

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**BAZI SALVIA TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURDAN AKICI

BALIKESİR, OCAK - 2018

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**BAZI *SALVIA* TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURDAN AKICI

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Mehmet DOĞAN (Tez Danışmanı)

Doç. Dr. M. Hamdi KARAOĞLU

Doç. Dr. Yasemin TURHAN

BALIKESİR, OCAK - 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

NURDAN AKICI tarafından hazırlanan “BAZI *SALVIA* TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 08.01.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Mehmet DOĞAN

Üye
Doç.Dr. M.Hamdi KARAOĞLU

Üye
Doç.Dr. Yasemin TURHAN

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

ÖZET

**BAZI SALVIA TÜRLERİNİN BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
NURDAN AKICI
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MEHMET DOĞAN)

BALIKESİR, OCAK - 2018

Bu çalışmada, Lamiaceae familyasında bulunan 3 adet *Salvia* (*Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE ve *Salvia kronenburgeii* RECH. FIL) cinsi bitkinin toplam fenol ve flavonoid miktarı, antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik aktivite ve toplam protein madde miktarı araştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu, toplam flavonoid madde miktarı için Ramful ve arkadaşlarının methodu kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite, disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için gram negatif (*E. coli* ATCC-8739) ve gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC-6538) bakterileri kullanılmıştır. Sitotoksik aktivite için insan lenfosit hücreleri kullanılarak MTS testi ile birlikte tripan mavisi kullanılarak hücresel görüntüleme sisteminde (JuLI) hücresel yaşam sonuçları alınmıştır.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde en yüksek antioksidan aktivite, fenol ve flavonoid içeriğine *Salvia macrochlamys* bitkisinin sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek antibakteriyel aktiviteyi *E. coli* ATCC-8739'ye karşı *Salvia macrochlamys* ve *Salvia kronenburgeii* ve *S. aureus* (ATCC-6538)'a karşı ise *Salvia kronenburgeii* göstermiştir. Sitotoksik aktivite sonuçlarına bakıldığında, en yüksek yaşamlılığın *S. kronenburgii* ile muamele edilen hücrelerde olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Lamiaceae, antioksidan aktivite, toplam fenol, flavonoid, antibakteriyel aktivite, sitotoksik aktivite, protein içeriği.

ABSTRACT

**DETERMINATION OF BIOCHEMICAL PROPERTIES OF SOME
SALVIA SPECIES
MSC THESIS
NURDAN AKICI
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY**

(SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET DOĞAN)

BALIKESİR, JANUARY 2018

In this study, total phenolic and flavonoid content, antioxidant capacity antibacterial, cytotoxic activities and also total protein content of three *Salvia* species belonging to Lamiaceae family (*Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE and *Salvia kronenburgeii* RECH.FIL) were investigated. Total phenolic content was determined by Folin-ciocalteu method, total flavonoid content by the method of Ramful et al. and antibacterial activities of the plant extracts by disc diffusion method using a gram negative (*Escherichia coli* ATCC-8739) and a gram positive (*Staphylococcus aureus* ATCC-6538) bacteria. Cytotoxic effects of the samples on human lymphocytes were determined by MTS Assay and and tryphan blue exclusion method performed by live cell imaging system (JuLI).

When the obtained data were evaluated, it was determined that *Salvia macrochlamys* plant had the highest antioxidant activity, phenol and flavonoid content. *Salvia macrochlamys* and *Salvia kronenburgeii* against *E. coli* ATCC-8739 and *Salvia kronenburgeii* against *S. aureus* (ATCC-6538) showed the highest antibacterial activity. From the cytotoxic activity results, it was determined that the highest cell viability was in cells treated with *S. kronenburgii*.

KEYWORDS: Lamiaceae, antioxidant capacity, phenolic content, flavonoids, antibacterial activity, cytotoxic activity and protein content.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	2
1.2 <i>Salvia</i> Hakkında Genel Bilgi.....	3
1.2.1 <i>Salvia macrochlmys</i>	3
1.2.2 <i>Salvia huberi</i>	4
1.2.3 <i>Salvia kronenburgeii</i>	5
1.3 <i>Salvia</i> Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasındaki Kullanım Alanları.....	6
1.4 Antioksidan Moleküller.....	6
1.4.1 Fenolik Bileşikler.....	7
1.4.2 Flavonoidler.....	8
1.5 Antibakteriyel Aktivite.....	8
1.5.1 <i>Esherichia coli</i>	10
1.5.2 <i>Staphlycoccus aureus</i>	10
1.6 Hücre Kültürü ve Sitotoksik Aktivite.....	11
1.6.1 Sitotoksitede Dikkat Edilen Özellikler.....	11
1.6.2 Sitotoksiste Testinin Avantajları (<i>in vitro</i>).....	12
1.6.3 Sitotoksiste Testinin Dezavantajları.....	12
1.7 Protein Miktar Tayini.....	12
1.8 Literatür Özeti.....	12
2. MATERYAL METOT	15
2.1 Materyal.....	15
2.2 Metot.....	15
2.2.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	15
2.2.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	16
2.2.3 Çözeltilerin Hazırlanışı.....	16
2.3 Ekstratların Hazırlanışı.....	17
2.4 Antioksidan Aktivite.....	17
2.5 Toplam Fenolik İçerik Tayini.....	18
2.6 Toplam Flavonoid Madde Miktar Tayini.....	18
2.7 Antibakteriyel Aktivite.....	18
2.8 Sitotoksik Aktivite.....	19
2.9 Protein Miktar Tayini.....	20
3. BULGULAR	21
3.1 Toplam Antioksidan Aktivitesine Ait Bulgular.....	21

3.2	Toplam Fenolik Madde İçeriğine Ait Bulgular.....	21
3.3	Toplam Flavonoid Madde İçeriğine Ait Bulgular.....	22
3.4	Antibakteriyel Aktiviteye Ait Bulgular.....	23
3.5	Sitotoksik Aktiviteye Ait Bulgular.....	24
3.6	Protein Tayinine Ait Bulgular.....	31
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	32
4.1	Antioksidan Aktivite.....	32
4.2	Toplam Fenolik İçerik ve Toplam Flavonoid Miktarı.....	33
4.3	Antibakteriyel Aktivite.....	34
4.4	Sitotoksik Aktivite.....	35
4.5	Toplam Protein İçeriği.....	37
5.	SONUÇLAR.....	38
6.	KAYNAKLAR.....	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1	: <i>Salvia macrochlamys</i> BOISS. ET KOTSCHY	4
Şekil 1.2	: <i>Salvia huberi</i> HEDGE	5
Şekil 1.3	: <i>Salvia kronenburgeii</i> RECH.FIL	6
Şekil 1.4	: <i>Escherichia coli</i>	10
Şekil 1.5	: <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Şekil 3.1	: Toplam fenolik madde içeriği kalibrasyon grafiği (gallik asit).....	22
Şekil 3.2	: Flavonoid madde içeriği kalibrasyon eğrisi.....	23
Şekil 3.3	: 1- <i>S. kronenburgeii</i> , 2- <i>S. macrochlamys</i> , 3- <i>S. huberi</i> , 4-Metanol ekstraktlarını <i>S. aureus</i> (A) ve <i>E. coli</i> (B) bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerinin disk difüzyon yöntemi gösterilmesi.....	24
Şekil 3.4	: <i>Salvia macrochlamys</i> 'in JuLI ile alınan sonuç ve fotoğrafı.....	26
Şekil 3.5	: <i>Salvia huberi</i> 'nin JuLI ile alınan sonuç ve fotoğrafı.....	27
Şekil 3.6	: <i>Salvia kronenburgeii</i> 'nin JuLI ile alınan sonuç ve fotoğrafı.....	28
Şekil 3.7	: tBOOH'tan alınan JuLI sonuçları ve fotoğrafı	29
Şekil 3.8	: Negatif kontrolden alınan JuLI sonuçları ve fotoğrafı.....	30

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması	9
Tablo 2.1: Bitkilerin toplandığı mevkii, yükseklik ve tarihi.....	15
Tablo 3.1: Bitkilerin % antioksidan aktiviteleri.....	21
Tablo 3.2: Bitkilerin toplam fenolik içerikleri.....	22
Tablo 3.3: Bitkilerin toplam flavonoid madde içerikleri.....	23
Tablo 3.4: Antibakteriyel aktivite testi sonucu elde edilen zon çapları (cm)...	24
Tablo 3.5: MTS testine göre elde edilen absorbans değerleri (490 nm).....	25
Tablo 3.6: Tripan mavisi ile alınan sonuçlar (% yaşam).....	25
Tablo 3.7: Bitkilerin toplam protein içerikleri.....	31

SEMBOL LİSTESİ

DPPH	:	2,2-difenil-1-pikril hidrazil
NaNO₂	:	Sodyum nitrit
NaOH	:	Sodyum hidroksit
BHA	:	Bütillenmiş hidroksianisol
tBOOH	:	Üçüncül bütlatlı hidroperoksid
FCR	:	Folin-Ciocalteu reaktifi
AlCl₃	:	Alüminyum klorür
XTT	:	2,3-bis(2-metoksi- 4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum
nm	:	Nanometre
JuLI	:	Canlı hücre analiz ve görüntüleme cihazı
Dumas	:	Protein-azot analizatörü
NaCO₃	:	Sodyum karbonat
ATCC	:	American Type Culture Collection

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca deneyimi, tecrübesi ve bilgi birikimi ile bana yardımcı olan Danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet DOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bana her zaman yol gösteren, bilgisi ve tecrübesi ile destek olan Sayın Prof. Dr. Serap DOĞAN'a, tür teşhisi ve temini konusunda bize yardımcı olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Tuncay DİRMENCİ'ye; çalışmamın başından sonuna kadar bana sabreden ve yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Begümhan Yılmaz ve Sayın Uzm. Dr. Mehmet Emin DİKEN'e ve Laboratuvar arkadaşlarım Şeyman KIRMIZI, İrem AKINCI, Pakize ÖZKAYA, Ahmet Cenkay ORBAY'a ve Ulaş KUMRAL'a destekleri için teşekkür ederim.

Bana her zaman güvenen ve Yüksek Lisans Tez çalışmamda beni hep destekleyen ve inanan Babam Mahmut AKICI, Annem Yıldız AKICI, kardeşlerim Osman AKICI ve Aydan AKICI'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Balıkesir, 2018

Nurdan AKICI

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler çok eski çağlardan beri tedavi için kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan bitkilerden yapılan ilaçlar ileri düzeydeki ülkelerde yaşayan kırsal toplumların kültür ve geleneklerinde önemli bir yere sahiptir. Modern tıbbın günümüzdeki kadar gelişmediği zamanlarda insanlar tabiatta doğal olarak yetişen bitkileri kullanmışlardır [1-3]. Ülkemizde de tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi tıbbi bitkiler uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu bitkiler halk arasında baharat, ilaç, çay, süs eşyası, boya, koku, tat endüstrileri, parfüm, gıda katkıları, temizlik ürünleri ve kozmetik sanayisi gibi alanlarda kullanılmıştır ve bu alanlar daha sonra genişletilmiştir [4-7].

Bitki kimyasalları olarak bilinen ‘fitokimyasallar’, bitkilerde bulunan biyolojik aktif bileşikler olarak bilinmektedir [8]. Özellikle Lamiaceae familyasında çeşitlilik gösteren biyolojik aktif bileşikler olan sekonder metabolitler, bu bitki ailesinin üzerinde yapılan çalışmaların gün geçtikçe artmasını sağlamıştır. Fenolik maddeler, en önemli sekonder metabolitler arasında yer almaktadırlar. Fenolik maddeler, doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşiklerdir. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir. Antioksidanlar insan beslenmesinde ve gıda teknolojisinde önemli rolü olan bileşiklerdir. Sentetik antioksidanların sağlık üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı kullanımlarının azaltılmasına yönelik eğilim, doğal maddelerin antioksidan özelliklerinin araştırılmasına yönelik çalışmaların artmasına ve popülerite kazanmasına neden olmuştur.

Ayrıca daha önce yapılan ve de halen yapılmakta olan çalışmaların sonucu göz önüne alındığında bu bitkilerin günlük hayatımızda çok fazla kullanılmasından dolayı toksikolojik bir risk etmeni olup olmadığının araştırılmasını gerekli kılmaktadır [9].

Bu çalışmada Lamiaceae familyasından *Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE ve *Salvia kronenburgeii* RECH.FIL bitkileri ile çalışılmıştır. Türlerin toplam fenol, flavonoid madde miktarı, antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik aktiviteleri ve toplam protein madde miktarı belirlenmiştir.

1.1 Lamiaceae Familyasının Genel Özellikleri

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasının dünya üzerinde yayılış gösterdiği yerler Kuzey Yarımküre özellikle de Akdeniz Bölgesi'dir. Bu familyadaki bitkiler genel olarak bir, iki ve çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır [10-11]. Adaçayı, kekik, nane gibi çok sayıda yararlı bitkiyi içeren kapsamlı bir familyadır [12]. Dünyada Lamiaceae familyası yaklaşık olarak 220 cins ve 4000 civarında türe sahip bir familyadır [13].

