

**ESKİŞEHİR İÇİN ENDEMİK İKİ TÜRÜN FARMASÖTİK BOTANİK YÖNDEN
İNCELENMESİ**

Gülçin ÖZTÜRK

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Aralık 2021

ÖZET

ESKİŞEHİR İÇİN ENDEMİK İKİ TÜRÜN FARMASÖTİK BOTANİK YÖNDEN İNCELENMESİ

Gülçin ÖZTÜRK

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aralık 2021

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Lamiaceae familyası, taksonomik ve ekonomik önem taşıyan cinsleri ve özellikleri sebebiyle en çok incelenen bitki ailelerinden biridir. Lamiaceae familyasına ait bitki türleri sahip oldukları antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiviral, ve antienflamatuvar özellikleri sebebi ile gıda ve ilaç endüstrisi ile halk arasında sıkça kullanılmaktadır. Bu bağlamda, bu tez çalışmasında Lamiaceae familyasına ait *Salvia tchihatcheffii* (Fisch. & C. A. Mey.) Boiss ve *Ballota larendena* Boiss. & Heldr endemik türlerinin anatomik, morfolojik, moleküler ve kimyasal (antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşikler) ile antimikrobiyal özellikleri incelenmiş, bu iki bitki türü farmasötik botanik yönden araştırılmıştır.

Eskişehir’de endemik olarak yetişen *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena* türleri doğal yayılış alanlarından toplanmış, bitki örneklerinin bir kısmı kurutularak herbaryum materyali haline getirilmiş ve daha sonra morfolojik araştırmalar için kullanılmıştır. Bitkilerin diğer kısmı %70’lik alkolde kavanozlarda muhafaza edilip anatomik çalışmalar için ayrılmıştır. Fitokimyasal ve moleküler çalışmalar için de bitkilerin kuru örnekleri poşet içinde hava alacak şekilde küçük parçalara ayrılıp saklanmıştır. Morfolojik çalışmalarda bitki türleri cetvel ve milimetrik kağıt yardımı ile ölçülmüş stereo mikroskop altında incelenip fotoğraflanmıştır. Anatomik çalışmalar kapsamında çalışılan türlerden jilet yardımı ile kesitler alınarak gövde, yaprak, tüy gibi yapılarına bakılmıştır. Kimyasal araştırmalar için bitki türlerinin antioksidan özellikleri, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH) süpürücü etki tayini ve 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS⁺) süpürücü etki ile antioksidan özellikleri, toplam fenolik madde miktarı ise gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi ile hesaplanmıştır. Antimikrobiyal aktivite araştırmaları için broth dilusyon

yöntemi kullanılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Salvia tchihatcheffii*, *Ballota larendena*, Anatomi, Morfoloji, Antimikrobiyal, ITS, Uçucu yağ.



ABSTRACT

A PHARMACEUTICAL BOTANICAL INVESTIGATION OF TWO ENDEMIC SPECIES FOR ESKİSEHİR

Gülçin ÖZTÜRK

Department of Pharmaceutical Botany

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, December 2021

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Lamiaceae family is the most studied plant family due to the genera and characteristics it contains. Plant species belonging to the Lamiaceae family are frequently used among the food and pharmaceutical industry and the public due to their antibacterial, antifungal, antioxidant, antiviral, and anti-inflammatory properties. In this context, in this thesis, *Salvia tchihatcheffii* (Fisch. & C. A. Mey.) Boiss and *Ballota larendena* Boiss. and Heldr endemic species, anatomical, morphological, molecular and chemical (antioxidant activity and total phenolic compounds) and antimicrobial properties were investigated, these two plant species were investigated in terms of pharmaceutical botany.

S. tchihatcheffii and *B. larendena* species, which grow endemic in Eskişehir, were collected from their natural distribution areas, some of the plant samples were dried and turned into herbarium material and then used for morphological studies. The other part of the plants is preserved in jars in 70% alcohol and reserved for anatomical studies. For other chemical and molecular studies, the dry samples of the plants were cut into small pieces and kept in the air bag. In morphological studies, plant species were measured with the help of ruler and millimetric paper, examined and photographed under a stereo microscope. Sections were taken from the species studied within the scope of anatomical studies with the help of razor blades and their structures such as stem, leaf and feather were examined. Antioxidant properties of plant species for chemical research, determination of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil radical (DPPH) scavenging effect and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation (ABTS⁺) scavenging effect. antioxidant properties and total phenolic substance amount were calculated as gallic acid equivalent by Folin-Ciocalteu method (Singleton et al., 1999). Broth dilution method was used for antimicrobial activity studies.

Although there are not many studies on the plant species within the scope of the thesis, the characteristics of two species that are endemic to Eskişehir were investigated with the aim of contributing to the researches.

Keywords: *Salvia tchihatcheffii*, *Ballota larendena*, Anatomy, Morphology, Antimicrobial, ITS, Essential oil.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ders ve tez dönemim boyunca bana her konuda yardımcı olan bilgi birikimi, tecrübesi ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen ve çalışmalarımnda kullandığım bitki örneklerini toplamamda samimiyetle yardımcı olan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye,

Kimyasal çalışmalarım sırasında bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Fatih GÖGER'e ,

Laboratuvar imkanlarından faydalandığım Anadolu Üniversitesi Farmasötik Botanik, Biyokimya ve Farmakognozi Anabilim dallarına,

Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve bünyesinde çalışan sayın Dr. Bio. Şennur GÖRGÜLÜ'ye,

Mikrobiyolojik Analizlerimde Bilgi ve tecrubeleri esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Gökâl İşCAN'a,

Tez sürecim boyunca yardımlarını esirgemeyen ve manevi desteğini eksik etmeye sayın hocam Öğr. Gör. Dr. Nagehan SALTAN'a,

Her konuda desteğini hissettiğim değerli G. Can TATLISU'ya,

Fikirlerimi ve hayallerimi her zaman destekleyen ve tez sürecim boyunca her zaman yanımda olan babam İbrahim ÖZTÜRK'E, annem Neşe ÖZTÜRK'E,

Bu süreçte birçok zorlukla mücadele etmeme yardım eden ve hayatı daha anlamlı kılan değerli arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gülçin ÖZTÜRK

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	1
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vii
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Lamiaceae Familası.....	3
2.1.1. Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri	4
2.1.2. Lamiaceae familyasındaki cinsler	4
2.2. Çalışılan Cinsler Hakkında Genel Bilgi	5
2.2.1. <i>B. larendana</i> Boiss.& Heldr. türünün sistematikteki yeri.....	5
2.2.2. <i>Ballota</i> L. cinsinin genel özellikleri	6
2.2.3. <i>S. tchihatcheffii</i> Fisch. & Mey. Boiss. türünün sistematikteki yeri	6
2.2.4. <i>Salvia</i> L. cinsinin genel özellikleri	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Cihazlar	9
3.1.1. Bitkisel materyaller	9
3.1.2. Kullanılan cihazlar	12
3.1.3. Kullanılan kimyasallar.....	12

3.2. Deneysel Çalışmalar.....	13
3.2.1. Morfolojik çalışmalar.....	13
3.2.2. Anatomik çalışmalar	14
3.2.3. Moleküler çalışmalar	14
3.2.4. Uçucu yağ çalışmaları	16
3.2.5. Uçucu yağların analizi.....	17
3.2.6. Kimyasal çalışmalar	18
3.2.7. Antioksidan aktivite çalışmaları	21
3.2.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Morfolojik Bulgular	24
4.1.1. <i>S. tchihatcheffii</i> Fisch. & Mey. Boiss.....	24
4.1.2. <i>B. larendana</i> Boiss. & Heldr.	27
4.2. Anatomik Bulgular	32
4.2.1. <i>S. tchihatcheffii</i> Fisch. & Mey. Boiss.....	32
4.2.2. <i>B. larendana</i> Boiss. & Heldr.	35
4.3. Moleküler bulgular	37
4.3.1. DNA Dizi Analizi Sonuçları.....	37
4.4. Distilasyon İşlemleri Sonuçları	39
4.5. Kimyasal Bulgular	42
4.5.1. Toplam fenolik madde miktar tayini.....	42
4.5.2. Antioksidan aktivite çalışmaları	42
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	44
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	48
5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma	48
5.2. Anatomik Sonuçlar ve Tartışma	49
5.3. Moleküler Sonuçlar ve Tartışma	50
5.4. Uçucu Yağ Analiz Sonucu ve Tartışma.....	50
5.5. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma.....	52
5.6. Antimikrobiyal Sonuçlar ve Tartışma.....	544
KAYNAKÇA.....	588

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri	4
Tablo 2.2. Lamiaceae familyasındaki cinsler (tübives)	5
Tablo 3.1. Toplanan bitkilerin lokaliteleri ve ESSE numaraları	9
Tablo 3.2. Kullanılan forward (F) ve reverse (R) primer dizileri	15
Tablo 3.3. PCR deney aşamaları	15
Tablo 3.4. Çalışılan tez bitkilerinin miktarları	16
Tablo 4.1. <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin dünya gen bankasındaki sekanslara göre benzer taksonlar ve benzerlik oranları.....	38
Tablo 4.2. <i>B. larendena</i> 'nın dünya gen bankasındaki sekanslara göre benzer taksonlar ve benzerlik oranları.....	38
Tablo 4.3. <i>S. tchihatcheffii</i> ve <i>B. larendena</i> bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri	41
Tablo 4.4. Ekstrelerin antikandida etki sonuçları (MİK, µg/ml)	45
Tablo 4.5. Ekstrelerin antibakteriyal etki sonuçları (MİK, µg/ml)	46
Tablo 5.1. <i>S. tchihatcheffii</i> türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	48
Tablo 5.2. <i>B. larendena</i> türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Davis'in grid sistemine göre <i>B. larendena</i> 'nın bulunduğu bölgeler	6
Şekil 2.2. Davis'in grid sistemine göre <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin bulunduğu bölgeler.....	7
Şekil 3.1. <i>B. larendena</i> herbaryum örneği.....	10
Şekil 3.2. <i>S. tchihatcheffii</i> herbaryum örneği	11
Şekil 3.3. Stereo mikroskop	13
Şekil 3.4. Trinoküler ışık mikroskobu	14
Şekil 3.5. Clevenger apareyi ile uçucu yağ eldesi: a) Bitki materyali, b) Clevenger apareyi, c) Toplama kabında biriken uçucu yağı	17
Şekil 3.6. Bitki ekstratları	18
Şekil 3.7. Maserasyon işlemi	19
Şekil 3.8. Evaporatör acalığı ile artık alkolün uzaklaştırılma işlemi.....	19
Şekil 3.9. Toplam fenolik miktar tayini için hazırlanan numuneler	21
Şekil 3.10. DPPH radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler	22
Şekil 3.11. ABTS radikal katyonu süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler	23
Şekil 4.1. a) <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin genel görünüşü, b) <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin çiçek durumu	25
Şekil 4.2. <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin herbaryum örneği.....	26
Şekil 4.3. <i>S. tchihatcheffii</i> 'nin kaliks, korolla ve pistil'in mikroskop altında görüntüsü.....	27
Şekil 4.4. <i>B. larendena</i> türünün genel görünüşü	28
Şekil 4.5. <i>B. larendena</i> türünün çiçek durumu	29
Şekil 4.6. <i>B. larendena</i> 'nın çiçeğinin stereo mikroskop altında görünüşü.....	30
Şekil 4.7. <i>B. larendena</i> 'nın çiçek diseksiyonunun stereo mikroskop görüntüsü b) pistil,.....	30
Şekil 4.8. <i>B. larendena</i> çiçek stereo mikroskop altında görünüşü a) kaliks iç yüzey b) ovaryum	31
Şekil 4.9. <i>S. tchihatcheffii</i> gövde enine kesit	32
Şekil 4.10. <i>S. tchihatcheffii</i> gövde enine kesit; e: epidermis, f: floem, k: ksilem; ö: öz.....	33

Şekil 4.11. <i>S. tchiatcheffii</i> 'nin gövde enine kesit genel görünüş; f: floem, k: ksilem, ö:öz	33
Şekil 4.12. <i>S. tchiatcheffii</i> 'nin gövde enine kesit boyanmış genel görünüşü	34
Şekil 4.13. <i>S. tchiatcheffii</i> 'nin yaprak enine kesiti: k: ksilem, f: floem, pa: parankima, ko: kollenkima, sk:sklerankima ku: kutikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis	34
Şekil 4.14. <i>S. tchiatcheffii</i> 'nin gövde enine kesitte tüy görüntüsü; st: salgı tüyü; öt: örtü tüyü k:ksilem, f: floem	35
Şekil 4.15. <i>S. tchiatcheffii</i> 'nin yaprak alt yüz kesitindeki stomalarının görüntüsü; s: stoma ae: alt epidermis, üe: üst epidermis.....	35
Şekil 4.16. <i>B. larendena</i> 'nın gövde enine kesiti; k: ksilem, f: floem, ö: öz pa:parankima, e:epiderma	36
Şekil 4.17. <i>B. larendena</i> 'nın tüy anatomisi; st: salgı tüyü, ö: örtü tüyü	37
Şekil 4.18. Clevenger apareyi a) <i>B. larendena</i> bitki örneği	39
Şekil 4.19. Clevenger apareyi toplama kabında biriken uçucu yağ.....	40
Şekil 4.20. Toplam fenol mg/g	42
Şekil 4.21. DPPH radikal süpürücü etki	43
Şekil 4.22. Trolox eşdeğer antioksidan kapasite.....	44
Şekil 4.23. Antimikrobiyal aktivite	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
AÜBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırma Merkezi
D	: Doğu
dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
E	: Etil alkol
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
g	: gram
GK	: Gaz Kromatografisi
GK/KS	: Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrofotometrisi
IC50	: %50 Oranında İnhibe Eden Madde Konsantrasyonu
K	: Kloroform
Kons.	: Konsantrasyon
min	: Minimum
MeoH	: Metil alkol
N	: Hekzan
PCR	: Polymerase Chain Reaction/ Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PhA	: Polihidroksialkanoatlar
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu

1. GİRİŞ

Bitkiler dünyanın varoluşundan beri insanlar tarafından çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. En eski çağlardan beri doğadaki bitkilerden başta gıda olmak üzere; baharat, ilaç, kozmetik gibi amaçlarla yararlanılmaktadır [1].

Türkiye oldukça zengin biyoçeşitliliği ile bilinmektedir. Türkiye'nin zengin bitki örtüsüne sahip olmasının sebepleri; Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan olarak bilinen üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği yer olup Anadolu Güney Avrupa ile Güneybatı Asya florası arasında bir köprü oluşturmaktadır [2]. Ayrıca coğrafik konumunun yanı sıra farklı iklim tiplerinin görülmesi ve jeolojik yapısı da ülkemizi önemli bir floristik bölge kılmaktadır [3].

Türkiye'deki popülasyonlar ile tür çeşitliliğinin oluşması ve şekillenmesi bazı faktörlerle ilgilidir; ülkemizin Avrupa ile Yakın Doğu arasında bir geçiş bölgesi olması, değişken coğrafik, jeolojik ve iklimsel özellikler ile üç fitocoğrafik bölgenin kesişiminin de konumlanması bu önemli etkenlerdir [4].

Türkiye Florası 173 familyaya ait 11,000'den fazla takson ve 1,225 cins ile temsil edilmektedir. Günümüzde hala yeni tür keşfi yapılmakla birlikte yeni bitki türleri literatüre eklenmektedir [4-7]. Ülkemiz endemik bitki türleri bakımından da oldukça zengindir; 11.000 taksonun 3.500'ü endemiktir [2].

Türkiye'deki zengin bitki çeşitliliği yıllardır araştırılmış ve iki önemli kaynak yazılmıştır. İlk ve önemli kaynaklardan biri olan "Flora Orientalis" 1867-1888 yıllarında İsviçreli botanikçi Boissier tarafından oluşturulmuştur. İkinci en önemli kaynak ise 10 ciltlik "The Flora of Turkey and East Aegean Islands" adlı eser P.H. Davis editörlüğünde hazırlanmıştır. Türk botanikçiler tarafından on cilde ek olarak on birinci cilt hazırlanmış ve editörlüğünü Adil Güner'in yaptığı halen yapımı sürmekte olan "Resimli Türkiye Florası " Türk bilimsel bitki resimleri ve botanikçiler ile birlikte yazılmış ve 30 cilt olarak planlanmış ve yapımı devam etmektedir.

Türkiye sahip olduğu floristik zenginlik ve biyoçeşitliliği ile içerdiği endemik bitki türleri açısından da zengin olması sebebiyle oldukça ilgi çekici özelliğe sahiptir. Ülkemizin İç Anadolu bölgesinde bulunan Eskişehir ili bitki florası bakımından konumu sebebiyle oldukça zengin çeşitliliğe sahiptir. Bu bölgede 2000'e yakın bitki türü doğal olarak yayılış göstermekte ve türlerin 220'den fazlası endemiktir. Sadece Eskişehir'de

endemik olarak yetişen türler; *Gypsophila osmangaziensis* (Çöven otu), *Hesperis turkmenaghensis* (Jülyen), *Hypericum sechmenii* (Kantaron), *Centaurea nivea*, *Centaurea sericea* (Peygamber çiçeği), *Alyssum niveum* (Alis), *Cephalaria aytachii* (Acımık), *Campanula pamphylica subsp. tokurii* (Çan çiçeği), *Sideritis gulendamiae* (Dağ Çayı), *Aethionema dumanii* (Taşçanta), *Achillea ketenoglui* (Beyaz civan perçemi), *Convolvulus pulvinatus* (Kahkaha çiçeği), *Sideritis gulendamiae* (Dağ çayı), *Verbascum eskisehirensis*, *Verbascum gypsicola* (Sığır kuyruğu) olarak söylenebilir [8].

