olduğu tespit edildi. İlk iki temel bileşenin varyansı % 62,5 ilk altı temel bileşen ise varyansı % 88,5 oranında açıkladığı görüldü. Tablo 1'de varyans verileri incelendiğinde ilk temel bileşenin data setinde en yüksek varyansı gösterdiği ve toplam varyansın % 41,4'ini açıkladığı görülmektedir. İlk iki temel bileşen ise varyansın % 62,5'ini açıklamaktadır. Diğer temel bileşenlerde bu oran gittikçe azalmaktadır.

Çizelge 3.8. *R. officinalis* örneklerine ait temel bileşenlerin loading (yükleme), eigenvalue (özdeğer), varyans ve kümülatif varyans değerleri.

Değişkenler	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
α -Pinene	-0,089	-0,327	0,116	0,157	-0,102	0,076
Camphene	-0,139	-0,323	0,013	0,155	0,064	0,048
β -Pinene	-0,083	-0,238	-0,163	0,214	0,120	-0,248
Myrcene	-0,136	-0,306	0,079	0,199	-0,100	0,041
<i>p</i> -Cymene	-0,154	-0,302	0,000	0,014	0,031	0,197
Limonene	-0,112	-0,326	0,089	0,115	-0,179	0,098
Eucaliptol	-0,128	-0,252	-0,194	-0,095	0,249	0,105
Linalool	-0,095	0,138	0,188	-0,163	-0,492	0,041
Camphor	-0,128	0,044	0,269	-0,312	-0,286	0,418
Borneol	-0,070	0,174	-0,424	-0,019	-0,355	-0,074
α -Terpineol	-0,078	0,117	-0,531	-0,220	0,001	0,045
Verbenone	0,014	0,254	0,301	0,212	0,123	-0,454
<i>trans</i> -Shisool	0,052	0,263	0,008	0,319	-0,086	0,292
Bornyl acetate	-0,007	-0,188	-0,355	0,014	-0,322	-0,243
Thymol	-0,016	0,006	-0,123	-0,365	0,436	0,293
Methyl Eugenol	0,122	0,177	-0,149	0,428	0,128	0,264
β -Caryophyllene	0,189	-0,098	-0,232	0,122	-0,239	0,044
α -Humulene	0,264	-0,004	-0,042	0,138	-0,094	0,182
γ -Cadinene	0,220	-0,114	0,114	-0,126	-0,044	0,011
δ -Cadinene	0,241	-0,001	-0,021	0,235	-0,032	0,301
Caryophyllene oxide	0,273	-0,014	-0,066	0,057	0,001	0,075
humulene epoxide	0,261	-0,105	0,012	-0,094	-0,028	-0,034
<i>epi</i> -Cubenol	0,267	-0,122	0,056	-0,088	-0,032	-0,064
Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5- beta -ol	0,268	-0,106	0,017	-0,104	0,017	-0,047
τ -Cadinol	0,268	-0,118	0,041	-0,102	-0,013	-0,049
Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol	0,275	0,004	-0,040	0,103	0,056	0,117
Alloaromadendiren oxide	0,261	-0,086	-0,028	-0,100	0,044	-0,053
α -Bisabolol	0,259	-0,093	0,037	-0,149	-0,046	-0,143
Farnesyl acetone	0,246	-0,148	0,050	-0,135	-0,067	-0,043
Eigenvalue (özdeğer)	12,005	6,128	2,434	2,050	1,951	1,082
Varyans	41,400	21,100	8,400	7,100	6,700	3,700
Kümülatif Varyans	41,4	62,5	70,9	78	84,7	88,5

Çizelge 3.8’de verilen β -caryophyllene, α -humulene, ν -cadinene, δ -cadinene, caryophyllene oxide, humulene epoxide, *epi*-cubenol, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol, τ -cadinol, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol, alloaromadendiren oxide,

α -bisabolol, farnesyl acetone gibi uçucu bileşenlerin 1. temel bileşen için aktif bileşenler olduğu ve Çizelge 3.9’da koyu renkle gösterilen örneklerde (1UY-N, 1UY-B, 4UY-N, 6UY-B, 7UY-N, 4UY-B) diğer örneklerle kıyasla daha fazla miktarlarda olduğu belirlendi. 2. temel bileşenin aktif bileşenleri ise, trans-shisool, verbenone olup, 1UY-A, 4UY-B, 6UY-A, 7UY-B, 8UY-A, 8UY-N, 8UY-B, 9UY-A, 9UY-B, 9UY-N, 4UY-N örneklerinde baskın bir şekilde tespit edildi.

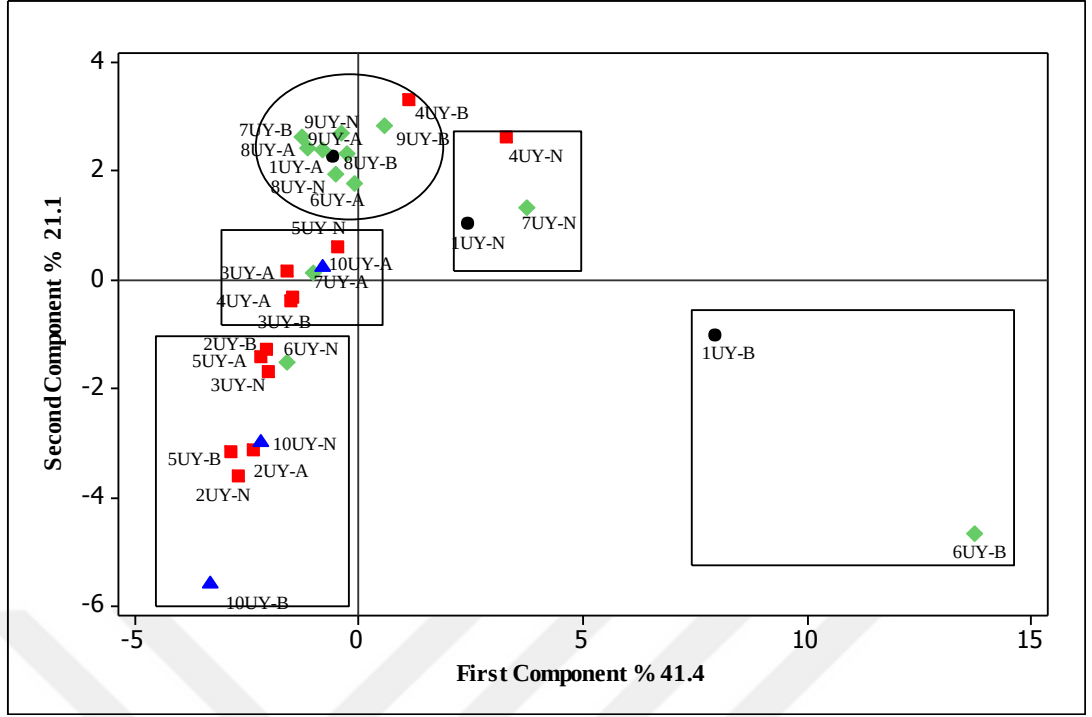
Çizelge 3.9. *R.officinalis* örneklerine ait temel bileşenlerin skor değerleri

Örnekler	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
1UY-A	-0,531	2,247	0,350	-0,551	-0,578	0,356
1UY-N	2,436	1,008	-0,192	0,343	-0,267	1,199
1UY-B	7,941	-1,027	-1,002	0,049	-0,544	-3,429
2UY-A	-2,321	-3,131	1,073	1,022	-0,647	-0,943
2UY-N	-2,685	-3,614	1,374	0,943	-0,919	-0,913
2UY-B	-2,046	-1,278	0,470	-0,073	-1,379	-0,426
3UY-A	-1,586	0,152	0,694	-0,494	-1,158	0,317
3UY-N	-2,022	-1,689	0,784	0,532	-0,966	-0,420
3UY-B	-1,480	-0,323	0,791	-0,348	-1,062	0,264
4UY-A	-1,523	-0,368	0,752	-0,118	-0,882	0,257
4UY-N	3,306	2,651	-0,962	4,285	1,268	0,832
4UY-B	1,142	3,322	-1,515	2,187	-0,355	0,340
5UY-A	-2,164	-1,396	-0,169	-1,865	2,071	0,431
5UY-N	-0,442	0,617	-1,575	-3,586	3,974	-0,764
5UY-B	-2,819	-3,154	0,777	-0,676	1,773	0,611
6UY-A	-0,067	1,762	0,045	-0,524	-1,171	0,654
6UY-N	-1,595	-1,503	0,887	0,403	-0,922	-0,238
6UY-B	13,707	-4,669	0,984	-1,534	-0,547	1,784
7UY-A	-0,987	0,147	0,704	-0,157	-0,837	0,397
7UY-N	3,749	1,320	0,956	1,065	1,873	-0,721
7UY-B	-1,247	2,644	0,862	-1,157	-0,935	-0,197
8UY-A	-1,143	2,444	-0,036	-0,748	0,041	0,058
8UY-N	-0,509	1,950	2,805	0,624	2,401	0,512
8UY-B	-0,253	2,312	0,732	-1,690	-1,321	-0,339
9UY-A	-0,790	2,390	0,136	-0,975	-1,213	0,329
9UY-N	-0,371	2,699	0,539	0,417	0,894	-0,108
9UY-B	0,560	2,846	-0,268	0,875	1,040	-0,987
10UY-A	-0,799	0,250	-5,976	-0,869	-1,583	0,375
10UY-N	-2,165	-3,004	-2,734	0,495	0,383	0,446
10UY-B	-3,296	-5,605	-1,288	2,122	1,566	0,322

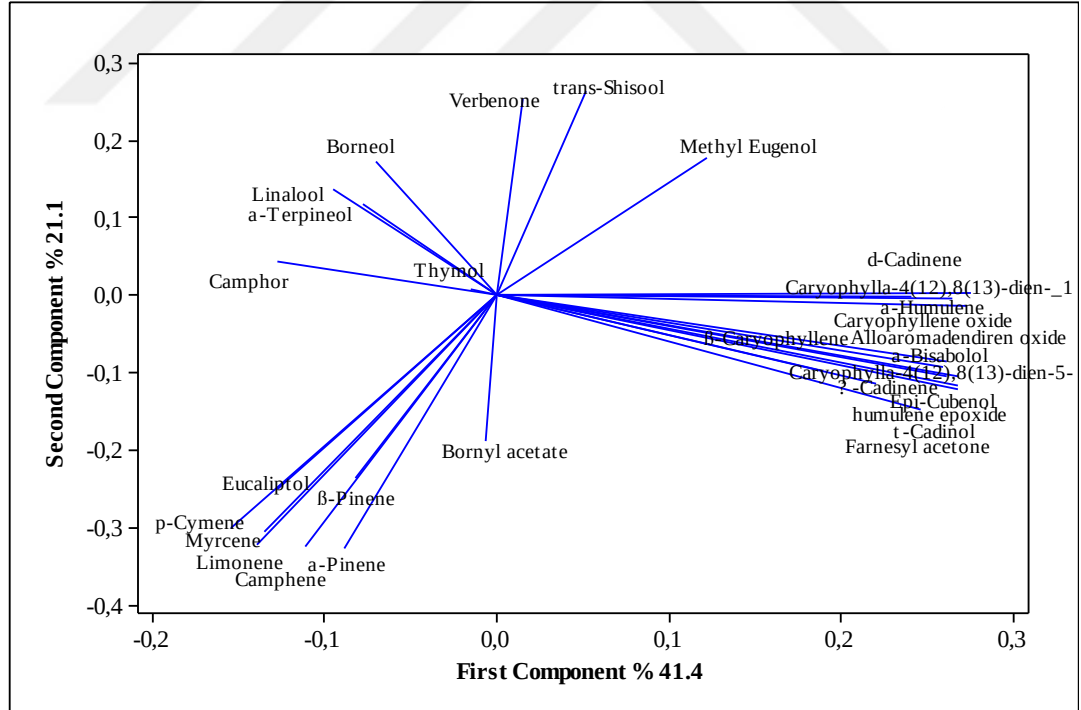
Şekil 14’de PC1 ve PC2 skor grafiği , Şekil 15’de yükleme grafiği yer almaktadır. Şekil 16’de Örnekler kurutma farklılıklarına göre gruplandırıldı ve PCA analizi

sonucunda beş grubun oluştuğu belirlendi. Şekil 14'deki skor grafiğinde gölgede kurutulan örneklerin (6UY-A, 7UY-B, 8UY-B, 8UY-A, 8UY-N, 9UY-B, 9UY-A, 9UY-N) grafiğin sol üst kısmında yer aldığı görüldü. Bunların yanı sıra 4UY-B ve 1UY-A örnekleri de gölgede kurutulan örnekler ile benzerlik gösterdi. Şekil 15'de yükleme grafiği ile birlikte değerlendirildiğinde ise bu örneklerde *trans*-shisool, verbenone, bileşenlerinin daha zengin olduğu ortaya kondu. Benzer şekilde skor grafiğinin sol alt kısmında çoğunlukla güneşte ve meyve kurutma makinasında kurutulan örneklerin (2UY-A, 2UY-B, 2UY-N, 3UY-N, 5UY-A, 5UY-B, 10UY-B, 10UY-N) yer aldığı görüldü. 6UY-N örneği de bu gruptaki yer aldı. Bu örneklerde *cis*-verbenol, β -pinene, eucaliptol, myrcene, α -pinene, limonene, *p*-cymene, camphene ve bornyl acetate bileşenlerinin diğer örneklerle kıyasla daha fazla olduğu tespit edildi. Skor grafiği ve yükleme grafiğinin birlikte değerlendirilmesi ile methyl eugenol, bileşenleri bakımından bir başka grubun oluştuğu ve bu grupta 4UY-N, 1UY-N ve 7UY-N örneklerinin yer aldığı görüldü. 6UY-B ve 1UY-B örneklerinde ise farnesyl acetone, ν -cadinene, τ -cadinol, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5alfa-ol, δ -cadinene, α -humulene, *epi*-cubenol, β -caryophyllene, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol, α -bisabolol, humulene epoxide, alloaromadendiren oxide ve caryophyllene oxide bileşenleri bakımından diğer gruplardan ayrıldı. Ayrıca, 4UY-A, 3UY-A, 10UY-A, 7UY-A, 5UY-N, 3UY-B örneklerinin camphor, thymol, linalool, α -terpineol ve borneol gibi uçucu bileşenler bakımından farklılaştığı izlendi. Bu grupta yer alan örneklerin birkaçı pH:5,8 da hazırlanan örneklerden oluştu.

Görülüyor ki, gölgede kurutulan örnekler diğer kurutma yöntemleri ile hazırlanan örneklerden uçucu bileşenler ve bu bileşenlerin miktarları bakımından farklı özellikler göstermektedir. Ancak pH farklılıklarının kurutma biçimine veya uçucu bileşen cinsine önemli bir etkisi tespit edilmemiştir.



Şekil 3.14. PC1 ve PC2 skor grafiği • 1, ■ 2, ◆ 3, ▲ 4



Şekil 3.15. PC1 ve PC2 loading grafiği

3.5.1.2. Hiyerarşik kümeleme analizi sonuçlarının değerlendirilmesi

Biberiye örneklerinin farklı kurutma yöntemlerine göre hazırlanan uçucu yağlarının

GC-MS verileri PCA analizinin yanı sıra HCA ile de değerlendirildi. Kümeleme analizi Rosmarinus örneklerinde tespit edilen 30 uçucu yağ bileşenine ait GC/MS analiz sonuçlarına uygulandı. Uzaklık ölçüm metodu olarak squared Euclidean distance, sınıflandırma metodu olarak ise Ward metodudur. HCA analizi sonucunda beş küme oluştuğu şekil k'da görülmektedir. (Similarity= 0).