Türkiye'de bulunan Lamiaceae familyasında 45 cins, 581 tür ve 751 takson bulunmaktadır. Görüldüğü gibi Türkiye bu familya için önemli bir gen merkezidir. Lamiaceae familyasının ülkemizdeki endemizm oranı %44,2 olup, ülkemizdeki en zengin üçüncü familyadır [10,11].

Lamiaceae familyasına ait bitki türlerinde gövde dört köşelidir. Yaprakları basit veya parçalı, dekusat şeklinde dizilmiştir. Çiçekler braktelerin koltuğunda, sık kümeler halinde, her nodusta vertillastrum durumundadır. Çiçekler erdişi, zigomorfdur. Brakteler ise yapraklardan farklı veya bunlara benzemektedir. Kaliks beş lobludur, çan şeklinde ya da tüpsü yapısında olurlar. Korolla tabanda tüpsü, üstte iki dudaklıdır. Üst dudakta iki lob alt dudakta ise üç lob vardır. Stamen sayısı dördtür, bazen ikisi körelmiş, diğer ikisi verimli kalmıştır. Bu dört stamenden ikisinin flamenti uzun diğer iki tanesinin ise kısadır. Ovaryum ise iki karpelli, dört gözlü ve üst durumludur, her bir göz ovüllüdür. Stilus ginobazik, stigma ise iki parçalıdır. Meyve dört kuru nuksa ayrılmış, bir şizokarp durumundadır [3,11,14].

Lamiaceae familyasında bulunan bitkiler uçucu yağlar, aromatik yağlar ve benzeri sekonder metabolitler açısından oldukça zengin olduğu için birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle tıp, eczacılık, gıda, kozmetik gibi alanlarda kullanılmaktadır [15,16].

1.2 *Salvia* Hakkında Genel Bilgi

Ülkemizde *Salvia* genusunun 97 tür, 4 alttür ve 8 varyetesi vardır. *Salvia* türlerinin 51 tanesi ülkemizde endemiktir yani bu türün endemizm oranı % 52,5 olup oldukça yüksektir. Bu türlerin Türkiye’deki fitocoğrafik olarak buldukları yerler; 58 tanesi (% 59,7) İran-Turan, 27 tanesi (%27,8) Akdeniz, 5 tanesi (% 5) Avrupa–Sibirya, kalan 7 tanesi ise (%7) birden fazla fitocoğrafik bölgede bulunmaktadır [17,18].

1.2.1 *Salvia macrochlamys*

Salvia macrochlamys BOISS. ET KOTSCHY çok yıllık otsu bir bitkidir. Ülkemizde Güney Doğu Anadolu Bölgesinde yetişir. 900-2300 m arası yayılış göstermektedir [19]. Şekil 1.1, *Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY’nin fotoğrafını göstermektedir.

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Class	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass	<i>Asteridae</i>
Order	<i>Lamiales</i>
Family	<i>Lamiaceae</i>
Genus	<i>Salvia</i>
Kingdom	<i>Salvia macrochlamys</i> BOISS & KOTSCHY [19].



Şekil 1.1: *Salvia macrochlamys* BOISS & KOTSCHY [20].

1.2.2 *Salvia huberi*

Salvia huberi HEDGE çok yıllık bir bitkidir. Türkiye’de yüksekliği 1100-2200 m arasında değişen Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde yayılış göstermektedir. Endemik bir bitkidir [19]. Şekil 1.2, *Salvia huberi* HEDGE’nin fotoğrafını göstermektedir.

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Class	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass	<i>Asteridae</i>
Order	<i>Lamiales</i>
Family	<i>Lamiaceae</i>
Genus	<i>Salvia</i>
Kingdom	<i>Salvia huberi</i> HEDGE [19].



Şekil 1.2: *Salvia huberi* HEDGE.

1.2.3 *Salvia kronenburgeii*

Salvia kronenburgeii RECH.FIL., çok yıllık endemik bir bitkidir. Türkiye’de Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde 1850-2500 m arasında yayılış gösterir [19]. Şekil 1.3, *Salvia kronenburgeii*’nin fotoğrafını göstermektedir.

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Class	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass	<i>Asteridae</i>
Order	<i>Lamiales</i>
Family	<i>Lamiaceae</i>
Genus	<i>Salvia</i>
Kingdom	<i>Salvia kronenburgeii</i> RECH.FIL [19].



Şekil 1.3: *Salvia kronenburgeii* RECH. FIL.

1.3 *Salvia* Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasındaki Kullanım Alanları

Ülkemizde *Salvia* türleri halk arasında farklı isimlerle anılmaktadır; adaçayı, elma çalpası, meryemiye, gevrek şalpa gibi isimlendirilmiştir. *Salvia* türleri ülkemizde genel olarak gaz söktürücü, midevi, ter kesici ve idrar arttırıcı olarak kullanılmaktadır haricen yara iyi edici ve antiseptik olarak da kullanılmaktadırlar [21]. *Salvia* türlerinde bulunan ikincil metabolitler sayesinde bu türlerin farklı biyolojik aktivite özellikleri gösterdikleri görülmüştür. Örneğin antioksidan, antiproliferatif, antibakteriyel, antinörodejeneratif, antiinflamator, immünomodifikasyon, kalp koruyucu gibi etkileri sayesinde ilaç, kozmetik veya gıda sanayiinde potansiyel doğal bir kaynak olduğu düşünülebilir [22].

1.4 Antioksidan Moleküller

İnsan yaşamı için son derece önemli ve vazgeçilmez olan oksijen bazı durumlarda vücudu farklı bir şekilde etkileyebilmektedir. Normal metabolizma esnasında üretilen bazı reaktif oksijen türlerinin vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeli vardır [23]. Bu reaktif oksijen türlerinin büyük bir kısmını oluşturan

serbest radikallerdir. Oksijen türevleri normal oksijen molekülleriyle karşılaştırıldığında kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır [24]. Oksijen türevi serbest radikallerin oluşmasına neden olan etmenler; canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmenddir. Bu radikallerden bazıları süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksi (OH^-), peroksi (ROO^-) ve alkoksi (RO^-) radikalleridir [25].

Antioksidanlar, başka bir molekülün okside olmasını durduran veya yavaşlamasını sağlayan moleküllerdir [26]. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak iki grupta incelenebilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimatik olanlara; mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenoitler, polifenoller de enzimatik olmayanlara örnek verilebilir [27].

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler

- 1. Süpürme etkisi (Scavenging):** Oksidan moleküller daha güçsüz moleküllere dönüşür ve etkisiz hale gelirler. Örnek olarak antioksidan enzimler verilebilir.
- 2. Söndürme etkisi (Quenching):** Oksidan moleküllere bir hidrojen geçmesi ile pasif durum gelmesidir. Örnek olarak vitaminler ve flavonoidler verilebilir.
- 3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking):** Hemoglobinin gibi moleküllerin oksidanları bağlayıp pasif duruma getirmesidir.
- 4. Onarma etkisi (Repair):** Hasar görmüş molekülün onarılmasıdır [28].

Bu çalışmada antioksidan aktivite tayin yöntemi olarak DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi kullanılmıştır. Kullandığımız bu yöntemde kararlı bir serbest radikal olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ile hidrojen verici antioksidanların reaksiyona uğraması sonucu DPPH'nin süpürüm aktivitesi sayesinde α -difenil- β -pikrilhidrazil'e dönüştürmesi esasına dayanır [29].

1.4.1 Fenolik Bileşikler

Genellikle fenolik asit ve türevleri bitkilerde dağınık bir şekilde bulunurlar. Bitkide çok farklı şekilde etki gösterebilirler. Örneğin meyvenin gelişme ve olgunlaşması, çimlenme, kuruma, saklama, işleme esnasında bazı durumlar fenolik asit sayısını farklılaştırabilirler. Bitkide bulunan tohum, meyve veya yaprak kısmının

koyu renge dönüşmesi veya tadının acılaşmasının sebebinin fenolik bileşikler olduğu düşünülmektedir [30]. Bitkiler ile ilgili fenolik bileşiklerin modern sınıflandırması; basit fenoller, fenolik asitleri, sinnamik asitleri, kumarinleri, izokumarinleri, lignanları, flavonoidleri, ligninleri, benzofenonları, ksantonları, stilbenleri, kinonları ve betasiyeninleri ihtiva eder [31].

1.4.2 Flavonoidler

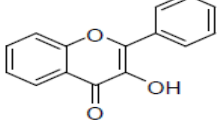
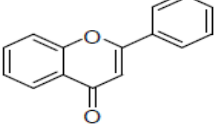
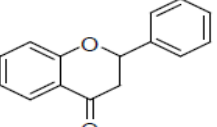
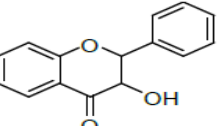
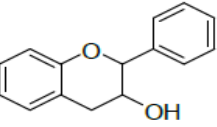
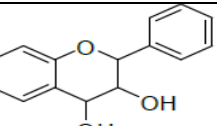
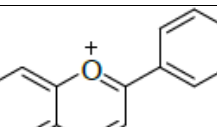
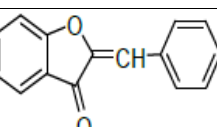
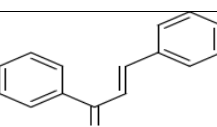
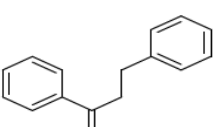
Flavonoidler, uzun yıllardan beri bitki pigmentleri olarak bilinirler. Bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerine ilişkin çalışma ilk olarak 1936 yılında yapılmıştır. Bu çalışmayı yapan bilim adamları Rusznyak ve Szent-Gyorgyi'dir [32].

Flavonoidler ile birlikte diğer bitki fenollerinde süperoksit ($O\cdot$), lipid alkoksil ($RO\cdot$) ve peroksil ($ROO\cdot$), nitrik oksit (NO) radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu, vazodilatatör, immünstimülan, antiallerjik, östrojenik, antiviral (HSV, HIV, influenza ve rhinovirüslere karşı) özellikleri de mevcuttur [33-38]. Daha önceleri polifenollerin bitki fizyolojisindeki rolleri ve bitkilerin renk ve lezzet özellikleri üzerindeki etkileri ele alınırken, son zamanlarda sağlık üzerindeki etkileri özellikle antioksidan ve radikal yakalama fonksiyonları konuşulmaktadır [39-42].

1.5 Antibakteriyel Aktivite

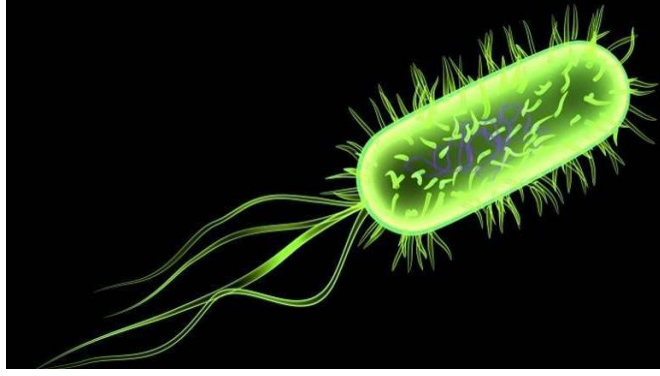
Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri, reçete ile satılan ilaçların % 25'ini oluşturmaktadır [44]. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapılı ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması, doğal ürünlerin kullanma zorunluluğunu arttırmıştır. Bu amaçla birçok bitki mikrobiyolojik ve farmakolojik yönlerden hatta biyolojik savaşın gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizması bakımından da çok yönlü araştırılmaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli özellikleri 1926 yılından beri araştırılmaktadır [45].

Tablo 1.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması [43].

Flavoneller	
Flavonlar	
Flavononlar	
Flavanoneller	
Katekinler	
Loykatekinler	
Antosiyanidinler	
Auronlar	
Kalkonlar	
Dihidrochalkonlar	

1.5.1 *Esheria coli*

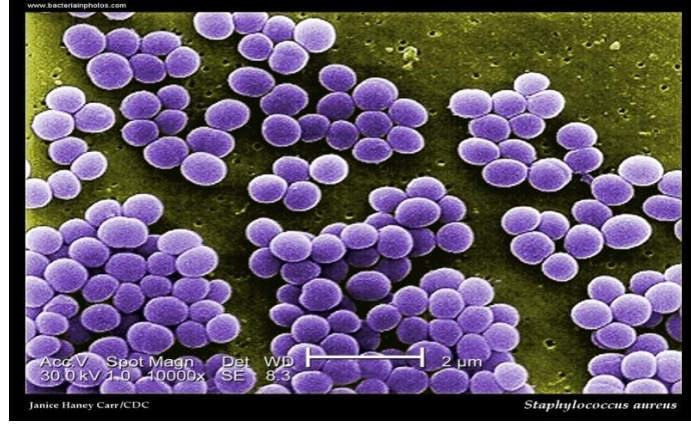
Enterobacteria familyasına ait olan *E. coli* gram negatif bir bakteridir. İlk olarak Theodora Esherich tarafından keşfedilmiştir [46]. Bu bakteri hayvanlar ve insanlarda doğal olarak bağırsak florasında bulunan bir bakteridir ve zararsızdır. Ama insanlara zarar verebilen patojen türleri de bulunmaktadır [47]. *E. coli*, aynı zamanda çok dirençli bir bakteridir. 15-45 °C arasında üreyebilmektedir [46].



Şekil 1.4: *E.coli* [48].