Eskişehir, İç Anadolu Bölgesinin Kuzeybatısında, 29° 58' ve 32° 04' Doğu boylamları ile 39° 06' ve 40° 09' Kuzey enlemleri arasında olup ve Davis'in grid sistemine göre de büyük kısmı B3, güneydoğuda B4, kuzeyde ise A3 kare içinde yer almaktadır. Eskişehir'in bazı bölgeleri konumu itibariyle çeşitli iklim kuşaklarının etkisi altındadır: Seyitgazi'nin bir kısmı Ege Bölgesi, Merkez ve Mihalıççık ilçelerinin bir kısmı ile Sarıcakaya'nın tümü Karadeniz Bölgesi etkisinde olmasına rağmen Eskişehir'in coğrafi karakteri İç Anadolu bölgesinin özelliklerini taşır. Kış sert ve yağışlı, yazlar ise sıcak ve kuraktır. Bölgenin iklim özellikleri de bitki çeşitliliğinin yüksek olmasının en önemli sebepleridir [9]. Bir bölgedeki bitki tür çeşitliliğine bölgenin iklimin topoğrafyasının toprak yapısı ile ekolojik etmenlere bağlı olarak değişip çeşitleneceğini varsayarsak Eskişehir'in bitki çeşitliliğinin yüksek olmasına şaşırılmamaktayız. Bir bölgenin flora zenginlikleri ile bunlarla alakalı bilgi sahibi olunması, hem bitkileri tıbbi ve ekonomik amaçlarla doğru bir şekilde kullanmamızı sağlar hem de ekosistemin korunması konusunda büyük bir bilincin oluşmasını destekler niteliktedir.

Bu bağlamda zengin floristik yapıya sahip Eskişehir bölgesinde ayrıntılı olarak incelenmemiş iki endemik tür vardır. Bu çalışmada Lamiaceae familyasından Eskişehir'de endemik olarak yetişen *B. larendena* ve *S. tchihatcheffi*'nin morfolojik ve anatomik özellikleri, antioksidan ve antibakteriyal aktiviteleri ile türlerin kendi cinslerinde yer alan diğer türlerle yakınlıklarının moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lamiaceae Familası

Bitki aileleri içerisinde en önemli yer tutan familyaların başında Lamiaceae gelmektedir. Lamiaceae familyası, yaklaşık 250 cins ve 7.000'den fazla türe sahip Lamiales ordosu içinde yer alan önemli bir bitki ailesidir. Daha önce Labiate familyası olarak bilinen aromatik ve uçucu yağ bakımından zengin türlere sahip familyanın ismi 1820'de Lamiaceae olarak değiştirilmiştir. Aromatik bitkiler, uçucu yağları ile kokuları, lezzetleri ve tıbbi özellikleri nedeniyle de ticari olarak öneme sahiptir. Lamiaceae familyası bitkileri de büyük ölçüde biyolojik aktiviteye sahip türleri içerdiğinden dolayı en fazla çalışılan ailedendir [10]. En son yapılan çalışmalar da göstermektedir ki Lamiaceae familyası fenolik asitçe zengin türlere sahiptir (PhA'lar), özellikle depside formları, örneğin rosmarinik asit [11]. Tıbbi açıdan büyük öneme sahip Lamiaceae familyası bitkileri sekonder metabolitler içermektedir bununla birlikte bu familyanın antimikrobiyal, antifungal, anti-inflamatuar, antikanser, antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [12].

Türkiye Florası, 173 aile, 1225 cins ve 2650'nin üzerinde endemik tür içeren 12.000'den fazla bitki türüne sahiptir. Neredeyse kozmopolit bir dağılıma sahip Lamiaceae familyası 250 cins ve 7000'den fazla tür içerir; 28 cins yaygın dağılışa sahiptir ve 240'tan fazla tür Türkiye'de endemiktir [13-16]. Morfolojik özellikleriyle kolayca tanımlanabilen en belirgin kapalı tohumlu ailelerden olan Lamiaceae familyası [17] tür sayısı ve endemizm oranı açısından da bakıldığında, Türkiye önemli bir gen merkezi olarak kabul edilir. Türkiye'de Lamiaceae familyası için endemizm açısından en zengin üçüncü ailedir ve 45 cins, 546 tür ve 731 taksonla temsil edilen Lamiaceae familyası endemizm oranı 44.2'dir [18,29]. Tıbbi özelliklere sahip tür bakımından zengin olan Lamiaceae familyası bitkileri eski çağlardan beri soğuk algınlığı, boğaz enfeksiyonları, sedef hastalığı, seboreik dermatit, kanama, adet bozuklukları, düşük, ülser, spazm ve mide sorunları gibi rahatsızlıklara karşı halk ilacı olarak kullanılmıştır [13,18]. Süs bitkisi ile kozmetik, gıda, hijyenik ürünler, parfümeri ile tıbbi ve aromatik bitki olarak kullanılan Lamiaceae familyası üyeleri [20] zengin uçucu yağ kaynağıdır ve ekonomik açıdan büyük öneme sahiptir [16-21]. Lamiaceae familyası üyeleri çok miktarda fenolik asit içerirler(PhA'lar) ve içerdikleri kimyasal bileşikler; diterpenoidler ve triterpenoidler antiseptik, antibakteriyel, antiinflamatuar, sitotoksik, kardiyoaktiftir [11,33].

Lamiaceae üyeleri bir veya çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır. Salgı tüyleri ve bunlarda uçucu yağ vardır. Familyanın karakteristik özellikleri; gövde 4 köşeli, yapraklar stipulasız, basit, bazen pennat ve daima oppozit dizilişlidir; çiçek durumu brakte veya floral yaprakların koltuğunda taşınan vertisillastrum şeklindedir; vertisillastrumlar spika, baş, rasemoz veya simoz şeklinde olabilir. Çiçekler hermafrodit veya erkek steril (ginodioik bitkilerde). Uçucu yağ, sapı tek, başı 8 hücreli ve pul şeklindeki Labiatae tipi salgı tüylerindedir. Brakteler yapraklara benzer veya belirgin şekilde farklılaşmıştır; brakteoller mevcuttur veya eksiktir. Kaliks genellikle 5 loblu; üst lob 3 dişli, alt lob 2 dişli nadiren loplara veya dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4 şeklinde veya kaliks aktinomorf, damarlar 5-20. Korolla gamopetal, zigomorf ve bilabiat, genellikle üst dudak belirsiz 2 loplu, dik ya da falkat, az çok konkav, alt dudak (labellum) 3 loplu, nadiren üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loplu ya da üstte 1 ve altta 4 loplu ya da korolla aktinomorf. Stamenler korolla yüzeyine yapışık, 4 ve didinam ya da 2 ve staminodlar genellikle var, üstteki çift genellikle alttaki çiftten daha kısa, anter tekaları 2 ya da 1 gözlü, paralel ya da birbirinden ayrı, nadiren (salvia'da) konnektiflerin uzaması ile birbirinden ayrılmış. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 ovüllü, 4 loplu. Stilus ginobazik, nadiren değil, tepede kısa bifid. Meyva 4 nukstan meydana gelen bir şizokarptır [14].

2.1.1. Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri

Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri aşağıda tablo 2.1' de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. *Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri*

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Altsınıf	Asteridae
Takım	Lamiales
Familya	Lamiaceae (Labiatae)

Bu durumda Lamiaceae familyası Plantae aleminde Magnoliophyta bölüme ve Asteridae altsınıfının Lamiales takımında bulunmaktadır.

2.1.2. Lamiaceae familyasındaki cinsler

Tablo 2.2'de Tübvies'te kayıtlı Lamiaceae familyasındaki cinslerin isimleri verilmiştir.

Tablo 2.2. *Lamiaceae* familyasındaki cinsler (tübives)

<i>Ajuga</i> L.	<i>Teucrium</i> L.	<i>Rosmarinus</i> L.	<i>Lavandula</i> L.	<i>Prastium</i> L.	<i>Scutellaria</i> L.	<i>Melittis</i> L.
<i>Eremostachys</i> L.	<i>Phlomis</i> L.	<i>Lamium</i> L.	<i>Wiedemannia</i>	<i>Galeobdolon</i> L.	<i>Galeopsis</i> L.	<i>Nepeta</i>
<i>Molucella</i>	<i>Ballota</i>	<i>Marrubium</i>	<i>Sideritis</i>	<i>Stachys</i>	<i>Melissa</i>	<i>Origanum</i>
<i>Glechoma</i>	<i>Dracocephalum</i>	<i>Lallemanita</i>	<i>Hymenocrater</i>	<i>Hyssopus</i>	<i>Prunella</i>	
<i>Pentapleura</i>	<i>Satureja</i>	<i>Calamintha</i>	<i>Clinododtum</i>	<i>Acinos</i>	<i>Micromeria</i>	
<i>Tymus</i> L.	<i>Mentha</i> L.	<i>Lycopus</i> L.	<i>Ziziphora</i> L.	<i>Salvia</i> L.	<i>Elsholtzia</i>	
<i>Ocimum</i> L.	<i>Lophanthus</i> L.	<i>Perilla</i> L.	<i>Cyclotrichium</i>	<i>Dorystoechas</i>	<i>Leonurus</i> L.	

2.2. Çalışılan Cinsler Hakkında Genel Bilgi

2.2.1. *B. larendana* Boiss.& Heldr. türünün sistematikteki yeri

Regnum (Alem): Plantae

Divisio (Bölüm): Magnoliophyta

Subdivisio (Alt bölüm): Angiospermae

Classis (Sınıf): Magnoliopsida

Subclassis (Alt sınıf): Asteridae

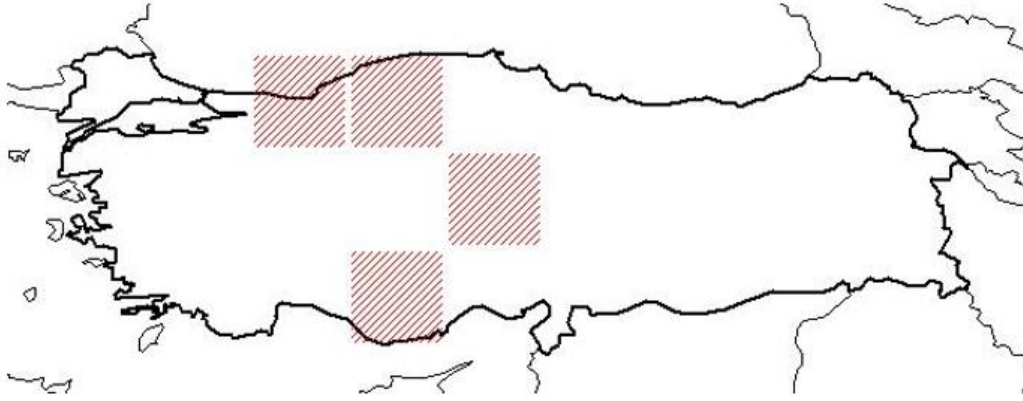
Ordo (Takım): Lamiales

Familya (Aile): Lamiaceae

Subfamilya (Alt aile): Lamioideae

Genus (Cins): *Ballota* L.

Species (tür): *B. larendana* Boiss.& Heldr.



Grid kareleme sistemi: A3, A4, B5, C4

Şekil 2.1. Davis'in grid sistemine göre *B. larendena*'nın bulunduğu bölgeler

2.2.2. *Ballota* L. cinsinin genel özellikleri

Dünyada 35 tür ve 14 alt tür ile temsil edilen *Ballota* cinsi Lamiacea familyasının önemli üyelerinden olup Türkiye'de 12 tür ve 8 alt türü vardır [14, 22].

Ayrıca 8 takson Türkiye'de endemik olarak yetişmektedir [23, 24]. Avrupa'da da iyi bilinmekte olan *Ballota* cinsi üyeleri spazmolitik ve sedatif etkileriyle tanınmaktadır. Türkiye'de de halk çeşitli rahatsızlıklara karşı *Ballota* türlerini kullanmaktadır; baş ağrısı, öksürük, astım, mide bulantısı, hemoroit ile yara ve yanık tedavisi kullanılma sebeplerinin başlıcalarıdır ve halk arasında şalba, çalba, nemnem otu, ballık otu, gezgez otu, köpek otu, karayerpirasası, pat pat otu, somruk, karınca somurcağı gibi isimlerle de bilinip halk tarafından öksürük, mide bulantısı, baş ağrısı, hemoroit ile yara ve yanık tedavisinde kullanılmaktadır [19, 23, 25]. Endemik tür zenginliği ile de bilinen *Ballota* genusunun en çeşitli olduğu ülke yine Türkiye'dir, bununla birlikte ülkemiz *Ballota* cinsleri için adeta bir gen merkezidir. *Ballota* cinslerini önemi kılan bir diğer özelliği de biyolojik aktiviteye sahip çeşitli bileşikler içermesidir [14, 25]. Yapılan çalışmalarda *Ballota* türlerinin kimyasal yapılarında diterpenler, flavanoidler, fenil propanoidler, uçucu yağlar, tanenler ve sponozitlerin olduğu bulunmuş ve *Ballota* türlerinden 38 labdan tipi diterpenoid, 24 flavanoid, 8 fenilpropanoit yapısında kimyasal madde izole edilmiştir [23, 28].

2.2.3. *S. tchihatcheffii* Fisch. & Mey. Boiss. türünün sistematikteki yeri

Regnum (Alem): Plantae

Divisio (Bölüm): Magnoliophyta

Subdivisio (Alt bölüm): Angiospermae

Classis (Sınıf): Magnoliopsida

Subclassis (Alt sınıf): Asteridae

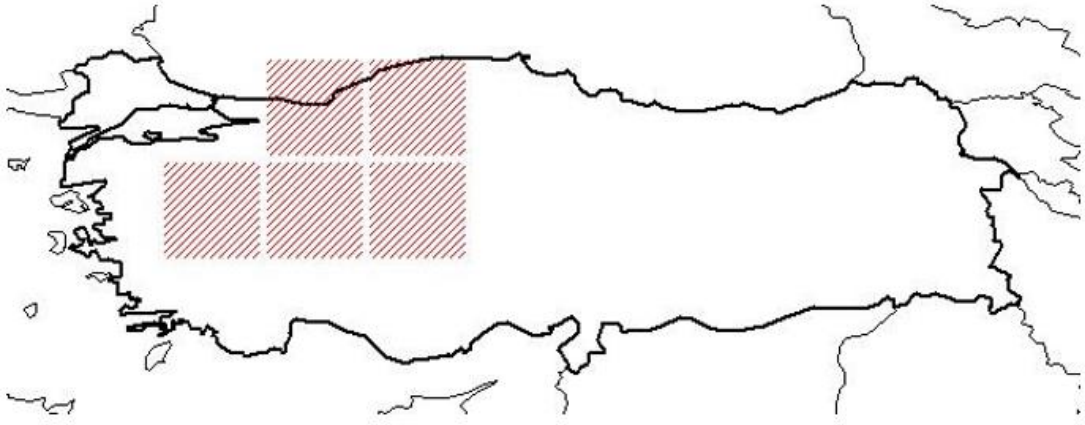
Ordo (Takım): Lamiales

Familya (Aile): Lamiaceae

Subfamilya (Alt aile): Lamioideae

Genus (Cins): *Salvia* L.

Species (tür): *S. tchihatcheffii* Fisch. & Mey. Boiss.



Grid kareleme sistemi: A3, A4, B2, B3, B4

Şekil 2.2. Davis'in grid sistemine göre *S. tchihatcheffii*'nin bulunduğu bölgeler

2.2.4. *Salvia* L. cinsinin genel özellikleri

Lamiaceae familyasının en önemli ve en fazla yayılışa sahip olan cinsi olan *Salvia* L. dünyada çok eski yıllardan beri kullanılan etkileyici ve önemli bir bitkidir. *Salvia* isminin manası "iyileşmek veya güvenli ve zarar görmemek" tir ; Latince "salvare" kelimesinden türemiştir. Ayrıca Fransızca'da "sauge", eski İngilizce'de "sage" diye bilinmektedir [26, 27, 29]. Dünya'da Orta Asya, Afrika, Amerika ve Akdeniz bölgelerine yayılmış olan *Salvia* cinsinin 900 den fazla türü vardır [21]. Anadolu ve Asya ise *Salvia* için önemli çeşitlilik merkezleridir ve Türkiye'de yaklaşık 95 *Salvia* türü bulunmakla

birlikte 49'u (% 52) endemiktir [14, 30, 31]. *Salvia* türleri halk arasında da çok fazla kullanılmaktadır; parfümeride, kozmetikte ve tıpta uçucu yağ, sakinleştirici olarak kökleri, varis için yaprakları kullanılan bazı kısımlarındandır [32]. Yapılan araştırmalara göre *Salvia* L. türlerinin sindirim ve dolaşım bozuklukları, astım, bronşit, öksürük, ağız ve boğaz iltihapları aşırı terleme ile depresyon, demans ve obezitenin hafifletilmesi için tedavi edici özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir [21, 26]. *Salvia* türleri, antioksidan, antidiyabetik, antibakteriyel, antitümör, antispazmodik ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir [30]. *Salvia* L. türleri flavanoidler, terpenoidler ve uçucu yağlar gibi kimyasal bileşiklere sahip olmakla beraber uçucu yağ içeriğinin yüksek olması bu cinsleri önemli kullanıma sahip hale getirmektedir. Uçucu yağlar, antikanser, antimikrobiyal, antioksidan ve serbest radikalleri temizleyici olarak çok önemli kaynaklardır. Ayrıca bu cinsin türleri eski çağlardan beri antiseptik, antibakteriyel, sedatif ve hafıza güçlendirici olarak ve bazı menopoz problemlerinde kullanılmıştır [26, 31, 33].

Salvia L. cinsleri otsu veya çalimsı, çok yıllık nadiren iki yıllık, kuvvetli aromatik bitkilerdir. Gövde dik ya da yatık, salgı tüyleri vardır. Yapraklar tam, lirat ya da pinnatisekt. Çiçek durumu çeşitli şekillerde düzenlenmiş simoz şeklinde. Vertisiller birbirine uzak ya da yakın (1-)2-10(-40) çiçekli. Kaliks çan şeklinde, hunimsi ya da tüpsü, iki dudaklı; üst dudak üç dişli, hemen hemen indirgenmiş ya da hemen hemen tam; alt dudak iki dişli. Korolla beyaz, sarı, pembe, mavi ya da menekşe renkli, iki dudaklı; üst dudak düzden falkata kadar değişen şekillerde, alt dudak 3 loplu, orta lop geniş, konkav, yan loplar küçük, tüp düz ya da kıvrık. Stamenler 2, filamentler kısa, konnektifler az çok kısa veya çok uzamış.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Cihazlar

3.1.1. Bitkisel materyaller

Tez çalışmasında kullanılan bitki materyalleri çiçeklenme dönemlerinde (haziran-temmuz) toplanmıştır.

