

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BODRUM VE MARMARA ADASI'NDA YETİŞEN *SALVIA FRUTICOSA* (SYN.
SALVIA TRILOBA) BİTKİSİNİN POLAR EKSTRELERİNİN KİMYASAL
KOMPOZİSYONU VE BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike TEKİN

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

HAZİRAN 2021

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BODRUM VE MARMARA ADASI'NDA YETİŞEN *SALVIA FRUTICOSA* (SYN.
SALVIA TRILOBA) BİTKİSİNİN POLAR EKSTRELERİNİN KİMYASAL
KOMPOZİSYONU VE BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Melike TEKİN
(195313003)**

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

HAZİRAN 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 195313003 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Melike TEKİN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “BODRUM VE MARMARA ADASI'NDA YETİŞEN *SALVIA FRUTICOSA* (SYN. *SALVIA TRILOBA*) BİTKİSİNİN POLAR EKSTRELERİNİN KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Murat KARTAL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Ufuk Kolak
İstanbul Üniversitesi

Teslim Tarihi : 02 Eylül 2021
Savunma Tarihi : 08 Temmuz 2021

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında Bodrum ve Marmara Adası'nda doğal olarak yetişen *Salvia fruticosa* (syn. *Salvia triloba*) bitkisinin polar ve apolar ekstraktlarının kimyasal kompozisyonları karşılaştırılmış ve antikolinesteraz aktiviteleri ile sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir.

Tez çalışmamın hazırlanmasında;

Değerli danışman hocam Prof. Dr. Gülaçtı Topçu'ya, yüksek lisans eğitimim boyunca ihtiyacım olan tüm konularda yanımda olduğu, benden yardımlarını esirgemediği, gerek akademik duruşu ve disiplini ile örnek oluşturduğu gerekse anne şefkatiyle yaklaştığı için teşekkürlerimi sunarım.

Sevgili Arş. Gör. Gülbahar Özge Alim Toraman'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana göstermiş olduğu yakından ilgi, sabır ve desteği için teşekkür ederim.

Değerli yol göstericim Uzm. Ecz. Meltem Kurtsan'a, hayatıma kattığı güzellikler, açtığı yeni kapılar, kazandırdığı vizyon için, beni her koşulda desteklediği, maddi ve manevi her zaman yanımda olduğu için teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük destekçim olan aileme teşekkür ederim.

Temmuz 2021

Melike TEKİN
(Kimyager)

BEYAN

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



Melike TEKİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
BEYAN.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
SEMBOLLER	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Türkiye'de Bitki Çeşitliliği.....	2
2.2 Botanik Bilgiler.....	2
2.2.1 <i>Salvia</i> L. cinsine genel bakış.....	4
2.2.2 <i>Salvia fruticosa</i> Mill. (syn. <i>Salvia triloba</i> L.)	5
2.3 <i>Salvia</i> Türlerinin Kullanım Alanları	7
2.4 <i>Salvia fruticosa</i> ile Yapılan Çalışmalar	9
2.4.1 Morfolojik çalışmalar.....	9
2.4.2 Kimyasal kompozisyon çalışmaları	10
2.4.3 Biyolojik aktivite çalışmaları	14
2.4.3.1 Antikolinesteraz aktivite	14
2.4.3.2 Antioksidan aktivite	15
2.4.3.3 Antiinflamatuvar aktivite.....	16
2.4.3.4 Antimikrobiyal, antifungal, antiviral aktivite.....	16
2.4.3.5 Nöroprotektif aktivite	19
2.4.3.6 Toksisite ve genotoksisite	19
2.4.3.7 Antikanser aktivite	20
2.4.3.8 Antidiyabetik aktivite.....	22
2.5 Sekonder Metabolitler.....	22
2.5.1 Terpenler	24
2.5.2 Fenolik bileşikler.....	24
2.6 Antikolinesterazlar	26

3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1 Bitkisel Materyaller.....	28
3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.3 Kullanılan Ekipmanlar	30
3.4 Yöntem.....	30
3.4.1 Bitki ekstralarının hazırlanışı	30
3.4.2 Bitkilerin fenolik ve flavonoid bileşenlerinin LC- MS/MS ile belirlenmesi... ..	31
3.4.2.1 Enstrümental analiz ve kromatografik koşullar	32
3.4.3 Antikolinesteraz aktivite tayin yöntemleri	33
3.4.4 Sitotoksik aktivite tayin yöntemleri	33
3.4.4.1 Hücre kültürü	33
3.4.4.2 Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi.....	34
4. BULGULAR	35
4.1 Bitkilerin Fenolik Bileşenlerinin Kompozisyonu	35
4.1.1 LC-MS/MS yönteminin geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliği sonuçları	53
4.1.2 Bitki ekstralarında en yaygın bulunan fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı ve biyolojik aktiviteleri.....	53
4.2 Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları	57
4.3 Sitotoksik Aktivite Sonuçları	58
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	61
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	72

KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolinesteraz
AcI	: Asetiltiyokolin iyodür
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
β-CB	: β -Karoten ağartma
BChE	: Butirilkolinesteraz
BuI	: Butiriltiyokolin iyodür
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
ESI-QTOF-MS	: Elektrosprey İyonlaştırma-Kuadropol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
EtOH	: Etanol
FRAP	: Demir ⁺³ iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli
GC-MS	: Gaz Kromatografi - Kütle Spektrometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC₅₀	: Bir bileşiğin % 50 inhibisyonuna neden olan konsantrasyon
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi – Kütle/Kütle Spektrometresi
LC-HRMS	: Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
LOD	: Belirleme sınırı (Limit of detection)
LOQ	: Kantitatif tayin sınırı (Limit of quantification)
MeOH	: Metanol
SFB	: Bodrum'dan toplanan <i>Salvia fruticosa</i> bitkisi
SFB-D	: <i>Salvia fruticosa</i> Bodrum dekoksasyon ekstresi
SFB-E	: <i>Salvia fruticosa</i> Bodrum etanol ekstresi
SFB-I	: <i>Salvia fruticosa</i> Bodrum infüzyon ekstresi
SFB-H	: <i>Salvia fruticosa</i> Bodrum hegzan ekstresi
SFB-M	: <i>Salvia fruticosa</i> Bodrum metanol ekstresi
SFM	: Marmara Adası'ndan toplanan <i>Salvia fruticosa</i> bitkisi
SFM-D	: <i>Salvia fruticosa</i> Marmara Adası dekoksasyon ekstresi
SFM-E	: <i>Salvia fruticosa</i> Marmara Adası etanol ekstresi
SFM-I	: <i>Salvia fruticosa</i> Marmara Adası infüzyon ekstresi
SFM-H	: <i>Salvia fruticosa</i> Marmara Adası hegzan ekstresi
SFM-M	: <i>Salvia fruticosa</i> Marmara Adası metanol ekstresi
sp	: Tür (species)
subsp	: Alttür (subspecies)
TLC	: İnce tabaka kromatografisi

SEMBOLLER

cm	: Santimetre
°C	: Santigrat derece
da	: Dekar
g	: Gram
kg	: Kilogram
kV	: Kilovolt
L	: Litre
µg	: Mikrogram
µg/mL	: Mikrogram/mililitre
µL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
mg/mL	: Miligram/mililitre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
m/z	: Kütle/yük
M	: Molar
ppm	: Milyonda bir birim

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1 : Ekstraksiyon işlemlerine ait bilgiler.	31
Tablo 3.2 : Ekstraksiyon verimleri.	31
Tablo 4.1 : SFB-I, SFB-D, SFB-E ve SFB-M ekstralarında tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/kg ekstre)	35
Tablo 4.2 : SFM-I, SFM-D, SFM-E ve SFM-M ekstralarında tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/kg ekstre)	36
Tablo 4.3 : LC-MS/MS yönteminin geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliği sonuçlarına ait çizelge.....	53
Tablo 4.4 : Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> ekstralarının antikolinesteraz aktivite sonuçları (% inhibisyon).....	57
Tablo 4.5 : Marmara Adası'ndan toplanan <i>S. fruticosa</i> ekstralarının antikolinesteraz aktivite sonuçları (% inhibisyon).....	58

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Lamiaceae ailesinde ana cinsler.....	3
Şekil 2.2	: Doğal yetiştirme ortamında <i>Salvia fruticosa</i>	4
Şekil 2.3	: <i>Salvia fruticosa</i> Mill.....	6
Şekil 2.4	: <i>S. fruticosa</i> türünün Türkiye’de yayılışı (kırmızı renkli kareler <i>S. fruticosa</i> türünün yayılışını göstermektedir).....	6
Şekil 2.5	: Sekonder metabolitlerin ekolojik ve fizyolojik işlevleri	23
Şekil 2.6	: Flavonoid yapısı.....	25
Şekil 2.7	: Asetilkolinin hidroliz reaksiyonu.....	26
Şekil 3.1	: Ellman reaksiyonu	33
Şekil 4.1	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin infüzyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı	37
Şekil 4.2	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin dekoksasyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı	39
Şekil 4.3	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin etanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı	41
Şekil 4.4	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin metanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı	43
Şekil 4.5	: Marmara Adası'ndan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin infüzyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı ...	45
Şekil 4.6	: Marmara Adası'ndan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin dekoksasyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı ...	47
Şekil 4.7	: Marmara Adası'ndan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin etanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı ...	49
Şekil 4.8	: Marmara Adası'ndan toplanan <i>S. fruticosa</i> bitkisinin metanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı ...	51
Şekil 4.9	: Rosmarinik asit ...	54
Şekil 4.10	: Şirinjik asit	54
Şekil 4.11	: Kafeik asit.....	55
Şekil 4.12	: Fumarik asit.....	55
Şekil 4.13	: Klorojenik asit	55
Şekil 4.14	: Hispidulin	56
Şekil 4.15	: Nepetin	56
Şekil 4.16	: Luteolin	57
Şekil 4.17	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> ekstrelerinin CCD-1079Sk sağlıklı deri fibroblastı hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.....	58
Şekil 4.18	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> ekstrelerinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.....	59
Şekil 4.19	: Bodrum'dan toplanan <i>S. fruticosa</i> ekstrelerinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği	59

- Şekil 4.20** : Marmara Adası’ndan toplanan *S. fruticosa* ekstrelerinin CCD-1079Sk sağlıklı deri fibroblastı hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği. 59
- Şekil 4.21** : Marmara Adası’ndan toplanan *S. fruticosa* ekstrelerinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği 60
- Şekil 4.22** : Marmara Adası’ndan toplanan *S. fruticosa* ekstrelerinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği 60



**BODRUM VE MARMARA ADASI'NDA YETİŞEN *SALVIA FRUTICOSA*
(SYN. *SALVIA TRILOBA*) BİTKİSİNİN POLAR EKSTRELERİNİN
KİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOAKTİVİTELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Lamiaceae familyasına ait *Salvia* (adaçayı) türleri kimyasal yapılarında gösterdikleri çeşitlilik nedeniyle en çok çalışılan bitkiler arasında yer almaktadır. *Salvia* cinsi, ilaç ve kozmetoloji ve gıda/gıda takviyeleri endüstrisinde kullanım alanına sahiptir. Başlıca antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antikolinesteraz, antienflamatuar ve sitotoksik aktiviteler olmak üzere çeşitli aktiviteler gösteren, dünyada 1000 civarında, Türkiye'de ise yarısı endemik 110 türle temsil edilmektedir.

Bu tez çalışmasında Bodrum ve Marmara Adası'nda doğal olarak yetişen, Anadolu adaçayı olarak adlandırılan *Salvia fruticosa* Mill. (syn. *Salvia triloba* L.) bitkileri toplanıp açık havada ve gölgede kurutulmuştur. Kurutulan bitkiler öğütülerek polar çözücüler; metanol, sulu etanol (%70) ve su (infüzyon ve dekoksasyon) ile ayrı ayrı ve mukayese amacıyla apolar hegzan çözücüsü ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur.

Elde edilen ekstrelerin fenolik ve flavonoid bileşenleri kalitatif ve kantitatif olarak LC-MS/MS ile tayin edilmiş, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzimlerine karşı antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemi ile belirlenmiş, sitotoksik etkileri CCD-1079Sk sağlıklı deri fibroblastı, MCF7 meme kanseri hücre hattı ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına karşı incelenmiştir.

Yapılan LC-MS/MS analiz sonuçlarına göre, Bodrum ve Marmara Adası'ndan toplanan bitkilerin polar [metanol, sulu etanol, su (infüzyon ve dekoksasyon)] ekstralarında en yüksek oranda bulunan fenolik bileşikler başta rosmarinik asit ve müteakiben şiranjik asit, kafeik asit, klorojenik asit, fumarik asit iken, flavonoid olarak hispidulin, nepetin, luteolin, nepetin-7-glucoside ve luteolin-7-rutinoside olmuştur.

Antikolinesteraz aktivite analizlerinden elde edilen sonuçlara göre, AChE (asetilkolinesteraz) enzimine karşı (200 µg/mL konsantrasyonda) Bodrum'dan toplanıp hazırlanan tüm *Salvia* ekstraları (% 61-69) inhibisyon gösterirken, Marmara Adası'ndan toplanıp hazırlanan *Salvia* ekstralarından hegzan ekstresi (%75.5) ve metanol ekstresi (%73.7) daha yüksek inhibisyon göstermişlerdir.

BChE (butirilkolinesteraz) enzimine karşı (200 µg/mL konsantrasyonda) Bodrum'dan toplanıp hazırlanan *Salvia* ekstralarından özellikle infüzyon ve dekoksasyon ekstraları (sırasıyla %5.8 ve %14.2) çok zayıf inhibisyon gösterirken, diğer ekstralar orta derecede inhibisyon göstermişlerdir. BChE'ye karşı Marmara Adası'ndan toplanan örneğin ise hegzan ekstresi (%68.9) ve metanol (%74.5) ekstresi yüksek bir inhibisyon gösterirken, infüzyon ve dekoksasyon ekstraları (sırasıyla %13.4 ve %10.7) zayıf inhibisyon göstermişlerdir.

Her iki lokasyondan toplanarak hazırlanan *Salvia* ekstrlerinin CCD-1079Sk (sağlıklı deri fibroblast) ve MCF-7 ve MDA-MB-231 (insan meme kanseri) hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri 31.25-1000 mg/mL aralığında 6 farklı konsantrasyonda incelenmiştir. Normal (sağlıklı) deri fibroblast hücre hatları üzerinde 125 mg/mL konsantrasyona kadar tüm ekstrlerin çok düşük sitotoksite (yok denecek kadar az) gösterdiği ve bu konsantrasyondan itibaren doza bağlı olarak gittikçe azaldığı (%70 den % 40'a düştüğü) gözlemlenmiştir.

Sonuçta, her iki lokasyondan toplanarak hazırlanan *Salvia* ekstrleri, 1000 mg/mL konsantrasyonda her iki meme kanseri hücre hattı üzerinde %70-75 oranında sitotoksik aktivite gösterirken, en düşük dozda ise tüm ekstrlerin %30-35 oranında sitotoksik olduğu izlenmiştir. *Salvia* ekstrlerinden meme kanseri hücre hatlarına karşı en sitotoksik olanlarının metanol ekstrleri ve infüzyon/dekoksiyon yöntemiyle hazırlanan ekstrler olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: BAP-20210605).

Anahtar Kelimeler: Adaçayı, Anadolu adaçayı, *Salvia triloba*, *Salvia fruticosa*

COMPARISON OF CHEMICAL COMPOSITION AND BIOACTIVITY OF POLAR EXTRACTS *SALVIA FRUTICOSA* (SYN. *SALVIA TRILOBA*) PLANT GROWING IN BODRUM AND MARMARA ISLAND

SUMMARY

Salvia (sage) species belonging to the Lamiaceae family are among the most studied plants due to their biochemical diversity which originates their different type variety in chemical structures. The genus *Salvia* is widely used in the pharmaceuticals/cosmetics and food industries, and their main biological activities include antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, anticholinesterase, anti-inflammatory, and cytotoxic activities. The genus *Salvia* is represented by about 1000 species worldwide and over 110 species, half of them being endemic in Turkey.

In this study, a medicinal plant, *Salvia fruticosa* Mill. (syn. *Salvia triloba* L.) which is called Anatolian sage, are collected from Bodrum and Marmara Island where grown wildly. Plants are dried in the open air under shade. The dried plants were grounded and extracted with polar solvents; methanol, aqueous ethanol (70%), water (infusion and decoction) separately, and apolar solvent hexane for the comparison.

The phenolic and flavonoid compounds of the prepared extracts were determined by LC-MS/MS, by qualitatively and quantitatively. Anticholinesterase activities of the extracts against acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes were determined by the Ellman method. Cytotoxic effects of the extracts against MCF7 breast cancer cell lines, MDA-MB-231 breast cancer cell lines and on the CCD-1079Sk healthy skin fibroblasts were investigated.

The LC-MS/MS analysis results of the all polar extracts showed the main phenolic compounds found in the plants are rosmarinic acid, syringic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, and fumaric acid while flavonoids are hispidulin, nepetin, luteolin, nepetin-7-glucoside, luteolin-7- rutinoside.

According to the anticholinesterase activity results, each of the plant extracts collected from Bodrum inhibited AChE (acetylcholinesterase) enzyme at 200 µg/mL concentration (61-69%) while the hexane extract (75.5%) and methanol extract (73.7%) prepared from Marmara Island collection showed higher inhibition against AChE enzyme. However, against the BChE (butyrylcholinesterase) enzyme, the *Salvia* extracts, specially infusion and decoction prepared from Bodrum plants showed very weak (5.8% and 14.2%, respectively) activity while the *Salvia* extracts prepared from Marmara Island collection, especially hexane (68.9%) and methanol (74.5%) extracts showed a higher inhibition against the BChE enzyme. However, the extracts of infusion and decoction showed a weak inhibition (13.4% and 10.7%, respectively) against BChE.

The cytotoxicity of *Salvia* extracts collected from both locations Bodrum and Marmara Island were investigated at 6 different concentrations in the range of 31.25-1000

mg/mL on healthy skin fibroblast cells (CCD-1079Sk) and two human breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231). In fact, all the extracts showed very low cytotoxicity (almost not) up to 125 mg/mL concentration, after this concentration, the percentage of the viability of the healthy skin fibroblast cell lines (CCD-1079Sk) was found to be decreased as dose-dependant (70 - 40%) manner.

As a result, *Salvia* extracts, which were prepared by collecting from both locations, showed a cytotoxic activity of 70-75% on both breast cancer cell lines at a concentration of 1000 mg/mL, while all the extracts exhibited a cytotoxicity as 30-35% at the lowest dose. It is noticeable that, among *Salvia* extracts, the most cytotoxic ones against two breast cancer lines were found to be methanol extract and followed by decoctions/infusions which are prepared in the sterilized water.

This thesis work was supported by the Bezmialem Vakif University, Scientific Research Projects Unit (Project No: BAP-20210605).

Keywords: Sage, Anatolian sage, *Salvia triloba*, *Salvia fruticosa*



1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Bitkilerle tedavi eski çağlardan beri kullanılmakta ve günümüzde de önemi oldukça artmış durumdadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin halk tarafından yoğun şekilde tüketilmesi ve çeşitli sektörlerde kullanımının artması ile bu bitkilerin kimyasal bileşenlerinin ve biyoaktivitelerinin araştırılması bilimsel ve ekonomik yönden çok önem taşır hale gelmiştir.

Salvia officinalis L., Avrupa’da *Salvia* cinsine ait en önemli tıbbi tür olarak kabul edilir. Türkiye’de ise en çok tüketilen ve ihracatı en yüksek olan *Salvia fruticosa* Mill. (syn: *Salvia triloba* L.) türüdür.

Bu tezin amacı ülkemizin önemli bir adaçayı olan, Ege ve Marmara Bölgesi’nde doğal olarak yetişen *Salvia fruticosa* türünün kimyasal yapı ve biyoaktivite yönünden karşılaştırılmasıdır. Tez çalışmasında Bodrum ve Marmara Adası’ndan toplanıp açık havada kurutulmuş *Salvia fruticosa* bitkisinin polar (metanol, sulu etanol, su) ve apolar (hegzan) ekstraktlarının kimyasal kompozisyonu araştırılarak, antikolinesteraz ve sitotoksik etkileri incelenecektir.

Tezin ana hedefi ülkemizde doğal olarak yetişen *Salvia fruticosa* türünden, katma değeri yüksek tıbbi kullanımına yönelik bir kaynak oluşturulmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Türkiye’de Bitki Çeşitliliği

Türkiye; Akdeniz, Avrupa-Sibirya, İran-Turan fitocoğrafi bölgelerinin kesişiminde yer almaktadır [1]. Ülkemiz içinde bulunduğu iklimsel-coğrafi özellikler ve ekolojik koşullar sebebiyle dünyada önemli biyoçeşitlilik merkezlerinden biridir. Türkiye üç tarafının denizlerle çevrili olması, farklı topografik ve jeolojik özelliklere sahip olması, farklı bölgelerdeki mikroklima özelliklerinden dolayı dünyanın en zengin bitki çeşitliliğine sahip ülkeleri arasında yer alır [2].

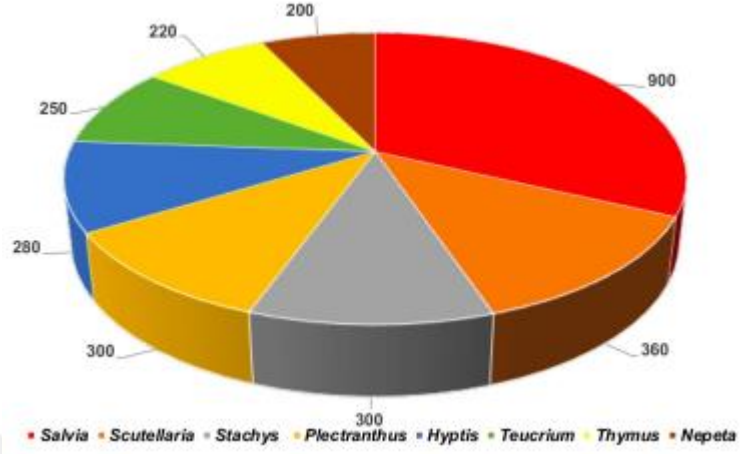
Türkiye florasında yaklaşık % 34’ü endemik olmak üzere 12.000 kadar bitki türü kaydedilmiştir. Türkiye zengin flora ve kültürel çeşitliliğin yanı sıra zengin bir etnobotanik bilgiye de sahiptir. Yakın zamanda yapılan bir araştırmaya göre 458 cins ve 114 familyadan 1280 taksonun Türk halk tıbbında gıda ve sağlık alanında kullanıldığı kaydedilmiştir [3].

Türkiye florasını inceleyen ilk eser Pierre Edmond Boissier’in 1867-1884 yıllarını kapsayan 5 ciltlik (1 ek cilt dahil) çalışması ‘Doğu Ülkeleri Florası (Flora Orientalis)’dır. Türkiye florası üzerinde yapılan en geniş kapsamlı çalışma ise Peter Hadland Davis tarafında 1965-1988 yıllarında yazılan 9 ciltlik (2 ek cilt dahil) ‘Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası (Flora of Turkey and the East Aegean Islands)’dır [1].

2.2 Botanik Bilgiler

Ballıbabagiller (Lamiaceae syn. Labiatae) familyası 24 aile, 1.059 cins ve 23.800’den fazla türden oluşan, nane takımı olarak da bilinen Lamiales takımına aittir. Lamiaceae ailesi Verbenaceae, Scrophulariaceae, Orobanchaceae, Acanthaceae, Gesneriaceae, Bignoniaceae, Oleaceae, Plantaginaceae, Pedaliaceae ve küçük etçil aileler Lentibulariaceae ve Byblidaceae ile birlikte bu takımın ana ailesidir. Yaklaşık 250 cins

ve 7.000'den fazla tür içeren en büyük çiçekli bitki ailelerinden biri olan Lamiaceae ailesinin ana cinsleri *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Plectranthus*, *Hyptis*, *Teucrium*, *Vitex*, *Thymus* ve *Nepeta*'dır (Şekil 2.1) [4].



Şekil 2.1 : Lamiaceae ailesinde ana cinsler.

Lamiaceae ailesi tıpta ve parfümeride kullanılan çeşitli uçucu yağları içermesi nedeniyle bitkiler aleminde önemli yer tutmaktadır. Uçucu yağları, yaprak epidermisinde bulunan salgı tüylerinde taşırlar [3]. Lamiaceae bitkileri monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, triterpenler, flavonoidler ile bir dizi biyolojik aktiviteye sahip diğer fenolik bileşenler bakımından zengindir [5].

Endemizm oranı %45 olan Lamiaceae ailesi Türkiye'nin en zengin 3. ailesidir. Bu aile ülkemizde 46 cins ve 758 takson ile temsil edilmektedir [3].

Salvia cinsi sekonder metabolitlerinde yüksek kimyasal çeşitlilik göstermektedir. Bu çeşitlilik ve zenginlik, bu bitkinin yeni biyoaktif metabolitler arayışında bugüne kadar en çok çalışılan bitkilerden biri olarak kalmasını sağlamıştır [4].

Salvia türlerinin arasında en önemli tür tıbbi adaçayı olarak bilinen *Salvia officinalis*'tir ancak bu tür Türkiye florasında doğal olarak yetişmemektedir; kültürü yapılmaktadır. Türkiye'de doğal olarak yetişen ve ticareti yapılan en önemli türler arasında; *Salvia fruticosa* (syn. *S. triloba*), *Salvia sclarea*, *Salvia tomentosa*, *Salvia cryptantha*, *Salvia aramisis*, *Salvia multicaulis* bulunur [6].

2.2.1 *Salvia L. cinsine genel bakış*

Adaçayı 18. yüzyılda tüccarların bir sandık adaçayı ile en iyi iki kasa çayı takas ettiği Çin'de çok popüler hale gelmiştir [7]. *Salvia* türleri tüm dünyada ılıman, subtropikal ve tropikal bölgelerde yaygın olarak dağılmıştır: Orta Amerika ile Güney Amerika'da 500'den fazla tür, Orta Asya'da ve Akdeniz'de 250'den fazla tür ve Asya'nın doğusunda 90'dan fazla türle toplamda 900'den fazla tür içermektedir. Türlerin bazıları dünyanın her yerinde yetiştirilmektedir, ancak bazıları sadece belirli yerlerde yetişmektedir (endemizm). Örneğin, *S. fruticosa* Mill. Doğu Akdeniz havzasının bir endemiği iken, *S. canariensis* L. Kanarya Adaları'nın endemik bir bitkisidir [8]. İran'da 60 *Salvia* türü bulunmaktadır ve bunlardan 17 tanesi bu bölgeye özgüdür [9].

Salvia türleri tipik olarak 30-150 cm boyunda, genelde çok yıllık, nadiren yıllık ya da iki yıllık ve çeşitli renklerde çiçekler açan otsu bitkilerdir [10].

Salvia türleri kare gövdeleri ve genellikle karşılıklı, basit, kadifemsi veya tüylü yaprak çiftleriyle kolaylıkla tanınırlar. Yaprak (pennatisekt, trisekt veya basit), kaliks (zarımsı veya kalın dokulu, üst dudağın 2 oluklu olup olmaması, konkav olup olmaması); korolla (üst dudağın oraksı, tüpsü pullu, halka şeklinde olup olmaması) ve stamen özellikleri *Salvia* cinsini ayırt etmenin en önemli yoludur [11]. *Salvia* tam güneşte iyi gelişim gösterir ve iyi drene edilmiş toprağa ihtiyaç duyar [12].



Şekil 2.2 : Doğal yetişme ortamında *Salvia fruticosa* Mill.

Salvia türlerinin uçucu yağ verimi % 0,07 ile % 6 arasında değişmektedir; uçucu yağ veriminde genetik ve çevresel faktörler oldukça etkilidir [8].

S. officinalis (tıbbi adaçayı) L. dünya çapında tıbbi, aromatik ve süs bitkisi olarak, *S. sclarea* (misk adaçayı) ise Avrupa ve Kuzey Amerika'da yetiştirilmektedir. Eski çağlardan beri Mezoamerikalılar tarafından tüketilen Chia (*S. hispanica* L.) tohumları Latin Amerika'da ve *S. miltiorrhiza* (Danshen) Çin'de özel bir öneme sahiptir [8].

Türkiye'de *Salvia* cinsi, 57'si endemik 105 taksona sahiptir [13]. Marmara Bölgesi ve Karadeniz'de 11, Ege Bölgesi ve Akdeniz Bölgesinde 31, İç Anadolu Bölgesinde 23, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde 2, Doğu Anadolu Bölgesinde 21 endemik tür bulunmaktadır [14].

S. sclarea, *S. aethiopis*, *S. ceratophylla*, *S. candidissima*, *S. pinnata*, *S. microstegia*, *S. syriaca*, *S. argentea*, *S. bracteata*, *S. viridis*, *S. verticillata* türleri coğrafi kareler göz önünde bulundurulduğunda daha fazla yayılım göstermektedir [14].

Cins için ilk altcins sınırlandırması Bentham (1833) tarafından yapılmıştır. Flora Orientalis'te Boissier (1875), Bentham'ın sınıflandırmasını benimsemiş ve Türk *Salvia* türlerini, *Salvia* (syn. Eusphace), Aethiopis, Drymosphace, Hemisphace, Hymenosphace, Horminum, Plethiosphace olmak üzere yedi bölüme ayırmıştır [15].

Türkiye florasında *Salvia* türleri böcekler aracılığıyla tozlaşır ve *S. viridis* hariç hepsi çok yıllıktır [16].

Türkiye'de yetişen *Salvia* türleri 1965 yılından bu yana kimyasal olarak ve sonraki yıllarda biyolojik aktiviteleri açısından incelenmekte olup, Anadolu'daki *Salvia* türlerinin çoğu Ayhan Ulubelen ve doktora öğrencisi Gülaçtı Topçu tarafından özellikle kimyasal bileşenler açısından incelenmiştir [7].

2.2.2 *Salvia fruticosa* Mill. (syn. *Salvia triloba* L.)

Anadolu'da Anadolu adaçayı, almiya çalbası, elma otu, elma çalbası, elma çalısı, boz şalba gibi isimlerle bilinen *Salvia triloba* L., *Salvia* cinsinin ekonomik açıdan en değerli türlerinden biri olarak kabul edilir. Dünyada Akdeniz yabani adaçayı ve Grek adaçayı da denilen türün doğal yayılım alanı Batı ve Güney Anadolu dahil Akdeniz Bölgesi ve Yunanistan'dır. Bitkinin yaprakları su buharı ile damıtılarak rengi açık sarı uçucu yağ elde edilir. Bu yağ Latince'de Oleum Salviae trilobae olarak isimlendirilir.