Küme 1: 1UY-A, 6UY-A, 7UY-B, 9UY-A, 8UY-A, 8UY-B

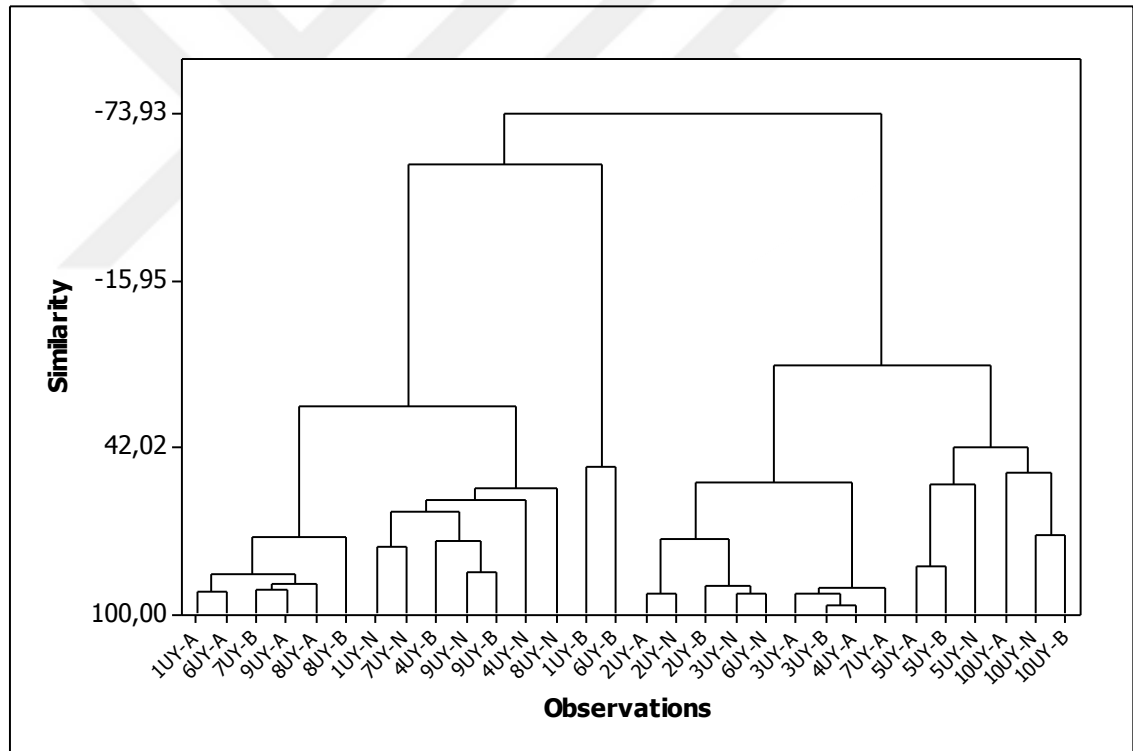
Küme 2: 1UY-N, 7UY-N, **4UY-B**, 9UY-N, 9UY-B, **4UY-N**, 8UY-N

Küme 3: 1UY-B, 6UY-B

Küme 4: **2UY-A**, **2UY-N**, **2UY-B**, 3UY-N, 6UY-N, 3UY-A, 3UY-B, 4UY-A, 7UY-A

Küme 5: **5UY-A**, **5UY-B**, **5UY-N**, **10UY-A**, **10UY-N**, **10UY-B**.

Kümeleme analizi sonuçlarının temel bileşen analiz sonuçlarına benzediği ancak temel bileşen analizinde daha iyi ayrılmaların olduğu görülmektedir.



Şekil 3.16. Öklit uzaklığı ve Ward metodu uygulanarak elde edilen Dendrogram

3.5.2. Aktivite sonuçlarına göre kemometrik analizin değerlendirilmesi

Muğla'nın Köyceğiz ilçesinden temin edilen *R. officinalis* L. uçucuğu yağının GC-MS ile tespit edilen kimyasal bileşenleri ile *R. officinalis* L. uçucu yağının antikolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyon aktiviteleri çoklu değişken analizleri,

temel bileşen analizi (PCA) ve hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) gibi kemometrik teknikler kullanılarak sınıflandırıldı.

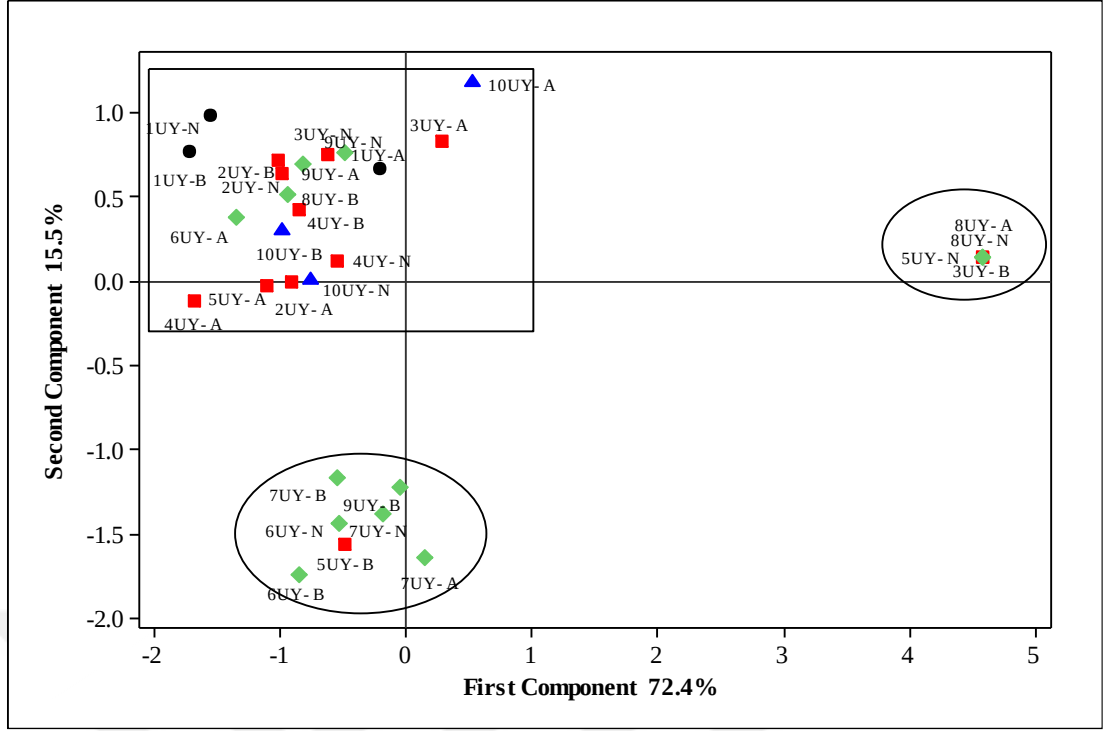
3.5.2.1. Temel bileşen analizi sonuçlarının değerlendirilmesi

Çizelge 3.10. *R. officinalis* L. örneklerinin aktivite analizi sonuçları için temel bileşenlerin loading (yükleme), eigenvalue (özdeğer), varyans ve kümülatif varyans değerleri.

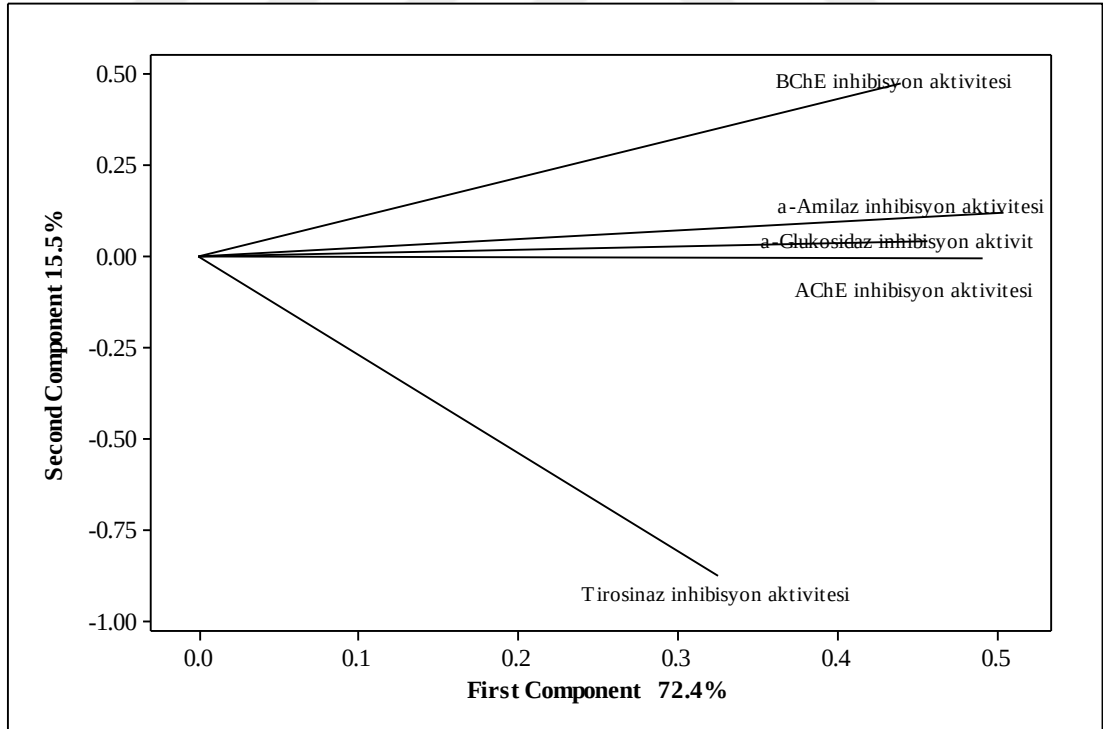
Aktivite	PC1	PC2	PC3	PC4
AChE inhibisyon aktivitesi	0.490	-0.004	-0.344	-0.607
BChE inhibisyon aktivitesi	0.439	0.471	-0.400	0.647
Tirosinaz inhibisyon aktivitesi	0.503	0.117	0.039	-0.305
α -Amilaz inhibisyon aktivitesi	0.325	-0.873	-0.168	0.317
α -Glukosidaz inhibisyon aktivitesi	0.456	0.043	0.832	0.139
Eigenvalue (özdeğer)	3.621	0.774	0.339	0.181
Varyans	72.4	15.5	6.8	3.6
Kümülatif Varyans	72.4	87.9	94.7	98.3

Çizelge 3.11. *R.officinalis* L. örneklerinin aktivite analizi sonuçları için temel bileşenlerin skor değerleri

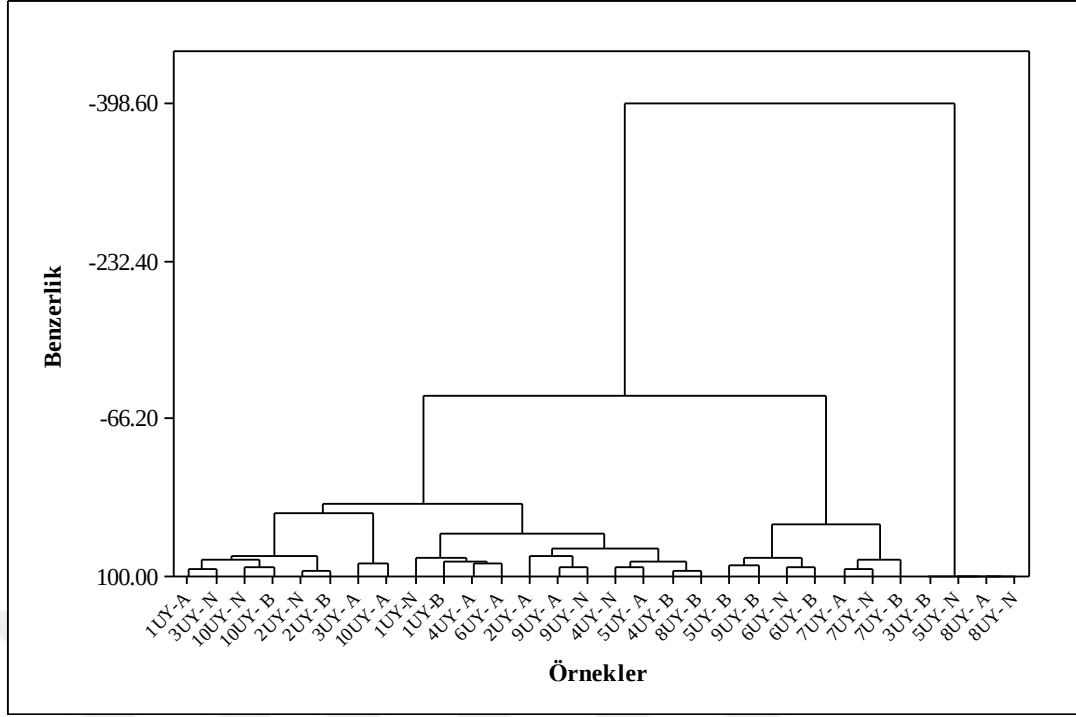
Uçucu Yağ Kodları	PC1	PC2	Uçucu Yağ Kodları	PC1	PC2
1UY-A	-0.198	0.657	6UY- A	-1.353	0.377
1UY-N	-1.558	0.978	6UY- N	-0.529	-1.435
1UY-B	-1.717	0.759	6UY- B	-0.849	-1.748
2UY- A	-0.917	-0.006	7UY- A	0.146	-1.640
2UY- N	-0.989	0.635	7UY- N	-0.192	-1.384
2UY- B	-1.028	0.724	7UY- B	-0.547	-1.170
3UY- A	0.282	0.834	8UY- A	4.583	0.145
3UY- N	-0.627	0.757	8UY- N	4.583	0.145
3UY- B	4.583	0.145	8UY- B	-0.944	0.512
4UY- A	-1.694	-0.118	9UY- A	-0.825	0.699
4UY- N	-0.557	0.118	9UY- N	-0.498	0.766
4UY- B	-0.856	0.423	9UY- B	-0.054	-1.224
5UY- A	-1.110	-0.028	10UY- A	0.516	1.186
5UY- N	4.583	0.145	10UY- N	-0.759	0.010
5UY- B	-0.490	-1.558	10UY- B	-0.985	0.299



Şekil 3.17. PC1 ve PC2 skor grafiği ● 1, ■ 2, ◆ 3, ▲ 4, (topladıktan hemen sonra elde edilen uçucu yağlar, güneşte kurutulduktan sonra elde edilen uçucu yağlar, gölgede kurutulduktan sonra elde edilen uçucu yağlar ve meyve kurutucusunda kurutulduktan sonra elde edilen uçucu yağlar)



Şekil 3.18. PC1 ve PC2 loading grafiği



Şekil 3.19. Öklit uzaklığı ve Ward metodu uygulanarak elde edilen Dendrogram

R. officinalis L. örneklerinin farklı kurutma ve destilasyon yöntemlerine göre hazırlanan uçucu yağlarının inhibisyon aktivitesi sonuçları PCA analizinin yanı sıra HCA ile de değerlendirildi. Kümeleme analizi Rosmarinus örneklerinde tespit edilen 5 farklı inhibisyon aktivitesi uygulandı. Uzaklık ölçüm metodu olarak squared Euclidean distance, sınıflandırma metodu olarak ise Ward metodu kullanıldı. HCA analizi sonucunda üç küme oluştuğu Şekil 3.19’da görülmektedir (Similarity= 25).

Küme 1: 1UY-A, 3UY-N, 10UY-N, 10UY-B, 2UY-N, 2UY-B, 3UY-A, 10UY-A.

Küme 2: 1UY-N, 1UY-B, 4UY-A, 6UY-A, 2UY-A, 9UY-A, 9UY-N, 4UY-N, 5UY-A, 4UY-B, 8UY-B.

Küme 3: 5UY-B, 9UY-B, 6UY-N, 6UY-B, 7UY-A, 7UY-N, 7UY-B.

Küme 4: 3UY-B, 5UY-N, 8UY-A, 8UY-N

Kümeleme analizi sonuçlarının inhibisyon aktivite temel bileşen analiz sonuçlarına benzerlik gösterdiği görülmektedir.

