



T.C.

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNHALASYONLA UYGULANAN *SALVIA TRILOBA* UÇUCU
YAĞININ *İN VİTRO* BİYOAKTİVİTELERİ VE SIÇANDA
SKOPOLAMİN İLE İNDÜKLENMİŞ BELLEK KAYBI
ÜZERİNDE KORUYUCU ETKİSİ**

GÜLŞAH BEYZA ERTOSUN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ergen

İkinci Tez Danışmanı

Prof. Dr. Güldal Süyen

İSTANBUL-2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

22.07.2020

Gülşah Beyza Ertosun



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum Yüksek Lisans Eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren tez danışmanlarım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ergen ve Prof. Dr. Güldal Süyen başta olmak üzere, Farmakognozi Anabilim dalından Dr. Timur Hakan Barak'a, Dr. Öğr. Üyesi Hilal Bardakçı'ya, Kevser Özdemir'e ve Altınbaş Üniversitesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Servi'ye destekleri ve yardımları için teşekkür ederim. Tezimin hazırlık aşamasında rehberlik eden Farmakoloji Anabilim dalından Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus'a, deney hayvanları temini için ACU deney hayvanları uygulama ve araştırma Merkezinden Vet. Hek. Samed Özer'e ve istatistik analizi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Emel Timuçin'e teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimimde katkılarından dolayı Doç. Dr. Hande Yapışlar'a, tüm dönemlerimi birlikte geçirdiğim ve desteklerini hissettiğim arkadaşlarıma ve en çok hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR VE SİMGE LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
RESİMLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
1.1 Literatür Özeti.....	3
1.2 Amaç ve Özgün Değer.....	6
2.GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Demans.....	7
2.2. Alzheimer Hastalığı.....	8
2.3. Kolinerjik Hipotez.....	9
2.3.1. Asetilkolin biyosentezi, depolanması ve salınması.....	11
2.4. Aromaterapi.....	14
2.5. <i>Salvia triloba</i> L.....	16
2.6. Skopolamin Hidrobromid.....	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Elde edilen bitkiler ve distilasyon düzeneği.....	21
3.2. Uçucu yağ eldesi.....	21
3.3. Uçucu Yağların GK/KS Analizi.....	22
3.4 <i>Salvia triloba</i> uçucu yağı <i>in vitro</i> aktiviteleri.....	23
3.4.1. AChE ve BChE Aktiviteleri Tayin Yöntemi.....	24
3.4.1.1 AChE İnhibisyon Testi.....	24
3.4.1.2 BChE İnhibisyon.....	25
3.4.2. Antioksidan Aktivite Testleri.....	25

3.4.2.1 DPPH radikal süpürücü aktivite.....	25
3.4.2.2 Demir indirgeme aktivitesi.....	26
3.4.2.3 Bakır indirgeme aktivitesi.....	26
3.4.2.4 Toplam Antioksidan Aktivite Deneyi.....	26
3.5. In Vivo Deneyler.....	27
3.5.1. Deney hayvanları.....	27
3.5.2. İnhalasyon Uygulaması.....	27
3.5.3 Biyoyararlanım.....	28
3.5.4. Çalışma Grupları.....	29
3.5.5 Morris Su Labirenti.....	30
3.5.6 Davranış Ölçümlerine Uygulanan İstatistik.....	31
4.BULGULAR.....	33
4.1. Antioksidan kapasiteleri.....	33
4.2. AChE ve BChE İnhibisyon Değerleri.....	34
4.3. GK-KS Uçucu Yağ Analizleri.....	34
4.4. Biyoyararlanım bulguları.....	41
4.5. Davranış Deneyi Bulgular.....	45
4.5.1 Öğrenme bulguları.....	43
4.5.2 Bellek bulguları.....	48
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
6.KAYNAKLAR.....	56
7.EKLER.....	65
7.1 Etik kurul onayı.....	65
7.2. ABAPKO proje desteği.....	67
7.3 Özgeçmiş.....	69

KISALTMALAR ve SİMGE LİSTESİ

(Ach)	Asetilkolin
(AchE)	Asetilkolinesteraz
(AH)	Alzheimer Hastalığı
(BChE)	Butirilkolinesteraz
(BHT)	Butillenmiş Hidroksitolüen
(BHTE)	Butillenmiş Hidroksil Tolüen Eşdeğerleri
(CUPRAC)	Bakır indirgeme aktivitesi
(DPPH)	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil
(DTNB)	5,5- ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
(FRAP)	Demir indirgeme antioksidan gücü
(GC/AİD)	Gaz Kromatografisi Alev İyonizasyon Dedektörü
(GK/KS)	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
(HSGK)	Headspace gaz kromatografisi
(LCD)	Lewy cisimcikli demans
(<i>S.triloba</i>)	<i>Salvia triloba</i>
(TOAC)	Toplam antioksidan kapasite
(VaD)	Vasküler demans

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1a	Geç başlangıçlı demans nedenleri.....	7
Şekil 2.1b	Genç başlangıçlı demans nedenleri.....	8
Şekil 2.3	Asetilkolin sentezi.....	10
Şekil 2.3.1	Beyinde kolinerjik çekirdekler ileti.....	11
Şekil 2.4	Aromaterapide inhalasyon.....	15
Şekil 2.5	Uçucu yağların AChE aktivitesi.....	20
Şekil 3.5.4	Davranış testi blok diyagramı.....	30
Şekil 4.3a	<i>S. triloba</i> (Antalya) uçucu yağı GK/KS.....	36
Şekil 4.3b	<i>S. triloba</i> (Yalova) uçucu yağı GK/KS.....	37
Şekil 4.3c	Ticari <i>S. triloba</i> uçucu yağı GK/KS.....	38
Şekil 4.3d	<i>S. triloba</i> (İzmir) uçucu yağı GK/KS.....	39
Şekil 4.3e	<i>S. triloba</i> (Balıkesir) uçucu yağı GK/KS.....	40
Şekil 4.4a	1,8 sineolün kütle spektrometresi kırılımları.....	41
Şekil 4.4b	Kanda 1,8 sineol 1.hayvan kan örneği.....	42
Şekil 4.4c	Kanda 1,8 sineol 2.hayvan kan örneği.....	42
Şekil 4.4d	Kanda 1,8 sineol 3.hayvan kan örneği.....	43
Şekil 4.4e	Kanda 1,8 sineol 4.hayvan kan örneği.....	43
Şekil 4.4f	Kanda 1,8 sineol 5.hayvan kan örneği.....	44
Şekil 4.4g	Kanda 1,8 sineol 6.hayvan kan örneği.....	44
Şekil 4.5.1a	Morris su labirenti testi 6 günlük kaçış latansları.....	46
Şekil 4.5.1b	Kaçış latansının 1. ve 4.gün karşılaştırması.....	47
Şekil 4.5.2a	Çaprazlama sayısı.....	48
Şekil 4.5.2b	Platform Latansı.....	49

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.3.1	Nikotin ve muskarin maddesi keşfi.....	13
Resim 2.5	<i>Salvia triloba</i>	17
Resim 3.1	Distilasyon düzeneği.....	21
Resim 3.2	<i>S. triloba</i> 'dan uçucu yağ eldesi.....	22
Resim 3.4	Antioksidan aktivite testleri.....	23
Resim 3.5.2	Uçucu yağ inhalasyon düzeneği.....	28
Resim 3.5.5	Morris su labirenti testi.....	31

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.5.4.	Davranış Deneyi Grupları.....	29
Tablo 4.1.	Antioksidan kapasite bulguları.....	33
Tablo 4.2.	AChE ve BChE inhibisyon değerleri.....	34
Tablo 4.3a.	<i>S. triloba</i> (Antalya) uçucu yağı.....	35
Tablo 4.3b.	<i>S. triloba</i> (Yalova) uçucu yağı.....	36
Tablo 4.3c.	Ticari <i>S. triloba</i> uçucu yağı.....	37
Tablo 4.3d.	<i>S. triloba</i> (İzmir) uçucu yağı.....	38
Tablo 4.3e.	<i>S. triloba</i> (Balıkesir) uçucu yağı.....	39
Tablo 4.5.	Morris su labirenti.....	47
Tablo 4.5.2a.	Platform çaprazlama Tukey Testleri.....	49
Tablo 4.5.2b.	Platform latansı Tukey Testleri.....	50

ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH), bilişsel işlevlerde azalma, çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize, ilerleyen nörodejeneratif bir hastalıktır. AH'da asetilkolin (ACh) sentezinde azalma, beyinde kolinerjik nöronlarda hasar ve kayıp olduğu bildirilmiştir. AH'de güncel tedavi olarak asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü etkinliği gösteren ilaçlar ile kolinerjik nörotransmisyonu güçlendirilmektedir. Oksidatif stres ve inflamasyon süreçlerinde ortaya çıkan serbest radikallerin de AH patolojisinde etkili olduğu gösterilmektedir. *Salvia triloba* uçucu yağı AChE enzim inhibisyonu yaptığı bilinen 1.8 sineol bakımından zengin olup sahip olduğu antioksidan kapasiteler ile bilişsel fonksiyonlar üzerindeki pozitif etki gösterme potansiyeli taşımaktadır. Bu tez çalışmasında içeriği gaz kromatografisi ile tespit edilmiş *S.triloba* uçucu yağının *in vitro* antioksidan kapasiteleri, kolinesteraz inhibisyon etkileri ve sıçanlarda inhalasyon uygulaması sonrası biyoyararlanımı gösterildi. Bunu takiben sıçanlarda *S. triloba* inhalasyonunun skopolamin uygulaması ile bellek bozukluğu oluşturulmuş sıçanlarda tedavi edici etkisi ile sağlıklı kontrollerde bilişsel güçlendirici etkisi Morris su labirenti ile araştırıldı. Morris su labirentinde 6 günlük öğrenme sürecinde *S. triloba* alan grup kontrol grubuna kıyasla 4. günde anlamlı olarak daha kısa kaçış latanslarına ulaştı ($p = 0.01$). Bellek bozukluğu indüklenmiş grup üzerinde *S. triloba* inhalasyon uygulamasının anlamlı bir tedavi edici etkisi gözlenmedi. Skopolamin alan grupta, Morris su labirenti 7. gün platform bölgesi çaprazlama sayısı ve platform latansı, skopolamin almayan gruplara (kontrol grubu ve *S. triloba* grubu) kıyasla bellek bozukluğu oluştuğunu da gösterdi, tedavi grubunda ise (skopolamin+S. *triloba* grubunda) bellek bozukluğuna işaret eden anlamlı bir fark bulunmadı. Bu bulgular *S. triloba* inhalasyon uygulamasının öğrenme performansı üzerinde bilişsel güçlendirici etkisini göstermekte ve yanı sıra bellek performansı üzerinde kısmi bir iyileştirme sağladığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Öğrenme-Bellek, Alzheimer Hastalığı, Uçucu Yağlar, *Salvia Triloba*, Skopolamin

SUMMARY

***In vitro* Bioactivities of *Salvia Triloba* L. Essential Oil Applied By Inhalation and Protective Effect Of Scopolamine Induced Memory Loss**

Alzheimer's Disease (AH) is a progressive neurodegenerative disease characterized by decreased cognitive function, various neuropsychiatric and behavioral disorders. It has been reported that there is a decrease in the synthesis of acetylcholine (ACh), damage and loss of cholinergic neurons in the brain. Cholinergic neurotransmission is strengthened with drugs that show acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity as the current treatment in AH. Free radicals that occur during oxidative stress and inflammation processes are also shown to be effective in AH pathology. *Salvia triloba* essential oil is rich in 1.8 cineol, which is known to cause AChE enzyme inhibition, and has the potential to have a positive effect on memory and cognitive functions with its antioxidant capacities. In this thesis, the *in vitro* antioxidant capacities, cholinesterase inhibition effects and bioavailability after inhalation in rats were demonstrated, the content of which was determined by gas chromatography. Subsequently, the therapeutic effect and cognitive enhancing effect in healthy controls were investigated by Morris water maze in rats with memory impairment by scopolamine administration of *S. triloba* inhalation in rats. In the Morris water maze, the group that received *S. triloba* during the 6-day learning period reached significantly shorter escape latencies on the 4th day compared to the control group ($p = 0.01$). No significant therapeutic effect of *S. triloba* inhalation on the memory-induced group was observed. In the group receiving scopolamine, Morris water maze showed the memory impairment compared to the groups that did not receive scopolamine (control group and *S. triloba* group) on the 7th day, and the platform latency also showed that memory impairment in the treatment group (scopolamine + *S. triloba* group). No significant difference was found. These findings show that the application of *S. triloba* inhalation has a cognitive enhancing effect on learning performance and also provides a partial improvement on memory performance.

Keywords: Learning-Memory, Alzheimer's Disease, Essential Oils, *Salvia Triloba*, Scopolamine

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Literatür Özeti

Demans, normal yaşlanma ile birlikte gerçekleşmesi beklenenin ötesinde bir düzeyde bilişsel işlevlerin giderek kötüleşmesi ile karakterize bir hastalıktır. Kayıtsızlık, ajitasyon ve depresyon gibi nöropsikiyatrik semptomlara ilave olarak artan işlev kaybı ile bir hasta bağımsızlığını yavaş yavaş kaybeder. Alzheimer hastalığı (AH) demansın en yaygın nedenidir (1).

AH genellikle patolojik değişimin birincil odağı olan anatomik (medial temporal lob ve hipokampus) bölgelerin işlev bozukluklarını yansıtan ve özellikle yeni bilgileri öğrenmek için hafıza kaybı ile kendini gösterir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde diğer yüksek kortikal fonksiyonlar (örneğin dil, praksi ve yürütücü fonksiyon) etkilenir ve davranışsal ve psikiyatrik bozukluklar görülür (2).

AH ilk kez Alois Alzheimer tarafından 1906 yılında, 51 yaşındaki Auguste adında bir kadın hastasının ölümü sonucunda yaptığı otopsisinde beyinde atrofi ve anormal kümeleşmeler saptayarak tanımlamıştır. Günümüzde amiloid beta plakları olarak adlandırılan bu yapılar AH'nın fizyopatolojik göstegesini olarak kabul edilmektedir. 1900'lü yıllarda AH nadir hastalık kabul edilirken, günümüzde giderek yaygınlaşmakta olan bir hastalık olarak kabul edilmektedir. AH'nın kesin nedeni bilinmemekle birlikte amiloid beta plakları, nörofibriller yumaklar, asetilkolin (ACh) seviyesinde azalma gibi çeşitli hipotezler önerilmiştir (3, 4).

Kolinerjik hipotez, AH'nın unutkanlıkla birlikte yeni bilgiler öğrenememe, beyindeki hafıza ve öğrenme işlev kayıplarını asetilkolin azlığı ile ilişkilendirmektedir. Asetilkolini hidrolize eden kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu ile asetilkolin nörotransmitterin artışı hedeflenmiştir.

AH için günümüzde memantin dışında kullanılan tüm ilaçlar kolinerjik hipotez esasına göre geliştirilmiştir. Bu bileşikler donozepil, rivastigmin ve galantamindir. Bilişsel bozukluklar bitkiler tarafından sentezlenen galantamin ve fizostigmin gibi asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri ile yavaşlatılmaktadır (5). Doğal bileşikler selektif olarak hem AChE hem de bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerini inhibe edebilirler. Her iki enzimin inhibisyonu hastalığın ilerlemesini engelleyici aktivite göstermektedir. AH tedavisinde kullanılacak ilaç keşfi çalışmalarında pek çok doğal molekülün *in vitro* olarak söz konusu kolinesterazları inhibe ettiği görülmüştür (5). Ancak *in vivo* ve klinik çalışmalar ile bu bulguların etkinliğinin kanıtlanması gerekmektedir (6, 7, 8).

Kolinerjik disfonksiyonun hafızadaki rolünün ve AH ile ilişkili dikkat bozukluklarının tanınması, kolinerjik katabolik enzim, AChE inhibisyonu ile kolinerjik fonksiyonu seçici olarak arttıran ilaçların geliştirilmesine yol açmıştır. Tetrahydroaminoasridin (Tacrine, Parke-Davis), donepezil (Aricept) ve galantamin dahil olmak üzere bu enzimi hedefleyerek AH'da bilişsel işlevi geliştirmek için birçok ilaç tasarlanmıştır (21). AH tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörleri Donepezil, Rivastigmin, Galantamindir. Donepezil, kolinerjik nörotransmisyonu arttıran ve demans için potansiyel fayda sağlayan piperidin türevi geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür (22).

Donepezilin sağlıklı yaşlı kişilerde bilişsel performansı iyileştirmek için değerlendirilmesi sonucu tek doz donepezilin biliş üzerindeki güçlü etkileri sağlıklı yaşlılarda Groton labirent öğrenme testi ile gösterilmiştir (23). Sağlıklı yaşlı kişilerde rivastigmin motor bir görevde öğrenmenin yanı sıra, semboller ve rakamlar arasında ilişki kurabilmeyi geliştirdiği gösterilmiştir (24). Galantamin, kardelen olarak bilinen, *Galanthus woronowii*, Amaryllidaceae bitkisinin soğanlarından ve çiçeklerinden izole edilen bir alkaloid olup, AChE'nin seçici, geri dönüşümlü ve kompetitif bir inhibitörü ve asetilkolin nöral nikotinik reseptörünün bir allosterik modülatörüdür (25). Galantamin, modafinil, atomoksetin, metilfenidat ve guanfasin

gibi bir dizi bilişsel güçlendirici ajan, insan çalışmalarında ümit verici bulgular göstermiştir. Bilişsel güçlendirme de dahil olmak üzere belirli davranışsal müdahaleler de umut vaat ettiği gösterilmiştir (26). Galantamin, AH'da kullanım için kapsamlı olarak değerlendirilecek birkaç kolinerjik ajandan biridir. Galantamin kullanımı ile ilgili herhangi bir güvenlik endişesi yoktur, önerilen yavaş doz artış şeması kullanılmalıdır. Bu bulgular dikkate alındığında, galantamin demans için tedavi edici potansiyele sahip, piyasada bulunan ilaçlardan biridir.(101, 102, 103)

Geleneksel halk tıbbında *Salvia* (sage, adaçayı) türlerinin hafızayı güçlendirici etkilerinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir (9). *Salvia* cinsi, Lamiacea familyasına mensup olmakla beraber, dünyanın çeşitli bölgelerinde özellikle, Akdeniz ikliminde ve Asya'da yetişen 1000'den fazla türe sahiptir (10) ve Akdeniz florasında yaklaşık 100 tür yetişmekte olup, bunların 57 tanesi endemiktir (11). Pek çok uçucu yağın bileşiminde bulunan ve monoterpen yapısında olan 1,8 sineol molekülü kolinesteraz inhibe edici özelliğe sahiptir ve *Salvia* türlerinde özellikle *S.triloba* bitkisinin uçucu yağında yüksek oranlarda bulunmaktadır (9).

Salvia cinsinin üyelerinin uzun yıllardır demans hastalığında kullanıldığı, kolinesteraz inhibisyon, glutamerjik, antienflamatuar, antioksidan ve nikotinik aktivitelerinin olduğunun bulunmasından dolayı, bu cinsin üyelerine AH üzerine çalışmalarına yaygın olarak karşılaşılmaktadır (14, 15). Literatürdeki bu bulgular özellikle *Salvia* türlerinin uçucu yağının AH karşı ilaç keşif çalışmalarında önemli birer model olabileceklerini ortaya koymaktadır.

1.2. Amaç ve Özgün Değeri

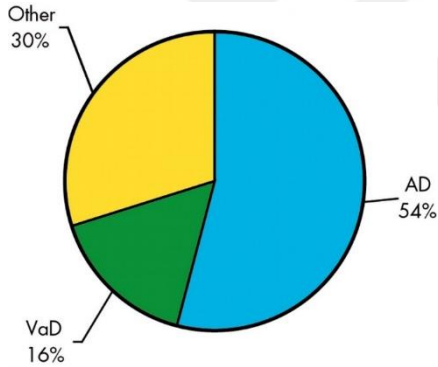
Bu alışmada Gaz kromatografisi (GK) ile içeriğini belirlediğimiz ve *in vitro* olarak kolinesteraz inhibitör aktivitesi ve antioksidan kapasitelerini tespit ettiğimiz *S. triloba* uçucu yağının, sıçanlarda inhalasyon yoluyla uygulanmasının biyoyararlanımı ve skopolamin ile oluşturulan bellek kaybı modeli yanı sıra sağlıklı hayvanlarda öğrenme-bellek üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Ülkemiz coğrafyasında yetişen bitkilerden *S. triloba*'nın uçucu yağı 1,8 sineol içeriği bakımından zengin ve nörotoksik etkilere sahip thujon ve kafur bileşen oranı az olması itibari ile tıbbi kullanıma oldukça uygun bir uçucu yağdır. Bu tez çalışmasında *S. triloba* uçucu yağının öğrenme ve bellek üzerine etkileri *in vivo* olarak ilk kez gösterilmiştir. Bileşenlerinin oranına göre en uygun yağın belirlenmiş olması, *in vivo* bulguların *in vitro* alışma ve biyoyararlanım tespiti ile desteklenmiş olması bu tez çalışmasının geçerliliğini arttırmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Demans

Klinik açıdan demans, zihinsel bozulma ve daha sonra fiziksel fonksiyonun az ya da çok kademeli deformasyonu ile karakterize edilen, genellikle ilerleyici nörodejeneratif beyin bozukluklarının bir grubu olarak tanımlanabilir. Demans, ciddi bilişsel bozukluğu ile birlikte ortaya çıkan fonksiyonel yetersizlik nedeniyle normal yaşlanmadan ayırt edilebilir. AH, demansın en yaygın nedeni olarak gösterilmektedir ve genellikle beyinde biriken nöritik plaklar ve nörofibriler düğümlerin neden olduğu varsayılan nörodejeneratif bir hastalıktır. Demansın en yaygın ikinci nedeni ise çeşitli vasküler patolojilerin neden olabileceği vasküler demanstır (VaD) (30).