1.5.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus, doğadaki ortam şartlarına çok dayanıklı olduğu için çok yaygın olarak bulunur. Bu bakteri insanlarda enfeksiyonlara sebep olabilen bir bakteri türüdür [49]. Stafilokoklar olarak da adlandırılan bu tür bakteriler gram pozitif bakterilerdir. İnsanlarda en fazla burun, deri, rektum gibi bölgelerde bulunur [50]. Şekil 1.5, *Staphylococcus aureus*'un fotoğrafını göstermektedir.



Şekil 1.5: *Staphylococcus aureus* [51].

1.6 Hücre Kültürü ve Sitotoksik Aktivite

Hücre ve doku kültürlerinin yaygınlaşması ile özellikle son yıllarda moleküler biyoloji ve tıp alanlarında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu gelişmeler içerisinde, hastalıkların epidemiyolojisi, patojenezi, teşhis ve tedavi gibi gelişmeler vardır [52]. Hücre kültür testlerinde sadece kullanılan materyalin ilk toksisite reaksiyonları ile ilgili veri edinilebilmekte, kullandığımız materyalin uzun süreli doku temasında gerçekleştireceği sitotoksitesisi hakkında bilgi edilememektedir [53].

Dünya Sağlık Örgütü'nün bitkilerin ilaç olarak kullanılabilirliği ile ilgili belirlediği esaslardan bir tanesi, toksik olmamaları olarak belirtilmektedir [54]. Bu nedenle bitki ile yapılan sitotoksitesite çalışmaları son derece önem kazanmaktadır.

Sitotoksitesite, test edilecek maddenin uygun hazırlanan hücre kültürlerindeki değişimlerine etkisini pozitif ve negatif kontrol grupları ile analiz edilerek değerlendirildiği bir metottur [55].

1.6.1 Sitotoksitesitede Dikkat Edilen Özellikler

- Hücre membran büyüklüğü,
- Biyosentez veya enzim aktivitesi,
- Hücre sayısı veya büyümesi,
- Hücre genetik materyali üzerindeki etkilere bakılarak değerlendirilir [53].

1.6.2 Sitotoksisite Testinin Avantajları (*in vitro*)

- Çok fazla örnek kısa sürede ve ekonomik açıdan incelenebilir,
- Kantitatif sonuçlar alınabilmektedir,
- Diğer metabolik olaylardan farklı olarak hücre metabolizmasındaki spesifik bir işlev gözlenebilir,
- Test yöntemleri standardize edilebilir [53].

1.6.3 Sitotoksisite Testinin Dezavantajları

- Her test için tek tür hücre kullanılması,
- Hücre kültürü ortamında doku koruyucu mekanizmasının olmaması,
- Kültür hücrelerinin konak hücrelerinden farklı olması [53].

1.7 Protein Miktar Tayini

Protein tayininde genellikle Dumas metodu kullanılır. Dumas metodunda amaç, test edilecek maddenin bir fırın içerisinde yakılarak tüm azot (N) formlarının azot dioksit (NO₂) gazlarına dönüşmesi ve bu gazların elementel azota indirgendikten sonra (N₂) termal iletkenlik metodları ile protein içeriğinin belirlenmesidir [56].

1.8 Literatür Özeti

Kırbağ ve arkadaşı yaptıkları çalışmada Elâzığ yöresindeki bazı tıbbi bitkilerin antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada kullanılan bitkiler *Bunium paucifolium* DC. var. *paucifolium*, *Taraxacum revertens* G. Hagl., *Linum nodiflorum* L., *Centauria kurdica* Reichart., *Echium italicum* L., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Frey & Barnma) Barnm, *Thymus kotschyanus* Boiss & Hohen var. *glabrescens* Boiss., *Verbascum varians* Freyn & Sind. *Ranunculus constantinopolitanus* (DC) UV., *Rheum ribes* L.'dir. Sonuç olarak bitki ekstraktlarının çoğunun antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. *Salvia verticillata*'nın *Staphylococcus aureus*'da en fazla antibakteriyel etkiyi gösterdiği bulunmuştur [57]. Aydoğan yaptığı tez çalışmasında *Salvia sclarea* L. bitkisinin antibakteriyel etkisini

araştırmıştır. Buna göre yapılan disk difüzyonu yönteminde *S. sclarea* bitkisinin diğer mikroorganizmalara göre *Esherichia coli*'de çok fazla antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır [58]. Tepe ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada altı adet *Salvia* türünün (*Salvia caespitosa* Montbret & Aucher ex Bentham, *Salvia hypargeia* Fisch. & Mey., *Salvia euphratica* subsp. *euphratica* Montbret & Aucher ex Bentham, *Salvia sclarea* L., *Salvia candidissima* subsp. *candidissima* Montbret & Aucher ex Bentham ve *Salvia aethiopsis* L.) antioksidan kapasitelerini araştırmışlardır. Metanolle hazırlanan ekstratlara DPPH yöntemi uygulanmıştır. Buna göre en yüksek antioksidan aktiviteyi *S. candidissima* subsp. *candidissima* (% 49,7) göstermiştir [59]. Haşimi ve arkadaşları 2015 yılında yapmış oldukları çalışma kapsamında ada çayının (*Salvia officinalis*) antibakteriyel etkisini araştırmıştır. Yapılan çalışmada gram negatif *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve gram pozitif *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* kullanılmıştır. Sonuç olarak *E. coli*'de $12 \pm 0,4$ mm (5 µL), *S. aureus*'da ise $16 \pm 0,2$ mm (5 µL) olarak bulunmuştur [60]. Halkımızın da kullandığı *Salvia radula*, *S. africanacaerulea*, *S. africanalutea*, *S. albicaulis*, *S. chamelaeagnea*, *S. disermas*, *S. dolomitica*, *S. garipensis*, *S. lanceolata*, *S. muiri*, *S. namaensis*, *S. repens*, *S. runcinata*, *S. schlechteri*, *S. stenophylla*, *S. verbenaca* bitkilerinden elde edilen ekstratlar ile yapılan çalışmalarda bu türlerin antikanserojen etki gösterdikleri bulunmuştur [61]. Akın ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma sonucu *Salvia heldreichiana* bitkisinden elde edilen ekstrat ile yapılan antibakteriyel aktivitede *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Ecsherichia coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel etki gösterdikleri bulunmuştur [62]. *Salvia hypargeia* ile yapılan çalışmalar sonucunda bu bitkinin sitotoksik [63] ve antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir [59]. Barcevic ve arkadaşları *Salvia officinalis* bitkisinin yaprak kısımlarından elde ettikleri ekstratın iltihap önleyici etkisini araştırmışlardır [64]. Altay, *Salvia fruticosa* bitkisinin toplam fenolik içerik, toplam flavonoid madde miktarı, antioksidan aktivite tayini ve sitotoksik aktivite parametrelerini araştırmıştır. Buna göre toplam fenolik içerik $175,2 \pm 5,07$ µg/mg, toplam flavonoid içerik $108,9 \pm 2,61$ µg/mg, antioksidan kapasite DPPH metodu ile $\%84,8 \pm 0,85$ olarak bulunmuştur. Sitotoksik aktivite ise XTT testi kullanılarak 48 saatte $0,185 \pm 0,0025$ mg/mL, 72 saatte $0,229 \pm 0,0148$ mg/mL olarak bulmuştur [65]. Yüzbaşıoğlu ve Kuruüzüm, 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada *Arnebia* Forssk. türlerinin biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucunda bu bitkiden elde edilen ekstratların önemli antitümoral,

antibakteriyel, yara iyi edici etkileri olduğunu belirlemişlerdir [66]. Oğuzkan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fındık (*Corylus avellana* L) bitkisinin yaprak kısmından elde edilen ekstratının antibakteriyel ve antioksidan aktivite kapasitesi araştırılmıştır. Buna göre yapılan antibakteriyel aktivite sonucunda çeşitli bakteriler arasında en yüksek antibakteriyel aktivite *Staphylococcus aureus*'da gözlenmiştir. DPPH aktivitesi sonuçlarına göre yeşil yapraklı kısmın bitkinin diğer kısımlarına göre daha fazla aktivite gösterdiği görülmüştür [67].

2. MATERYAL METOT

2.1 Materyal

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan bitki örnekleri Prof. Dr. Tuncay Dirmenci tarafından temin ve teşhis edilmiştir. Lamiaceae familyasına ait *Salvia* cinsi 3 tür ile çalışılmıştır (*Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE ve *Salvia kronenburgeii* RECH.FIL). Salvi cinsi bitkilerin toplanma tarihleri ve yer bilgileri, Tablo 2.1’de verilmektedir.

Tablo 2.1: Bitkilerin toplandığı mevkii, yükseklik ve tarih.

Bitkiler	Mevkii	Yükseklik	Tarih
<i>Salvia macrochlamys</i>	Bitlis	1936 m	28.06.2015
<i>Salvia huberi</i>	Erzurum	1100 m	29.06.2014
<i>Salvia kronenburgeii</i>	Van – Gürpınar arası	2000 m	07.06.2013

2.2 Metot

2.2.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Cihaz İsmi	Marka
Vorteks	Warning
Hücre sayma lamı	Neubaver’s chamber
İnkübatör	Memmert
Evaporatör	Heildop
Hassas terazi	Denver
Lamda 35 UV-Visible	Perkin Elmer
Manyetik karıştırıcı	Heildop

Soğutmalı santrifüj	Sigma 3K30
pH metre	Orian 920 A
Etüv	Memmert
Otomatik pipetler	Ependorf
Mikroskop	Olympus cxx 41

2.2.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Metanol	% 80-% 100'lük
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
tBOOH	Tert-bütil-hidroksiperoksit
NaNO ₂	Sodyum nitrit
AlCl ₃	Alüminyum klorür
NaCO ₃	Sodyum karbonat
NH ₄ Cl	Amonyum klorür
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
NaOH	Sodyum hidroksit

2.2.3 Çözeltilerin Hazırlanışı

1. BHA: Çözeltiyi hazırlarken BHA maddesinden 0,03 gr tartılıp, saf suda çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

2. Folin-Ciocalteu reaktifi çözeltisi: Deney çalışması için 0,25 mL alınıp kullanılmıştır.

3. Hemoliz tamponu: 0,121 gr tris üzerine 0,8 gr NH₄Cl tartılıp eklenmiş ve saf suda çözümleri sağlanmıştır. Çözelti daha sonra 100 mL'ye tamamlanmış ve pH'sı belirlenmiştir (pH:7,4).

4. Tripan mavisi: 0,1 gr tripan mavisinin saf suda çözülmesi sağlanmış ve tripanın son hacim, 25 mL'ye tamamlanmıştır. Deneyde kullanılabilece kadar karanlık bir yerde saklanmıştır.

5. DPPH radikal çözeltisi: Bu maddeden 0,024 gr tartılmış ve bir miktar saf suda çözünmesi sağlanıp 100 mL'ye tamamlanmıştır. Deneyde kullanılabilece kadar karanlık bir dolapta, etrafı alüminyum folyo ile sarılarak bekletilmiştir.

6. tBOOH (1 mM): Bu çözelti için tBOOH'tan 0,01 mL alınıp 100 mL'ye tamamlanmıştır.

7. NaNO₂ (% 5'lik 150 µL), AlCl₃ (1 M, 1 mL), NaOH (% 20'lik 1 mL), Na₂CO₃ (% 20'lik 1 mL), m-inositol (250 mM), potasyum fosfat (0,174 gr).

2.3 Ekstratların Hazırlanışı

Her kuru örnekten 0,5 gr tartılarak üzerine % 80'lik 5 mL metanol eklenmiştir. Daha sonra bir gece boyunca +4°C'de saklanmıştır. Bir gece bekletildikten sonra örnekler 4500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiş, süpernatant alındıktan sonra üzerine 5 mL daha metanol eklenmiştir 4500 rpm'de 15 dk daha santrifüj edilmiş ve tekrardan supernatant alınmıştır. Daha sonra üzerine 2 mL daha metanol eklenmiştir. Son olarak elde edilen ekstrakt deneyde kullanılmak üzere + 4°C' de saklanmıştır [68].

2.4 Antioksidan Aktivite

Antioksidan aktivite için 0,024 gr DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) tartılmış, üzerine bir miktar metanol ilave edilip çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti kullanılabilece kadar karanlık ortamda saklanmıştır. Hazırladığımız her bir bitki ekstraktı için bitki ekstraktan 250 µL alınmış ve üzerine metanolden 2500 mL ilave edilmiştir. Daha sonra karanlık bir ortamda bekletilmek üzere 1 saat saklanmıştır. Daha sonra 517 nm'de UV-Visible spektrofotometre kullanılarak antioksidan aktivite tayin edilmiştir. Sonuçlar için kullandığımız formül aşağıdaki gibidir;

Antioksidan aktivite (%) = [1 - (örnek absorbansı / kontrol absorbansı)] ×100 [69].

2.5 Toplam Fenolik İçerik Tayini

Bu çalışma kapsamında kullanmış olduğumuz metot, Folin-Ciocalteu yöntemidir. 0,25 mL hazırladığımız bitki ekstraktlarımıza 3,5 mL saf su ile 0,25 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. Kör örneğimiz için 0,2 mL metanol kullanılmıştır (% 80'lik). 3 dakika bekledikten sonra üzerine 1 mL % 20'lik Na₂CO₃ eklenip tüpler vortekslenerek hazırlanıp 40°C'de hazırlanan su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra ölçüm için 685 nm'de sonuçlar alınmıştır. Bu sonuçlar gallik asit kalibrasyon eğrisine göre belirlenmiştir [69].