B. larendana: Sarıcakaya, Eskişehir, 1300m, ve *S.tchihatcheffii*: Kızılkayalar, Eskişehir, 840m, bölgelerinden toplanmışlardır.

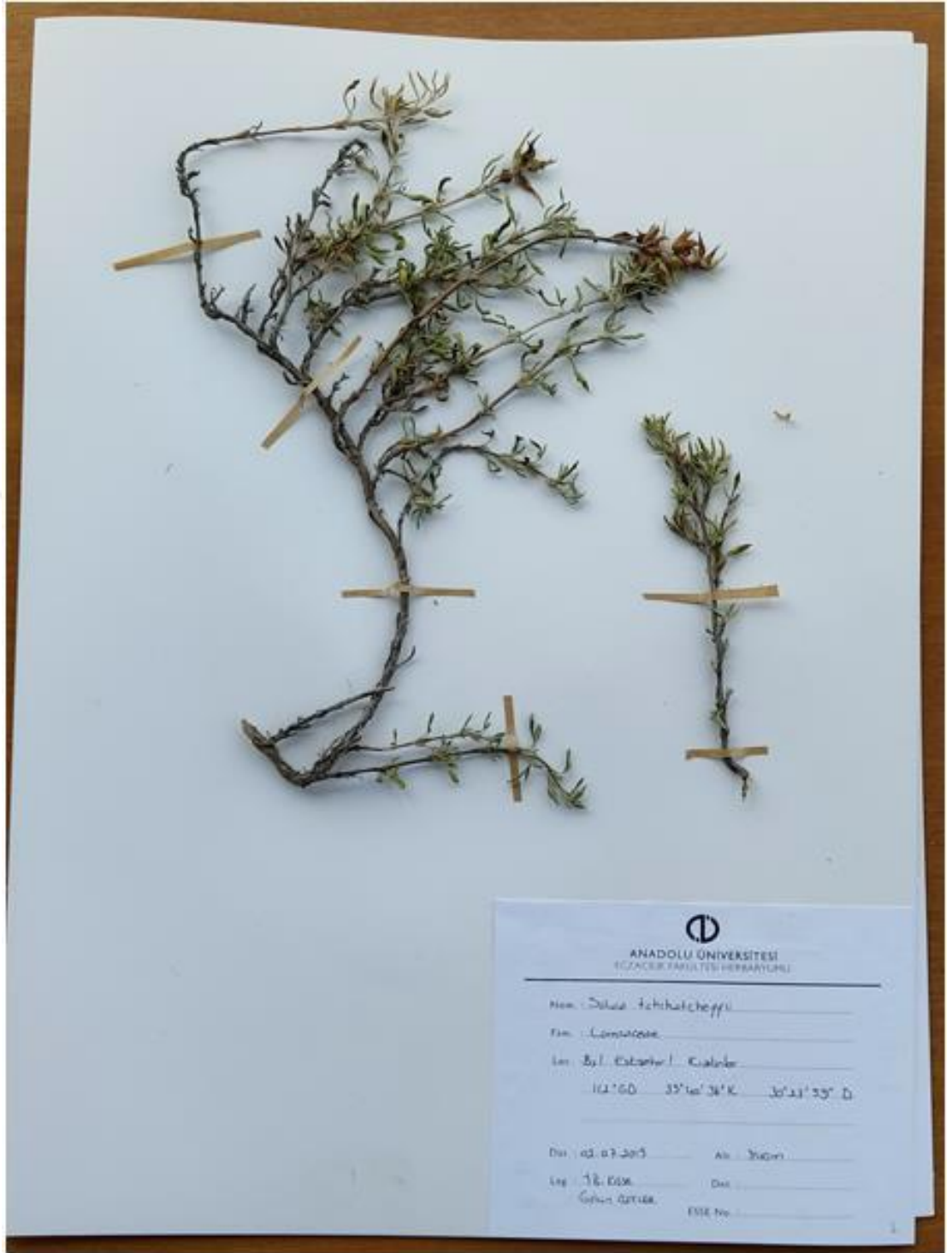
Toplanan bitki örneklerinin bir kısmı anatomik çalışmalar için kullanılmak üzere kavanoz içerisinde %70'lik alkolde muhafaza edilmiş, diğer kısımları ise herbaryum örneği haline getirilip, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ESSE) verilmiştir (Esse no;15545, 15446). Bitki örneklerinin araziden toplanan diğer bir bölümü ise deneyisel çalışmalar için ayrılmıştır. Toplanan bitkilerin lokaliteleri tablo 3.1'de tam olarak verilmiştir.

Tablo 3.1. Toplanan bitkilerin lokaliteleri ve ESSE numaraları

Bitki adı	Lokalite	ESSE Numarası
<i>Ballota larendana</i>	Sarıcakaya, Eskişehir 99° D 40°6'20" K 30°38'22" D 1300 m 02.07.2019	15545
<i>Salvia tchihatcheffii</i>	Kızılkayalar, Eskişehir 112° GD 39°40'38" K 30°23'59" D 840 m 02.07.2019	15446



Şekil 3.1. *B. larendena* herbarium örneği



Şekil 3.2. *S. tchihatcheffii* herbarium örneği

3.1.2. Kullanılan cihazlar

- | | |
|--|-------------------------|
| • Binoküler Stereo Mikroskop | WILD TYP 181300 |
| • Trinoküler Işık Mikroskobu | Olympus BX51 |
| • Dijtal Mikroskop kamerası | Kameram 318CU |
| • Hassas terazi | OHAUS Explorer E14130 |
| • Rotary Evaporatör (Döner Buharlaştırıcı) | Vacuum Pump V-100 BUCHI |
| | Heating Bath B100 BUCHI |
| • Rotator (Çalkalayıcı) | IKA KS 260 basic shaker |
| • Clevenger Apareyi | TOPO Heating Mantle |
| • Ultrasonik Banyo | Ultrasonic LC30 |
| • ELISA Mikroplaka Okuyucu | Biotek SYNERGY HTX |
| • Hassas Terazi | OHAUS Explorer E14130 |
| • HPLC/MS | AB Sciex 3200 Q TRAP |

3.1.3. Kullanılan kimyasallar

- | | |
|-------------------------------------|--|
| • CHCl_3 | Kloroform |
| • C_6H_{14} | <i>n</i> -Hekzan |
| • $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ | Etanol (%70'lik) |
| • Na_2CO_3 | Sodyum karbonat (%20'lik) |
| • $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ | Sodyum persülfat |
| • DPPH | 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil |
| • ABTS | 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit |
| • Kloralhidrat | |
| • Sartur Reaktifi | |

- Folin-Ciocalteu Reaktifi
- Kanada Balsamı
- Gallik Asit Standartı

3.2. Deneysel Çalışmalar

3.2.1. Morfolojik çalışmalar

Çiçeklenme zamanında toplanan bitki örnekleri tamamen kuruduktan sonra özel olarak kesilmiş 42X26 cm ebatlarındaki kartonlar üzerine kağıt bantlar ile yapıştırıldı. Kartonun sağ alt köşesindeki etikete bitki türünün adı, toplandığı lokasyon bilgileri, toplanma tarihi, ESSE numarası gibi bilgileri yazılarak herbaryum materyali haline getirildi. Bitki türlerinin teşhisi ve morfolojik özelliklerini belirlemek için Türkiye florasının 7. cildi ile beraber, hazırlanan herbaryum materyalleri kullanıldı. Herbaryum örneklerinden yaklaşık 20'şer örnek alınarak, bitki kısımları cetvel ve milimetrik kağıt ile ölçüldü, stereo mikroskop altında incelendi. Her iki türünde morfolojik terminonlojileri yazılırken, Prof. Dr Asuman Baytop'un botanik klavuzundan faydalanılmış, Türkiye florasındaki bilgilerle karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.3. Stereo mikroskop

3.2.2. Anatomik alıřmalar

Anatomik incelemeler için çalışılan iki bitki türünün %70 lik alkolde muhafaza edilen örneklerinin gövde ve yaprakları kullanılmıştır. Yaprak ve gövdelerinden jilet ile enine ve yüzeysel kesitler alınıp kloralhidrat ile saydamlaştırılmış, bazı kısımlar sartur reaktifiyle boyanmıştır. Kesiti alınmış olan bitki kısımları Olympus BX51T marka trinokuler mikroskop (şekil 3.4) ile farklı objektiflerde (4x,10x,20x) leklendirilmiř ve fotoğraflanmıştır.



şekil 3.4. Trinoküler ışık mikroskobu

3.2.3. Moleküler alıřmalar

1. Bitki DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır.
2. DNA izolasyonundan sonra elde ettiğimiz DNA'ların miktar ve saflığını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir.
3. PCR (Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu) alışmasındauniversal primer olarak ITS1–ITS4 ve ITS2–ITS5 primerleriyle, tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.2. Kullanılan forward (F) ve reverse (R) primer dizileri

ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG (F)
ITS2	TCCTCCGCTTATTGATATGC (R)
ITS3	GCTGCGTTCTTCATCGATGC (F)
ITS4	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG (R)

Tablo 3.3. PCR deney aşamaları

Bileşen	Stok Kons.	Reak. Kons.
PCR Bufer	10 X	1 X
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R.Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	50 U/µl	2 U
DNA template	3 µl	
PCR grade su ile 35µl'ye tamamlanır		

- 95 °C 5 dakika – initial denaturation
- 40 döngü
 - 45 saniye 95 °C - denaturation
 - 45 saniye 57 °C - annealing
 - 60 saniye 72 °C - extension
- 72 °C 5 dakika – final extension
- Sıcaklık 4 °C' ye düşürülüp PCR tamamlanmıştır.

PCR (kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan % 1.5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütüldü ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır. Yaklaşık 700 ve 350 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyomuz Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örneklerimiz için PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PCR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

4. PCR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO"HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılıp, kitin prosedürlerine uyarak saflaştırılmıştır.

5. Sanger Dizileme örneklerimiz için, Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır.(Applied Biosystems, Foster City, CA.)

ITS1-ITS4 ve ITS2-ITS5 primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır.

Sekans analizleri için BM Labosis firmasından hizmet alımı yapılmış ve dizileri <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> adresinden faydalanılarak Blast programı ile yakın akrabalari olan türler bulunmuştur.

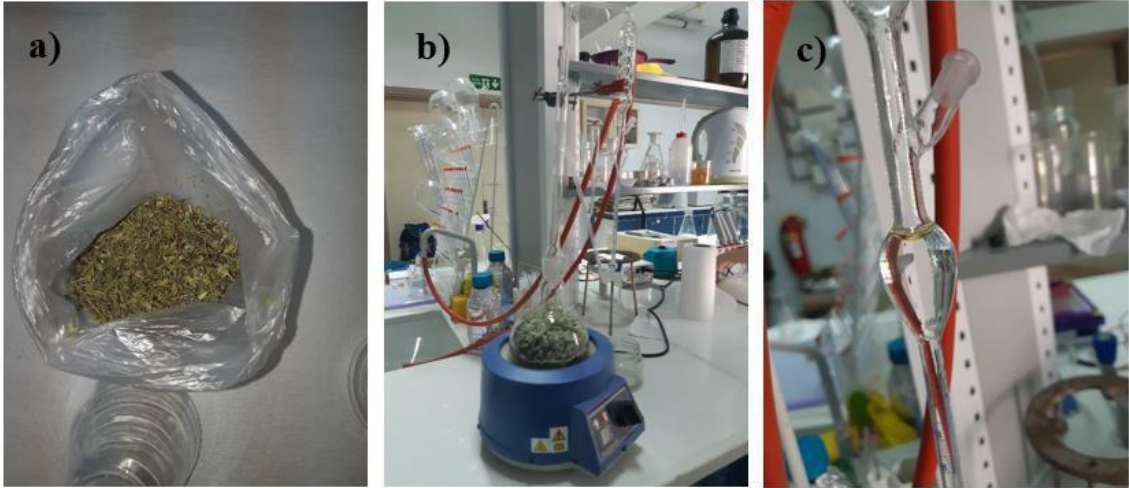
3.2.4. Uçucu yağ çalışmaları

3.2.4.1. Uçucu yağların su distilasyonu ile elde edilmesi

Bu çalışmada *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena* türlerinden clevenger apareyinde su distilasyonu yöntemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. Örneklerin toprak üstü kısımları tartılıp küçük parçalar haline getirilmiş, ısıya dayanıklı balona doldurulmuştur. Bitki örneklerinin üzerine 200 ml saf su ilave edilip 3 saat kontrollü bir şekilde kaynatılmıştır. Distilasyon işlemi sonucunda bitkilerden elde edilen uçucu yağlar toplama kabında birikmiş ve hekzan ile alınmıştır. Aşağıdaki tabloda (Tablo 3.4) hangi bitki örneklerinden kaç gram kullanıldığı verilmiştir.

Tablo 3.4. Çalışılan tez bitkilerinin miktarları

Tür adı	Bitki materyalinin toprak üstü kısmı (g)
<i>S. tchihatcheffii</i>	20
<i>B. larendena</i>	42



Şekil 3.5. Clevenger apareyi ile uçucu yağ eldesi: a) Bitki materyali, b) Clevenger apareyi, c) uçucu yağ

3.2.5. Uçucu yağların analizi

3.2.5.1. Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi (GK/KS)

Bitki örneklerinden elde edilen uçucu yağların ve GK/KS (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi) ve GK (Gaz Kromatografisi) analizleri yapılmıştır.

GK/KS analizi Agilent 5975 GC-MSD sistem ile gerçekleştirilmiştir. Innowax FSC kolon (60 m x 0,25 mm, 0,25 mm film kalınlığı) ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır (0,8 ml/min). GK fırın sıcaklığı 10 dakika boyunca 60 °C’de tutulmuş ve 4 °C/dk. artışla 220 °C’ye, 220 °C’de 10 dk, 1 °C/dk. artışla 240 °C olarak belirlenmiştir. Split oranı 40:1 olarak ayarlanmıştır. Enjektör sıcaklığı 250 °C’ye kurulmuştur. Kütle spektrumları 70 eV’de kayıt altına alınmış ve kütle ağırlığı m/z 35-452 olarak ayarlanmıştır.

3.2.5.2. Gaz kromatografisi (GK)

GK analizi ise, bir Agilent 6890N GC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. FID detektör sıcaklığı 300 °C’ye ayarlanmıştır. GK-KS ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için, aynı çalışma koşullarını uygulayarak aynı sütunun bir kopyası üzerinde eş zamanlı olarak otomatik enjeksiyon yapılmıştır. Ayrılan bileşenlerin nispi yüzde miktarları FID kromatogramlardan hesaplanmıştır.

Uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanması, nispi tutma sürelerinin otantik numuneler ile karşılaştırılması veya nispi tutma indekslerinin (RRI) *n*-alkan serileri ile karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Değerlendirme işlemleri (Wiley GK/KS

Kütüphanesi, MassFinder Software 4.0 yazılımı) ve kurum içi “Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi” kullanılarak yapılmıştır [34, 35].

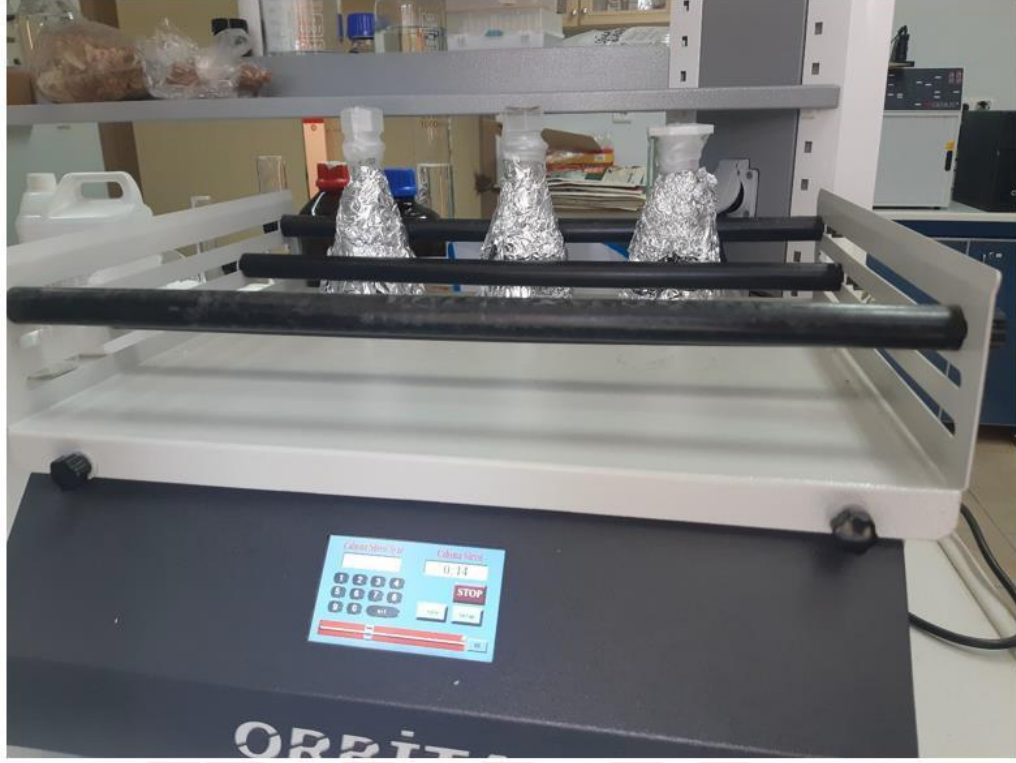
3.2.6. Kimyasal çalışmalar

3.2.6.1. Bitki ekstralarının hazırlanması

Bu aşamada kimyasal çalışmalar için araziden toplanan bitkilerin her biri için 3 farklı çözücü ile ekstraları hazırlandı. Toplanan iki bitkinin türünün her birinin toprak üstü kısımları küçük parçalar haline getirilip 20’şer gram tartıldı. *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena* türlerinin örnekleri tartıldıktan sonra ayrı ayrı üzerlerine 175 ml hekzan, etil alkol ve kloroform eklenerek 6 adet ekstre hazırlandı. Ağzı kapatılıp hazırlanan örnekler 150 rpm’de 48 saat maserasyona tabi tutularak elde edilen maseratlar süzgeç kağıdı yardımı ile süzüldü. Elde edilen ekstralardan alkolü uzaklaştırmak amacı ile evaporatordan yararlanıldı. Evaporatör ile düşük basınç altında 30 dk 40 °C sıcaklıkta alkol uçurulmuştur. Elde edilen örnekler kullanılıncaya kadar +4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 3.6. Bitki ekstraları