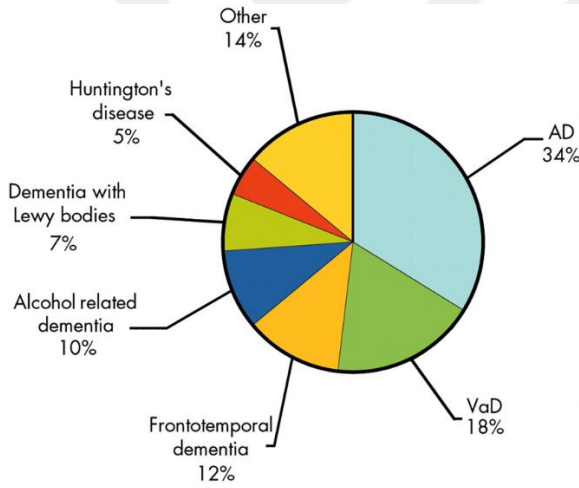


Şekil 2.1a. Geç başlangıçlı demans nedenleri (≥ 65 yaş). (30).

Demans semptomlarına neden olan bir dizi koşul vardır. AH tüm vakaların yaklaşık %60'ını oluşturur, diğer yaygın nedenler arasında yaşlı insanlarda VaD ve Lewy cisimcikli demans (LCD) bulunur. Giderek artan bir şekilde, özellikle geriyatrik bireylerde, karışık demans vakalarına (AH, VaD, LCD) rastlanmaktadır. Erken başlangıçlı demans, 65 yaşından önce demans geliştirenlere 'yaşlılık öncesi' demans denir. Geç başlangıçlı demans, 65 yaşından sonra demans geliştiren kişileri ifade eder. Demansı olan kişilerin etiyolojisi, erken ve geç başlayanlar arasında

farklılık gösterdiğinden ve demansı olan kişilerin farklı bir yaklaşıma ihtiyaç duydukları düşünülmektedir (31).

VaD prevalansı (% 18), frontotemporal demans (% 12) ve alkole bağlı demans (% 10), genç popülasyonda yaşlı popülasyonlara göre nispeten daha yaygındır. Bu rakamlar, nispeten nadir olmakla birlikte, erken yaşlarda demansın geliştiğinin ve bilişsel şikayetleri olan hastalarda her zaman ayırıcı tanının bir parçası olması gerektiğinin altını çizmektedir. Ayrıca, bu veriler erken demans ile geç demans arasındaki farklılıkları vurgulamaktadır. Frontotemporal demans ve alkole bağlı demans erken demans için nispeten yaygın nedenlerdendir (32).



Şekil 2.1b. Erken başlangıçlı demans nedenleri (<65 yaş) (32).

2.2. Alzheimer Hastalığı

AH bilişsel ve davranışsal bozukluklarla ilişkili, hafızadaki kayıp veya gerileme ve ciddi bilişsel bozukluklarla karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Bilişsel işlev, hafıza, düşünme, anlama, hesaplama, öğrenme kapasitesi ve dil becerisini etkiler. Yaşlılık, genetik yatkınlık, diğer tıbbi durumlar ile beraber stres en önemli faktörlerdendir. Normal yaşlanmadan beklenebilecek olanın ötesinde bir bozulma olan genellikle kronik veya ilerleyen niteliktedir. Bilişsel işlevdeki bozulmaya

genellikle duygusal kontrol, sosyal davranış veya motivasyon bozukluğu eşlik eder. Demansa sebep olan hastalıkların en yaygın olanı nörodejeneratif AH'dır ve vakaların % 60-70'i olarak gösterilmektedir (33, 34).

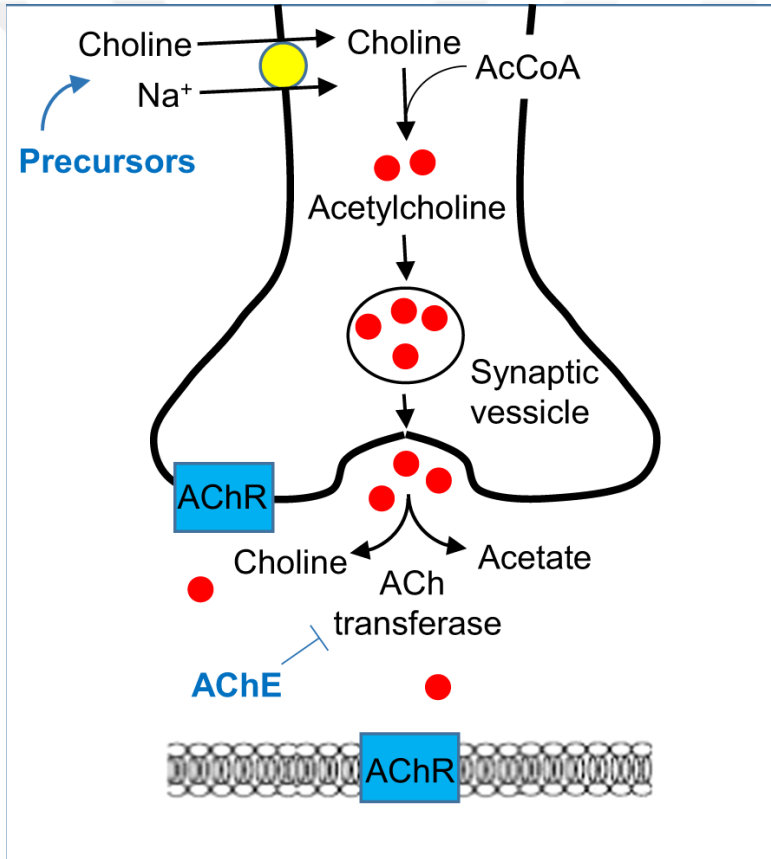
Bugüne kadar, AH'nın ana nedeni belirsizliğini korumaktadır, ancak β -amiloid ve tau protein birikimi, azalmış asetilkolin (ACh) ve glutamaterjik eksikliğin AH'nın ana patogenezi olarak kabul edildiği düşünülmektedir (35). Son çalışmalar, oksidatif stres ve enflamatuar süreçler sırasında üretilen serbest radikallerin AH'da patolojik olarak önemli olduğunu düşündürmektedir (36).

Alzheimer hastalarının merkezi sinir sisteminde süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde serbest radikal hasarı ve değişiklikler gözlenmiştir (37). Ayrıca, AH ve hafif bilişsel bozuklukta, lipitler ve proteinlerde artan oksidatif hasar, glutatyon ve antioksidan enzim aktivitelerinin azalması, hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir, buna bağlı olarak oksidatif stres AH'nın başlaması ve gelişimi sırasında meydana gelen değişikliklerden birisi olabilir (38, 39).

2.3. Kolinergik hipotez

Son yıllarda, AH'nın tedavisinde etkili bir ilaç geliştirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Ne yazık ki, bu ilaçların hiçbiri hastalığın seyrini tersine çevirememekte veya durduramamaktadır. Bu şekilde AH'nın semptomatik tedavisi için kullanılan bu maddelerin çoğu, AChE inhibisyonu yoluyla kolinergik sinir uçlarından salındıktan sonra ACh'in etkinliğini uzatan kolinesteraz inhibitörleridir. Bununla birlikte, bu ilaçların seçiciliği, sınırlı etkileri ve zayıf biyoyararlanımları, periferdeki olumsuz kolinergik yan etkileri, dar terapötik aralıklar ve hepatotoksisite, terapötik başarılarının birkaç sınırlaması arasındadır (40, 41).

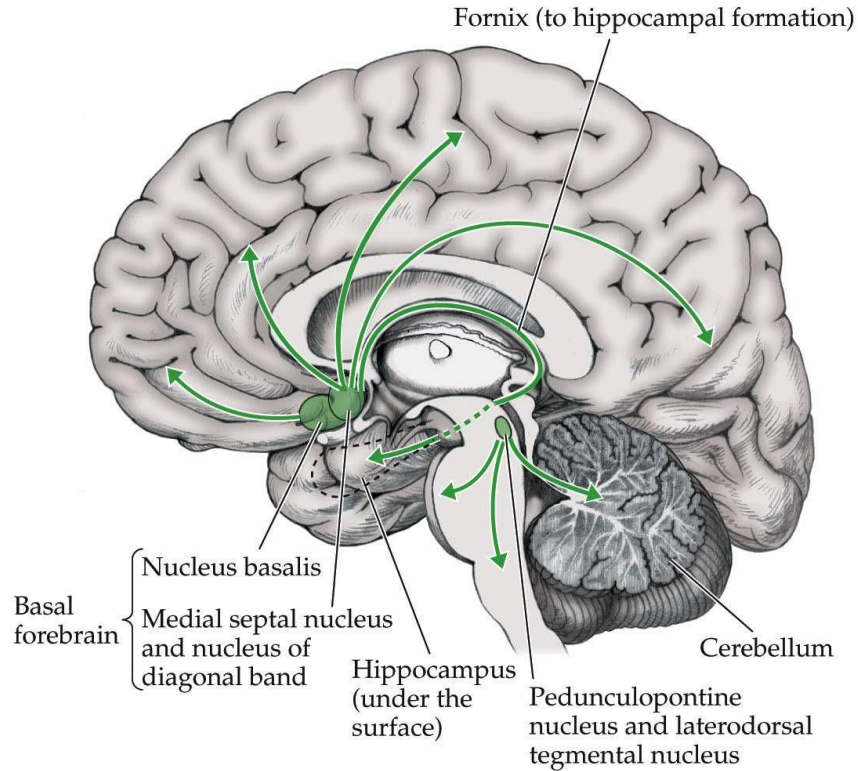
ACh, kolin ve asetil-koenzim A'dan gelen nöronlarda asetiltransferaz enzimi tarafından sentezlenir. ACh sinaptik veziküller içinde yoğunlaştırılarak bozulmaya karşı korunur. ACh, sinaptik aralığasalınır, burada presinaptik ve postsinaptik muskarinik ve nikotinik reseptörler üzerinde etki eder ve AChE enzimi tarafından kolin ve asetata indirgenir. Kolin nöronlarda geri dönüştürülür. Fizostigmin ve donepezil gibi AChE inhibitörleri ACh'nin parçalanmasını önler. Deanol ve kolin ACh sentezi için öncül maddelerdir (42).



Şekil 2.3. Asetilkolin sentezi. Asetil-koenzim A (AcCoA), AChR asetilkolin reseptörü (42).

2.3.1. Asetilkolinin başlıca fonksiyonları biyosentezi, depolanması ve salınması

ACh, bellek ile ilgili başlıca nörotransmitterlerdendir. Periferik sinir sisteminde motor nöronlardan salınarak iskelet kaslarında kasılmayı tetikler, otonom sinir sistemi iletilerinde tüm pregangliyonik nöronlardan ve parasempatik postgangliyonik nöronlardan salınır. Beyinde ise başlıca 3 bölgeden beynin birçok bölgesine kolinerjik ileti gerçekleşmekte olup öğrenme, dikkat, bellek, motivasyon ve uyku/uyanıklığa kadar uzanan geniş yelpazede fonksiyonları modüle etmektedir. Bazal önbeyindeki septal çekirdekten hipokampusa ulaşan kolinerjik ileti (Şekil 2.3.1). bu ileti sisteminin yeni bellek oluşumu için kritik etkilere sahip olduğuna işaret etmektedir. Beyin sapındaki pedüncülopontin çekirdek ve laterodorsal tegmental çekirdekten kolinerjik ileti ise uyku/uyanıklık ve uykunun fazlarını etkilemektedir (105).



Şekil 2.3.1. Beyinde kolinerjik çekirdekler ileti yolları (107).

Kolinerjik nöron ateşlendiğinde veziküller içinde bulunan ACh sinaptik aralığa itilir ve asetilkolin serbest bırakılır. ACh molekülleri daha sonra post-sinaptik nöron membranında bulunan özgül ACh reseptörlerine bağlanmaktadır (82).

ACh molekülü kolin ve asetil CoA'dan sentez edilir. Nöronların sürekli olarak yeni kolin molekülleri ile beslenmesi zor olduğundan, ACh kullanıldıktan sonra vücut tarafından geri dönüştürülür. ACh, önceki ateşlemeden sonra sinaptik aralıkta temizlenene kadar, tekrar nöron ateşlenemez, bu nedenle vücutun geri dönüştürülebilmesi için asetilkolini parçalayacak bir işleme sahip olması gerekir. Bu işlem, AChE adı verilen bir enzim (kimyasal reaksiyonları hızlandırmaya yardımcı olan bir protein) tarafından gerçekleştirilir (83). Bu geri dönüşüm işleminin hücrede nasıl çalıştığının bir şekli yukarıda gösterilmiştir (Şekil 2.3.).

Asetilkolin reseptörleri, asetilkolinin nöron tarafından serbest bırakıldıktan sonra bağlanacağı bölgelerdir. Bu reseptörler, asetilkolinin salındığı nörondan gelen sinaptik aralık boyunca bulunan başka bir nöron üzerinde bulunur. ACh'in nikotinik ve muskarinik olmak üzere iki ana tip asetilkolin reseptörü bulunmakta ve bu reseptörlere seçici olarak bağlandığı keşfedilen maddelerden adını almaktadır. Nikotinik reseptörler nikotin maddesinden, muskarinik reseptörler ise muskarin maddesinden adını almıştır (84, 94).



Resim 2.3.1. Nikotin ve muskarin maddesi keşfi. Solda: Nikotin, tütün bitkileri tarafından üretilir (*Nicotiana tabacum*) Sağda: Muskarin, mantar tarafından üretilen bir kimyasaldır (*Amanita muscaria*).

ACh, öncül madde olarak bilenen serbest kolinin, kolinerjik sinirlerde kolinesteraz enzimi ile asetile edilmesiyle tek basamaklı bir reaksiyon ile sentez edilmektedir. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim kolin asetiltransferaz enzimidir. Asetil kaynağı sinir ucundaki mitokondrilerde sentez edilen asetilkoenzim A'dır (43).

Burada kullanılan başlıca serbest kolin zar fosfolipidlerinden olan fosfatidilkolindir (44, 45). Kolinerjik nöronlarda uyarılma sırasında serbest kolin eksikliği olursa ACh sentezi için yeterli miktar kolin membran yapı taşı olan fosfatidilkolin'den alınır ve bu durum uzun sürerse hücre membranında yıkım oluşur. Buna otokannabilizim denmektedir ve AH gibi birçok nörodejeneratif hastalıkta kolinerjik bu yıkıcı mekanizma duyarlılığı ileri sürülmüştür (46, 47). Bir diğer önemli serbest kolin kaynağı ise sinaptik aralığa salınan asetilkolin nörotransmitter'in enzimatik hidrolizi ile oluşan serbest kolindir. ACh sinaptik aralığa salınınca hızlı bir şekilde AChE enzimi tarafından serbest kolin ve asetat'a hidrolize olur. Buradaki asetilkolinesteraz kolinerjik sinirlerden sentezlenerek sinaptik aralıkta yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Bu nedenle sinaptik aralığa salınan asetilkolinler kısa bir sürede hidrolize olarak kolin ve asetat dönüşmektedir. Dolayısıyla bu enzimin inhibe edilmesi sinaptik aralıkta ACh parçalanmasını

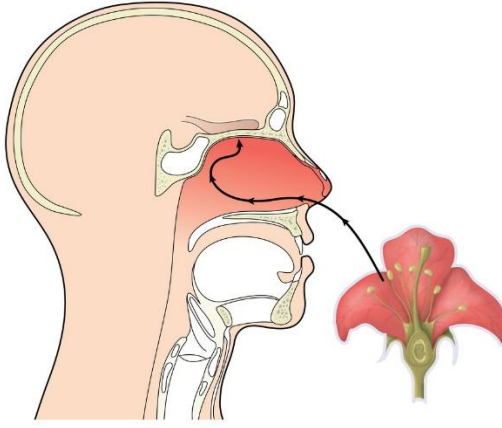
sınırlandırarak, ACh birikmesine ve kolinerjik ileti süresini ve miktarını arttırılmasına yol açmaktadır. Buradaki serbest kolin, yeniden asetilkolin sentezinde veya fosfotidilkolin yapımında kullanılmak üzere nörona tekrar taşınır (46, 47, 48).

2.4. Aromaterapi

Aromaterapi, ciltten emilerek veya soluma sonucu emilen bitki uçucu yağlarının terapötik kullanımıdır. Uçucu yağlar vücuda farklı şekillerde alınabilmektedir. Solunum sistemleri yoluyla, masaj ve banyo sırasında losyonlar veya kompresler yoluyla transdermal olarak, kapsüller içine alınarak gıda ve tıbbi preparatlar ile oral yoldan kullanımı sağlanmaktadır (49).

Bir diğer tanımla aromaterapi, bitkilerden elde edilen aromatik maddeleri kullanma, beden, zihin ve ruh sağlığın dengeleme, uyumlaştırma ve teşvik etme sanatı ve bilimi olarak tanımlanabilir. Bireyin doğuştan iyileşme sürecini geliştirmek için fizyolojik, psikolojik ve ruhsal süreçleri birleştirmeyi amaçlamaktadır (49, 56).

Aromatik yağlar 5000 yıldan uzun süredir kullanılmaktadır, eski Mısırlılar genellikle bu yağları parfüm olarak kullanmışlardır (50). Modern aromaterapi 16. yüzyılda Almanya’da ortaya çıkmıştır. Fransız bir kimyager olan Gattefosse, I. Dünya Savaşı sırasında yaralı askerleri tedavi etmek için uçucu yağların antibakteriyel ve iyileştirici özelliklerini araştırmış ve Fransız ordusu cerrahı Valnet, II.Dünya Savaşı sırasında aromaterapi uygulamasını daha da yaygınlaştırmıştır. (51, 52, 53).



Şekil 2.4 Aromaterapide inhalasyon (95)

Kullanılan uçucu yağ veya yağ karışımları analjezik, antimikrobiyal, antiseptik, anti-inflamatuvar, anjiyojenik, sedatif, spazmolitik ve diüretik sahiptir. Sindirim sistemi rahatsızlıkları, cilt hastalıkları, menstrüel ağrı ve düzensizlikler, stresle ilgili problemler, duygu-durum bozuklukları, dolaşım problemleri, solunum yolu enfeksiyonları ve yaralar dahil olmak üzere çok çeşitli belirtileri ve durumları tedavi etmek için kullanılır (55, 57).

Uçucu yağlar solunum yolu ile alındığında ilk önce koku reseptörlerini uyarır ve bu sinyal limbik sistem ile birlikte koku korteksine ve diğer bölümlere iletilir (58). Yapılan çalışmalarda, inhalasyon veya oral uygulamayı takiben uçucu yağ bileşenlerinin kandaki konsantrasyonları genellikle nL/mL aralığındadır. Oral yol, inhalasyon ve dermal uygulamalara göre terapötik etkiler değişebilmektedir, çünkü bileşenlerin metabolizması vücutta farklı oranlarda ortaya çıkabilmektedir. Kiral farklılıklar da, farmakokinetik davranışla birlikte bileşenlerin biyolojik aktivitesini etkilemektedir (49). Aromaterapide kullanılan uçucu yağların yüksek dozlarda kullanımında nörotoksik etkiler sergilediği gösterilmiş, yüksek miktarda keton, örneğin thujone ve kafur içeren uçucu yağların epileptiform aktiviteye neden olduğu bulunmuştur (54).

Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin ayrı bir yeri bulunmaktadır. Kullanılan bu bitkilerin 500 çeşidinden 350 kadarının ihracatı yapılmaktadır. Bunlardan önemli türler kekik, defne yaprağı, keçiboynuzu gibi bitkilerdir. Bitkilerde tedavi edici etkilileri olan çeşitli yapılara sahip bileşikler bulunmaktadır. Uçucu yağlar bu doğal bileşiklerden terpen yapıda olan bir gruptur. Oda sıcaklığında sıvı, kuvvetli, keskin kokulu maddelerdir. Suda çözünmeyip organik çözücülerde kolaylıkla çözünebilirler. Bitkinin çiçek, meyve, kök ve yaprak gibi kısımlarından elde edilebilirler. İçeriğindeki etken maddelerin çeşitliliği ve değişikliğine göre karakteristik özelliklere sahip olup antimikrobiyal, sedatif, antispazmodik gibi birçok etkilere sahiptirler (59, 60, 61).