2.6 Toplam Flavonoid Madde Miktar Tayini

Bu çalışmada toplam flavonoid madde miktarının hesaplanması için Ramful ve ark. (2011)'nin metodu kullanılmıştır. Bu metoda göre 2,5 mL hazırlanmış her bir bitki ekstaratına 150 µL NaNO₂ (%5'lik) eklenmiş ve vortekslenmiştir. Kör örneklerimiz için metanol kullanılmıştır (%80'lik). Daha sonra örnekler 5 dk bekletildikten sonra üzerine 150 µL'lik (%10 luk) AlCl₃ eklenmiştir. 1 dk geçtikten sonra 1 mL NaOH (1M) eklenmiştir. Ölçümler 510 nm'de spektrofotometrede alınmıştır. Sonuçlar µg kuarsetin/g eğrisine göre belirlenmiştir [70].

2.7 Antibakteriyel Aktivite

Bu deney için iki farklı bakteri türü gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *E. coli* kullanılmıştır. Antibakteriyel aktiviteyi hesaplamak için disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Bunun için hazır besiyeri triptik soy agara 10⁻⁴ oranında seyreltilen bakteriler besi yerine eklenmiştir. Bakteri ekilen besiyeri bir gece bekletildikten sonra, bitki ekstratlarından her bir bakteri ortamına ekim yapılmıştır. Bir gece daha inkübatörde (37°C) bekletilmiştir. Bekleme işleminden sonra diyametric mikrometreyle hesaplama işlemi yapılmıştır [71].

2.8 Sitotoksik Aktivite

Sitotoksik aktivite için Smitha ve arkadaşlarının metodu (2009) modifiye edilerek kullanılmıştır. Lenfositleri izole etmek için 10 mL kan örneğine 4 katı oranında hemoliz tamponu (NH₄Cl 150 mM) ve 10 mM tris tamponu (pH:7,4) eklenmiş ve 30 dk. boyunca +4°C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra 1500 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Dibe çöken pelletin üstüne 3’er defa 10 mL *m*-inositol (250 mM) içeren fosfat tamponu (10 mM) eklenmiş, santifiüj edilmiş ve yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Lenfositler izole edildikten sonra thoma lamı ile sayılır, 2 x 10⁷ hücre/mL şeklinde seyreltilmiştir. Bu çözeltiden 100 µL alınır, üzerine 100 µL bitki ekstratı, t-BOOH (1mM) ve BHA (400 µM) konmuştur. Daha sonra steril serum fizyolojik solüsyon ile son hacim 1 mL’ye tamamlanmıştır. Bütün örnekler 37°C’de 15, 30, 45 ve 60 dakika olmak üzere inkübe edilmiştir [72]. Hücre yaşamlılığını test edebilmek için MTS testi, tripan mavisi testi ve JuLI analizi yapılmıştır.

MTS testi için bitkilerle muamele edilen lenfosit çözeltisinden ve kontrol gruplarından 100 µL alınmış ve 3’er tekrarlı olmak üzere 96 kuyucuklu plakaya yerleştirilmiştir (2 x 10⁶ hücre/mL). Sonra 20 µL MTS reaktifi eklenerek 4 saat 37°C’de inkübe edilmiştir. MTS testi ile tetrazolyum bileşiğinin (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2Htetrazolium iç tuzu; MTS) metabolik olarak aktif olan hücrelerdeki dehidrogenaz enzimleri tarafından sentezlenen NADPH veya NADH’lar sayesinde besiyeri içerisinde çözünebilen renkli formazon bileşiğine dönüşmesi sağlanmış ve 490 nm’de absorbans ölçümü alınmıştır [73].

JuLI analizi ve tripan mavisi testini yapmak için bitki ekstratlı lenfosit çözeltisinden ve kontrol gruplarından 10’ar µL alınmış, üzerine aynı miktarda % 4’lük tripan mavisi eklenmiş ve iyice karışması sağlanmıştır. Yapılan bu testler sayesinde membran yapısı hasar görmüş ölü hücreler, boyayı içine alarak mavi görünmesi sağlanmıştır. JuLI analizi için cihazın hücre sayma moduna getirilip örneklerin % canlılık oranı görüntülenip kaydedilmiştir. Tripan mavisi ile yapılan testte % canlılık oranı hesaplanırken

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{\text{Yaşayan Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100$$

formülü kullanılmıştır [73].

2.9 Protein Miktar Tayini

Çalışmada Dumas cihazından yararlanılmıştır. Bunun için kuru bitki örnekleri kullanılmıştır. Bu yöntemde asıl prensip yakma işlemi sonrasında gaz durumuna geçen nitrojenin ölçülmesidir. Test edilecek rnekler 800-950°C’de saf oksijen ile yakılmıştır. Daha sonra oluşan gazlar filtrelerde tutularak atılır ve sıcak bakırın üstünde oksijen uzaklaştırılarak NO₂’nin N₂’ye dönüşmesi esasına dayanır [74].

3. BULGULAR

Çalışmamızda kullandığımız *Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE ve *Salvia kronenburgeii* RECH. FIL bitkilerinin antioksidan aktivite, toplam fenol, flavonoid madde miktarı, antibakteriyel aktivite, sitotoksik aktivite ve toplam protein madde miktarı incelenmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

3.1 Toplam Antioksidan Aktivitesine Ait Bulgular

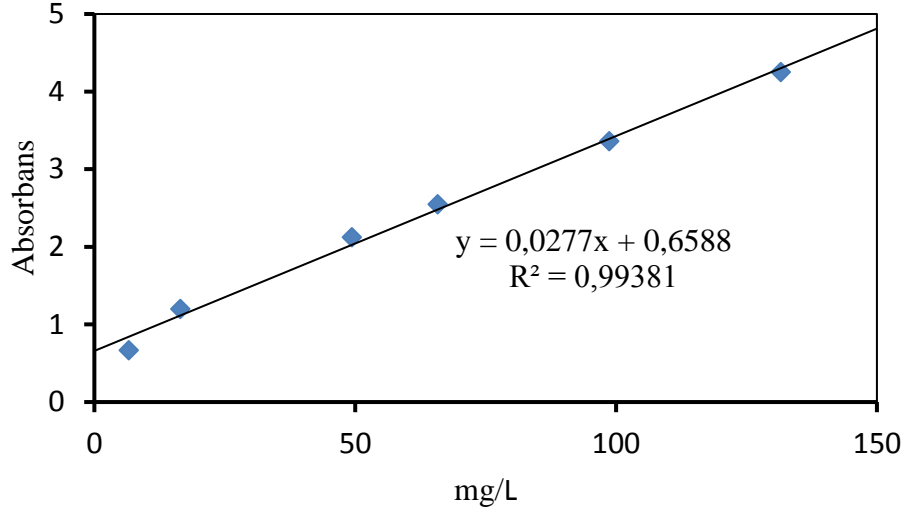
Bitkiler oda sıcaklığında kurutulduktan sonra DPPH metodu kullanılarak antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1: Bitkilerin % antioksidan aktiviteleri.

Bitkiler	% Antioksidan kapasite
<i>Salvia macrochlamys</i>	98,7
<i>Salvia huberi</i>	98,4
<i>Salvia kronenburgeii</i>	98,4

3.2 Toplam Fenolik Madde İçeriğine Ait Bulgular

Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak bulunmuştur. Elde edilen kalibrasyon, gallik asit kullanılarak çizilmiştir (Şekil 3.1). Sonuçlar mg/g cinsinden hesaplanarak, Tablo 3.2’de verilmiştir.



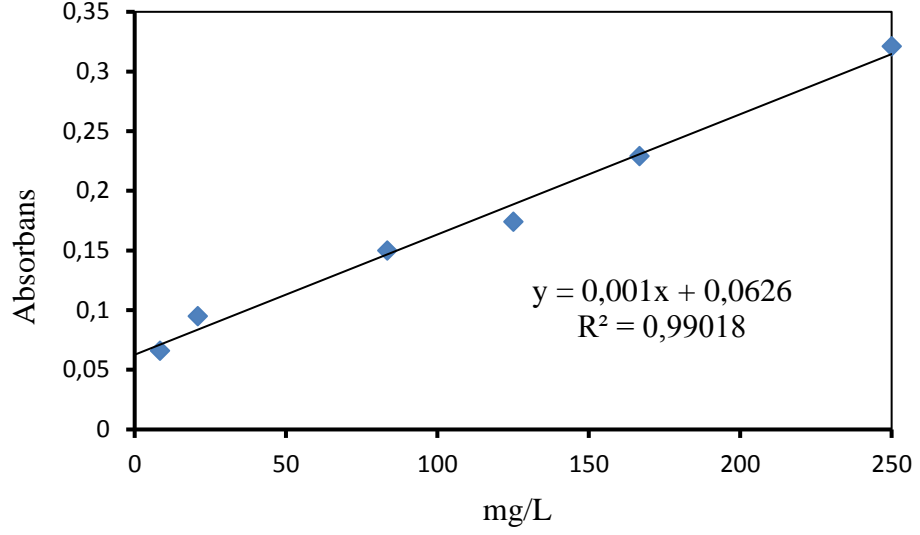
Şekil 3.1: Toplam fenolik madde içeriği kalibrasyon grafiği (gallik asit).

Tablo 3.2: Bitkilerin toplam fenolik içerikleri.

Bitkiler	Miktar (mg/g)
<i>Salvia macrochlamys</i>	150,1
<i>Salvia huberi</i>	147,4
<i>Salvia kronenburgeii</i>	148,2

3.3 Toplam Flavonoid Madde İçeriğine Ait Bulgular

Oda sıcaklığında bitkiler kurutulduktan sonra toplam flavanoid madde miktarı araştırılmıştır. Bitki ekstraktlarının verilerini hesaplamak için çizilen kalibrasyon eğrisinde referans olarak quercetin bileşiği kullanılmıştır. Elde edilen kalibrasyon eğrisi, Şekil 3.2’de, sonuçlar ise Tablo 3.3’te verilmiştir.



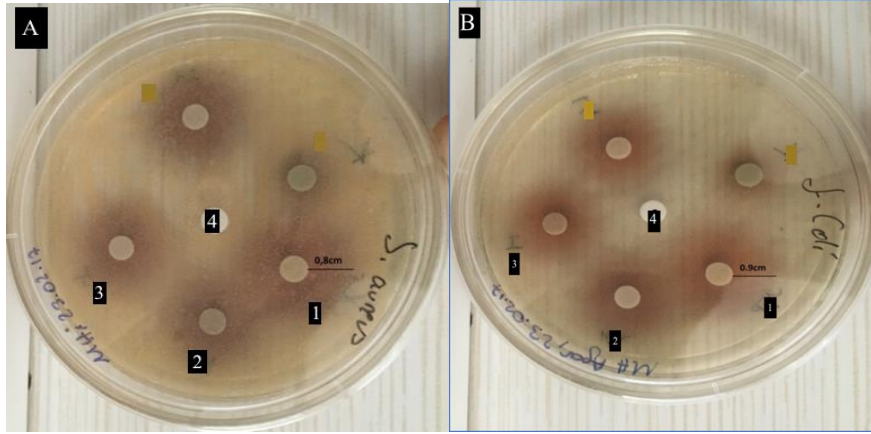
Şekil 3.2: Flavonoid madde içeriğine ait kalibrasyon eğrisi.

Tablo 3.3: Bitkilerin flavonoid madde içerikleri (mg/g).

Bitkiler	Miktar (mg/g)
<i>Salvia macrochlamys</i>	34,2
<i>Salvia huberi</i>	21,2
<i>Salvia kronenburgeii</i>	30,1

3.4 Antibakteriyel Aktiviteye Ait Bulgular

Bitkilerden elde ettiğimiz ekstratlar ile yaptığımız antibakteriyel çalışmada *E.coli* ve *S. aureus* bakterileri kullanılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.3 ve Tablo 3.4 verilmiştir.



Şekil 3.3: 1- *S. kronenburgei*, 2- *S. macrochlamys*, 3- *S. huberi*, 4-Metanol ekstraktlarının *S. aureus* (A) ve *E. coli* (B) bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerinin disk difüzyon yöntemi ile gösterilmesi.

Tablo 3.4: Antibakteriyel aktivite testi sonucu elde edilen zon çapları (cm).