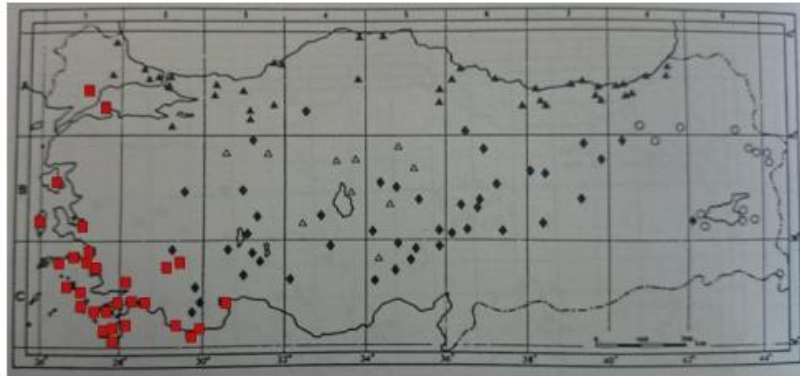
Bazı bitki dallarında 2-3 cm çapında elmaya benzeyen mazılar bulunması sebebiyle bu yağa elma yağı denilmektedir [17].



Şekil 2.3 : *Salvia fruticosa* Mill.

Salvia fruticosa Miller, genellikle Yunan veya Akdeniz adaçayı olarak bilinen, Yunanistan'ın kıyı bölgelerinde ve İyonya ile Ege adalarında görülen, Doğu Akdeniz havzasının endemik bir türüdür. Yaygın Yunanca adı "faskomilo" veya "alisfakia"dır ve uluslararası ticarete adaçayı olarak bilinir [18].

Türkiye’de kuzeybatıdan güneybatı sahillerine kadar (Tekirdağ, Aydın, Balıkesir, İzmir, Denizli, Muğla, Antalya) yayılım göstermektedir. Türkiye’de bu türün yayılımını gösteren harita Şekil 2.4’te görülmektedir [19].



Şekil 2.4 : *S. fruticosa* türünün Türkiye’de yayılımı (kırmızı renkli kareler *Salvia fruticosa* türünün yayılımını göstermektedir).

Salvia fruticosa bitkisinin taksonomideki yeri;

Alem (Kingdom): Plantae (Bitkiler dünyası)

Şube (Division): Angiospermae (Çiçekli bitkiler)

Sınıf (Class): Magnoliopsida (syn. Dicotyledoneae) (Çift çenekli bitkiler)

Altsınıf (Subclass): Asteridae

Takım (Order): Lamiales

Aile (Family): Lamiaceae (syn. Labiatae) (Ballıbabagiller)

Cins (Genus): *Salvia* Linn. (Adaçayı)

Tür (Species): *Salvia triloba* L. (Anadolu adaçayı) [19]

Halk hekimliğinde bitkinin toprak üstü kısımları ağız ve boğazda soğuk algınlığı semptomlarına karşı antiflojistik olarak, öksürükte, karın ağrılarında bitki çayları şeklinde kullanılır [18].

Güneybatı Anadolu'nun Marmaris ilçesindeki 35 familyaya ait 64 tıbbi bitkinin geleneksel kullanımının rapor edildiği bir çalışmada *S. triloba*'nın, çalışma alanında yaygın olarak soğuk algınlığı, mide ağrısı, ateş düşürücü, gaz, laksatif etki, bademcik iltihabı için yapraklarının infüzyon yoluyla kullanıldığı bildirilmiştir. Literatür araştırmalarında bildirilen; soğuk algınlığı, öksürük, baş ağrısı, mide ağrısı, gaz, kabızlık, idrar söktürücü, sindirim, prostatit, ülser, iştah açıcı, yaşlanmayı önleme, kısırlık, uçuk, yanık, yara, iltihap önleyici, antiseptik, solunum hastalıkları, karaciğer hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, cilt hastalıkları, kas-iskelet hastalıkları, sinir hastalıkları üzerindeki etkileri ile uyum sağladığı bildirilmiştir [20].

Araştırmalar, *S. triloba* ekstrelerinin ve uçucu yağının antioksidan, antienflamatuvar, antiamnezik ve antifungal aktivite sunduğunu göstermiştir. Gıda kontaminantlarına karşı antibakteriyel aktivite ve toprak kaynaklı patojenlere karşı antifungal aktivite göstermektedir. Bu biyolojik özellikleri nedeniyle ilaç, gıda ve tarım endüstrisindeki uygulamaları umut vericidir [21].

2.3 *Salvia* Türlerinin Kullanım Alanları

Latince “Salveo” dan türetilen “*Salvia*”, “save” (kurtarmak) ya da “recover” (iyileştirmek) anlamına gelir [22]. *Salvia* türleri, eski çağlardan beri halk tarafından birçok hastalığı tedavi etmede kullanılan biyolojik aktiviteye sahip türlerdir. Grip

şikayetleri, boğaz ağrısı, soğuk algınlığı, gece terlemesi ve tüberkülozda, ter basmaları gibi menopoza şikayetlerinde ve Çin'de "anjina pectoris" ve "miyokardiyal enfarktüs" gibi bazı kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bitki, bazı ülkelerde baharat olarak tüketilmektedir [3]. Antiseptik, uyarıcı, idrar söktürücü ve yara iyileştirici özelliklerinden dolayı bitkisel çay olarak kullanıldığı da bilinmektedir [22]. Antihidrotiktir; çay olarak tüketildiğinde terlemeyi azaltır. Deniz tuzu ile karıştırılıp pişirilerek diş tozu (leke çıkarıcı) olarak kullanımı bulunmaktadır. Astrenjan özelliğinden dolayı geniş gözeneklere kompres veya infüzyon yoluyla uygulanabilir. Ağız kenarındaki uçuklarda adaçayı kremi kullanılabilir. Yüz, boyun, el ve kollarındaki siğillerde ezilmiş taze adaçayı yapraklarının yerel kullanımı vardır. Adaçayı merhemle ovma kas-eklem ağrıları ve siyatik için faydalıdır. Saç rengini koyulaştırmak için infüzyonu saçlara uygulanabilir. Böcek ısırıklarına adaçayı ile hafifçe dokunmak acı ve kaşıntıyı giderir. Emziren annelerin süt gelişini durdurmak için adaçayı kullandıkları bildirilmiştir [23].

Birçok *Salvia* türü uçucu yağlar, farmasötikler, renklendiriciler, boyalar ve biyositler gibi özel malzemelerin üretiminde kullanılan ikincil metabolitleri için yetiştirilmektedirler [8]. Bu cinsin bazı üyeleri aroma verici maddeler olarak parfümeri ve kozmetikte kullanıldıkları için ekonomik öneme sahiptir. Örneğin, misk adaçayı (*S. sclarea*) uçucu yağı tatlandırıcı görevi gördüğünden dolayı ticari olarak yetiştirilmektedir. Çayır adaçayı (*S. pratensis*) kozmetikte kullanılır ve bazı tıbbi özellikleri vardır. Bazı *Salvia* türleri ise dünya çapında mutfaklarda kullanımı amacıyla yetiştirilmektedir [24].

Ekonomik açıdan en önemli *Salvia* türleri *S. officinalis*, *S. tomentosa* Miller, *S. triloba* (Anadolu adaçayı), *S. lavandulifolia* Vahl (İspanyol adaçayı), *S. sclarea* L. (misk adaçayı), *S. verbenaca* L.'dir. Bunların arasında *S. officinalis*, *S. sclarea* ve *S. lavandulifolia* yıllık tahmini üretim hacmi 50 ila 100 ton arasında değişen miktarlarda uçucu yağ üretimi ile küresel uçucu yağ pazarında işlem görmektedir [8].

Genel olarak *Salvia* cinslerine ait türlerde antibakteriyel [25], sitotoksik [26], antioksidan, antikolinesteraz [27, 28], antitüberküloz [29], antienflamatuvar [30], antihipertansif [31], hepatoprotektif [32], kardiyovasküler [33] aktiviteler gözlenmektedir. Menstrual bozuklukların tedavisinde yararlanılmaktadır [34]. Diüretik, antipiretik, antiseptik, yara iyileştirici, yatıştırıcı özellikleri ve hafıza

geliştirici nitelikleri ile bilinen *Salvia* türleri antik çağlardan beri çay ve gıda maddesi olarak tüketilmektedir [32].

Prof. Dr. Turhan Baytop, tedavide kullanılan ve Türkiye’de yetişen bazı *Salvia* türlerini etki ve kullanılış açısından incelemiştir; *S. officinalis* burun-boğaz hastalıklarında antiseptik, gaz söktürücü, uyarıcı, kuvvet verici; *S. triloba* midevi, ter önleyici, gaz söktürücü, idrar arttırıcı; *S. aethiopis* uyarıcı ve midevi; *S. dichroantha* çıban ve yara tedavisi; *S. multicaulis* ve *S. virgata* yara iyi edici; *S. sclarea* ve *S. viridis* kabız, midevi, yatıştırıcı, terlemeyi azaltıcı; *S. verbenaca* göz hastalıklarına karşı etkilerini bildirmiştir [35].

S. miltiorrhiza kapsülleri, koroner kalp hastalığını tedavi etmek için Çin’de kullanılan en popüler tıbbi üründür [8].

Eski çağlardan beri Antik Mısırlılar, Romalılar, Yunanlılar ve Anglosaksonlar tarafından adaçayı iyileştirici özelliklere sahip önemli bir bitki olarak kabul edilmiştir. Geleneksel tıpta gaz giderici, spazmolitik, büzücü, antiseptik, yara iyileştirici olarak, gargara olarak ağız, dil ve boğaz iltihabında, cilt ve saç bakımında, zihinsel ve sinirsel durumların tedavisinde, romatizmada ve cinsel güçsüzlükte kullanılmıştır [8].

Dünyanın farklı bölgelerinde yetişen adaçaylarını halk hekimliğindeki kullanımlarına göre sınıflandıran bir çalışmaya göre; Doğu Akdeniz bölgesi, Ürdün, Lübnan’da *S. fruticosa*’nın kanamalar, bağırsak hastalıkları ve ağrıları, şeker hastalığı, hipoglisemi, gastralji (mide ağrısı), bağırsak gazı ve iltihaplanma, kabızlık, hepatit, nefropati, romatizma, artrit, antihipertansiyon, hafıza uyarıcı, spazmolitik, balgam söktürücü, öksürük, grip tedavilerinde kullanıldığını; Kıbrıs ve Türkiye’de *S. triloba*’nın mide rahatsızlıkları, ishal, grip, kas-iskelet sistemi, duyu sistemi, beslenme ve üreme sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığını bildirmiştir [36].

Rahim kaslarını uyardığı için hamilelikte kullanımı önerilmez. Bazı *Salvia* türleri thujon içeriğinden dolayı yüksek dozlarda toksiktir [23].

2.4 *Salvia fruticosa* ile Yapılan Çalışmalar

2.4.1 Morfolojik çalışmalar

2017 yılında Muğla’da 30 farklı lokasyondan toplanan *Salvia fruticosa* popülasyonlarının morfolojik özellikleri ile uçucu yağ oranının belirlendiği çalışmada

ortalama değerler; dal sayısı 4.4 - 21.1 adet, bitki boyu 31 - 109.1 cm, yaprak boyu 2.11- 6.99 cm, yaprak eni 0.86 -3.07 cm, yaprak sayısı 10.2 - 27.2 adet, gövde çapı 0.26 – 2.33 cm, drog herba verimi 8.47 - 22.2 g bitki⁻¹, drog yaprak verimi 4.37 - 16.17 g bitki⁻¹, yeşil herba verimi 14.3 - 133.3 g bitki⁻¹, yaprak uçucu yağ oranı %0.43 - 3.85, sap uçucu yağ oranı %0.01 - 0.35 olarak bildirilmiştir [37].

Tekirdağ'da 10 adet *Salvia fruticosa* popölasyonunun verim ile kalite özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, ilk yıl kuru yaprak veriminin 439.86– 691.62 kg/da ve uçucu yağ oranının %3.26–4.34; 2. yıl 507.74–986.70 kg/da ve %2.53–3.88 olduğu bildirilmiştir. 1.8-sineol, kafur ve β-karyofilen uçucu yağın ana bileşenleri olarak belirlenmiştir [38].

2.4.2 Kimyasal kompozisyon alışmaları

Libya'da toplanan *S. fruticosa* ve *S. lanigera* bitkilerinin diklorometan, etil asetat, etanol, metanol ve su ekstrelerinin kimyasal bileşimi incelenmiştir. En yüksek fenolik içeriğe her iki bitkinin diklorometan ekstresinin sahip olduğu görölmüştür (*S. fruticosa* 164.71 mg GAE/g ve *S. lanigera* 67.39 mg GAE/g). *S. fruticosa*'nın diklorometan ekstresi ve *S. lanigera*'nın etil asetat ekstresinin en yüksek flavonoid miktarına (sırasıyla 38.38 mg QE/g ve 51.59 mg QE/g) sahip olduğu bildirilmiştir [39].

Yunanistan'dan toplanan *S. fruticosa*'nın toprak üstü kısımlarının metanol ekstresi HPLC–ESI-QTOF-MS ile analiz edilmiş ve major fenolik bileşenleri karnosol ve karnozik asit olarak bulunmuştur. Bunların dışında 3 kafeik asit türevi (kafeik asit, sagerinik asit ve rosmarinik asit), 3 flavonoid glikozid (luteolin-O-glukuronid, luteolin-O-glukozit ve apigenin-O-glucuronide), 6 flavonoid aglikon (apigenin, cirsimaritin, hispidulin, nepetin, genkwanin, luteolin), 7 abietan diterpen (üç rosmanol izomeri, rosmadial, karnosol, karnozik asit ve 12-O-metilkarnosik asit), oleanolik / ursolik asit ve stearik asit tespit edilmiştir [40].

Salvia fruticosa'nın metanol ekstresinin yeniden ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan ve diklorometan ekstrelerinin 7 diterpenoid (karnozol, karnozik asit, karnozik asit 12-metil eter, izorosmanol, rosmadial, manool, ferruginol), 4 triterpenoid (a-amyriltetracosanoate, oleanolic asit, ursolic asit, eritrodiol), 1 steroid (3-asetilsitosterol) ve 1 flavonoid (salvigenin) içerdiği bulunmuştur [32].

Doğada yetişen ve kültürü yapılan *S. fruticosa* sulu metanol (%80) ekstresinde yedi fenolik asit (vanillic, gallic, chlorogenic, caffeic, ferulic, rosmarinic, p-coumaric) ve on flavonoidden (myricetin, rutin, morin, quercetin, kaempferol, hesperetin, luteolin, apigenin, catechins) oluşan on yedi farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Chlorogenic, caffeic, ferulic, rosmarinic asitlerin ikinci hasat yılında azaldığı ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, kültür bitkilerinin genellikle yabani örneklerinkinden daha yüksek fenolik asit içeriklerine sahip oldukları tespit edilmiştir [41].

Polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan siklodekstrinler organik çözücülerin yerini alma olasılıkları ile “yeşil çözücüler” olarak kabul edilirler. Yunanistan’da yürütülen bir çalışmada üç farklı siklodekstrinin [metil- β -siklodekstrin (m- β -CD), hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) ve β -siklodekstrin (β -CD)] yardımıyla *S. fruticosa*’nın toprak üstü kısımlarından biyoaktif polifenollerin sulu ekstraksiyonu ayrıntılı olarak incelenmiştir. M- β -CD’nin en verimli ekstraksiyon güçlendirici olduğu kanıtlanmıştır ve önemli polifenol verimi sağladığı gösterilmiştir. Luteolin 7-O-glukuronid ve rosmarinik asidin baskın polifenoller olduğu ve m- β -CD’in luteolin 7-O-glukuronid için, β -CD’in rosmarinik asit için daha yüksek afinite sergilediği bildirilmiştir. Kinetik deney, ekstraksiyonun 80 ° C’de oldukça etkili olduğunu, polifenol verimini ve ekstrelerin ferrik indirgeme gücü ve antiradikal aktivitesini artırdığını göstermiştir. Ayrıca m- β -CD ile ekstraksiyonun en az enerji gerektiren işlem olduğu da kanıtlanmıştır [42].

Vitis vinifera L. ve *Salvia triloba* L. yaprak ekstrelerinin kimyasal profilleri, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri incelenmiştir. Ultrasound destekli ekstraksiyonda (UAE) sulu metanolün, basınçlı sıvı ekstraksiyonda (PLE) sade suyun hidrogliserolik karışımlardan daha verimli bir çözücü olduğu belirtilmiştir. *Salvia* ekstrelerinin, *Vitis* ekstrelerine kıyasla daha yüksek toplam fenolik ve flavonoid içerdiği gösterilmiş ve bunun yanında daha yüksek antiradikal ve antioksidan aktiviteler sergilediği bildirilmiştir [43].

Bitki gelişimi ve uçucu yağ bileşimini takip etmek için *S. fruticosa* bitkisi Antalya Kalkan’da, 4 hafta aralıklarla toplanmıştır. Çiçekli üst kısımları ve yapraklarından elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri oksijen içeren monoterpen 1,8-cineole (eucalyptol) olarak bulunmuştur. Bitkinin 1,8-cineole içeriğinde mevsimsel bir değişiklik kaydedilmiş; maksimum değere Temmuz ayında ulaşılmıştır. Uçucu yağın diğer önemli bileşeni kafur olarak bulunmuştur. Ağustos ayında 1,8-cineole ve kafur

içeriğinin azaldığı görülmüştür. Mart ayında (adaçayı tam çiçek açarken) toplanan çiçeklerin uçucu yağının, yapraklarınkinden daha az miktarlarda 1,8-cineole ve kafur içerdiği, ancak çok daha yüksek beta pinen içerdiği saptanmıştır. *Salvia fruticosa* en yüksek yağ içeriğine Ağustos ayında (14,3 mL / 100 g kurutulmuş yaprak) ulaşmıştır [44].

Çeşitli organik gübre uygulamalarının *S. fruticosa*'dan elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada tavuk, koyun ve sığır gübresi kullanılmıştır. Organik gübre uygulamaları sonucu uçucu yağ veriminde artış olduğu ve en yüksek değerlerin tavuk gübresi + koyun gübresi (% 2,9) uygulamaları ile bulunduğu ortaya koyulmuştur. Uçucu yağdaki ana bileşen 1,8-cineole değerleri, organik gübre uygulaması ile % 44,0 ile % 50,7 arasında değişirken, en yüksek değerler tavuk gübresi + koyun gübresinde (% 50,7) bulunmuştur. Sonuç olarak, Anadolu Adaçayı uçucu yağ içeriğinin organik gübre uygulamaları ile arttığı ve bitki büyümesine olumlu etki yaptığı görülmüştür [45].

Ağustos'ta Muğla-Torba (LI-GI), Mayıs'ta Muğla-Marmaris (LII-GII) ve Eylül'de Tekirdağ-Gaziköy'den (LIII-GIII) toplanan *S. fruticosa*'nın yaprak ve gal oluşumlarının uçucu yağlarının karşılaştırmalı olarak ilk kez rapor edildiği çalışmada, hidrodistilasyon (HD) ve mikro buhar damıtma-katı faz mikroekstraksiyon (MSD-SPME) yöntemleri de karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda baskın ana bileşenler 1,8-sineol ve kafur olarak bulunurken, yaprak uçucu yağında oksijenli monotерpenler (% 62.4-69.3) yüksek oranda bulunmuş; gal uçucu yağında ise yüksek oranda oksijenli seskiterpenler (% 25.6) ve diterpenlerin (% 17.3) bulunduğu gösterilmiştir. 1,8-sineol oranı en yüksek L(II)-HD (% 47.1), en düşük G(I)-HD (% 1.7); kafur oranı en yüksek L(I)-MSD-SPME (% 26.2), en düşük G(I)-HD (% 3.2) olarak bildirilmiştir. Uçucu yağdaki ana bileşen miktarlarının bölgeye, uçucu yağ elde etme yöntemlerine ve bitkinin kısımlarına göre farklılık gösterdiği sonucuna varılmıştır [46].

S. fruticosa yapraklarının süper kritik sıvı ekstraksiyonu (SFE) ve hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağı karşılaştırılmıştır. SFE ile daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiş ve daha ağır ancak daha fazla biyoaktif bileşik ekstre edilmiştir. SFE ekstresinde β -thujone bulunmazken, hidrodistilasyon yönteminde % 0.4 bulunmuştur. 1,8-cineole ve camphor oranı hidrodistilasyonda sırasıyla % 31.7 ve 14.4; SFE'de % 32.4 ve 18.1'dir. Diterpen manool oranı hidrodistilasyonda % 2.5, SFE'de % 19.8'e çıkmıştır [47].

Libya’da 2013 yılının Nisan, Mayıs, Haziran, Eylül ve Ekim aylarında, 4 farklı bölgeden toplanan *S. fruticosa* toprak üstü kısımlarının uçucu yağları 2 ekstraksiyon tekniği kullanılarak elde edilmiştir: Solventsiz Mikrodalga Ekstraksiyonu (SFME) ve geleneksel hidrodistilasyon. Ana bileşikler okaliptol (% 18.3-83.7), trans-anetol (% 0.00-61.7), β -karyofilen (% 0.00-38) ve kafur (% 0.00-16.7) olarak bulunmuştur. Hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağda yüksek miktarda α -pinen ve β -pinen, SFME yönteminde ise daha yüksek miktarda α -terpineol, β -karyofilen, aromadendren ve α -humulen değerleri gözlenmiştir. Yaz hasadı daha yüksek toksisite (konvülsiyon özellikler) sergileyen kafur ve kamfen bakımından zengin bir yağ sağlamıştır. Sonuç olarak kurutma yöntemlerinin, mevsimsel ve coğrafi varyasyonların, ekstraksiyon tekniklerinin *S. fruticosa*’nın uçucu yağ verimini ve kimyasal bileşimini etkilediği bildirilmiştir. Çalışmada ilk defa, trans-anetol ayırt edilebilir kemotip olarak gösterilmiştir [48].

İtalya’da toplanan dört *Salvia* türünün (*S. clandestina*, *S. fruticosa*, *S. officinalis*, *S. sclarea*) toprak üstü kısımlarının uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır. *S. clandestina* hidrodistilasyonundan uçucu yağ elde edilememiştir. *S. sclarea* uçucu yağı seskiterpenler (% 56.95), özellikle germacren D (% 35.73) ve oksijenli seskiterpenler (% 20.48); *S. fruticosa* ve *S. officinalis*, sırasıyla % 38.61 ve % 45.23 oksijenli monoterpenler ve % 34.96 ve % 37.45 seskiterpenler ile karakterize edilmiştir. Bitkilerin su ekstrelerinin fenolik kompozisyonları araştırılmış *S. clandestina*’da 29, *S. fruticosa*’da 20, *S. officinalis*’te 16 ve *S. sclarea* ’da 21 bileşik tanımlanmıştır. Beş gruba ait olduğu belirlenen bileşikler; hidroksibenzoik asit türevleri, hidroksibenzaldehit, hidroksisinnamik asit türevleri, flavonoidler ve organik asitler olarak belirlenmiştir [49].

İzmir’de yetiştirilen bazı adaçayı türlerinin (*S. fruticosa*, *S. officinalis*, *S. sclarea*, hibrid (*S. fruticosa* x *S. officinalis*) ve *S. dichroantha* L.) yaprak ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ bileşimleri incelenmiştir. Uçucu yağlardaki bileşen sayısı sırasıyla 22, 16, 14, 20 ve 16 olarak tespit edilmiştir. *S. fruticosa*’nın yaygın bileşeni 1,8-cineole (%57.18), *S. officinalis*’in β -thujone (%34.59), *S. sclarea*’nın linalyl acetate (%46.77), hibrid *Salvia*’nın 1,8-cineole (%21.42) ve β -thujone (%18.37) ve *S. dichroantha*’nın β -caryophyllene (% 23.11) ve sabinyl asetat (21.87) olarak bildirilmiştir [50].

Türkiye'de yetişen on iki *Salvia* türünün tohumdan elde edilen yağlarının yağ asidi bileşenlerinin incelendiği bir çalışmada, *S. fruticosa*'nın yağ verimi %11, ana bileşen linoleik asit oranı %47,6 bulunmuştur [51].

Antalya'dan toplanan *Salvia fruticosa*, *Salvia tomentosa*, *Stachys cretica* subsp. *anatolica* ve *Stachys aleurites* tohumlarının yağ asitleri ve tokoferol bileşimleri araştırılmıştır. Yağ içerikleri *S. fruticosa* (%12.20), *S. tomentosa* (%13.59), *S. aleurites* (%17.22), *S. cretica* subsp. *anatolica* (%15.83) olarak tespit edilmiştir. γ -tokoferol, *S. fruticosa* (620.5 mg/kg) ve *S. tomentosa* (834.9 mg/kg) tohumlarının yağlarında bol miktarda; α -tokoferol *S. fruticosa*'da 23.05 mg/kg ve *S. tomentosa*'da 22.85 mg/kg tespit edilmiştir [52].

Yunanistan'da *S. fruticosa*'nın yaprakları ve çiçeklerinin infüzyonu üzerinde yapılan elemental analizde 18 element tespit edilmiştir: Ba, Bi, V, Cr, Cu, Co, Se, Sr, Ni, Mn, Sn, Sb, Pb, Cd, As, Fe, Mg and Zn [53].

2.4.3 Biyolojik aktivite çalışmaları

2.4.3.1 Antikolinesteraz aktivite

S. fruticosa'nın gal adı verilen oluşumlarının (elma) hegzan ekstresi, özellikle butirilkolinesteraza (BChE) karşı oldukça güçlü inhibisyon ($82.89 \pm 2.29/100 \mu\text{g/mL}$) gösterirken; bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen, esas olarak 1,8-cineole'den (% 58.89) oluşan uçucu yağın asetilkolinesteraza (AChE) karşı daha iyi inhibisyon ($73.52 \pm 0.65/100 \mu\text{g/mL}$) sergilediği görülmüştür. Metanol ekstresinin en yüksek antioksidan ve antikolinesteraz aktivite sergilediği bildirilmiştir [32].

Türkiye'de yapılan bir çalışmada 55 *Salvia* taksonundan hazırlanan diklorometan, etil asetat ve metanol ekstraktları antikolinesteraz etki açısından incelenmiştir. 165 *Salvia* ekstresi arasında sadece *S. fruticosa*'nın diklorometan ekstresinin, AChE'a karşı $100 \mu\text{g/mL}$ 'de % 51.07 inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir [28].

S. fruticosa'nın uçucu yağ bileşenlerinin BChE'nin inhibisyonuna katkıda bulunup bulunmadığının in vitro incelendiği bir çalışmada, bitkinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın zamana bağlı BChE inhibisyonu gösterdiği bulunmuştur. IC_{50} değerlerinin 5 dakika inkübasyon süresinden sonra $0,15 \text{ mg/mL}$ 'den $0,035 \text{ mg/mL}$ ve 90 dakikalık inkübasyon süresinden sonra $0,14 \pm 0,007 \text{ mg/mL}$ 'den $0,06 \text{ mg/mL}$ 'ye

düştüğü bildirilmiştir. Bu etkinin ekstrelerdeki belirli minör ve majör bileşenler arasındaki sinerji ve antagonizm tarafından açıklanabileceği bildirilmiştir [54].

2.4.3.2 Antioksidan aktivite

Libya’da toplanan *S. fruticosa*’nın diklorometan, etil asetat, metanol, etanol ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesi ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit diamonyum tuzu), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (ferrik iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli) ve β -CB (β -karoten ağartma) yöntemleri ile analiz edilmiş; FRAP testinde su ve etanol ekstreleri (sırasıyla 1191.51 $\mu\text{mol Fe (II)/g}$ ve 834.10 $\mu\text{mol Fe (II)/g}$) en güçlü antioksidan aktivite göstermiştir [39].

Salvia triloba (adaçayı), *Tilia argentea* (ıhlamur) ve ticari adı Rize çayı olan siyah Türk çayı ile genç sürgün çayı (*Camellia sinensis*) su ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, çay örnekleri en yüksek antioksidan aktivitesi göstermiş, onu ıhlamur izlemiş ve adaçayı en düşük antioksidan aktivitesi göstermiştir. Antioksidan aktivitesinin aksine, *S. triloba* en yüksek indirgeme gücü aktivitesi göstermiştir. İndirgeme kapasitesi bir bileşiğin potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli göstergesi olsa da, bu iki aktivite arasında her zaman doğrusal bir korelasyon olmayabileceği bildirilmiştir [55].

Adaçayı (*Salvia fruticosa*), kekik (*Oregano vulgare* L. ssp. *Hirtum*) ve sater (*Satureja hortensis*) bitkilerinin etanol ve aseton ekstrelerinin antioksidan aktivite açısından incelendiği ve toplam fenolik içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada, üç bitkiden elde edilen etanol ekstrelerinin serbest radikalleri temizleme konusunda yüksek kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir. Tüm bitkilerin etanol ekstrelerinin ana bileşeni rosmarinik asit olarak bulunmuştur. Ekstrelerin çoğunda flavon luteolin ve apigenin ve flavonol kersetin varlığı doğrulanmıştır [56].

Yunanistan’da yapılan çalışmada *S. fruticosa*’nın uçucu yağ ve fenolik kompozisyonu ile antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Adaçayı yağında antioksidan aktivite, oksijenli seskiterpen ve diterpen oranları ile ilişkilendirilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri 1,8-sineol (% 46-58.9), α -terpineol (% 2.8-4.3), viridiflorol (% 2.1-7), kafur (% 0.7-5.8), β -karyofilen (% 1-5.1), β -pinen (% 2-5), β -mirsen (% 3.2-4.6) ve α -pinen (% 3.2-4.0) olarak bulunmuştur. Metanol ekstresinde en yüksek flavonoid (kuersetin ve luteolin) konsantrasyonu çiçeklenme aşamasında gözlenirken; yüksek fenolik asit (rosmarinik

asit ve kafeik asit) içeriği antioksidan aktivitenin yüksek olduğu meyve verme aşamasında tespit edilmiştir [57].