2.5. *Salvia triloba* L.

Salvia olarak adlandırılan Adaçayı türleri, antik çağlardan beri bilinen ve kullanılan tıbbi ve aromatik bir bitki olup, yaprak kısmından uçucu yağı elde edilen bir bitkidir. XVI. yüzyılda hekimler ‘bahçesinde adaçayı biten insan niye ölsün’ şeklinde adaçayının faydasına belirten beyanları vardır. Adaçayının bilimsel adı olan ve Latineden türetilen *Salvia* Latince “Salvere”den türetilen “korunmuş”, “iyileştirmek için” anlamına gelmektedir (62). *Salvia* cinsinin 51 tanesi endemik tür olup Türkiye’de 97, Avrupa kıtasında 36, İran’da 70 tür olduğu bilinmektedir (63, 64).



Resim 2.5. *Salvia triloba* (*Salvia fruticosa* Mill.)

Anadolu adaçayı olarak bilinen *Salvia triloba* ülkemizin farklı bölgelerinde yayılış gösteren ticari önemi olan bir türdür. Yapılan çalışmalar ile adaçayı türlerinin önemli içeriklere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Lamiaceae familyasına bağlı olan *Salvia* türleri özellikle akdeniz bölgesinde yaygındır. Bitki, güneşi iyi alan kumlu topraklarda uygun koşulların sağlanması durumunda yüksek ve iyi kalitede yağ elde edilebilmektedir. Aromaterapide kullanılan *S.triloba* uçucu yağının ana bileşenleri ve kalitesi mevsimsel olarak hasat zamanına göre değişim gösterebilmektedir (65, 66, 67).

Salvia L. cinsine ait olan *S. triloba* tıp ve parfümeri alanı için önem taşımaktadır. Kuvvetli ve keskin kokuya sahip olup çok dallanmış 1m kadar boya ulaşabilen çok dallı basit veya üç loblu yaprak yapısına ve grimsi renk yapraklara sahip bitkilerdir. Uçucu yağların salgılandığı salgı tüyleri bitkinin bütün organında bulunmaktadır.

Çiçekleri genellikle açık eflatun veya beyaz olup, çiçeklenme zamanı Mart aylarında başlayıp Haziran ayına kadar devam etmektedir (68, 69,70).

S. triloba türünün ülkemizde Batı Ege, Batı Akdeniz, Kuzeybatı bölgelerinde yer aldığı bilinmektedir. *Salvia officinalis* L.'e göre daha keskin kokulu olup uçucu yağların kimyasal kompozisyonları çok büyük farklılık göstermez fakat etken maddelerinin oranı oldukça değişiklik göstererek bu yönleriyle birbirlerinden ayrılırlar. *S. triloba*'nın yapraklarından elde edilen uçucu yağı 1,8 sineol oranı yüksek olup, thujon oranı düşük olduğundan kullanımı daha güvenli ve tıbbi adaçayı olarak bilenen *S. officinalis* L.'den daha değerlidir (71, 72). Ülkemizde yaygın bir şekilde yetiştirilen, adaçayı olarak bilinen *S. triloba* genellikle bitki çayı olarak tüketilmektedir (12).

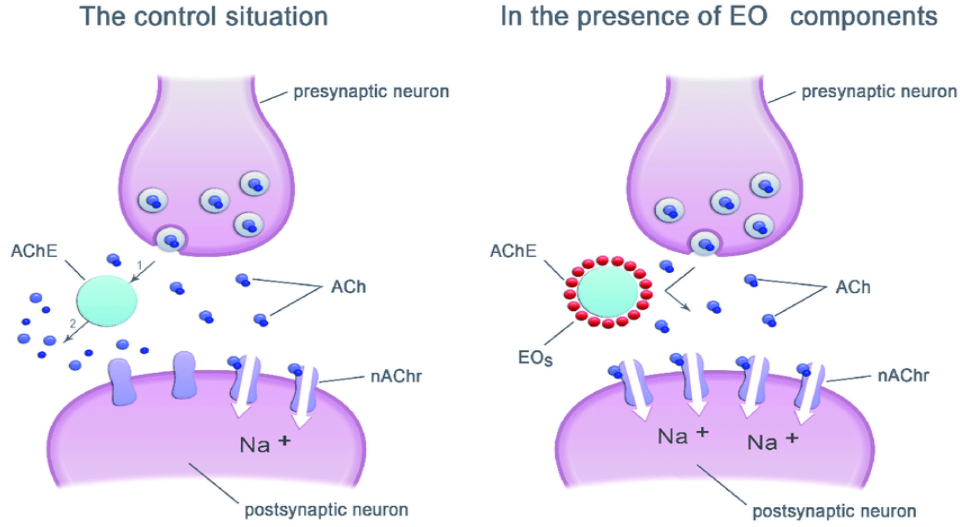
Birçok araştırma, uçucu yağların hem böceklerde hem de memelilerde nöronal ve nöromusküler kavşaklarda en önemli enzimlerden biri olan AChE aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir (79, 80, 81).

Türkiye'de yetişen bazı *Salvia* türlerinin AH üzerine etkilerini araştırılmıştır. Savalev ve diğerleri *Salvia* türlerinin apolar ekstrelerinin AChE ve BChE inhibisyonu yaptığını göstermişlerdir (13). *S. fruticosa*, *S. lavandulaefolia*, *S. officinalis* türlerinden elde ettikleri uçucu yağların bileşiminde bulunan sekonder metabolitlerin AChE ve BChE aktiviteleri incelenmiş ve bu metabolitlerin AChE inhibisyonu gösterdikleri bulunmuştur (14). Benzer bir çalışmada, *S. syriaca* bitkisinin uçucu yağı ve apolar ekstreleri AChE ve BChE inhibisyonu göstermiştir (15). *S. triloba* ekstreleri ve uçucu yağının kolinesteraz inhibisyonuna ek olarak antioksidan aktivitesinin (DPPH radikal süpürücü ve demir şelatlama) bulunduğu da gösterilmiştir. Bahsi geçen bu çalışmada ana bileşen olan 1,8 sineolün *in vitro* olarak AChE inhibisyonu etkisine ek olarak, *Salvia* türlerinin ekstraktlarını kapsül şeklinde alan sağlıklı gönüllülerde gözlenen kognitif performans artışı AChE inhibisyonu ile

açıklanmıştır (16). Adaçayı bu etkileri ile tek başına veya mevcut tedavileri destekleyici olarak AH'da kullanım potansiyeline sahiptir (29).

Salvia türleri uçucu yağlarının AH'da zihinsel performans üzerine etkileri kolinerjik hipoteze ilaveten oksidatif stres hipotezleri ile de tartışılmaktadır. AH'nın patojenezinde söz konusu bir diğer bileşen ise oksidatif stresin yol açtığı A β ile tetiklenmiş nöron kaybı, mitokondri disfonksiyonu, tau protein patolojisi ve metal homeostazisinde değişikliklerdir (30). Benzer şekilde oksidatif stres, ürik asit, C ve E vitamini gibi beyin antioksidanları ve katalaz, glutatyon redüktaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerin seviyelerinde azalmaya yol açmaktadır (17).

Uçucu yağların AH'na etkisini araştırmak için yapılan *in vivo* ve klinik çalışmalara bakıldığında inhalasyon yoluyla uygulamanın da tercih edildiği görülmüştür. Aromaterapi uygulaması ile uçucu yağ bileşenlerinin, inhalasyon yolu ile doğrudan ruh hali ve bilişsel fonksiyonları etkilediği bilinmektedir. Uçucu bileşenler, akciğer mukozası ve nazal mukoza ile kan dolaşımına katılmakta ve beyne hızla ulaşmaktadır. Uçucu yağlar lipofilik özelliklerinden ve küçük molekül ağırlıklarından dolayı kan-beyin bariyerini geçebilmektedirler (19, 20). Benny ve Thomas'ın derlemesinde, bazı *Salvia* türlerinin uçucu yağının ve çeşitli bitkilerin (*Coriandrum sativum*, *Anthriscus nemorosa*, *Juniperus communis*, *Pimpinella peregrina*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis* vb.) uçucu yağlarının inhalasyon yoluyla verildiğinde klinikte ruhsal durum ve bilişsel fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (18, 28). Bilinen farmakokinetik ve bağlanma özelliklerine dayanarak, adaçayı akut uygulanmasının genç yetişkin gönüllüler üzerinde bilişsel güçlendirici etkisi olduğu ifade edilmiştir (27).



Şekil 2.5. Uçucu yağ (EO) bileşenlerinin asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini inhibe etmesi. ACh-AChE, nAChR-nikotinik asetilkolin reseptörleri (73).

2.6. Skopolamin hidrobromid

Kolinerjik sistemin modülasyonu hafıza fonksiyonunda önemli bir süreç olduğu için, bilişsel işlev bozukluğunu indükleyen, deneysel bir araç olan skopolamin, muskarinik antagonistik etkiler sergileyen bir tropan alkaloididir. Skopolamin uygulanması kemirgenlerde ve insanlarda, merkezi kolinerjik blokajı indükleyerek dikkatin korunmasında, bilginin işlenmesi gibi durumlarında yeni bilgi edinilmesinde geri dönüşlü ve iyi tanımlanmış bir bozukluk oluşturur (74). *İn vivo* hayvan modellerinde skopolamin, öğrenme ve bellek eksiklikleri oluşturduğu gösterilmiştir (74, 75). Skopolamin uygulanan hayvan modeli çalışmalarında bellek bozukluğunun, beyin oksidatif stresinin değişen durumu ve ön beyin kolinerjik sistemindeki dejeneratif değişikliklerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (76). Skopolamin, sağlıklı insanlarda ve hayvanlarda demans benzeri etkilerin indüklenmesi için referans bir farmakolojik ajan olarak kullanılmaktadır. Kolinerjik amnezinin indüklenmesi için bir farmakolojik model olan skopolamin uygulaması, kolinerjik hipotez oluşturulduktan sonra araştırmalarda kullanımı oldukça yaygın hale gelmiştir (77, 78).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Elde edilen bitkiler ve distilasyon düzeneği

S. triloba bitkisi doğadan ya da kültürünün yapıldığı alandan toplanarak tayini yapıldı. Antalya (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü), İzmir, Yalova ve Balıkesir olmak üzere 4 farklı bölgeden temin edilen *S. triloba*'dan distilasyon yöntemini kullanarak uçucu yağlar elde edildi.



Resim 3.1 Distilasyon Düzeneği

3.2. Uçucu yağ eldesi

Her 100 g kurutulmuş bitki materyali, 4 saat boyunca Clevenger düzeneği kullanılarak 1 L su ile hidrodistillenmeye tabi tutuldu. Isıtıcı düzeneklerine

yerleştirildi yaklaşık 4 saat sonunda hidrosolleri ve uçucu yağ eldesi yapıldı ve elde edilen yağlar toplanarak ve analize kadar 4°C'de amber renkli cam şişelerde saklandı.



Resim 3.2. *S. triloba*'dan uçucu yağ eldesi

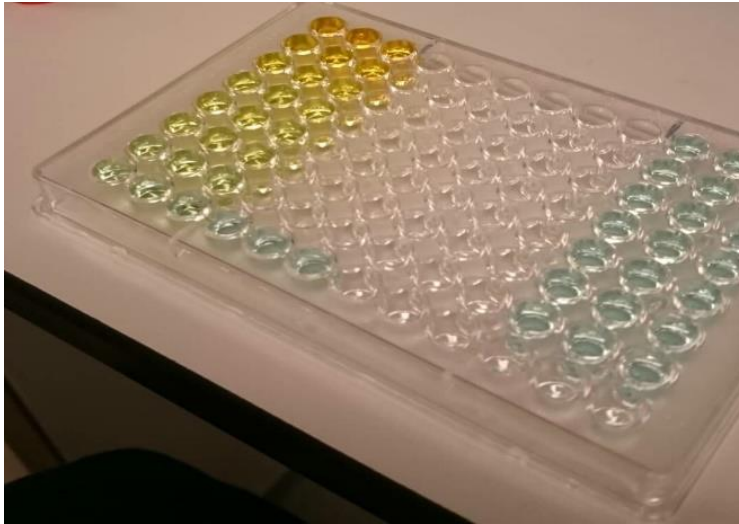
3.3. Uçucu yağların GK/KS analizi

Bölüm 3.1. ve 3.2.' de tarif edildiği şekilde 4 farklı bölgeden temin edilen *S. triloba*'dan elde edilen uçucu yağlar ve karşılaştırma amaçlı ticari olarak temin edilmiş *S. triloba* uçucu yağında (toplamda 5 farklı uçucu yağ) Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GK/KS) analizi yapılarak bileşenleri tanımlandı. Bağlı yüzdelerin belirlenmesi için Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü (GK/AİD) kullanıldı.

Hekzan içinde uygun şekilde seyreltilmiş her bir yağ örneğinden yaklaşık 1 µL kısım, GK/KS analizine tabi tutuldu. Agilent 7890A GK/KS analizi, bir DP-5MS kolonu (30 cm x 0.25 mm; film kalınlığı, 0.25 mm) olan bir GK-KS kullanılarak yapıldı. 70 eV iyonizasyon enerjisinde kaydedildi. Kolon sıcaklığı 3 dakika 100°C'de tutulduktan sonra 10°C / dakika hızında 250°C'ye programlandı ve 1 dakika 250°C'de sabit tutuldu. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyum akış hızı, 1 mL/dakika idi (91).

3.4. *Salvia triloba* Uçucu Yağı *In Vitro* Aktiviteleri

İçeriği belirlenmiş olan uçucu yağın AChE ve BChE aktivitesi kinetik-fotometrik yöntemle değerlendirildi. Uçucu yağın oksidatif stres üzerinde etkinliği 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivitesi, demir indirgeme aktivitesi (FRAP), bakır indirgeme aktivitesi (CUPRAC), Toplam antioksidan kapasitesi (TOAC) test edildi.



Resim 3.4. Antioksidan aktivite testleri

3.4.1. AChE ve BChE aktiviteleri tayin yöntemi

AChE ve BChE inhibisyon aktiviteleri mikropalak okuyucu kullanılarak ölçüldü. Enzim olarak elektrik balığından elde edilen asetilkolinesteraz ve at serumundan elde edilen bütirilkolinesteraz enzimleri, substrat olarak asetil tiyokolin iyodür ve bütiril tiyokolin iyodür kullanıldı. Aktivitenin ölçümü için sarı renkli 5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Kontrol olarak etanol, standart olarak ise *Galanthus* bitkisinden izole edilen alkaloid tipi ilaç olan galantamin kullanıldı (89).

3.4.1.1. AChE inhibisyon testi

40 µL 50 mM Tris-HCl tampon çözeltisi (pH=8) üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan numunelerden 20 µL ve AChE enzim çözeltisinden 20 µL konuldu. Bu solüsyon 10 dakika süre ile 25 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 20 µL ATChI (50 mM) (substrat) ilave edilerek ve karışım 25 °C’de 5 dak. bekletildi. Daha sonra karışıma 100 µL 20 mM DTNB reaktifi ilave edilip ve karışımın absorbansı 412 nm de spektrofotometrik olarak referansa karşı ölçüldü. Aktivite, galantamin eşdeğeri olacak şekilde hesaplanıp sonuçları o şekilde verildi (87, 89).

3.4.1.2. BChE inhibisyon testi

40 μ L 50 mM Tris-HCl tampon çözeltisi (pH=8) üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan numunelerden 20 μ L ve BChE enzim çözeltisinden 20 μ L konuldu. Bu solüsyon 10 dakika süre ile 25 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 20 μ L bütiril tiyokolin iyodür substrat (50 mM) ilave edildi ve karışım 25 °C’de 5 dak. bekletildi. Daha sonra karışıma 100 μ L 20 mM DTNB reaktifi ilave edilerek ve karışımın absorbansı 412 nm de spektrofotometrik olarak referansa karşı ölçüldü. Aktivite, galantamin eşdeğeri olacak şekilde hesaplanıp sonuçları o şekilde verildi (87, 88, 89).

3.4.2. Antioksidan aktivite testleri

3.4.2.1. DPPH radikal süpürücü aktivite

DPPH radikal süpürücü aktivite, numunelerin antioksidan aktivitelerinin tayini için en çok tercih edilen en eski metotlardan bir tanesidir. 1958 yılında Blois tarafından tarif edilen deneyde mor renkli DPPH radikali kullanılır, bu radikal non-stabil olduğu için deney esnasında hazırlanmalı ve amber şişelerde muhafaza edilmelidir. Test antioksidan numunenin DPPH radikali üzerinde indirgeyici aktivitesini tayin etmektedir. Ortamda antioksidan varlığında, mor renkli DPPH radikali sarı renkli difenil-pikril hidrazine dönüştü. Bu renk değişimi spektrofotometrik olarak olarak ölçüldü. Seyreltilen numuneler 100 μ M DPPH solüsyonu ile karıştırılarak, oda ısısında karanlıkta bekletilerek absorpsiyondaki düşüş 517 nm’de ölçüldü. Referans bileşik olarak butillenmiş hidroksitolüen (BHT) kullanıldı (85, 86).

3.4.2.2. Demir indirgeme aktivitesi (FRAP)

Benzie ve Strain'in metodu kullanılarak numunenin FRAP aktivitesi tayin edildi. Düşük pH'da ferric tripyridyl triazine kompleksi (Fe^{3+} TPTZ), ferrous formune indirgenmektedir. Bu sırada koyu mavi renk oluşmakta ve bu sırada absorpsiyondaki değişim ölçülmektedir. Uygun seyreltilmiş numuneler FRAP solüsyonu ile karıştırılarak, total hacim 0.3 mL'ye ayarlandı ve 30 dk inkübasyondan sonra 593 nm'de absorbansları ölçüldü. Referans bileşik olarak BHT kullanıldı (85).

3.4.2.3. Bakır indirgeme aktivitesi (CUPRAC)

Apak ve diğerlerinin, metodları modifiye edildi. Eşit hacimlerde neocuproine, amonyum asetat buffer ve $CuSO_4$ ayrı ayrı karıştırılarak ve numunelerin eklenmesinden sonra 1 saat inkübasyona bırakıldı. 450 nm' de absorbansları ölçülerek, standart askorbik asit ile karşılaştırıldı. Bu test 450 nm' de neocuproine ve bakır (I)' ın ortamdaki antioksidan bileşen varlığında bakır (I)' e indirgenmesi esasına dayanmaktadır (85).

3.4.2.4. Toplam Antioksidan Aktivite Deneyi (TOAC)

Tarif edilen yöntem, toplam antioksidan kapasitenin hesaplanması için gerçekleştirildi. Sodyum fosfat monobazik, sülfürik asit ve amonyum molibdattan oluşan reaksiyon karışımına örnek çözeltilerin alikotları ilave edildi. Daha sonra karışımlar, 90 dakika boyunca 95 ° C' de inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra, absorbans 695 nm'de ölçüldü. Toplam antioksidan kapasite, 1 g kuru örnek başına mg askorbik asit eşdeğeri olarak gösterildi (85).

3.5. In Vivo Deneyler

3.5.1. Deney hayvanları

Çalışmada 250-300 g ağırlığındaki Wistar albino yetişkin erkek sıçanlar Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2020/13 karar sayılı izni ile Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAM)' nden temin edilmiştir. Yiyecek ve su alımları serbest bırakıldı. Sıçanlar, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsünde 20–24 °C ve % 60-70 nemli ortamda tutuldular.

3.5.2. İnhalasyon uygulaması

Tüm gruplar 36x20x14 cm boyutlarında kafese tek başına alındı ve bu kafes içinde elektronik vaporizatör bulunan 50x40x28 cm boyutlarında büyük bir şeffaf pleksiglas kutu (inhalasyon kutusu) içinde yerleşti (Resim 3.5.2.). Hayvan kafesi içine konulduktan sonra vaporizatör çalıştırıldı ve inhalasyon kutusu hava geçirmez şekilde kapatıldı. Vaporizatör içinde 30 dakika boyunca 200 µl uçucu yağ veya davranış çalışmasına alınan kontrol gruplarında su buharı inhalasyonu uygulandı.