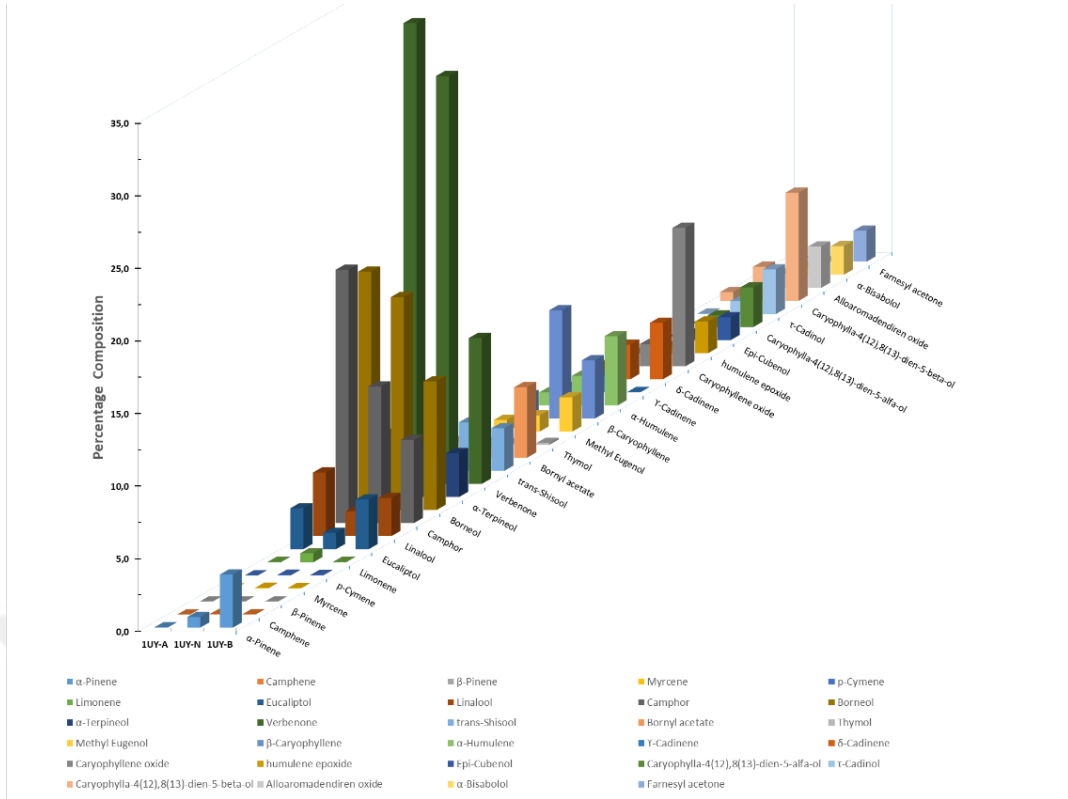
Sonuç olarak; inhibisyon aktiviteleri sonuçları ile yapılan kemometrik analizde pH farklılıklarının ya da kurutma farklılıklarının inhibisyon aktivite sonuçlarına önemli bir etkisi olmadığı, yalnızca gölgede kurutulan örneklerin (pH değişimi fark etmeksizin) bir kısmının BChE aktivitesi açısından farklılaştığı belirlendi.

3.6. Farklı Kurutma ve Destilasyon Yöntemiyle Elde Edilen Yağlarda Majör Bileşenlerin Değişimlerinin Kimyası

3.6.1. Uçucu yağlarda pH etkisinin değerlendirilmesi

3.6.1.1. 1UY grubu (bitki kurutulmadan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Kurutulmamış örneğin farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (1UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 1UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.20'de verilmektedir. Şekil 3.20'de görüldüğü gibi α -pinen'in asidik ortamda (%0,02), nötral ortamda (0,70) ve bazik ortamda (%3,6) miktarları değişmektedir. α -pinen açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun bazikliği arttıkça α -pinen'in miktarının arttığı izlendi. Bunun tersine camphor, borneol ve verbenon maddelerinde baziklik arttıkça miktarlarında azalma görülmektedir. Camphor sırasıyla %17,4, %9,4 ve %5,7 oranlarında; Borneol %16,4, %14,6 ve %8,8 oranlarında; Verbenon ise %31,7, %28,1 ve %10,0 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları baziklik arttıkça düşmektedir. Buna ilaveten Nötral ortamda elde edilen β -caryophyllene'in % miktarı bazik ortamda elde edildiğinde düştüğü izlenmiştir. Buna bağlı olarak bazik ortamda caryophyllene oxide, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alfa-ol, caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-beta-ol ve alloaromadendiren oxide maddelerinin % miktarlarının arttığı gözlemlendi. Genel olarak seskiterpenoidlerin bazik ortamda % miktarlarının arttığı görüldü.

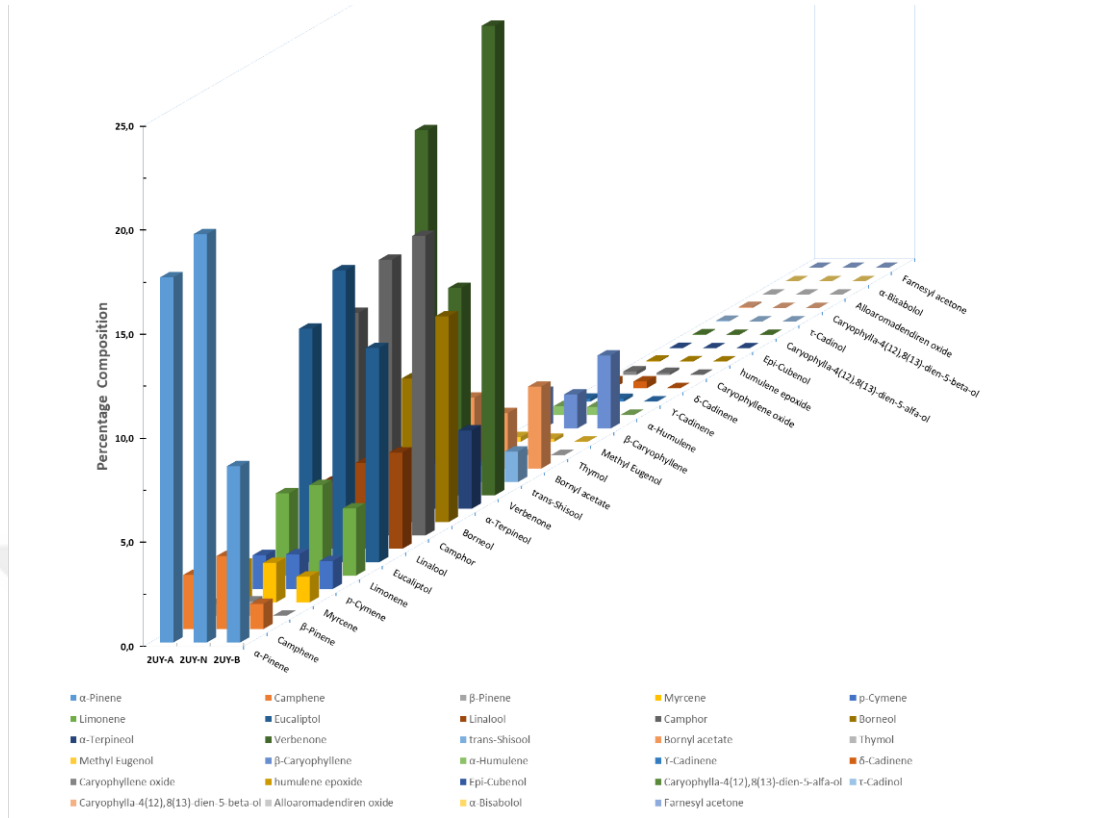


Şekil 3.20. 1UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.2. 2UY grubu (güneşte 1. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Gölgede kurutulan bitkinin 1. gün örneklerinden farklı pH’larda çıkartılan uçucu yağlarının (2UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 2UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.21’de verilmektedir. Şekil 3.21’de görüldüğü gibi α -pinen’in nötral ve asidik ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. α -pinene açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH’ının 7.0’ye yakın olması α -pinen’in miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada eucaliptol maddesinin miktarının arttığı ve nötral ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine camphor, borneol ve verbenone maddelerinde baziklik arttıkça miktarlarında artma görüldü. Camphor sırasıyla %10,7, %13,2 ve %14,4 oranlarında; borneol %5,4, %6,9 ve %9,9 oranlarında; verbenone ise %17,5, %9,9 ve %22,5 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları baziklik arttıkça düşmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında üç maddenin düştüğü anlaşıldı. Buna ilaveten bazik ortamda elde edilen β -caryophyllene’in % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve

seskiterpenoid maddelerinin 2UY grubunda çok az % miktarlarda olduğu izlendi.

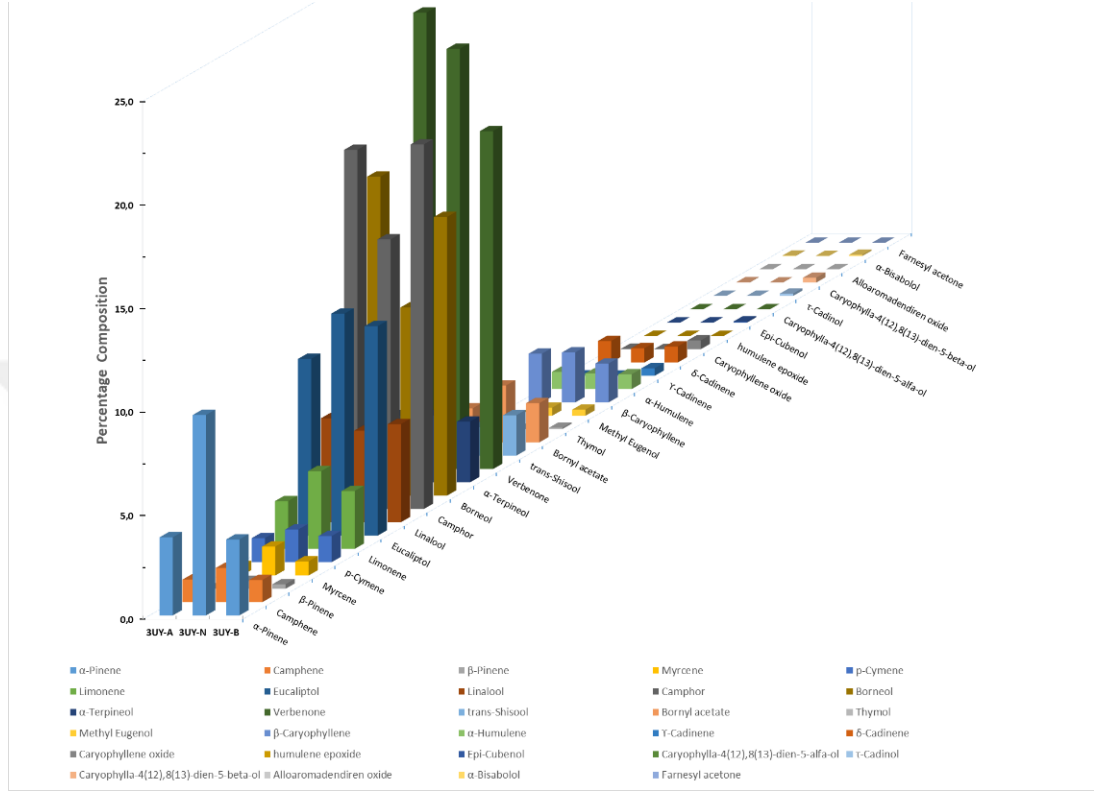


Şekil 3.21. 2UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.3. 3UY grubu (güneşte 2. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Gölgede kurutulan bitkinin 2. gün örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (3UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 3UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.22'de verilmektedir. Şekil 3.22'de görüldüğü gibi verbenone'nun asidik ve nötral ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'ının 5.8'e yakın olması Verbenone'nun miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada camphor maddesinin miktarının arttığı ve bazik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene, limonene ve eucaliptol maddelerinde nötrallik arttıkça miktarlarında artma görüldü. α -pinene sırasıyla %3,8, %9,7 ve %3,7 oranlarında; limonene %2,3, %3,8 ve %2,8 oranlarında; eucaliptol ise %8,5, %10,7 ve %10,1 oranlarında tespit edilmiş olup, miktarları nötrallik arttıkça düşmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında %

miktarlarında üç maddenin arttığı anlaşıldı. Buna ilaveten asidik ortamda elde edilen verbenone'nun % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve seskiterpenoid maddelerinin 3 UY grubunda çok az % miktarlarda olduğu izlendi.

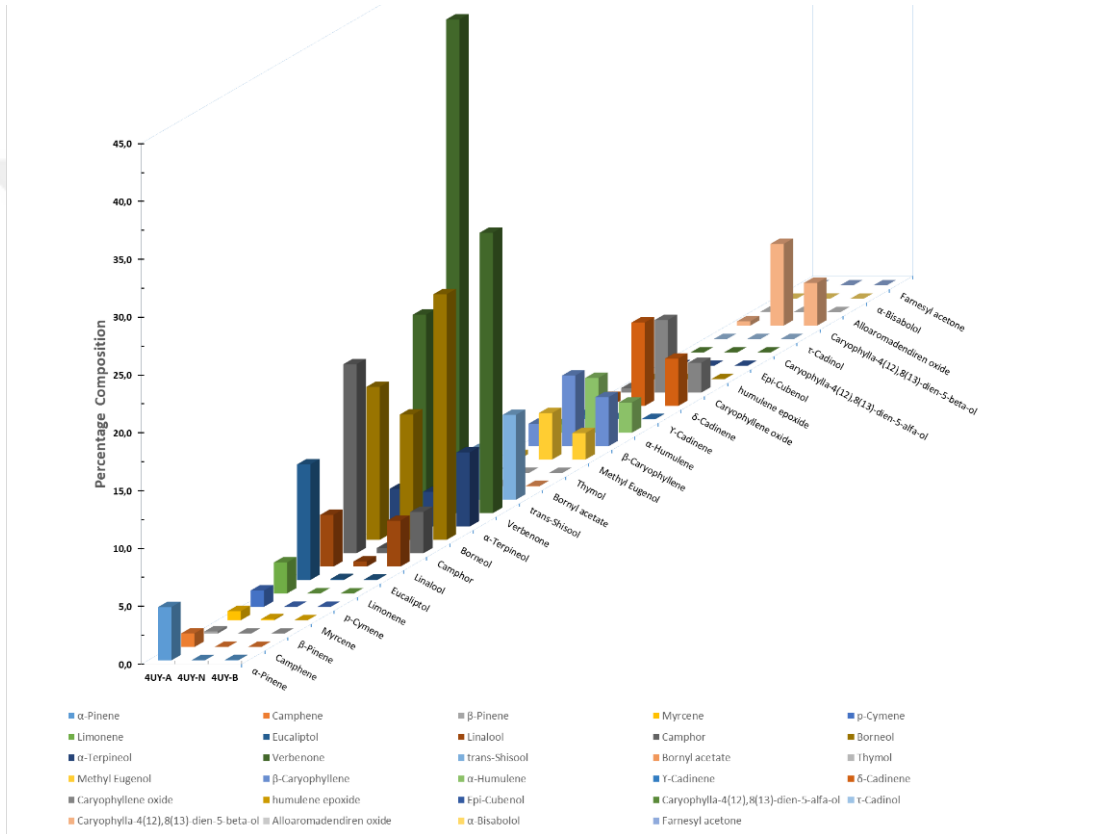


Şekil 3.22. 3UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.4. 4UY grubu (güneşte 3. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Gölgede kurutulan bitkinin 3. gün örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (4UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 4UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.23'de verilmektedir. Şekil 3.23'de görüldüğü gibi verbenone'nun nötral ve bazik ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'ının 7.0'a yakın olması verbenone'nun miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada borneol maddesinin miktarının arttığı ve bazik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine methyl eugenol, β -caryophyllene, α -humulene, β -cadinene ve caryophyllene oxide

maddelerinde nötrallik arttıkça miktarlarında artma görüldü. Methyl eugenol sırasıyla %0,4, %4,0 ve %2,3 oranlarında; β -caryophyllene %1,9, %6,1 ve %4,2 oranlarında; α -humulene ise %0,7, %4,7 ve %2,6 oranlarında; β -cadinene %0,8, %7,2 ve %4,1 oranlarında; caryophyllene oxide %0,4, %6,3 ve %2,6 oranlarında tespit edilmiş olup, miktarları nötrallik arttıkça yükselmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında maddenin azaldığı anlaşıldı. Buna ilaveten asidik ortamda elde edilen verbenon'un % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve seskiterpenoid maddelerinin 4UY grubunda % miktarlarının arttığı izlendi.