Örnek	Çap	
	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>S. macrochlamys</i>	1,8 cm	2 cm
<i>S. huberi</i>	1,7 cm	1,8 cm
<i>S. kronenburgeii</i>	2 cm	2 cm

3.5 Sitotoksik Aktiviteye Ait Bulgular

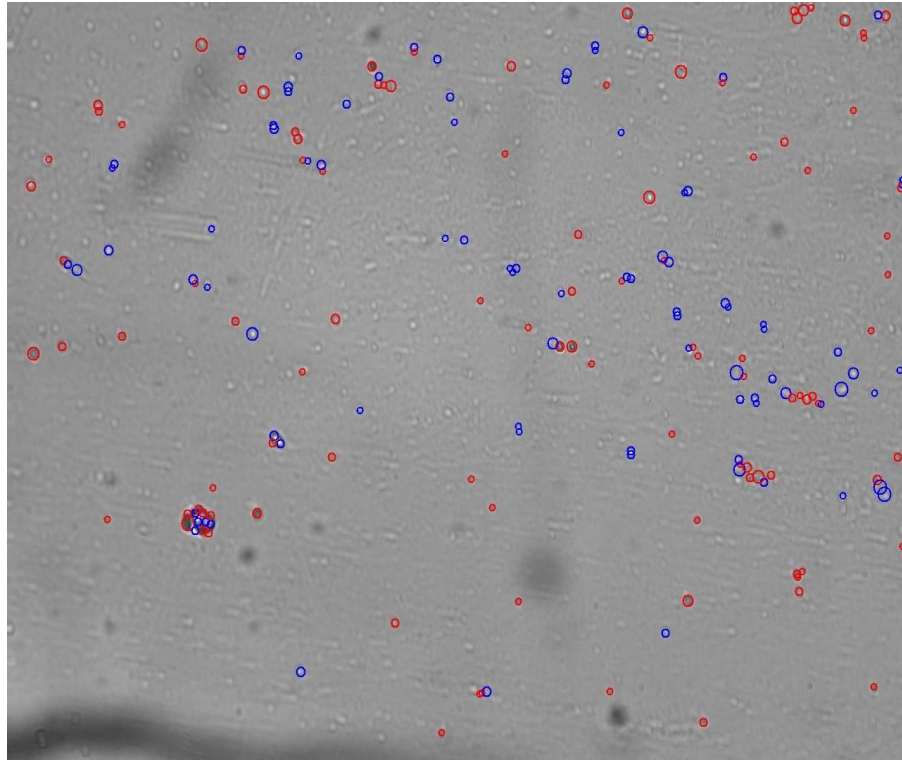
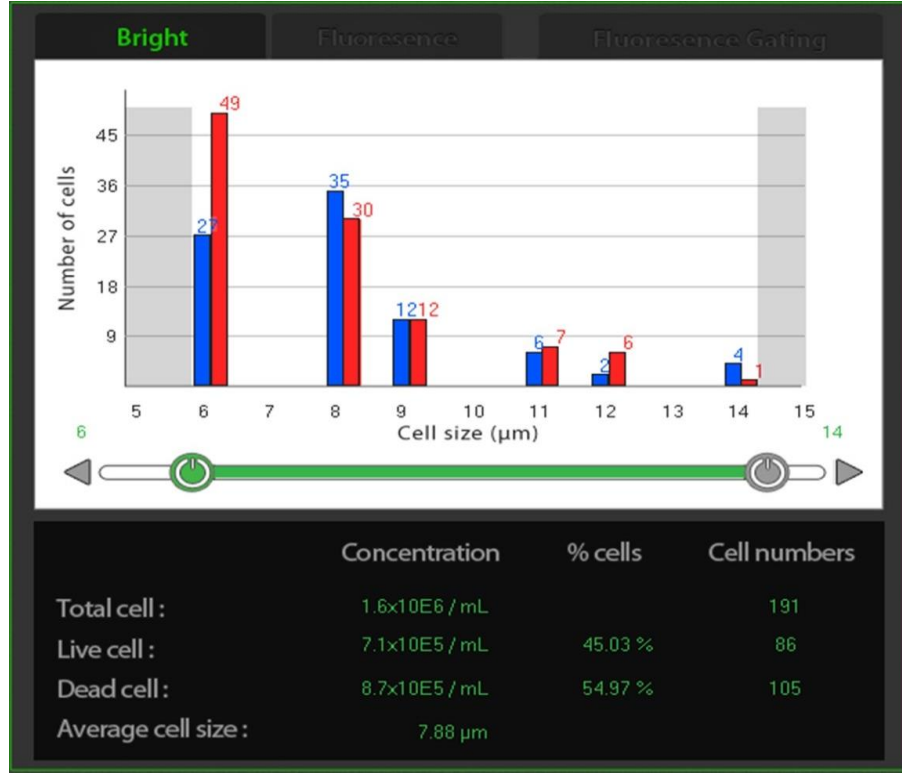
Sitotoksik aktiviteye ait sonuçlar Tablo 3.5, 3.6 ve Şekil 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 ve 3.8’de verilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız MTS testine göre 4 farklı zamanda alınan sonuçlar, negatif kontrol ve tBOOH ile alınan sonuçlar belirlenmiştir.

Tablo 3.5: MTS testi sonucuna göre elde edilen absorbanans değerleri (490 nm).

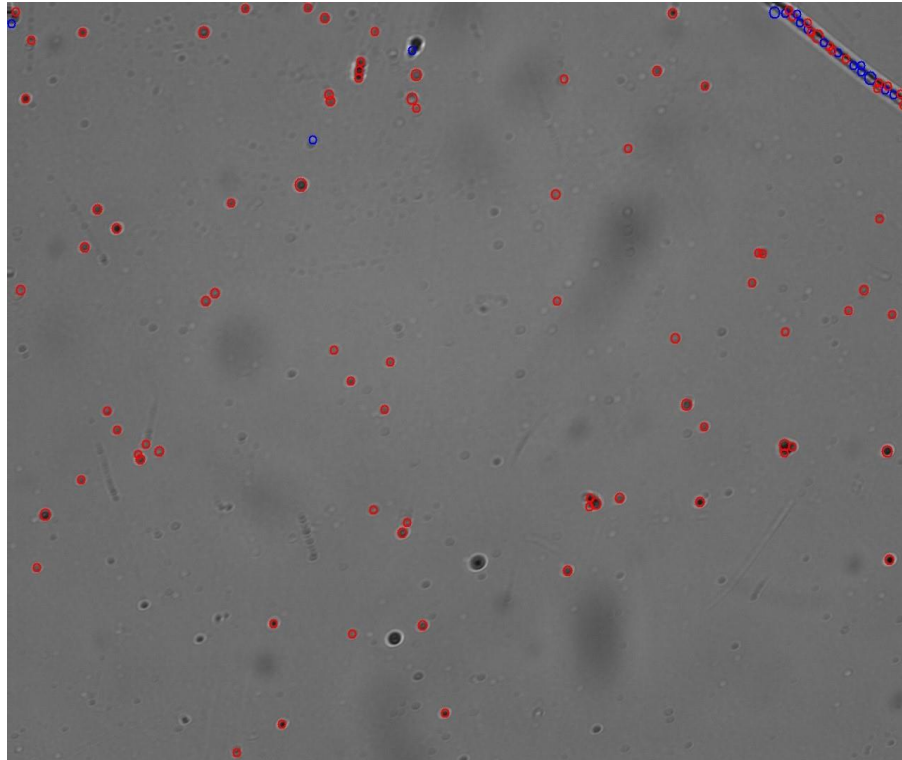
Bitkiler	% Absorbans (490 nm)			
	15 dk	30 dk	45 dk	60 dk
<i>Salvia macrochlamys</i>	0,68	0,30	0,45	0,43
<i>Salvia huberi</i>	0,56	0,68	0,73	0,35
<i>Salvia kronenburgeii</i>	0,60	0,69	0,62	0,51
Negatif kontrol	0,81	0,57	0,79	0,59
tBOOH	0,34	0,26	0,50	0,41

Tablo 3.6: Tripan mavisi ile alınan sonuçlar (% yaşam).

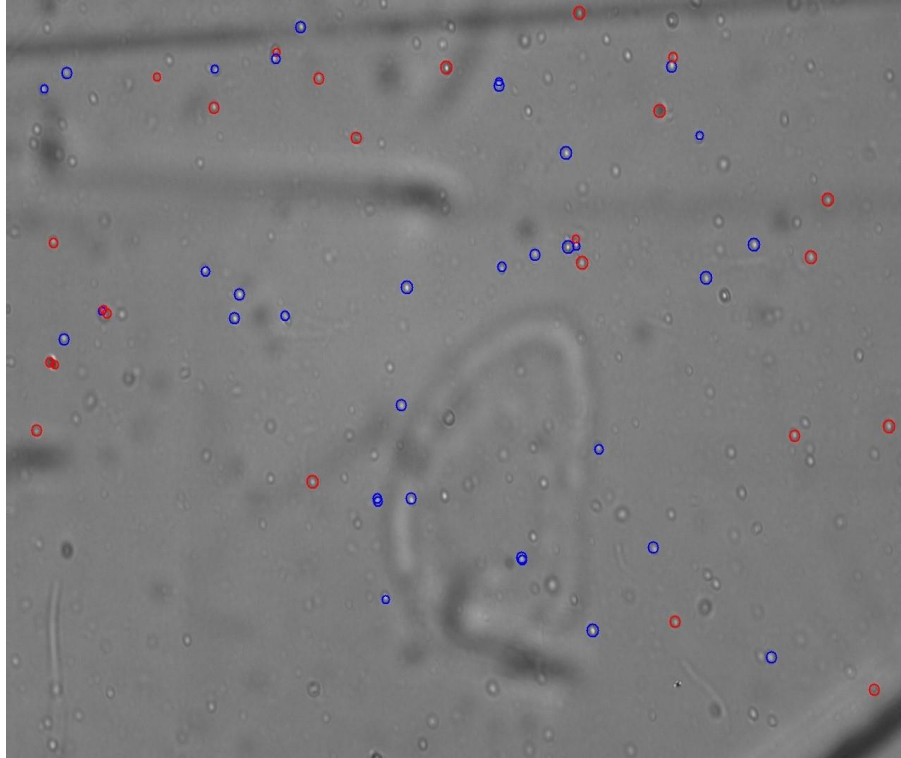
Bitkiler	Canlılık oranı (%)
<i>Salvia macrochlamys</i>	22,37
<i>Salvia huberi</i>	17,42
<i>Salvia kronenburgeii</i>	60,45
Negatif kontrol	58,84
tBOOH	21,54



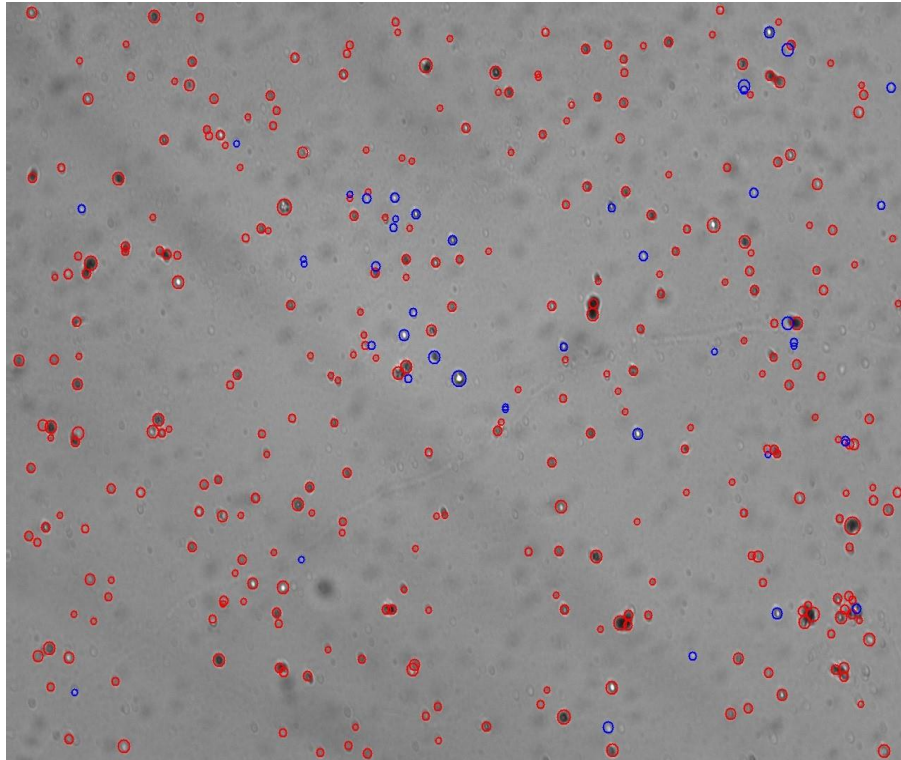
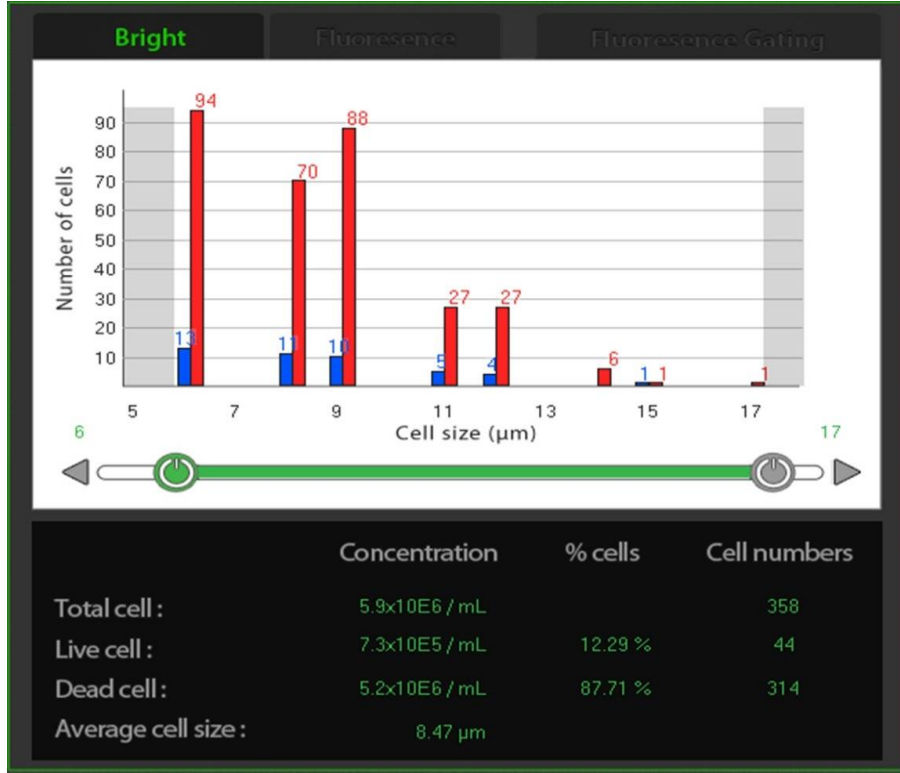
Şekil 3.4: *Salvia macrochlamys*'in JuLI görüntüleme ile alınan sonuç ve fotoğrafı.