Resim 3.5.2. Uçucu yağ inhalasyon düzeneği

3.5.3. Biyoyararlanım

Biyoyararlanım çalışmasındaki hedef, uçucu yağların inhalasyon sonucu hayvanların vücuduna nüfuz ettiğini toplanan kan örnekleri ile doğrulamaktır. Bu amaçla hayvanlar 30 dakika boyunca bölüm 3.5.2.'de tarif edilen şekildeki inhalasyon metodu ile uçucu yağ uygulanmasını hemen takiben, izofluran anestezisi sonrası 1 ml kan örneği cam tüp içine alındı. Kan örneği alınır alınmaz GK cihazında Headspace gaz kromatografisi (HSGK) bölümüne yerleştirilerek, HSGK manuel modu ile başlatıldı. Bölüm 3.3' de tarif edilen GK/KS prosedürleri takip edildi. Toplanan kan örneklerinde, inhale ettirilen uçucu yağdaki majör bileşen 1,8 sineol tespit edildi. Biyoyararlanım çalışmasında kullanılan sıçanlar (n=6) çalışmanın

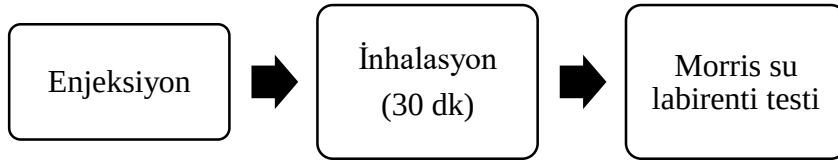
devamındaki davranış deneylerinde kullanılmadı. Kanda tespit edilen 1,8 sineolün KS kırılımı, saf 1,8 sineolün kırılımları ile karşılaştırılarak doğrulandı.

3.5.4. Çalışma Grupları

Davranış deneyine başlayacak hayvanlar deney öncesi 3 gün boyunca yarım saatliğine deney yapılacak odaya alınarak odaya alıştırdı, araştırmacılar da bu dönem çalışmaya alınan tüm sıçanlara günlük olarak dokunarak streslerinin giderilmesini sağladılar. Tüm hayvanlar Bölüm 3.5.2.' de tarif edilen inhalasyon uygulamasına tabi tutuldu. Hayvanlardan oluşturulan 4 grup Tablo 3.5.4.' de belirtilen kombinasyonlarda enjeksiyon ve inhalasyon uygulamalarını takiben Morris su labirenti testine tabi tutuldu. Hayvanlar üzerindeki uygulamaların akış şeması Şekil 3.5.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5.4. Davranış deneyi grupları. Davranış testleri öncesinde uygulanacak madde kombinasyonlarına göre oluşturulan grupları göstermektedir.

Grup 1	Skopolamin + <i>S. triloba</i> inhalasyonu (n=6)	Skopolamin uygulanmasını (i.p. 1 mg/kg) takiben <i>S. triloba</i> uçucu yağı inhalasyonu (200 µl)
Grup 2	SF + <i>S. triloba</i> inhalasyonu (n=6)	Serum fizyolojik uygulanmasını (%0,9 NaCl 1 mg/kg) takiben <i>S. triloba</i> uçucu yağı inhalasyonu (200 µl)
Grup 3	Skopolamin + Su buharı inhalasyonu (n=6)	Skopolamin uygulanmasını (i.p. 1 mg/kg) takiben su buharı inhalasyonu (200 µl)
Grup 4	SF + Su buharı inhalasyonu (n=6)	Serum fizyolojik uygulanmasını (%0,9 NaCl 1 mg/kg) takiben su buharı inhalasyonu (200 µl)

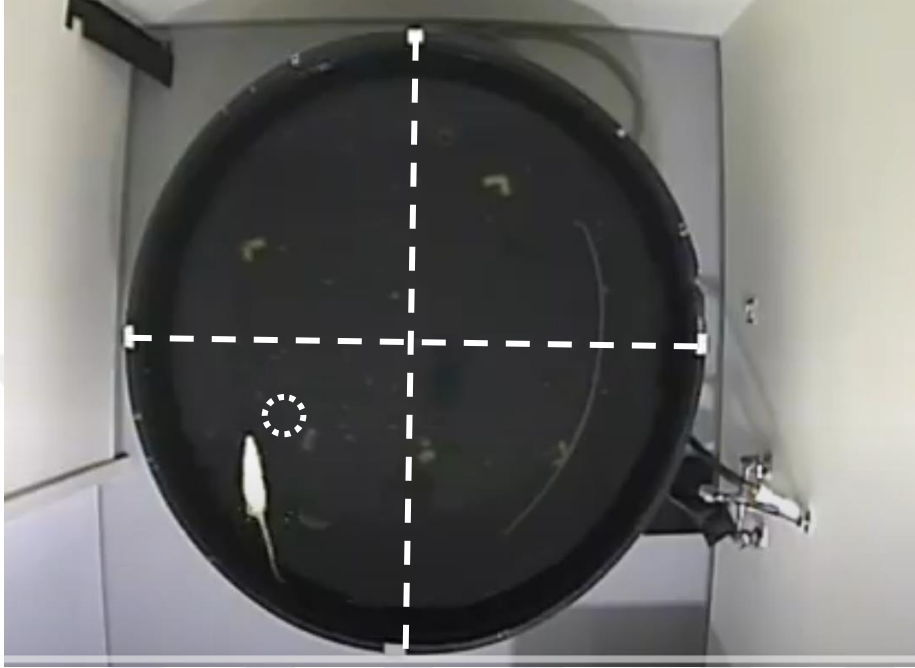


Şekil 3.5.4. Davranış testi blok diyagramı

3.5.5. Morris Su Labirenti

Morris su labirenti testinde mekansal öğrenme ve hafıza değerlendirildi. Su labirenti siyah dairesel havuzdan oluşuyordu. Havuz $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ' de, 30 cm derinliğe kadar suyla dolduruldu ve eşit 4 çeyreğe bölecek şekilde kadrantlar belirlendi, bu kadrantlara göre kenarlarında dört başlangıç pozisyonu belirlendi. Bir platform (10×10 cm) suyun 1 cm altına yerleştirildi (Şekil 3.5.3.1.). Başlangıçta platformun yeri Ethovision XT sisteminde hangi kadranda ayarlandı ise platformu her zaman aynı kadrant ve belirlenen noktada sabit tutuldu. Görsel ipucu olarak duvarlara geometrik şekiller, afişler yerleştirildi. Herbir hayvan 6 gün boyunca dört ayrı işaretlenen başlama pozisyonlarından sırası ile nazikçe havuz duvarına doğru bakacak şekilde su labirentine bırakıldı. Platformu bulup üzerine çıkmak için 90 sn yüzmesine izin verildi ve platform üzerinde 30 s dinlendirildi. Eğer bulamazsa 90 sn içinde, yavaşça platform üzerine bırakıldı ve 30 s boyunca platform üzerinde bekletildi. Dört ayrı pozisyonu tamamlamasının ardından, sıçanlar kurutuldu ve kafeslerine yerleştirildi. Bu şekilde 6 günlük test sonucunda her günün 4 farklı pozisyondan platforma ulaşarak üzerine çıkma sürelerinin ortalaması, kaçış latansı olarak belirlendi ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Öğrenme performansı için kaçış latansları 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerde (yinelenen ölçümler) hesaplandı. Hayvanın platformu bulamadığı denemelerde kaçış latansı, platformu bulması için tanınan maksimum süre olan 90 sn olarak girildi. Kaçış latansının azalması öğrenme lehine yorumlandı. 7. günde platform kaldırılarak 90 sn yüzdürülen sıçanların önceki denelemelerde platform bulunan bölgeye ilk varışları için geçen süre (platform latansı) ve platform bölgesinden geçiş sayısı (platform çaprazlama) bellek performansı olarak değerlendirildi. Platform latansının kısa olması ve çaprazlama sayısının fazlalığı

bellek performansının yüksek olması şeklinde yorumlandı (90). Tüm oturumlar Ethovision XT sistemi ile kaydedilerek analizleri yapıldı.



Resim 3.5.5. Morris su labirenti testi.

3.5.6. Davranış Ölçümlerine Uygulanan İstatistik

Öğrenme sürecinde 6 günlük kaçış latansları yinelenmiş ölçümler için ANOVA (çoklu değişkenli) tasarımlarıyla değerlendirilirken, 7. gün platform olmaksızın bakılan platform çaprazlama ve platform latansı tek-değişkenli analizlerle değerlendirildi.

Öğrenme sürecinde her bir güne ait kaçış latanslarında kullanılan yinelenmiş ölçümlerin analizi için ANOVA tasarımında denekler arası faktör olarak 4 seviyeli

hayvan çalışma grubu (GRUP: Grup1, Grup2, Grup3, Grup 4), öğrenme düzeyini saptamak için altı seviyeli gün faktörü (GÜN: 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün, 5.gün, 6. gün) kullanıldı. Dört grubu kapsayan ANOVA testini takiben gruplar arası ikili karşılaştırmalar için (post-hoc) Tukey testi kullanıldı. İki'den fazla seviyeli değişkenler için p değerlerine küresellik düzeltmesi olarak Huynh-Feldt düzeltmesi uygulandı. Öğrenme sürecinin değerlendirilmesinde tüm günlerin veri olarak girildiği teste ek olarak öğrenmenin başlangıç noktası olan 1. güne kıyasla kontrastları değerlendirirken Bonferroni düzeltmesi uygulandı ve bu amaçla yapılan 5 test için (1.gün- 2.gün , 1.gün-3.gün, 1.gün-4.gün, 1.gün-5.gün, 1.gün-6.gün) p değeri 5 ile çarpıldı.

Tek-değişkenli parametreler, platform çaprazlama ve platform latansı değerleri herbir grupta normal dağılım olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Bu testin anlamlılık değeri $p > 0.05$ ise normal dağılım kabul edildi. Yapılan ön analizde incelen her iki değişkenin (platform çaprazlama ve platform latansı) tüm gruplarda normal dağılım gösterdiği tespit edildi ve gruplar arası farklar tek-yönlü ANOVA testi ile analiz edildi. Dört grubun dahil edildiği ANOVA testini takiben gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Antioksidan Kapasiteleri

Antioksidan aktivite deneyleri üç paralel halinde yapılarak ve tüm veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD) olarak gösterildi. *S. triloba* uçucu yağı ile yapılan tüm aktivite deneylerinde belirgin antioksidan etki görüldü (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Antioksidan kapasite bulguları.

	DPPH ^{#A} (mg BHTE/g)	FRAP ^{##A} (mg BHTE/g)	CUPRAC ^{§B} (mg AAE/g)	TOAC ^{§§B} (mg AAE/g)
<i>S. triloba</i> uçucu yağı	211,64 $\pm$ 9,88	71,31 $\pm$ 0,36	341,25 $\pm$ 12,39	578,94 $\pm$ 9,31

^A Sonuçlar, üç kez ortalama $\pm$ standart sapma (S.D.) ve 1 g örnekte mg butillenmiş hidroksil tolüen eşdeğerleri (BHTE) olarak ifade edildi.

^B Sonuçlar, üç kez ortalama $\pm$ standart sapma (S.D.) ve 1 g örnekte mg askorbik asit eşdeğerleri (AAE) olarak ifade edildi.

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. § Bakır indirgeme kapasitesi deneyi ##Demir indirgeme antioksidan gücü §§ Toplam antioksidan kapasite.

DPPH denklem: $y = 0,00037X + 0,2398$ $r^2 = 0,996$. FRAP denklem: $y = 0,00199X + 0,377$ $r^2 = 0,995$

CUPRAC denklem: $y = 0,0021X + 0,301$ $r^2 = 0,999$. TOAC denklem: $y = 0,00383X + 0,366$ $r^2 = 0,990$

4.2. AChE ve BChE İnhibisyon Değerleri

AChE ve BChE deneyleri üç tekrar halinde yapıldı ve tüm veriler ortalama $\pm$ SD olarak gösterildi. *S. triloba* uçucu yağı ile yapılan *in vitro* kolinesteraz testleri inhibe edici etki gösterdi (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. AChE ve BChE inhibisyon değerleri.

	AChE ^{#A} inhibisyon (mg GALAE /g)	BuChE ^{§A} inhibisyon (mg GALAE /g)
<i>S. triloba</i> uçucu yağı	841,47 $\pm$ 15,57	914,16 $\pm$ 9,58

^A Sonuçlar, üç kez ortalama $\pm$ (S.D.) ve 1 g örnekte mg Galantamin eşdeğerleri (GALAE) olarak ifade edildi.

[#] Asetilkolinesteraz, [§] Butirilkolinesteraz

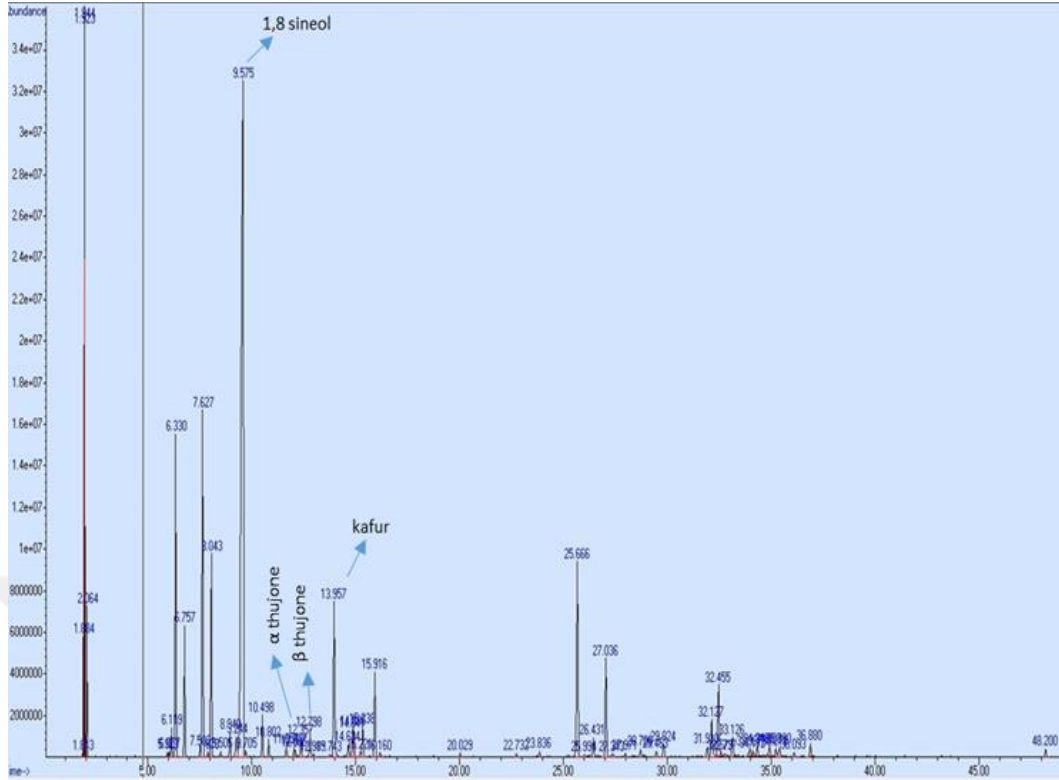
AChE denklem: $y = 324,49X + 109,13$ $r^2 = 0,992$. BuChE denklem: $y = 334,22X + 89,094$ $r^2 = 0,996$

4.3. GK/KS Uçucu Yağ Analizleri

GK analizinde bulunan uçucu yağ bileşen maddeleri üç yayındaki uçucu yağ analizlerindeki RRI (bağıl alıkonma indeksi) ve RT (alıkonma süresi) değerleri ile karşılaştırılarak teyit edildi (91, 92, 93). GK/KS analizi yapılan 5 farklı uçucu yağ arasında, *in vitro* ve *in vivo* deneylerde kullanılmak üzere içerik bakımından en yüksek 1.8 sineol oranı ve en düşük kafur ve thujon oranına sahip uçucu yağ seçildi. Bu özelliklere sahip olan uçucu yağ Mart ayında hasat edilmiş Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden (Antalya) temin ettiğimiz *S. triloba* yapraklarından elde edildi (Tablo 4.3a; Şekil 4.3.a).

Tablo 4.3a. *S. triloba* (Antalya) uçucu yağı. Antalya’da yetişen *S. triloba* uçucu yağının kimyasal bileşenleri

Maddeler	<i>S. triloba</i> (Antalya) uçucu yağı kimyasal bileşimi (%)	RRI	RT
α -Thujene	0,582	32231,76	6,119
α -pinene	7,397	933,5146	6,33
Camphene	3,006	948,0286	6,757
β -pinene	9,538	977,6003	7,627
β -myrcene	5,051	991,7403	8,043
2-carene	0,657	1017,265	8,94
p-cymene	0,829	1025,29	9,244
1,8-cineole	40,481	1034,029	9,575
γ -Terpinene	1,096	1058,395	10,498
Sabinenehydrate	0,472	1066,42	10,802
α -Terpinolene	0,31	1088,912	11,654
α-Thujone	0,554	1106,703	12,357
β-Thujone	0,796	1117,148	12,798
Camphor	5,153	1144,6	13,957
Borneol	1,518	1166,604	14,886
Terpinene-4 ol		1177,309	15,338
α -Terpineol	2,733	1191	15,916
Caryophyllene	7,32	1420,473	25,666
Aromadendrene	0,655	1439,32	26,431
α -Humulene	3,483	1454,225	27,036
d-Cadinene	0,59	1524,006	29,824
Spathulenol	0,35	1577,852	31,91
Caryophylleneoxide	1,555	1583,454	32,127
Viridiflorol	2,474	1591,92	32,455
Humulene epoxide II	0,763	1609,694	33,126
cadinol	0,366	1641,917	34,316
manool	0,353	1657,92	34,907

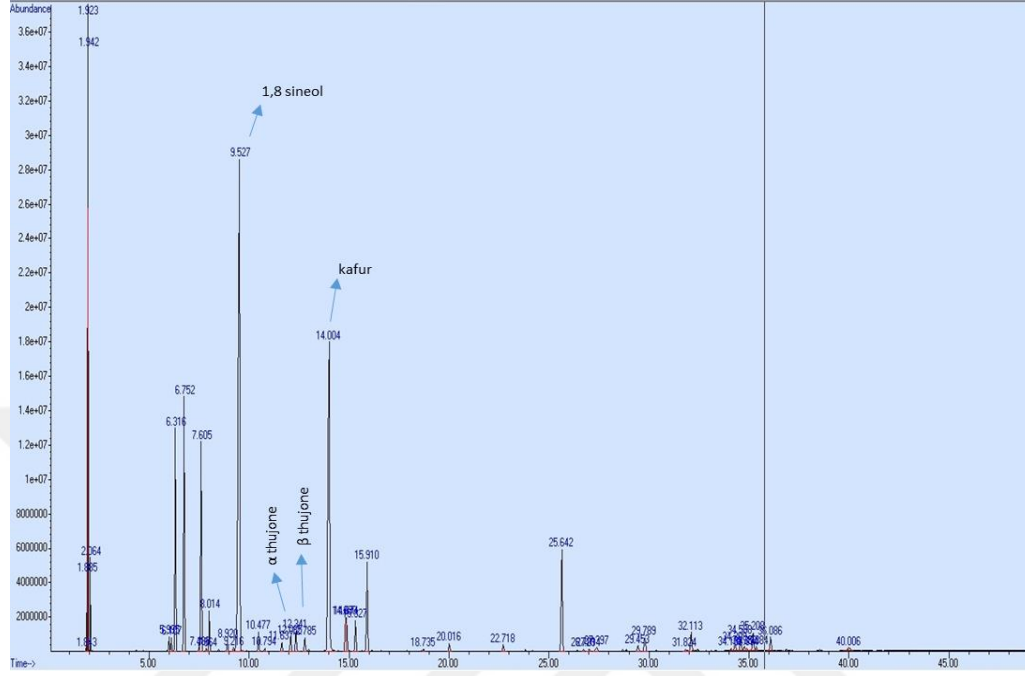


Şekil 4.3a. *S. triloba* (Antalya) uçucu yağı GK/KS. Antalya’da yetişen *S. triloba* uçucu yağının GK/KS ile elde edilen kromatogramı

Tablo 4.3b. *S. triloba* (Yalova) uçucu yağı GK/KS. Yalova’da yetişen *S. triloba* uçucu yağının kimyasal bileşenleri