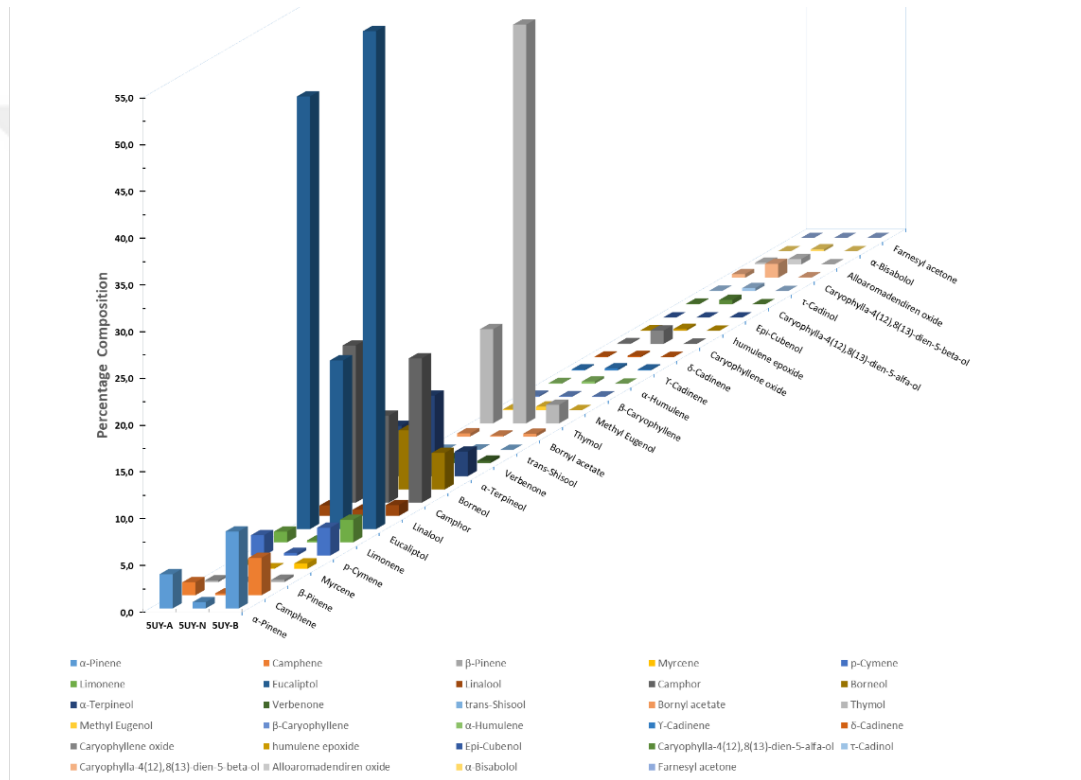


Şekil 3.23. 4UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.5. 5UY grubu (güneşte 4. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Gölgede kurutulan bitkinin 4. gün örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (5UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 5UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.24'de verilmektedir. Şekil 3.24'de görüldüğü gibi eucaliptol'un bazik ve asidik ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Eucaliptol

açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'ının 7.0'a yakın olması eucaliptol'un miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada thymol maddesinin miktarının arttığı ve nötral ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene ve camphene maddelerinde baziklik arttıkça miktarlarında artma görüldü. α -pinene sırasıyla %3,7, %0,7 ve %8,2 oranlarında; camphene %1,4, %0,2 ve %4,0 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları baziklik arttıkça yükselmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında maddenin arttığı anlaşıldı. Buna ilaveten nötral ortamda elde edilen thymol'un % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterten ve seskitertenoid maddelerinin 5UY grubunda çok az % miktarlarda olduğu izlendi.

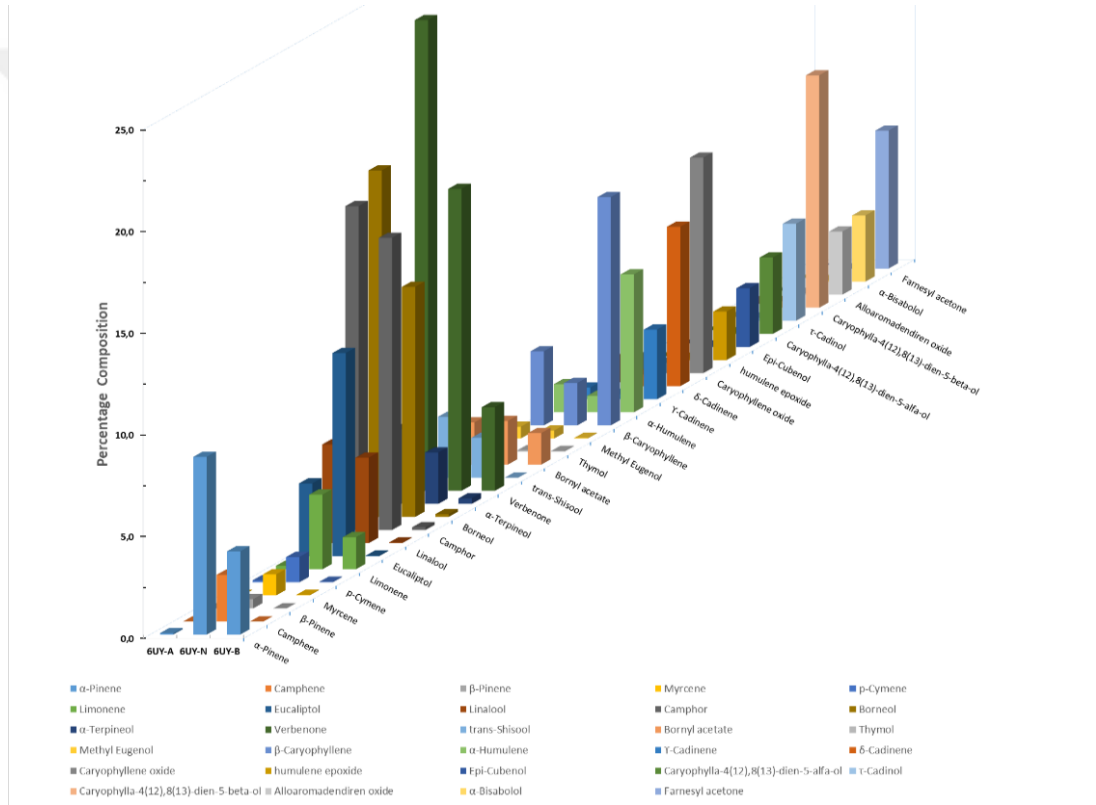


Şekil 3.24. 5UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.6. 6UY grubu (gölgede 1. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

Gölgede kurutulan bitkinin 1. gün örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (6UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 6UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.25'de verilmektedir. Şekil 3.25'de görüldüğü gibi verbenone'nun asidik ve bazik ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone

açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'ının 5.8'e yakın olması verbenone'in miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada borneol maddesinin miktarının arttığı ve asidik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene, limonene ve eucaliptol maddelerinde nötrallik arttıkça miktarlarında artma görüldü. α -pinene sırasıyla %0,1, %8,7 ve %4,1 oranlarında; limonene %0,2, %3,7 ve %1,6 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları nötrallikten uzaklaştıkça düşmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında maddenin arttığı anlaşıldı. Buna ilaveten yine nötral ortamda elde edilen borneol'un % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve seskiterpenoid maddelerinin 6UY grubunda % miktarlarının arttığı izlendi.

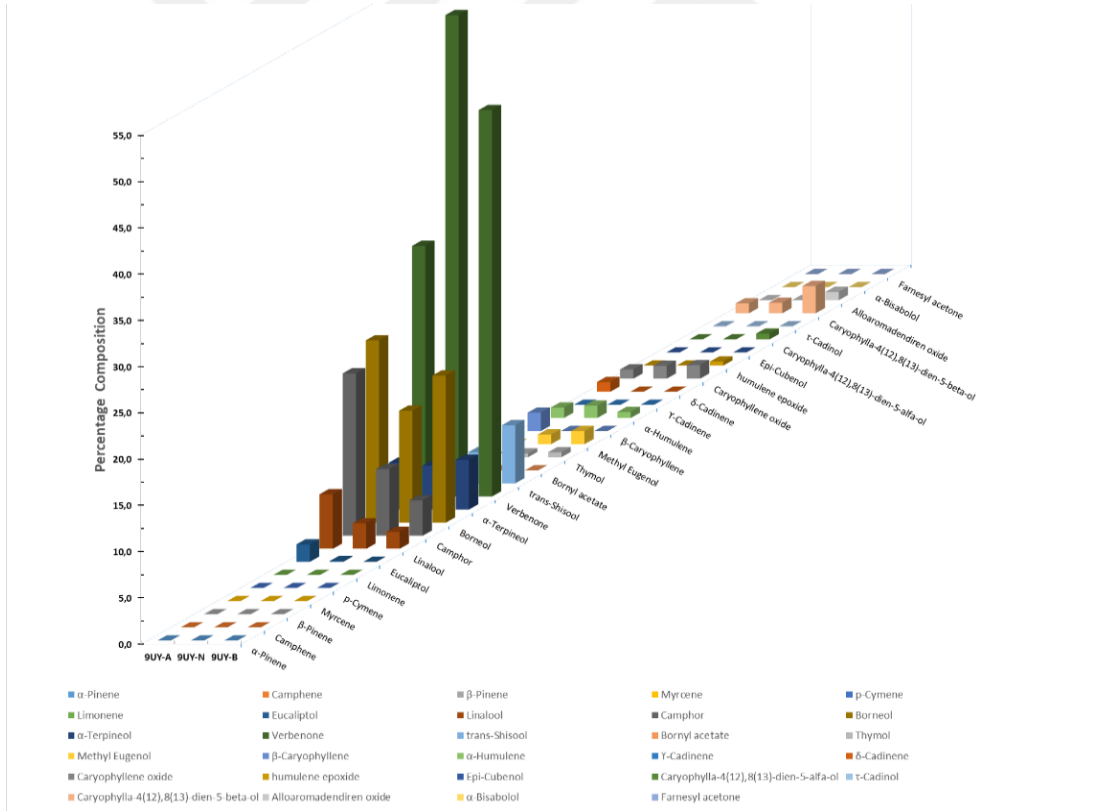


Şekil 3.25. 6UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

3.6.1.7. 7UY grubu (gölgede 2. gün kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi

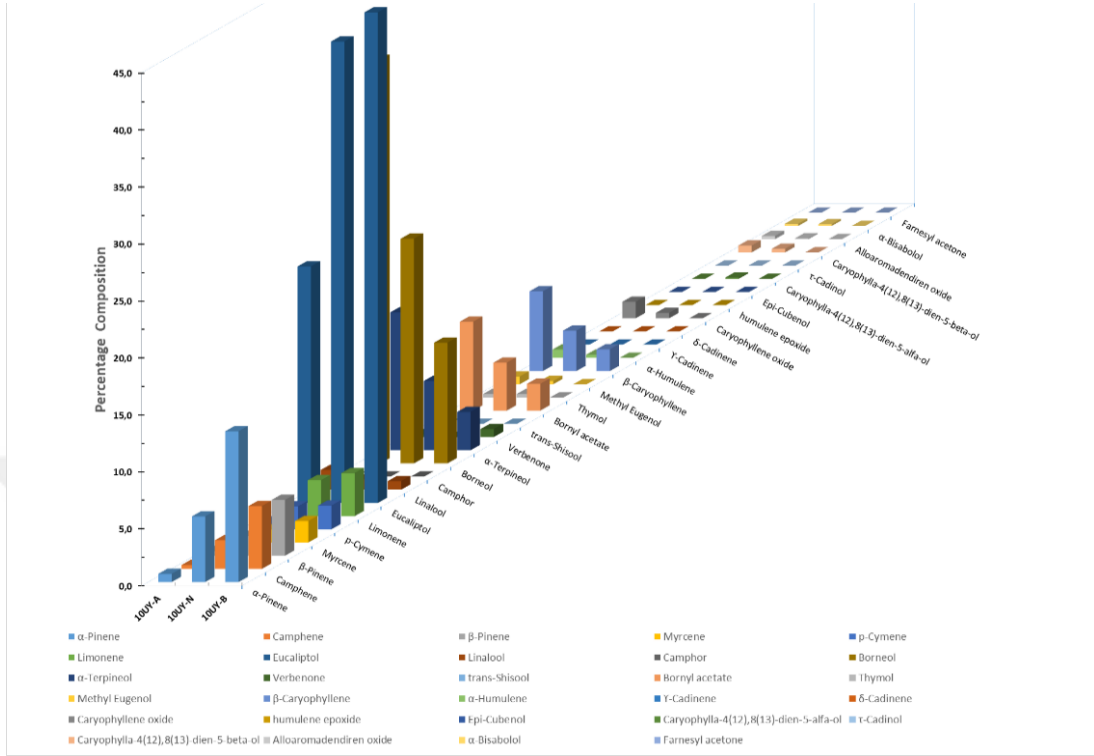
Gölgede kurutulan bitkinin 2. gün örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (7UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 7UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.26'de verilmektedir. Şekil 3.26'de görüldüğü gibi

yağlarının (9UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 9UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.28’de verilmektedir. Şekil 3.28’de görüldüğü gibi verbenone ’nun nötral ve bazik ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH’ının 7.0’a yakın olması verbenone’in miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada borneol maddesinin miktarının arttığı ve asidik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine linalool, camphor ve α -terpineol maddelerinde asidiklik arttıkça miktarlarında artma görüldü. Linalool sırasıyla %5,9, %2,8 ve %1,8 oranlarında, camphor %17,5, %7,2 ve %3,8 oranlarında ve α -terpineol %5,1 , %4,7 ve %5,4 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları asidiklik arttıkça yükselmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında maddenin attığı anlaşıldı. Buna ilaveten nötral ortamda elde edilen verbenone’nun % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve seskiterpenoid maddelerinin 9UY grubunda çok az % miktarlarda olduğu izlendi.