Origanum onites, *O. onites* ile *Salvia fruticosa*, *S. officinalis* bitkilerinin metanol ekstraktlarının antioksidan etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmada *S. fruticosa*'nın *S. officinalis*'ten daha yüksek karnosik asit ve metil karnosat içeriğine sahip olduğu, ayrıca daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Adaçayı örneklerinin antioksidan aktivitelerinin kekik örneklerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur [58].

Salvia triloba ve *Rosmarinus officinalis* uçucu yağları ile doldurulmuş lipozomlar geliştirilerek bunların antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Uçucu yağların ana bileşenleri okaliptol (sırasıyla % 47 ve % 49) ve kafur (sırasıyla % 11 ve % 12) olarak bulunmuştur. Lipozomların 4 °C'de saklandığında bir ay boyunca stabil kaldığı, lipozomlara doldurulan uçucu yağların doldurulmayanlara oranla beş kat daha düşük bir konsantrasyonda aynı antioksidan aktiviteyi sergilediği, *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı aktif ve formüle edilmemiş uçucu yağlardan daha etkili olduğu bildirilmiştir [59].

2.4.3.3 Antienflamatuvar aktivite

Salvia triloba'nın toprak üstü kısımlarının kloroform, etanol, bütanol ve su ekstraktlarının akut ve kronik antienflamatuvar aktivitesinin analiz edildiği bir çalışmada kloroform ekstresinin, büyük olasılıkla metillenmiş flavonoidler ve triterpenlerin varlığına bağlı olarak, hem akut hem de kronik modellerde en yüksek antienflamatuvar aktivite sergilediği bildirilmiştir [60].

Beyrut'tan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin hem toprak üstü kısımlarının hem de köklerinin metanol ekstraktlarının 4 saatte, carrageenan'le oluşturulmuş pençe ödemeine karşı sırasıyla % 50 ve % 44 oranında yüksek antienflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur [61].

2.4.3.4 Antimikrobiyal, antifungal ve antiviral aktivite

Güney Brezilya'da yürütülen bir çalışmada *S. officinalis* ile *S. fruticosa* bitkilerinin uçucu yağları GC-MS ile analiz edilmiş; *S. officinalis* uçucu yağında ana bileşenler 1,8-cineole (%14.8), α -thujone (%24.8), borneol (%11.1), camphor (%10.9), β -pinene (%9.87); *S. fruticosa*'da ana bileşenler camphor (%12.6), 1,8-cineole (%15.7), α -

thujone (%20.1) ve β -caryophyllene (%11.8) olarak bulunmuştur. Her iki türden elde edilen uçucu yağın *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella oxytoca* ve *Aeromonas sobria*'ya karşı önemli ölçüde bakteriyostatik ve bakterisidal aktivite sergilediği görülmüştür. Ayrıca, *S. fruticosa* uçucu yağının *A. hydrophila* ve *S. aureus*'un büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir [62].

Lavanta (*Lavandula angustifolia*), kakule (*Elettaria cardamomum*) ve adaçayı (*Salvia fruticosa*) uçucu yağlarının farklı kombinasyonlarıyla formüle edilmiş gargaraların *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhii*'ye karşı antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada 3 bitki yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemiş; *S. fruticosa* tek başına *B. cereus* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir [63].

Libya'dan toplanan *S. fruticosa* ve *S. lanigera* bitkilerinin etanol ve su ekstralarının mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak 6 Gram negatif (*E.coli*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *P. tolasii*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*) ve 5 Gram pozitif (*S. aureus*, *B. cereus*, *M. flavus*, *S. lutea*, *L. monocytogenes*) ile 7 mantara (*C. krusei*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *A. glaucus*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *T. Mentagrophytes*) karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivite açısından incelenmiştir. Ekstrelerin tümünün bakteriyel büyümeyi inhibe ettiği ve MIC (minimal inhibitör konsantrasyonu) değerlerinin 10 ila 50 mg/mL arasında değiştiği; etanol ekstresinin su ekstresine göre daha güçlü aktivite (MIC 10-35 mg/mL) gösterdiği tespit edilmiştir. *S. fruticosa* ekstralarının uygulanan konsantrasyonlarda fungistatik ve fungisidal etkileri *Candida* türlerinde gözlenmemiştir. *Salvia lanigera* etanol ekstresi, analiz edilen tüm *Candida* türlerinin büyümesini inhibe etmiştir (MIC 16 - 64 mg/mL). *Aspergillus glaucus*, özellikle *S. fruticosa*'nın su ve *S. lanigera*'nın etanol ekstralarına (MIC/MFC 8 ila 64 mg/mL) duyarlı olan tek *Aspergillus* türüdür. Her iki türün su ekstresi, *T. mentagrophytes* üzerinde en belirgin etkiyi göstermiştir (MIC/MFC, 8 mg/mL ila 32 mg/mL) [39].

Geleneksel tıpta dermatofitoz için en etkili şifalı bitkiler üzerine yapılan bir derlemede *S. fruticosa* uçucu yağının disk difüzyon yöntemine göre *Trichophyton rubrum* üzerinde orta derecede antifungal etki gösterdiği bildirilmiştir [64].

Lübnan'da *S. fruticosa*'nın petrol eteri ve metanol ekstralarının, 8 fitopatogenik mantara karşı antimikotik aktivite açısından in vitro yapılan çalışmada, petrol eteri ekstralarının analiz edilen tüm patojenlere karşı etkinliğinin, metanol ekstralarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. *S. fruticosa*'nın *Alternaria solani*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* ve *Botrytis cinerea* mantarlarına düşük ve orta düzeyde antifungal etkisi olduğu tespit edilmiştir [65].

Dört *Salvia* türünün (*S. cilicica*, *S. officinalis*, *S. fruticosa*, *S. tomentosa*) toprak üstü kısımlarının etanol ekstraları ve uçucu yağları ile *S. cilicica* köklerinin enfeksiyon hastalıkları dahil antimikobakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikobakteriyel aktivite üç *Mycobacterium tuberculosis* (duyarlı-, dirençli standart suşlar ve çoklu ilaç direnci klinik izolatu) suşuna karşı, antifungal aktivite iki dermatofite (*Microsporum gypseum* ve *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*) ve üç *Candida* türüne karşı mikrodilüsyon yöntemi ile analiz edilmiş ve uçucu yağları, toprak üstü kısımları ve kök ekstralarına kıyasla yüksek antimikobakteriyel ve antifungal aktivite göstermiştir [66].

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, soğuk algınlığı, mide ağrısı ve boğaz ağrısı tedavisinde yaygın olarak kullanılan beş Labiatae bitkisi *Salvia fruticosa*, *Sideritis leptoclada* (endemik), *Sideritis albiflora* (endemik), *Salvia tomentosa* ve *Origanum onites*'in metanol ekstralarının antibakteriyel ve antimikobakteriyel aktivitesi araştırılmış; *S. typhimurium* ve *E. aerogenes*'e karşı en iyi antibakteriyel aktivitenin *S. fruticosa* tarafından gösterildiği tespit edilmiştir. *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı en iyi antimikobakteriyel aktivite *S. tomentosa* tarafından gösterilmiştir [67].

Kıbrıs'tan toplanan *Salvia fruticosa*'nın antifungal aktivite açısından en aktif olan etil asetat ekstresinin ana bileşenleri olarak metoksillenmiş flavonlar hispidulin, salvigenin ve cirsimaritin ve diterpenler karnosik asit, karnosol ve 12-metoksikarnosik asit tanımlanmıştır. Bu bileşenlerden hispidulin, karnosik asit, karnosol özellikle *Botrytis cinerea* ve *Penicillium digitatum*'a karşı antifungal aktiviteleri destekleyerek gıda ve tarım sistemlerinde kullanım potansiyellerini ortaya koymaktadır [68].

Yunanistan'da doğal olarak yetişen *S. fruticosa*'nın uçucu yağında beş ana bileşen; 1,8-cineole, alpha-thujone, beta-thujone, kafur ve karyofillen tespit edilmiş; ana bileşenlerden kafur ve 1,8 sineol'ün *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium oxysporum*

f. sp. dianthi'a karşı düşük; *Fusarium solani* sp. cucurbitae, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Rhizoctonia solani*'ye karşı yüksek antifungal etki gösterdiği tespit edilmiştir [69]. *Coridothymus capitatus* L., *Origanum dictamnus* L. ve *Salvia fruticosa* Mill. bitkilerinin uçucu yağ kombinasyonunun, üst solunum yolu viral enfeksiyonları olan hastalarda semptomların süresini ve şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Uçucu yağ karışımında bulunan ana bileşenler karvakrol (% 53), okaliptol (% 13) ve β -caryophyllene (% 3) olarak bulunmuştur. Yunanistan'da yürütülen *in vitro* çalışmada, influenza A / H1N1 virüs suşlarına, influenza B ve insan rinovirüs 14'e (HRV14) karşı uçucu yağ kombinasyonunun dikkate değer antiviral aktivitesi ortaya koyulurken, influenza A / H3N2, Respiratory Syncytial Virus (RSV) ve Adenovirus 5 için hiçbir viral inhibisyon gözlenmediği bildirilmiştir [70].

2.4.3.5 Nöroprotektif aktivite

En yaygın nörodejeneratif hastalıklar arasında sayılan Alzheimer hastalığının karakteristik özelliklerinden biri amiloid beta ($A\beta$) peptidlerinin sitotoksik agregasyonudur. *S. fruticosa*'nın toprak üstü kısımlarının metanol, diklorometan ve petrol eteri ekstraktlarının SH-SY5Y insan kemik iliği nöroblastoma hattında $A\beta_{25-35}$ ile indüklenen hücre ölümüne karşı nöroprotektif özelliklerinin değerlendirildiği, Kıbrıs'ta yürütülen çalışmada diklorometan ve petrol eteri ekstraktlarının önemli bir nöroprotektif potansiyel sergileyen etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. *S. fruticosa*, $A\beta$ nörotoksisitesine karşı koruyucu özelliklere sahip olduğu bilinen dördüncü *Salvia* türüdür ve bu özelliğin flavonoidler, terpenoidler ve fenolik asitler gibi aktif bileşenlerden ileri geldiği öne sürülmüştür [71].

2.4.3.6 Toksisite ve genotoksisite

On dört bitki türünden elde edilen on altı uçucu yağın yetişkin pirinç kurdu *Sitophilus oryzae* karşı fumigant toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, en aktif uçucu yağlar *Thymbra capitata* ve *Salvia pomifera* subsp *calycina* ($LC_{50} = 3.4-4.4 \mu L/L$) olarak bulunmuş; oksijenli monoterpenlerin baskın olduğu *S. fruticosa*, *Laurus nobilis* ve *S. officinalis*'in ($LC_{50} = 7.4-15.5 \mu L/L$) uçucu yağlarının da oldukça toksik olduğu bulunmuştur [72].

İnsan periferik kan lenfositlerinde (HPBL) *S. fruticosa* metanol ekstaktının S9 karışımının (metabolik aktivatör) (3-Metilkolantren kaynaklı sıçan karaciğer mikrozomal fraksiyonu) yokluğunda mitotik indeksi düşürme yoluyla sitotoksik aktivite gösterdiği ancak nükleer bölünme indeksi ve proliferasyon indeksini düşürmediği görülmüştür. S9 karışımı varlığında ekstre tek başına sitotoksik aktivite göstermemiş ancak yüksek dozda siklofosfamidin ve ekstre karışımının sitotoksik aktiviteyi artırdığı saptanmıştır [73].

2.4.3.7 Antikanser aktivite

Ürdün florasından toplanan iki *Salvia* türü, *S. triloba* ve *S. dominica*'dan elde edilen etanol ekstreleri, MCF7 ve T47D meme kanseri hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktiviteleri açısından sulforhodamine B testi ile değerlendirilmiştir. *S. triloba* IC₅₀ değerleri MCF7 için 29.89 ± 0.92 µg/mL ve T47D için 38.91 ± 2.44 µg/mL ile biyolojik olarak aktif bulunmuştur. Bitki ekstrelerinin, T47D hücrelerinde apoptoz ve nekroz kaynaklı hücre ölümüne bağlı olduğu ve proapoptotik sitotoksik mekanizmalar yoluyla meme kanseri yönetimi / tedavisinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır [74].

İzmir'den kuru toz formunda alınan *Salvia triloba*'nın metanol ekstreleri elde edilmiş, PC-3 ve DU-145 prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Hücre canlılığı XTT ile değerlendirilmiştir. Ekstre her iki kanser hücresinde konsantrasyona bağlı bir şekilde sitotoksikiteyi indüklemiş; en yüksek sitotoksikite 72. saatte gözlenmiştir ve PC-3 ve DU-145 hücrelerinde ekstrenin IC₅₀ değerleri sırasıyla 287 ± 8 ve 456 ± 15 µg/mL olarak bulunmuştur [75].

Kolorektal kanser hücre hatlarında (HCT15 ve CO115) *S. officinalis* ve *S. fruticosa* su ekstrelerinin ve başlıca fenolik bileşikleri rosmarinik asidin MAPK / ERK ve PI3K / Akt yollarında sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırıldığı çalışmada *S. fruticosa* ekstrelerinin apoptotik etkisinin rosmarinik asitten daha yüksek olduğu bulunmuş; ancak her iki bitki ekstresinin sadece HCT15 hücre hattında proliferasyonu engellediği bildirilmiştir [76].

İzmir Çeşme'den toplanan *S. fruticosa* bitkisinin sulu ekstresi kolorektal adenokarsinom hücre hatları üzerinde (Caco-2 ve HT-29) araştırılmış, doza ve zamana bağlı antiproliferatif aktivite gösterdiği, Glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesini

inhibe ettiği (IC₅₀ değeri 6.8 µg/mL) bildirilmiş ve sonuçlar bitkinin kemoterapi ilaçlarının yanı sıra kolon kanserinin önlenmesi ve tedavisinde kullanılabilecek tıbbi bitki olarak düşünülebileceği sonucuna varılmıştır [77].

İtalya'nın güneyinden toplanan *S. fruticosa* subsp. *thomasi*'nin metanol ekstresi, insan meme kanseri (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve insan kolorektal karsinom (RKO ve Caco-2) hücrelerine karşı antitümör aktivite göstermiştir. Bitki ekstresi, tümöral olmayan 3T3-L1 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etkilerle apoptoz yoluyla hücre ölümüne yol açmıştır. Ayrıca, 3T3-L1 murin fibroblastlarında lipid peroksidasyonuna karşı en yüksek koruma sağlamış ve menadion tedavisinin neden olduğu oksidatif stresi azalttığı görülmüştür [78].

Melanom, melanin pigmentasyonundan sorumlu olan melanositlerdeki anormalleşme sonucu gelişen agresif bir cilt kanseri türüdür. *S. fruticosa* ve *S. pomifera* toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinin insan melanom hücrelerine (A375, Mel JuSo) etkileri araştırılmıştır. *S. fruticosa*'da karnosik asit ve karnosol en çok bulunan fenolik bileşikler, *S. pomifera*'da bulunamamıştır. *S. fruticosa*'nın hücre canlılığını ve çoğalmasını *S. pomifera*'dan daha önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. *S. fruticosa* ekstresinin toksisiteden sorumlu bileşiğinin karnosik asit olup olmadığını değerlendirmek için karnosik asit tek başına değerlendirilmiştir. Karnosik asitin kanser hücrelerini *S. fruticosa* ekstrelerinden daha verimli şekilde etkilemesi üzerine, *S. fruticosa*'nın sitostatik etkisinin karnosik asitten ileri geldiği sonucuna varılmıştır [40].

Glycyrrhiza glabra L. kökü (Meyan), *Matricaria chamomilla* L. toprak üstü kısımları (Papatya), *Salvia triloba* L. toprak üstü kısımları (Anadolu adaçayı), *Rheum palmatum* L. kökü (Rhubarb), *Trigonella foenum-graecum* L. tohumları (Çemen otu) ve *Sambucus ebulus* L. yaprak ve meyveleri (Cüce mürver) metanol ekstrelerinin A375.S2 (düşük tirozinaz ekspresyonu) ve WM1361A (yüksek tirozinaz ekspresyonu) olmak üzere iki melanosit tümör hücre hattı üzerinde antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. WM1361A melanom hücre hattı, melanom sentezinde anahtar adımı katalize eden yüksek tirozinaz ekspresyonu ile karakterizedir ve bu nedenle tirozinaz varlığı bu hücrelerde melanin birikimini kolaylaştırır. Adaçayı, papatya, rhubarb ve meyanın metanol ekstrelerinin WM1361A proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir; sırasıyla IC₅₀ değerleri 20.6, 25.2, 17.8, 35.2 µg/mL [79].

2.4.3.8 Antidiyabetik aktivite

Marmara Üniversitesi'nde yürütülen çalışmada, Streptozotosin / nikotinamid ile indüklenen diyabetik sıçanlarda *Salvia triloba* ve *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* metanol ekstrelerinin (STE ve TPSE) antidiyabetik etkilerini belirlemek için insülin tolerans testi ve dozajını ayarlamak için oral glukoz tolerans testi uygulanmıştır. STZ / NA ile uyarılan sıçanlarda TPSE'nin hiperglisemi düzeyini standart metformine benzer şekilde düşürdüğü gözlemlenmiştir. 200 mg / kg STE bir saat içinde kan glukoz seviyelerinde belirgin anlamlı azalma göstermiştir. Elde edilen verilere göre, TPSE ve STE'nin diyabetik sıçanlarda kan şekerini düşürdüğü, glukoz toleransını artırdığı ve hiperinsülinemiği önlediği bildirilmiştir. Bu iki potansiyel bitkiden Tip 2 diyabet tedavisinde yeni bir alternatif terapötik ajan geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır [80].

Pankreas triasilgliserol lipaz (PL) dislipidemi, ateroskleroz ve obezite ile ilişkili dislipideminin tedavisi için farmakolojik bir araçtır. Ürdün'de yapılan çalışmada, *S. triloba* yapraklarının metanol ekstresinin PL'ı inhibe edebildiği, bu sebeple yüksek yağlı beslenmeye (HFD) bağlı hipertrigliseridemi üzerinde düzenleyici etkileri bulunduğu bildirilmiştir [81].

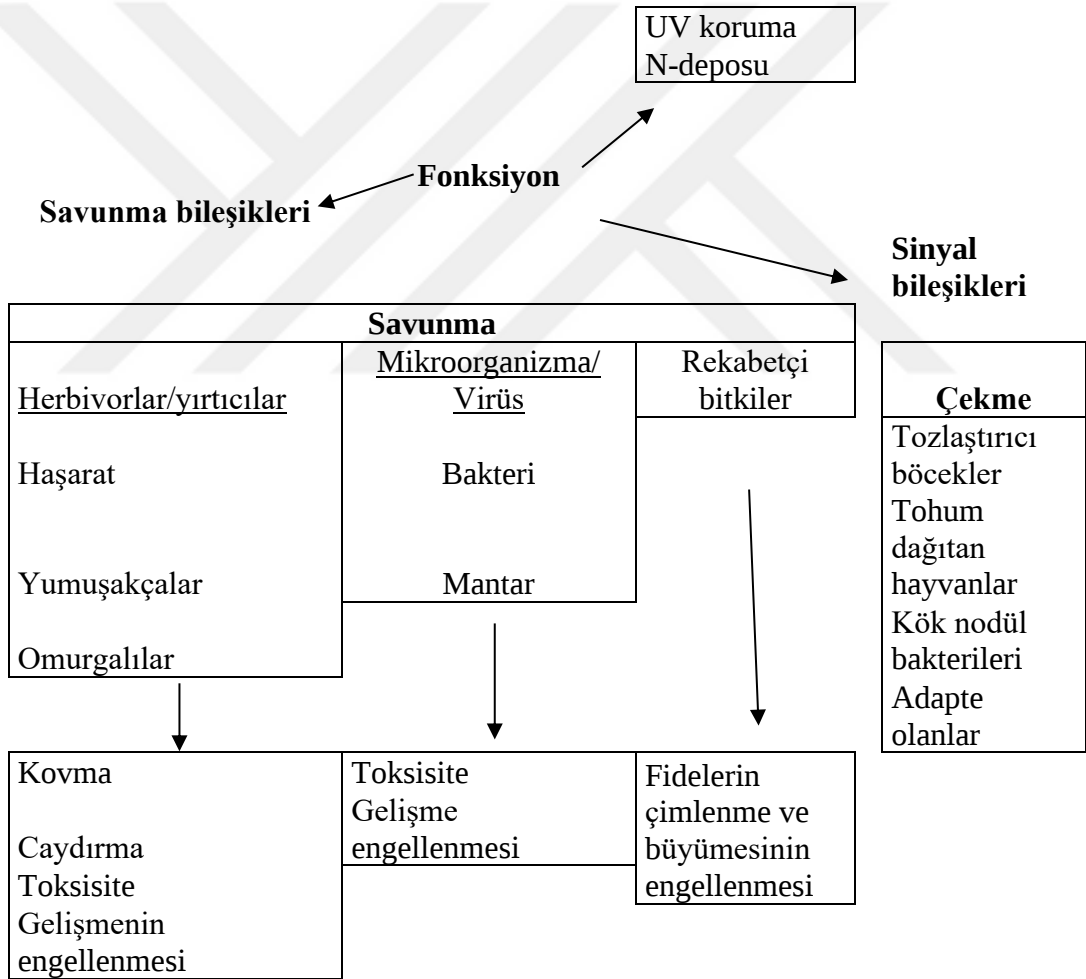
2.5 Sekonder Metabolitler

Primer (birincil) metabolitler büyüme, gelişme ve üreme olaylarında görev alırken sekonder (ikincil) metabolitler, üreme başarısını artırmak için bitki ile çevresi arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak üretilirler [82].

Bitkiler, azot içeren bileşikler (alkaloidler, aminler, siyanojenik glikozitler, protein olmayan amino asitler, glukozinolatlar, alkamidler ve peptidler) ve azot içermeyen bileşikler (terpenler, poliketidler, fenolikler, saponinler ve poliasetilenler) olmak üzere çok çeşitli ikincil (sekonder) metabolitler üretirler. Tespit edilen sekonder metabolitlerin sayısı 100.000'i aşmaktadır. Kompleks bileşikler bitkilerde organ, doku ve gelişme kısımlarında kendilerine özgü şekilde belirli biyosentetik enzimlerle sentezlenir [83]. Sekonder metabolitlerin en karakteristik özelliği, çok çeşitli kimyasal türleri; alifatik, hidroaromatik, aromatik ve heterosiklik gibi benzersiz karbon iskeletleri, çok sayıda fonksiyonel grupların varlığıdır [84].

Sekonder metabolitler binlerce yıldır insanlık tarafından boya (örn. indigo, shikonin), aroma (örn. vanilin, kapsaisin), koku (örn. gül yağı, lavanta yağı), uyarıcı (örn. nikotin, kafein, efedrin), halüsinojen (örn. kokain, morfin, skopolamin, tetrahidrokanabinol), böcek öldürücü (örn. nikotin, piperin, piretrin, rotenon), omurgalı ve insan zehirleri (örn. koniin, striknin, akonitin, kolşisin, kardiyak glikozitler), terapötik ajanlar (örn. atropin, kinin, kardenolitler, kodein) olarak bilinirler. İkincil metabolitlerin ekolojik ve fizyolojik işlevleri Şekil 2.5'te verilmiştir [83]:

Sekonder Metabolitler



Şekil 2.5 : Sekonder metabolitlerin ekolojik ve fizyolojik işlevleri.

Salvia türlerinde ana sekonder metabolitlerin flavonoidler ve terpenoidler olduğu bildirilmiştir [23].

Terpenoidler; monoterpenoidler, seskiterpenoidler, diterpenoidler, sesterterpenoidler, triterpenoidler ve steroidlerdir. Flavonoidler ve diğer fenolikler; flavon ve flavonol aglikonları ve glikozitleri, antosiyaninler ve proantosiyanidinler, kafeik asit metabolitleridir [7].

Bitkinin toprak üstü kısımları genellikle flavonoidler, triterpenoidler, monoterpenoidler gibi uçucu bileşikler içerirken; köklerde ana bileşikler diterpenoidlerdir [23].

2.5.1 Terpenler

Terpenler düşük moleküler ağırlıklı doğal bileşiklerin en geniş ve en fazla yapısal çeşitlilik gösteren grubudur. Bitkiler, böcekler, mikroorganizmalar, mantarlar ve hayvanlar gibi doğal kaynaklarda yaklaşık 64.000 terpen tanımlanmıştır. Organizmada hücre zarlarının yapı taşı, elektron transferi ve fotosentez gibi hücresel bazda temel biyokimyasal süreçlere katılırlar. Birçoğu bitkinin abiyotik ve biyotik strese tepkisini geliştirirken, bir kısmı polen taşıyıcılara sinyal veren moleküllerdir, bazılarının ise güçlü biyolojik aktiviteler sergilediği kanıtlanmıştır [82].

Terpenler karbon atom sayısına göre; monoterpen (C₁₀), seskiterpen (C₁₅), diterpen (C₂₀) ve triterpen (C₃₀) olarak sınıflandırılırlar [85].

Monoterpenler uçucu yağların ana bileşenlerini oluştururken yağa canlandırıcı, antifungal, antibakteriyel gibi biyolojik aktivite kazandırır. Seskiterpenlerin antibiyotik ve sitotoksik aktiviteleri bulunup, inhibe edici veya uyarıcı hormonal dengeyi kurmada görev alırlar. *Salvia* türleri genel olarak abietan, labdan, klerodan ve pimarane tipi diterpenler içermekte olup, antiviral, kardiyovasküler, antitümör etki gösterirler. *Salvia* türlerinde bulunan triterpenler ursolik asit ve oleanolik asittir ve güçlü sitotoksik aktivite gösterirler [86].

2.5.2 Fenolik bileşikler

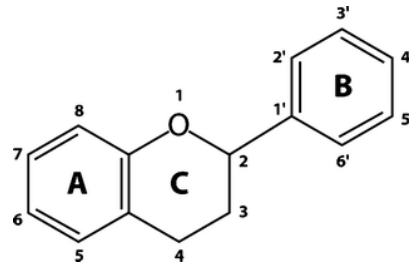
Polifenoller bir benzen halkası üzerinde bir veya birden fazla sayıda hidroksil gruplarına sahip aromatik bileşiklerdir. Moleküle antibakteriyel, antienflamatuvar, antioksidan ve canlandırma gibi özellikleri kazandırır [87]. *Salvia* türlerinde

tanımlanan ana polifenoller; rosmarinik asit, karnozik asit, salvianolik asit ve türevleri (karnosol, rosmanol, epirosmanol, rosmadial ve metil karnosat), tanenler (salviatannin), uçucu yağlar (α -thujone, β -thujone, 1,8 sineol, kafur), flavonlar, fenolik asitler, fenilpropanoid glikozitler, triterpenoidler ve diterpenler, α -tokoferol, γ -tokoferol, karotenoidler, gallik asit, 3-O-kafeoilkinik asit, 5-O-kafeoilkinik asit, kafeik asit, hesperetin, hispidulin ve genkwanindir [88].

Polifenoller yapılarına göre iki alt gruba ayrılır: Fenolik asitler ve flavonoidler [24].

Fenolik asitler insan hastalıklarının önlenmesinde önemli rol oynarlar. Polar fenolik asitler, *Salvia* türlerinin suda çözünür bileşenlerinin büyük bölümünü oluşturur [24]. *Salvia* türlerindeki fenolik asitlerin çoğu, çoğunlukla rosmarinik asit olarak dimerik formda bulunan kafeik asit türevleridir. Örneğin, *S. officinalis* 50'den fazla fenolik asit ve flavonoid içeren zengin bir polifenolik bileşik kaynağıdır. Fenolik bileşikler arasında kafeik asit, rosmarinik asit, salvianolik asitler, sagecoumarin, sagerinik asit ve ferulik asit bulunur [89].

Flavonoidler, antioksidan özellikleri ile bilinen sebze ve meyveler dahil yüksek bitkilerde bulunan bileşikler sınıfını temsil eder. Flavonoidler, fenil halkasının 2 (flavonoidler) veya 3 (izoflavonoidler) konumunda bağlandığı kromon iskeletine sahiptir. Flavonoid yapısı Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6 : Flavonoid yapısı.

Flavonoidler C halkasının yapısal özelliklerine göre sınıflandırılır. Flavonoidlerin çeşitliliği hidroksil gruplarının hidroksilasyonu, metilasyonu veya glikosidasyonlarından gelir. 4.000'den fazla flavonoid vardır ve bunların birçoğu antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, hepatoprotektif, immünomodülatör gibi etkileri nedeniyle araştırmalara konu olmuştur [90]. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin yarısı flavonoidlerdir [88]. *Salvia* türlerinde bulunan ana flavonoidler;

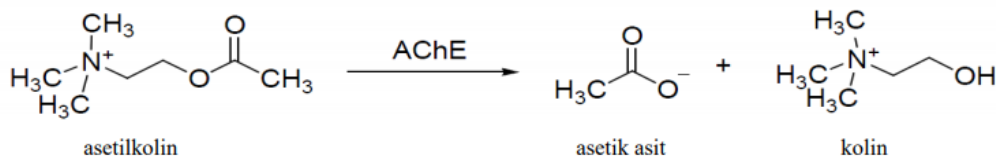
luteolin, apigenin, hispidulin, salvigenin, kaempferol ve kersetindir [89]. Flavonlar ve flavonoller gibi farklı flavonoid gruplarının vasküler düz kası gevşetmede farklı etkinlik gösterdikleri bildirilmiştir [91].

2.6 Antikolinesterazlar

Demans (bunama), bellekte güçlük, dilde ve diğer bilişsel işlevlerde bozukluk, davranışlarda değişiklik ve günlük yaşam aktivitelerindeki bozukluklarla karakterize edilen klinik bir sendrom olarak tanımlanır [92]. Yaşlılar arasında en yaygın bunama türü olan Alzheimer hastalığı, kronik ve progresif nörodejeneratif bir beyin hastalığıdır [93]. Alzheimer hastalığının altında yatan nörobiyolojik mekanizmalara dayalı kolinerjik hipotez dahil olmak üzere, β -amiloid ($A\beta$) peptid teorisi, tau hiperfosforilasyon hipotezi, enerji metabolizmasında düzensizlik, oksidatif stres ve kalsiyum dishomeostaz gibi çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir [94].