Maddeler	<i>S. triloba</i> (Yalova) uçucu yağı kimyasal bileşenleri (%)	RRI	RT
α -thujene	6,597	933,038	6,316
α -pinene	8,151	947,858	6,752
Camphene	0,105	972,807	7,486
1-Octen-3-one	7,144	976,852	7,605
β -pinene	1,205	990,754	8,014
β -myrcene	0,383	1016,737	8,92
2-carene	0,158	1024,551	9,216
1,8-cineole	33,415	1032,761	9,527
γ -Terpinene	0,673	1057,840	10,477
α-Thujone	0,822	1106,324	12,341
β-Thujone	0,532	1116,840	12,785
Camphor	19,400	1145,712	14,004
α -Terpineol	3,894	1190,857	15,91
Isobornyl acetate	0,347	1288,109	20,016
Caryophyllene	4,785	1419,881	25,642
α -Humulene	0,929	1453,683	27,014

d-Cadinene	0,805	1522,049	29,789
Viridiflorol	1,00	1592	32,113

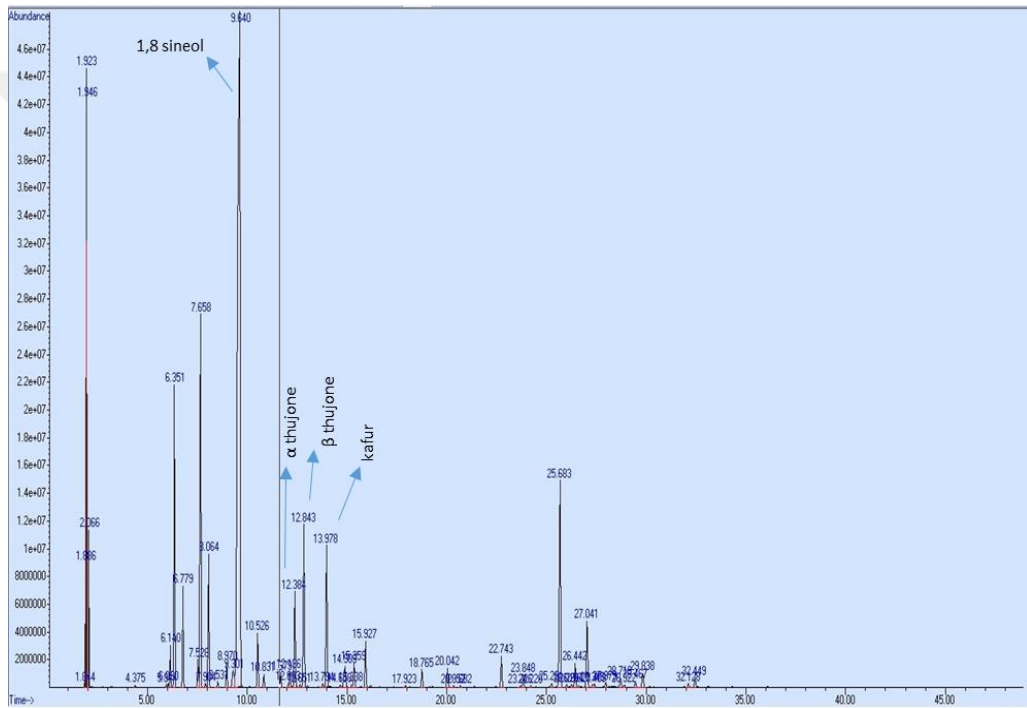


Şekil 4.3b. *S. triloba* (Yalova) uçucu yağı GK/KS. Yalova’da yetişen *S. triloba* uçucu yağının GK/KS ile elde edilen kromatogramı

Tablo 4.3c. Ticari *S. triloba* uçucu yağı. Ticari olarak temin edilen *S. triloba* uçucu yağının kimyasal bileşenleri

Maddeler	Ticari <i>S. triloba</i> uçucu yağı kimyasal bileşenleri (%)	RRI	RT
α -thujene	0,747	927,05	6,14
α -pinene	6,033	934,22	6,351
Camphene	2,034	948,77	6,779
1-Octen-3-one	0,629	974,23	7,528
β -pinene	9,506	978,65	7,658
β -myrcene	2,831	992,45	8,064
2-carene	0,648	1018,05	8,97
P-cymene	0,821	1026,79	9,301
1,8-cineole	45,312	1035,74	9,64
γ -Terpinene	1,243	1059,13	10,526
Sabinenehydrate	0,311	1067,18	10,831
α -Terpinolene	0,347	1089,57	11,679
α-Thujone	2,489	1107,34	12,384
β-Thujone	4,496	1118,21	12,843

Camphor	4,018	1145,09	13,978
Borneol	0,927	1167,14	14,909
α -Terpineol	1,235	1191,26	15,927
Isobornyl acetate	0,587	1281,91	20,042
d-Elemene	0,903	1348,46	22,743
α -Copaene	0,347	1375,68	23,848
Caryophyllene	6,891	1420,89	25,683
Aromadendrene	0,731	1439,59	26,442
α -Humulene	2,021	1463,21	27,401
d-Cadinene	0,504	1524	29,838
Viridiflorol	0,292	1591,76	32,449

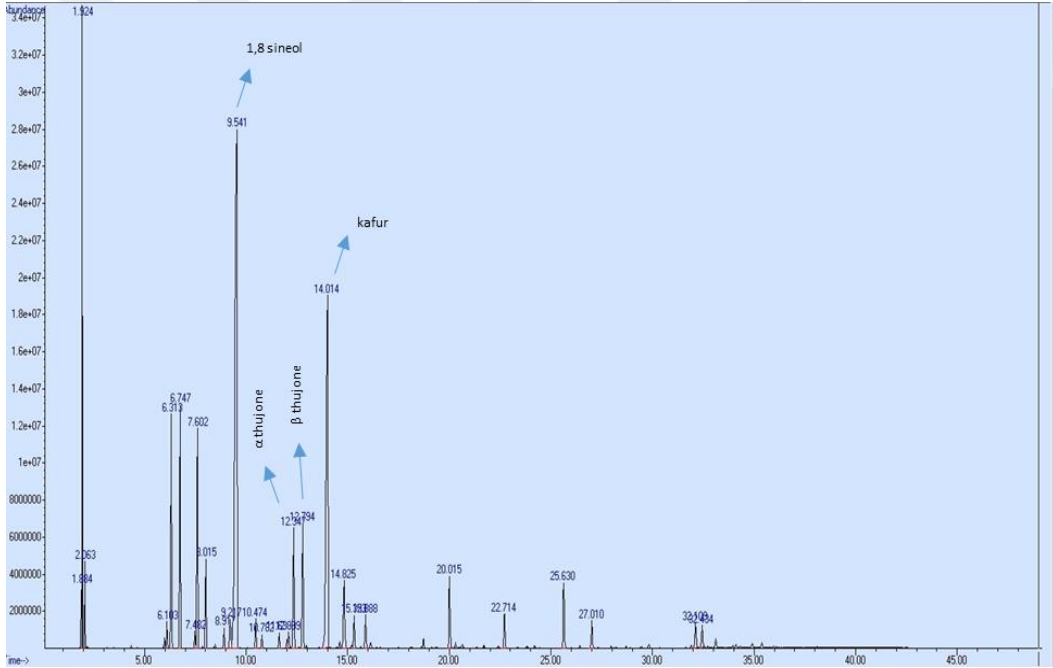


Şekil 4.3c. Ticari *S. triloba* uçucu yağının GK/KS kromatogramı.

Tablo 4.3d. *S. triloba* (İzmir) uçucu yağı. İzmir’de yetişen *S. triloba* uçucu yağının kimyasal bileşenleri

Maddeler	<i>S. triloba</i> (İzmir) uçucu yağı kimyasal bileşimi (%)	RRI	RT
α -thujene	0,551	925,798	6,103
α -pinene	5,393	932,936	6,313
Camphene	5,937	947,688	6,747
1-Octen-3-one	0,417	972,671	7,482
β -myrcene	2,176	990,788	8,015
2-carene	0,563	1016,65	8,917

p-cymene	1,149	1024,57	9,217
1,8-cineole	32,54	1033,13	9,541
γ -Terpinene	0,803	1057,76	10,474
α -Terpinolene	0,465	1088,35	11,633
α-Thujone	3,843	1106,46	12,347
β-Thujone	3,979	1117,05	12,794
Camphor	18,533	1145,94	14,014
Borneol	2,531	1165,15	14,825
Isobornyl acetate	2,491	1288,08	20,015
Caryophyllene	2,334	1419,58	25,630
Aromadendrene	0,114	1438,90	26,414
α -Humulene	1,000	1453,58	27,010
d-Cadinene	0,169	1522,71	29,816
Spathulenol	0,982	1579,20	32,109
Viridiflorol	0,795	1591,37	32,434

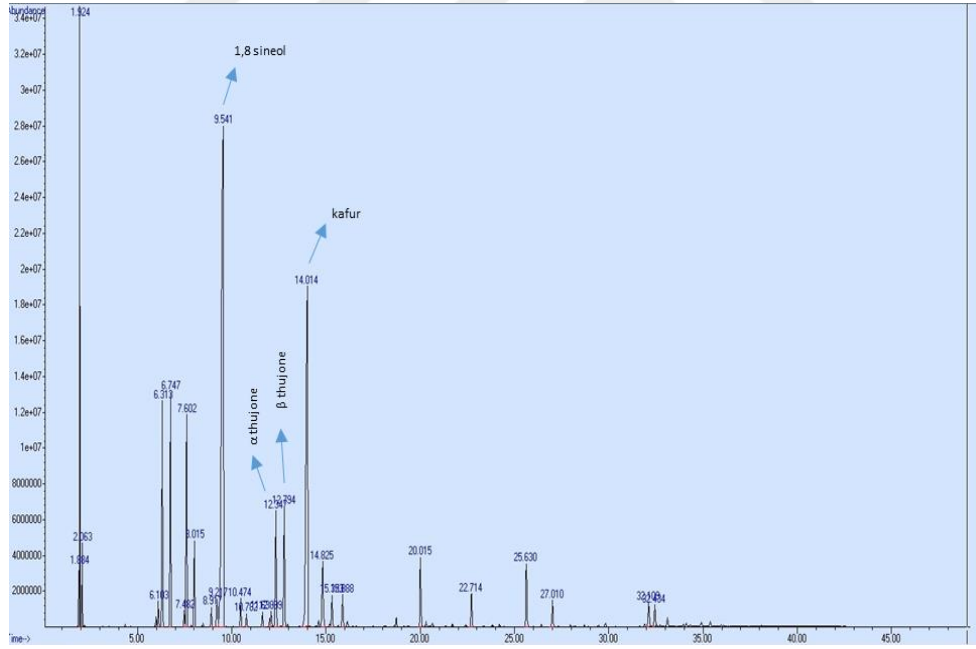


Şekil 4.3d. *S. triloba* (İzmir) uçucu yağı GK/KS İzmir’de yetişen *S. triloba* uçucu yağının GK/KS ile elde edilen kromatogramı

Tablo 4.3e. *S. triloba* (Balıkesir) uçucu yağı Balıkesir’de yetişen *S. triloba* uçucu yağının kimyasal bileşenleri

Maddeler	<i>S. triloba</i> (Balıkesir) uçucu yağı kimyasal bileşimi (%)	RRI	RT
α -Thujene	0,381	927,12	6,142
α -pinene	5,400	934,09	6,347

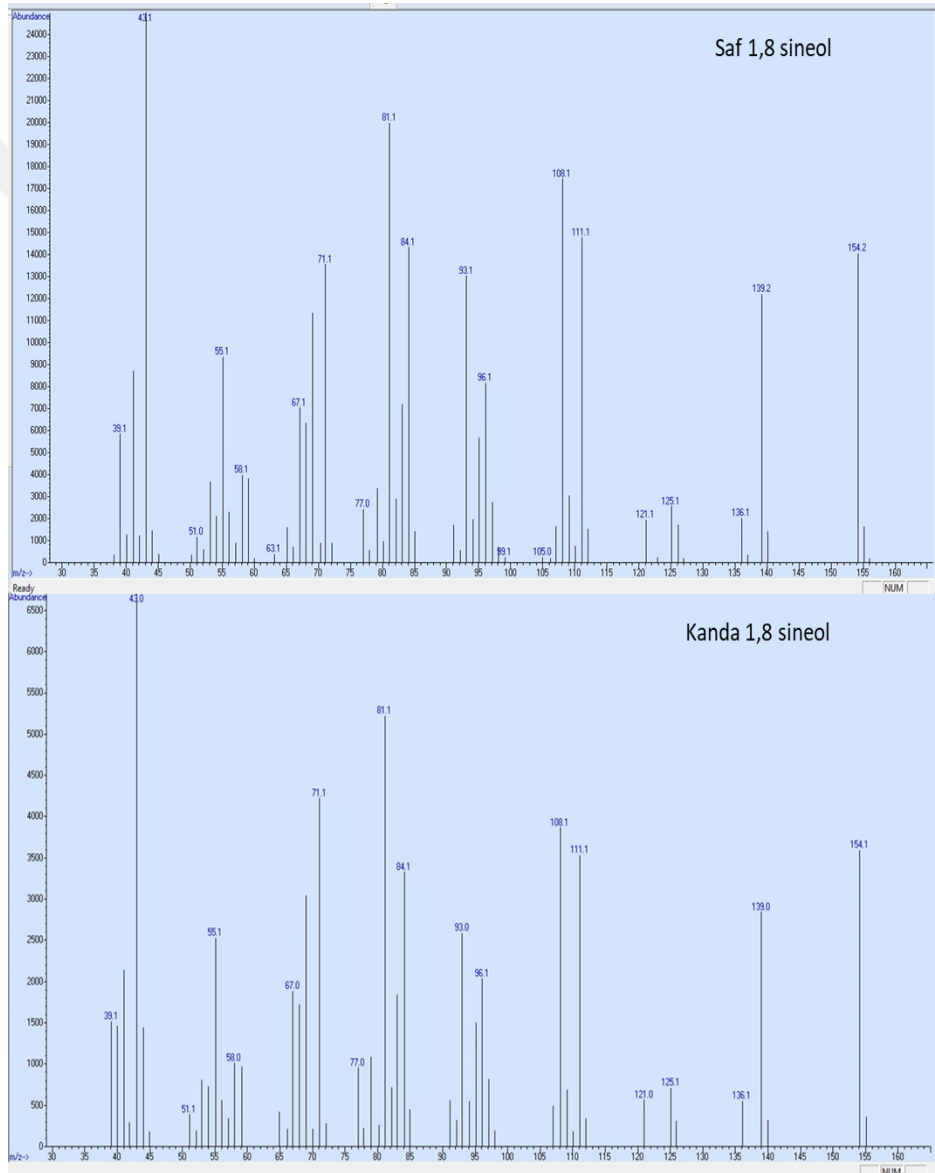
Camphene	4,596	948,81	6,78
β -pinene	2,952	977,83	7,634
β -myrcene	1,868	992,11	8,054
2-carene	0,523	1017,71	8,957
p-cymene	0,403	1025,21	9,241
D-Limonene	1,783	1029,35	9,398
1,8-cineole	13,222	1032,12	9,541
γ -Terpinene	0,933	1058,87	10,516
Sabinenehydrate	0,160	1067,26	10,834
α -Terpinolene	0,565	1089,54	11,678
α-Thujone	17,935	1108,71	12,347
β-Thujone	9,212	1118,66	12,794
Camphor	14,553	1146,02	14,014
Borneol	2,471	1166,01	14,861
α -Terpineol	0,393	1191,16	15,923
Caryophyllene	4,139	1420,25	25,657
α -Humulene	2,305	1454,22	27,036
Caryophylleneoxide	0,296	1583,50	32,129
Viridiflorol	5,228	1592,20	32,466



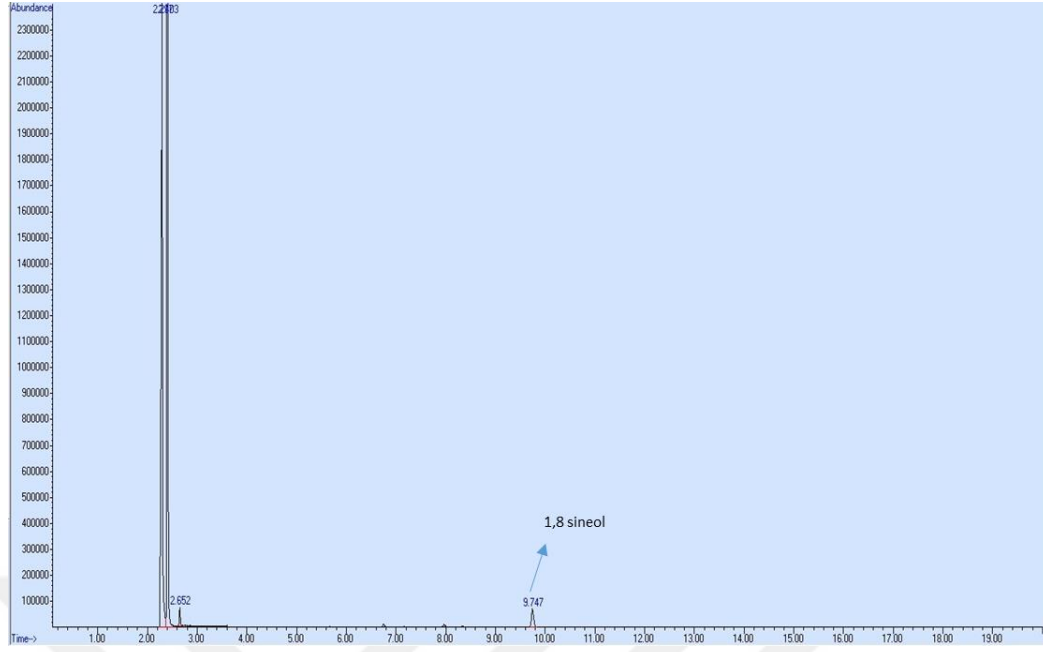
Şekil 4.3e. *S. triloba* (Balıkesir) uçucu yağı GK/KS Balıkesir’de yetişen *S. triloba* uçucu yağının GK/KS ile elde edilen kromatogramı

4.4 Biyoyararlanım bulguları

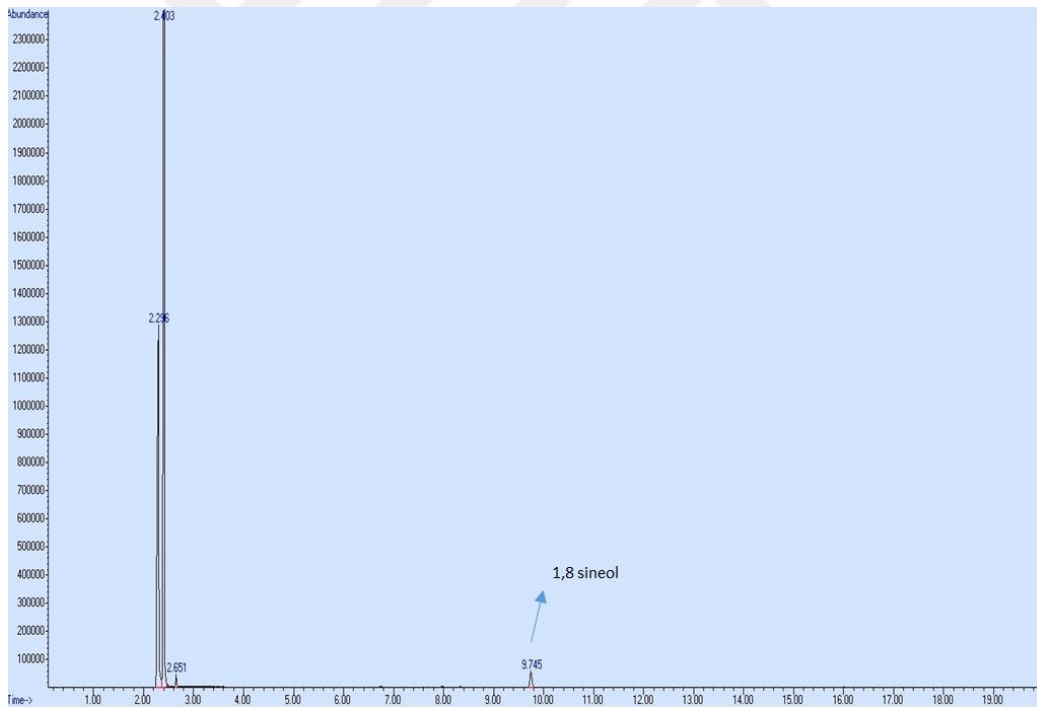
Uçucu yağın inhalasyonu sonrası toplanan kan örneklerinde uçucu yağın majör bileşeni olan 1,8 sineol HSGK yöntemiyle gösterildi. Öncelikle kan örneklerinde tayin edilen uçucu yağ içeriğinde bulunan 1,8 sineolün KS kırılımları saf 1,8 sineol kütle spektrometresi kırılımları ile karşılaştırıldı ve aynı kırılımları gösterdikleri belirlendi (Şekil 4.4a). Biyoyararlanım çalışmasına dahil edilen 6 hayvanın da kan örneklerinde 1,8 sineol tespit edildi (Şekil 4.4.b, c, d, e, f, g).