Şekil 3.7. Maserasyon işlemi

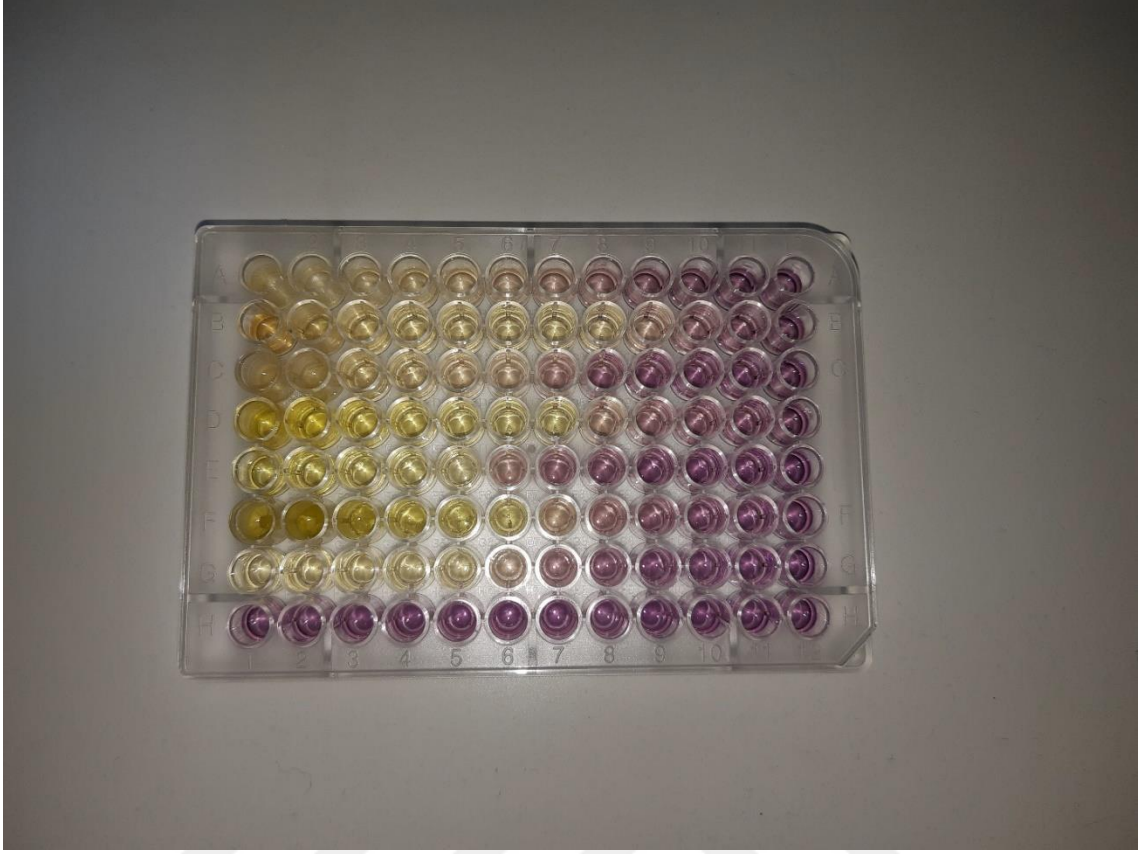


Şekil 3.8. Evaporatör acalığı ile artık alkolün uzaklaştırılma işlemi

3.2.6.2. Toplam fenolik madde miktar tayini

Bu çalışmada bitki ekstrahelerin toplam fenolik madde miktarı galik asit eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi [36] ile hesaplanmıştır. Öncelikle bitki türlerinin etil alkol, kloroform ve hekzan ile çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan numunelerden 20 µl alınarak mikropipet kuyucuklarına sırasıyla konularak üzerine 1560 µl distile su ve 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Reaktifin homojen dağılması için 1-8 dk. bekledikten sonra, 300 µl %20'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır.

Karanlık ortamda 2 saat oda sıcaklığında bekledikten sonra absorbans değerleri 760 nm'de ölçülmüştür. Analiz için üç tekrar yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarının tayini, galik asit standart eğrisi üzerinden hesaplanmıştır. Deneyde 200 µl'lik ekstraheler üzerine 1560 µl distile su, 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 300 µl %20'lik sodyum karbonat çözeltisi (Na_2CO_3) eklenmiştir. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanılmıştır. Karanlık bir odada oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 760 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı galik asit standart eğrisi üzerinden hesaplanmıştır. Analizler üç tekrar yapılmıştır ve toplam fenolik madde tayini galik asit standart eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.9. Toplam fenolik miktar tayini için hazırlanan numuneler

3.2.7. Antioksidan aktivite çalışmaları

3.2.7.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH•) süpürücü etki tayini

DPPH radikal süpürücü etki tayini için Kumarasamy ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. DPPH stok çözeltisi hazırlamak için, 2mg DPPH tartılıp üzerine 25 ml metanol eklendi ve ultrasonik banyoda çöktürüldü, son konsantrasyonu 80 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra, 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarının ilk sütununa sırasıyla 100'er μl MeOH (metanol) ve örnek aktarılmış ve metanol içerisine 10 seri seyreltme yapılmıştır. Her kuyucuğa, hazırlanan 200 μl DPPH• çözeltisinden eklendikten sonra reaksiyon başlamış ve 30 dakika olacak şekilde karanlık bir yere bırakılmıştır. Mikrotitrasyon plak, UV absorban değerleri 517 nm spektrofotometre kullanılarak okunmuş, deneyin üç tekrarı yapılmıştır.

İstatistiksel değerlendirmelerde Gen5 Data Analysis programı (BioTek) kullanılmış, sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. Radikal uzaklaştırma aktivitesi için, %50 inhibisyon konsantrasyonu değeri (EC_{50}) hesaplanmış olup, % inhibisyon değeri için aşağıdaki formül kullanılmıştır [37].

$$EC_{50} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

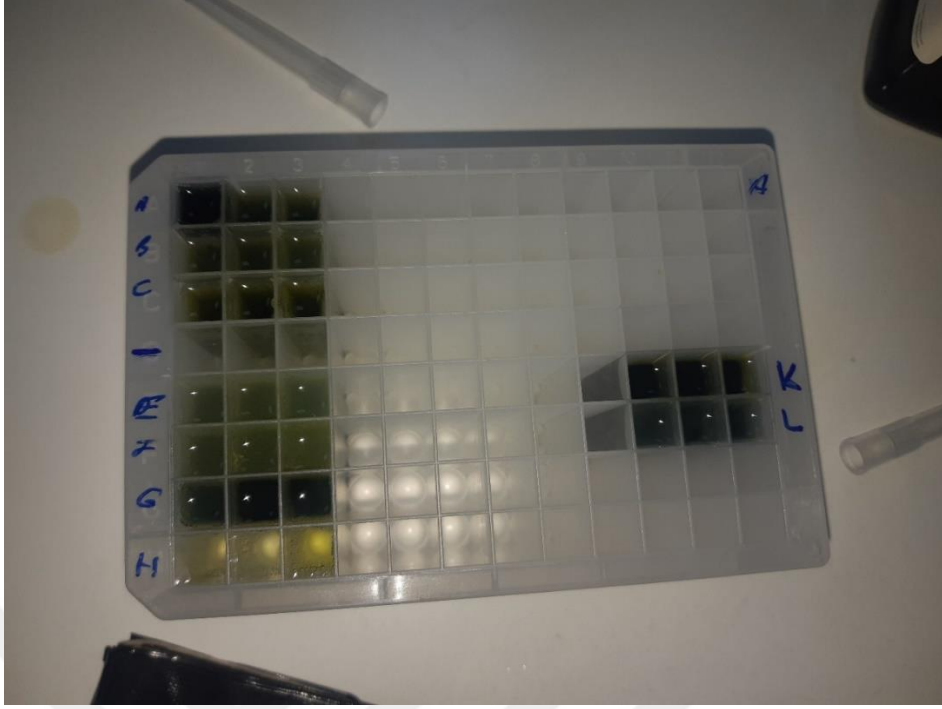
EC₅₀: %50 inhibe eden konsantrasyon, A₀: kontrol absorbans, A₁: numune absorbansdır.



Şekil 3.10. DPPH radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler

3.2.7.2. 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki

Bu aşamada, (TEAC) standart troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite yöntemi kullanılarak deney gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu) süpürülmesi ve vitamin E'nin suda çözünebilen bir analogu olan troloks ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır [38]. İlk aşamada, 7 miliMolar (mM) ABTS^{•+} ve 2,5 mM sodyum persülfat (Na₂S₂O₈) karıştırılıp karanlıkta 12-16 saat bekletilerek mavi yeşil renkli radikal oluşumu sağlanmış ve radikal çözeltisinin 734 nm'deki absorbans değeri 0,7-0,8 olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir. Daha sonra 10 µL örnek kuyucuklara knularak üzerine 990 µl ABTS^{•+} çözeltisi karıştırılarak, 734 nm'de absorbansı 30 dk. süre ile ölçülmüştür. Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite, troloksun kalibrasyon eğrisi kullanılarak bulunmuştur.



Şekil 3.11. ABTS radikal katyonu süpürücü etki tayini içi hazırlanan numuneler

3.2.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.8.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal çalışmalar kapsamında, *B. larendena* ile *S. tchihatcheffii* türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraları çalışılmıştır. Bu çalışmada, *Escherichia coli* NRRL B-3008, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC® 13311, *Serratia marcescens* NRRL® B-2544, *Klebsiella pneumoniae* NCTC® 9633, suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. utilis* NRRL Y-900, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri tayin edilmiştir. Bitki ekstralarının antikandial etkisinin belirlenmesinde CLSI (eski ismiyle NCCLS) M27-A2, sıvı mikro dilüsyon protokolü kullanılmıştır. Standart antifungaller ve ekstralar steril DMSO içinde çözülerek kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite gösteren ekstraların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), değerleri mikro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Amfoterisin-B, Ketokonazol, Ampisilin, Kloramfenikol standart antifungal ve antibakteriyal ajanlar olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

4.1.1. *S. tchihatcheffii* (Fisch & C. A. Mey.) Boiss.

Bitki, yarı çalimsı yani bitkide alt kısımlar odunlu, üst kısımlar otsu, çok yıllıktır.

Gövde, Steril gövdeler yatık, yapraklı; fertil gövdeler yükseltici, dalsız, 10-20 cm, basit kısa tüylü ve sapsız salgı tüylüdür.

Yapraklar, laminanın orta damarına kadar derin 3 parçalı ya da loplari yaprak ayasının orta damarına kadar derin olan pinnat damar ile birlikte 2 çift yanal segmentli, uç segmenti ise köşeleri yuvarkça dikdörtgenimsi, 1-2.5 x 0.2-0.6 cm, az çok çıplaklaşan yoğunlukta sapsız salgı tüylü, tam veya uç segment tepede dişli; yaprak sapı 0.3-0.8 cm, silli.

Çiçek, durumu yoğun başak ve çiçek durumu halkaları 2-8 çiçekli, çiçekler 3-4 mm saplıdır.

Brakteler, ovat-akuminat 10-16 x 4-7 mm; brakteoller mevcuttur. Pediseller, küçük çiçek sapı 3-4 mm.

Kaliks, tüpsü, çansı, 8-11 mm, meyvede 9-12mm, sapsız salgılı ve basit tüylü- silli.

Korolla, açık menekşe ile beyaz renkli, 10-15 mm ile tüp 7-10 mm, halkalı; üst dudak neredeyse düz şekildedir.

Nutletler, toparlak üç köşeli, yumurtamsı, 3 x 2.3 mm'dir.

Endemik

Çiçeklenme Zamanı: Haziran-Temmuz

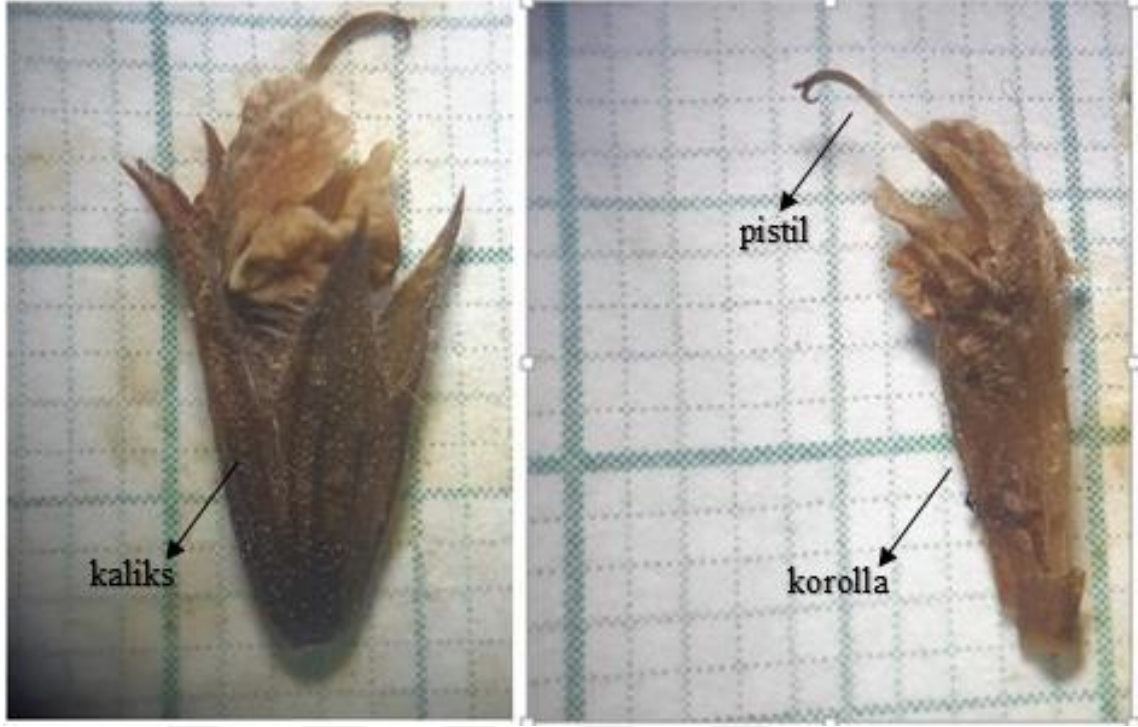
Habitatı: kireçtaşlı yamaçlar, stepik alanlar, Toplandığı yer: Eskişehir-Kızılkayalar Yükseklik: 840 m



Şekil 4.1. a) *S. tchiatcheffii*'nin genel görünüşü, b) *S. tchiatcheffii*'nin çiçek durumu



Şekil 4.2. *S. tchiatcheffii* 'nin herbarium örneği



Şekil 4.3. *S. tchiatcheffii*'nin kaliks, korolla ve pistil'in mikroskop altında görüntüsü

4.1.2. *B. larendana* Boiss. & Heldr.

Bitki, çok yıllık, gövdesi 30-60 cm boyunda, odunsu kaideden dik, sağlam gövdeli sert dallı, salgı bezeli ve basit yumuşak tüylüdür.

Yapraklar, kalpsi-böbreksi, 25-45 x 25-45 mm, oymalı kenarlı, yoğun yıldızsı ve basit yumuşak tüylüdür.

Çevresel çiçek, durumu yoğun, 9- çok çiçeklidir.

Brakteoller, şeritsi ipliksi, mukrosuz, kaliks tübü kadar uzun, 0.2-0.4 mm genişliğinde.

Kaliks, 6-7 mm, çıkık damarlı, kısaca salgı tüysüz-kısa yumuşak tüylü, yayık bir lamina şeklinde aniden dışarı yönelmiş 4-7 mm çap; 10 dişli, aşağı yukarı eşit olmayan, daha uzun olanlar üçgensel ve yayık, 1-1.6 mm.

Korolla, pembe veya kırmızımsı mor, 12-16 mm, üst dudak ibikli şeklinde.