Kolinerjik disfonksiyon, Alzheimer hastalarındaki erken bilişsel gerileme ile yakından ilişkilidir. Alzheimer hastalığında senil plakların ve nörofibriler yumakların oluşumu gibi spesifik nöropatolojik değişikliklerin yanı sıra beynin hipokampus ve korteksinde asetilkolin (ACh) seviyelerinde bir düşüş gözlenmektedir [95, 96]. Asetilkolinesteraz (AChE), bir nörotransmitter olan asetilkolini hidrolizleyen hidrolaz grubundan bir enzimdir. Alzheimer hastalığının tedavisi için genel yaklaşım, asetilkolinin hidrolizini katalizleyerek kolinerjik iletimde kritik rol oynayan asetilkolinesterazı inhibe etmek ve beyindeki sinaptik asetilkolin düzeylerini artırmaktır [93].

Asetilkolinesterazın kataliz reaksiyonu ve reaksiyon sonunda asetat ve kolin oluşumu Şekil 2.7’de verilmiştir [97].



Şekil 2.7 : Asetilkolinin hidroliz reaksiyonu.

Şifalı bitkilerden çeşitli AChE inhibitörleri tanımlanmıştır; örneğin *Huperzia serrata*'dan huperzin A (Hup A), *Narcissus confusus*'tan galantamin, *Physostigma venenosum*'dan fizostigmin, *Curcuma longa*'dan kurkumin. *Salvia miltiorrhiza*

köklerinden elde edilen, Çin’de popüler kullanımı bulunan geleneksel bitkisel ilaç “Danshen”in AChE’yi inhibe ettiği bildirilmiştir [98, 99].

Serum kolinesteraz (ChE), plazma kolinesteraz ve psödokolinesteraz olarak da adlandırılan butirikolinesteraz (BChE) ise bir α -glikoproteindir ve beyin, deri, plazma ve bacak kası gibi birçok dokuda bulunur. BChE'nin yapısı AChE'ye oldukça benzemektedir; AChE çoğunlukla nöronal kökenli iken, BChE çoğunlukla glial kökenlidir [81, 82]. Asetilkolin normalde baskın olarak AChE tarafından hidrolize edilir. Asetilkolinin hidrolizinde AChE'nin yokluğunda BChE yardımcı rol üstlenir. İlerlemiş Alzheimer hastalığında, beyindeki AChE seviyesi normal değerlerin % 55-67'sine düşerken, BChE normal seviyelerin % 120'sine yükselir, bu da BChE'nin Alzheimer hastalığının geç evresinde asetilkolinin hidrolizi için kritik bir rol oynadığını gösterir [100].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Bitkisel Materyaller

- Muğla, Bodrum Yalıkavak'tan *Salvia fruticosa* (SFB) bitkisinin toprak üstü kısımları 03.07.2020 tarihinde toplanmıştır. 3 hafta boyunca açık havada, gölgede kurutulmuş ve yaprakları ayrılarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Ana Bilim Dalı laboratuvarına gönderilmiş, tez çalışması yapılana dek bez torbalarda saklanmıştır. Bitki örnekleri İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Münevver Bahar GÜRDAL ABAMOR tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi Herbaryum'unda ISTE 117289 kayıt numarası ile muhafaza edilmektedir.
- Marmara Adası'ndan *Salvia fruticosa* (SFM) bitkisinin toprak üstü kısımları 09.07.2020 tarihinde toplanmıştır. 3 hafta boyunca açık havada, gölgede kurutulmuş ve yaprakları ayrılarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Ana Bilim Dalı laboratuvarına gönderilmiş, tez çalışması yapılana dek bez torbalarda saklanmıştır. Bitki örnekleri İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Münevver Bahar GÜRDAL ABAMOR tarafından teşhis edilmiştir. Bitki örneği İstanbul Üniversitesi Herbaryum'unda ISTE 117290 kayıt numarası ile muhafaza edilmektedir.

3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Merck: Sodyumbikarbonat, diklorometan, kloroform, etanol, metanol, hegzan.

Sigma-Aldrich: DTNB (5,5''-Dithiobis (2-Nitro-benzoik asit), asetiltiyokolin iyodür, butiriltiyokolin iyodür, sodyumbifosfatdihidrat, sodyumdihidrojenfosfatdihidrat, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz, etil asetat.

0,1 M NaH_2PO_4 çözeltisi: 1,56 g NaH_2PO_4 , 100 mL distile suda çözülerek hazırlandı.

0,1 M Na_2HPO_4 çözeltisi: 3,556 g Na_2HPO_4 , 200 mL distile suda çözülerek hazırlandı.

0,1 M pH=8 tampon çözeltisi: 5,3 mL NaH_2PO_4 ve 94,7 mL Na_2HPO_4 çözeltileri karışımına 100 mL distile su ilave edilmesiyle hazırlandı.

0,1 M pH=7 tampon çözeltisi: 3,9 mL NaH_2PO_4 ve 6,1 mL Na_2HPO_4 çözeltileri karışımına 10 mL distile su ilave edilmesiyle hazırlandı.

5 mM DTNB çözeltisi: 16 mg DTNB (5,5-ditiyobis (2-nitro benzoik asit)) 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde ve 7,5 mg NaHCO_3 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözüldü ve iki çözelti birbirine karıştırıldı. Karışım 2 mL pH=7 tampon çözeltisi ile 4 mL'ye tamamlandı. Kullanma aşamasında 4 mL pH=8 tampon çözeltisi ilave edildi.

7,1 mM Asetiltiyokolin iyodür (Aci) çözeltisi: 32,8 mg Aci üzerine 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

0,79 mM Butiriltiyokolin iyodür (BuI) çözeltisinin hazırlanması: 4 mg BuI üzerine 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

AChE (Asetilkolinesteraz) enzimi: Kullanılan her bir ependorf tüpünün 99,66996 U/mL'lik konsantrasyonda olması amacıyla, 1,17 mg (500 U) AChE enzimi, 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü ve bu çözeltiden 1'er mL'lik beş ayrı ependorf tüpüne ayrıldı. 1 mL'lik stok çözeltiler 125 μL 'lik 8 eşit parçaya bölündü (0,09966996 U/ μL). 125 μL 'lik enzim çözeltisine 460 μL pH=8 tampon çözeltisi eklendi (0,021297 U/ μL). 585 μL çözelti karışımı elde edilmiş olup, 25 μL 'ik 23 adet ependorf tüpüne doldurularak daha sonra kullanılmak üzere -20 °C derin dondurucuya kaldırıldı. 585 μL enzim çözeltileri, kullanım aşamasında pH=8 tampon çözeltisiyle 2150 μL 'ye tamamlandı ($2,476 \times 10^{-4}$ U/ μL).

BChE (Butirilkolinesteraz) enzimi: 1 mg (11,4 U) BChE enzimi 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü (2,28 U/mL) ve bu çözeltiden 300 μL alınarak ependorf tüplerine dolduruldu ve daha sonra kullanılmak üzere -20 °C derin dondurucuda bekletildi (0,00228 U/ μL). Kullanım aşamasında 1850 μL pH=8 tampon çözeltisi eklendi ($3,1813 \times 10^{-4}$ U/ μL).

4000 μM Standart madde Galantamin: 3 mg galantamin hidrobromür tartılarak 2 mL etanolde çözüldü.

3.3 Kullanılan Ekipmanlar

- Eliza Reader Molecular Devices Spectro Max340 PC
- Döner Buharlaştırıcı (Rota Evaporatör Heidolph)
- Manyetik Karıştırıcı ve Isıtıcı (IKA RCT basic hot plate)
- pH metre (WTW Inolab pH 720)
- Etüv (Ecocell)
- Otomatik tekli ve çoklu pipetler (0,5-10 µL, 20–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL) (Eppendorf)
- Ultrasonik banyo (Fisher Scientific FB 15051)
- UV kabin ve lamba (Camag)
- Hassas terazi (Ohaus Adventurer-Pro)
- Blender

3.4 Yöntem

3.4.1 Bitki ekstralarının hazırlanışı

Yalıkavak ve Marmara Adası'ndan toplanarak gölgede kurutulan *S. fruticosa* bitkilerinin yaprakları ayrı ayrı toz haline gelinceye dek blenderda öğütülmüştür. Her iki bitki materyalinden 100'er g tartılarak, 800 mL metanol, 800 mL etanol (%70) ve 1200 mL su (infüzyon) ve 1200 mL su (dekoksasyon) ile 6 kez 24'er saat ekstre edilmiş ve süzölmüştür. Çözücü vakumlu döner buharlaştırıcı (rotary evaporatör) cihazı ile 40 °C'de uzaklaştırılmıştır.

Ekstraksiyon işlemlerine ait bilgiler Tablo 3.1'de, ekstraksiyon verimleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1 : Ekstraksiyon işlemlerine ait bilgiler.

Bitki örneği	Çözücü	Bitki örneği (gr)	Çözücü miktarı (mL)	Ekstraksiyon süresi (saat (h))
SFM*	Metanol	100	800	24 h x 6 kez
	Etanol (%70)	100	800	24 h x 6 kez
	Hegzan	100	800	24 h x 6 kez
	Su (inf.)	100	1200	30 dk
	Su (dekok.)	100	1200	30 dk
SFB**	Metanol	100	800	24 h x 6 kez
	Etanol (%70)	100	800	24 h x 6 kez
	Hegzan	100	800	24 h x 6 kez
	Su (inf.)	100	1200	30 dk
	Su (dekok.)	100	1200	30 dk

*SFM: Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* örnekleri

**SFB: Muğla Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* örnekleri

Tablo 3.2 : Ekstraksiyon verimleri.

Bitki örneği	Çözücü	Ekstraksiyon verimi (g)
SFM*	Metanol	21,5237
	Etanol (%70)	23,2428
	Hegzan	6,7729
	Su (inf.)	9,4435
	Su (dekok.)	10,9375
SFB**	Metanol	26,3636
	Etanol (%70)	25,6957
	Hegzan	7,2228
	Su (infüzyon)	12,7409
	Su (dekoksasyon)	13,985

*SFM: Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* örnekleri

**SFB: Muğla Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* örnekleri

3.4.2 Bitkilerin fenolik ve flavonoid bileşenlerinin LC-MS/MS ile belirlenmesi

LC-MS/MS analizleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi İLMER (İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi)'de yapıldı. Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) analizleri Thermo Orbitrap Q-Exactive cihazı ile uygun kolon kullanılarak gerçekleştirildi.

MeOH ile hazırlanmış ekstre numuneleri üzerine 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde eklendi. Numune 0.45 µ filtreden geçirilerek cihaza enjekte edilmek üzere viale alındı.

3.4.2.1 Enstrümental analiz ve kromatografik koşullar

HPLC şartları

Mobil Faz A: %1 Formik Asit - H₂O

Mobil Faz B: %1 Formik Asit - MeOH

Kolon: Troyasil C18 HS – 150 x 3 mm 5 µ

Gradient Time	Flow (mL/min)	% B
0.00	0.35	50
1.00	0.35	50
3.00	0.35	100
6.00	0.35	100
7.00	0.35	50
15.00	0.35	50

MS ŞARTLARI (Kütle Spektrometresi)

Sistem: Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE

İyon Kaynağı: ESI (Electrospray ionization)

Kütle Tarama Aralığı: 100-900 *m/z*

Sheath gas flow rate : 45

Aux gas flow rate : 10

Spray voltage (kV) : 3.80

Capillary temp. (°C) : 320

Aux gas heater temp (°C) : 320

S-lens RF level : 50.0

Tanımlamalar: İLMER (İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi) MASS Kütüphanesi

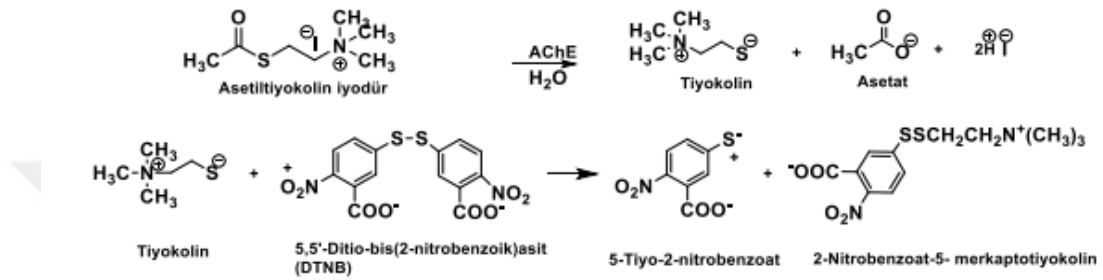
Çevre Şartları

Sıcaklık : (22,0 ± 5,0) °C

Bağıl Nem : (50 ± 15) % rh

3.4.3 Antikolinesteraz aktivite tayin yöntemleri

Antikolinesteraz inhibisyon aktiviteleri tayini Ellman metodu kullanılarak yapılmıştır. Ellman metodu spektrofotometrik bir yöntemdir. Yöntemin prensibi, asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalanmasından sonra, tiyokolinin 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermesidir. Renk oluşum hızı 412 nm dalga boyunda ölçülmektedir [101]. Ellman reaksiyonu Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1 : Ellman reaksiyonu.

Asetilkolinesteraz inhibisyonu için asetilkolinesteraz enzimi ve substrat olarak asetiltiyokolin iyodür (AcI); butirilkolinesteraz inhibisyonu için butirilkolinesteraz enzimi ve substrat olarak butiriltiyokolin iyodür (BuI) kullanıldı.

96 kuyucuklu mikropalaklardan her bir kuyucuğa pH=8 0,1 M fosfat tamponundan 130 µL + numuneden 10 µL + AChE veya BChE enzim çözeltilerinden 20 µL ilave edildi. 25 °C sıcaklıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı. 10 dk sonra üzerine DTNB çözeltilisinden 20 µL + AcI veya BuI'den 20 µL eklendi. ELISA okuyucuya yerleştirilen mikropalaka 412 nm'de okundu. Antikolinesteraz aktivite sonuçları (% inhibisyon) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

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

3.4.4 Sitotoksik aktivite tayin yöntemleri

3.4.4.1 Hücre kültürü

Ekstrelerin etkinliği meme kanseri (MCF7, MDA-MB231) ve kontrol olarak CCD-1079 Sk hücre hatları ile denenmiştir. Çalışmada kullanılan hücre hatları % 1 Penisilin/Streptomisin içerecek şekilde hazırlandı ve çalışma yapılana dek

buzdolabında bekletildi. Hücre kültürü çalışmaları, laboratuvarımızda rutin olarak uygulanan aseptik koşullar (37°C, %95 nem, %5 CO₂'li ortam) kullanılarak yapıldı. Sıvı azotta bekletilen hücreler, 37 °C su banyosunda hızlı bir şekilde çözündürüldü. 25 cm²'lik flasklara, laminar hava akışı olan kabin içerisinde önceden ısıtılmış besiyerlerinden 5 mL eklendi. Çözündürülen hücreler, mikropipet aracılığıyla flasklara aktarıldı ve inkübatörde inkübe edildi. Mikroskop ile hücrelerin gelişimi her gün gözlemlenerek besi ortamları yenilendi.

Pasajlama öncesi hücreler inverted mikroskopta incelendi. Hücreler kültür kabının %80'ini kapladıklarında pasajlanarak kültürün devamı sağlandı. Hücreler pasajlanırken flasklardaki besiyerleri uzaklaştırıldı, PBS ile yıkandı ve yapışan hücreleri kaldırmak için Tripsin/EDTA solüsyonu eklendi. Flask 7 dakika süreyle inkübatörde bekletildikten sonra hücrelerin flask yüzeyinden ayrıldıkları mikroskopla kontrol edildi ve üzerlerine tripsinin etkisini nötralize etmek için FBS'li (Fetal bovin serum) besiyeri eklendi. Santrifüj tüpüne alınarak 5 dk 1700 rpm'de santrifüj edildi. Çöken hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırıldı ve pellet besiyeri ile süspanse edildikten sonra sayımı yapıldı. Hücre süspansiyonu içerisinde alınan pellet 1:1 dilüsyon olacak şekilde tripan mavisi ile karıştırılarak homojenize oluncaya dek pipetaj yapıldı ve thoma lamında sayım yapıldı. Mikroskopta lamın alt ve üst kısmında bulunan 16 büyük karedeki canlı hücreler sayılarak hücrelerin aritmetik ortalaması alındı, sayım tamamlandıktan sonra toplam hücre sayısı hesaplandı [102].

3.4.4.2 Sitotoksik aktivitenin belirlenmesi

MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) kullanılarak, hücre proliferasyonları değişik konsantrasyon ve inkübasyon sürelerinde test edildi. Her konsantrasyondan üç tekrar olacak şekilde her hücre hattı için 24 saatlik deney grupları oluşturuldu. Hücre hatları 96 kuyucuklu plakaya 5000 hücre/kuyucuk olmak üzere ekildi ve gece boyunca 37°C'de bekletildi. Ertesi gün farklı konsantrasyonlardaki malzemeler hücrelere eklendi ve MTT analizine uygun şekilde müdahale edilerek, inkübasyon sonrası spektrofotometre ile ölçümü yapıldı. Her konsantrasyon için en az 3 kez tekrar edilen ölçüm verileri kıyaslanarak konsantrasyona bağlı grafiği çizildi ve relatif % hücre canlılığı tespit edildi [102].

4. BULGULAR

4.1 Bitkilerin Fenolik Bileşenlerinin Kompozisyonu

Salvia fruticosa bitkilerinin yapraklarının metanol, sulu etanol (%70) ve su ekstraktları LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Yapılan analiz sonucu elde edilen fenolik bileşikler şunlardır: Fenolik asitler; chlorogenic acid, caffeic acid, rosmarinic acid, syringic acid, salicylic acid. Flavonoid/ flavonoid glikozitler; apigenin, apigenin 7-glucoside, luteolin, luteolin-7-glucoside, luteolin-7-rutinoside, nepetin, nepetin-7-glucoside, quercetin, hesperidin, naringin, naringenin, epicatechin gallate, hyperoside. Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşik miktarları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 : LC-MS/MS cihazıyla SFB-I, SFB-D, SFB-E ve SFB-M ekstraktlarında tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/kg ekstre).

MADDE ADI	SFB-I	SFB-D	SFB-E	SFB-M	U %
Ascorbic acid	71.31	71.34	28.02	37.62	11.07
Chlorogenic acid	1009.07	847.20	264.02	373.84	11.14
Fumaric acid	6270.82	5807.56	447.28	916.54	11.14
(-)-Epicatechin gallate	4.61	3.28	3.10	5.46	11.21
Verbascoside	19.39	20.90	3.96	7.98	12.08
Caffeic acid	372.88	844.09	206.48	285.54	11.07
Luteolin-7-rutinoside	980.40	819.08	324.94	505.60	11.45
Vanilic acid	<LOD	<LOD	<LOD	280.20	11.61
Naringin	17.50	15.39	8.80	13.58	12.00
Luteolin 7-glucoside	220.51	131.15	154.36	258.46	11.29
Hesperidin	31.85	23.09	8.10	15.56	11.15
Syringic acid	17586.88	12408.31	8195.70	16279.78	12.37
Rosmarinic acid	20197.33	15346.05	10384.08	19288.40	11.63
Hyperoside	28.74	33.03	19.64	37.52	11.50
Apigenin 7-glucoside	20.70	10.84	13.48	30.28	11.90
Nepetin-7-glucoside	3005.47	1823.88	799.32	1392.98	11.40
Quercetin	3.96	11.02	3.98	25.24	11.42
Salicylic acid	23.16	29.60	10.82	19.12	11.40
Naringenin	3.85	10.88	6.70	29.74	11.04
Luteolin	93.56	166.49	73.04	181.80	12.41
Nepetin	248.19	333.99	143.18	361.72	11.24
Apigenin	14.93	26.78	22.52	60.44	11.54
Hispidulin	750.48	985.41	632.20	1057.20	11.23
Penduletin	17.50	11.96	18.70	37.24	11.81
Chrysin	1.64	2.90	1.52	1.10	11.09
Acacetin	63.58	66.14	122.82	253.10	11.36

Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinden farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin kısaltmaları: SFB-I: İnfüzyon; SFB-D: Dekoksiyon; SFB-E: Etanol ekstresi; SFB-M: Metanol ekstresi.

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi Bodrum'dan toplanan ve infüzyon yöntemiyle hazırlanan ekstrelerin LC-MS/MS analizi, taşıdıkları fenolik ve flavonoidlerin miktarı bakımından en yüksek sonucu vermiştir. Fakat rosmarinik asit ve şiringik asitin, hazırlanan tüm Bodrum *Salvia* ekstrelerinde çok yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Bodrum *Salvia* ekstrelerinde elde edilen 16 flavonoid/flavonoid glikozitlerden ise nepetin-7-glucoside en yüksek oranda bulunmuştur. Bunu hispidulin ve luteolin-7-rutinoside takip etmiştir.

Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkilerinin ekstrelerinde tayin edilen fenolik bileşik miktarları Tablo 4.2'de verilmiştir.

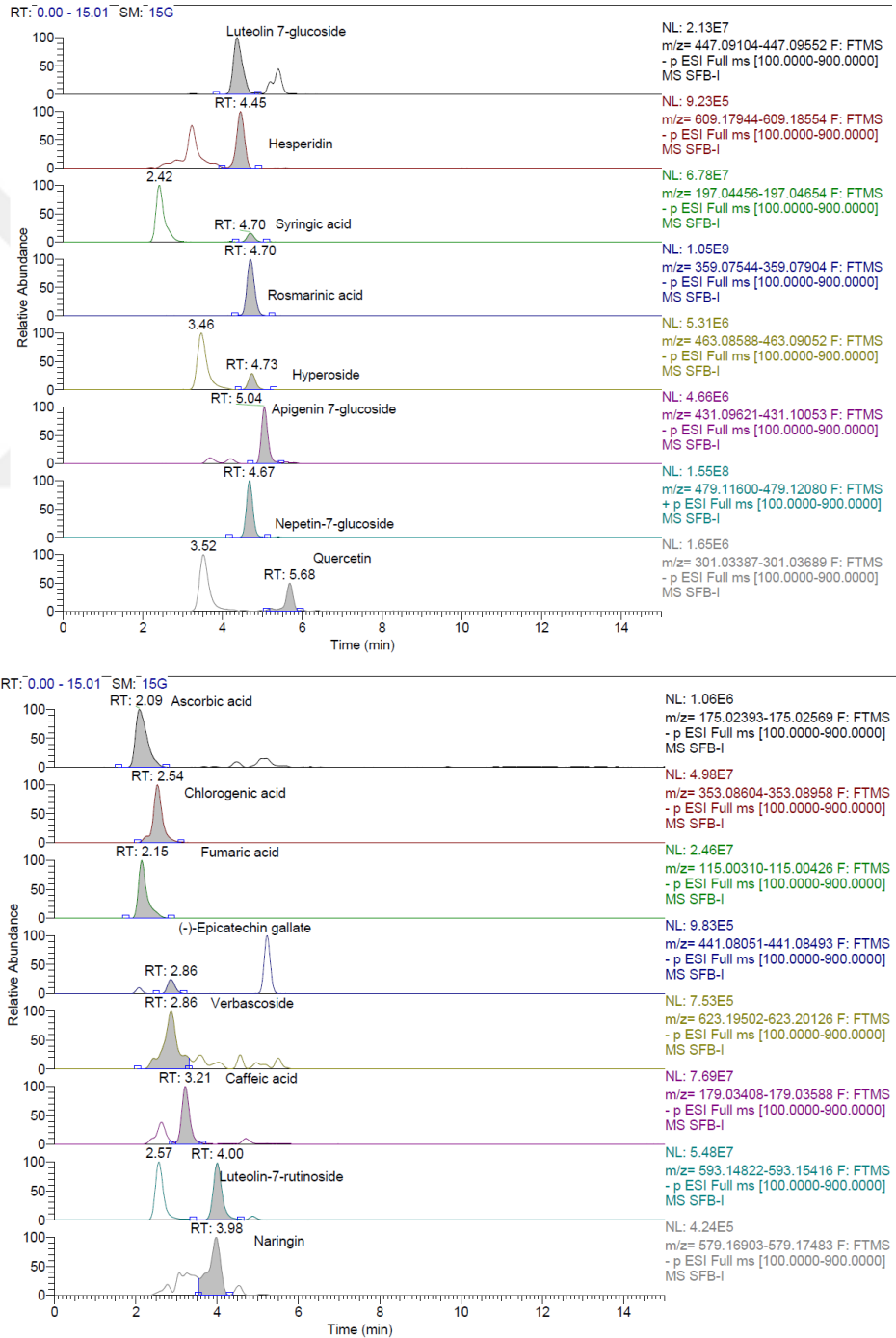
Tablo 4.2 : LC-MS/MS cihazıyla SFM-I, SFM-D, SFM-E ve SFM-M ekstrelerinde tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/kg ekstre).

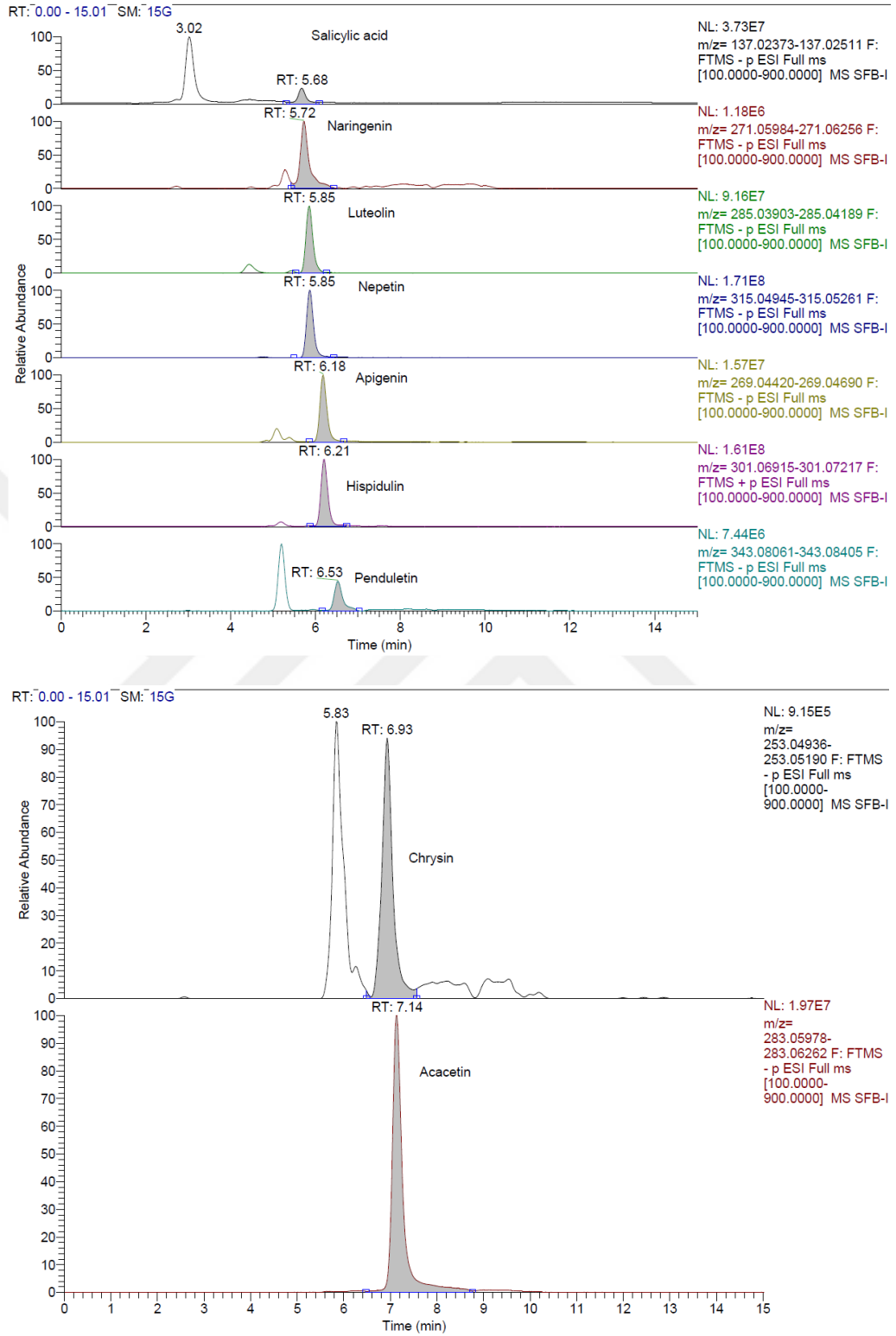
MADDE ADI	SFM-I	SFM-D	SFM-E	SFM-M	U %
Ascorbic acid	53.88	107.19	26.82	31.52	11.07
Chlorogenic acid	301.75	768.26	273.82	312.94	11.14
Fumaric acid	784.33	6301.77	299.16	579.94	11.14
(-)-Epicatechin gallate	2.99	0.63	1.02	2.02	11.21
Verbascoside	5.28	7.65	1.90	2.46	12.08
Caffeic acid	482.89	1741.56	178.62	216.18	11.07
Luteolin-7-rutinoside	600.99	364.32	371.64	457.38	11.45
Vanilic acid	<LOD	<LOD	<LOD	197.00	11.61
Naringin	11.36	7.43	5.08	6.82	12.00
Luteolin 7-glucoside	422.72	84.61	237.14	363.54	11.29
Hesperidin	37.03	10.38	12.06	14.34	11.15
Syringic acid	11238.35	7835.76	5876.90	9138.40	12.37
Rosmarinic acid	13992.45	9853.16	7486.06	11672.20	11.63
Hyperoside	29.94	18.42	18.82	19.50	11.50
Apigenin 7-glucoside	35.11	8.12	21.28	41.36	11.90
Nepetin-7-glucoside	751.20	747.94	385.62	567.66	11.40
Quercetin	9.59	31.17	31.42	25.60	11.42
Salicylic acid	76.16	91.55	36.72	37.86	11.40
Naringenin	5.96	12.04	9.10	12.02	11.04
Luteolin	211.55	695.15	290.58	182.56	12.41
Nepetin	194.23	347.49	184.66	285.72	11.24
Apigenin	42.85	119.61	78.20	69.92	11.54
Hispidulin	638.25	1472.12	779.96	1057.20	11.23
Penduletin	12.12	9.20	14.42	19.60	11.81
Chrysin	1.20	0.99	1.04	1.24	11.09
Acacetin	100.72	75.84	171.16	314.36	11.36

Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinden farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin kısaltmaları: SFM-I: İnfüzyon; SFM-D: Dekoksiyon; SFM-E: Etanol ekstresi; SFM-M: Metanol ekstresi.