Şekil 3.28. 9UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

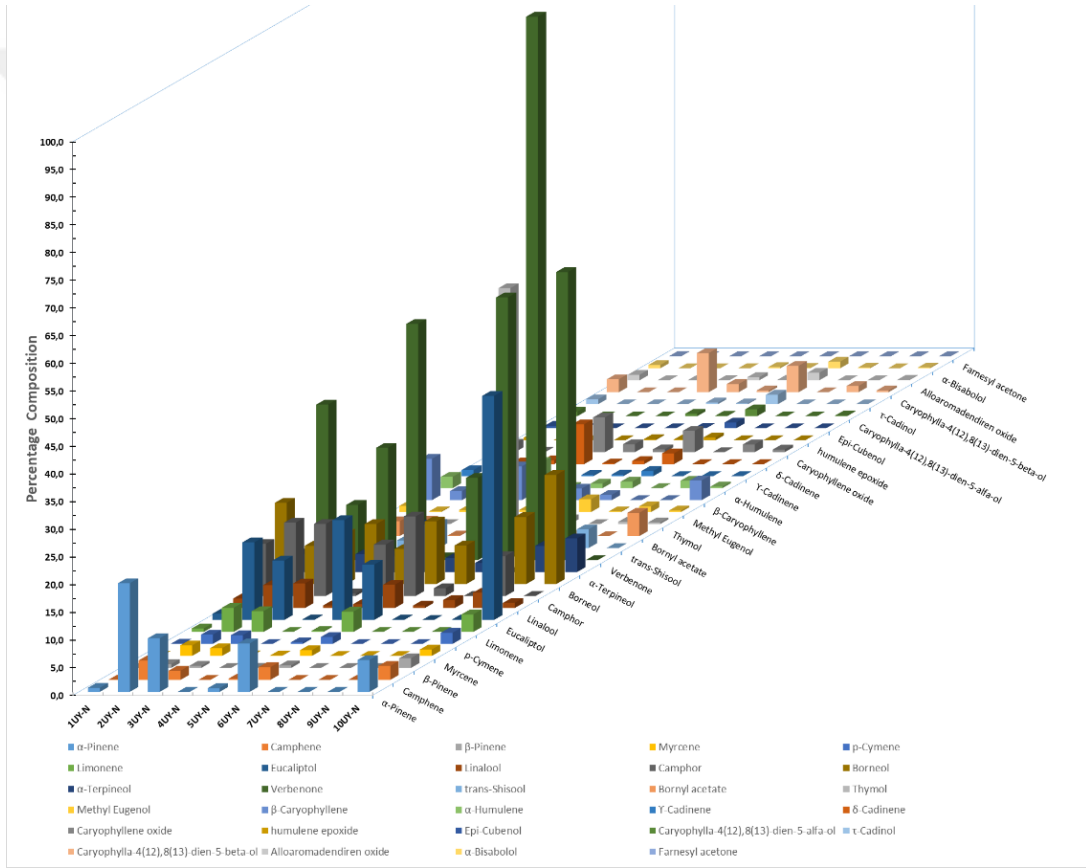
3.6.1.10. 10UY grubu (meyve kurutucusunda kurutulan) uçucu yağların eldesinde pH etkisinin değerlendirilmesi



Şekil 3.29. 10UY grubuna ait uçucu yağların ilk majör 29 bileşenin karşılaştırılması

Meyve kurutucusunda kurutulan bitkinin örneklerinden farklı pH'larda çıkartılan uçucu yağlarının (10UY grubu) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. 10UY grubuna ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.29'da verilmektedir. Şekil 3.29'da görüldüğü gibi eucaliptol'un bazik ve nötral ortamlarda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'ının 8.0'a yakın olması verbenone'in miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada Borneol maddesinin miktarının arttığı ve asidik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene, camphene, β -pinene ve limonene maddelerinde baziklik arttıkça miktarlarında artış görüldü. α -pinene sırasıyla %0,7, %5,8 ve %13,2 oranlarında, camphene %0,3, %2,5 ve %5,5 oranlarında, β -pinene %0,4, %1,7 ve %4,9 oranlarında ve limonene %0,8, %3,2 ve %3,8 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları baziklik arttıkça yükselmektedir. 1UY grubu ile karşılaştırıldığında % miktarlarında maddenin arttığı anlaşıldı. Buna ilaveten nötral ortamda elde edilen eucaliptol'un % miktarının en yüksek olduğu görüldü. Seskiterpen ve seskiterpenoid maddelerinin 10UY grubunda % miktarların arttığı izlendi.

Nötr ortamta ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.31’de verilmektedir. Şekil 3.31’de görüldüğü gibi verbenone’nun (9UY) nötr ortamda miktarının yükseldiği görüldü. Verbenone açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH’ının 7,0’e yakın olması verbenone’nun miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada thymol (5UY) maddesinin miktarının arttığı ve asidik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene (2UY), eucaliptol (10UY), camphor (6UY) ve borneol (10UY) maddelerinde nötrallik arttıkça miktarlarında artma görüldü. α -pinene (2UY) %19,6, eucaliptol (10UY) %14,0, camphor (6UY) %14,4 ve borneol (10UY) % 19,7 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları asidlik arttıkça yükselmektedir.

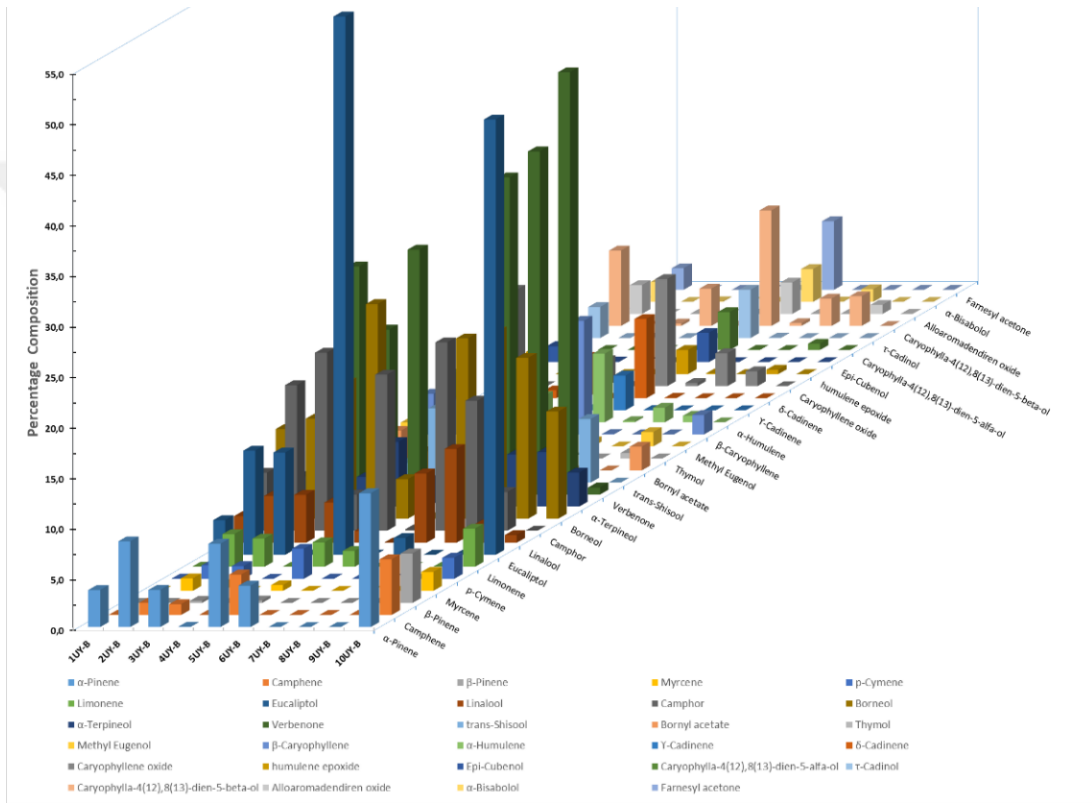


Şekil 3.31. Nötr ortamda (pH:7.0) elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması

3.6.2.3. Bazik ortamda elde edilen uçucu yağlarda kurutmanın etkisi

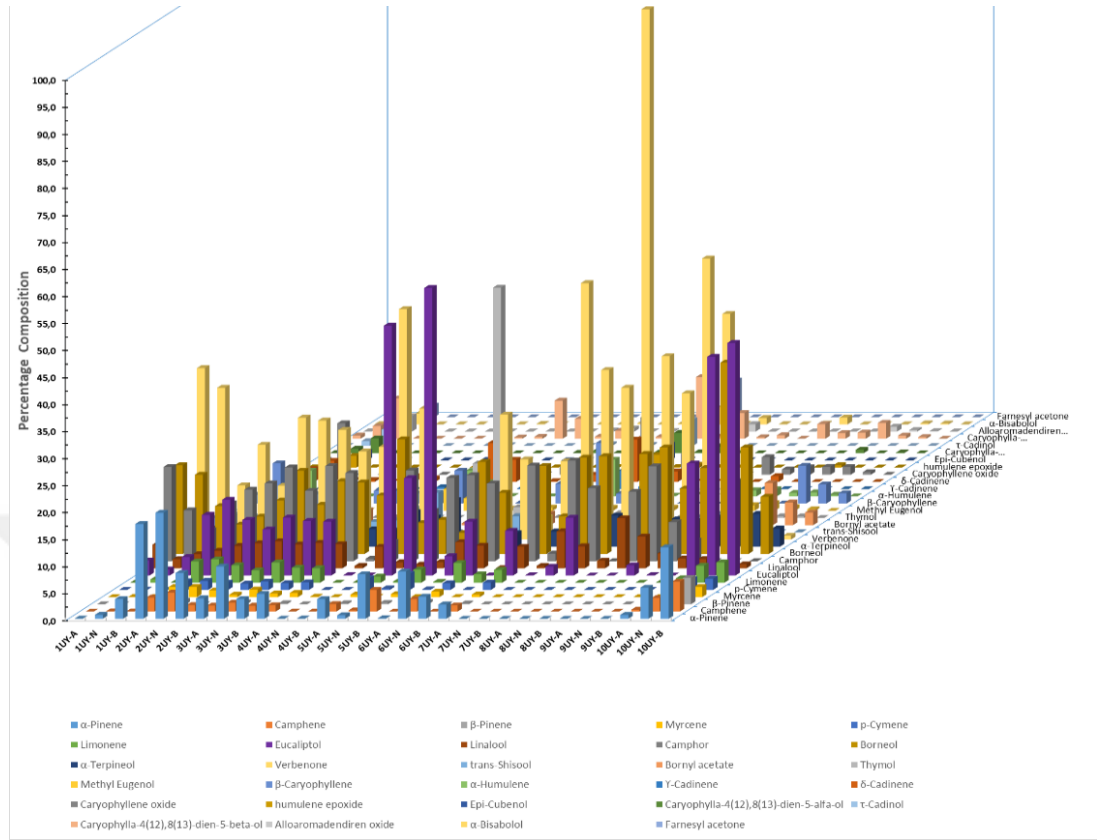
Bazik ortamda elde edilen bitkilerin örneklerinden çıkartılan uçucu yağlarının (pH-8,0) GC-MS kromatogramı karşılaştırıldığında aralarında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Bazik ortamta ait ilk 29 majör bileşenin % konsantrasyonlarının grafiği Şekil 3.32’da

verilmektedir. Şekil 3.32’da görüldüğü gibi eucaliptol’un (5UY) bazik ortamda miktarının yükseldiği görüldü. Eucaliptol açısından hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH’ının 8,0’e yakın olması eucaliptol’un miktarını arttırmıştır. Ayrıca burada verbenone (9UY) maddesinin miktarının arttığı ve bazik ortamda elde edilen yağda en fazla olduğu tespit edildi. Bunun tersine α -pinene (10UY), linalool (8UY), camphor (7UY) ve borneol (4UY) maddelerinde nötrallik arttıkça miktarlarında artma görüldü. α -pinene (10UY) %13,2, linalool (8UY) %9,3, camphor (7UY) %18,6 ve borneol (4UY) %21,2 oranlarında tespit edilmiş olup miktarları asitlik arttıkça yükselmektedir.



Şekil 3.32. Bazik ortamda (pH:8.0) elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması

3.6.3. Elde edilen tüm uçucu yağlarda içerik değişimine toplu bir bakış



Şekil 3.33. Tüm uçucu yağların karşılaştırılması

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Muğla'nın Köyceğiz bölgesinde yetişen biberiyenin farklı koşullarda muhafaza edildikten sonra pH 5,8 , pH 7,0 ve pH 8,0'deki hidrodestilasyon tekniği ile uçucu yağı elde edildi. Elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriği GC-MS ile tespit edildi. İçeriği tespit edilen uçucu yağların antikolinesteraz, tirosinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz inhibisyon aktiviteleri belirlendi. Çalışmanın son aşamasında ise farklı pH'larda elde edilen uçucu yağların kimyasal içerikleri ile inhibisyon aktivitelerinin kemometrik çalışması gerçekleştirildi.

Uçucu yağların kimyasal içerikleri Avrupa Farmakopisinde bulunan Tunus ve İspanyol biberiye uçucu yağlarıyla da karşılaştırıldı. Elde edilen uçucu yağlar arasında Avrupa Farmakopisinde temel alınan 12 adet uçucu bileşenin tamamının uyduğu uçucu yağ bulunmamaktadır.

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde α -pinen %18 ile %26 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde α -pinen %9 ile %14 arasında olduğu belirtilmektedir. Tez çalışmasında α -pinen açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnek sadece güneşte kurutulan biberiyenin 1. gün örneklerinden nötral ortamda çıkartılan uçucu yağıdır (2UY-N, %19,6). Tez çalışmasında α -pinen açısından Tunus kriterlerini taşıyan örnekler güneşte kurutulan biberiyenin 2. gün örneklerinden nötral ortamda çıkartılan uçucu yağıdır (3UY-N, %9,7) ve meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin bazık ortamda çıkartılan uçucu yağıdır (10UY-B, %13,2).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde camphene %8 ile %12 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde ise %2.5 ile %6.0 arasında olduğu belirtilmektedir. Tez çalışmasında camphene açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnek bulunmamaktadır. Tez çalışmasında camphene açısından Tunus kriterlerini taşıyan 5 uçucu yağ bulunmaktadır. Bunlar güneşte kurutulan biberiyenin 1. gün örneklerinden asidik ve nötral ortamda çıkartılan uçucu yağları (2UY-A, %2,6; 2UY-N, %3,5) ile güneşte kurutulan biberiyenin 4. gün örneklerinden bazık ortamda çıkartılan uçucu yağı (5UY-B, %3,1) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin nötral ve bazık ortamda çıkartılan uçucu yağlarıdır (10UY-N, %2,5; 10UY-B, %5,5).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde β -pinene %2 ile %6 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde β -pinene %4 ile %9 arasında olduğu belirtilmektedir. Tez çalışmasında β -pinene açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnek sadece meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiye'nin bazik ortamda çıkartılan uçucu yağıdır (10UY-B, %4,9). Aynı uçucu yağ β -pinene açısından Tunus kriterlerini taşıyan tek örnektir (10UY-B, %4,9).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde myrcene %1,5 ile %5 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde myrcene %1,0 ile %2,0 arasında olduğu belirtilmektedir. Tez çalışmasında myrcene açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnekler güneşte kurutulan biberiye'nin 1. gün örneklerinden asidik ve nötral ortamda çıkartılan uçucu yağları (2UY-A, %1,9; 2UY-N, %1,9) ve meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiye'nin bazik ortamda çıkartılan uçucu yağıdır (10UY-B, %1,9). Myrcene açısından Tunus kriterlerini taşıyan 6 uçucu yağ bulunmaktadır. Bunlar güneşte kurutulan biberiye'nin 1. gün örneklerinin tüm uçucu yağları (2UY-A, %1,9; 2UY-N, %1,9; 2UY-B, %1,2) ile güneşte kurutulan biberiye'nin 2. gün örneklerinden bazik ortamda çıkartılan uçucu yağı (3UY-B, %1,4) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiye'nin nötral ve bazik ortamda çıkartılan uçucu yağlarıdır (10UY-N, %1,2; 10UY-B, %1,9).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde *p*-cymene %1,0 ile %2,2 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde *p*-cymene %0,8 ile %2,5 arasında olduğu belirtilmektedir. *p*-cymene açısından İspanyol ve Tunus kriterlerini taşıyan 12 uçucu yağ bulunmaktadır. Bunlar güneşte kurutulan biberiye'nin 1. gün, ve 2. gün örneklerinin tüm uçucu yağları (2UY-A, %1,6; 2UY-N, %1,7; 2UY-B, %1,3; 3UY-A, %1,2; 3UY-N, %1,6; 3UY-B, %1,3) ile güneşte kurutulan biberiye'nin 3. ve 4. günlerin örneklerinden asidik ortamda çıkartılan uçucu yağları (4UY-A, %1,4; 5UY-A, %2,2) ile gölgede kurutulan biberiye'nin 1. günün örneklerinden nötral ortamda çıkartılan uçucu yağı (6UY-B, %1,2) ile 2. günün örneklerinden asidik ortamda çıkartılan uçucu yağı (7UY-A, %1,4) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiye'nin nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağlarıdır (10UY-N, %2,0; 10UY-B, %2,1).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde limonene %2,5 ile %5,0 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde limonene %1,5 ile %4,0 arasında olduğu belirtilmektedir. Limonene açısından İspanyol ve Tunus kriterlerini