Endemik

Çiçeklenme Zamanı: Nisan-Haziran

Habitatı: Karlık tepe, orman açıklıkları

Toplandığı yer: Eskişehir- Sarıcakaya

Yükseklik: 1300 m



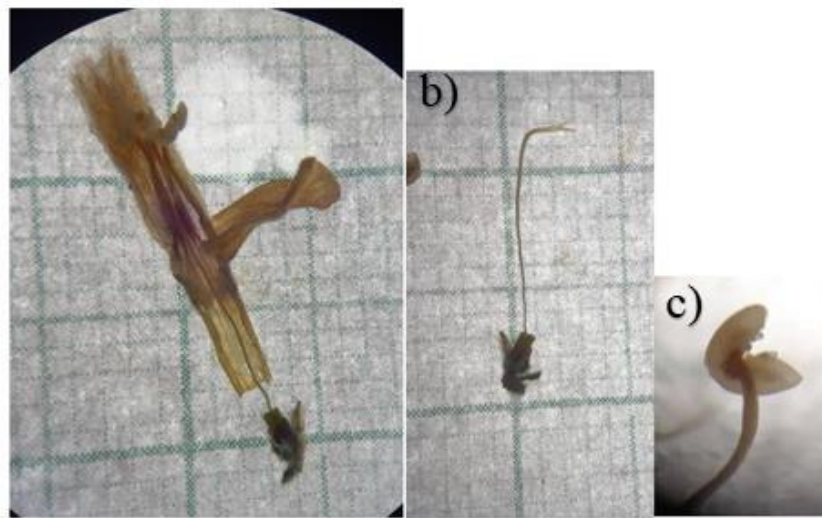
Şekil 4.4. *B. larendena* türünün genel görüntüsü



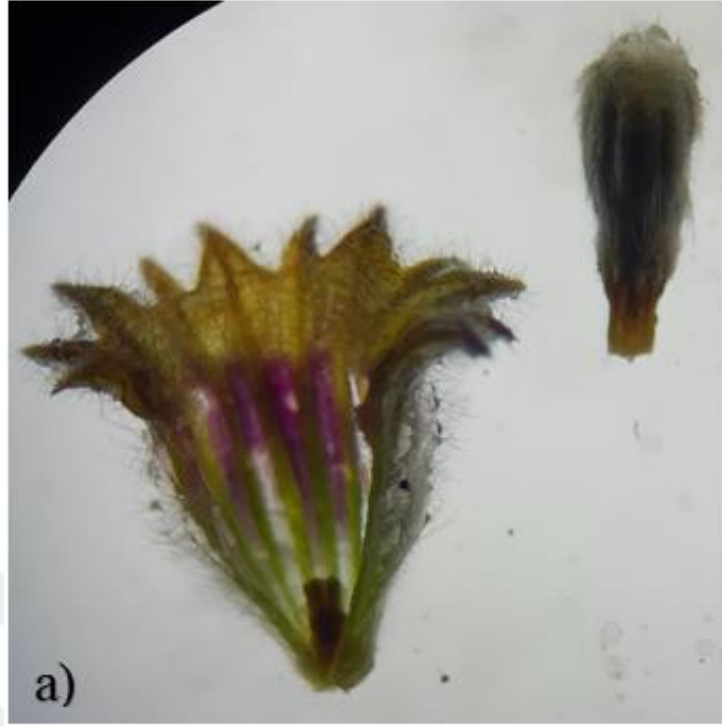
Şekil 4.5. *B. larendena* türünün çiçek durumu



Şekil 4.6. *B. larendena* 'nın çiçeğinin stereo mikroskop altında görünüşü



Şekil 4.7. *B. larendena* 'nın çiçek diseksiyonunun stereo mikroskop görüntüsü b) pistil,
c) stamen



Şekil 4.8. *B. larendena* çiçek stereo mikroskop altında görünüşü a) kaliks iç yüzey b) ovaryum

4.2. Anatomik Bulgular

4.2.1. *S. tchihatcheffii* Fisch. & Mey. Boiss.

4.2.1.1. Gövde anatomisi

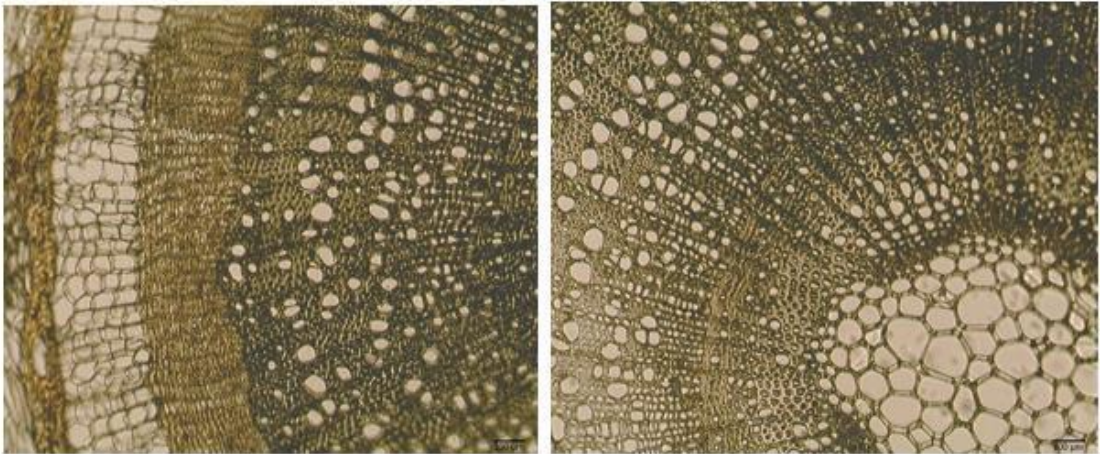
S. tchihatcheffii'nin gövdesinden alınan enine kesiti karemsi yuvarlak şekildedir. En dışta epidermis tabakası bulunmakla beraber bu tabaka 1-2 sıralı ve yassı oval hücrelerden oluşmuştur. Epidermisin üzerinde kalın bir kütikula tabakası bulunmaktadır. Epidermis tabakasının üzerinde bulunan tüyler salgı tüyleridir. Korteks, üç farklı katmandan oluşmuş, ilk katman kalın duvarlı, düzleştirilmiş kolenkima hücrelerinden meydana gelmiştir. İkinci katmandaki hücreleri oval, hilal şeklinde, 3-5 sıralıdır. Üçüncü sıradaki hücreler, arasında boşluk bulundurmeyen, sıralı, neredeyse aynı uzunluk ve genişlikteki hücrelerden oluşmaktadır.

4.2.1.2. Yaprak anatomisi

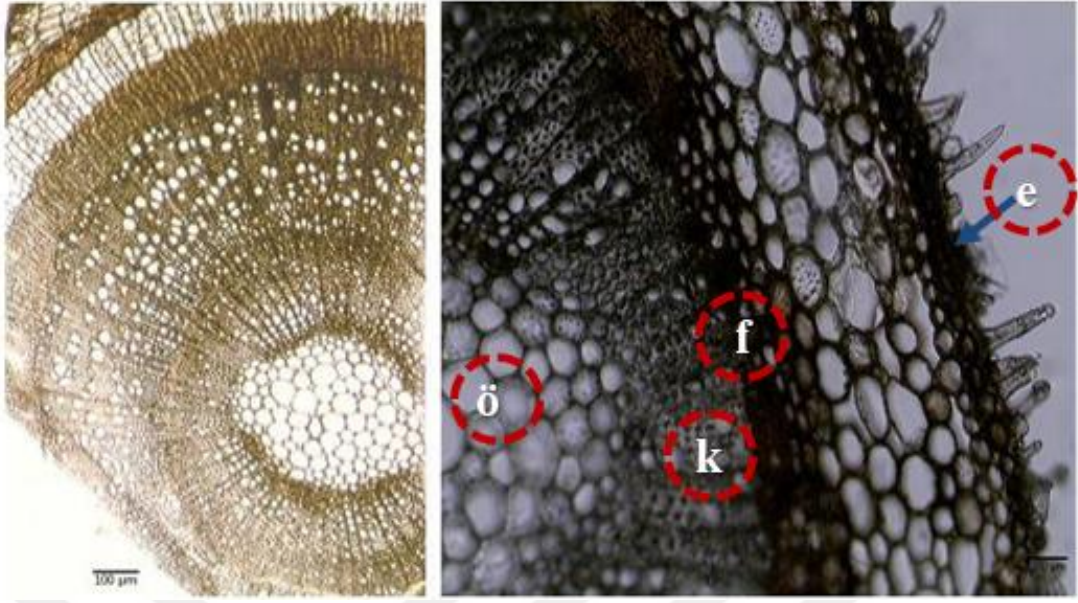
Yaprağın eksene bakan ve eksen dışı ve yüzeyinde düz-ovoidal hücrelere sahip tek katmanlı epidermis bulunmaktadır. Epidermisin eksene bakan yüzeyinde hücreler daha büyük ve daha fazladır. Hem 2-4 sıralı palizat parankima hücreleri hem de süngerimsi hücreler vardır ve 3-5 katmanlıdır. Eksene bakan, adaksiyel ve eksen dışı epidermiste tüyler mevcuttur. Burada hem salgı tüyleri hem de guddesiz tüyler bulunmaktadır.

4.2.1.3. Tüy Anatomisi

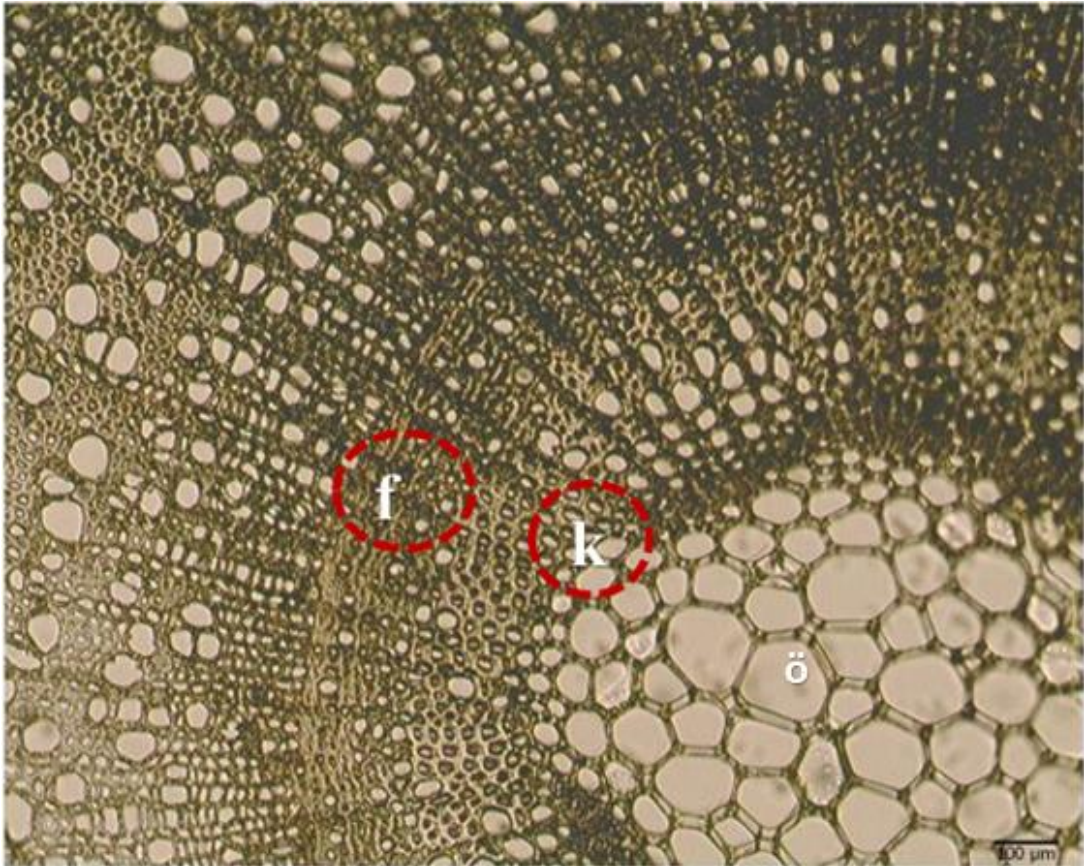
S. tchihatcheffii'nin anatomik kesitlerine bakıldığında görülüyor ki yaprak, yaprak sapı, kaliks kısımlarında salgı tüyleri bulunmaktadır. Salgı tüyleri, kapitat tüyler yani baş şeklindeki hücreli tüylerdir. Kapitat tüy yapısı, büyüklük ve orantı bakımından farklılıklar göstermektedir.



Şekil 4.9. *S. tchihatcheffii* gövde enine kesit



Şekil 4.10. *S. tchihatcheffii* gövde enine kesit; e: epidermis, f: floem, k: ksilem; ö: öz



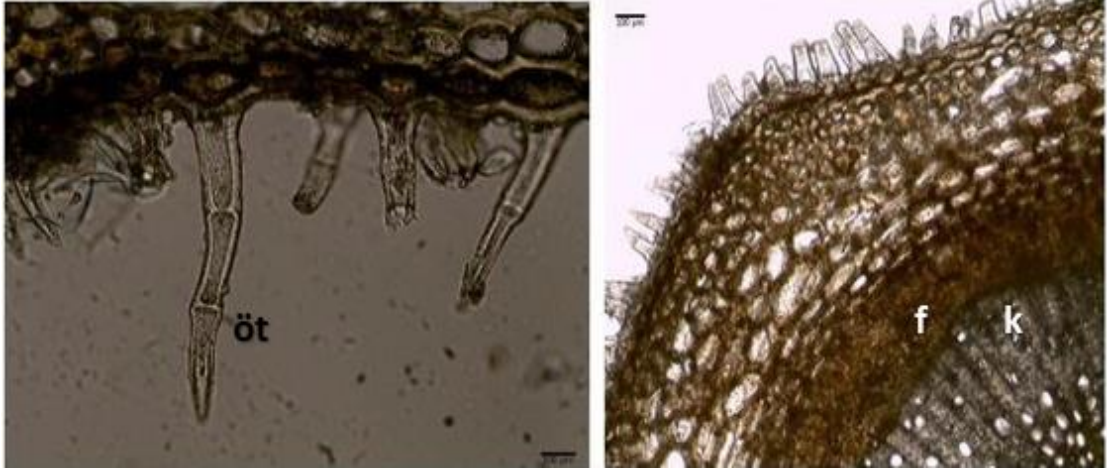
Şekil 4.11. *S. tchihatcheffii*'nin gövde enine kesit genel görünüş; f: floem, k: ksilem, ö:öz



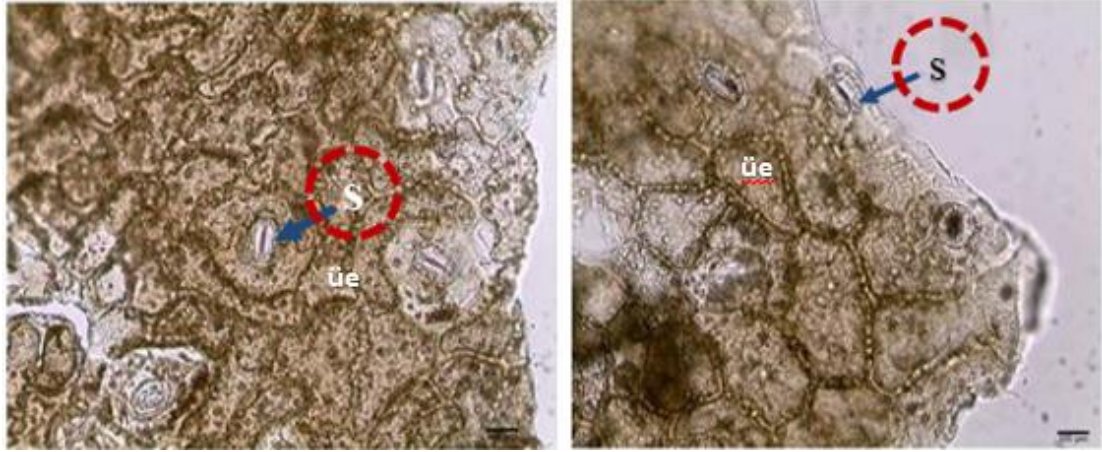
Şekil 4.12. *S. tchiatcheffii*'nin gövde enine kesit boyanmış genel görünüşü



Şekil 4.13. *S. tchiatcheffii*'nin yaprak enine kesiti: k: ksilem, f: floem, pa: parankima, ko: kollenkima, sk:sklerankima ku: kutikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis



Şekil 4.14. *S. tchiatcheffii*'nin gövde enine kesitte tüy görüntüsü; st: salgı tüyü; öt: örtü tüyü k:ksilem, f: floem



Şekil 4.15. *S. tchiatcheffii*'nin yaprak alt yüz kesitindeki stomaların görüntüsü; s: stoma ae: alt epidermis, üe: üst epidermis

4.2.2. *B. larendana* Boiss. & Heldr.

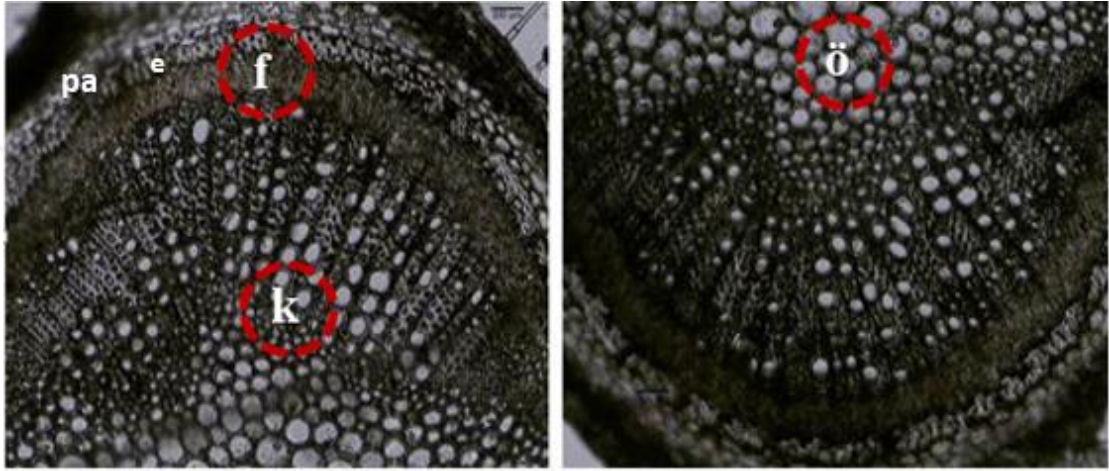
4.2.2.1. Gövde anatomisi

B. larendana'nın gövdesi tipik olarak dört köşelidir. Enine kesite bakıldığında dışta kütikula tabakası ile epidermis tabakası bulunmaktadır. Epidermis hücreleri tek sıralı, yuvarlak-oval şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Epidermada salgı ve örtü tüyleri bulunmaktadır. Kollenkima tabakası düzensiz, 7-10 sıralı yuvarlak-oval çeperli hücrelerden oluşmuştur. Yassı, yuvarlak şekilli endoderma altında sklerankima hücreleri bulunmaktadır.