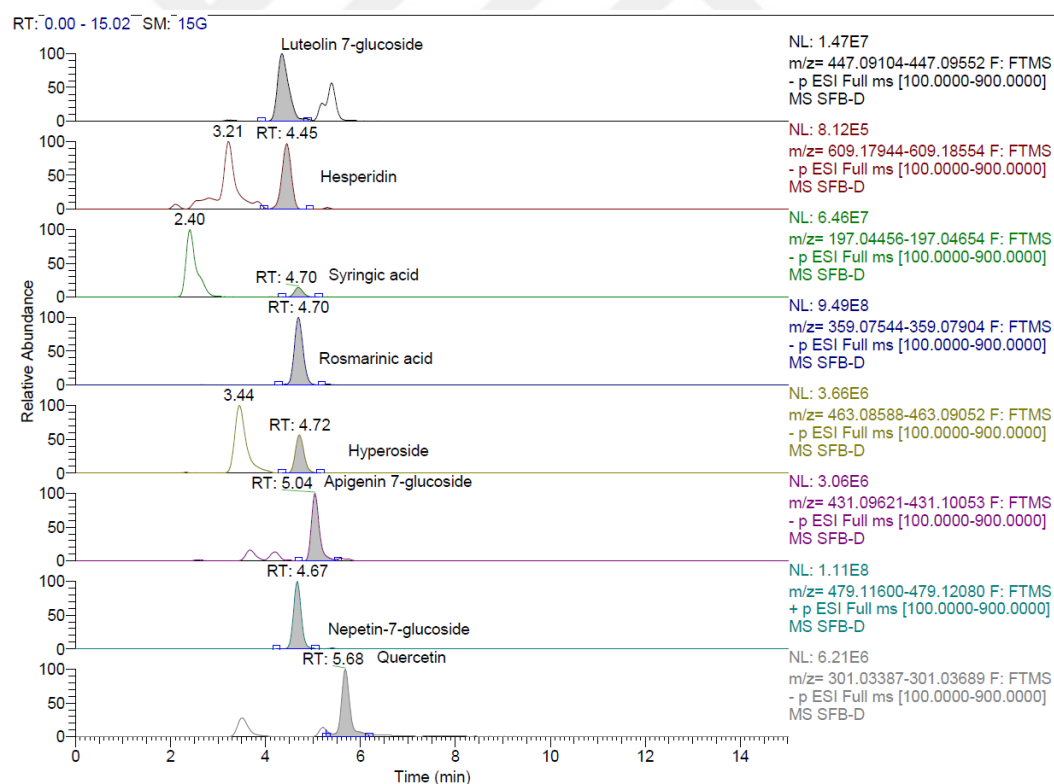
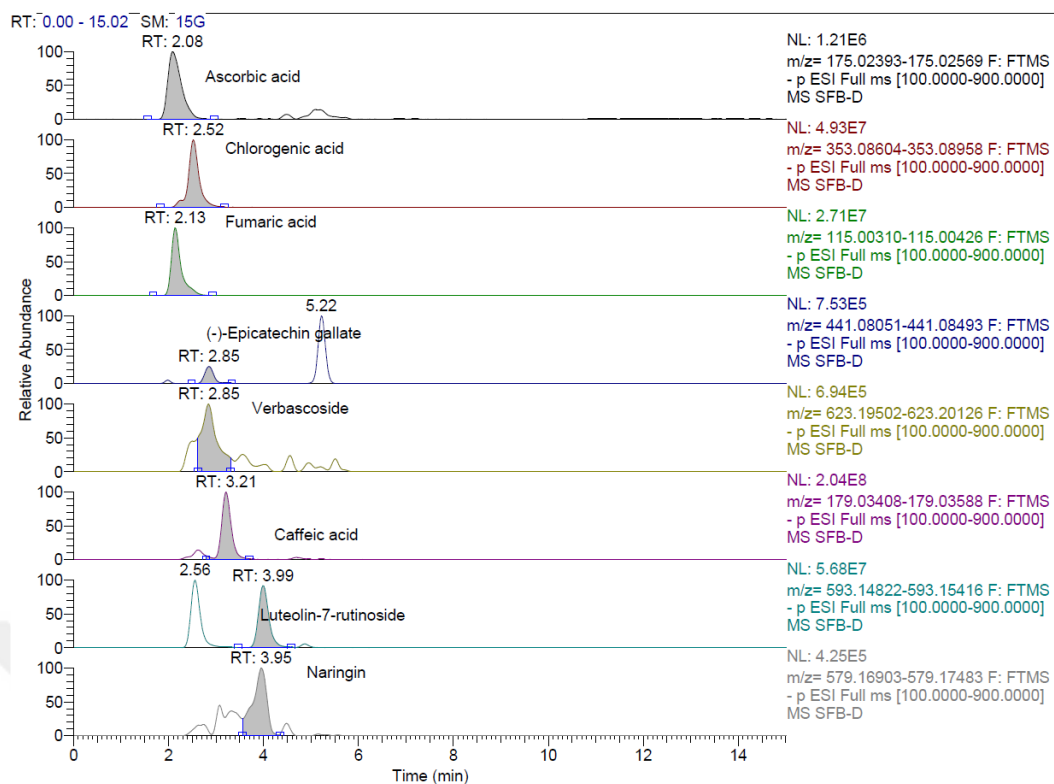
Tablo 4.2’de görüldüğü gibi Marmara Adası’ndan toplanan, dekoksasyon ve infüzyon yöntemiyle hazırlanan ekstrelerin LC-MS/MS analizi, taşıdıkları fenolik ve flavonoidlerin miktarı bakımından en yüksek sonucu vermiştir. Fakat rosmarinik asit ve şiringik asitin, hazırlanan tüm Marmara Adası *Salvia* ekstralarında çok yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Marmara Adası *Salvia* ekstralarında elde edilen 16 flavonoid/flavonoid glikozitlerden ise hispidulin en yüksek oranda bulunmuştur. Bunu nepetin-7-glucoside ve luteolin takip etmiştir.

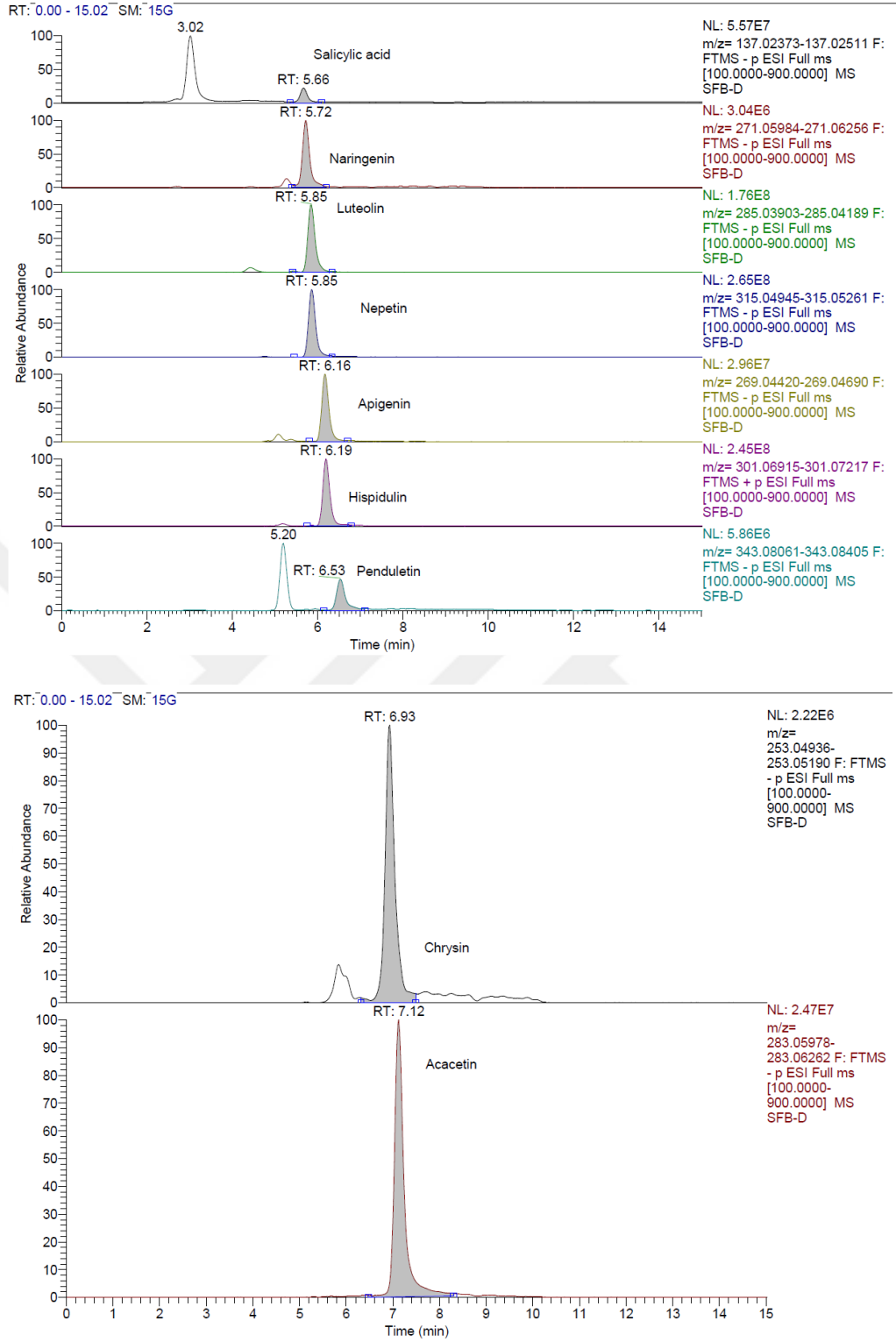
Ekstrelerle ait LC-MS/MS kromatogramları aşağıda verilmiştir.



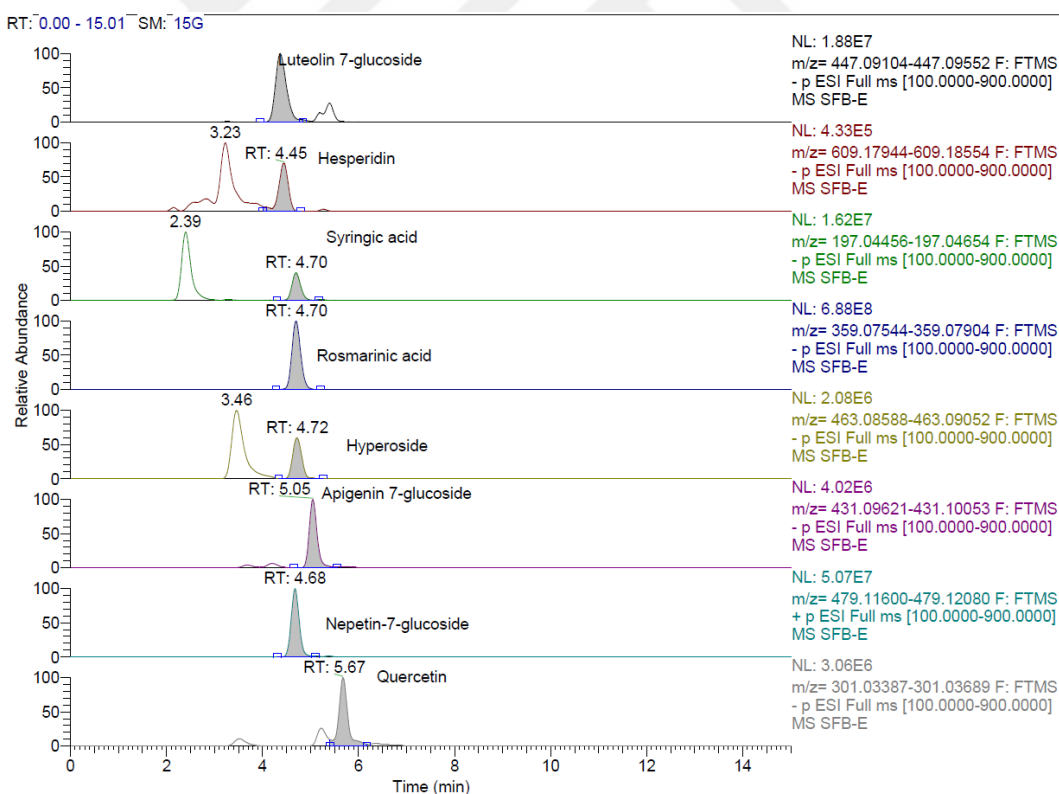
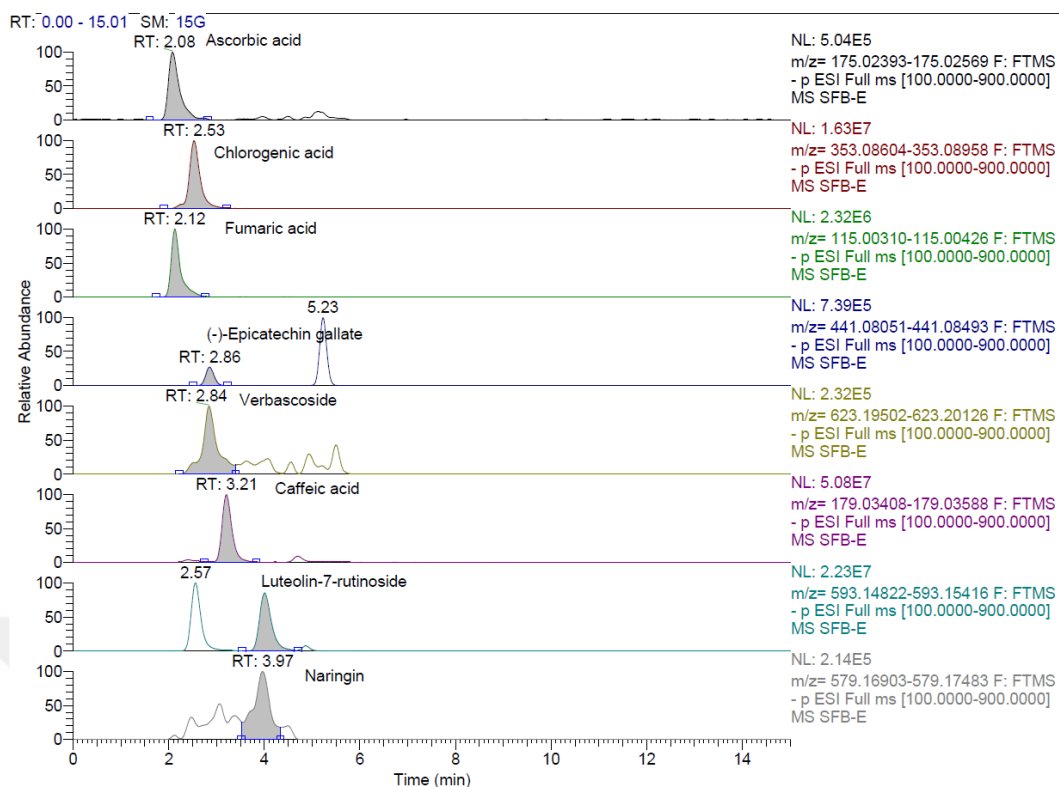


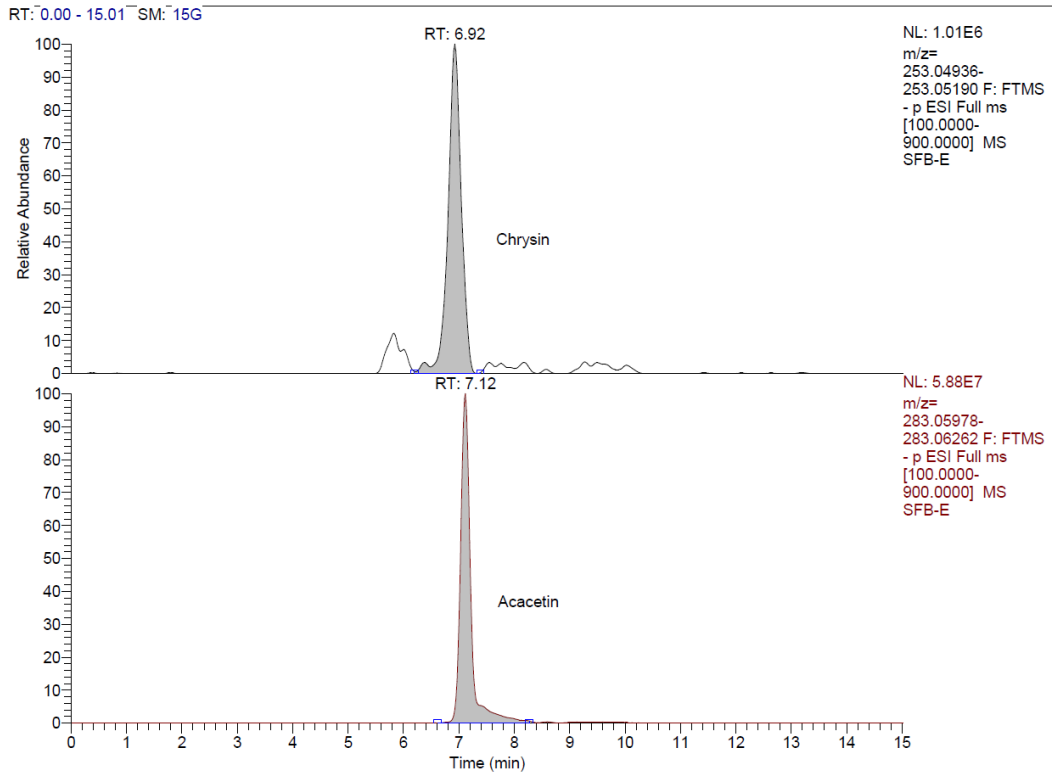
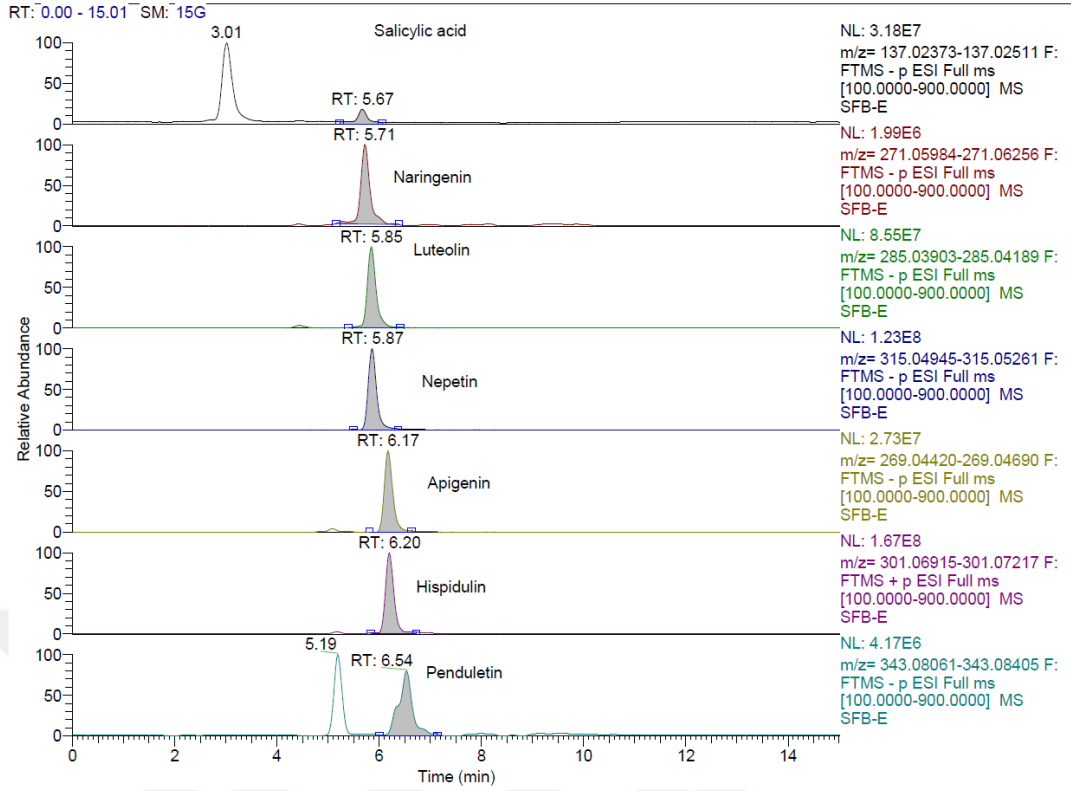
Şekil 4.1 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin infüzyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.



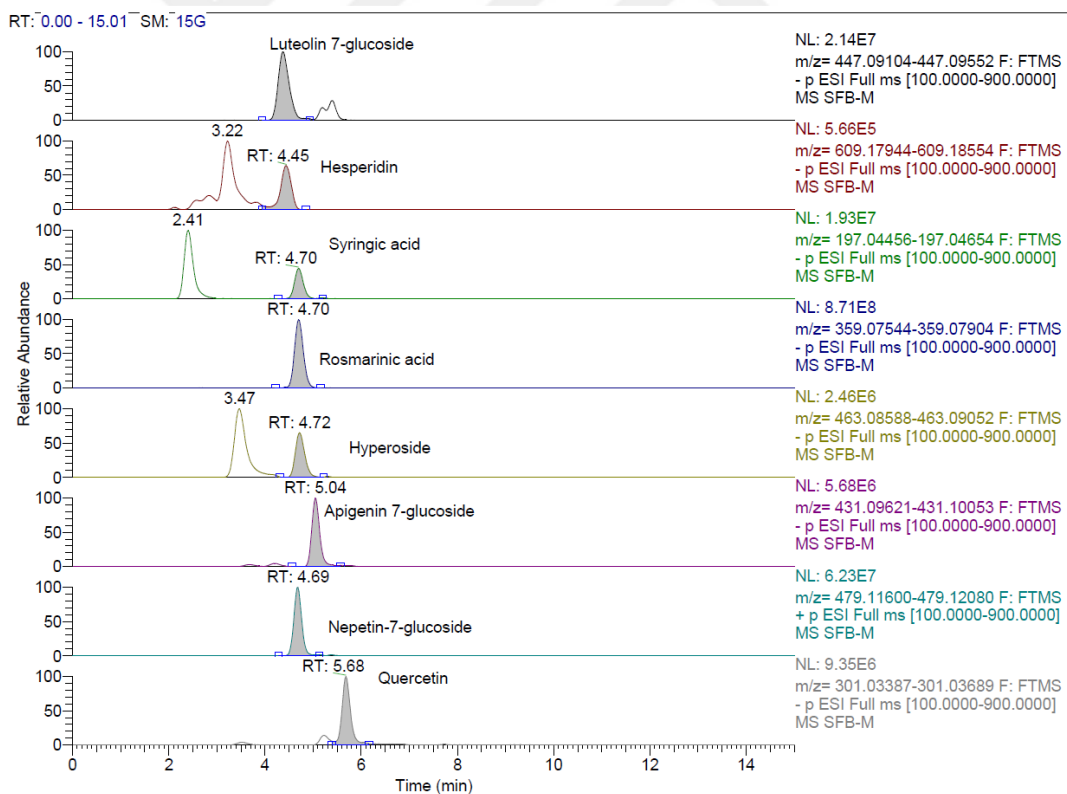
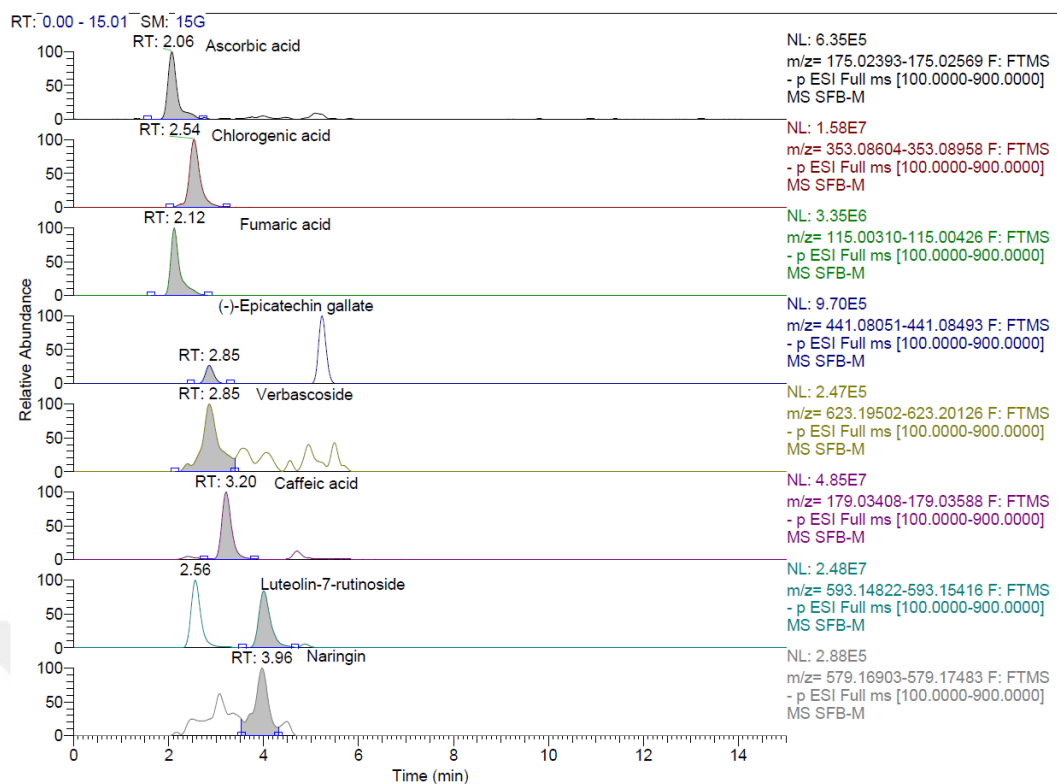


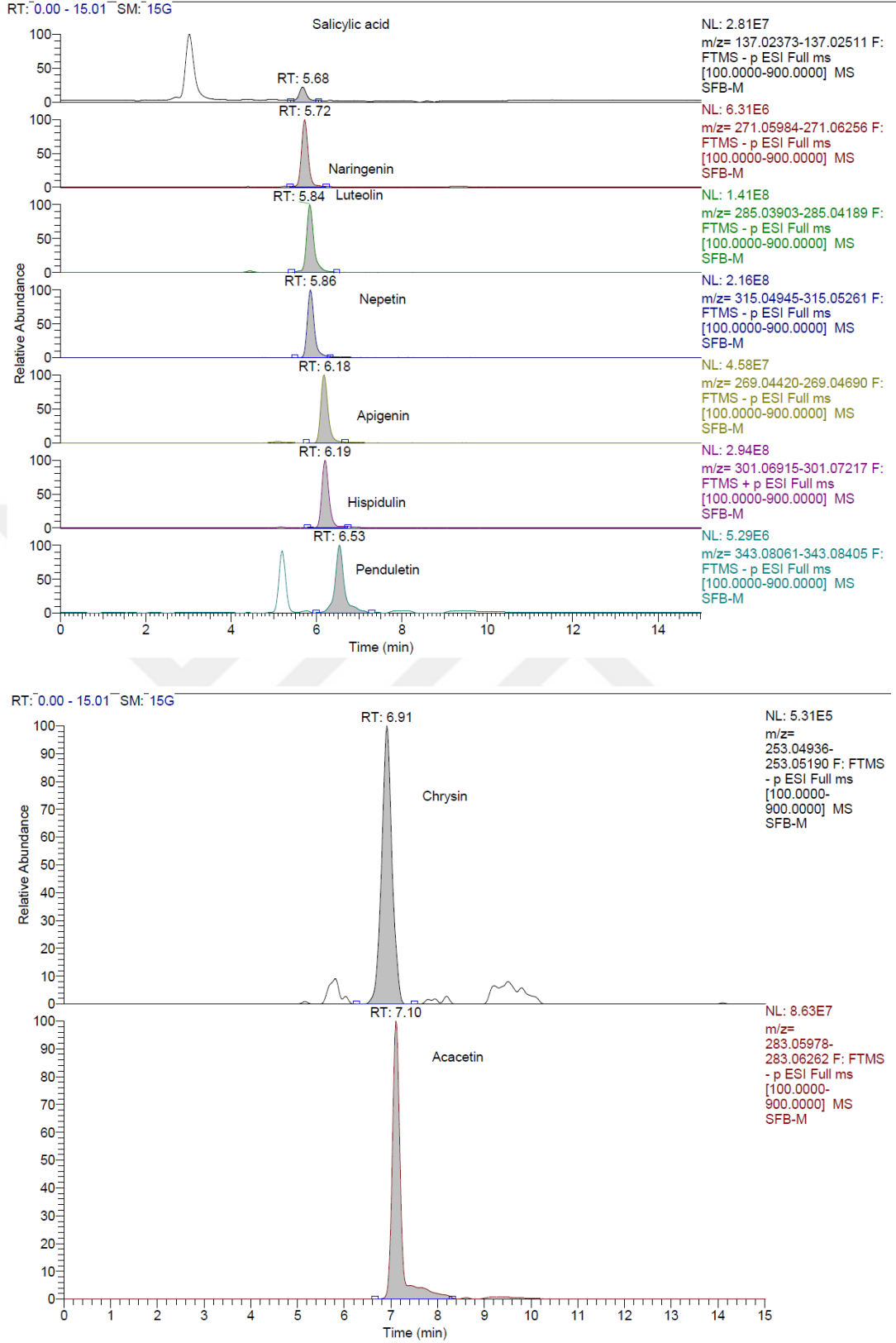
Şekil 4.2 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin dekoksasyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.