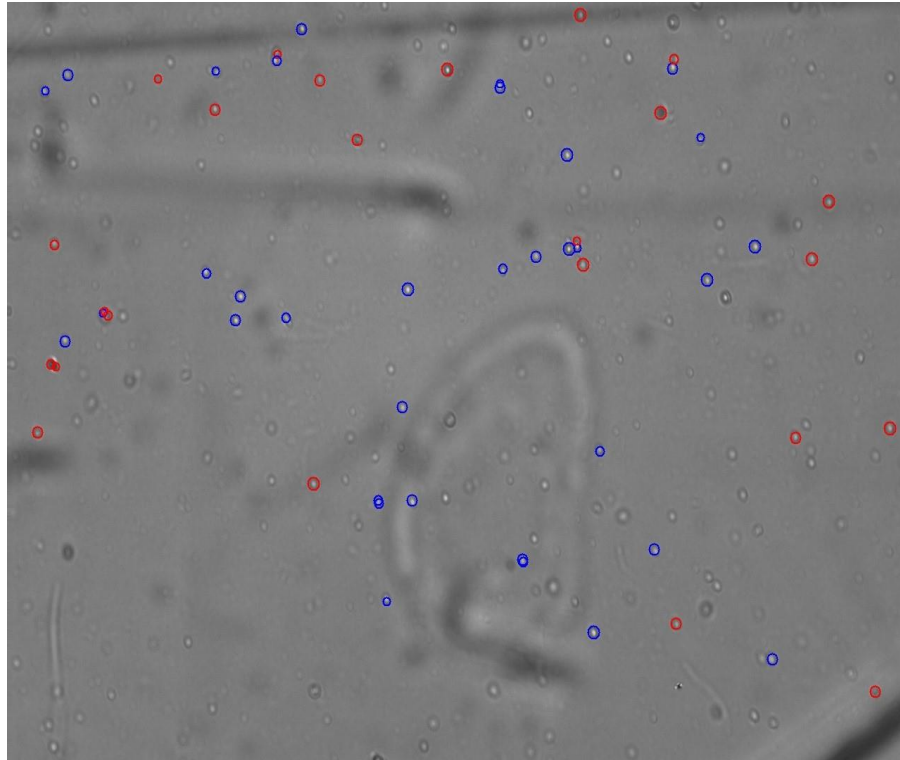
Şekil 3.5: *Salvia huberi*'nin JuLI görüntüleme ile alınan sonuç ve fotoğrafı.



Şekil 3.6: *Salvia kronenburgeii*'nin JuLI görüntüleme ile alınan sonuç ve fotoğrafı.



Şekil 3.7: tBOOH'tan alınan JuLI görüntüleme sonuç ve fotoğrafı.



Şekil 3.8: Negatif kontrolden alınan JuLI görüntüleme ve fotoğrafı.

3.6 Protein Tayinine Ait Bulgular

Kurutulan bitki örnekleri Dumas cihazı kullanılarak protein içerikleri tespit edilmiştir. Elde edilen bilgilere göre en yüksek protein içeriği *Salvia huberi* olurken, en düşük protein içeriğın sahip bitki *Salvia kronenburgeii* olmuştur.

Tablo 3.7: Bitkilerin toplam protein içerikleri.

Örnek	Toplam protein miktarı (%)
<i>S. macrochlamys</i>	1,6
<i>S. huberi</i>	1,7
<i>S. kronenburgeii</i>	1,4

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Lamiaceae familyasından bazı *Salvia* (*Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE. ve *Salvia kronenburgeii* RECH.FIL) türlerinin ekstraktlarındaki antioksidan aktivite, toplam fenolik, toplam flavonoid madde miktarı, antibakteriyel, sitotoksik aktivite ve toplam protein miktarı belirlenmeye çalışılmıştır.

4.1 Antioksidan Aktivite

Bitki örneklerinin antioksidan kapasitelerini ölçmek için DPPH metodu kullanılmıştır. DPPH metodunun tercih edilmesinin sebebi, basit ve hızlı olmasının yanısıra DPPH radikalının süperoksit ve hidroksil radikallerinden daha stabil olmasıdır [80]. DPPH metodu kullanılarak elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde tüm bitki örneklerinin yüzde antioksidan değerlerinin oldukça yüksek ve birbirine yakın oldukları bulunmuştur. Aralarında ki çok küçük farklara rağmen en fazla antioksidan aktiviteye sahip türler sırasıyla *S. macrochlamys*, *S. kronenburgeii* ve *S. huberi*’dir. Tepe ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada *Salvia* türlerinin antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemi ile araştırmışlardır. Buna göre *Salvia caespitosa* %41,3±2,14, *S. hypargeia* %34,6±1,36, *S. sclarea* % 23,4±0,97, *S. candidissima* subsp. *candidissima* %49,7±1,72 olarak bulunmuştur [59]. Yumrutaş ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada *Salvia euphraticanın* iki varyetesinin antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. DPPH metodu kullanılarak *S. euphratica* var. *euphratica* bitkisinin metanollü ekstraktlarında antioksidan içeriğini 18,2±1,2 µg/mg (%98,18) ve *S. euphratica* var. *leiocalycina* ise 11,4±1,0 µg/mg (%98,86) olarak bulunmuştur [81]. Alimpic ve arkadaşları, *Salvia amplexicaulis* bitkisinin biyolojik aktivitesini araştırdıkları çalışmada bu bitkinin antioksidan aktivitesini DPPH metodu ile hazırladıkları metanollü ekstratta 15,1±0,44 mg/mL (%98,49) olarak bulmuşlardır [78]. Hatipoğlu 2010 yılında yapmış olduğu çalışmada *Salvia adenophylla* ve *Salvia verticillata* subsp. *amasica* bitkilerinin DPPH metodu ile antioksidan aktivitelerini belirlemiştir. Bunun sonucunda bitkilerin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi, *Salvia verticillata*

subsp. amasica bitkisi için %85,10 ve *Salvia adenophylla* bitkisi için ise % 96,2 olarak bulunmuştur [77].

4.2 Toplam Fenolik İçerik ve Toplam Flavonoid Miktarı

Fenolik bileşikler, antioksidan özellikleri ile serbest radikalleri sonlandırmak, oksijen konsantrasyonunu azaltmak, metal şelatör gibi davranarak oksidasyon ürünlerini tononoksidan moleküllerine dönüştürmek gibi kritik rollere sahiptirler [75,76].

Bu çalışmada elde edilen toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde içeriği Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'te verilmiştir. Tablo 3.2 incelendiğinde, *Salvia* türlerinin toplam fenolik madde içeriklerinin birbirlerine oldukça yakın oldukları görülmektedir. *Salvia macrochlamys*, *Salvia huberi* ve *Salvia kronenburgeii* ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri sırasıyla 150,1; 147,4 ve 148,2 mg/g olarak bulunmuştur. Tablo 3.3'de gösterilen toplam flavonoid madde miktarları fenolik içeriklerin aksine birbirinden farklı bulunmuştur. *Salvia macrochlamys*, *Salvia kronenburgeii* ve *Salvia huberi* ekstraktlarının flavonoid madde içerikleri sırasıyla 34,2; 30,1 ve 21,2 mg/g olarak hesaplanmıştır. En yüksek flavonoid konsantrasyonuna sahip örnek *Salvia macrochlamys*, en düşük ise *S. huberi* bitkisi olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar literature ile karşılaştırıldığında ise uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Örneğin; Hatipoğlu *Salvia adenophylla* ve *Salvia verticillata subsp. amasica* bitkilerinin fenolik ve flavonoid miktarlarını tayin etmiştir. *Salvia verticillata subsp. amasica* bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlanan metanollü ekstraktlarının toplam fenolik miktarının $275,76 \pm 2,14$ mg/g ve flavonoid miktarını ise $15,05 \pm 0,83$ mg/g olarak bulmuştur. *Salvia adenophylla* bitkisinde ise toplam fenolik miktarı metanollü ekstraktlarda $92,12 \pm 1,78$ mg/g ve flavonoid miktarı ise $25,32 \pm 2,50$ mg/g olarak belirlenmiştir [77]. Alimpic ve arkadaşları *Salvia amplexicaulis* Lam. ile yaptıkları biyolojik aktivite çalışmasında bu bitkinin fenolik içeriğini metanollü ekstraktlarda $99,1 \pm 0,74$ mg/g ve flavonoid içeriğini ise yine metanollü ekstraktlarda $42,7 \pm 1,54$ mg/g olarak bulmuşlardır [78]. Ertaş ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışma kapsamında iki adet (*Sideritis arguta* ve *S. congesta*) bitkinin toplam fenol ve flavonoid içerikleri araştırılmıştır. Buna göre *Sideritis arguta*'nın toplam fenolik içeriği $57,59 \pm 0,709$ mg/g

ve flavonoid içeriği $33,37 \pm 1,72$ mg/g olarak bulunmuştur. *S. congesta*'da ise toplam fenolik içerik $74,71 \pm 0,711$ mg/g ve flavonoid miktarı ise $58 \pm 0,085$ mg/g olarak bulunmuştur [79]. *Salvia* ve *Sideritis* gibi çeşitli şekillerde insanlar tarafından tüketilen türler ile daha önce yapılmış çalışmaların bu sunulan çalışmayı desteklendiğini ve kıyaslandığında ise yeterli zenginlikte fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olduğu söylenebilir.

4.3 Antibakteriyel Aktivite

Bitki örneklerinden elde edilen ekstraktların disk difüzyon yöntemine göre *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırılmış ve araştırma sonucunda elde edilen bulgular Şekil 3.3'de verilmiştir. Tablo 3.4'de ise elde edilen bulguların zonları bir diameter yardımı ile ölçülerek cm cinsinden verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde *Salvia* türlerinin her iki bakteri türüne karşı antibakteriyel etki gösterdiği ve zon oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.3). *E. coli* bakterisine karşı etkili aktiviteyi *S. kronenburgei* ve *S. macrochlamys*, türleri oluşturdukları 2 cm'lik inhibisyon zonları ile göstermişlerdir. *S. huberi* 1,8 cm'lik inhibisyon zonu oluşturarak *Salvia* türleri arasında en düşük aktiviteyi göstermiştir. Örnekler arasında *S. kronenburgei*, *S. aureus* bakterisine karşı en yüksek aktivite gösterirken oluşturduğu inhibisyon çapı ise 2 cm olarak ölçülmüştür. Bunu ise sırasıyla *S. macrochlamys* ve *S. huberi* örnekleri 1,8 ve 1,7 cm'lik inhibisyon zonları ile takip etmiştir. *Salvia sericeo-tomentosa* varyeteleri ile yapılmış bir çalışmada *S. sericeo-tomentosa* var. *sericeo-tomentosa* bitkisinden elde edilen ekstraktın *E. coli* bakterisine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu $9 \pm 0,71$ mm ve *S. aureus*'a karşı ise $9 \pm 1,06$ mm olarak tespit edilmiştir. *S. sericeo-tomentosa* var. *hatayica* bitki türü ise *E. coli*'de $8,5 \pm 0,35$ mm ve *S. aureus*'ta ise $9,5 \pm 0,71$ mm inhibisyon zonu oluşturmuştur [82]. *Salvia officinalis*'in gram negatif *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* ve gram pozitif olan *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* bakterilerine karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunarak, çalışmada elde edilen sonuçlara göre *E. coli*'de $12 \pm 0,4$ mm, *S. aureus*'ta ise $16 \pm 0,2$ mm'lik inhibisyon zonları olduğu gözlenmiştir [60]. Çalışmamızın sonuçları, literatür ile karşılaştırıldığında çalışmada kullanılan tüm örneklerin oldukça etkili bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

4.4 Sitotoksik Aktivite

Sitotoksik aktiviteye ait bulguları Tablo 3.5, 3.6 ve Şekil 3.4 – 3.8’de verilmiştir. Bu çalışmada oksidatif stresin bir modeli olarak geniş bir ölçüde faydalınılan bir membrana-geçirgen oksidan olan tert-bütül hidroperoksit (t-BOOH) kullanılmıştır [87].