4.2.2.2. Tüy anatomisi

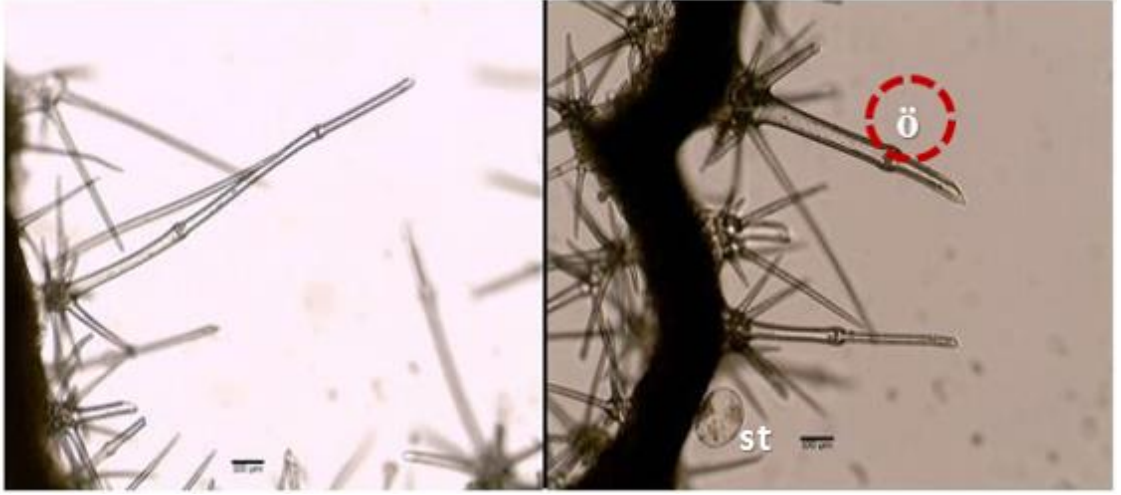
B. larendena bitkisi, yaprak ve gövdesinde yoğun salgı ve örtü tüyleri taşımaktadır. Gövde kısmından kesit alındığında epiderma tabakası üzerinde tüyler rahatlıkla görülmektedir.

Tüy anatomisine baktığımızda, çok hücreli, uzun tipte tüyler ile dallanmış, yıldızimsı tüyler birlikte görülmektedir. Salgı tüyleri çok hücreli, uzun, baş ve sap kısmı 2-3 hücrelidir.



Şekil 4.16. *B. larendena*'nın gövde enine kesiti; k: ksilem, f: floem, ö: öz pa:parankima, e:epiderma





Şekil 4.17. *B. larendena*'nın tüy anatomisi; st: salgı tüyü, ö: örtü tüyü

4.3. Moleküler bulgular

4.3.1. DNA Dizi Analizi Sonuçları

DNA dizi analizi sonuçlarına baktığımızda *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena*'nin ITS1 bölgesi dizi analizlerinin, GenBank'taki en yüksek benzerlik oranına sahip örneği gösterilmiştir.

GL2 – ITS1-ITS4 : *S. tchihatcheffii* KU563814.1

CCGCGAACACGTGTCTAACACCAACCGACGGTGCATGGCGTGGGGGC
GACCCCCGTCCTGTTCCCGTCACCCCCGCCGCGTGTTCATCGGGTCACG
TCGGGCGGGCTAACGAACCCCGCGCGGAATGCGCCAAGGAAAACAAAAC
GAAGCATCCTCCCCCGCGCCCCGTTTCGCGGAGCGTGCGGGGGCGTCGGAT
GTCTATCAAATGTCAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCAT
CGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCG
TGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAG
GGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCCTCCGTGCGCGCA
GCGCCCGTTGTGGGGGCGGATATTGGCCTCCCGTGCCCCCGGCGTGCGG
CTGGCCCAAATGCGATCCCTCGGCGACTCATGTCACGACAAGTGGTGGTTG
AACAACTCAATCTCGCGCGCCGTCGTGCCACTGCGTCGTCCGCTTGGGCATC
CATGAACGACCCAACGGTGCCGGTGCCCCGCAGCACCAACCTTCGACCGCG
ACCCAGGTCAGGCGGGATTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGG
AGGA

Toplam Baz Sayısı: 666

Dizi Eşleşme Oranı: %91

Benzerlik Oranı: %99.67

Tablo 4.1. *S. tchihatcheffii*'nin dünya gen bankasındaki sekanslara göre benzer taksonlar ve benzerlik oranları

Name	Max score	Total score	Query cover	P. ident	Acc. len	
<i>Salvia tchihatcheffii</i>	1090	1090	91%	99.67%	629	KU563814.1
<i>Salvia cedronella</i>	1092	1092	91%	99.67%	629	KU563797.1
<i>Salvia adenophylla</i>	1080	1080	91%	99.18%	628	KU563789.1
<i>Salvia albimaculata</i>	1085	1085	92%	99.03%	644	MW221073.1
<i>Salvia pisidica</i>	1085	1085	92%	99.03%	644	MW221072.1
<i>Salvia potentillifolia</i>	1085	1085	92%	99.03%	644	MW221062.1
<i>Salvia nydeggeri</i>	1074	1074	91%	99.02%	629	KU563803.1
<i>Salvia pisidica</i>	1070	1070	91%	99.02%	628	KU563806.1
<i>Salvia potentillifolia</i>	1070	1070	91%	98.85%	629	KU563807.1
<i>Salvia albimaculata</i>	1069	1069	91%	98.85%	628	KU563790.1

Tablo 4.2. *B. larendena*'nın dünya gen bankasındaki sekanslara göre benzer taksonlar ve benzerlik oranları

Name	Max score	Total score				
<i>Ballota rotundifolius</i>	1096	1096	93%	99.50%	668	MH684948.1
<i>Ballota damascenus</i>	1077	1077	93%	99.00%	668	MH684930.1
<i>Ballota aucheri</i>	1140	1140	98%	98.90%	709	MH684928.1
<i>Ballota latibracteolatus</i>	1125	1125	97%	98.89%	704	MH684940.1
<i>Ballota inaequidens</i>	1072	1072	93%	98.84%	674	MH684939.1
<i>Ballota undulatus</i>	1122	1122	97%	98.58%	707	MH684949.1
<i>Ballota mediterraneus</i>	1061	1061	92%	98.50%	675	MH684947.1
<i>Ballota hirsutus</i>	1055	1055	93%	98.18%	672	JN680359.1
<i>Ballota macedonicus</i>	1050	1050	93%	98.18%	670	MH684941.1
<i>Ballota acetabulosus</i>	1050	1050	93%	98.18%	672	MH684926.1

4.4. Distilasyon İşlemleri Sonuçları

Bu bölümde, *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena*'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiştir. Yaklaşık 3 saat süren distilasyon işleminden sonra hekzan ile bitkilerden elde edilen yağlar alınmıştır. Şekil 4.18' de clevenger apareyi ile uçucu yağ elde edilme işlemi gösterilmiştir. Elde edilen uçucu yağların gaz kromatografi tekniği ile kimyasal bileşikleri analiz edilerek tablo 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Clevenger apareyi a) *B. larendena* bitki örneği



Şekil 4.19. Clevenger apareyi toplama kabında biriken uçucu yağ

Tablo 4.3. *S. tchihatcheffi* ve *B. larendena* bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri

RRI	Bileşikler	Ballota GA115 %	Salvia GA116 %
1032	α -Pinen	2.4	4.9
1035	α -Tujen	1.7	1.3
1076	Kamfen	4.6	8.8
1118	β -Pinen	4.3	11.0
1132	Sabinen		tr
1174	Mirsen		0.6
1203	Limonen	1.1	1.3
1213	1,8-Sineol	5.2	15.3
1255	γ -Terpinen		1.2
1280	<i>p</i> -Simen	tr	2.4
1290	Terpinolen		tr
1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat		0.2
1532	Kafur	8.0	23.3
1553	Linalol		0.5
1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat		0.2
1565	Linalil asetat		0.2
1611	Terpinen-4-ol		1.2
1612	β -Karyofillen	5.0	2.2
1617	6,9-Guaiadien	0.5	1.3
1661	Alloaromadendren		0.1
1719	Borneol	1.2	3.6
1773	δ -Kadinen		0.3
1776	γ -Kadinen		1.1
1980	Furopolargon A		0.5
2008	Karyofillen oksit	1.0	1.4
2104	Viridiflorol	2.2	4.5
2105	Furopolargon B	1.5	6.7
2144	Spatülenol	1.4	1.6
2187	T-Kadinol	1.9	2.2
2250	α -Eudesmol		0.2
2257	β -Eudesmol	0.5	0.7
2324	Karyofilla-2(12),6(13)-dien-5 α -ol (=Karyofilladienol II)		0.2
2392	Karyofilla-2(12),6-dien-5 β -ol (=Karyofillenol II)		0.4
2931	Hekzadekanoik asit		tr
	Toplam	42.5	99.4

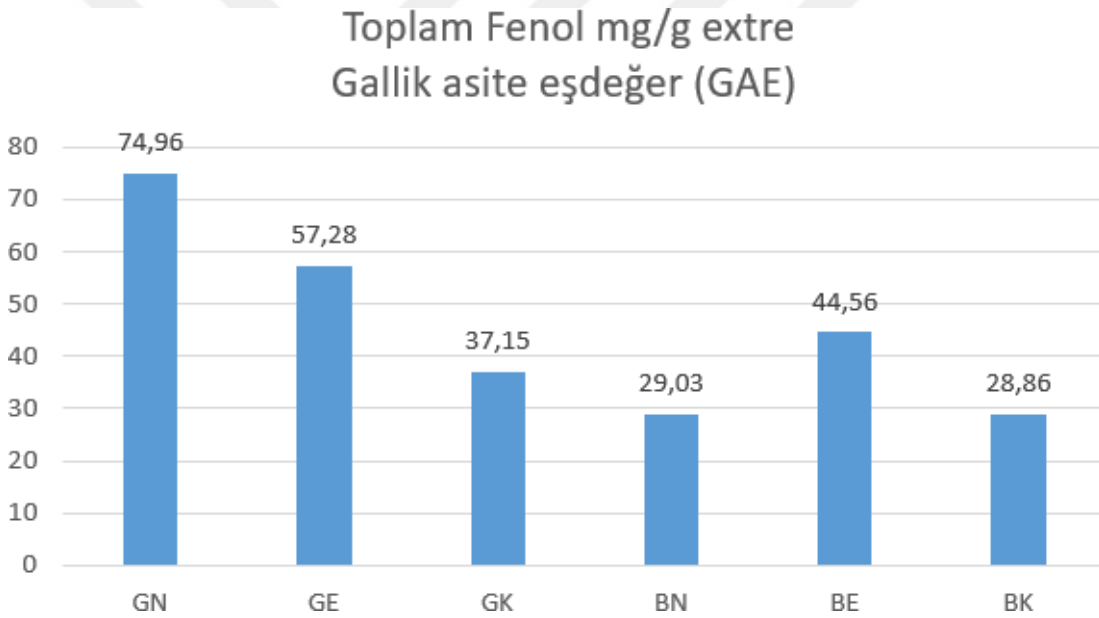
RRI: FID verilerinden hesaplanan *n*-alkanlara karşı hesaplanan bağıl alıkonma endeksleri

4.5. Kimyasal Bulgular

Bu kısımda *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena*'nın toplam fenolik madde miktarının tayini ile antioksidan aktivite analizlerine ait deney sonuçları açıklanmıştır.

4.5.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Toplam fenolik madde miktarı gallik asit üzerinden araştırılmıştır ve bu yöntem, temel olarak renk reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyonda meydana gelen mavi renk kompleksine bakılır. Mavi renk ne kadar koyu ise, bitki ekstresindeki total fenolik madde miktarı da o kadar fazla olmaktadır. Sonuçları değerlendirebilmek için; hesaplama ile standart gallik asit eğrisi çizilmiş, çıkan sonuçlar grafik ile gösterilmiştir (Şekil 4.20). Sonuçlara bakıldığında, Folin- Ciocalteu yöntemiyle belirlenen en yüksek toplam fenol madde miktarı *S. tchihatcheffii*'nin hekzanlı çözeltisinde görülmüştür.



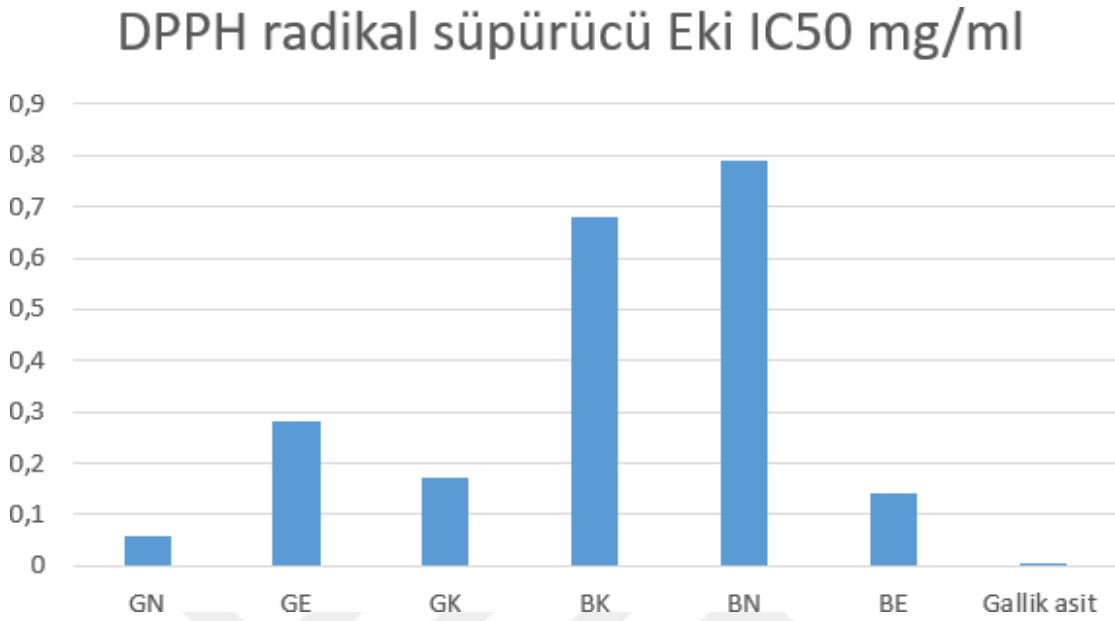
G:*S. tchihatcheffii*; **B:** *Ballota larendena*; **N:**Hekzan; **K:** Kloroform;**E:** Etanol

Şekil 4.20. Toplam fenol mg/g

4.5.2. Antioksidan aktivite çalışmaları

Antioksidan aktivite için serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH•) kullanılmış ve farklı konsantrasyonlarda %50 inhibisyon konsantrasyonu (EC₅₀) olarak

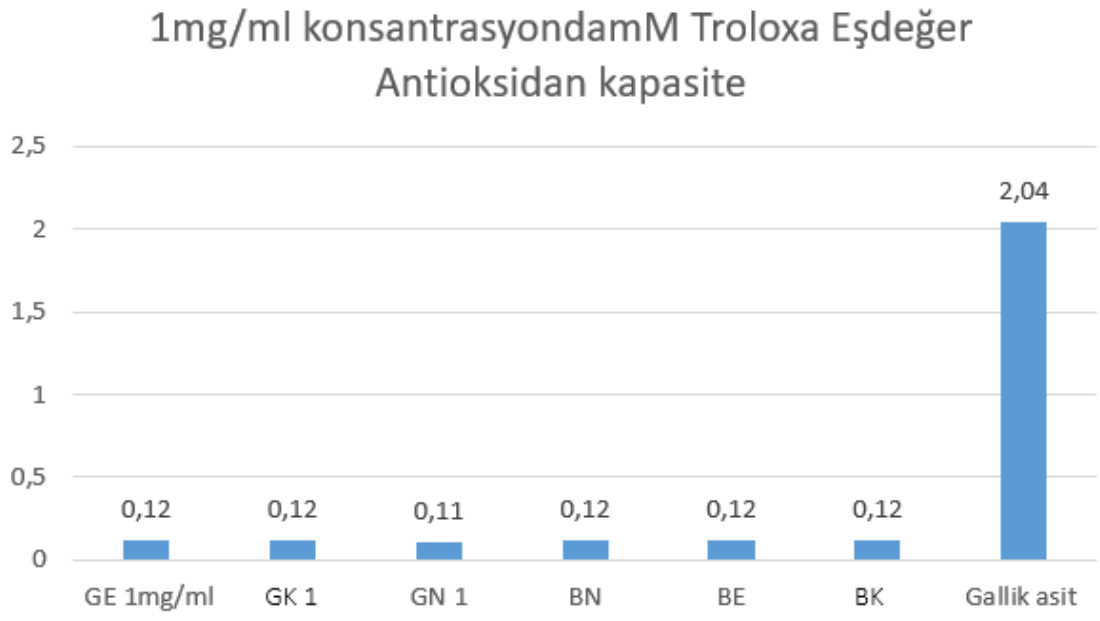
hesaplanmıştır. Buna göre en yüksek inhibisyon değeri gallik asitte görülmüştür. Çıkan sonuçlar grafik ile verilmiştir (Şekil 4.21).



G: *S. tchihatcheffii*; **B:** *B. larendena*; **N:** Hekzan; **K:** Kloroform; **E:** Etanol

Şekil 4.21. DPPH radikal süpürücü etki

Hazırlanan ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi için, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloksun % inhibisyon değerleri hesaplanmış, elde edilen veriler ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Elde edilen sonuca bakıldığında Teac değeri en yüksek gallik asitte görülürken diğer ekstreler hemen hemen aynı değerde görülmüştür (Tablo 4.22).



G: *S. tchihatcheffii*; B: *B. larendena*; N: Hekzan; K: Kloroform; E: Etanol

Şekil 4.22. Trolox eşdeğer antioksidan kapasite

4.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada, *B. larendena* ile *S. tchihatcheffii* türlerinin hekzan, kloroform ve etanollü ekstrelerinin, *Escherichia coli* NRRL B-3008, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Salmonella typhimurium* ATCC® 13311, *Serratia marcescens* NRRL® B-2544, *Klebsiella pneumoniae* NCTC® 9633, suşlarına karşı antibakteriyal aktivite, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. utilis* NRRL Y-900, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri tayin edilmiştir.