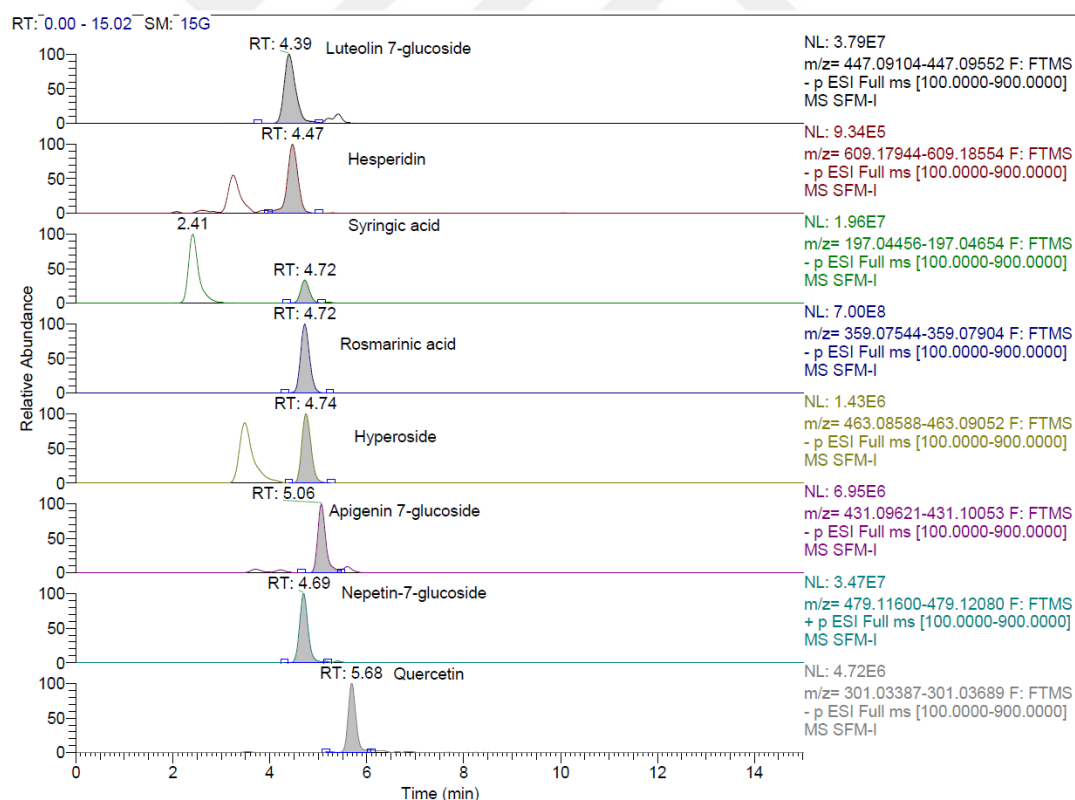
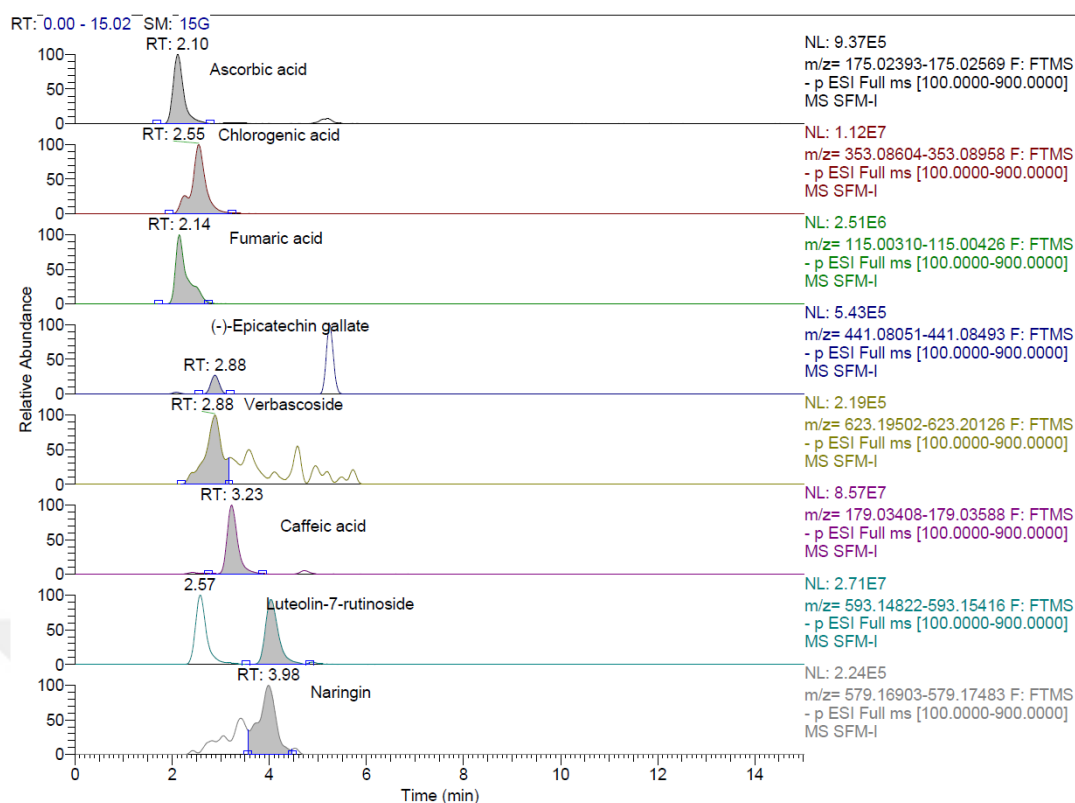


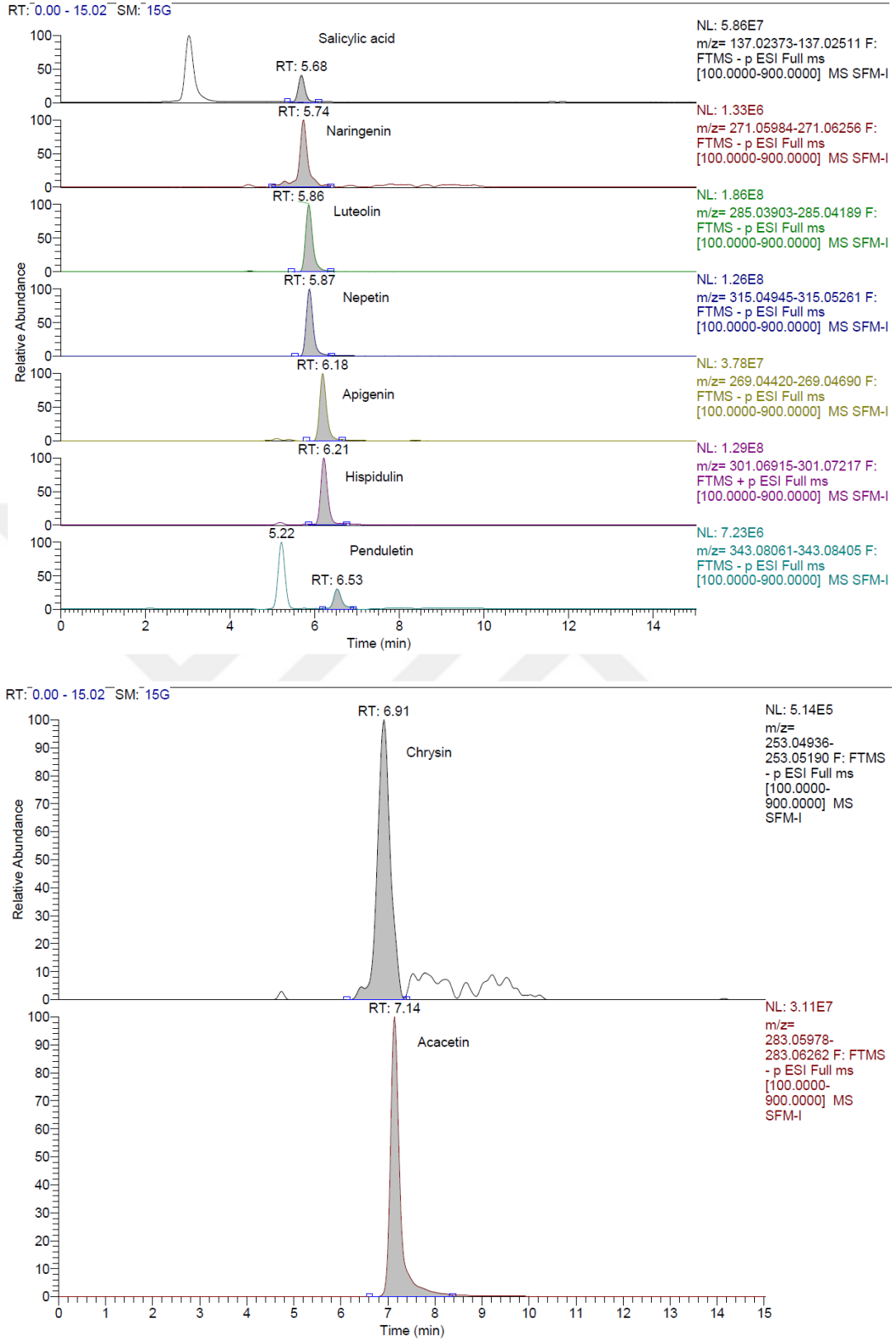
Şekil 4.3 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin etanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.



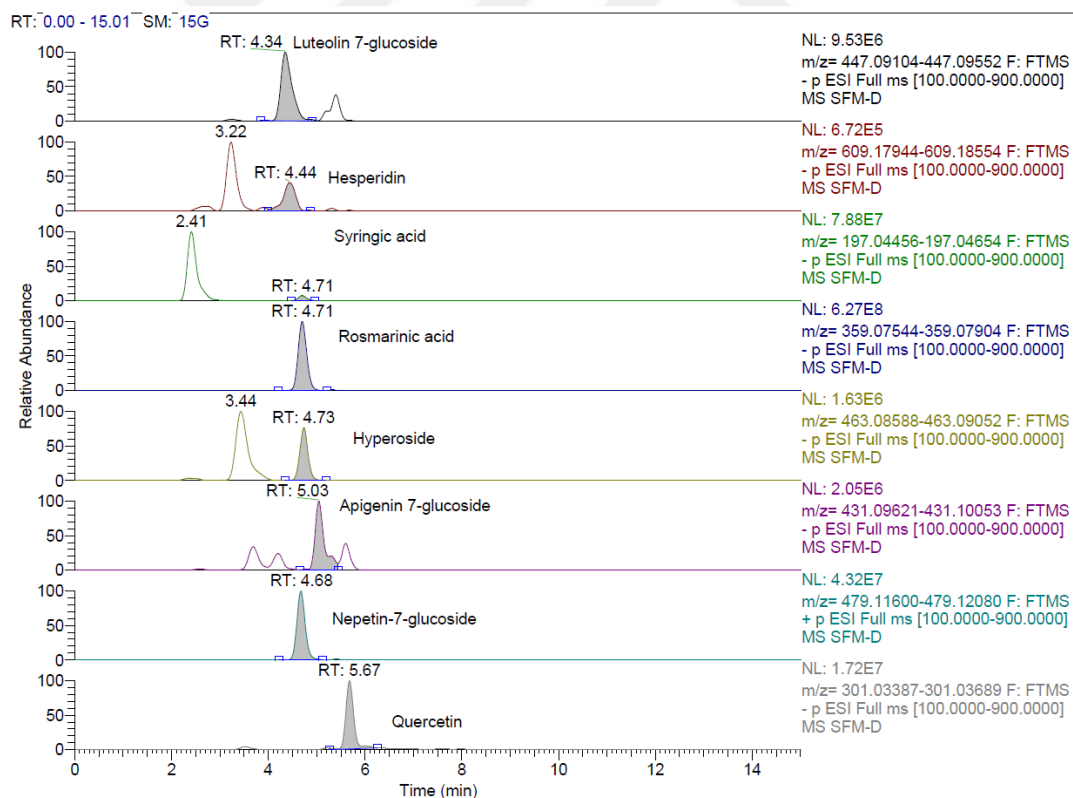
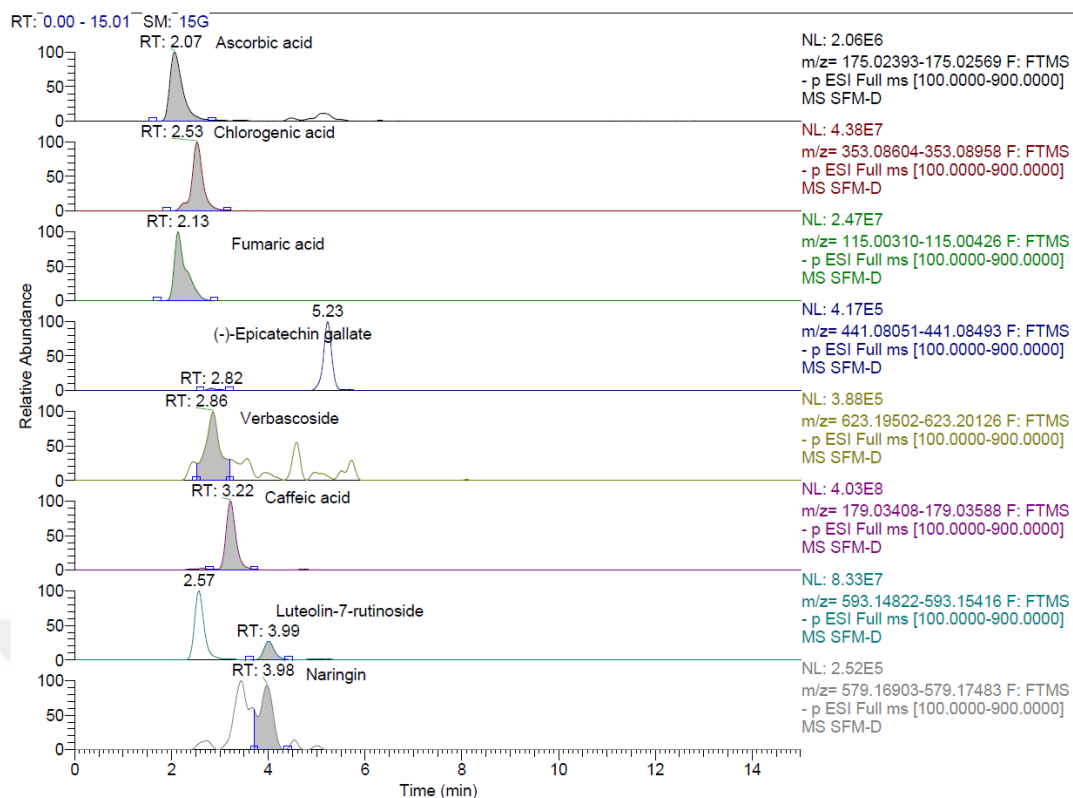


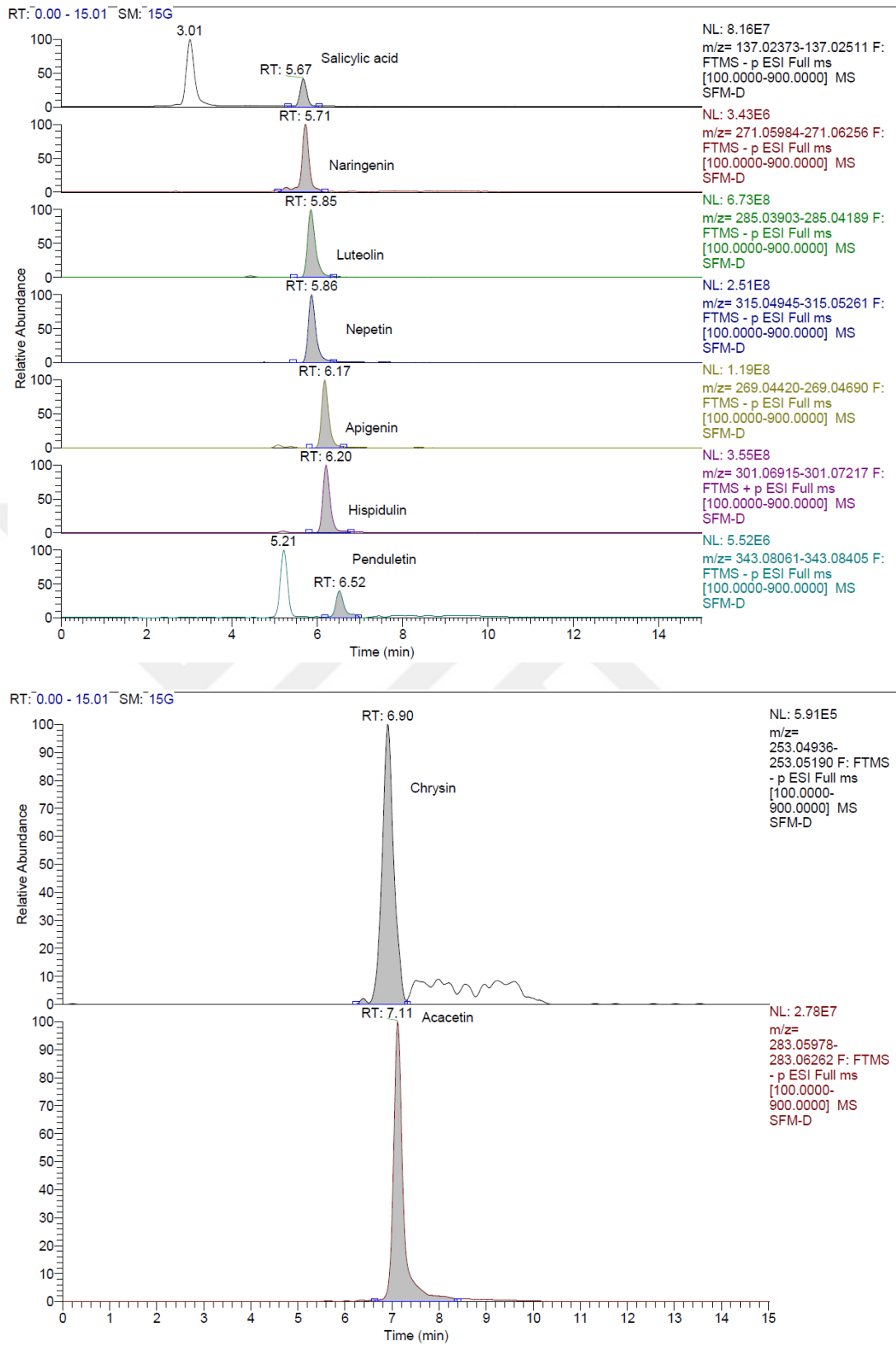
Şekil 4.4 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin metanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.



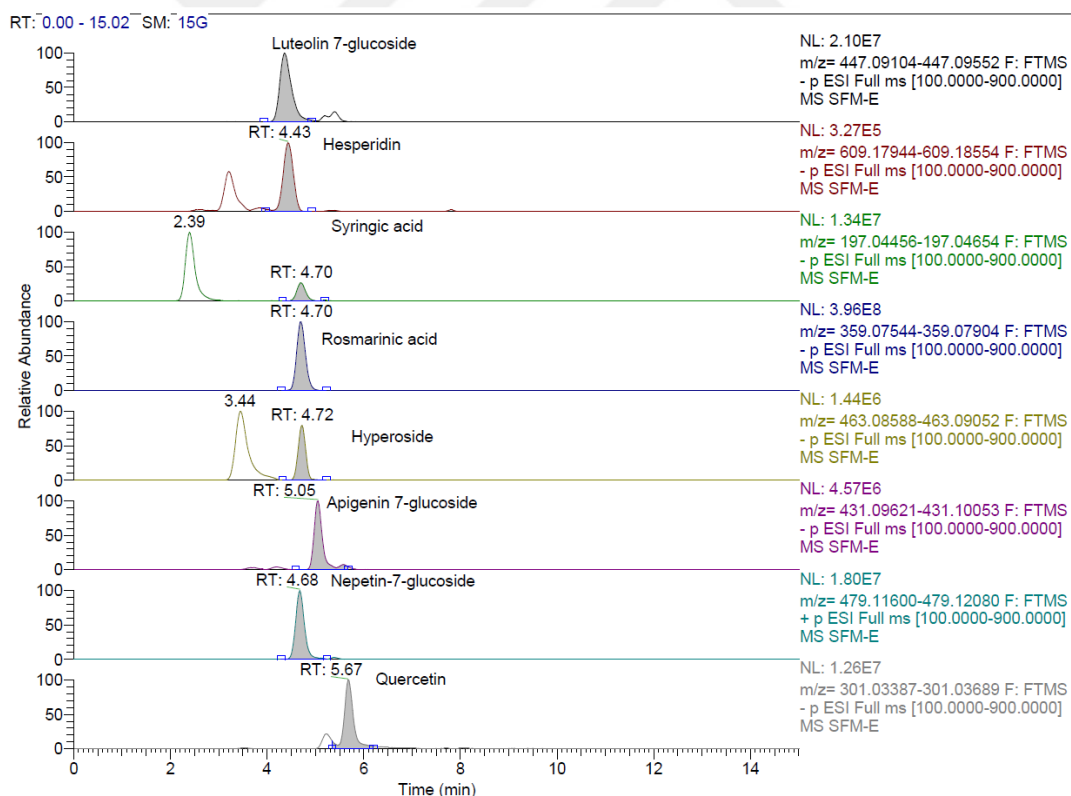
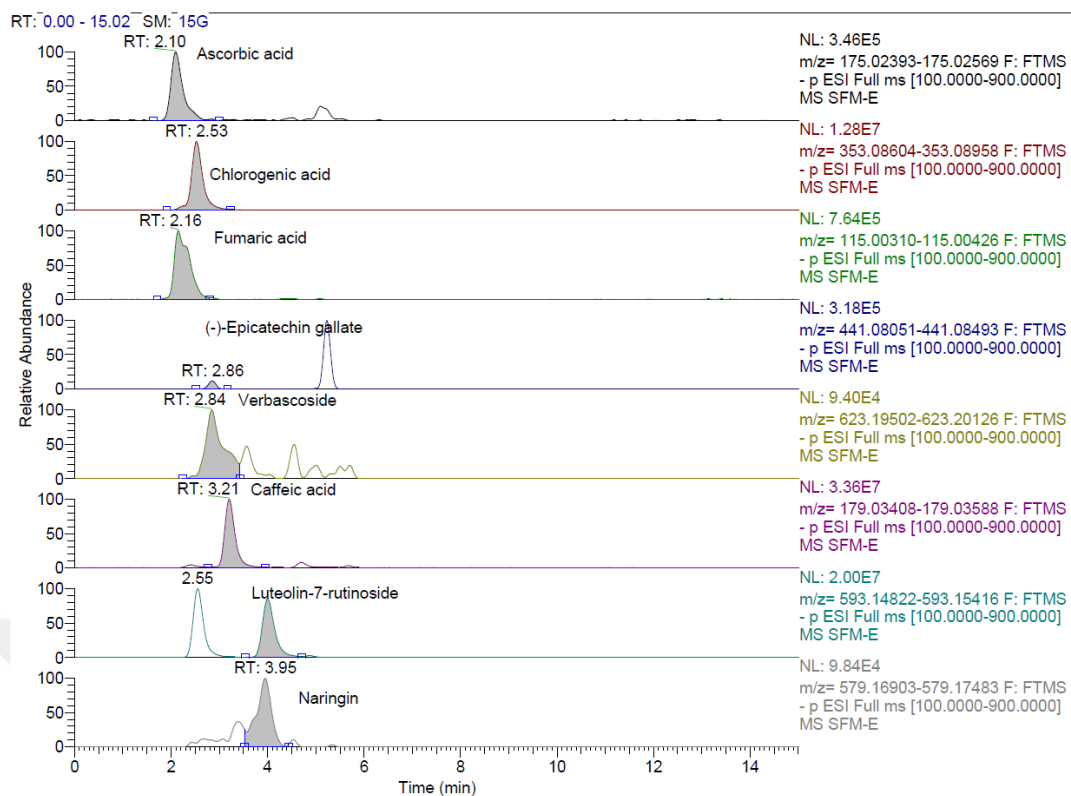


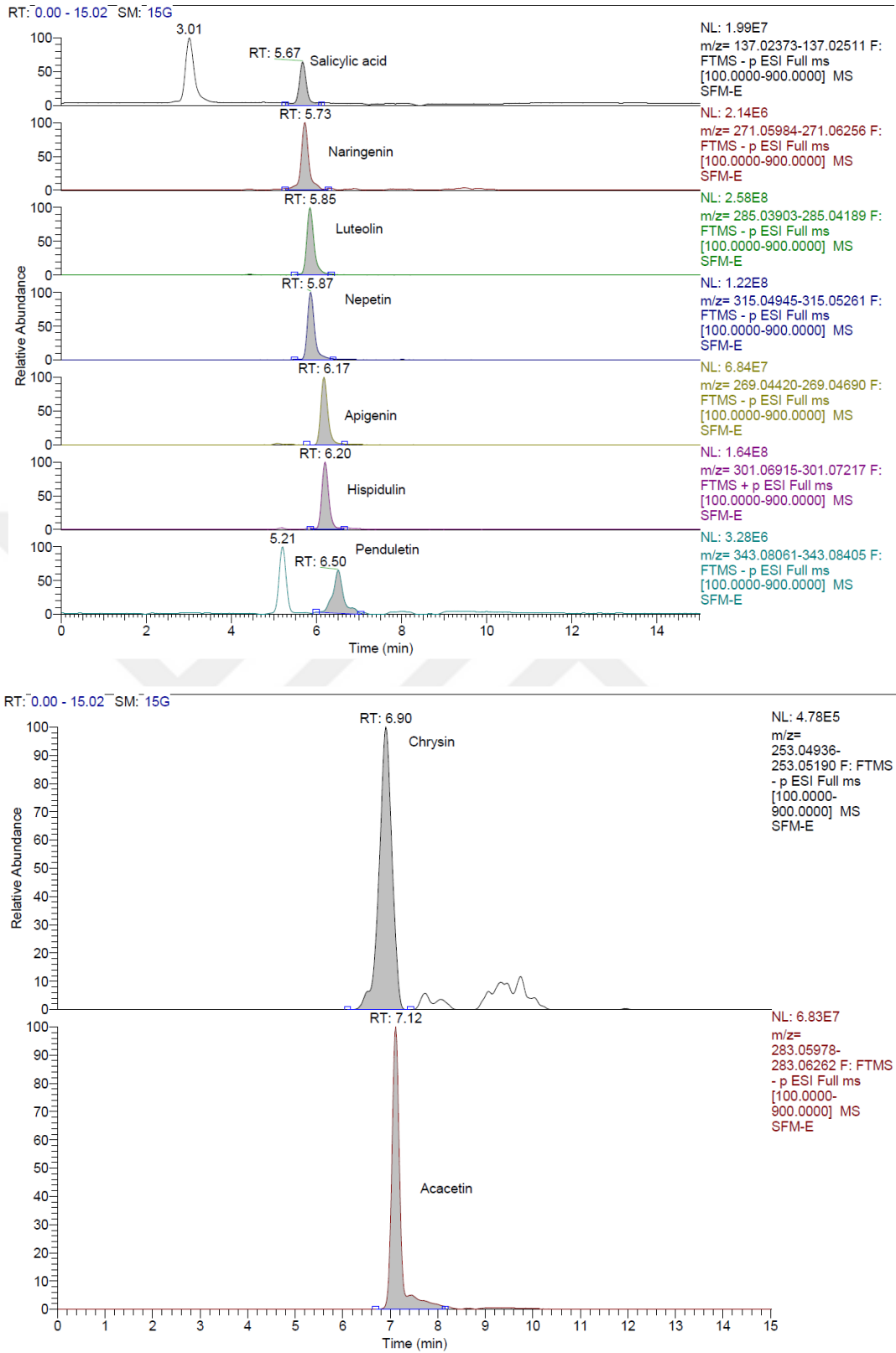
Şekil 4.5 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin infüzyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.