taşıyan 9 uçucu yağ bulunmaktadır. Bunlar güneşte kurutulan biberiyenin 1. gün, ve 2. gün örneklerinin tüm uçucu yağları (2UY-A, %3,1; 2UY-N, %4,3; 2UY-B, %3,2; 3UY-A, %2,3; 3UY-N, %3,8; 3UY-B, %2,8) ile güneşte kurutulan biberiyenin 3. ve 4. günlerin örneklerinden asidik ve bazik ortamlarında çıkartılan uçucu yağları (4UY-A, %2,7; 5UY-B, %2,4) ile gölgede kurutulan biberiyenin 1. günün örneklerinden nötral ve bazik ortamlarında edilen tüm uçucu yağları (6UY-N, %3,7; 6UY-B, %1,6) ile 2. günün örneklerinden asidik ortamında edilen tüm uçucu yağları (7UY-B, %2,4) meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağlarıdır (10UY-N, %3,2; 10UY-B, %3,3).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde eucaliptol %16,0 ile %25,0 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde eucaliptol %38,0 ile %55,0 arasında olduğu belirtilmektedir. Tez çalışmasında eucaliptol açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnekler güneşte kurutulan biberiyenin 4. gün örneklerinden nötral ortamda çıkartılan uçucu yağdır (5UY-N, %18,0) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin asidik ortamında çıkartılan uçucu yağdır (10UY-A, %20,7). Eucaliptol açısından Tunus kriterlerini taşıyan örnekler ise güneşte kurutulan biberiyenin 4. gün örneklerinden bazik ortamda çıkartılan uçucu yağdır (5UY-B, %53,2) ve meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağdır (10UY-N, %40,5; 10UY-B, %43,0).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde camphor %13,0 ile %21,0 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde camphor %5,0 ile %11,0 arasında olduğu belirtilmektedir. Camphor açısından İspanyol ve Tunus kriterlerini taşıyan 21 uçucu yağ bulunmaktadır. Her ikisine birden uyum sağlamayan uçucu yağlar güneşte kurutulan biberiyenin 3. gününün nötral ve bazik ortamlarında elde edilen uçucu yağlar (4UY-N ve 4UY-B) ve gölgede kurutulan biberiyenin 1. ve 4. günün bazik 2. ve 3. günün nötral ortamlarında çıkartılan uçucu yağları (6UY-B; 7UY-N; 8UY-N ve 9UY-B) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin tüm ortamlarında çıkartılan uçucu yağlarıdır (10UY-A; 10UY-N; 10UY-B).

Avrupa farmakopisinde İspanya'da yetiştirilen biberiye türünde borneol %2,0 ile %4,5 arasında olduğu, Tunus'da yetiştirilen biberiye türünde borneol %1,5 ile %5,0 arasında olduğu belirtilmektedir. Borneol açısından İspanyol kriterlerini taşıyan 1 adet ve Tunus kriterlerini taşıyan 3 adet uçucu yağ bulunmaktadır. Her ikisine birden uyum sağlayan güneşte kurutulan biberiyenin 4. gününün bazik ortamında elde edilen uçucu

yağdır (5UY-B; %3,9). Tunus kriterlerini sağlayan diğer iki uçucu yağlar ise güneşte kurutulan biberiyenin 1. ve 4. gününün asidik ortamında elde edilen uçucu yağlarıdır (2UY-A, %5,4; 5UY-A, %5,7).

Avrupa farmakopisinde İspanya’da yetiştirilen biberiye türünde α -terpineol %1,0 ile %3,5 arasında olduğu, Tunus’da yetiştirilen biberiye türünde α -terpineol %1,0 ile %2,6 arasında olduğu belirtilmektedir. α -terpineol açısından İspanyol ve Tunus kriterlerini taşıyan 14 uçucu yağ bulunmaktadır. Tez çalışmasında α -terpineol açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnekler topladıktan hemen sonra nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağları (1UY-N, %3,3; 1UY-B, %3,0) ile güneşte kurutulan biberiyenin 1. gün örneklerinden asidik ve nötral ortamında çıkartılan uçucu yağları (2UY-A, %2,7; 2UY-N, %2,1) ile güneşte kurutulan biberiyenin 2. gün örneklerinden tüm ortamında çıkartılan uçucu yağları (3UY-A, %3,2; 3UY-N, %3,2; 3UY-B, %2,9) ile güneşte kurutulan biberiyenin 3. gün örneklerinden asidik ve nötral ortamında çıkartılan uçucu yağları (4UY-A, %3,2; 4UY-N, %2,1) ile güneşte kurutulan biberiyenin 4. gün örneklerinden bazik ortamında çıkartılan uçucu yağı (5UY-B, %2,6) ile gölgede kurutulan biberiyenin 1. gün örneklerinden nötral ortamında çıkartılan uçucu yağı (6UY-N, %2,5) ile gölgede kurutulan biberiyenin 2. gün örneklerinden asidik ve nötral ortamında çıkartılan uçucu yağları (7UY-A, %2,8; 7UY-N, %1,7) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin bazik ortamında çıkartılan uçucu yağdır (10UY-B, %3,4).

Avrupa farmakopisinde İspanya’da yetiştirilen biberiye türünde verbenon %0,7 ile %2,5 arasında olduğu belirtilmektedir. Bu kritere uyan uçucu yağ sadece meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin bazik ortamında çıkartılan uçucu yağdır (10UY-B, %0,7).

Avrupa farmakopisinde İspanya’da yetiştirilen biberiye türünde bornyl acetate %0,5 ile %2,5 arasında olduğu, Tunus’da yetiştirilen biberiye türünde bornyl acetate %0,1 ile %1,5 arasında olduğu belirtilmektedir. Bornyl acetate açısından İspanyol ve Tunus kriterlerini taşıyan 17 uçucu yağ bulunmaktadır. Her ikisine birden uyum sağlayan uçucu yağlar topladıktan hemen sonra asidik ve nötral ortamında elde edilen uçucu yağlar (1UY-A, %1,1; 1UY-N, %0,8) ile güneşte kurutulan biberiyenin 3. gününün asidik ortamında elde edilen uçucu yağlar (4UY-A, %1,5) ile gölgede kurutulan biberiyenin 1., 2. ve 4. günün asidik ve nötral ortamlarında elde edilen uçucu yağlarıdır (6UY-N, %1,5; 7UY-A, %0,9; 9UY-A, %0,8). Tez çalışmasında bornyl acetate

açısından İspanyol kriterlerini taşıyan örnekler güneşte kurutulduktan nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağları (1UY-N, %3,3; 1UY-B, %3,0) ile güneşte kurutulan biberiyenin 2. gün örneklerinden asidik ve bazik ortamlarında çıkartılan uçucu yağları (3UY-A, %1,6; 3UY-B, %1,9) ile gölgede kurutulan biberiyenin 1. gün örneklerinden asidik ve bazik ortamlarında çıkartılan uçucu yağları (6UY-A, %2,0; 6UY-B, %2,1) ile meyve kurutma makinesinde kurutulan biberiyenin bazik ortamında çıkartılan uçucu yağdır (10UY-B, %2,4). Tez çalışmasında bornyl acetate açısından Tunus kriterlerini taşıyan örnekler güneşte kurutulan biberiyenin 4. gün örneklerinden tüm ortamlarında çıkartılan uçucu yağları (5UY-A, %0,3; 5UY-N, %0,1; 5UY-B, %0,3) ile gölgede kurutulan biberiyenin 2. gün örneklerinden nötral ve bazik ortamında çıkartılan uçucu yağ (7UY-N, %0,2; 7UY-B, %0,2) ile gölgede kurutulan biberiyenin 3. gün örneklerinden nötral ortamında çıkartılan uçucu yağdır (8UY-N, %0,1).

Bu veriler ışığında, biberiye Muğla'dan toplandığında, Avrupa Farkopisine en iyi uyan kurutma şekli meyve kurutma makinesinde kurutulan yöntemdir. Aynı kurutma şeklinin hidrodestilasyon açısından değeriendirildiğinde hafif bazik su ile uçucu yağ çıkarma tekniğı ile elde edilen uçucu yağ Avrupa Farmakopisine en uygun teknik olarak değeriendirilebilir. Bu yöntemle camphor ve borneol dışında diğeri uçucu bileşenlerin % miktarları Farmakopiye uymaktadır. Buna ilaveten sırası ile güneş altında 1. ve 2. gün kurutma yöntemleri uygulandığında 7 adet uçucu bileşen % miktarlarının uyuştuğı görölmektedir. Ancak, ölkemizdeki biberiye türü coğrafi alana bağılı olarak verbenone bileşimini daha yoğunlukta oluşturmaktadır.

AChE inhibisyon aktivitesi sonuçlarına göre, en iyi aktivite gösteren uçucu yağlar sırasıyla 1UY-B ($46,40 \pm 0,10$ µg/mL) ve 2UY-B ($49,12 \pm 0,39$ µg/mL) örnekleridir (Çizelge 3.7 ve Şekil 3.11). Aynı şartlarda Alzheimer'lı hastalarda kullanılan galantamin ise $5,01 \pm 0,11$ µg/mL IC₅₀ değeri vermektedir. Bu sonuçlara göre hiçbir uçucu yağ galantaminden daha iyi aktivite vermediğı halde 100 µg/mL'nin altında aktivite veren uçucu yağların iyi asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi gösterdiği söylenebilir.

Çizelge 3.7 ve Şekil 3.11'de verilen BChE inhibisyon aktivitesi sonuçlarına göre IC₅₀ değeri 50-100 µg/mL arasında olan uçucu yağlar yüksekten düşük aktiviteye göre 7UY-N ($52,38 \pm 1,84$ µg/mL), 6UY-B ($65,65 \pm 1,35$ µg/mL), 4UY-A ($67,68 \pm 1,01$ µg/mL), 7UY-A ($71,58 \pm 1,20$ µg/mL), 5UY-A ($82,32 \pm 1,56$ µg/mL), 7UY-B

(83,38±1,30 µg/mL), 4UY-B (94,40±0,83 µg/mL), 10UY-B (94,87±0,31 µg/mL), 5UY-B (97,82±1,01 µg/mL) şeklinde olduğu belirlendi. Aynı şartlarda Alzheimer'lı hastalarda kullanılan galantamin ise 48,34±0,44 µg/mL IC₅₀ değeri vermektedir. Bu sonuçlara göre hiçbir uçucu yağ galantaminden daha iyi aktivite vermediği halde galantamine yakın IC₅₀ değerleri olan 7UY-N ve 6UY-B uçucu yağların bütirilkolinesteraz enzimine karşı yüksek aktivite gösterdiği söylenebilir.

Tirosinaz inhibisyon aktivitesi sonuçları (Çizelge 3.7 ve Şekil 3.12) göre 1UY-N (50,72±5,71 mg/mL) ve 1UY-B (51,43±2,50 mg/mL) elde edilen uçucu yağ serisi içerisinde en iyi tirosinaz inhibisyon aktivitesi sergilediği bulundu.

Farklı pH ve kurutma uygulamalarında elde edilen *R. officinalis* L. uçucu yağlarının α -glukosidaz inhibisyon aktivitesi sonuçlarına göre test edilen uçucu yağlar içerisinde (Çizelge 3.7 ve Şekil 3.13), 2UY-A (101,82±2,30 µg/mL), 1UY-N (106,92±1,03 µg/mL), 5UY-B (121,48±1,74 µg/mL), 5UY-A (121,81±1,65 µg/mL) ve 9UY-A (122,82±0,72 µg/mL) en iyi aktiviteyi sergiledikleri belirlendi.

Uçucu yağların, α -amilaz inhibisyon aktivitesi sonuçlarına (Çizelge 3.7 ve Şekil 3.13) göre 8UY-B (98,28±1,26 µg/mL), 6UY-B (102,80±1,32 µg/mL), 6UY-N (108,79±0,50 µg/mL), 6UY-A (118,71±0,07 µg/mL), 9UY-B (120,54±1,89 µg/mL) ve 4UY-A (129,63±0,39 µg/mL) düşük α -amilaz inhibisyon aktivite gösterdiği belirlendi.

R. officinalis L. uçucu yağlarının biyolojik aktivite içerisinde değerlendirildiğindeki değişken aktivite sergilemesinde, bitkinin kurutma uygulamalarına bağlı olarak farklı pH'larda uçucu yağlardaki kimyasal bileşenlerin bulunma miktarları etkin rol üstlenmiştir.

Ez cümle;

Kurutma teknikleri uçucu yağların içeriklerinde değişimlere neden olmaktadır. Bu etki kurutma tekniğinde güneş etkisinden olabileceği gibi aynı zamanda bitkinin uçucu yağ çıkartılmadan bünyesinde bulunan sudan da kaynaklanabilir. Bu nedenle, Avrupa Farmakopisi baz alarak yapılan karşılaştırmada en yakın uçucu yağ tekniğinin kontrollü kurutma sistemi olduğu belirlendi. Bazı uçucu yağ endüstrileri sıcaklığı düşük ve dengeli havalandırma yapılan sistemlerde bitkinin bünyesindeki suyun uzaklaştırılmasını yaparlar. Bu doğru bir yaklaşımdır.

Ayrıca hidrodestilasyonda kullanılan suyun pH'da uçucu yağ bileşenlerin değişiminde

etkendir. Aslına bakılırsa bir bitki su ile kaynatıldığında başta konulan suyun pH ile destilasyon tamamlandıktan sonraki pH farklıdır. Son durumda suyun pH'nın asidik ortama yaklaştığı görülür. Bu nedenle suyun hafif bazik kullanılması uçucu yağ içeriği bakımından daha beklenen sonuçlar vermektedir.



KAYNAKLAR

- Adeloye, D., Ige, J.O., Aderemi, A.V., Adeleye, N., Amoo, E.O., Auta, A. ve Oni, G. (2017) Estimating the prevalence, hospitalisation and mortality from type 2 diabetes mellitus in Nigeria: A systematic review and meta-analysis, *BMJ Open*, 7: e015424. doi:10.1136/ bmjopen-2016-015424.
- Afoulous, S., Ferhout, H., Raelison, E.G., Valentin, A., Moukarzel, B., Couderc, F. ve Bouajila, J. (2013) Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*, *Food Chem Toxicol*, 56: 352-362.
- Al-Hader, A.A., Hasan, Z.A. ve Aqel, M.B. (1994) Hyperglycemic and insulin release inhibitory effects of *Rosmarinus officinalis*, *J Ethnopharmacol*, 43: 217-221.
- Allderdice, P.W., Gardner, H.A., Galutira, D., Lockridge, O., LaDu, B.N. ve McAlpine, P.J. (1991) The cloned butyrylcholinesterase (BCHE) gene maps to a single chromosome site, 3q26, *Genomics*, 11: 452-454.
- Al-Sereiti, M.R., Abu-Amer, K.M. ve Sen, P. (1999) Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials, *Indian J Exp Biol*, 37: 124-30.
- Amaral, G.P., de Carvalho, N.R., Barcelos, R.P., Dobrachinski, F., Portella, Rde.L., da Silva, M.H., Lugokenski, T.H., Dias, G.R.M., Luz, S.C.A., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Villetti, M.A., Soares, F.A.A. ve Fachineto, R. (2013) Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats, *Food Chem Toxicol*, 55: 48-55.
- Anand, K. ve Sabbagh, M. (2015) Early investigational drugs targeting tau protein for the treatment of Alzheimer's disease, *Expert Opin Investig Drugs*, 24: 1355-1360.
- Azam, F., Ameri, A.M., Abulifa, A.R. ve Elzwawi, M.M. (2014) Ginger components as new leads for the design and development of novel multi-targeted anti-alzheimer's drugs: A computational investigation, *Drug Des Devel Ther*, 8: 2045-2059.
- Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M. ve Ruberto, G. (1998a) Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils, *J. Essent. Oil Res*, 10: 618-627.
- Bar-O, N..P, Millard, C.B., Harel, M., Dvir, H., Enz, A., Sussman, J.L. ve Silman, I. (2002) Kinetic and structural studies on the interaction of cholinesterases with the anti-Alzheimer drug rivastigmine, *Biochem*, 41: 3555-3564.
- Barton, D.E., Kwon, B.S. ve Francke, U. (1988) *Genomics*, 3: 17-24.