Çalışmada gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu; MİK, (Minimum inhibitör konsantrasyonu) µg/ml değeri olarak belirlenmiştir. Antifungal aktivite sonuçlarına bakıldığında *C. albicans* 10231 suşuna karşı, St-H, St-K ve Bl-E ekstrelerinin 125 µg/ml ; St -E ve Bl -H 250 µg/ml ile Bl -K 60 µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0,06 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. Bl-K'nın MİK değeri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir.

C. utilis Y-900 suşuna karşı, St-E, Bl-H ekstrelerinin 125 µg/ml ; St-K, Bl-K ve Bl-E 30 µg/ml ile St-H 60 µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0.25 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. St-K, Bl-K ve

Bl-E 30 µg/ml'nın MİK değerleri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir. *C. albicans* 90028 suşuna karşı, St-H, St-K ekstrelerinin 125 µg/ml; St-E ve Bl-H, 250 µg/ml ile Bl -K, Bl -E 60 µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0,125 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. Bl-K ve Bl-E 60 µg/ml'nın MİK değerleri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir. *C. tropicalis* 750 suşuna karşı, St-E, Bl-K, Bl-E ekstrelerinin 125 µg/ml; Bl-H 30 µg/ml ile St-H ,St-K 60 , µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0,125 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. Bl-H 30 µg/ml'nın MİK değerleri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir. *C. parapsilosis* 22019 suşuna karşı, St-E, Bl-H ekstrelerinin 125 µg/ml; St-K 30 µg/ml ile St-H, Bl-K, Bl-E 60 µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0,125 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. St-K 30 µg/ml'nın MİK değerleri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir. *C. krusei* 6258 suşuna karşı, St-E, Bl-H ekstrelerinin 125 µg/ml; Bl-K, Bl-E 30 µg/ml ile St-H, St-K 60 µg/ml'lik konsantrasyon değerleri ile 0,25 µg/ml olan kontrol ketokonazol karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. Bl-K ve Bl-E 30 µg/ml'nın MİK değerleri diğer ekstrele göre ise daha yüksek aktivite göstermiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Ekstrelerin antikandidal etki sonuçları (MİK, µg/mL)

Mikroorganizmalar	St-H	St-K	St-E	Bl-H	Bl-K	Bl-E	S1 µg/ml	S2 µg/ml
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	125	125	250	250	60	125	0,25	0,06
<i>Candida utilis</i> NRRL Y-900	60	30	125	125	30	30	0,125	0,25
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	125	125	250	250	60	60	0,125	0,125
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	60	60	125	30	125	125	1	0,125
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	60	30	125	125	60	60	0,25	0,125
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	60	60	125	125	30	30	0,5	0,25

St: *S. tchihatcheffii*; **Bl:** *B. larendena*; **H:** Hekzan; **K:** Kloroform; **E:** Etanol;

S1:Amfoterisin-B, **S2:** Ketokonazol

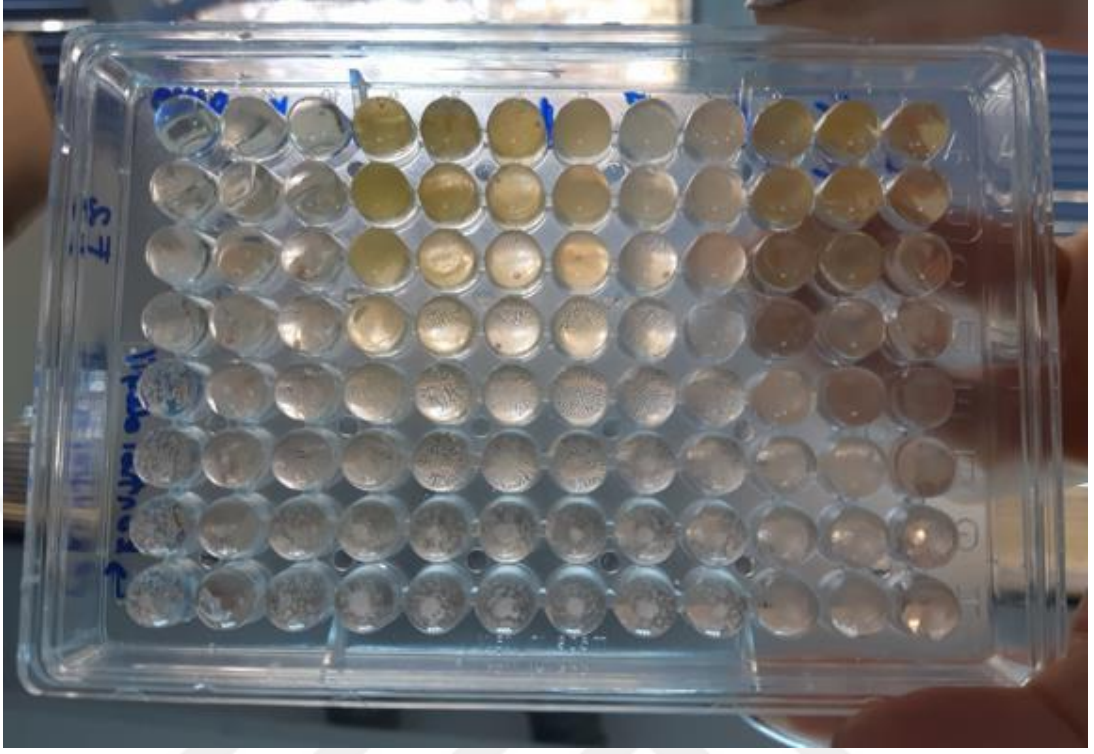
Antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, *E. coli* 3008 için ekstreler, 2 µg/ml kontrol kloramfenikol ile karşılaştırıldıklarında hiçbir konsantrasyonda mikroorganizmayı inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür. *S. aureus* 6538 suşuna karşı St-H, St-K ekstrelerinin 1000 µg/mL; Bl-H, Bl-K, Bl-E 125 µg/ml MİK değerleri ile kloramfenikolün 1 µg/ml olan MİK değeri karşılaştırdığında düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. St-H ekstresinin hiçbir konsantrasyonunda mikroorganizmayı inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür. *P. aeruginosa* 27853 suşuna karşı 2 µg/ml kontrol kloramfenikol ile karşılaştırıldıklarında hiçbir konsantrasyonda mikroorganizmayı inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür. *S. typhimurium* 13311 suşuna karşı St-E 1000 µg/mL; Bl-H, Bl-K, Bl-E 125 µg/mL; St-H, St-K 500 µg/ml MİK değerleri ile kloramfenikolün 2 µg/ml olan MİK değeri karşılaştırdığında düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. marcescens* 2544 suşuna karşı St-H 1000 µg/mL MİK değerleri ile kloramfenikolün 8 µg/ml olan MİK değeri karşılaştırdığında düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer ekstrelerin hiçbir konsantrasyonda mikroorganizmayı inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür. *K. pneumoniae* 9633 suşuna karşı St-H 1000 µg/ml MİK değerleri ile kontrol kloramfenikol 8 µg/ml mik değeri karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdiği belirlenmektedir. Diğer ekstrelerin konsantrasyonlarında ise mikroorganizmayı inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür.

Tablo 4.5. Ekstrelerin antibakteriyal etki sonuçları (MİK, µg /mL)

Mikroorganizmalar	St-H	St-K	St-E	Bl-H	Bl-K	Bl-E	S1 µg/ml
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	-	-	-	-	-	-	2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1000	1000	-	125	125	125	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	2
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	500	500	1000	125	125	125	2
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	1000	-	-	-	-	-	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	1000	-	-	-	-	-	8

St: *S. tchihatcheffii*; **Bl:** *B. larenda*; **H:** Hekzan; **K:** Kloroform;

E: Etanol; **S1:** Kloramfenikol; **(-):** Etki gözlenmedi.



Şekil 4.23. Antimikrobiyal aktivite

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Eskişehir’de endemik olarak yetişen *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena* türleri farmasötik botanik açıdan incelenmiştir. Bitkilerin morfolojik ve anatomik özellikleri araştırılmış, kimyasal çalışmalar ile antioksidan aktiviteleri ve toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir, uçucu yağların kompozisyonu incelenmiştir.

Tez kapsamında *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena*’nın antimikrobiyal etkileri ile antioksidan içerikleri araştırılmış, ve *B. larendena*’nın morfolojik, anatomik özellikleri ile kimyasal çalışmaları ilk kez bu çalışmada incelenmiştir.

5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma

B. larendena ve *S. tchihatcheffii* türleri ile ilgili elde edilen morfolojik bulgular Türkiye Florası’ndaki özellikleri ile karşılaştırmalı olarak tablo ile gösterilmiştir (tablo 5.1 ve tablo 5.2). *B. larendena* ve *S. tchihatcheffii* türlerinin deskripsiyonu çalışmamız sonucunda morfolojik bulgular Türkiye florasındaki verilerle karşılaştırıldığında, morfolojik özellikler ve ölçümler büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. *S. tchihatcheffii* türü ile ilgili yapılmış morfolojik bir çalışmaya [39] ek olarak bizim çalışmamızın da katkı sağlamasının yanında *B. larendena* türü ile ilgili yapılmış ayrıntılı bir morfolojik çalışmaya olmaması nedeniyle araştırmamızın faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Tablo 5.1. *S. tchihatcheffii* türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Karakterler (<i>S. tchihatcheffii</i>)	Bulgular	Türkiye florası
Bitki boyu	18-40 cm	10-20 cm
Yaprak	0,7-3 x 0,2-5 cm	1-2,5 x 0,2-0,6 cm
Yaprak sapı	0,35-0,4cm	0,3-0,4 cm
Çiçek	Spika	Spika
Korolla renk	Çok açık menekşe, beyaz	Açık menekşe ile beyaz
Kaliks	1-1,5 x 1,2-1,5 cm	0,9-1,2 cm
Korolla	1-2 cm	1-1,5 cm
Yaşam formu	Yarı çalimsı, otsu	Yarı çalimsı, otsu
Tüy	Basit ve salgı tüyü	Basit ve salgı tüyü

Tablo 5.2. *B. larendena* türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Karakterler (<i>B. larendena</i>)	Bulgular	Türkiye florası
Bitki boyu	30-51 x 0,1-0,35 cm	30-60 cm
Yaprak	0,8-3,5 x 1,25-4 cm	2,5-4,5 cm
Yaprak sapı	0,1-2 x 0,15-0,2 cm	0,1-0,2 cm
Çiçek	1,9-2 cm	1-2 cm
Korolla renk	Morumsu	Pembe veya kırmızımsı mor
Kaliks	0,85-1,5 cm	0,6-0,7 cm
Korolla	1,4-1,6 cm	1,2-1,6 cm
Yaşam formu	Çok yıllık, gövde dik dallı	Çok yıllık, gövde dik dallı
Tüy	Yıldızsı tüy, salgı tüyleri	Yıldızsı tüy, salgı tüyleri

5.2. Anatmik Sonuçlar ve Tartışma

Çalışmamızın bu kısmında *B. larendena* ve *S. tchihatcheffii* türlerinin gövde ve yaprak enine kesitleri alınarak anatomik yapıları incelenmiş ve iki tür karşılaştırılmıştır.

Gövde enine kesitlere bakıldığında *S. tchihatcheffii*’nin gövdesi karemsi yuvarlak şekilliye *B. larendena*’nın ise tipik olarak dört köşelidir. Her ikisinde de en dış tabaka olan epidermiste salgı tüyleri ve örtü tüyleri bulunmaktadır. *B. larendena*’da gövde kesitinde epidermis hücreleri tek sıralı yuvarlağımsı şekilleyken, *S. tchihatcheffii*’nin epidermis tabakası 1-2 sıralı yassı oval hücreler şeklinde görülmektedir. *S. tchihatcheffii*’nin korteks tabakasının ilk katmanı kalın duvarlı, düzleşmiş kollenkima hücrelerinden meydana gelirken *B. larendena*’nın kollenkima tabakası 7-10 sıralı, düzensiz, oval çeperli hücrelerden meydana gelmiştir. *S. tchihatcheffii* türünde korteksin ikinci katmanı 3-5 sıralı oval hücreler ile üçüncü sırada aralarında boşluk bulunmayan aynı uzunluk ve genişlikte hücrelerden oluşurken *B. larendena*’nın endoderma tabakasının altında yassı yuvarlak şekilli sklerenkima hücreleri bulunmaktadır.

B. larendena’nın yapraklarının sık tüylü yapısı kesit almayı zorlaştırmış, net bir görüntü elde edilememiştir bununla birlikte *S. tchihatcheffii*’nin yaprak kesitleri incelendiğinde epidermisin eksene bakan yüzeyinde 2-4 sıralı palizat parankima hücreleri

ile süngerimsi hücreler bulunmaktadır. Ayrıca *S. tchihatcheffii*'nin yaprak kesitinde, epidermiste salgı tüyleri ile guddesiz tüyler görülmektedir.

Tüy anatomisine baktığımızda *S. tchihatcheffii*'nin sadece yaprak kesitinde değil, yaprak sapı ve kaliks kısmında da tüyler bulunmakla beraber salgı tüyleri ile kapitat tüyler bulunmaktadır. *B. larendena*'nın ise yaprak ve gövdesinde yoğun salgı ve örtü tüyleri mevcuttur.

5.3.Moleküler Sonuçlar ve Tartışma

S. tchihatcheffii ve *B. larendena* bitkilerinin moleküler yakınlıklarının belirlenmesi amacı ile ITS1–ITS4 gen bölgelerinin dizi analizleri belirlenmiştir. DNA dizi analizi sonuçlarına baktığımızda çalışılan iki bitki türünün kendi cinsleri arasındaki ITS1 bölgesi dizi analizlerinin, GenBank'taki en yüksek benzerlik oranına sahip örnekleri gösterilmiştir. Elde ettiğimiz verilere göre *S. tchihatcheffii*'nin (tablo 4.1) verilen diğer türler ile benzerlik oranları %98 den fazla olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızın dışında *S. tchihatcheffii* türü ile ilgili yapılmış birkaç genetik çalışma mevcuttur.

S. tchihatcheffii türünün filogenetik analizi ile ilgili yapılmış olan bir araştırmada gen bankasındaki benzerlik oranları verilmiş, bizim çalışmamızla benzer olduğu görülmüştür [40]. *S. tchihatcheffii* ile ilgili yapılmış olan bir diğer çalışmada ise moleküler tekniklerden RAPD analizi kullanılarak türün moleküler akrabalık ilişkileri belirlenmiştir [41]. Yapılan başka bir araştırmada, *S. tchihatcheffii*'nin kromozom sayısı ve morfolojisi detaylı olarak incelenmiştir [42].

B. larendena türünün moleküler akrabalık ilişkileri ise ilk kez bu çalışmada aydınlatılmıştır. Dünya gen bankasındaki sekanslara göre yakın akraba olan türleri verilmiş (tablo 4.2), benzerlik oranlarının %98'in üzerinde olduğu görülmüştür.

Uçucu Yağ Analiz Sonucu ve Tartışma

İki ayrı lokasyondan toplanan *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena* bitkilerinden su distilasyonu yöntemi ile uçucu yağları elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre *S. tchihatcheffii* türünün uçucu yağ verimi yüksekken, *B. larendena* türü eser miktarda uçucu yağ içerdiği için uçucu yağı alınırken hekzan kullanılmıştır. Bitkilerdeki uçucu yağlar GK ve GK/KS analizleri yapılarak belirlenmiştir.

Bitki türlerinin uçucu yağlarının GK ve GK/KS analizleri incelendiğinde, *S. tchihatcheffii*'nin %99,4'üne, *B. larendena*'nın ise %42,5 ine karşılık gelen 34 kimyasal bileşik analiz edilmiştir.

Analiz sonucuna bakıldığında *S. tchihatcheffii* 'de; α -Pinen (%4,9), α -Tujen (%1,3), Kampen (%8,8), β - Pinen (%11), Sabinen, Mirsen (%0,6), Limonen (%1,3), 1,8-Sineol (%15,3), γ -Terpinen (%1,2), *p*-Simen (%2,4), Terpinolen (%0,2), *trans*-Sabinen hidrat, Kafur (%23,3), Linalol (%0,5), *cis*-Sabinen hidrat (%0,2), Linalil asetat (%0,2), Terpinen-4-ol (%1,2), β -Karyofillen (%2,2) , 6,9-Guaiadien (%1,3), Alloaromadendren (%0,1), Borneol (%3,6), δ -Kandinen (%0,3), γ -Kandinen (%1,1), Furopelargon A (%0,5), Karyofilen oksit (%1,4), Viridiflorol (%4,5), Furopelargon B (%6,7), Spatülenol (%1,6), T-Kadinol (%2,2), α -Eudesmol (%0,2) , β -Eudesmol (%0,7), Karyofilladienol II (%0,2), Karyofillenol II (%0,4), Hekzadekanoik asit bileşikleri bulunmuştur. En yüksek oranda bulunan bileşik kafur olarak görülmektedir.

Salvia cinslerinin uçucu yağ bakımından zengin olduğu bilinmektedir. *S. tchihatcheffii* türü ile ilgili yapılan bir çalışmada % 20–23 kafur ve %16 1,8-Sineol bulunmuştur [43]. Bizim çalışmamızdaki % 23,3 kafur ve % 15,3 1,8- Sineol sonuçları da daha önce yapılmış bu çalışmayı desteklemektedir.

Yapılmış diğer bir çalışmada; *Salvia* cinsinden 12 türün uçucu yağ kompozisyonları incelenmiş, *S. tchihatcheffii*'nin tohum yağında uçucu yağ asidi bileşiminde linoleik asit ana bileşen olarak %44.2 oranında bulunmuştur [44]. Bizim çalışmamızda ise bitki örneğinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağda ana bileşen % 23,3 oranında Kafur, bunu % 15.3 1,8- Sineol ile β -Pinen takip etmektedir.

Salvia türlerinin bir diğer uçucu yağ araştırmasında hidrodistilasyon ile elde edilip GC-MS ile analiz edilen *S. tchihatcheffii*'de Kafur ana bileşen olarak bulunmuş, yağ verimi % 0,6; bağıl yüzde ise % 23,3 olarak bildirilmiştir [45]. Çıkan sonuca bakıldığında bizim araştırmamızla benzerlik görülmektedir.