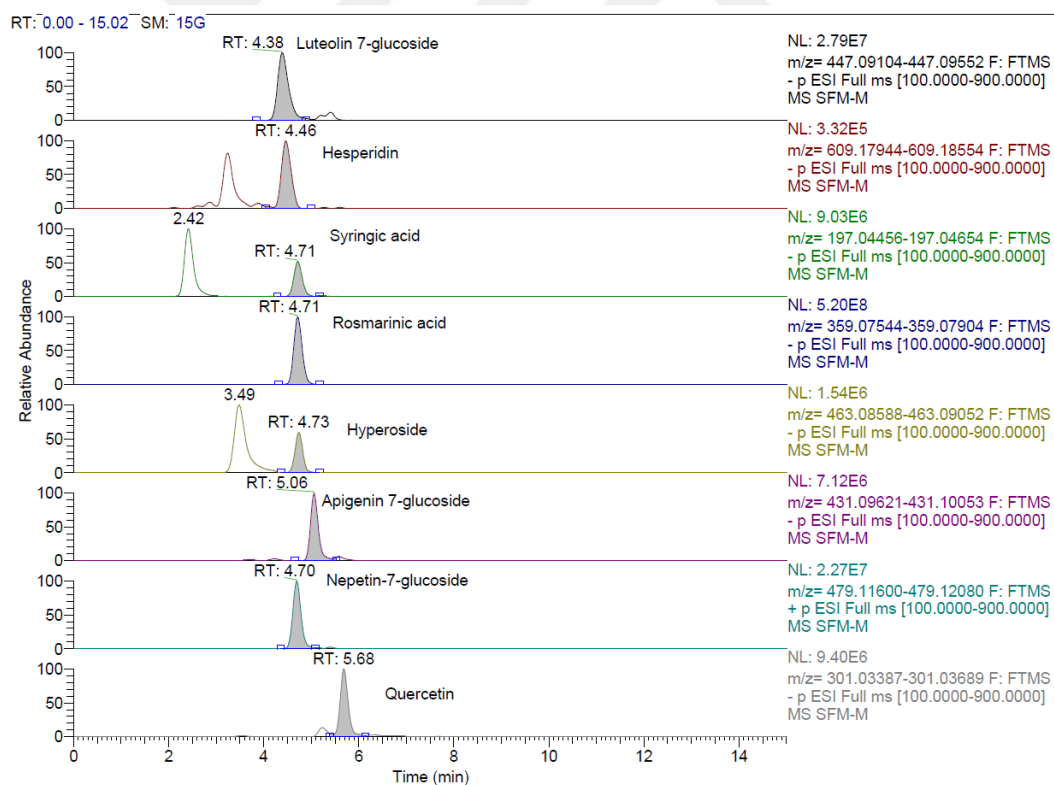
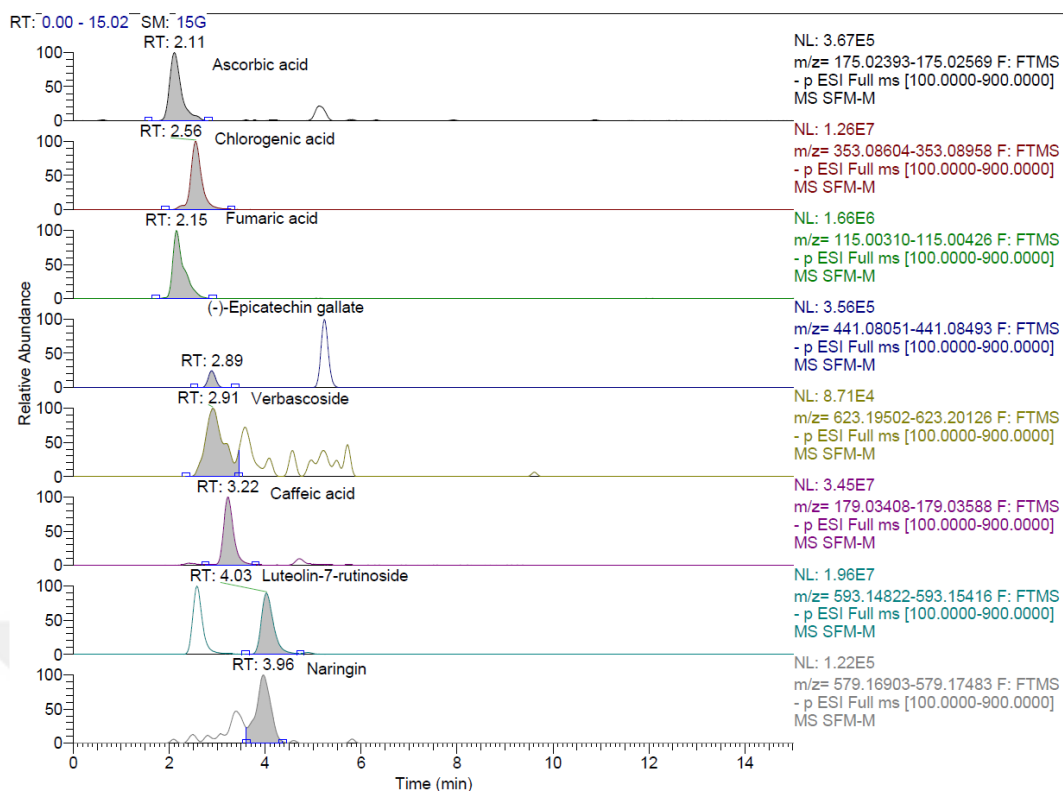


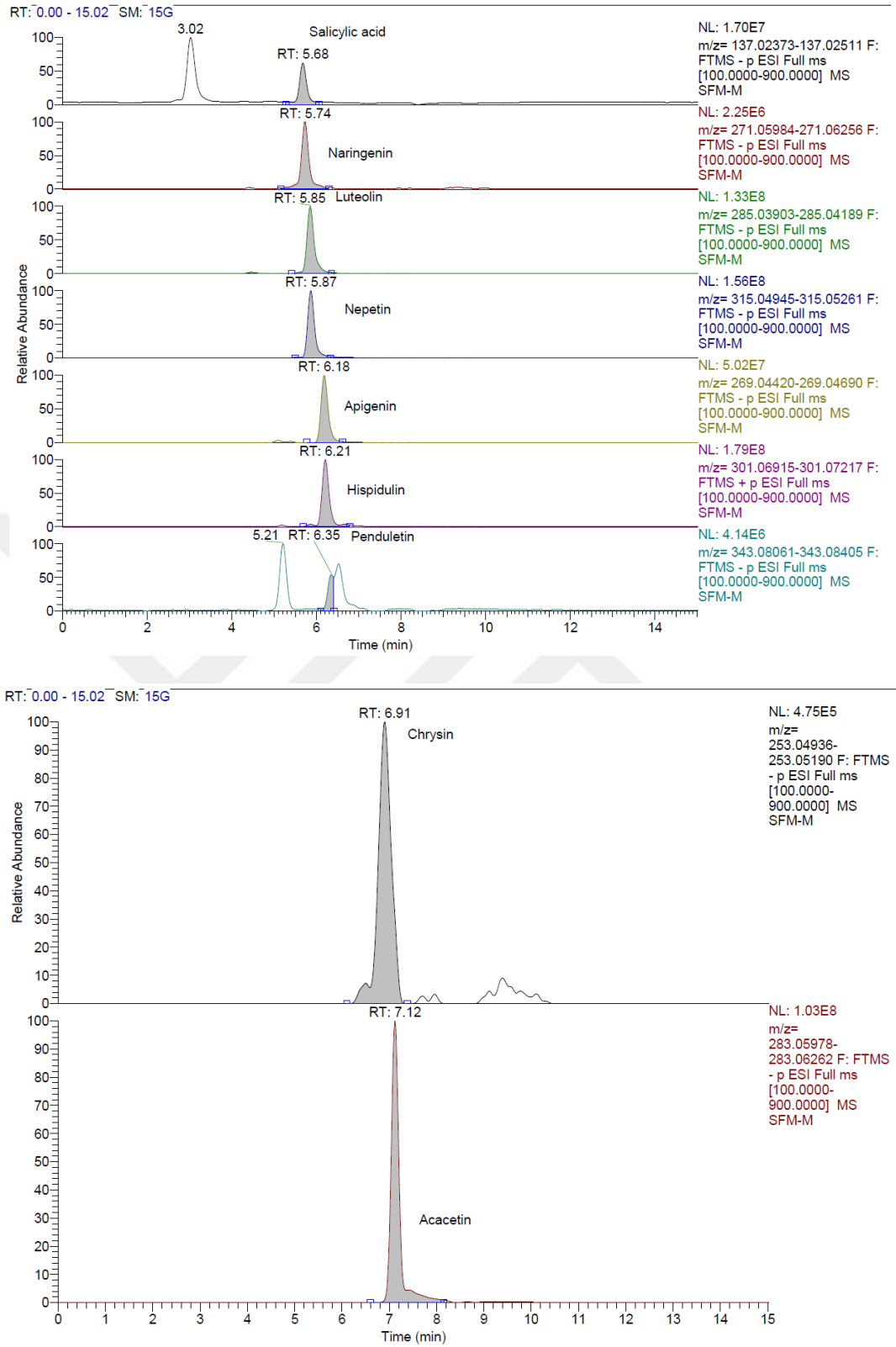
Şekil 4.6 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin dekoksiyon ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.





Şekil 4.7 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin etanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.





Şekil 4.8 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin metanol ekstresinin LC-HRMS kromatogramı.

4.1.1 LC-MS/MS yönteminin geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliği sonuçları

Fenolik bileşiklerin analizi için oluşturulan LC-MS/MS yönteminin geçerli kılınması için doğrusalılık, LOQ, LOD ve tekrarlanabilirlik deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yöntemin geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliği sonuçlarına ait çizelge Tablo 4.3'te yer almaktadır.

Tablo 4.3 : LC-MS/MS yönteminin geçerli kılınması ve ölçüm belirsizliği sonuçlarına ait çizelge.

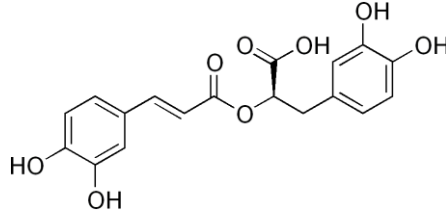
MADDE ADI	m/z	İyonizasyon Modu	Lineer aralık	Lineer regresyon denklemi	LOD/LOQ	R ²	Recovery
Ascorbic acid	175.0248	Negatif	0.5-10	y=0.00347x-0.00137	0.39/1.29	0.9988	96.2
Chlorogenic acid	353.0878	Negatif	0.05-10	y=0.00817x+0.000163	0.02/0.06	0.9994	96.68
Fumaric acid	115.0037	Negatif	0.1-10	y=0.00061x-0.0000329	0.05/0.17	0.9991	97.13
(-)-Epicatechin gallate	441.0827	Negatif	0.05-10	y=0.00788x-0.0001875	0.01/0.03	0.9995	96.54
Verbascoside	623.1981	Negatif	0.1-10	y=0.00758x+0.000563	0.03/0.1	0.9995	96.19
Caffeic acid	179.0350	Negatif	0.3-10	y=0.0304x+0.00366	0.08/0.27	0.9993	94.51
Luteolin-7-rutinoside	593.1512	Negatif	0.1-10	y=0.00879x+0.000739	0.01/0.03	0.9988	93.05
Vanilic acid	167.0350	Negatif	0.3-10	y=0.00133x+0.0003456	0.1/0.33	0.9997	98.66
Naringin	579.1719	Negatif	0.05-10	y=0.00576x-0.000284	0.01/0.03	0.9991	101.91
Luteolin 7-glucoside	447.0933	Negatif	0.1-7	y=0.0162x+0.00226	0.01/0.03	0.9961	96.31
Hesperidin	609.1825	Negatif	0.05-10	y=0.00423x+0.0000138	0.01/0.03	0.9994	96.14
Syringic acid	197.0456	Negatif	0.5-10	y=0.0000831x+0.000024	0.1/0.3	0.9991	97.29
Rosmarinic acid	359.0772	Negatif	0.05-10	y=0.00717x-0.0003067	0.01/0.03	0.9992	99.85
Hyperoside	463.0882	Negatif	0.05-10	y=0.0072x-0.00003096	0.01/0.03	0.9995	96.62
Apigenin 7-glucoside	431.0984	Negatif	0.3-7	y=0.0246x+0.00306	0.01/0.03	0.9962	96.07
Nepetin-7-glucoside	479.1184	Pozitif	0.05-10	y=0.00629x-0.0001951	0.01/0.03	0.9997	102.18
Quercetin	301.0354	Negatif	0.1-10	y=0.0509x+0.00467	0.01/0.03	0.9978	96.41
Salicylic acid	137.0244	Negatif	0.3-10	y=0.0361x+0.00245	0.01/0.03	0.9982	92.88
Naringenin	271.0612	Negatif	0.1-10	y=0.0281x+0.00182	0.01/0.03	0.9995	86.65
Luteolin	285.0405	Negatif	0.1-10	y=0.117x+0.00848	0.01/0.03	0.9981	96.98
Nepetin	315.0510	Negatif	0.05-10	y=0.0853x+0.00269	0.01/0.03	0.9992	97.76
Apigenin	269.0456	Negatif	0.3-10	y=0.104x+0.0199	0.01/0.03	0.9998	81.55
Hispidulin	301.0707	Pozitif	0.05-10	y=0.02614x+0.0003114	0.01/0.03	0.9993	98.36
Penduletin	343.0823	Negatif	0.3-10	y=0.0258x+0.00253	0.01/0.03	0.9991	83.43
Chrysin	253.0506	Negatif	0.05-7	y=0.0964x-0.0002622	0.01/0.03	0.999	87.92
Acacetin	283.0612	Negatif	0.05-7	y=0.046x+0.0001875	0.01/0.03	0.9995	87.52

4.1.2 Bitki ekstrelerinde en yaygın bulunan fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı ve biyolojik aktiviteleri

Bodrum ve Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkilerinin polar (metanol, etanol (% 70), su (infüzyon ve dekoksasyon)) ekstrelerinde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşikler; rosmarinik asit, şiringik asittir. Ayrıca kafeik asit, fumarik asit,

klorojenik asit, hispidulin, nepetin, luteolin, nepetin-7-glucoside, luteolin-7-rutinoside bileşikleri de mevcuttur.

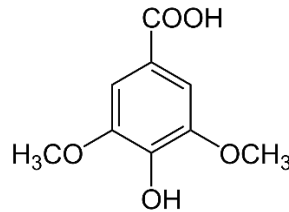
- Rosmarinik asit: Kafeik asit ve 3,4 dihidrofenillaktik asidin bir esteri olan rosmarinik asit bir fenilpropanoiddir.



Şekil 4.9 : Rosmarinik asit.

Rosmarinik asit antioksidan özelliğinden dolayı vazodaktif bir madde ve kardiyoprotektör görevi görmektedir. In vitro çalışmalara ek olarak klinik araştırmalarda dermatolojik, alerjik ve osteoartritlik bozukluklarda ve ayrıca bilişsel performansı iyileştirmede ve metabolik sendrom tedavisinde faydaları bildirilmiştir [103, 104].

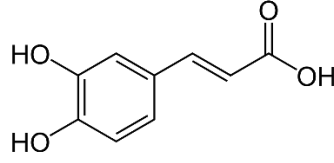
- Şiringik asit: Gallik asidin 3,5-dimetil eter türevi olan bir dimetoksibenzendir (4-hidroksi-3, 5 dimetoksibenzoik asit).



Şekil 4.10 : Şiringik asit.

Güçlü immünomodülatör, hepatoprotektör, serbest radikal temizleyici dahil olmak üzere antioksidan, antienflamasyon ve antikanser aktiviteleri gibi bir dizi biyolojik fayda sağladığı bildirilmiştir [105].

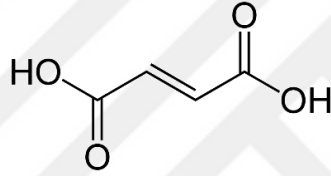
- Kafeik asit: Fenil halkasının 3 ve 4 pozisyonlarında sinamik asitin, hidroksi grupları ile süstitüe edildiği bir hidroksisinnamik asittir.



Şekil 4.11 : Kafeik asit.

Düşük konsantrasyonlarda bile güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Oksidatif stresi önleyerek serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarını önlemeye yardımcı olduğu bildirilmiştir. Antienflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antitümör ve antineoplastik aktiviteler sergilediği birçok araştırmada kanıtlanmıştır [106, 107].

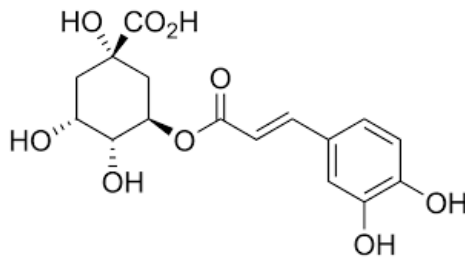
- Fumarik asit: Doymamış dikarboksilik asidin trans-izomeridir; cis-izomeri maleik asittir [108].



Şekil 4.12 : Fumarik asit.

Hem hücre içinde sitrik asit döngüsünde (Krebs döngüsü) anahtar bir ara madde hem de memelilerde üre döngüsünün bir ürünüdür. Antipsoriasis, antienflamatuvar, nöroprotektif ve kemopreventif aktivite gibi ilginç biyolojik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Fumarik asidin akciğer adenomları ve fumarat türevlerinin hepatokarsinomlar üzerindeki potansiyel kemopreventif etkileri de rapor edilmiştir [109].

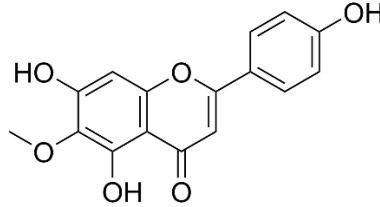
- Klorojenik asit: Kinik asitli sinnamik asit esteridir.



Şekil 4.13 : Klorojenik asit.

Güçlü bir antioksidandır. In vitro çalışmalarda, ağırlıklı olarak reaktif oksijen türlerini (ROS) ve reaktif azot türlerini (RNS) temizleyebilen antienflamatuvar etkisi bildirilmiştir [110].

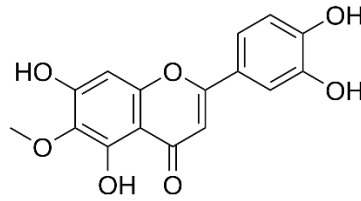
- Hispidulin: Pozisyon 6'da metillenmiş scutellarein olan bir monometoksiflavondur (4', 5, 7-trihidroksi-6-metoksiflavon).



Şekil 4.14 : Hispidulin.

Antienflamatuvar, antifungal, antiplatelet, antikonvülsan, antiosteoporotik ve özellikle antikanser aktiviteleri araştırmalarla ortaya konulmuştur. In vitro ve hayvan çalışmaları hispidulinin tümör büyümesini ve neovaskularizasyonu inhibe ederek, tümör hücresi metastazını baskılayarak ve apoptozu indükleyerek çeşitli kanser türlerinde önemli antikanser aktivitesi sergilediğini göstermiştir [111]. Yapılan bir çalışmada hispidulinin antidepresan benzeri etkisi bulunduğu ve bu etkiyi GABAerjik ve glutamaterjik mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirdiği gösterilmiştir [112].

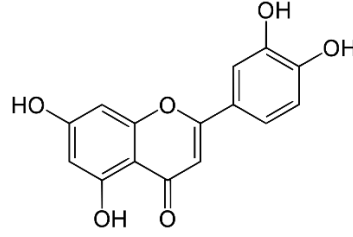
- Nepetin: Bir O-metillenmiş flavon olan pentahidroksiflavon 6-hidroksiluteolin'in 6-metoksi türevidir.



Şekil 4.15 : Nepetin.

Antienflamatuvar, antiproliferatif ve antioksidatif gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu ve mast hücresi aracılı enflamatuvar hastalıklarla ilgili antialerjik potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir [113].

- **Luteolin:** Bitkilerde çoğunlukla glikozit formunda bulunan 3,4,5,7-tetrahidroksi flavondur [114, 115].



Şekil 4.16 : Luteolin.

Antiviral, antioksidan, antienflamatuvar, nöroprotektif ve apoptotik özellikler sergileyen luteolin, multipl skleroz, otoimmün tiroidit ve otoimmün ensefalomyelit dahil enflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde uygulanmıştır [114, 116, 117]. Yara, sedef hastalığı, dermatit, cilt kanseri ve fotoyaşlanma gibi UV kaynaklı hastalıkların belirtilerini inhibe etme ve hatta tersine çevirme konusunda önemli potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir [115].

4.2 Antikolinesteraz aktivite sonuçları

Bodrum ve Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* yapraklarının metanol, sulu etanol (%70) ve su ekstraktlarının AChE ve BChE inhibisyon değerleri Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te verilmiştir. Alınan sonuçlara göre en yüksek AChE inhibisyonu Marmara Adası'ndan toplanan bitkinin hegzan ekstresinde görülmüştür. En yüksek BChE inhibisyonu ise Marmara Adası'ndan toplanan bitkinin metanol ekstresinde görülmüştür.

Tablo 4.4 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* ekstraktlarının antikolinesteraz aktivite sonuçları (% inhibisyon).

Bitki örneği	AChE (% İnhibisyon) (200 µg/mL)	BChE (% İnhibisyon) (200 µg/mL)
SFB-EtOH ekstresi	66,01449	37,79762
SFB-MeOH ekstresi	61,23188	62,32143
SFB-Hegzan ekstresi	69,34783	63,5119
SFB-İnfüzyon ekstresi	62,82609	5,8333
SFB-Dekoksiyon ekstresi	66,08696	14,22619
Galantamin (Standart Madde)	90,43478	82,7381

Tablo 4.5 : Marmara Adası’ndan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının antikolinesteraz aktivite sonuçları (% inhibisyon).

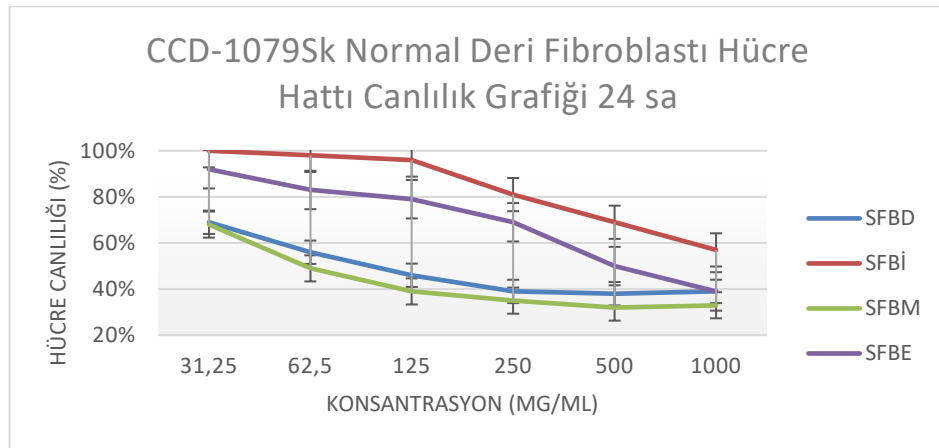
Bitki örneği	AChE (% İnhibisyon) (200 µg/mL)	BChE (% İnhibisyon) (200 µg/mL)
SFM-EtOH ekstresi	65,57971	57,5
SFM-MeOH ekstresi	73,69565	74,52381
SFM-Hegzan ekstresi	75,50725	68,92857
SFM-İnfüzyon ekstresi	57,3913	13,39286
SFM-Dekoksiyon ekstresi	58,69565	10,71429
Galantamin (Standart Madde)	90,43478	82,7381

4.3 Sitotoksik aktivite sonuçları

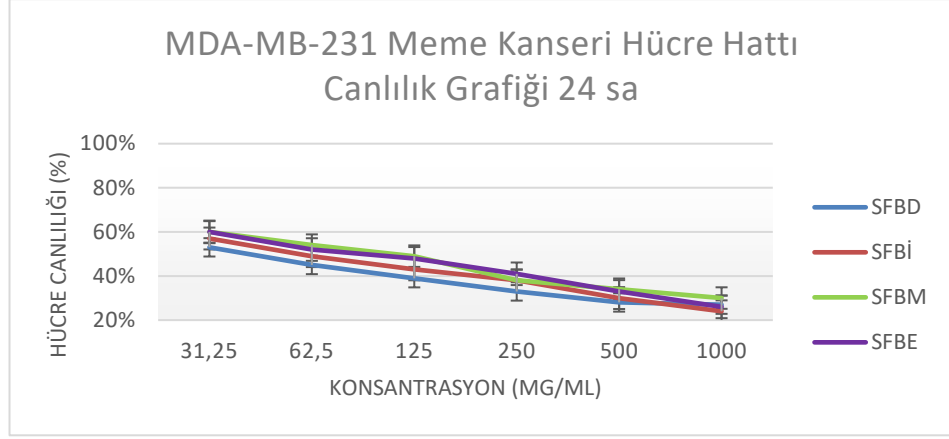
Canlılık/sitotoksisite test sonuçları Şekil 4.17 ve Şekil 4.22 arasında verilmiştir. Hücre canlılığı altı konsantrasyonda (31.25; 62.50; 125; 250; 500; 1000 mg/mL) incelenmiştir.

Canlılık grafikleri göz önüne alındığında, tüm ekstraların 1000 mg/mL konsantrasyonda meme kanseri hücre hatlarına karşı %20-30 oranında canlılığı azalttığı tespit edilmiştir. Doza bağlı olarak yüzde inhibisyon değeri artmaktadır.

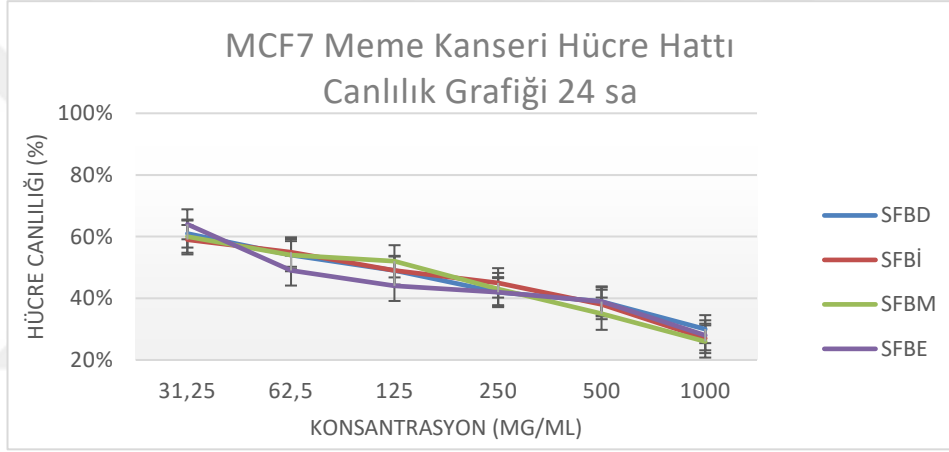
Ekstrelerin sağlıklı deri hücresindeki etkisinin sitotoksik olmadığı tespit edilmiştir.



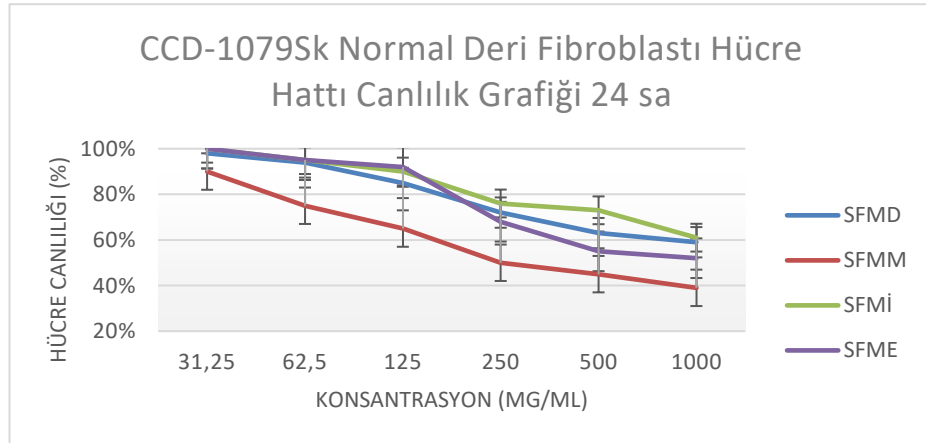
Şekil 4.17 : Bodrum’dan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının CCD-1079Sk normal deri fibroblastı hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.



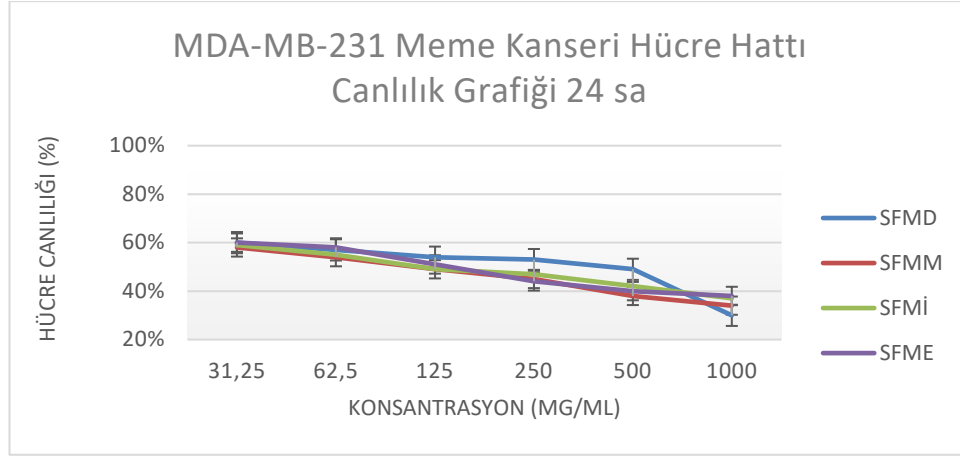
Şekil 4.18 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.



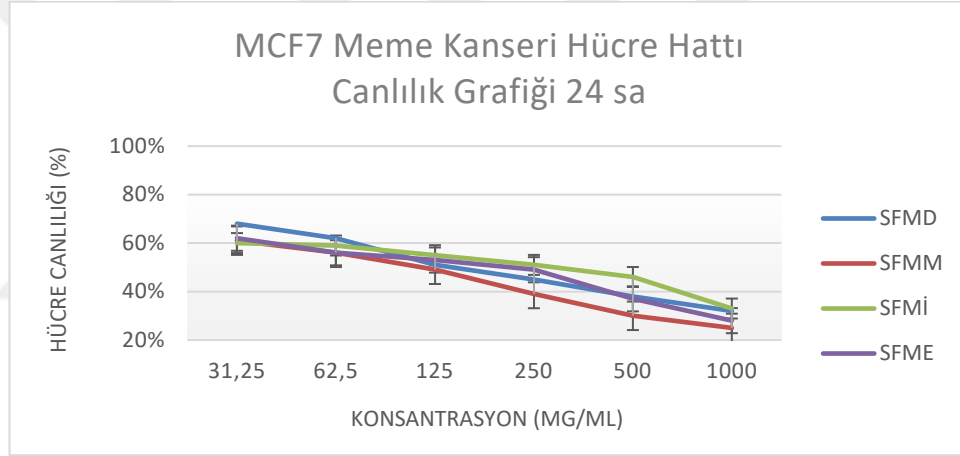
Şekil 4.19 : Bodrum'dan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının MCF-7 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.



Şekil 4.20 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının CCD-1079Sk normal deri fibroblastı hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.



Şekil 4.21 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.



Şekil 4.22 : Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* ekstralarının MCF-7 meme kanseri hücre hattında hücre canlılığının yüzde grafiği.

S. fruticosa bitkisinden farklı çözücülerle hazırlanan ekstraların kısaltmaları:

I: İnfüzyon,

D: Dekoksasyon,

E: Etanol ekstresi,

M: Metanol ekstresidir.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Salvia türlerinin, içerdikleri sekonder metabolitleri nedeniyle mikroorganizmalara karşı [antibakteriyel (hatta bazı türleri antitüberküloz) [29], antifungal, antiviral], antioksidan, antikolinesteraz, antienflamatuvar ve antikanser aktiviteler dahil çok çeşitli biyolojik aktiviteleri olduğu yapılan araştırmalarla belirlenmiştir.

Bodrum ve Marmara Adası'ndan topladığımız *S. fruticosa* Mill. (syn. *S. triloba* L.) bitki örneklerinin toprak üstü kısımlarının polar [metanol, sulu etanol, su (infüzyon ve dekoksasyon)] ekstralarının herbirinde 25 sekonder metabolit tayin edilmiştir, ilaveten vanilik asit bileşiği sadece metanol ekstresinde dedekte edilmiştir. En fazla miktarda bulunan bileşikler; fenolik asitler (rosmarinik asit, şirinjik asit, kafeik asit, klorojenik asit) ve fumarik asit, flavonoidler (hispidulin, nepetin, luteolin) ve flavonoid glikozitler (nepetin-7-glucoside, luteolin-7-rutinoside) olarak bulunmuştur.