Bitki ekstratı ile muamele edilen lenfosit hücrelerinin MTS testi sonuçlarına göre sitotoksik etkileri karşılaştırıldığında, *Salvia kronenburgeii*'nin 15, 30, 45 ve 60 dakikalık inkübasyondan sonra diğerlerine göre daha yüksek hücre canlılığına neden olduğu (Tablo 3.5) açıkça görülmektedir. *S. macrochlamys* ile muamele edilen hücrelerin absorbans değerlerinin 30. dakikadan sonra sadece t-BOOH ile muamele edilen hücrelerin verdiği absorbans değerlerinden daha düşük seviyeye inmeye başladığı görülmektedir. Bu sonuçlara göre bitkiler t-BOOH'un zararlı etkilerini önleme kapasiteleri açısından, *S. macrochlamys* ile muamele edilen örneklerin t-BOOH'un sebep olduğu oksidatif hasara engel olamadığı görülmektedir. Bu çalışmadaki örnekler arasında en yüksek aktiviteyi *S. kronenburgeii* gösterirken en düşük aktiviteyi *S. macrochlamys* göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatürdeki bazı çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Örneğin Zengin ve arkadaşları 2017 yılında yapmış oldukları çalışmada farklı çözücüler ile hazırlanmış *S. euphratica* ekstraktlarının akciğer ve meme kanser hücrelerine karşı gösterdiği sitotoksik aktivitelerini araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri sonunda en yüksek sitotoksik etki diklorometan ile hazırlanan ekstraktlarda görülürken, metanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarda daha az sitotoksik etki görülmüştür [84].

Biki ekstraktları ile muamele edilen lenfosit hücrelerinin tripan mavisi testi ve JuLI analiz sonuçlarına göre sitotoksik etkileri incelendiğinde, en yüksek yaşamlılığın *S. kronenburgeii* ile muamele edilen hücrelerde olduğu belirlenmiştir. En düşük yaşamlılığın ise tripan mavisi testine göre *S. macrochlamys* ve *S. huberi* ekstraktının eklendiği hücrelerde; ve JuLI testine göre ise *S. huberi* ekstraktlarının eklendiği hücrelerde olduğu görülmektedir. Literatürde *S. kronenburgeii* ekstraktlarının lenfositler üzerindeki koruyucu etkisi hakkında bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak, Topçu ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınladıkları bir çalışmada *S.*

kronenburgii bitkisinden triterpenlerin izole edildiği ve yapılarının açığa kavuşturulduğu belirtilmiştir. Araştırmacıların elde ettiği triterpenler arasında bu bitki içerisinde en çok bulunan $1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -Tetrahydroxyurs-12-ene bileşiğinin 60 kanser türü içerisinde sadece 3'üne (böbrek, akciğer ve meme kanserine) karşı seçici olarak sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir [88].

Literatürde farklı *Salvia* türlerinin sitotoksitesi hakkında da birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Sevindik ve arkadaşları *Salvia fruticosa* ekstraktlarının lenfositler üzerindeki sitotoksik etkisini mitotik indeks, proliferasyon indeksi ve nükleer bölünme indeksi parametrelerini kullanarak araştırmışlardır. Araştırmacılar *Salvia fruticosa* ekstraktlarının (1.5, 3 ve 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$) mitotik indekste azalmaya sebep olduğunu, proliferasyon indeksinde ve nükleer bölünme indeksinde ise herhangi bir değişikliğe sebep olmadığını bulmuşlardır [87]. Özmen yapmış olduğu çalışmada Aydın yöresindeki bazı endemik bitkilerin (*Crocus oliveri* ssp. *Balansae*, *Scutellaria orientalis* ssp. *carica*, *Scrophularia floribunda* ve *Hypericum adenotrichum*) sitotoksik etkilerini araştırmıştır. Bu test için Lösemi hücre hattı olan HL-60 hücreleri ile çalışılmıştır. Çalışma sonucunda *Hypericum adenotrichum* bitkisinin diğer bitkilere göre çok daha fazla sitotoksik aktivite gösterdiği görülmüştür [85]. *Salvia cryptantha*, *Salvia nemerosa*, *Salvia verticillata*, *Salvia pocolata* bitkilerinin sitotoksik etkisi için tripan mavisi yöntemi kullanılmıştır. Sitotoksosite için meme kanseri hücre serileri MDA-MB-231, MDA-MB-468 kullanılmıştır. Alınan sonuçlara göre birinci seri kanser hattında en yüksek sitotoksik aktiviteyi *S. cryptantha* ve en düşük aktiviteyi ise *S. pocolata* ve *S. verticillata* göstermiştir [86]. Bir başka çalışmada ise *Salvia fruticosa*'nın sitotoksik aktivitesi XTT testi ve tripan mavisi ekstraksiyon yöntemi ile incelenmiştir. Kolon kanseri hücre hattına uygulanan *S. fruticosa* XTT sonuçlarına göre 48 ve 72 saat sonunda elde edilen IC50 değerleri sırasıyla $0,185\pm 0,0025$ mg/mL ve $0,229 \pm 0,0148$ mg/mL olarak bulunmuştur. Araştırmacıların tripan mavisi yöntemine göre elde ettiği sonuçlar 48 saatte $0,174 \pm 0,0063$ mg/mL ve 72 saatte $0,228\pm 0,0032$ mg/mL olarak bulunmuştur [65]. *Salvia amplexicaulis* ile yapılan bir çalışmada sitotoksosite için MTT testi kullanılmış ve bu test için kolon kanseri hücreleri ile çalışılmıştır. Bu çalışmada 24 ve 72 saat olmak üzere iki değer alınmış olup bunun sonucunda etanollü ekstraktlarda 24 saatte $164,5\pm 3,65$ mg/mL ve 72 saatte $581,9\pm 2,43$ mg/mL olarak bulunmuştur [78].

4.5 Toplam Protein İçeriği

Çalışmamızda kullandığımız *Salvia* türlerinin protein içerikleri Tablo 3.7’de verilmiştir. Buna göre en yüksek protein içerik *S. huberi* bitkisinde bulunurken, en düşük protein içerik ise *S. kronenburgeii*’de bulunmuştur. Atalay yapmış olduğu çalışmada Lamiaceae familyasından *Salvia tomentosa* Miller., *Sideritis perfoliata* L. ssp. *athoa*, *Sideritis trojana* Bornm., *Stachys tmolea* Boiss., *Stachys cretica* L. *smyrnaea* Rech fil. bitkilerinin protein içeriğini araştırmıştır. Buna göre *Salvia tomentosa* Miller %1,03, *Sideritis perfoliata* L. ssp. *athoa*, %1,10, *Sideritis trojana* Bornm %2,77, *Stachys tmolea* Boiss %1,29, *Stachys cretica* L. *smyrnaea* Rech fil. %0,78 olarak bulmuştur [83]. Olgun ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde protein oranlarını çeşitli yöntemlerle araştırmışlardır. Kullandıkları Dumas yöntemi sonucunda ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) da protein içeriği dağdaş çeşidinde %13,3 ve altay çeşidinde % 10,2 bulunmuştur [56]. Bu çalışmada ise en yüksek protein içerik %1,7 ile *Salvia huberi* olmuştur. Sonuç olarak ekmeklik buğdayda (*Triticum aestivum* L.) *Salvia* da bulunan protein içeriğinden çok daha fazla miktarda protein içerdiği görülmüştür.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Lamiaceae familyasına ait bazı *Salvia* türlerinin (*Salvia macrochlamys* BOISS. ET KOTSCHY, *Salvia huberi* HEDGE ve *Salvia kronenburgeii* RECH.FIL) bazı biyokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Bu kapsamda bitkilerin toplam fenolik, toplam flavonoid, antioksidan aktivite, antibakteriyel aktivite, sitotoksik aktiviteleri ve toplam protein içerikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

1. En yüksek fenolik içeriğe sahip bitki *Salvia macrochlamys* ve en düşük ise *Salvia huberi* olarak bulunmuştur.
2. *Salvia* türlerinin antioksidan ve flavonoid içeriklerinin birbirine oldukça yakın oldukları görülmüştür.
3. Antibakteriyel aktivitesi en yüksek bitki *E.coli*'de *Salvia macrochlamys* ve *Salvia kronenburgeii* olurken, *S.aureus*'ta en yüksek aktiviteyi *Salvia kronenburgeii* göstermiştir.
4. Sitotoksik aktivitesi en yüksek bitkiler *Salvia kronenburgeii* ve en düşük ise *Salvia macrochlamys* olarak bulunmuştur.
5. Toplam protein içeriği en yüksek bitki *Salvia huberi*, en düşük ise *Salvia kronenburgeii* olarak belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- [1] Berber, İ., Avşar, C., Çine, N., Bozkurt, N. ve Elmas E., “Determination of Antibacterial and Antifungal Activities of Methanolic Extracts of Some Plants Growing in Sinop Karaelmas”, *Science and Engineering Journal*, 3(1), 10-16, (2013).
- [2] Barış, D., Kızıl, M., Çeken, B., Yavuz, M. ve Aytekin, Ç., “Bazı *Hypericum* Türlerinin in-vitro Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması”, XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası, (2005).
- [3] Baytop, T., “Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi, Geçmişte ve Bugün”, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 550s., (1999).
- [4] Toroğlu, S. ve Çenet, M., “Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar”, KSÜ., *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), (2006).
- [5] İlçim, A., Dığrak, M., ve Bağcı, E., “Bazı bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması”, *Tr. J. of Biology*, 22, 119-125, (1998).
- [6] Draughon, F.A., “Use of botanicals as biopreservatives in foods”, *Food Technol.*, 58(2), 20–28, (2004).
- [7] Dülger, B., Uğurlu, E. ve Gücin F., “*Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) 'un antimikrobiyal aktivitesi”, *Ekoloji Çevre dergisi*, 11(45), 1-5, (2002).
- [8] Liu, R.H., “Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action”, *J. Nutr.*, 134;3479-3485, (2004).
- [9] IARC. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Suppl.2, long term and short term screening assays for carcinogens: A critical appraisal, IARC Monographs Supplement2. IARC Lyon, International Agency for Research on Cancer (1980).
- [10] Erbaş, S. ve Fakir, H., “Türkiye’nin Batı Akdeniz Yöresinde doğal olarak yetişen dağ çayı (*Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Benth) Bornm) ve bayır kekiği (*Origanum sipyleum* L.) türlerinin uçucu yağ oranları ve bileşenlerinin belirlenmesi”, *SDU Faculty of Forestry Journal* 13, 119-122, (2012).
- [11] Davis, P.H., “*Flora of Turkey and The East Aegeans Islands.*” The University Press., Edinburg, İngiltere, Vol: 1-11 (1982).
- [12] Başer., K.H.C., “International Symposium on the Labiatae: Advances in Production.” Biotechnology and Utilisation, Sanremo, İtalya, (2006).
- [13] Hedge, I.C., “A Global Survey Biogeography of the Lamiaceae in Harley”, R.M. & Reynolds, T. (eds.), *Advances in Labiatae science*, Royal Botanic Gardens, Kew., (1992).
- [14] Zeybek, U. ve Zeybek, N., “*Farmasötik Botanik*”, Ders Kitabı, Değiştirilmiş 3. Baskı, E.Ü. Eczacılık Fakültesi yayınları, Bornova, İzmir, (2002).

- [15] Kahraman, A., Celep, F. and Doğan, M. “Morphology, Anatomy and Palynology of *Salvia indica* L. (Labiatae)”, *World Applied Sciences Journal*, 6(2), 289-296, (2009).
- [16] Başer, K.H.C., “Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile. *Acta Horticulturae*”, 333: 217-237, (1993).
- [17] TÜBİTAK- “Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı.”, <http://bioces.tubitak.gov.tr/>, Anonim 2005b. TÜBİTAK- Türkiye Bitkileri Veri Servisi. <http://www.tubitak.gov.tr/tubives/>, Erişim tarihi 10.11.17,(2005).
- [18] Doğan M., S, Pehlivan, G, Akaydın, E, Bağcı, İ, Uysal ve Doğan, H.M., “Türkiye’de Yayılış Gösteren *Salvia* L. (Labiatae) Cinsinin Taksonomik Revizyonu.” Tübitak Proje No: 104 T 450, (2008).
- [19] Tubives, Turkish Plants Data Service, <http://www.tubitak.gov.tr/tubives>, Erişim tarihi 11.11.17, (2001).
- [20] <http://prairiebreak.blogspot.com.tr/2017/01/salvias-i-have-loved-and-lost.html>., Erişim tarihi 09.10.17, (2017).
- [21] Baytop, T., “*Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*”, Ü. Yayınları, İstanbul., (1984).
- [22] Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D., Scalbert, A., “Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods.” Database. (2010).
- [23] Diplock, A., “Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients.” ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium., (1998).
- [24] Nawar, W.W., “Lipids. In Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York, (1996).
- [25] Kaur, C. ve Kapoor, H.C. “Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium’s health.” *Int. J. Food Science Technology*, 36; 703-725, (2001).
- [26] Moon, J.K.; “Shibamoto, T., Antioxidant Assays for Plant and Food Components.”, *J. Agric. Food Chem.*, 57, 1655–1666, (2009).
- [27] Yılmaz İ., “Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres”, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya, 17(2) 143-153 (2010).
- [28] Gökpınar Ş., Koray T., Akçiçek E., Göksan T., Durmaz Y., “Algal Antioksidanlar”, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 2006, E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/1): 85-89 Su Ürünleri Temel Bilimler / Hydrobiology, (2006).
- [29] Benabadjı, S.H., Wen, R.; Zheng, J., Dong, X.C., Yuan, S.G, “Anticarcinogenic and Antioxidant Activity of Diindolylmethane Derivatives”, *Acta Pharmacologica Sinica*, 25 (5), 666-671, (2004).
- [30] Ayaz, FA., “Changes in phenolic acids of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* ‘Oxygemmis’) fruit during maturation.”, *Acta Biol. Cracov. Ser.Bot.*, 43(1),23-6, (2001).