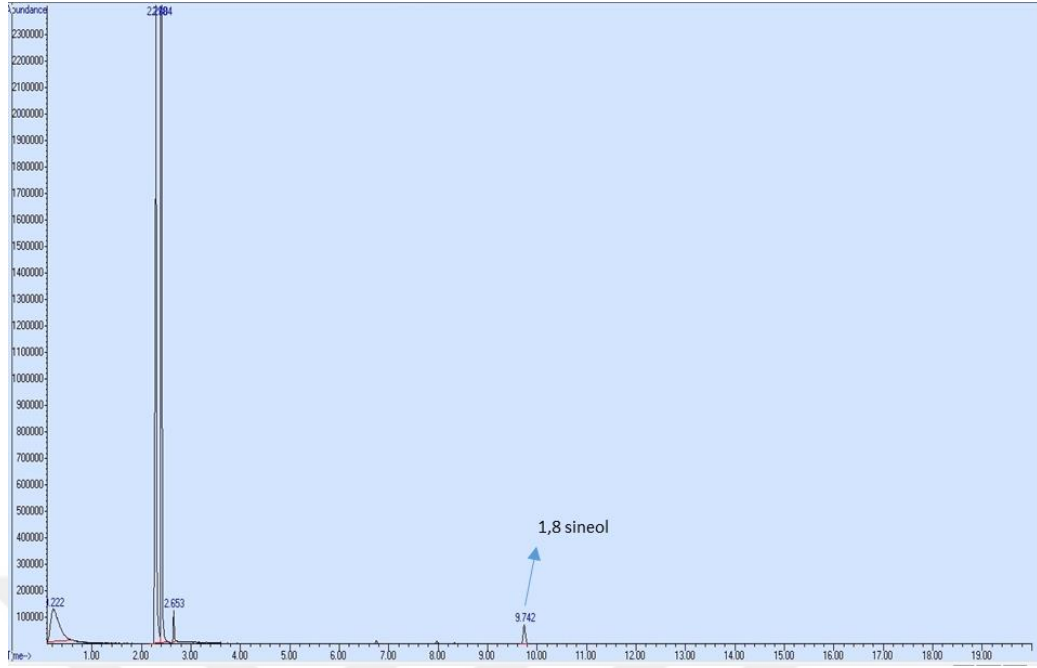
Şekil 4.4a. 1,8 sineolün kütle spektrometresi kırılımları. Uçucu yağdaki ana bileşen olan 1,8 sineolün saf halini ve uçucu yağın kandaki ana bileşenlerden biri olarak gösterilmesi, kütle spektrometresi kırılımları.



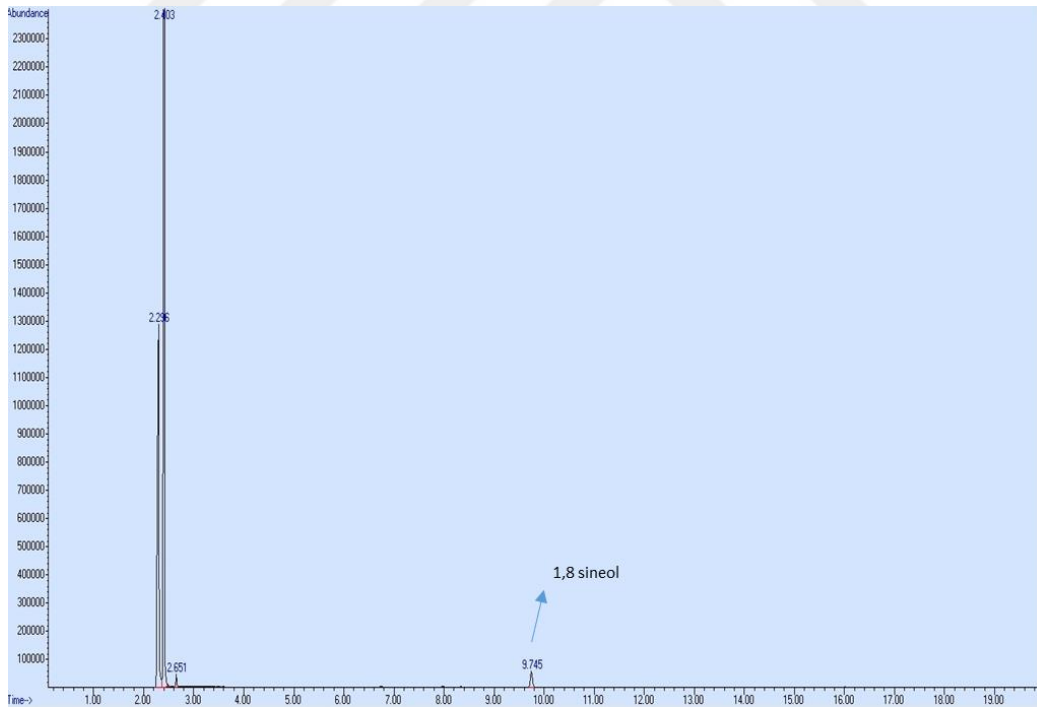
Şekil 4.4b. Kanda 1,8 sineol 1.hayvan kan örneği



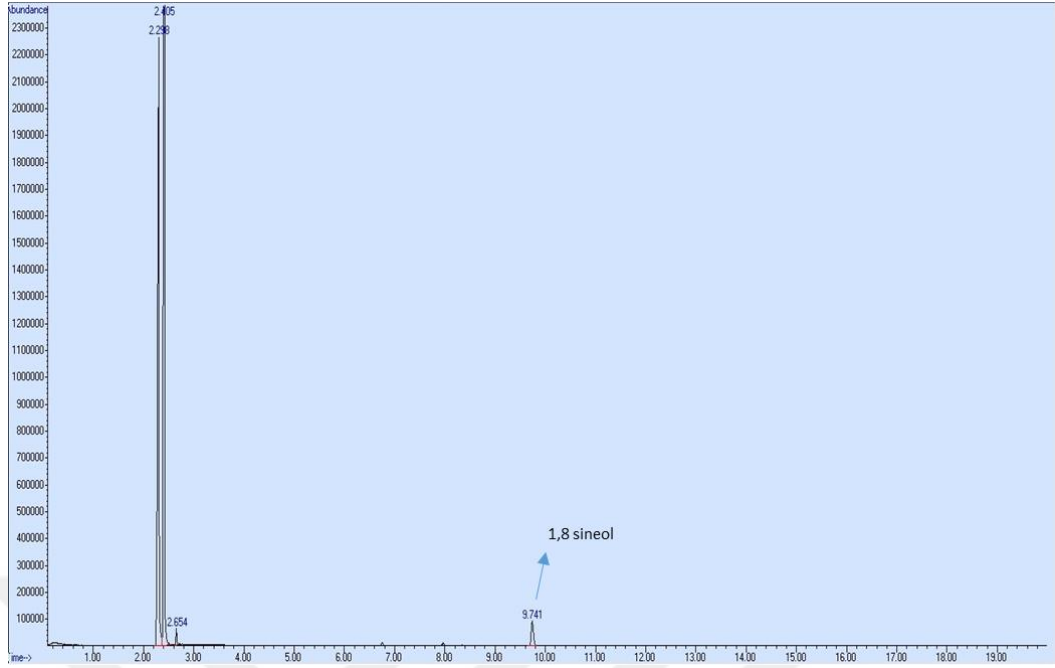
Şekil 4.4c. Kanda 1,8 sineol 2.hayvan kan örneği



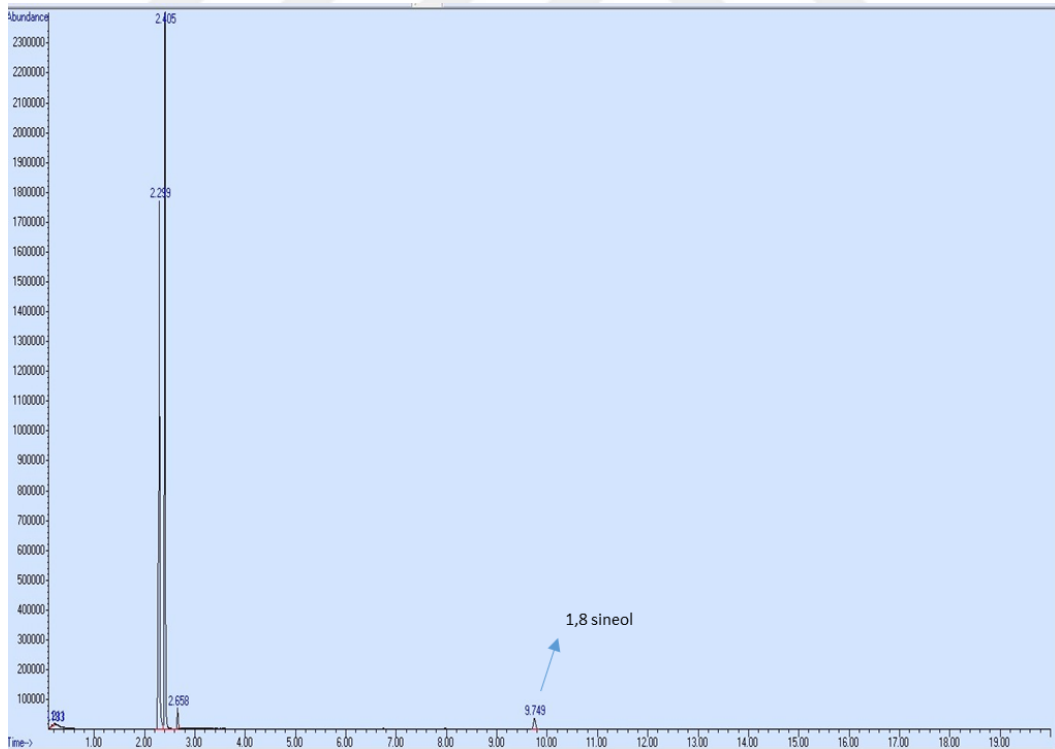
Şekil 4.4d. Kanda 1,8 sineol 3.hayvan kan örneği



Şekil 4.4e. Kanda 1,8 sineol 4.hayvan kan örneği



Şekil 4.4f. Kanda 1,8 sineol 5.hayvan kan örneği

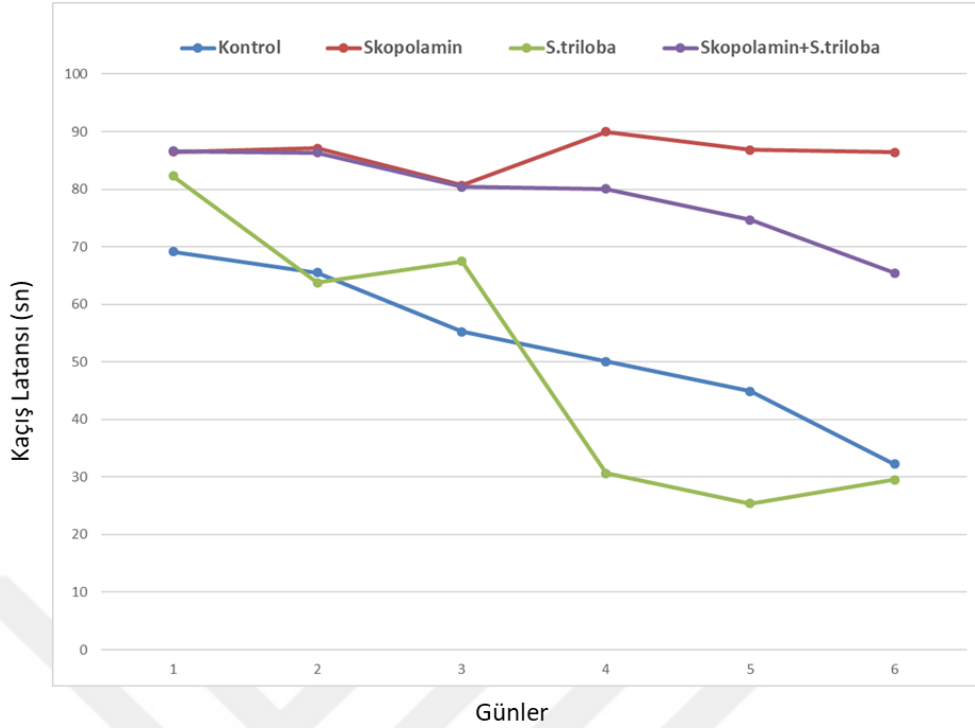


Şekil 4.4g. Kanda 1,8 sineol 6.hayvan kan örneği

4.5. Davranış Deneyi Bulguları

4.5.1. Öğrenme bulguları

Sıçanlar 6 gün boyunca Morris su labirentinde gizli platformu bulmak için eğitildi. Platformun yerinin öğrenilmesi kaçış latanslarında kademeli azalma ile gözlemlendi (Şekil 4.5.1a). Öğrenme süreci sonunda 4 grup arasında kaçış latansı anlamlı olarak farklı bulundu ($F(3,20)= 21,553$; $p < 0.001$). Bu etkinin hangi gruplar arasındaki farktan kaynaklandığını araştıran Tukey testlerinde (ikili grup karşılaştırmalarında) skopolamin grubu ile skopolamin+S.*triloba* grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Skopolamin alan (bellek bozukluğu oluşturulmuş) grubun kaçış latansında 6 gün içinde bir azalma gözlenmedi ve kontrol grubu ve S. *triloba* gruplarından anlamlı olarak uzun bulundu (her iki karşılaştırma için $p < 0.001$). Skopolamin+S.*triloba* alan grupta da kaçış latansı kontrol grubu ve S.*triloba* gruplarına kıyasla anlamlı olarak uzun bulundu (sırasıyla $p = 0.001$, $p < 0.001$). Bu sonuçlar kontrol grubu referans alındığında skopolamin ve skopolamin+S.*triloba* gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir öğrenme gerçekleşmediği gösterdi. Tüm günlerdeki kaçış latansları bir arada ele alındığında kontrol ve S. *triloba* arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

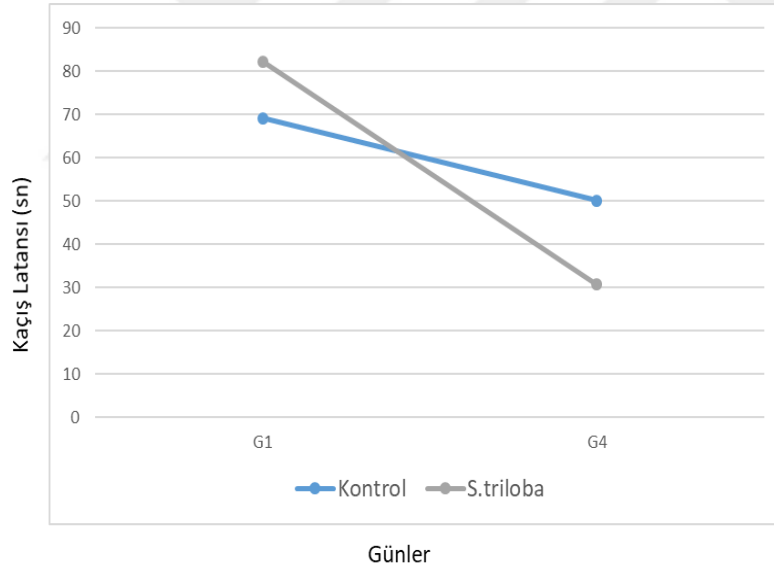


Şekil 4.5.1a. Morris su labirenti testi 6 günlük kaçış latansları.

Gruplar arası genel farka ek olarak GÜN x GRUP etkileşimi de anlamlıydı ($F(15,100) = 3,948$; $p < 0.001$). Kaçma latanslarının 1. güne kıyasla kontrastlarına bakıldığında 4. , 5. ve 6. günlerde gruplar arası anlamlı farklar olduğu bulundu (sırasıyla, $p < 0,0001$, $p = 0.001$, $p = 0,006$). Öğrenme gerçekleşen iki grup, kontrol ve *S. triloba* grupları, arasında GÜN x GRUP etkileşimi anlamlı bulundu ($F(5,50) = 2,861$; $p = 0,031$). Kontrol grubu ve *S.triloba* grupları arasındaki bu farkın hangi günlerden kaynaklandığını araştırmak için iki grubun kaçış latansları 1. güne kıyasla karşılaştırıldığında 4. gün için bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($p = 0,01$ - Bonferroni düzeltmesi ile). Bu fark *S.triloba* grubunun 4. günde kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha kısa kaçış latansı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.5.1b). Diğer günler için bu kontrol ve *S. triloba* gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. İki grup arasında 4. günde oluşan fark 5. ve 6. günlerde gözlenmedi.

Tablo 4.5. Morris su labirenti testinde 6 günlük öğrenme sürecindeki kaçış latansları grup ortalama $\pm$ SD değerleri (sn).

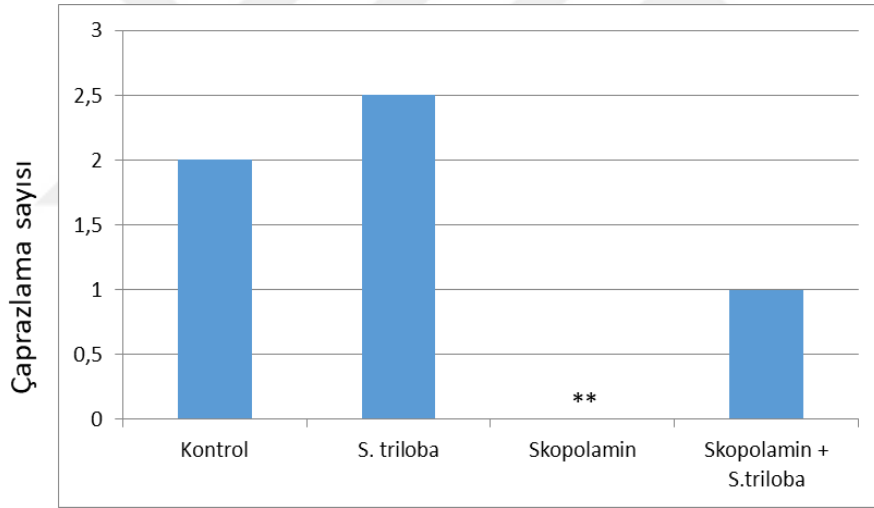
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün
Kontrol	69 ($\pm$ 14,2)	66 ($\pm$ 25,4)	55 ($\pm$ 27,9)	50 ($\pm$ 20,7)	45 ($\pm$ 26,0)	32 ($\pm$ 15,6)
Skopolamin	87 ($\pm$ 8,6)	87 ($\pm$ 5,7)	81 ($\pm$ 22,9)	90 ($\pm$ 0,0)	87 ($\pm$ 7,9)	86 ($\pm$ 8,9)
<i>S. triloba</i>	82 ($\pm$ 12,0)	64 ($\pm$ 9,2)	68 ($\pm$ 6,5)	31 ($\pm$ 11,2)	25 ($\pm$ 13,5)	30 ($\pm$ 17,5)
Skopolamin + <i>S. triloba</i>	87 ($\pm$ 8,4)	86 ($\pm$ 8,2)	80 ($\pm$ 16,0)	80 ($\pm$ 12,4)	75 ($\pm$ 18,8)	65 ($\pm$ 24,8)



Şekil 4.5.1b. Kaçış latansının Kontrol ve *S. triloba* grupları arasında 1. ve 4.gün karşılaştırması

4.5.2. Bellek bulguları

Sıçanlar 7. gün (son gün) platform kaldırılıp 90 sn yüzdürüldü. Sıçanların geçmiş 6 gün boyunca platform bulunan bölgeden kaç kez geçtiğine bakıldı. Çaprazlama sayısı 4 grup arasında anlamlı olarak farklı bulundu ($F(3,20) = 8,249$; $p < 0.001$). Bu farkın hangi gruplar arası farklardan kaynaklandığını inceleyen post hoc testler yapıldı (Tablo 4.5.2a). Kontrol ve *S. triloba* grupları skopolamin grubuna göre anlamlı olarak fazla çaprazlama gerçekleştirdiler (sırasıyla; $p = 0.007$, $p = 0.001$). Skopolamin grubu hayvanları platform noktasından hiç geçmedi. Skopolamin+S. *triloba* grubu ile *S. triloba* grupları arasındaki fark güçlü bir trend düzeyindeydi ($p = 0.052$). Kontrol grubu ile Skopolamin+S. *triloba* grubu arasında anlamlı bir fark yoktu.