Bodrum ve Marmara Adası *S. fruticosa* bitki ekstralarının karşılaştırmalı analizine göre; en yüksek miktarda bulunan bileşenlerden rosmarinik asit Bodrum'dan ve Marmara Adası'ndan toplanan bitkinin infüzyon ekstralarında (sırasıyla 20197.33 mg/kg, 13992.45 mg/kg) tespit edilmiştir. İkinci en yüksek miktarda bulunan bileşik olan şirinjik asit (syringic acid) Bodrum'dan ve Marmara Adası'ndan toplanan *S. fruticosa* bitkisinin infüzyon ekstralarında (sırasıyla 17586.88 mg/kg, 11238.35 mg/kg) tespit edilmiştir. Üçüncü en yüksek miktarda bulunan fumarik asit ise Bodrum'dan toplanan örneğin infüzyon ekstresinde yüksek (6270.82 mg/kg) iken, Marmara Adası'ndan toplanan örneğin dekoksasyon ekstresinde (6301.77 mg/kg) yüksek bulunmuştur. Flavon/flavonoid glikozitleri arasında nepetin-7-glucoside ve hispidulin bileşikler en yüksek oranlarda gözlenmişlerdir; bunlardan hispidulin en yüksek oranlarda Marmara Adası'ndan toplanan bitkinin dekoksasyon ekstresinde (1472.12 mg/kg) ve Bodrum'dan toplanan bitkinin metanol ekstresinde (1057.20 mg/kg) bulunmuştur. Buna karşın, chrysin ve epicatechin gallate en düşük oranlarda bulunan flavonoidlerdir.

Antikolinesteraz aktivite sonuçlarına göre, Bodrum'dan toplanıp hazırlanan bitki ekstralarının herbiri AChE (asetilkolinesteraz) enzimini 200 µg/mL konsantrasyonda (%61-69.3) inhibisyona uğrattırken, en yüksek inhibisyon değerini hegzan ekstresi göstermiştir. Marmara Adası'ndan toplanıp hazırlanan bitki ekstralarından hegzan ekstresi (%75.5), metanol ekstresi (%73.7) ve etanol ekstresinin (%65.6) AChE enzimine karşı yüksek inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. BChE (butirilkolinesteraz) enzimine karşı ise, Marmara Adası'ndan toplanan bitkinin hegzan (%68.9) ve özellikle metanol (%74.5) ekstraları yüksek inhibisyon göstermişlerdir. Her iki bitkinin de infüzyon ve dekoksiyonları BChE'ye karşı zayıf inhibisyon göstermişlerdir.

Bodrum'dan toplanarak hazırlanan *S. fruticosa* ekstralarının canlı (sağlıklı) fibroblast hücreleri üzerinde özellikle 500 mg/mL konsantrasyondan itibaren sitotoksikite oranı yükselerek 1000 mg/mL'de sağlıklı hücrelerin canlılık oranının %30-60 olduğu gözlenmiştir. Marmara Adası'ndan toplanarak hazırlanan tüm *S. fruticosa* ekstralarının ise sağlıklı fibroblastlara karşı hücre canlılığının en yüksek konsantrasyonda (1000 mg/mL) %40-60 oranında olduğu görülmüştür.

Meme kanseri hücre hatlarına karşı ise her iki lokasyondan toplanarak hazırlanan *Salvia* ekstraları en düşük konsantrasyonda %30-35, en yüksek konsantrasyonda %70-75 oranında sitotoksik aktivite göstermişlerdir. Fakat, bu iki hücre hattından MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı Bodrum *Salvia* infüzyon ve dekoksiyon ekstraları, MCF-7 hücre hatlarına karşı ise Marmara Adası *Salvia* metanol ekstresi daha yüksek aktivite göstermişlerdir.

Elde edilen bulgular, ülkemizde doğal olarak yetişen ve Anadolu adaçayı olarak da adlandırılan tıbbi adaçayımız *S. fruticosa* (sinonim *S. triloba*) bitkisinin fenolik bileşenlerce zengin içeriği, orta-yüksek derecede antikolinesteraz aktivite göstermesi ve sağlıklı hücre hatlarına karşı 125 mg/mL konsantrasyona kadar sitotoksik olmaması, meme kanseri hücre hatlarına karşı ise sitotoksik etkileri nedeniyle ekstralarının ve potansiyel ilaç etkin maddeleri (sekonder metabolitleri) nin daha ileri araştırmalar, özellikle klinik araştırmalarla değerlendirilmesinin gerekli olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Şenkul, Ç., & Kaya, S. (2017). Türkiye endemik bitkilerinin coğrafi dağılışı. *Türk Coğrafya Dergisi* 69, 109-120.
- [2] Türkiye Büyük Millet Meclisi. (2019). *Tıbbi ve Aromatik Bitki Çeşitliliğinin Korunmasında, Bunların Üretiminde ve Pazarlanmasında Karşılaşılan Sorunlar ile Alınması Gereken Tedbirlerin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan Meclis Araştırması Komisyonu Raporu* (Rapor No. 159). Ankara: TBMM.
- [3] Yener, İ. (2020). Determination of antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, antiurease, antityrosinase, and antielastase activities and aroma, essential oil, fatty acid, phenolic, and terpenoid-phytosterol contents of *Salvia pocalata*, *Industrial Crops & Products*, 155, 112712.
- [4] Napoli, E., Siracusa, L. & Ruberto, G. (2020). New Tricks for Old Guys: Recent Developments in the Chemistry, Biochemistry, Applications and Exploitation of Selected Species from the Lamiaceae Family. *Chem. Biodiversity*, 17, e1900677.
- [5] Topcu, G., & Kusman, T. (2014). Lamiaceae family plants as a potential anticholinesterase source in the treatment of Alzheimer's disease. *Bezmialem Science* 1, 1-25.
- [6] Baydar, H. (2019). *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi*. Nobel Yayıncılık.
- [7] Topçu, G., Yücer, R., & Şener, H. (2017). Bioactive Constituents of Anatolian Salvia Species. *Springer International Publishing AG, part of Springer Nature. Georgiev and A. Pavlov (eds.), Salvia Biotechnology*.
- [8] Sharifi-Rad, M. et al. (2018). *Salvia* spp. plants-From Farm to Food applications and Phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, S0924-2244(18)30115-8.
- [9] Askari, S. F., Avan, R., Tayarani-Najaran, Z., Sahebkar, A., & Eghbali, S. (2021). Iranian Salvia species: A phytochemical and pharmacological update. *Phytochemistry* 18, 112619.
- [10] Topcu, G. (2006). Bioactive Triterpenoids from Salvia Species. *J. Nat. Prod.*, 69, 482-487.
- [11] Özler, H., Pehlivan, S., Kahraman, A., Dogan, M., Celep, F.,... & Bagherpour, S. (2011). Pollen morphology of the genus Salvia L. (Lamiaceae) in Turkey. *Flora* 206, 316–327.
- [12] Kamatoua, G. P. P., Makunga, N. P., Ramogola, W. P. N., & Viljoen, A. M. (2008). South African Salvia species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology* 119, 664–672.

- [13] **Martin, E., Altınordu, F., Celep, F., Kahraman, A. & Doğan, M.** (2015). Karyomorphological studies in seven taxa of the genus *Salvia* (Lamiaceae) in Turkey. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, Vol. 68, No. 1, 13–18.
- [14] **İpek, A., & Gürbüz, B.** (2010). Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19 (1-2): 30-35 *Derleme (Review)*.
- [15] **Özler, H., Pehlivan, S., Celep, F., Doğan, M., Kahraman, A.,...& Bagherpour, S.** (2013). Pollen morphology of Hymenosphace and Aethiopsis sections of the genus *Salvia* (Lamiaceae) in Turkey. *Turk J Bot* 37: 1070-1084.
- [16] **Bahadırli, N. P., & Ayanoglu, F.** (2020). Genetic diversity of *Salvia* species from Turkey assessed by microsatellite markers. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100281.
- [17] **Bayram, E., & Sönmez, Ç.** (2006). Adaçayı Yetiştiriciliği. *Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi Bülteni, Yayın Bülteni*: 48.2018.
- [18] **Sarroua, E., Martens, S., & Chatzopoulou, P.** (2016). Metabolite profiling and antioxidative activity of Sage (*Salvia fruticosa* Mill.) under the influence of genotype and harvesting period. *Industrial Crops and Products* 94, 240–250.
- [19] **Etik, M.** (2017). *Muğla Florasından Salvia fruticosa* Mill. (syn. *Salvia triloba* L.) Örneklerinde Genetik Farklılıkların Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- [20] **Gürdal, B., & Kültür, Ş.** (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1): p. 113-126.
- [21] **Leontaritou, P., Lamarib, F. N., Papasotiropoulos, V., & Iatrou, G.** (2020). Morphological, genetic and essential oil variation of Greek sage (*Salvia fruticosa* Mill.) populations from Greece. *Industrial Crops and Products*, Volume 150, 112346.
- [22] **Hatipoğlu, S. D., Zorlu, N., Dirmenci, T., Goren, A. C., Ozturk, T. & Topcu, G.** (2016). Determination of Volatile Organic Compounds in Fourty Five *Salvia* Species by Thermal Desorption-GC-MS Technique. *Rec. Nat. Prod.* 10:6, 659-700.
- [23] **Kintzios, S. E.** (2000). *SAGE The Genus Salvia*. Athens, Greece: Harwood Academic Publishers.
- [24] **Wu, Y., Ni, Z., Shi, Q., Dong, M., Kiyota, H., Gu, Y., & Cong, B.** (2012). Constituents from *Salvia* Species and Their Biological Activities. *Chem. Rev.* 112, 5967–6026.
- [25] **Ulubelen, A. et al.** (2001). Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia blepharochlaena*. *J Nat Prod* 64(4):549–551.
- [26] **Topcu, G. et al.** (2008). Cytotoxic activity of some Anatolian *Salvia* extracts and isolated abietane diterpenoids. *Pharm Biol* 46(3):180–184.
- [27] **Çulhaoğlu, B. et al** (2015). Antioxidant and anticholinesterase activities of lupane triterpenoids and other constituents of *Salvia trichoclada*. *Med Chem Res* 24(11):3831–3837.

- [28] **Senol, FS. et al** (2010). Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chem* 120(1):34–43.
- [29] **Ulubelen A., Topcu, G., & Johansson, CB.** (1997) Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. *J Nat Prod* 60(12):1275–1280.
- [30] **Cadirci, E. et al** (2012) Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. *Turk J Biol* 36(1):59–64.
- [31] **Todorov, S., Philianos, S., Petkov, V., Harvala, C., Zamfirova, R., & Olimpiou, H.** (1984). Experimental pharmacological study of three species from genus *Salvia*. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*;10:13.
- [32] **Topcu, G., Öztürk, M., Kuşman, T., Barla Demirköz, A. A., Kolak, U., & Ulubelen, A.** (2013). Terpenoids, essential oil composition, fatty acid profile, and biological activities of Anatolian *Salvia fruticosa* Mill. *Turk J Chem* 37: 619 – 632.
- [33] **Ulubelen, A.** (2003). Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. *Phytochemistry*, 64, 395–399.
- [34] **Zhang, Y., Mao, X., Su, J. et al** (2017). A network pharmacology-based strategy deciphers the underlying molecular mechanisms of Qixuehe Capsule in the treatment of menstrual disorders. *Chin Med* 12:23.
- [35] **Baytop, T.** (1984). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul Üniversitesi.
- [36] **Asadollahi M, Firuzi O, Heidary Jamebozorgi F, Alizadeh M, & Jassbi AR.** (2018). Ethnopharmacological Studies, Chemical Composition, Antibacterial and Cytotoxic Activities of Essential Oils of Eleven *Salvia* in Iran. *Journal of Herbal Medicine*.
- [37] **Elmas, S., Arabacı, O., & Zeybek, A.** (2019). Muğla yöresindeki *Salvia fruticosa* Mill. populasyonlarının bazı tarımsal özelliklerinin ve uçucu yağ oranlarının belirlenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(2): 243-249.
- [38] **Karık, Ü., & Sağlam, A. C.** (2017). Tekirdağ Ekolojik Koşullarında Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa* Mill.) Popülasyonlarının Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26 (2): 203–215 *Araştırma Makalesi*.
- [39] **Duletić-Laušević, S., Aradski, A. A., Šavikin, K., Knežević, A.,... & Marin, P. D.** (2018). Composition and biological activities of Libyan *Salvia fruticosa* Mill. and *S. lanigera* Poir. Extracts. *South African Journal of Botany* 117, 101–109.
- [40] **Koutsoulas, A., Carneek, M., Slanina, J., Tóth, J., & Slaninová, I.** (2019). Characterization of Phenolic Compounds and Antiproliferative Effects of *Salvia pomifera* and *Salvia fruticosa* Extracts. *Molecules*, 24, 2921.
- [41] **Dincer, C., et al.** (2012). A comparative study on phenolic composition, antioxidant activity and essential oil content of wild and cultivated sage (*Salvia fruticosa* Miller) as influenced by storage. *Industrial Crops and Products*, 39: p. 170-176.

- [42] **Grigorakis, S., Benchennouf, A., Halahlah, A. & Makris, D. P.** (2020). High-Performance Green Extraction of Polyphenolic Antioxidants from *Salvia fruticosa* Using Cyclodextrins: Optimization, Kinetics, and Composition. *Appl. Sci.*, 10, 3447.
- [43] **Lantzouraki, D. Z., Tsiaka, T., Soteriou, N., Asimomiti, G.. & Zoumpoulakis, P.** (2020). Antioxidant Profiles of *Vitis vinifera* L. and *Salvia triloba* L. Leaves Using High-Energy Extraction Methodologies. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 103(2), 413–421.
- [44] **Müller-Riebau, F. J., Berger, B. M., Yegen, O., & Cakir, C.** (1997). Seasonal Variations in the Chemical Compositions of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 4821–4825.
- [45] **Kocabas, I. et al.** (2010). Effects of Different Organic Manure Applications on the Essential Oil Components of Turkish Sage (*Salvia fruticosa* Mill.). *Asian Journal of Chemistry Vol. 22, No. 2*, 1599-1605.
- [46] **Delamare, A.P.L., et al.** (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, 100(2): p. 603-608.
- [47] **Kavoura, D., Kyriakopoulou, K., Papaefstathiou, G.,..... & Magoulas, K.** (2019). Supercritical CO₂ extraction of *Salvia fruticosa*. *The Journal of Supercritical Fluids*, 146; 159–164.
- [48] **Zgheib, R., Yassine, C., Azzi-Achkhouty, S., & Beyrouthy, M. E.** (2019). Investigation of Essential Oil Chemical Polymorphism of *Salvia fruticosa* naturally Growing in Lebanon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 408–430.
- [49] **Vergine, M., Nicoli, F., Negro, C., Luvisi, A., Nutricati, E.,..... & Miceli, A.** (2019). Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of *Salvia* species from Southern Italy. *Rec. Nat. Prod.* 13:3, 205-215.
- [50] **Karık, Ü., Çınar, O., Tunçtürk, M., Şekeroğlu, N., & Gezici, S.** (2018). Essential Oil Composition of Some Sage (*Salvia* spp.) Species Cultivated in İzmir (Turkey) Ecological Conditions. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, Vol 52, Issue 4.
- [51] **Azcan, N., Ertan, A., Demirci, B., & Baser, K. H. C.** (2004). Fatty Acid Composition of Seed Oils of Twelve *Salvia* Species Growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 40, No. 3.
- [52] **Özkan, G., Göktürk, R. S., Kıralan, M., & Ramadan, M. F.** (2018). Fatty acids and tocopherols of Turkish *Salvia fruticosa*, *Salvia tomentosa*, *Stachys aleurites* and *Stachys cretica* subsp *Anatolica* seed oils. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, VOL. XCV – GENNAIO.
- [53] **Pasias, I. N. Farmaki, E. G., Thomaidis, N. S., & Piperaki, E. A.** (2010). Elemental Content and Total Antioxidant Activity of *Salvia fruticosa*. *Food Anal. Methods*, 3:195–204.
- [54] **Savelev, S. U., Okello, E. J., & Perry, E. K.** (2004). Butyryl-and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to*

- [55] **Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A.,& Bilaloğlu, V.** (2000). Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tilia (Tilia Argentea Desf Ex DC), Sage (Salvia Triloba L.), and Black Tea (Camellia Sinensis) Extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5030–5034.
- [56] **Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I. P.,..... & Boskou, D.** (2002). Antioxidant Activities and Phenolic Composition of Extracts from Greek Oregano, Greek Sage, and Summer Savory. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5294–5299.
- [57] **Papageorgiou, V., et al.** (2008). Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of Rosmarinus officinalis L. and Salvia fruticosa Miller grown in Greece. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(16): p. 7254-7264.
- [58] **Pizzale, L., et al.** (2002). Antioxidant activity of sage (Salvia officinalis and S fruticosa) and oregano (Origanum onites and O indercedens) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14): p. 1645-1651.
- [59] **Risaliti, L., Kehagia, A., Daoultzi, E., Lazari, D., Bergonzi, M. C.. & Bilia, A. R.** (2019). Liposomes loaded with Salvia triloba and Rosmarinus officinalis essential oils: In vitro assessment of antioxidant, antiinflammatory and antibacterial activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 493–498.
- [60] **El-Sayed, N. H., El-Eraky, W., Ibrahim, M. T., & Mabry, T. J.** (2006). Antiinflammatory and ulcerogenic activities of Salvia triloba extracts. *Fitoterapia* 77, 333–335.
- [61] **Boukhary, R., Raafat, K., Ghoneim, A. I., Aboul-Ela, M., & El-Lakany, A.** (2015). Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Salvia fruticosa: An HPLC Determination of Phenolic Contents. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume, Article ID 7178105*, 6 pages.
- [62] **Delamare, A.P.L., et al.** (2007). Antibacterial activity of the essential oils of Salvia officinalis L. and Salvia triloba L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, 100(2): p. 603-608.
- [63] **Karadağ, A.E., et al.** (2020). Antibacterial evaluation of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Lavandula angustifolia* Mill. and *Salvia fruticosa* Mill. essential oil combinations in mouthwash preparations. *Natural Volatiles&Essential Oils*. 7(1): p. 9-17.
- [64] **Sepahvand, A., Eliasy, H., Mohammadi, M., Safarzadeh, A., & Beyranvand, F.** (2018). A review of the most effective medicinal plants for dermatophytosis in traditional medicine. *Biomedical Research and Therapy*, 5(6):2378-2388.
- [65] **Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., & Salameh, A.** (2002). Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11): p. 3208-3213.

- [66] **Tan, N., Satana, D., Şen, B., Tan, E., Bardakçı Altan, H.,.... & Uzun, M.** (2016). Antimycobacterial and Antifungal Activities of Selected Four Salvia Species. *Rec. Nat. Prod.* 10:5, 593-603.
- [67] **Askun, T., Tumen, G., Satil, F., & Ates, M.** (2009). Characterization of the phenolic composition and antimicrobial activities of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*; 47(7): 563–571.
- [68] **Exarchou, V., Kanetis, L., Charalambous, Z., Apers, S.,..... & Goulas, V.** (2015). HPLC-SPE-NMR Characterization of Major Metabolites in Salvia fruticosa Mill. Extract with Antifungal Potential: Relevance of Carnosic Acid, Carnosol, and Hispidulin. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 457–463.
- [69] **Pitarokili, D., et al.** (2003). Volatile metabolites from Salvia fruticosa as antifungal agents in soilborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(11): p. 3294-3301.
- [70] **Tseliou, M., Pirintsos, S. A., Lionis, C., Castanas, E. & Sourvinos, G.** (2019). Antiviral effect of an essential oil combination derived from three aromatic plants (Coridothymus capitatus (L.) Rchb. f., Origanum dictamnus L. and Salvia fruticosa Mill.) against viruses causing infections of the upper respiratory tract. *Journal of Herbal Medicine, Volumes 17–18*, 100288.
- [71] **Ververis, A., Savvidou, G., Ioannou, K., Nicolaou, P.,... & Plioukas, M.** (2020). Greek Sage Exhibits Neuroprotective Activity against Amyloid Beta-Induced Toxicity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–10.
- [72] **Koutsaviti, A., Antonopoulou, V., Vlassi, A., Antonatos, S.,..... & Tzakou, O.** (2018). Chemical composition and fumigant activity of essential oils from six plant families against Sitophilus oryzae (Col: Curculionidae). *J Pest Sci*, 91:873–886.
- [73] **Sevindik, N., & Rencuzogullari, E.** (2014). The genotoxic and antigenotoxic effects of Salvia fruticosa leaf extract in human blood lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 37:3, 295-302.
- [74] **Abu-Dahaba, R., Abdallaha, R. M., Kasabria, V., Mhaidatb, N. M., & Afifia, F. U.** (2014). Mechanistic Studies of Antiproliferative Effects of Salvia triloba and Salvia dominica (Lamiaceae) on Breast Cancer Cell Lines (MCF7 and T47D). *Z. Naturforsch.* 69c, 443 – 451.
- [75] **Atmaca, H., & Bozkurt, E.** (2016). Apoptotic and anti-angiogenic effects of Salvia triloba extract in prostate cancer cell lines. *Tumor Biology*, 37(3): p. 3639-3646.
- [76] **Xavier, C.P., et al.** (2009). Salvia fruticosa, Salvia officinalis, and rosmarinic acid induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway. *Nutrition and cancer*, 61(4): p. 564-571.
- [77] **Altay, A., Kilic Suloglu, A., Sagdicoglu Celep, G., Selmanoglu, G., & Bozoglu, F.** (2019). Anatolian sage Salvia fruticosa inhibits cytosolic glutathione-S-transferase activity and colon cancer cell proliferation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2): p. 1390-1399.
- [78] **Tundis, R., et al.** (2017). Assessment of antioxidant, antitumor and pro-apoptotic effects of Salvia fruticosa Mill. subsp. thomasii (Lacaita) Brullo, Guglielmo,

Pavone & Terrasi (Lamiaceae). *Food and Chemical Toxicology*, 106: p. 155-164.

- [79] **Fraihat, A., Alatrash, L., Abbasi, R., Abu-Irmaileh, B.,.....& Bustanji, Y.** (2018). Inhibitory effects of methanol extracts of selected plants on proliferation of two human melanoma cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*; 17 (8): 1645-1650.
- [80] **Çam, M. E., Yıldız, S., Ertaş, B., Acar, A. E., Taşkın, T., & Kabasakal, L.** (2017). Antidiabetic effects of *Salvia triloba* and *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* in a rat model of streptozotocin/nicotinamide-induced diabetes. *Marmara Pharmaceutical Journal* 21/4: 818-827.
- [81] **Arabiyat, S., Al-Rabi'ee, A., Zalloum, H., Hudaib, M.,.... & Bustanji, Y.** (2016). Antilipolytic and hypotriglyceridemic effects of dietary *Salvia triloba* Lf (Lamiaceae) in experimental rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(4), 723.
- [82] **Petrović, J., Stojković, D., & Soković, M.** (2019). Terpene core in selected aromatic and edible plants: Natural health improving agents. *Advances in Food and Nutrition Research*, Volume 90, ISSN 1043-4526.
- [83] **Wink, M.,** (2009). Chapter 1 Introduction. *Annual Plant Reviews* 39,1-20.
- [84] **Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gürel, A., Ak,... & Gesheva, E.** (2008). Stress-Protective Role of Secondary Metabolites: Diversity of Functions and Mechanisms. *Gen. Appl. Plant Physiology. Special Issue*, 34(1-2), 67-78.
- [85] **Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J.** (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70, 1621–1637.
- [86] **Hatipoğlu, S. D.** (2017). *Bazı Salvia Türlerinin Sekonder Metabolitlerinin Analizi, Genomik Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi.* (Doktora Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [87] **Fu, R., Shi, M., Deng, C., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, Y., & Kai, G.** (2020). Improved phenolic acid content and bioactivities of *Salvia miltiorrhiza* hairy roots by genetic manipulation of RAS and CYP98A14. *Food Chemistry*, 127365.
- [88] **Poulios, E., Giaginis, C., & Vasios, G. K.** (2020). Current State of the Art on the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia* spp.) and Its Bioactive Components. *Planta Medica*, 86: 224–238.
- [89] **Sharma, Y., Velamuri, R., Fagan, J., Schaefer, J., Streicher, C., & Stimson, J.** (2020). Identification and characterization of polyphenols and volatile terpenoid compounds in different extracts of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Pharmacognosy Research*, 12;2, 149-157.
- [90] **Bojić, M., Maleš, Ž., Antolić, A., Babić, I., & Tomićić, M.** (2019). Antithrombotic activity of flavonoids and polyphenols rich plant species. *Acta Pharmaceutica*, 69(4), 483–495.
- [91] **Doğan, B. S., Takır, S., Özdemir, O., Kolak, U., Topçu, G., & Ulubelen, A.** (2005). The comparison of the relaxant effects of two methoxylated flavones in rat aortic rings. *Vascular Pharmacology*, 43(4), 220–226.

- [92] Takizawa, C., Thompson, P. L., van Walsem, A., Faure, C., & Maier, W. C. (2014). Epidemiological and Economic Burden of Alzheimer's Disease: A Systematic Literature Review of Data across Europe and the United States of America. *Journal of Alzheimer's Disease*, 43(4), 1271–1284.
- [93] Daniş, Ö., Yuce-Dursun, B., Çimen, T., Demir, S., Salan, Ü.,... & Ogan, A. (2014). Evaluation of Antioxidant, Radical-Scavenging and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Various Culinary Herbs Cultivated in Southern Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 38(6), 602–611.
- [94] Wang, H., & Zhang, H. (2018). Reconsideration of Anticholinesterase Therapeutic Strategies against Alzheimer's Disease. *ACS Chemical Neuroscience*. 10 (2), 852-862.
- [95] Craig, L. A., Hong, N. S., & McDonald, R. J. (2011). Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1397–1409.
- [96] Orhan, İ., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yılmaz, G.,.....& Choudhary, M. I. (2007). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish Salvia species. *Food Chemistry*, 103, 1247–1254.
- [97] Akdeniz, Ö. (2019). *Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Enzimleri Üzerinde Bazı Pestisitlerin Etkilerinin İncelenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı.
- [98] Wong, K. K.-K., Ho, M. T.-W., Lin, H. Q., Lau, K.-F.,.... & Wan, D. C.-C. (2010). Cryptotanshinone, an acetylcholinesterase inhibitor from *Salvia miltiorrhiza*, ameliorates scopolamine-induced amnesia in Morris water maze task. *Planta Med.* 76, 228–234.
- [99] Koçancı, F. G., & Aşım, B. (2016). Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Plants. *Manas Journal of Agriculture and Life Science MJAL* 6 (1), 19-35.
- [100] Xing, S., Li, Q., Xiong, B., Chen, Y., Feng, F., Liu, W., & Sun, H. (2020). Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: Application in detoxification, Alzheimer's disease, and fat metabolism. *Medicinal Research Reviews*;1–44.
- [101] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- [102] Dag, A., Omurtag Ozgen, P. S., & Atasoy, S. (2019). Glyconanoparticles for Targeted Tumor Therapy of Platinum Anticancer Drug. *Biomacromolecules*, 20(8), 2962-2972.
- [103] Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Ha Park, C., & Un Park, S. (2014). RECENT STUDIES ON ROSMARINIC ACID AND ITS BIOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES. *EXCLI Journal* 2014;13:1192-1195 – ISSN 1611-2156.
- [104] Hitl, M., Kladar, N., Gavarić, N., & Božin, B. (2020). Rosmarinic Acid–Human Pharmacokinetics and Health Benefits. *Planta Medica*, ISSN 0032-0943.
- [105] Zhao, Y., Dang, M., Zhang, W., Lei, Y., Ramesh, T.,.... & Hou, X. (2020). Neuroprotective effects of Syringic acid against aluminium chloride induced

oxidative stress mediated neuroinflammation in rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods* 71, 104009.

- [106] **National Cancer Institute, Caffeic Acid (Code C68540)**
https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C68540.
- [107] **Sidoryk, K., Jaromin, A., Filipczak, N., Cmoch, P., & Cybulski, M.** (2018). Synthesis and Antioxidant Activity of Caffeic Acid Derivatives. *Molecules*, 23, 2199.
- [108] **Goldberg, I., & Rokem, J. S.** (2009). Organic and Fatty Acid Production, Microbial. *Encyclopedia of Microbiology*, 421–442.
- [109] **Baati, T., Horcajada, P., Gref, R., Couvreur, P., & Serre, C.** (2011). Quantification of fumaric acid in liver, spleen and urine by high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(4), 758–762.
- [110] **Bisht, A., Dickens, M., Rutherford-Markwick, K., Thota, R....& Singh, H.** (2020). Chlorogenic Acid Potentiates the Anti-Inflammatory Activity of Curcumin in LPS-Stimulated THP-1 Cells. *Nutrients*, 12, 2706.
- [111] **Liu, K., Zhao, F., Yan, J., Xia, Z., Jiang, D., & Ma, P.** (2020). Hispidulin: A promising flavonoid with diverse anti-cancer properties. *Life Sciences*, 118395.
- [112] **Abdelhalim, A., Khan, I., & Karim, N.** (2019). The contribution of ionotropic gabaergic and N-methyl-D-Aspartic acid receptors in the antidepressant-like effects of hispidulin. *Pharmacognosy Magazine, Volume: 15 Issue: 62 Pages: 62-70*.
- [113] **Ji, N., Kim, S.-G., Park, H.-H., Lee, E., Lee, Y. J., Jin, M., & Lee, E.** (2020). Nepetin, a natural compound from Inulae flos, suppresses degranulation and eicosanoid generation through PLC γ 1 and Akt signaling pathways in mast cells. *Archives of Pharmacal Research, Online ISSN 1976-3786*.
- [114] **Shukla, R., Pandey, V., Vadnere, G. P., & Lodhi, S.** (2019). Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*, 293–322.
- [115] **Gendrisch, F., Esser, P. R., Schempp, C. M., & Wölflle, U.** (2021). Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation. *BioFactors*; 1–11.
- [116] **Li, B., Du, P., Du, Y., Zhao, D., Cai, Y., Yang, Q., & Guo, Z.** (2021). Luteolin alleviates inflammation and modulates gut microbiota in ulcerative colitis rats. *Life Sciences, Volume 269, 119008*.
- [117] **Schomberg, J., Wang, Z., Farhat, A., Guo, K. L., Xie, J., & Liu-Smith, F.** (2020). Luteolin inhibits melanoma growth in vitro and in vivo via regulating ECM and oncogenic pathways but not ROS. *Biochemical Pharmacology*, 114025.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Melike Tekin

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Ön Lisans** : 2006, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Gıda Bilimi ve Teknolojisi
- **Lisans** : 2017, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya
- **Yüksek Lisans:** Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2009-2013 Agrolab Gıda, Su, Çevre Analiz Laboratuvarı
- 2018- HerbaFarm Akademi