- [31] Harborne, J.B., "Biochemistry of Phenolic compounds", Academic Press, London, (1964).
- [32] Rusznyak, S.P., Szent-Gyorgyi, A., "Vitamin, P avonols as vitamins." *Nature*, 138, 27 (1936).
- [33] Formica, J.V., Regelson, W., "Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids." , *Food Chem Toxicol*, 33(12), 1061-80, (1995).
- [34] Van Acker, S.A., Tromp, M.N., Haenen, G.R., Vander Vijgh, W.J., "Flavonoids as scavenger of nitric oxide radical. *Biochem. Biophys Res Commun*" 214 (3), 755-9, (1995).
- [35] Scambia, G., Ranelletti, F.O, Panici, P.B., Piantelli, M., De Vincenzo. R., Ferrandina, G., "Quercetin in-duces type-II estro- gen- binding sites in estrogen-receptor-negative (MDA- MB231) and estrogen-receptor-positive (MCF-7) human breast-cancer cell lines." *Int J Cancer*; 54(3), 462-6.(1993).
- [36] Tsujimoto, Y., Hashizume, H., Yamazaki, M., "Superoxide radi- cal scavenging activity of phenolic compounds." *Int J Biochem*; 25(4), 491-4(1993).
- [37] Chen, Y.T., Zheng, R.L., Jia, Z.J, Ju, Y., "Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants." *Free Radic Biol Med.*, 9(1), 19-21(1990).
- [38] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., "Structure- Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids", *Free Radic Biol Med.*, 20(7),933-56, (1996).
- [39] Mustafa, R.A., Hamid, A.A., Mohamed, S., Bakar, F.A., "Total phenolic compo- nents, avonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants." *J Food Sci*, 75 (1), 28-35, (2010).
- [40] Yoo, K.M., Hwang, I.K., Moon, B.K., "Comparative avonoids contents of selec- ted herbs and associations of their radical scavenging activity with antiproliferative actions in v79-4 cells". *J Food Sci*, 74 (6), 419-425, (2009).
- [41] Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., Tommasi, N., "Structure-antioxidant activity relationships of avonoids isolated from di erent plant species." *Food Chem.*, 92 (2), 349-355, (2005).
- [42] Ross, J.A., Kasum, C.M., "Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Efects, and Safety." *Annu Rev Nutrition*, 22, 19-34, (2002).
- [43] Karaman, M., "Karboksil Grubu İçeren Monodispers-Makro Gözenekli Hidrojellerin Flavonoid İzolasyonu İçin Kullanımı", Yüksek Lisans Tezi, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Kayseri, (2012).
- [44] Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S., "The Bulletin of WHO.", 63, 9865-9871, (1985).
- [45] Vanderbank, H., "Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose, Pharmazie.", 198-207, (1936).
- [46] Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay M., "*Escherichia türleri.*" Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi' nde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, s.2136- 47, (2008).

- [47] Tosun, H., Gönül Aktuğ, Ş., “*E. coli* O157: H7’nin Aside Tolerans Kazanması ve Asidik Gıdalarda Önemi.” ,Orlab OnLine, *Mikrobiyoloji Dergisi*, Cilt:01, Sayı:10, Sayfa:10-17, www.mikrobiyoloji.org/pdf/702031003.pdf 82, Erişim tarihi 01.10.17, (2003).
- [48] <https://gidabilinci.com/gidalarda-escherichia-coli-nedir-tehlikeleri-nelerdir> Erişim tarihi:10.11.17, (2017).
- [49] Hacıbektaşoğlu, A., Eyigün, C. P. ve Özsoy, M.F., “Gıda elleyicilerinde burun ve boğaz portörlüğü”, *Mikrobiyol. Bült.*, 27,62-70 (1993).
- [50] Erdoğan, H., Arslan, H., “Otel Personelinin Burun ve Boğaz Kültüründe *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının Araştırılması ve Risk Faktörlerinin İrdelenmesi,” Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, *Ankara, Klinik Dergisi*; 24(2), 90-3, (2011).
- [51] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html> ,Erişim tarihi: 10.11.17
- [52] Özdemir, G.K., “Farklı yumuşak astar materyallerinin sitotoksitelerinin fare fibroblastları üzerinde hücre kültürü yöntemi ile in vitro olarak değerlendirilmesi.” Doktora tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara Üniversitesi, Ankara (2007).
- [53] Schmalz, G., “Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials.” *Clinical Oral Investigations*,154-162, (1997).
- [54] Sowemimoa, A.A., Fakoya, F.A., Awopetu, I., Omobuvajo, O.R., Adesanya, S.A., “Toxicity and Mutagenic Activity of Some Selected Nigerian Plants.” *Journal of Ethnopharmacology*, 113,427-432, (2007).
- [55] ISO 10993.International Standart 10993 “Biological evaluation of biocompatibility of medical devices Part 5: Tests for cytotoxicity: In-vitro methods.” International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, (1999).
- [56] Olgun, M., Başçiftçi, B. Z., Ayter, G. N., Kutlu, İ., Akın, A., Karaduman, Y., “Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinde Protein Oranının Üç Farklı Analiz Yöntemine Göre Karşılaştırılması Üzerine Bir Araştırma”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* ,8 (2), 80-87, ISSN 1304-9984, Araştırma Makalesi, (2013).
- [57] Kırbağ, S., Zengin, F., “Elâzığ Yöresindeki bazı tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri”, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi* (J. Agric. Sci.), 16(2), 77-80, (2006).
- [58] Aydoğan, M. F., “*Salvia sclarea* L. bitkisinin uçucu yağ bileşimi ve Antimikrobiyal etkisi üzerine Araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Farmakognozi Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (2006).
- [59] Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Sokmen, A., “Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey”, *Food Chemistry* 95 ,200–204, (2006).

- [60] Haşimi, N., Kızıl, S., Tolan, V., “Rezene Ve Adaçayı Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma,” Batman Üniversitesi, *Yaşam Bilimleri Dergisi*, Cilt 5 sayı2, (2015).
- [61] Kamatou, G. P., “Indigenous *Salvia* species an investigation of their pharmacological activities and phytochemistry.”, Ph.D., Thesis, University of the Witwatersrand, South Africa, (2006).
- [62] Akin, M., Demirci, B., Bağcı, Y.ve Baser, K.H.C., “Antibacterial activity and composition of the essential oils of two endemic *Salvia* sp. from Turkey”, *African Journal of Biotechnology*, 9(15), 2322-2327, (2010).
- [63] Topçu, G., Turkmen, Z., Scihilling, J. K., Kingston, D. G. I., Pezzuto, J. M., Ulubelen, A., “Cytotoxic activity of some Anatolian *Salvia* Extracts and isolated abietane diterpenoids.” *Pharmaceutical Biology*, 46,180-184, (2008).
- [64] Baricevic, D., Sosa, S., Loggia, R. D., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., Zupancic, A., “Topical antiinflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid.” *Journal of Ethnopharmacology.*, 75,125-132, (2001).
- [65] Altay, A., “Antioxidant And Cytotoxic Properties Of *Salvia Fruticosa* M. And Its Effects On Gene Expressions Of Some Cyp450 And Antioxidant Enzymes In Ht-29 Cell Line”, Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi (2015).
- [66] Yüzbaşıoğlu, M., Kuruüzüm, A.,” *Arnebia* Forssk. Türlerinin Kullanışları ve Biyolojik Aktiviteleri”, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, Cilt 32, Sayı 1, ss. 91-106 (2012).
- [67] Oğuzkan Bayıl, S., Uğraş, S., Can, M., Uzun, A., Ülger, S., Üzmez, Ş., Karagül B., Kılıç, H. İ., Özaslan, M., Uğraş, H. İ., “Fındık (*Corylus avellana* L.) Yeşil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarında Biyolojik Aktivite Tayini”, *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 19(4), 373-378, (2016).
- [68] Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E. and Bahorun, T. “Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps”, *Food Research International*, (2011).
- [69] Kara, S., “Farklı Kurutma Yöntemlerinin Zeytin Yaprakındaki Fenolik Madde Dağılımına ve Antioksidan Kapasitesine Etkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen *Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2013).
- [70] Zeytinoglu, H., Incesu, Z., Ayaz, Tuylu, B., Turk, A. O. and Barutca, B., “Determination of genotoxic, antigenotoxic and cytotoxic potential of the extract lichen *Cetraria aculeate* (Schreb.) Fr. in vitro”, *Eskisehir*, (2008).
- [71] Basile, A., “Antibacterial and Antioxidant Activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils”, *Journal of Ethnopharmacology* 107, 240–248, (2006).
- [72] Smitha, B. L., Dhananjaya, R., Dinesha ve. Srinivas, L., “Purification and characterization of a 34 kDa antioxidant protein (beta-turmerin) from turmeric (*Curcuma longa*) waste grits,” *Biochimie*, vol. 91, no. 9, pp. 1156–1162, (2009).

- [73] Promega Corporation, “CellTiter 96 ® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay,” [Www.Promega.Com/Protocols/](http://www.Promega.Com/Protocols/) , Erişim tarihi:22.11.17, (2012).
- [74] <http://www.sorhocam.com/uploads/docs/gidalarda-protein-analizi-54999.pdf>
Gıda Analiz ve Teknoloji Laboratuvarı, Erciyes Üniversitesi, Erişim tarihi: 03.11.17.
- [75] Shahidi, F., Naczki, M., “Phenolics in Food and Nutraceuticals”, Taylor & Francis Group, 13:978-0-203-50873-2(eBook-PDF), (2004).
- [76] Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A., Nasri, N., “Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different wild habitats”, *Industrial Crops and Products*, (2015).
- [77] Hatipoğlu, S.D.,” *Salvia adenophylla* ve *Salvia verticillata* Subsp. *amasiaca* Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu Ve Yarı Sentetik Türevlerinin Antioksidan Ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi” Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, (2010).
- [78] Alimpic, A., Knezevic, A., Milutinovic, M., Stevic, T., Savikin, K., Stajic, M., Markovic, S., Marin, P.D., Matevski, V., Duletic-Lausevic, “Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. Extracts”, *Industrial Crops & Products* ,105,1-9, (2017).
- [79] Baricevic, D., Sosa, S., Loggia, R. D., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., Zupancic, A., “Topical antiinflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid.” *Journal of Ethnopharmacology.*, 75,125-132, (2001).
- [80] Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F, Alasalvar, C. “Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice.” *Food Chem.*:99(1), 121-8, (2006).
- [81] Yumrutaş, O., Sokmen, A., Akpulat, H. A., Ozturk, N., Daferera, D., Sokmen, M., Tepe, B., “Phenolic acid contents, essential oil compositions and antioxidant activities of two varieties of *Salvia euphratica* from Turkey”, *Natural Product Research*, 26:19, 1848-1851, DOI: 10.1080/14786419.2011.613386, (2012).
- [82] Tan, N., Tütüniş-Yazıcı, S., Yeşil, Y., Demirci, B., Tan, E., “Antibacterial Activities and Composition of the Essential Oils of *Salvia sericeo-tomentosa* Varieties”, *Rec.Nat. Prod.*11:5 456-461, (2017).
- [83] Atalay, B., “Kazdağlarında Yetişen Lamiaceae Familyasının Bazı Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri”, Yüksek Lisans, Balıkesir Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2014).
- [84] Zengin G., Llorent-Martínez E. J., Córdova M.L.F., Bahadori M. B., Mocan A., Locatelli M., ve Aktumsek A., “Chemical composition and biological activities of extracts from three *Salvia* species: *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var. *leiocalycina*, and *S. verticillata* subsp. *amasiaca*” *Ind. Crops Prod.*, vol. 111, pp. 11–21, (2017).

- [85] Özmen, A., “Aydın Yöresinde Yetişen Bazı Endemik Bitkilerden Elde Edilen Ekstartların Sitotoksik Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, (2008).
- [86] Turan, M., Sökmen, A., Karadayı, K., Polat Akın, Z., Şen, M., “Sivas yöresine özgü bazı bitki özütlerinin anti neoplastik etkileri”, *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 32: 9-18, (2010).
- [87] Garcia-Cohen, E.-C., Marin, J., Diez-Picazo, L. D., Baena A. B., Salaices M., ve Angeles Rodriguez-Martinez M., “Oxidative Stress Induced by tert-Butyl Hydroperoxide Causes Vasoconstriction in the Aorta from Hypertensive and Aged Rats: Role of Cyclooxygenase-2 Isoform 1,” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 293, no. 1, pp. 75–81, (2000).
- [88] Topçu, G., Türkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J.K., Kingston, D.G.I., “Highly Hydroxylated Triterpenes from *Salvia kronenburgii*” *J. Nat. Prod.*, vol. 67, no. 1, pp. 118–121, (2004).