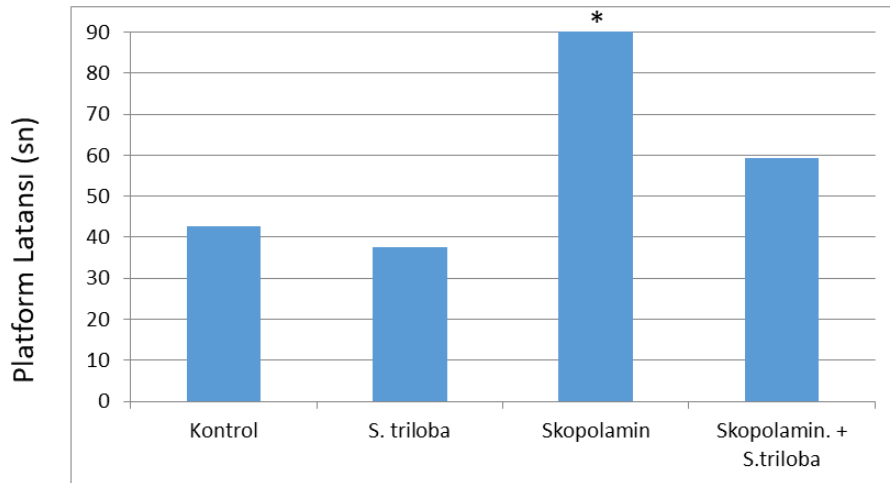


Şekil 4.5.2a. Grupların ortalama çaprazlama sayıları. Kontrol grubuna göre ** $p < 0.01$

Tablo 4.5.2a Platform çaprazlama sayılarının tek-yönlü ANOVA sonrasında post hoc testleri (Tukey testleri) (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

İkili karşılaştırmalar (Tukey testleri)	p değerleri
Kontrol - <i>S. triloba</i>	0.791
Kontrol - Skopolamin	0.007**
Kontrol - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.28
Skopolamin - <i>S. triloba</i>	0.001***
Skopolamin - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.28
<i>S. triloba</i> - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.052

Sıçanlar 7. gün (son gün) platform kaldırılıp 90 sn yüzdürülerek, geçmiş 6 gün boyunca platformun bulunan bölgeye ilk ulaşma süresi platform latansı olarak ölçüldü. Platforma hiç ulaşılmayan deneyimler için veri olarak maksimum süre olan 90 sn olarak girilmiştir. Platform latansı 4 grup arasında anlamlı olarak farklı bulundu ($F(3,20) = 4,05$; $p < 0.05$). Skopolamin grubu bu noktaya hiç ulaşamadı. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Tablo 4.5.2b'de listelenmiştir. Kontrol ve *S. triloba* gruplarında platform latansı Skopolamin grubuna göre anlamlı olarak kısa bulundu (her iki karşılaştırma için $p < 0.05$).



Şekil 4.5.2b. Grupların ortalama platform latansları. Kontrol grubuna göre * $p < 0.05$.

Tablo 4.5.2b Platform latansı tek-yönlü ANOVA sonrasında post hoc testleri (Tukey testleri) (* $p < 0.05$).

İkili karşılaştırmalar (Tukey testleri)	p değerleri
Kontrol - <i>S. triloba</i>	0.989
Kontrol - Skopolamin	0.045*
Kontrol - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.755
Skopolamin - <i>S. triloba</i>	0.024*
Skopolamin - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.571
<i>S. triloba</i> - Skopolamin+ <i>S. triloba</i>	0.278

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fotosentez doğada yer alan en önemli olaylardan biridir. En ilkel olandan, en gelişmiş olana kadar tüm canlılar yaşamlarını bu doğa olayına borçludurlar. Fotosentez olayı ile birlikte, bitkilerde meydana gelen zengin ve karmaşık kimyasal yapı çeşitliliği günümüzde en gelişmiş laboratuvarlarda bile taklit edilememektedir. Son yıllarda meydana gelen teknolojik gelişmeler ile birlikte hastalıkların nedenleri ortaya çıkarılmış ve atalarımızın kullandığı halk ilaçlarının etki mekanizmaları deneysel olarak açıklanmış, bitkilerin kimyasal bileşimleri tespit edilmiştir.

Günümüzde “fitoterapi, bitkilerle tedavi” geçmişte olduğu şekliyle değil bilimsel bulgulara dayalı olarak uygulanmaktadır. Yapılan çalışmalar bitkisel tedavide kullanılan bitkilerin yani aslında doğanın nasıl bir sinerji uzmanı olduğunu göstermiştir. Bitkilerin içerisindeki yüzlerce farklı yapı ve etkilerdeki bileşiklerin düşük miktarlarda uygulanması ile sağlanan klinik aktivitenin ancak tek başına çok yüksek miktarlarda uygulanması ile sağlanabilmektedir, bazı durumlarda ise sağlanamamaktadır (96). Bu durumda bitkileri tedavide kullanırken ve aynı zamanda bu araştırmadaki gibi etkinliğini araştırırken bilimsel bulguları göz önüne almak gerekmektedir.

İlaç keşif çalışmalarına bakıldığında, bitkilerin yeni aktif bileşen keşfinde oldukça önemli bir kaynak olduğu ve pek çok sentetik ilaç etken maddesinin kökeninin geleneksel halk tıbbında kullanılan bitkilerden geldiği herkes tarafından kabul bilinmektedir. AH'nın tüm dünyayı etkileyen ve ölüme yol açan hastalıkların başında yer alması, henüz bir tedavisinin bulunamamış olması, bu hastalığın tedavi rejiminde yeni stratejilerin belirlenmesinin önemi, bu doğrultuda tıbbi bitkilerden yararlanılmasının gerekliliğini göstermektedir.

Aromaterapi uçucu yağlar kullanılarak yapılan tedavidir. Aromatik yağlarla yapılan masajlar, aromatik suların dahilen kullanılması ve en önemlisi inhalasyon

yolu ile uçucu yağların uygulanması, aromaterapinin alanına girmektedir. Günümüzde oldukça yaygın olarak kullanılmaya başlanan uçucu yağların, fizyolojik etkileri hakkında detaylı inceleme yapılması ve aydınlatılması gerekmektedir. Bu konu ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, yağların inhalasyon yolu ile kullanılması ile ilgili aydınlatıcı çalışmalar eksik kalmaktadır.

Elde edilen bu olumlu veriler ışığında, bu tez çalışmasında ülkemizin endüstriyel açıdan en önemli bitkilerinden olan *S. triloba* uçucu yağının skopolamin ile hafıza kaybı oluşturulan ve oluşturulmayan sıçanlara inhalasyon yolu ile uygulanmasının öğrenme ve bellek üzerine destekleyici etkilerinin davranışsal ve biyokimyasal testler ile açıklanması hedeflendi. *S. triloba* uçucu yağının *in vitro* kolinesteraz enzim inhibisyon ve antioksidan aktivite testleri ile aynı uçucu yağın *in vivo* kolinesteraz inhibisyonu ve sıçanlar üzerinde davranışsal testler ile olan korelasyonunun açıklanması ve uçucu yağın kimyasal profilinin ortaya çıkarılması ve etkiden sorumlu bileşiklerin ortaya çıkarılması planlandı.

Günümüzde kolinesteraz inhibitörlerinin az olmasından dolayı kolinesteraz inhibitörlerinin geliştirilmesi ile ilgili geliştirici çalışmalara devam edilmektedir. Bu bilgilere dayanarak sunulmuş olan tez çalışmasında kolinesteraz inhibitör etkinliğini sağlayabilen 1,8 sineol bileşiğince zengin olan *S. triloba* uçucu yağının inhalasyon yolu ile uygulanması sonucu, skopolamin ile indüklenen AH benzeri demans oluşturulmuş sıçanlarda öğrenme ve bellek üzerinde koruyucu etkisi incelendi.

Sağlığa herhangi bir toksik etki oluşturmayacak içeriklere sahip profildeki Akdeniz’de yetiştirilen ve Mart ayında hasadı yapılan *S. triloba*’dan elde edilen uçucu yağda bulunan en yüksek bileşen 1,8 sineolün yüksek, kafur ve thujon bileşikleri en düşük olan uçucu yağ elde edildi. Önceki çalışmalarda bildirildiği gibi elde ettiğimiz *S. triloba* uçucu yağının, en yüksek bileşeni 1,8 sineol olarak bulundu (91, 92, 93).

Elde ettiğimiz *S. triloba* uçucu yağının in vitro AChE ve BChE inhibisyonu bulgularımız benzer çalışmalarda bildirilen değerler ile oldukça yakındı (97, 13, 15, 18, 19). Çalışmalar arasındaki farkların kullanılan uçucu yağlarda 1,8 sineol oranındaki farklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullanılan *S. triloba* uçucu yağı ile yaptığımız antioksidan kapasite ölçümlerinde DPPH, FRAP, CUPRAC ve TOAC değerlerine bakıldığında uçucu yağın antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterildi. Giweli ve diğerleri (98), *S. triloba* uçucu yağı ile yaptığı çalışmada DPPH sonucu $IC_{50} = 18,6 \text{ g/L}$ şeklinde, Tenore ve diğerleri (99), *S. lanigera* uçucu yağındaki çalışmasında DPPH ve FRAP aktivite sonuçları sırasıyla $5,56 \pm 0,2$ ve $6,44 \pm 0,4$ (mmol Trolox/L) şeklinde, Tel ve diğerleri (100), *S. chionantha* uçucu yağında CUPRAC aktivitesinin $0,84 \pm 0,06$ (800 $\mu\text{g/mL}$) göstermişlerdir.

Uçucu yağlar solunduğunda, olfaktör sinir üzerinden doğrudan beyine ulaştığı ve kanda tespit edilebildiği bilinmektedir. Biz de çalışmamızda uyguladığımız uçucu yağın majör bileşeni olan 1,8 sineol'ü kan örneklerinde HSGK analizi ile tespit ettik.

Sıçanlar üzerindeki ilaç/inhalasyon uygulamalarının Morris su labirenti testinde öğrenme üzerinde belirgin etkileri ortaya çıkmıştır. Skopolamin uygulanan 2 grupta kaçış latansları 6 gün sonuna kadar kayda değer bir kısalma göstermedi, öğrenme çok zayıftı. Skopolamin alan 2 gruptan *S. triloba* inhalasyonu alan grubun ortalamasına bakıldığında kısmi bir iyileşmeyi düşündürse de skopolamin etkisini hafifletici kabul edilebilecek anlamlı bir etki oluşmadı. Öğrenmeye işaret eder şekilde, kaçış latansları 6 gün boyunca gittikçe kısalan kontrol grubu ve *S. triloba* grubuydu. Bu gruplar arasında 6 gündeki kaçış latansları bir arada analize alındığında anlamlı bir fark yoktu ancak GRUP x GÜN etkileşimi iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmaktaydı. Kontrol ve *S. triloba* grupları arasındaki bu farkın hangi günlerden kaynaklandığı araştırıldığında, Şekil 4.5.1a'da açıkça görüldüğü üzere, *S. triloba*

grubunun 4. günde anlamlı olarak kontrol grubundan çok daha kısa kaçış latanslarına ulaştığı belirlendi. Bu bulgu *S. triloba* uçucu yağının bilişsel güçlendirici etkisi olduğunu düşündürmektedir. AH tedavisinde de yer bulmuş olan galantamin gibi bitkisel kaynaklı olup beyinde kolinerjik iletiyi doğrudan destekleyerek ortaya çıkan bilişsel güçlendirici etki (26) ile paralel görünmektedir. Kontrol grubunun ilerleyen günlerde (5. ve 6. gün) *S. triloba* grubu ile arasındaki farkı kapattığı ancak *S. triloba* uygulanan grubun öğrenme sürecinin hedefine kontrol grubuna kıyasla daha hızlı yaklaştığı açık şekilde görüldü.

Bellek bulguları ise 7. günde ortadan kaldırılan platform bölgesinde geçme sayısı (çaprazlama) ve platform bölgesine ilk ulaşma süresi ile değerlendirilmişti. Bellek bozukluğu indüklenmiş olan skopolamin grubunda çaprazlamanın hiç oluşmadığı gözlemlendi. Kontrol grubuna kıyasla bu anlamlı fark bellek sorununa işaret etmekteydi. Skopolamin+S. *triloba* uygulanan grupta skopolamin grubuna kıyasla bellekte bir iyileşme görülmedi. Skopolamin+S. *triloba* grubunun bellek performansının kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak farklı olmadığı görüldü. Bu durum *S. triloba*'nın skopolamine karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Tildesley ve diğerleri (108,109) çalışmalarında AChE inhibe edici özelliklerine sahip *S.lavandulaefolia* esansiyel yağı ve *S.officinalis* ekstraktının bilişsel değerlendirme testlerinde, hafıza performansında artış sağladığını göstermişlerdir.

S. triloba uçucu yağında bulunan 1,8 sineolün AChE ve BChE inhibitörü olmasının yanı sıra antioksidan aktiviteye sahip olması da AH için önemlidir. Beynin antioksidan sisteminin yaşla birlikte giderek azalması ile birlikte oksidatif stres hasarı nöron ölümüne yol açmaktadır ve bu AH'da daha belirgindir. AH tedavisinde, antioksidan özelliklere sahip kolinesteraz inhibitörleri geliştirilmesi gelecek araştırmalar için modern bir yaklaşımdır (14, 104).

Geçici bellek kaybı oluşturduğu bilenen AH benzeri demans modelinde kullandığımız Skopolaminin, 1 mg/kg dozda öğrenme ve bellek üzerinde bozulmaya neden olduğu bulundu. *S. triloba* inhalasyonu skopolaminin öğrenme ve bellek üzerinde etkilerini düzeltici yönde anlamlı bir etki göstermedi. Ancak sadece *S. triloba* inhalasyonu uygulanan grupta öğrenme sürecini hızlandıran, bilişsel güçlendirici etki açıkça ortaya konmuştur. Bu çalışma ile ana bileşeni 1,8 sineol olan ve fitokimyasal etki gösteren, toksik bileşen oranı en düşük profile sahip *S. triloba*'dan elde edilen uçucu yağın, bilişsel güçlendirici olarak kullanılabileceğini göstermiş olduk. *In vitro* olarak AChE inhibitör etkisini teyit ettiğimiz bu uçucu yağın aynı zamanda yüksek antioksidan kapasiteye sahip olması da literatür ile uyumludur.

S. triloba uygulaması ile Morris su labirenti testinde ortaya çıkan bilişsel güçlendirici etkiyi, büyük ölçüde uçucu yağ içeriğinde yer alan 1,8 sineol'ün AChE inhibitörü etkisi ile açıklamaktayız. Ancak tüm uçucu yağların sahip olduğu gibi *S. triloba* uçucu yağının da güçlü koku uyararı özelliği bulunmaktadır. Koku uyarılarının bellek oluşumu üzerindeki bilinen pekiştirici etkileri dikkate alındığında (106) elde ettiğimiz öğrenme üzerindeki pozitif etkilere kısmen katkıda bulunmuş olabileceği olasılığı da dışlanamaz.

Sonuç olarak, *S. triloba* uçucu yağı inhalasyon uygulaması ile elde ettiğimiz bilişsel güçlendirici etkinin, gelecek çalışmalarda farklı dozlarda ve transgenik AH modellerinde araştırılmaya değer olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

1. van der Flier WM, Scheltens P. Epidemiology and risk factors of dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2005 Dec 1;76(suppl 5):v2-7.
2. Donaldson C, Tarrier N, Burns A. The impact of the symptoms of dementia on caregivers. *The British Journal of Psychiatry*. 1997 Jan;170(1):62-8.
3. Biran YA, Masters CL, Barnham KJ, Bush AI, Adlard PA. Pharmacotherapeutic targets in Alzheimer's disease. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2009 Jan;13(1):61-86.
4. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A, Rosini M, Tumiatti V, Recanatini M, Melchiorre C. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *Journal of medicinal chemistry*. 2008 Feb 14;51(3):347-72.
5. Orhan IE, Senol FS, Yılmaz BS, Altun ML, Özbilgin S, Yazgan AN, Yüksel E, İşcan GS. Neuroprotective potential of *Viburnum orientale* Pallas through enzyme inhibition and antioxidant activity assays. *South African Journal of Botany*. 2018 Jan 1;114:126-31.
6. Davies P, Maloney AJ. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1976 Dec 25;308(8000):1403.
7. Contestabile A. The history of the cholinergic hypothesis. *Behavioural brain research*. 2011 Aug 10;221(2):334-40.
8. Haense C, Kalbe E, Herholz K, Hohmann C, Neumaier B, Kraus R, Heiss WD. Cholinergic system function and cognition in mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging*. 2012 May 1;33(5):867-77.
9. Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 2003 Jun 1;75(3):651-9.
10. Kalaycıoğlu Z, Uzaşçı S, Dirmenci T, Erim FB. α -Glucosidase enzyme inhibitory effects and ursolic and oleanolic acid contents of fourteen Anatolian *Salvia* species. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2018 Jun 5;155:284-7.
11. Sen Utsukarci B, Gurdal B, Bilgin M, Satana D, Demirci B, Tan N, Mat A. Biological activities of various extracts from *Salvia cassia* Sam. ex Rech. f. and chemical composition of its most active extract.

12. Orhan IE, Senol FS, Yılmaz BS, Altun ML, Özbilgin S, Yazgan AN, Yüksel E, İşcan GS. Neuroprotective potential of *Viburnum orientale* Pallas through enzyme inhibition and antioxidant activity assays. *South African Journal of Botany*. 2018 Jan 1;114:126-31.
13. Savelev SU, Okello EJ, Perry EK. Butyryl and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2004 Apr;18(4):315-24.
14. Bahadori MB, Dinparast L, Zengin G, Sarikurkcu C, Bahadori S, Asghari B, Movahhedine N. Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. *International Journal of Food Properties*. 2017 Aug 3;20(8):1761-72.
15. Şenol FS, Orhan IE, Erdem SA, Kartal M, Şener B, Kan Y, Celep F, Kahraman A, Dogan M. Evaluation of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of wild and cultivated samples of sage (*Salvia fruticosa*) by activity-guided fractionation. *Journal of medicinal food*. 2011 Nov 1;14(11):1476-83.
16. Scholey AB, Tildesley NT, Ballard CG, Wesnes KA, Tasker A, Perry EK, Kennedy DO. An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology*. 2008 May 1;198(1):127-39.
17. Benny A, Thomas J. Essential oils as treatment strategy for Alzheimer's disease: Current and future perspectives. *Planta medica*. 2019 Feb;85(03):239-48.
18. Şenol FS, Orhan IE, Erdem SA, Kartal M, Şener B, Kan Y, Celep F, Kahraman A, Dogan M. Evaluation of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of wild and cultivated samples of sage (*Salvia fruticosa*) by activity-guided fractionation. *Journal of medicinal food*. 2011 Nov 1;14(11):1476-83.
19. Savelev SU, Okello EJ, Perry EK. Butyryl-and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2004 Apr;18(4):315-24.
20. Duru ME, Tel G, Öztürk M, Harmandar M. Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activities of the essential oil of *Salvia chrysophylla* Staph. *Rec. Nat. Prod*. 2012 Jan 1;6:175-9.
21. Barnes CA, Meltzer J, Houston F, Orr G, McGann K, Wenk GL. Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neuroscience*. 2000 Jul 26;99(1):17-23.

22. Cacabelos R. Donepezil in Alzheimer's disease: From conventional trials to pharmacogenetics. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2007 Jun;3(3):303.
23. Snyder PJ, Bednar MM, Cromer JR, Maruff P. Reversal of scopolamine-induced deficits with a single dose of donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor. *Alzheimer's & Dementia*. 2005 Oct 1;1(2):126-35.
24. Harvey PD. Pharmacological cognitive enhancement in schizophrenia. *Neuropsychology review*. 2009 Sep 1;19(3):324-35.
25. Marco-Contelles J, Rodríguez C, García AG. Chemical synthesis of galantamine, an acetylcholinesterase inhibitor for treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2005 May 1;15(5):575-87.
26. Sofuoglu M, DeVito EE, Waters AJ, Carroll KM. Cognitive enhancement as a treatment for drug addictions. *Neuropharmacology*. 2013 Jan 1;64:452-63.
27. Tildesley NT, Kennedy DO, Perry EK, Ballard CG, Savelev SA, Wesnes KA, Scholey AB. *Salvia lavandulaefolia* (Spanish sage) enhances memory in healthy young volunteers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003 Jun 1;75(3):669-74.
28. Bostrom N, Sandberg A. Cognitive enhancement: methods, ethics, regulatory challenges. *Science and engineering ethics*. 2009 Sep 1;15(3):311-41.
29. Scholey AB, Tildesley NT, Ballard CG, Wesnes KA, Tasker A, Perry EK, Kennedy DO. An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology*. 2008 May 1;198(1):127-39.
30. Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Lobo A, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group*. *Neurology*. 2000;54(11 Suppl 5):S10-5.
31. National Collaborating Centre for Mental Health. *Dementia: A NICE–SCIE guideline on supporting people with dementia and their carers in health and social care* [Internet]. London, UK: The British Psychological Society, The Royal College of Psychiatrists; 2007 [cited 2015 December 21].
32. Harvey RJ, Skelton-Robinson M, Rossor MN. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2003 Sep 1;74(9):1206-9.