- Bartus, R.T., Dean, R.L. III, Beer, B. ve Lipka, A.S. (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction, *Science*, 217: 408-417.
- Bayrak, A. ve Akgül, A. (1989) Biberiye bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu üzerinde araştırma, *Gıda Sanayi Dergisi*, 5: 20-22.
- Begum, A., Sandhya, S., Ali, S.S., Vinod, K.R., Reddy, S. ve Banji, D. (2013) An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (lamiaceae), *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 12: 61-73.
- Benjamin, S., Smitha, R.B., Jisha, V.N., Pradeep, S., Sajith, S., Sreedevi, S., Priji, P., Unni, K.N. ve Sarath Josh, M.K. (2013) A monograph on amylases from *Bacillus* spp, *Adv Biosci Biotechnol*, 4: 227-241.
- Bernardes, W.A., Lucarini, R., Tozatti, M.G., Flauzino, L.G., Souza, M.G., Turatti, I.C., Silva, M.L.A., Martins, C.H.G., Filho, A.A.S. ve Cunha, W.R. (2010) Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens, *Z Naturforsch C*, 65: 588-593.
- Bertrand, G. (1895b) Sur la Recherche et la Présence de la Laccase dans les Végétales, *Compt rend*, 121: 166-168.
- Bertrand, G. (1896) Sur la presence simultanee de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons, *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*, 123: 463-465.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V. ve Ball, S. (1988) Starch granules: structure and biosynthesis, *Int J Biol Macromol*, 23: 85-112.
- Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gómez, T., Muñoz-Torrero, D., Scarpellini, M., Viayna, E., Badia, A., Clos, M.V., Camins, A., Pallàs, M., Bartolini, M., Mancini, F., V., Estelrich, J., Lizondo, M., Bidon-Chanal, A. ve F. Javier Luque (2008) Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation, *J Med Chem*, 51: 3588-3598.
- Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Muñoz-Torrero, D., Ramírez, L., Gómez, E., Isambert, N., Lavilla, R., Badi, a A., Clos, M.V., Bartolini, M., Mancini, F., Andrisano, V., P Arce, M., Rodríguez-Franco, M.I., Huertas, O., Dafni, T. ve Luque, F.J., (2009) Pyrano[3,2-c]quinoline-6-chlorotacrine hybrids as a novel family of acetylcholinesterase- and beta-amyloid-directed anti-Alzheimer compounds, *J Med Chem*, 52: 5365-5379.
- Canivell, S. ve Gomis, R. (2014) Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus, *Autoimmun Rev*, 13: 403-407.
- Castro, A.M., De Fragoso, A., Kachrimanidou, V., Koutinas, A.A. ve Freire, D.M.G. (2018) Production of Proteases and Amylases and Their Application in Nutrient Medium. Current Developments in Biotechnology and

- Chiasson, J.L., Josse, R.G. ve Gomis, R., Hanefeld, M., Karasik, A., Laakso, M. ve STOP-NIDDM Trial Research Group (2003) Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial, *JAMA*, 290 (4): 486-494.
- Cheng, S.T. (2016) Cognitive reserve and the prevention of dementia: The role of physical and cognitive activities, *Curr Psychiatry Rep*, 18: 85.
- Cheung, S. ve Tai, J. (2017) Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*, *Oncol Rep*, 17: 1525-1531.
- Cinelli, B.A., Castilho, L.R., Freire, D.M.G. ve Castro, A.M. (2015) A brief review on the emerging technology of ethanol production by cold hydrolysis of raw starch, *Fuel*, 150: 721-729.
- Coelho, F. ve Birks, J. (2001) Physostigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2: CD 001499.
- Congdon, E.E. ve Sigurdsson, E.M. (2018) Tau-targeting therapies for Alzheimer disease, *Nat Rev Neurol*, 14: 399-415.
- Corey-Bloom, J., Anand, R. ve Veatch, J. (1998) A randomized trial evaluating the efficacy and safety of ENA 713 (rivastigmine tartrate), a new acetylcholinesterase inhibitor, in patients with mild to moderately severe Alzheimer's disease, *Int J Geriatr Psychopharmacol*, 1: 55-65.
- Cummings, J.L., Cyrus, P.A., Bieber, F., Mas, J., Orazem, J. ve Gulanski, B. (1998) Metrifonate treatment of the cognitive deficits of Alzheimer's disease. The metrifonate study group, *Neurology*, 50: 1214-1221.
- de Groot, A. ve Schmidt, E. (2016) Essential oils, Part II, *Dermatitis*, 27: 43-49.
- de Melo, GAN., Grespan, R., Fonseca, J.P., Farinha, T.O., Silva, E.L., Romero, A.L., Bersani-Amado, C.A. ve Cuman, R.K.N. (2011) *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Inhibits *In Vivo* and *In Vitro* Leukocyte Migration, *J Med Food*, 14: 944-946.
- de Souza, F.M., Busquet, N., Blatner, M., Maclean, K.N. ve Restrepo, D. (2011) Galantamine improves olfactory learning in the Ts65Dn mouse model of down syndrome, *Sci Rep*, 1: 137.
- Del Baño, M.J., Castillo, J., Benavente-García, O., Lorente, J., Martín-Gil, R., Acevedo, C. ve Alcaraz, M. (2006) Radioprotective-antimutagenic effects of rosemary phenolics against chromosomal damage induced in human lymphocytes by gamma-rays, *J Agric Food Chem*, 54: 2064-2068.
- Demirkan, E.S., Mikami, B., Adachi, M., Higasa, T. ve Utsumi, S. (2005) Alpha amylase from *B. amyloliquefaciens*: Purification, characterization, raw starch

- degradation and expression in *E. Coli*, *Process Biochemistry*, 40: 2629-2646.
- Derosa, G. ve Maffioli, P. (2012) Mini-special issue paper management of diabetic patients with hypoglycemic agents α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice, *Arch. Med. Sci*, 5: 899-906.
- Deshumukh, C.D. ve Jain, A. (2015) Diabetes Mellitus: A Review, *Int J Pure App Biosci*, 3: 227-228.
- Duru, M.E., Harmandar, M., Perez-Alonso, M.J. ve Velesco-Neguerella A. "Rosmarinus officinalis L. Yapraklarından Elde edilen Uçucu Yağların Kimyasal bileşimlerinin Analizi", X, *Ulusal Kimya Kongresi*, P-0501, 200, Uludağ Üniversitesi., Bursa-1994
- El Omri, A., Han, J., Ben Abdrabbah, M. ve Isoda, H. (2012) Down regulation effect of *Rosmarinus officinalis* polyphenols on cellular stress proteins in rat pheochromocytoma PC12 cells, *Cytotechnology*, 64: 231-240.
- El Saied Azab, A. (2014) Nephro-protective effects of curcumin, rosemary, and propolis against gentamicin-induced toxicity in Guinea pigs: morphological and biochemical study, *Am J Clin Exp Med*, 2: 28.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol Behavior*, 7: 88-95.
- Farlow, M., Gracon, S.I., Hershey, L.A., Lewis, K.W., Sadowsky, C.H. ve Dolan-Ureno, J. (1992). A controlled trial of tacrine in Alzheimer's disease. The tacrine study group, *JAMA*, 268: 2523-2529.
- Fernández, L.F., Palomino, O.M. ve Frutos, G. (2014) Effectiveness of *Rosmarinus officinalis* essential oil as antihypotensive agent in primary hypotensive patients and its influence on health-related quality of life, *J Ethnopharmacol*, 151: 509-516.
- Fernández-Bachiller, M.I., Pérez, C., González-Muñoz, G.C., Conde, S., López, M.G., Villarrova, M., García, A.G. ve Rodríguez-Franco, M.I. (2010) Novel tacrine-8-hydroxyquinoline hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with neuroprotective, cholinergic, antioxidant and coppercomplexing properties, *J Med Chem*, 53: 4927-4937.
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G. ve Chemat, F. (2014) Solventfree microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale, *Food Chem*, 150: 193-198
- Fraser, M.D., Davies, J.R. ve Chang, X. (2017) New gold in them thar hills: Testing a novel supply route for plant-derived galanthamine, *J Alzheimers Dis*, 55: 1321-1325.

- Freires, I.A., Denny, C., Benso, B., De Alencar, S.M. ve Rosalen, P.L. (2015) Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: asystematic review, *Molecules*, 20: 7329-7358.
- Forzza, R.C., Baumgratz, J.F.A., Bicudo, C.E.M., Canhos, D.A.L., Carvalho Jr. A.A., Costa, A., Costa, D.P., Hopkins, M., Leitman, P.M., Lohmann, L.G., NicLughadha, E., Maia, L.C., Martinelli, G., Menezes, M., Morim, M.P., Coelho, M.A.N., Peixoto, A.L., Pirani, J.R., Prado, J., Queiroz, L.P., Souza, S., Souza, V.C., Stehmann, J.R., Sylvestre, L.S., Walter, B.M.T. ve Zappi, D. (2012) New Brazilian floristic list highlights conservation challenges, *Biosci*, 62: 39-45.
- Frozza, R.C., Leitman, P.M., Coasta, A.F., Carvalho Jr, A.A. List of species of the Flora of Brazil (Lista de species Flora do Brasil). Rio de Janeiro, Brazil: Rio de Janeiro Botanic Garden, 2012.
- Fu, Y., Zu, Y., Chen, L., Shi, X., Wang, Z., Sun, S. ve Efferth, T. (2007) Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination, *Phytotherapy Research*, 21: 989-994.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. ve Rasooli, I. (2007) Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils, *Food Chem*, 102: 898-904.
- Graber, M.F., Pérez-Correa, J.R., Verdugo, G., Valle, J.M. ve Del Agosin, E. (2010) Spinning cone column isolation of rosemary essential oil, *Food Control*, 21: 615-619.
- Gupta, S., Pandey, A., Tyagi, A. ve Mohan, G.A. (2010) Computational analysis of Alzheimer's disease drug targets, *Curr Res Inf Pharm Sci*, 11: 1-10.
- Habtemariam, S. (2016) The Therapeutic Potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Diterpenes for Alzheimer's Disease, Review Article, *Evid Based Complement Alternat Med*, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2016/2680409>.
- Harel, M., Schalk. I., Ehret-Sabatier, L., Bouet, F., Goeldner, M., Hirth, C., Axelsen, P.H., Silman, I. ve Sussman, J.L. (1993) Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase, *Proc Natl Acad Sci, USA* 90: 9031-9035.
- Hearing VJ. (1987) Methods in Enzymology, *Academic Press: New York*, 142: 154-165.
- Hiele, M., Ghoo, Y., Rutgeerts, P. ve Vantrappen, G. (1992) Effects of acarbose on starch hydrolysis. Study in healthy subjects, ileostomy patients, and in vitro, *Dig Dis Sci*, 37 (7): 1057e1064.
- Holmstedt, B. (1972) In: Plants in the Development of Modern Medicine; Swain T (ed). Cambridge University Press, Cambridge, MA, p303 and references cited herein.

- Hsieh, C.L., Peng, C.H., Chyau, C.C., Lin, Y.C., Wang, H.E. ve Peng, R.Y. (2007) Low-density lipoprotein, collagen, and thrombin models reveal that *Rosmarinus officinalis* L. exhibits potent antiglycative effects, *J Agric Food Chem*, 55: 2884-2891.
- Inglis, F. (2002) The tolerability and safety of cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia, *Int J Clin Pract Suppl*, 127: 45-63.
- Iqbal, K., Gong, C.X. ve Liu, F. (2014) Microtubule-associated protein tau as a therapeutic target in Alzheimer's disease, *Expert Opin Ther Targets*, 18: 307-318.
- ISO. (2018) International Organization for Standardization: Essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)
- ITIS. (2018) Integrated Taxonomic Information System: *Rosmarinus officinalis*.
- Jacobson, S.A. ve Sabbagh, M.N. (2008) Donepezil: Potential neuroprotective and disease-modifying effects, *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 4: 1363-1369.
- Kajaria, D., Tiwari, S., Tripathi, J. ve Tripathi, Y. (2013) Ranjana *In-vitro* amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug-Shirishadi, *J Adv Pharm Technol Res*, 4: 206-209.
- Karakaya, S., El, S.N., Karagozlu, N., Sahin, S., Sumnu, G. ve Bayramoglu, B. (2014) Microwave-Assisted hydrodistillation of essential oil from rosemary, *J Food Sci Technol*, 51: 1056-1065.
- Karis, J.H., Nastuk, W.L. ve Katz, R.L. (1966) The action of tacrine on neuromuscular transmission: A comparison with hexafluorenum, *Brit J Anaesth*, 38: 762-774.
- Karran, E., Mercken, M. ve De Strooper, B. (2011) The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics, *Nat Rev Drug Discov*, 10: 698-712.
- Karthik, D., Viswanathan, P. ve Anuradha, C.V. (2011) Administration of rosmarinic acid reduces cardiopathology and blood pressure through inhibition of p22phox NADPH oxidase in fructose-fed hypertensive rats, *J Cardiovasc Pharmacol*, 58: 514-521.
- Kayashima, T. ve Matsubara, K. (2012) Antiangiogenic effect of carnosic acid and carnosol, neuroprotective compounds in rosemary leaves, *Biosci Biotechnol Biochem*, 76:115-119.
- Kfoury, M., Auezova, L., Greige-Gerges, H. ve Fourmentin, S. (2015) Promising applications of cyclodextrins in food: improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity, *Carbohydr Polym*, 131: 264-272.

- Khachaturian, Z.S. (1985) Diagnosis of alzheimer's disease, *Arch Neurol*, 42: 1097-1105.
- Khatib, S., Nerya, O., Musa, R., Shumel, M., Tamir, S. ve Vaya, J. (2005) Chalcones as Potent Tyrosinase Inhibitors: The Importance of 2,4-disubstituted Resorcinol Moiety, *Bioorg Med Chem*, 13: 433-441.
- Kim, J.S., Kwon, C.S. ve Son, K.H. (2000) Inhibition of Alpha-glucosidase and Amylase by Luteolin, a Flavonoid, *Biosci Biotechnol Biochem*, 64: 2458-2461.
- Kokkini, S., Karousou, R. ve Hanlidou, E. (2003) Herbs of the Labiatae, *Encycl Food Sci Nutr*, 3082-3090.
- Kontogianni, V.G., Tomic, G., Nikolic, I., Nerantzaki, A.A., Sayyad, N., Stosic-Grujicic, S., Stojanovic, I., Gerothanassis, I.P. ve Tzakos, A.G. (2013) Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity, *Food Chem*, 136: 120-129.
- Kryger, G., Silman, I. ve Sussman, J.L. (1999) Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): Implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. *Struct* 7: 297-307.
- Kuhn, D. (2003) New horizons, *Contemporary long care*, 26: 25-26.
- Kumar, C.M., Sathisha, U., Dharmesh, S., Rao, A.A. ve Singh, S.A., *Biochimie*, 2011, 93 (5): 969.
- Lerch, K. (1995) Tyrosinase: Molecular and Active-Site Structure. In Enzymatic Browning and Its Prevention (Vol. 600, pp. 5-64). *Am Che Soc*
- López-A rrieta, J.M. ve Schneider, L. (2006) Metrifonate for alzheimer's disease, *Cochrane Database Sys Rev*, 2: 1-40.
- Lotta, B. (2011) Targeting acetylcholinesterase: Identification of chemical leads by high throughput screening, structure determination and molecular modeling. *PLoS One* 6: e26039.
- Luo, W., Li, Y.P., He, Y., Huang, S.L., Tan, J.H., Ou, T.M., Li, D., Gu, L.Q. ve Huang, Z.S. (2011) Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation, *Bioorg Med Chem*, 19: 763-770.
- Machado, D.G., Cunha, M.P., Neis, V.B., Balen, G.O., Colla, A.R., Grando, J., Brocardo, P.S., Bettio, L.E.B., Dalmarco, Juliana. B., Rial, D., Prediger, R.D., Pizzolatti, M.G. ve Rodrigues, A.L.S. (2012) *Rosmarinus officinalis* L. hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice, *J Ethnopharmacol*, 143: 158-169.