33. Kaplan DB, Berkman B. Dementia care: A global concern and social work challenge. *International social work*. 2011 May;54(3):361-73.
34. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1999 Feb 1;66(2):137-47.
35. Yang MH, Yoon KD, Chin YW, Park JH, Kim SH, Kim YC, Kim J. Neuroprotective effects of *Dioscorea opposita* on scopolamine-induced memory impairment in in vivo behavioral tests and in vitro assays. *Journal of ethnopharmacology*. 2009 Jan 12;121(1):130-4.
36. Zhu X, Raina AK, Lee HG, Casadesus G, Smith MA, Perry G. Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain research*. 2004 Mar 12;1000(1-2):32-9.
37. Omar RA, Chyan YJ, Andorn AC, Poeggeler B, Robakis NK, Pappolla MA. Increased expression but reduced activity of antioxidant enzymes in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 1999 Jan 1;1(3):139-45.
38. Zhao Y, Zhao B. Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2013 Jul 25;2013.
39. Padurariu M, Ciobica A, Hritcu L, Stoica B, Bild W, Stefanescu C. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*. 2010 Jan 18;469(1):6-10.
40. Bores GM, Huger FP, Petko W, Mutlib AE, Camacho F, Rush DK, Selk DE, Wolf V, Kosley RW, Davis L, Vargas HM. Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1996 May 1;277(2):728-38.
41. Gauthier S, Scheltens P. Can we do better in developing new drugs for Alzheimer's disease?. *Alzheimer's & Dementia*. 2009 Nov;5(6):489-91.
42. Dulawa SC, Janowsky DS. Cholinergic regulation of mood: from basic and clinical studies to emerging therapeutics. *Molecular psychiatry*. 2019 May;24(5):694-709.
43. Ulus İH, Cansev M. Kolin'in Merkezi ve Periferik Kolinergic Nöronlarda ve Kolinergic İletimdeki İşlevi.
44. Sandmann J, Wurtman RJ. Phospholipase D and phospholipase C in human cholinergic neuroblastoma (LA-N-2) cells: modulation by muscarinic agonists and protein kinase C. *Advances in second messenger and phosphoprotein research*. 1990;24:176-81.

45. Sandmann J, Wurtman RJ. Stimulation of phospholipase D activity in human neuroblastoma (LA-N-2) cells by activation of muscarinic acetylcholine receptors or by phorbol esters: Relationship to phosphoinositide turnover. *Journal of neurochemistry*. 1991 Apr;56(4):1312-9.
46. Ulus IH, Mauron C, Krzysztof J. Choline increases acetylcholine release and protects against the. *Brain research*. 1989;484:217-27.
47. Farber SA, Savci V, Wei A, Slack BE, Wurtman RJ. Choline's phosphorylation in rat striatal slices is regulated by the activity of cholinergic neurons. *Brain research*. 1996 Jun 3;723(1-2):90-9.
48. Blusztajn JK, Holbrook PG, Lakher M, Liscovitch M, Maire JC, Mauron C, Richardson UI, Tacconi M, Wurtman RJ. " Autocannibalism" of membrane choline-phospholipids: physiology and pathology. *Psychopharmacology bulletin*. 1986;22(3):781-6.
49. Perry N, Perry E. Aromatherapy in the management of psychiatric disorders. *CNS drugs*. 2006 Apr 1;20(4):257-80.
50. Lawless J. *The complete illustrated guide to aromatherapy*. Element; 1997.
51. Urba SG. Nonpharmacologic pain management in terminal care. *Clinics in geriatric medicine*. 1996 May 1;12(2):301-11.
52. Walsh D. Using aromatherapy in the management of psoriasis. *Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain))*: 1987). 1996 Dec;11(13-15):53-6.
53. Welsh C. Touch with oils: a pertinent part of holistic hospice care. *American Journal of Hospice and Palliative Medicine®*. 1997 Jan;14(1):42-5.
54. Lis-Balchin M. Possible health and safety problems in the use of novel plant essential oils and extracts in aromatherapy. *The journal of the Royal Society for the Promotion of Health*. 1999 Dec;119(4):240-3.
55. Tisserand R, Young R. *Essential oil Safety-E-Book: A guide for health care professionals*. Elsevier Health Sciences; 2013 Dec 2.
56. naha.org/index.php/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-is-aromatherapy
57. Kivanç M, Akgül A. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. *Flavour and Fragrance Journal*. 1986 Sep;1(4-5):175-9.
58. Ceylan A. *Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler)*, Ege Ü. Ziraat Fak. Yayınları. 1987(481).
59. Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi Cilt 2*, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları Ankara. 1990;65:148-9.

60. Baytop T, Baser KH. On essential oils and aromatic waters used as medicine in Istanbul between 17th and 19th centuries. Inproceedings of the 13th international congress of flavours, fragrances and essential oils 1995 Oct (Vol. 2, pp. 99-107).
61. Maksimovic ZA, Dordevic S, Mraovic M. Antimicrobial activity of *Chenopodium botrys* essential oil. *Fitoterapia*. 2005 Jan 1;76(1):112-4.
62. Rivera D, Obon C, Cano F. The botany, history and traditional uses of three-lobed sage (*Salvia fruticosa* Miller)(*Labiatae*). *Economic Botany*. 1994 Apr 1;48(2):190-5.
63. Nakipoğlu M. Türkiye'nin *Salvia L.* türleri üzerinde karyolojik araştırmalar II. *S. viridis L.*, *S. glutinosa L.*, *S. virgata Jacq.*, *S. verbenaca L.*, *S. argentea L.* *Türk Botanik Dergisi*. 1993;17:157-61.
64. Doğan M, Pehlivan S, Akaydın G, Bağcı E, Uysal İ, Doğan HM. Türkiye’de yayılış gösteren *Salvia L. Labiatae*) cinsinin taxonomik revizyonu. *Tübitak Proje*. 2008(104).
65. Pitarević I, Kuftinec J, Blažević N, Kuštrak D. Seasonal variation of essential oil yield and composition of dalmatian sage, *Salvia officinalis*. *Journal of natural products*. 1984 May;47(3):409-12.
66. Grella GE, Picci V. Variazioni stagionali dell ‘olio essenziale di *Salvia officinalis*. *Fitoterapia*. 1988;59(2):97-102.
67. Putievsky E, Ravid U, Dudai N. The essential oil and yield components from various plant parts of *Salvia fruticosa*. *Journal of natural products*. 1986 Nov;49(6):1015-7.
68. Davis PH. . *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. University Press, Edinburgh, 7.
- 69(58). Ceylan A. *Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler)*, Ege Ü. Ziraat Fak. Yayınları. 1987(481).
70. Baytop T. *Türkiye’de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün*. Nobel Tıp Kitabevleri; 1999.
71. Davis PH. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3.. 1970.
72. Karık Ü. Marmara bölgesindeki anadolu adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) populasyonlarının morfolojik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi, kültüre alınma olanaklarının araştırılması.
73. Jankowska M, Rogalska J, Wyszowska J, Stankiewicz M. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—a review. *Molecules*. 2018 Jan;23(1):34.
74. Jeong EJ, Lee KY, Kim SH, Sung SH, Kim YC. Cognitive-enhancing and antioxidant activities of iridoid glycosides from *Scrophularia buergeriana* in scopolamine-treated mice. *European journal of pharmacology*. 2008 Jun 24;588(1):78-84.

75. Redrobe JP, Nielsen EØ, Christensen JK, Peters D, Timmermann DB, Olsen GM. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor activation ameliorates scopolamine-induced behavioural changes in a modified continuous Y-maze task in mice. *European journal of pharmacology*. 2009 Jan 5;602(1):58-65.
76. Kim CY, Seo Y, Lee C, Park GH, Jang JH. Neuroprotective effect and molecular mechanism of [6]-Gingerol against scopolamine-induced amnesia in C57BL/6 mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;2018.
77. Klinkenberg I, Blokland A. The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2010 Jul 1;34(8):1307-50.
78. Popović M, de Béjar VG, Popović N, Caballero-Bleda M. Time course of scopolamine effect on memory consolidation and forgetting in rats. *Neurobiology of learning and memory*. 2015 Feb 1;118:49-54.
79. Gnagey AL, Forte M, Rosenberry TL. Isolation and characterization of acetylcholinesterase from *Drosophila*. *Journal of Biological Chemistry*. 1987 Sep 25;262(27):13290-8.
80. Bourguet D, Roig A, Toutant JP, Arpagaus M. Analysis of molecular forms and pharmacological properties of acetylcholinesterase in several mosquito species. *Neurochemistry international*. 1997 Jul 1;31(1):65-72.
81. Marcel V, Palacios LG, Pertuy C, Masson P, Fournier D. Two invertebrate acetylcholinesterases show activation followed by inhibition with substrate concentration. *Biochemical Journal*. 1998 Jan 15;329(2):329-34.
82. H Ferreira-Vieira T, M Guimaraes I, R Silva F, M Ribeiro F. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current neuropharmacology*. 2016 Jan 1;14(1):101-15.
83. Hall ZW. Multiple forms of acetylcholinesterase and their distribution in endplate and non-endplate regions of rat diaphragm muscle. *Journal of neurobiology*. 1973;4(4):343-61.
84. Powledge TM. Nicotine as therapy. *PLoS biology*. 2004 Nov;2(11).
85. Barak TH, Celep E, İnan Y, Yesilada E. Influence of in vitro human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L.(European cranberry) fruit extracts. *Industrial crops and products*. 2019 May 1;131:62-9.
86. Bardakci H, Skaltsa H, Milosevic-Ifantis T, Lazari D, Hadjipavlou-Litina D, Yeşilada E, Kırmızıbekmez H. Antioxidant activities of several *Scutellaria* taxa and bioactive phytoconstituents from *Scutellaria hastifolia* L. *Industrial Crops and Products*. 2015 Dec 23;77:196-203.

87. Taskin T, Levent M, Sahin T. Investigation of the Effects of Biological Activity and Steeping time of Four Different Black Teas Commercially Valuable in Turkey. *Clinical and Experimental Health Sciences*. 2019.
88. Bolognesi ML, Bartolini M, Mancini F, Chiriano G, Ceccarini L, Rosini M, Milelli A, Tumiatti V, Andrisano V, Melchiorre C. Bis (7)-tacrine derivatives as multitarget-directed ligands: focus on anticholinesterase and anti-amyloid activities. *ChemMedChem*. 2010 Aug 2;5(8):1215-20.
89. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*. 1961 Jul 1;7(2):88-95.
90. Kahveci N, Gulec G, Ozluk K. Effects of intracerebroventricularly-injected morphine on anxiety, memory retrieval and locomotor activity in rats: involvement of vasopressinergic system and nitric oxide pathway. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2006 Dec 1;85(4):859-67.
91. Al-Kalaldeh JZ, Abu-Dahab R, Afifi FU. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research*. 2010 Apr 1;30(4):271-8.
92. Flamini G, Cioni PL, Morelli I, Bader A. Essential oils of the aerial parts of three *Salvia* species from Jordan: *Salvia lanigera*, *S. spinosa* and *S. syriaca*. *Food chemistry*. 2007 Jan 1;100(2):732-5.
93. Radulescu V, Chiliment S, Oprea E. Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*. *Journal of Chromatography A*. 2004 Feb 20;1027(1-2):121-6.
94. Lee MR, Dukan E, Milne I. *Amanita muscaria* (fly agaric): from a shamanistic hallucinogen to the search for acetylcholine. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2018 Mar;48(1):85-91.
95. tisserandinstitute.org/what-is-aromatherapy-petra-ratajc/
96. Yeşilada E. *İyileştiren Bitkiler*. 1. Basım. İstanbul: Hayykitap, 2012
97. Topçu G, Öztürk M, Kuşman T, Demiröz AA, Kolak U, Ulubelen A. Terpenoids, essential oil composition, fatty acid profile, and biological activities of Anatolian *Salvia fruticosa* Mill. *Turkish Journal of Chemistry*. 2013 Jul 30;37(4):619-32.
98. Giweli AA, Džamić AM, Soković M, Ristić MS, Janačković P, Marin PD. The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Salvia fruticosa* growing wild in Libya. *Archives of Biological Sciences*. 2013;65(1):321-9.

99. Tenore GC, Ciampaglia R, Arnold NA, Piozzi F, Napolitano F, Rigano D, Senatore F. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*. 2011 Jan 1;49(1):238-43.
100. Tel G, Öztürk M, Duru ME, Harmandar M, Topçu G. Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and chemical toxicology*. 2010 Nov 1;48(11):3189-93.
101. Scott LJ, Goa KL. Galantamine. *Drugs*. 2000 Nov 1;60(5):1095-122.
102. Raskind MA. Update on Alzheimer drugs (galantamine). *The neurologist*. 2003 Sep 1;9(5):235-40.
103. Lilienfeld S. Galantamine—a novel cholinergic drug with a unique dual mode of action for the treatment of patients with Alzheimer's disease. *CNS drug reviews*. 2002 Jun;8(2):159-76.
104. Makhaeva GF, Lushchekina SV, Boltneva NP, Serebryakova OG, Rudakova EV, Ustyugov AA, Bachurin SO, Shchepochkin AV, Chupakhin ON, Charushin VN, Richardson RJ. 9-Substituted acridine derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors possessing antioxidant activity for Alzheimer's disease treatment. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2017 Nov 1;25(21):5981-94.
105. Nishino S. Hypothalamus, hypocretins/orexin, and vigilance control. In *Handbook of clinical neurology* 2011 Jan 1 (Vol. 99, pp. 765-782). Elsevier.
106. Jimbo D, Kimura Y, Taniguchi M, Inoue M, Urakami K. Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*. 2009 Dec;9(4):173-9.
107. Kalat JW. *Biological psychology*. Nelson Education; 2015.
108. Tildesley NT, Kennedy DO, Perry EK, Ballard C, Wesnes KA, Scholey AB. Cognitive and mood effects of acute administration of *Salvia lavandulaefolia* (Spanish Sage) to healthy young volunteers. *Physiol Behav*. 2005;83:699-709.
109. Tildesley NT, Kennedy DO, Perry EK, Ballard CG, Savelev SA, Wesnes KA, Scholey AB. *Salvia lavandulaefolia* (Spanish sage) enhances memory in healthy young volunteers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003 Jun 1;75(3):669-74.

7.EKLER

7.1 Etik Kurul Onayı



ACIBADEM
MEHMET ALİ AYDINLAR
ÜNİVERSİTESİ

**ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR FORMU**

BAŞVURU TARİHİ: 12.02.2020	KARAR TARİHİ: 12.02.2020		
BAŞVURU SAYISI: 2020/13	KARAR SAYISI: 2020/13		
Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ERGEN'in yürütücüsü olduğu "İnhalasyonla uygulanan Salvia triloba uçucu yağının in-vitro biyoaktiviteleri ve sıçanda skopolamin ile indüklenmiş bellek kaybı üzerine koruyucu etkisi." isimli proje başvurusu Acibadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "12.02.2020" tarih ve "02" sayılı toplantısında görüşülmüş ve etik açıdan ☒ Uygun ☐ Düzeltilmesi Gerekir ☐ Koşullu Olarak Uygun ☐ Uygun Değil olarak değerlendirilmiştir.			
Kurul Üyesi	İmza	Karara Katılıyorum	Karara Katılmıyorum
Prof. Dr. Serap Arbak (Başkan)		(X)	()
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan V.)		()	()
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus		()	()
Prof. Dr. Alp Bayramoğlu		()	()
Prof. Dr. Yeşim Işıl Ülman		(X)	()
Doç. Dr. Figen Demir		(X)	()
Doç. Dr. Devrim Öz Arslan		(X)	()
Sabiha Turgut Genç		(X)	()
Vet. Hek. Samed Özer		(X)	()
Ferhat Bilgili		()	()

SAYI: HDK-2020/13
KONU: ACU-HADYЕК 2020/13 sayılı başvurunuz

12.02.2020

Sn. Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ERGEN

ACU-HADYЕК 2020/13 sayılı “İnhalasyonla uygulanan Salvia triloba uçucu yağının in-vitro biyoaktiviteleri ve sıçanda skopolamin ile indüklenmiş bellek kaybı üzerine koruyucu etkisi.” isimli projeniz Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 12.02.2020 tarihli 02. toplantısında incelenmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

ACU-HADYЕК 2020/13 sayılı karar ektedir.



Prof. Dr. Serap ARBAK

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

7.2 ABAPKO Proje Desteği

KARAR:

KARAR NO: 2019/02/01:

1. Üniversitemiz Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Ameliyathane Hizmetleri Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Tamer KARŞIDAĞ' ın yürütücülüğünü yaptığı, "Sıçanlarda lokal ve sistemik olarak uygulanan Resveretrolün yara iyileşmesi üzerine etkisi" başlıklı projesine 5.000,00 TL destek verilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

KARAR NO: 2019/02/02:

2. Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Özgüç TAKMAZ'ın yürütücülüğünü yaptığı, "Endometriyoma cerrahisi için optimal menstrüel siklus gününün saptanması" başlıklı projesine 7.776,00 TL destek verilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

KARAR NO: 2019/02/03:

3. Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Ast.Dr.Savaş GÜNDOĞAN' yürütücülüğünü yaptığı "Sıçan Modeli üzerinden Over Torsiyon Tedavisi için Geliştirdiğimiz Cerrahi Tekniğın Etkinliğinin Değerlendirilmesi" başlıklı 2018/03/09 numaralı projesine 3.000,00 TL destek verilmiş olup, tez değerlendirilmesinde ek olarak 16 adet sıçan plazmasında AMH çalışması için 3,214,08TL' lik masrafın projeye ek bütçe olarak eklenmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

KARAR NO: 2019/02/04:

4. Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü'nden Öğr. Gör. Vildan KOÇATEPE' nin yürütücülüğünü yaptığı "Akciğer Kanseri İle İlişkili Dispnenin Yönetiminde Yüze Fan Uygulamasının Etkisi" başlıkla projesine 5.000,00 TL destek verilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

KARAR NO: 2019/02/05:

5. Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yeşim Işıl ÜLMAN' ın yürütücülüğünü yaptığı "Tıpta Yapay Zekâ Sistemleri Kullanımının Etik Boyutu: Bir Üniversite Hastanesi Hekimlerinin Bilgi, Tutum ve Görüşlerine Dair Nitel Bir Araştırma" başlıklı projesine 4.521,06 TL destek verilmesinin uygun olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

KARAR NO: 2019/02/06:

6. Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Gülşah Beyza ERTOSUN'un yürütücülüğünü yaptığı, Dr.Öğr.Üyesi Mehmet ERGEN ve Prof.Dr.Güldal SÜYEN'in danışmanlığını yaptığı "İnhalasyonla uygulanan Salvia triloba uçucu yağının sıçanda asetilkolinesteraz inhibitörü etkinliği ve skopolamin ile indüklenmiş bellek kaybı üzerine koruyucu etkisi" başlıklı projesine 3.000,00TL destek verilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet ŞAHİN

Prof. Dr. K.B. KAN GÜNEY

Prof. Dr. Beki KAN

Prof. Dr. Güldal Süyen

Prof. Dr. Coşkun YAKİCİER

Prof. Dr. Tamer KOÇAGÖZ

Prof. Dr. Fevzi TORAMAN

Doç. Dr. İkbâl Ağah İNCE

Prof. Dr. Uğur ÖZBEK

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOMİSYONU

TOPLANTI NO : 2019/02
TOPLANTI TARİHİ : 02/04/2019
TOPLANTI SAATİ : 10:00
TOPLANTI YERİ : Rektörlük Toplantı Salonu

TOPLANTIYA KATILAN ÜYELER

Başkan	Prof. Dr. Ahmet ŞAHİN
Üye	Prof. Dr. K.R İrfan GÜNEY
Üye	Prof. Dr. Beki KAN
Üye	Prof. Dr. Güldal SÜYEN
Üye	Prof. Dr. Cengiz YAKCIER
Üye	Prof. Dr. Tanıl KOCAGÖZ
Üye	Prof. Dr. Fevzi TORAMAN
Üye	Prof. Dr. İkbâl Agah İNCE
Üye	Prof. Dr. Uğur ÖZBEK



7.3 Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler

Adı	Gülşah Beyza	Soyadı	Ertosun
Doğum yeri	Konya	Doğum tarihi	25.10.1994
Uyruğu	T.C.	Telefon	5058412288
e-mail	Beyza.4er@gmail.com		

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik	2017
Yüksek Lisans	Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı	2020

Yabancı Diller	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanım Becerisi
Microsoft Office Word	İyi
Microsoft Office Power Point	İyi
Microsoft Office Excel	İyi

Yer Aldığı Projeler:

İnhalasyonla uygulanan salvia triloba uçucu yağının in-vitro biyoaktiviteleri ve sıçanda skopolamin ile indüklenmiş bellek kaybı üzerinde koruyucu etkisi ABAPKO - proje yürütücüsü-proje tamamlandı. (Proje danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ergen ve Prof. Dr. Güldal Süyen, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı)

Yayınlar:

Ulusal ve uluslararası bilimsel toplantılarda sözlü ve poster olarak sunulan ve özet kitabında basılan poster ve bildiriler:

Gülşah Beyza Ertosun, Türkan Sarioğlu, Hande Yapışlar ‘‘ The Effect of D-Limonene-Rich Citrus Grandis Essential Oil on Proliferation of Colon Cancer Cell Line HCT116’’ Acta Physiologica (Oxford, England), Turkish Society of Physiological Sciences 45th National Physiology Congress, 31-03 November 2019, Kuşadası-Aydın (Turkey).

M.Titiz, S. Çilingir, G. B. Ertosun, D. Acar, M.Ş. Yavuz, G. Kırıkçı, G.G. Süyen,“Investigation of the influence of music on behavioral findings by valproic acid induced autism model in rats”, Acta Physiologica (Oxford, England), Turkish Society of Physiological Sciences 44th National Physiology Congress, 01-04 November 2018, Antalya (Turkey).