- Machado, D.G., Cunha, M.P., Neis, V.B., Grasiela, O.B., André, C., Luis, E.B.B., Ágatha, O., Pazini, F.L., Dalmarco, J.B., Simionatto, E.L., Pizzolatti, M. G. ve Rodrigues A.L.S. (2013) Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L, *Food Chem*, 136: 999-1005.
- Mehta, M., Adem, A. ve Sabbagh, M. (2012) New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease, *Int J Alzheimers Dis*, 2012, 728983.
- Menghini, L., Genovese, S., Epifano, F., Tirillini, B., Ferrante, C. ve Leporini, L. (2010) Antiproliferative, protective and antioxidant effects of artichoke, dandelion, turmeric and rosemary extracts and their formulation, *Int J Immunopathol Pharmacol*, 23(2): 601-610.
- Mouahid, A., Dufour, C. ve Badens, E. (2017) Supercritical CO₂ extraction from endemic Corsican plants; Comparison of oil composition and extraction yield with hydrodistillation method, *J CO₂ Util*, 20: 263-273.
- Muñoz-Centeno, L. (2002) *Plantas medicinales españolas: Medicinales Españolas: Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (romero), Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, Espanha.
- Napoli, E.M., Curcuruto, G. ve Ruberto, G. (2010) Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary, *Biochem Syst Ecol*, 38: 659-670.
- Napoli, E.M., Siracusa, L., Saija, A., Speciale, A., Trombetta, D., Tuttolomondo, T., La Bella, S., Licata, M., Virga, G., Leone, R., Leto, C., Rubino, L. ve Ruberto, G. (2015) Wild sicilian Rosemary: phytochemical and morphological screening and antioxidant activity evaluation of extracts and essential oils, *Chem Biodivers*, 12: 1075-1094.
- Nelson, J.M. ve Dawson, C.R. (2006) Tyrosinase. In *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (pp. 99-152). John Wiley & Sons, Inc.
- Noble, W., Hanger, D.P., Miller, C.C. ve Lovestone, S. (2013) The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases, *Front Neurol*, 4: 83.
- Nolkemper, S., Reichling, J., Stintzing, F.C., Carle, R. ve Schnitzler, P. (2006) Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro, *Planta Med*, 72: 1378-1382.
- Nordgren, I., Bengtsson, E., Holmstedt, B. ve Pettersson, B.M. (1981) Levels of metrifonate and dichlorvos in plasma and erythrocytes during treatment of schistosomiasis with Bilarcil, *Acta Pharmacol Toxicol*, (Copenh) 49 (Suppl 5): 79-86.
- Ogura, H., Kosasa, T., Kuriya, Y. ve Yamanishi, Y. (2000) Comparison of inhibitory activities of donepezil and other cholinesterase inhibitors on

acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase *in Vitro*, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 22: 609-613.

- Olin, J. ve Schneider, L. (2001) Galantamine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 4: CD 001747.
- Onor, M.L., Trevisiol, M. ve Aguglia, E. (2007) Rivastigmine in the treatment of alzheimer's disease: An update. *Clin Interv Aging*, 2: 17-32.
- Ozarowski, M., Mikolajczak, P.L., Bogacz, A., Gryszczynska, A., Kujawska, M., Jodynys-Liebert, J., Piasecka, A., Napieczynska, H., Szulc, M., Kujawski, R., Bartkowiak-Wieczorek, J., Cichocka, J., Bobkiewicz-Kozłowska, T., Czerny, B. ve Mrozikiewicz, P.M. (2013) *Rosmarinus officinalis* L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain, *Fitoterapia*, 91: 261-271.
- Panza, F., Solfrizzi, V., Seripa, D., Imbimbo, B.P., Lozupone, M., Santamato, A., Zecca, C., Barulli, M.R., Bellomo, A., Pilotto, A., Daniele, A., Greco, A. ve Logroscino, G. (2016) Tau-centric targets and drugs in clinical development for the treatment of Alzheimer's disease, *Biomed Res Int*, 3245935.
- Patel, S. (2015) Plant essential oils and allied volatile fractions as multifunctional additives in meat and fish-based food products: a review, *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 32: 1049-1064.
- Pecoits-Filho, R., Abensur, H., Betônico, C.C.R., Machado, A.D., Parente, E.B., Queiroz, M., Salles, J.E.N., Titan, S. ve Vencio, S. (2016) Interactions between kidney disease and diabetes: Dangerous liaisons. *Diabetol Metab Syndr*. 8: 50.
- Pengelly, A., Snow, J., Mills, S.Y., Scholey, A., Wesnes, K. ve Butler, L.R. (2012) Short-term study on the effects of rosemary on cognitive function in an elderly population, *J Med Food*, 15: 10-17.
- Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Duru, M.E., Harmandar, M., ve Esteban, J.L. (1995) Composition of the Essential Oils of *Ocimum basilicum* var. *Glabratum* and *Rosmarinus officinalis* from Turkey, *Essent Oil Res*, 7(1): 73-75.
- Perl, D.P. (2010) Neuropathology of Alzheimer's disease, *Mt Sinai J Med*, 77: 32-42.
- Pernov, K.G. (1961) Nivalin and its curative effect on disease of the nervous system, *Psychiatr Neurol Med Psychol* (Leipz), 13: 416-420.
- Posadas, S.J., Caz, V., Largo, C., De la Gándara, B., Matallanas, B., Reglero, G. ve Miguel, E.D. (2009) Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, *Rosmarinus officinalis*, on antioxidants of major organs of aged rats, *Exp Gerontol*, 44: 383-389.
- Quan, N., Xuan, T., Tran, H.D., Thuy, N., Trang, L., Huong, C., Andriana, Y. ve Tuyen, P. (2019) Antioxidant, α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory

Activities and Potential Constituents of *Canarium tramdenum* Bark, *Molecules*, 24: 605.

- Rahimifard, M., Navaei-Nigjeh, M., Mahroui, N., Mirzaei, S., Siahpoosh, Z., Pharm, D., Nili-Ahmadabadi, A., Mohammadirad, A., Baeeri, M., Hajiaghaie, R. ve Abdollahi, M. (2014) Improvement in the function of isolated rat pancreatic islets through reduction of oxidative stress using traditional *Iranian medicine*, *Cell J*, 16: 147-163.
- Joshi, R.K., Setzer, W.N. ve Da Veiga Junior, V.F. (2015) Aromatic and Medicinal Plants with Anti-Diabetic Potential from India: A Review, *Am J Essent Oil Nat Prod*, 2(4): 22-28.
- Rajagopalan, G. ve Krishnan, C. (2008) α -amylase production from catabolite depressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate, *Bioresource Technology*, 99: 3044-3050.
- Ramadan, K.S., Khalil, O.A., Danial, E.N., Alnahdi, H.S. ve Ayaz, N.O. (2013) Hypoglycemic and hepatoprotective activity of *Rosmarinus officinalis* extract in diabetic rats, *J Physiol Biochem*, 69: 779-783.
- Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S. ve Mikov, M. (2014) Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential, *BMC Complement Altern Med*, 14: 1-9.
- Republic of South Africa, (2009) *Rosemary production*, 2, Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Private Bag X144, Pretoria, 0001 South Africa, 20.
- Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, H.S., Albuquerque, T.G., Castilho, M.C., Ramos, F., Melo, N.R. ve Sanches-Silva, A. (2015) A novel insight on an ancient aromatic plant: the rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Trends Food Sci Technol*, 45: 355-368.
- Rogers, S.L. ve Friedhoff, L.T. (1996) The efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease: Results of a US multicentre randomised double blind placebo-controlled trial The donepezil study group, *Dementia*, 7: 293-303.
- Rogers, S.L., Farlow, M.R., Doody, R.S., Mohs, R. ve Friedhoff, L.T. (1998) A 24 week double blind placebo controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil study group, *Neurology*, 50: 136-145.
- Royal Botanic Garden Edinburgh, Flora Europea. Edinburgh, UK, Royal Botanic Garden Edinburgh, 2014.
- Russo, P., Frustaci, A., Del Bufalo, A., Fini, M. ve Cesario, A. (2013) Multitarget drugs of plants origin acting on Alzheimer's disease, *Curr Med Chem*, 20: 1686-1693.
- Sasaki, K., El Omri, A., Kondo, S., Han, J. ve Isoda, H. (2013) *Rosmarinus officinalis* polyphenols produce anti-depressant like effect through monoaminergic and

- cholinergic functions modulation, *Behav Brain Res*, 238: 86-94.
- Scheckel, K.A., Degner, S.C. ve Romagnolo, D.F. (2008) Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1-dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines, *J Nutr*, 138: 2098-2105.
- Sharma, A. ve Satyanarayana, T. (2013) Microbialacidstable-amylases: Characteristics, genetic engineering and applications, *Process Biochemistry*, 48: 201-211.
- Sharma, K. (2019) Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics, *Mol Med Rep*, 20: 1479-1487.
- Silman, I. ve Sussman, J.L. (2005) Acetylcholinesterase: Classical and non-classical functions and pharmacology, *Curr Opin Pharmacol*, 5: 293-302.
- Silman, I. ve Sussman, J.L. (2008) Acetylcholinesterase: How is structure related to function, *Chem Biol Interact*, 175: 3-10.
- Silveira e Sá R. de C. da, Andrade, L.N. ve Sousa, D.P. (2013) A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes, *Molecules*, 18: 1227-1254.
- Sinkovic, A., Suran, D., Lokar, L., Fliser, E., Skerget, M., Novak, Z. ve Knez, Z. (2011) Rosemary extracts improve flow-mediated dilatation of the brachial artery and plasma PAI-1 activity in healthy young volunteers, *Phytother Res*, 25: 402-407.
- Stearn, W.T. (1992) *Stearns dictionary of plant names for gardeners. A handbook on the origin and meaning of the botanical names of some cultivated plants*, London, UK, Cassell.
- Stevens, L.H., Davelaar, E., Kolb, R.M., Pennings, E.J. ve Smit, N.P. (1998) *Phytochemistry*, 49: 703-707.
- Tabassum, N. ve Hamdani, M. (2014) Plants used to treat skin diseases, *Pharmacogn Rev*, 8: 52-60.
- Tabet, N. (2008) Acetylcholinesterase inhibitors for alzheimer's disease: Anti-inflammatories in acetylcholine clothing, *Age Ageing*, 35: 336-338.
- Takashima, A. (2010) Tau aggregation is a therapeutic target for Alzheimer's disease, *Curr Alzheimer Res*, 7: 665-669.
- Tang, H., Zhao, L.Z., Zhao, H.T., Huang, S.L., Zhong, S.M., Qin, J.K., Chen, Z.F., Huang, Z.S. ve Liang, H. (2011) Hybrids of oxoisoaporphinetacrine congeners: Novel acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β amyloid aggregation inhibitors, *Eur J Med Chem*, 46: 4970-4979.
- Tariot, P.N., Solomon, P.R., Morris, J.C., Kershaw, P., Lilienfeld, S. ve Ding, C. (2000) A 5-month, randomized, placebocontrolled trial of galantamine in AD.

The Galantamine USA- 10 Study Group, *Neurology*, 54: 2269-2276.

- Tawfeeq, A., Culham, A., Davis, F. ve Reeves, M. (2016) Does fertilizer type and method of application cause significant differences in essential oil yield and composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Ind Crops Prod*, 88: 17-22.
- Tawfik, A., Read, P. ve Cuppett, S. (1998) *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary): *in vitro* culture, regeneration of plants, and the level of essential oil and monoterpenoid constituents, *Biotechnol Agric Fo*, 41: 349-365.
- Thal, L.J., Fuld, P.A., Masur, D.M. ve Sharpless, N.S. (1983) Oral physostigmine and lecithin improve memory in alzheimer disease, *Ann Neurol*, 13: 491-496.
- Tomasik, P. ve Horton, D. (2012). Enzymatic conversions of starch, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem*, 68: 2012, Pages 59-436
- Tomi, K., Kitao, M., Konishi, N., Murakami, H., Matsumura, Y. ve Hayashi, T. (2016) Enantioselective GC-MS analysis of volatile components from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils and hydrosols. *Biosci Biotechnol Biochem*, 80: 840-847.
- Tougu, V. (2001) Acetylcholinesterase: Mechanism of catalysis and inhibition, *Curr Med Chem CNS Agents*, 1: 155-170.
- Tripathi, A. (2008) Acetylcholinesterase: A versatile enzyme of nervous system, *Ann Neurosci*, 15: 106-111.
- Tu, Z., Moss-Pierce, T., Ford, P. ve Jiang, T.A. (2013) Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract regulates glucose and lipid metabolism by activating AMPK and PPAR pathways in HepG2 cells. *J Agric Food Chem*, 61: 2803-2810.
- Tucker, A.O. ve Maciarello, M.J. (1986) The essential oils of some rosemary cultivars, *Flavour Fragr J*, 1: 137-142.
- Van der Maarel, M.J.E.C., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. ve Dijkhuizen, L. (2002) Properties and applications of starch converting enzymes of the alpha-amylase family, *J Biotechnol*, 94: 137-155.
- Waseen, R. ve Low, K.H. (2014) Advanced analytical techniques for the extraction and characterization of plant-derived essential oils by gas chromatography with mass spectrometry, *J Sep Sci*, 1-20.
- Watkins, P.B., Zimmerman, H.J., Knapp, M.J., Gracon, S.I. ve Lewis, K.W. (1994) Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease, *JAMA*, 271: 992-998.
- Weinstock, M. (1999) Selectivity of cholinesterase inhibition, *CNS Drugs*, 12: 307-

- Whittaker, M. (1980) Plasma cholinesterase variants and the anaesthetist, *Anaesthesia*, 35: 174-197.
- Yeşil-Çelikleş, Ö., Sevimli, C., Bedir, E. ve Vardar-Sukan, F. (2010) Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines, *Plant Foods Hum Nutr*, 65: 158-163.
- Yoshida, H. (1883) Chemistry of Lacquer (Urushi) Part 1, *J Chem Soc*, 43: 472-486.
- Yosr, Z., Hnia. C., Rim, T. ve Mohamed, B. (2013) Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. typicus Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity, *Ind Crops Prod*, 43: 412-419.
- Zhang, Y., Kua, J. ve McCammon, J.A. (2002) Role of the catalytic triad and oxyanion hole in acetylcholinesterase catalysis: An ab initio QM/MM study, *J Am Chem Soc*, 124: 10572-10577.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : D*****a İ*****E
Uyruk : A*****n
Doğum Yeri ve Tarihi : B**ü – 0*/0*/1**7
Telefon : 0 5*2 5**9**0
e-posta : dil*****ade1997@m**l.ru

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	G.Garayev adına Kimya-Biyoloji Lisesi, Bakü	2014
Lisans	Sumgayıt Devlet Üniversitesi, Kimya Böl., Sumgayıt	2018
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Kimya ABD, Muğla	2022

Yabancı Dil

İngilizce	Başlangıç	Orta	İleri
Okuma/Anlama			✓
Yazma			✓
Konuşma		✓	

1. Proje Faaliyetleri

- D1.** "Halojen ve Metoksi İkameli Yeni Benzoil/Sulfonil Hidrazon Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi", Araştırmacı, MUBAP- 20/110/02/1/6.
- D2.** "Uçucu yağ elde edilirken kimyasal içeriğe etki eden faktörlerin araştırılması ve istenmeyen kimyasal içeriklerin oluşmaması için platformlar: *R. officinalis* Uçucu Yağı Örneklerinin Kimyasal İçeriklerindeki ve Tıbbi Biyoaktivitelerindeki Değişimlerin Kemometrik Analizlerle İncelenmesi", Araştırmacı, MUBAP- 21/132/01/1/5.