B. larendena 'da; α -Pinen (%2,4), α -Tujen (%1,7), Kampen (%4,6), β - Pinen (%4,3), Limonen (%1,1), 1,8-Sineol (%5,2), Kafur (%8), β -Karyofillen (%5) , 6,9-Guaiadien (%0,5), Borneol (%1,2), Karyofilen oksit (%1), Viridiflorol (%2,2), Furopelargon B (%1,5), Spatülenol (%1,4), T-Kadinol (%1,9), β -Eudesmol(%0,5) asit bileşikleri bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında en yüksek %8 ile kafur bileşeni tespit

edilmiştir. *B. larendena*'nın uçucu yağ analizi sonucuna bakıldığında, bitkinin uçucu yağ bileşenlerinden ana bileşen olarak görünen %41 oranında bulunan bir bileşen belirlenememiştir. Bu madde yeni bir madde potansiyeli taşımaktadır ve ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatür çalışmaları incelendiğinde *B. larendena*'nın çeşitli eksterelerin kimyasal bileşenleri araştırılırken uçucu yağ kompozisyonlarının belirlenmesiyle ilgili başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. *B. larendena* türünün uçucu yağ kompozisyonları ilk kez bu çalışmada ortaya konmuştur.

5.4. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışmada, *S. tchihatcheffii* ve *B. larendena* türlerinin toprak üstü kısımları kullanılarak bitkilerin antioksidan aktivite özellikleri ve toplam fenolik madde içerikleri araştırılmıştır.

DeneySEL sonuçlar bakıldığında, Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenen en yüksek toplam fenol madde miktarı *S. tchihatcheffii*'nin hekzanlı çözeltilinde görülmüştür. *S. tchihatcheffii*'nin farklı çözücüler ile hazırlanmış her ekstre için toplam fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer mg/g olarak bulunmuş, etki sırasına göre en yüksek değerden itibaren sıralandığında; hekzanlı ekstre > etanollü ekstre > kloroformlu ekstre şeklinde görülmüştür. Antioksidan aktivite için serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH) kullanılmış ve farklı konsantrasyonlarda %50 inhibisyon konsantrasyonu (EC₅₀) olarak hesaplanmıştır. Buna göre *S. tchihatcheffii* için en etkili ekstreler sırası ile hekzanlı ekstre > kloroformlu ekstre > etanollü ekstre olup en yüksek inhibisyon değeri gallik asitte görülmüştür. Hiçbir ekstre gallik asit kadar etkili çıkmamıştır. Elde edilen diğer sonuçta bakıldığında Teac değeri en yüksek gallik asitte görülürken diğer ekstreler hemen hemen aynı değerde görülmüştür. Gallik asitle kıyaslandığında ekstreler etkisiz bulunmuştur.

S. tchihatcheffii türü ile yapılan bir çalışmada bitkinin yapraklarından dietil eter, etanol ve su ekstrelerinden antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiş, su ekstresinde yüksek antioksidan aktivite görülmüştür [46].

Salvia tchihatcheffii ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, bitkiden; 11-hidroksiabieta-8,11,13,15-tetraen (Tchihatine), 11-hidroksiabieta-5,8,11,13-tetraen

(Salvitchihatine), 3,28-diasetileritrodiol (Erithrodiol diacetate) ve ledol bileşikleri de izole edilmiştir [47].

Salvia cinsi ile yapılan benzer bir çalışmaya baktığımızda, *S. officinalis* için bitkinin etanol, metanol, aseton ve etil asetat çözücülerini kullanılmış ekstraktların en iyi toplam fenolik madde miktarları sırasıyla (mg GAE/g ekstrakt) etanol 43.55, metanol 23.62, etil asetat 18.29 ve aseton ekstraktında 11,58 olarak görülmüştür [48]. Buna göre sonuçların bitkinin türüne ve kullanılan çözücülere göre değiştiğini görmekteyiz.

B. larendena için toplam fenolik madde miktarı sonuçlarına bakıldığında, en yüksek toplam fenol madde miktarı sırası ile; etanollü ekstre > hekzanlı ekstre > kloroformlu ekstre şeklinde olup *Ballota* 'nın hekzan ve kloroformlu ekstraktları hemen hemen aynı değerde çıkmıştır. Serbest radikal temizleme yöntemi (DPPH) 'ne göre ise *B.larendena* için ekstraktların etki sırası; etanollü ekstre > kloroformlu ekstre > hekzanlı ekstre olup en düşük inhibisyon değeri kloroform ve hekzanlı ekstraktlarında görülmüştür. En yüksek etki ise gallik asitte çıkmıştır. Teac sonuca bakıldığında, tüm ekstraktlar hemen hemen aynı değerde görülürken en yüksek değer gallik asitte görülmüştür. Gallik asitle kıyaslandığında ekstraktlar etkisiz bulunmuştur.

B. larendena türü ile yapılan bir çalışmada bitkinin etil asetat, metanol ve sulu ekstraktlarının DPPH ile toplam fenol ve flavonoid içerikleri Folin-Ciocalteu ve $AlCl_3$ reaktifleri ile belirlenmiş, ekstraktların DPPH radikaliyle karşı önemsiz bir söndürme aktivitesi gösterirken orta derecede antioksidan aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur [49]. Diğer bir çalışmada, *B. larendena*'nın CH_2Cl_2 ve etanollü ekstraktlarından polifenoller araştırılmıştır [50]. Fitokimyasal incelemelerde *Ballota* cinsinin ana bileşenlerinin diterpenoidler olduğu ortaya konulmuş, *B. larendena*'dan çeşitli diterpenoidler (ballonigrin, hispanon), flavonoid glikozitler, flavonlar ve flavanoller izole edilmiştir [51]. Ayrıca *B. larendena* ile ilgili yapılan kimyasal çalışmalarda bitki ekstraktından elde edilen kimyasal bileşiklerin antidepresan ve anksiyolitik etkili oldukları bulunmuştur [52].

Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü bir çok etmenden dolayı değişkenlik gösterir, zaman zaman çözünmesi zor bir yapı gösterebilir. Bu sebeple fenolik bileşiklerin izolasyonu için ekstraksiyon işleminde çözücüler kullanılmaktadır [53].

Antioksidan aktivite belirlemek için yapılan bir çalışmada toplam fenolik asit madde miktarı hekzan ekstresinde diğer çözücülerin kullanıldığı ekstrele göre daha yüksek bulunmuştur [54].

Başka bir tez çalışmasında, çalışılan bitki türünün fenolik madde içeriğinin belirlenmesi amacı ile hekzan, aseton ve metanol ekstraktları hazırlanmış, analiz sonucu bitkide en yüksek oranda bulunan salvigen'in hekzan ekstresinde görüldüğü rapor edilmiştir [55].

Yaptığımız çalışmada toplam fenol ve DPPH – radikal süpürücü etki en iyi *S. tchihatcheffii*'nin hekzanlı ekstresinde görülmüştür, yapılan başka araştırmalarda da kullanılan hekzan çözücüsü için benzer sonuçlara rastlanmıştır.

Çalışmalara bakıldığında *Ballota* ve *Salvia* cinsleri ile ilgili kimyasal çalışmalar bulunmakla birlikte araştırmamızda elde ettiğimiz verilerin de yapılan çalışmaları destekler nitelikte olduğunu düşünmekteyiz.

5.5.Antimikrobiyal Sonuçlar ve Tartışma

Tez kapsamındaki endemik olan *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena*'nın üç farklı çözücü ile hazırlanan ekstraktlarının antimikrobiyal etkinlikleri incelenmiştir. İki bitki türünün ayrı ayrı toprak üstü kısımlarından etanol, hekzan ve kloroform çözücülerini ile ekstraktları hazırlanmış , antibakteriyel ile antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmamız kapsamında *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena* bitki ekstraktlarının *Escherichia coli* 3008, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* 6538, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Salmonella typhimurium* 13311, *Serratia marcescens* 2544, *Klebsiella pneumoniae* 9633, suşlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri; *Candida albicans* 10231, *C. utilis* 900, *C. albicans* 90028, *C. tropicalis* 750, *C. parapsilosis* 22019, *C. krusei* 6258 suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri araştırılmıştır.

S. tchihatcheffii için antibakteriyel aktivite sonuçlarına baktığımızda; *E. coli* suşuna karşı, kloramfenikolün 2 µg/ml konsantrasyonu ile kıyaslandığında bitki ekstresinin hiçbir konsantrasyonunda mikroorganizmayı inhibe edici etki görülmemiştir. *S. aureus*

suşuna karşı, *S. tchihatcheffii*'nin etanollü ekstresinin mikroorganizmayı inhibe edici etkisinin olmadığı görülmüştür. Bitkinin hekzan ve kloroformlu ekstreleri 1000 µg/ml de etki göstermesine karşın 1 µg/mL kloramfenikol ile karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri gözlenmiştir. *P. aeruginosa* suşuna karşı, 2 µg/ml konsantrasyondaki Kloramfenikol ile karşılaştırıldığında *S. tchihatcheffii*'nin ekstrelerinin hiçbir konsantrasyon değerinde mikroorganizmayı inhibe edici etki görülmemiştir. *Salmonella typhimurium* suşuna karşı, bitkinin 500 µg/ml hekzan ve kloroformlu ekstrelerinin 1000 µg/ml etanollü ekstresine göre daha düşük dozda etki gösterdikleri buna karşın ekstrelerin 2 µg/ml Kloramfenikol ile kıyaslandığında düşük aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. *Serratia marcescens* suşuna karşı, *S. tchihatcheffii*'nin sadece 1000 µg/ml konsantrasyondaki ekstresinin etkili olduğu, diğer ekstrelerin mikroorganizmaları inhibe edici etkisinin olmadığı görülmüştür. 8 µg/ml kloramfenikole karşı bitkinin 1000 µg/ml olan ekstresi ise düşük aktiviteye sahiptir. *K. pneumoniae* suşuna karşı, 8 µg/ml kloramfenikol ile bitkinin 1000 µg/ml olan hekzanlı ekstresi kıyaslandığında düşük aktivite görülmekle birlikte diğer diğer ekstrelerin inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür.

B. larendena için antifungal aktivite sonuçlarını değerlendirdiğimizde; *E. coli* suşuna karşı, Kloramfenikolün 2 µg/ml konsantrasyonu ile kıyaslandığında *B. larendena*'nın hiçbir ekstresinde mikroorganizmayı inhibe edici etki görülmemiştir. *S. aureus* suşuna karşı, *B. larendena*'nın hekzan, kloroform ve etanollü ekstrelerinin 125 µg/ml de etki göstermesine karşın 1 µg/mL kloramfenikol ile karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri gözlenmiştir. *P. aeruginosa* suşuna karşı, 2 µg/ml konsantrasyondaki Kloramfenikol ile karşılaştırıldığında *B. larendena*'nin ekstrelerinin hiçbir konsantrasyon değerinde mikroorganizmayı inhibe edici etki görülmemiştir. *Salmonella typhimurium* suşuna karşı, *B. larendena*'nin hekzan, kloroform ve etanollü ekstrelerinin 125 µg/ml de etki göstermesine karşın 2 µg/mL kloramfenikol ile karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdikleri gözlenmiştir. *Serratia marcescens* ve *K. pneumoniae* suşlarına karşı, 8 µg/ml kloramfenikol ile *B. larendena* 'nın ekstreleri kıyaslandığında hiçbir konsantrasyondaki ekstrelerinin mikroorganizmayı inhibe edici etkisinin olmadığı görülmüştür.

Antifungal etki sonuçlarına bakıldığında, *C. albicans* 10231 suşuna karşı *S. tchihatcheffii* 'nin 125 µg/ml hekzan ve kloroform çözeltilerine karşı etanollü çözeltilisi

250 µg/ml de etki etmiş, standart Ketokonazol ile karşılaştırıldığında düşük aktivitelerinin olduğu görülmüştür. *C. utilis* suşuna karşı, en yüksek aktivitenin bitkinin 30 µg/ml kloroformlu çözeltisinde görüldüğü, 0,25 µg/ml Ketokonazol ile kıyaslandığında ise düşük aktivitesinin olduğu görülmüştür. *C. albicans* 90028 karşı, bitkinin 125 µg/ml hekzan ve kloroform çözeltilerine karşı etanollü çözeltisi 250 µg/ml 'de etki etmiş, standart Ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivitelerinin olduğu görülmüştür. *C. tropicalis* suşuna karşı, 60 µg/ml hekzan ve kloroform çözeltilerine karşı etanollü çözeltisi 125 µg/ml de etki etmiş, standart Ketokonazol ile karşılaştırıldığında düşük aktivitelerinin olduğu görülmüştür. *C. parapsilosis* suşuna karşı, en yüksek aktivitenin *S. tchihatcheffii* 'nin 30 µg/ml kloroformlu çözeltisinde görüldüğü, 0,125 µg/ml Ketokonazol ile kıyaslandığında ise düşük aktivitesinin olduğu görülmüştür. *C. krusei* suşuna karşı, en yüksek aktivitenin 60 µg/ml hekzan ve kloroform çözeltilerinde görülmesiyle birlikte Ketokonazol ile karşılaştırıldığında düşük aktivitelerinin olduğu görülmüştür.

B. larenda ekstrelerinin antifungal etkilerine bakıldığında *C. albicans* 10231 suşuna karşı, en yüksek aktivitesinin bitkinin kloroformlu ekstresinde görüldüğü, standart ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivitesinin olduğu görülmüştür. *C. utilis* suşuna karşı, en yüksek aktivitenin bitkinin kloroform ve etanollü ekstrelerinde görüldüğü, standart ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivitesinin olduğu görülmüştür. *C. albicans* 90028 suşuna karşı, en yüksek aktivitenin bitkinin 60 µg/ml kloroform ve etanollü ekstrelerinde, en düşük aktivitenin de bitkinin 250 µg/ml hekzanlı çözeltisinde görüldüğü, standart ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. *C. tropicalis* suşuna karşı, en yüksek aktivite bitkinin 30 µg/ml hekzanlı çözeltisi, en düşük 125 µg/ml etanol ve kloroformlu ekstrelerinde olup standart ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür. *C. parapsilosis* ve *C. krusei* suşlarına karşı, *B. larenda* 'nın kloroform ve etanollü ekstrelerinde, en düşük aktivite ise 125 µg/ml hekzanlı ekstrelerinde görülmüştür. Ketokonazol ile karşılaştırıldığında ise düşük aktivite gösterdikleri görülmüştür.

Yapılan araştırmalar incelendiğinde *S. tchihatcheffii* türü ile ilgili yapılan bir araştırmada bitkinin uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş, bitkinin uçucu yağının çalışılan bakteriler üzerinde düşük inhibisyonu olduğu sonucuna varılmıştır [56].

B. larenda türü ile yapılmış bir antimikrobiyal çalışmada ise bitkinin etanollü ekstresinin 4 *Listeria* suşu üzerindeki antibakteriyal etkileri incelenerek antilisteral

aktiviteleri çalışılmış ve bitkinin geniş bir inhibisyon zonunda aktivite gösterdiği bulunmuştur [57].

Geçmişten bugüne gelen süreçte bir çok patojen mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı direnç kazanmaları önemli bir konudur. Antibiyotik araştırmalarında ilk başvuru kaynakları doğal kaynaklar olarak nitelendirilen bitkilerdir [58]. Bu sebeple bitkilerin çeşitli ektrelerinin antimikrobiyal etkinliklerinin araştırılması önemlidir. Antimikrobiyal etki değerlendirmesine bitkilerin içerdikleri bileşenler önemli rol oynarken görülüyor ki kullanılan çözücüler de bir o kadar önemli etkiye sahiptir. Tez çalışması kapsamında Eskişehir’de endemik olarak yetişen ve tıbbi öneme sahip olan *S. tchihatcheffii* ile *B. larendena* türleri farmasötik botanik yönden araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen verilerin daha sonraki çalışmalar için faydalı olacağını umuyoruz.

KAYNAKÇA

- [1] Veysi, A. ve Budak, D.B. (2018). Dünya’da ve Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 33 (1), 37–44.
- [2] Davis, P.H. (Peter H., Chamberlain, D.F., ve Matthews, V.A. (1965). Flora of Turkey and the east aegean islands. *Edinburgh University Press*.
- [3] Davis, P.H. ve Hedge, I.C. (1975). The flora of Turkey: Past, present and future. *Candollea*, 30 (30), 331–351.
- [4] Selvi, E.ve Kankılıç, T. (2016). Morphometric analysis of *nannospalax leucodon* (Nordmann, 1840) with 2n=60 distributed in central Anatolia. *Communications Faculty of Science University of Ankara Series C Biology Geological Engineering and Geophysical Engineering*, 25 (1.2), 33–55.
- [5] Mamadalieva, N.Z., Akramov, D.K., Wessjohann, L.A., Hussain, H., Long, C., Tojibaev, K.S., vd. (2021). The genus *lagochilus* (Lamiaceae): A review of its diversity, ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology. *Plants*, 10 (1), 1–19.
- [6] Yilmaz, G. (2018). Some medicinal plants used as folk medicine for dermatological diseases in european Turkey. *Current Perspective on Medicinal & Aromatic Plants*, 1, 48-52
- [7] Townsend, C.C. ve Davis, P.H. (1973). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Kew Bulletin*, 28 (2), 328.
- [8] Ocak, A. (2012). Eskişehir, Afyon ve Kütahya’nın floristik çeşitliliği: *Biyolojik çeşitlilik sempozyumu bildiri kitabı*, Ankara, s.39.
- [9] Söker, A., Koyuncu, O., Yaylaci, Ö.K., Tokur, S., Osmangazi, E., Fen, Ü., vd. (2012). Eskişehir ve çevresindeki bazı tarım alanlarındaki tarla yabancı otlarının florası. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13 (1), 109–127.
- [10] Napoli, E., Siracusa, L., ve Ruberto, G. (2020). New tricks for old guys: recent developments in the chemistry, biochemistry, applications and exploitation of selected species from the Lamiaceae family. *Chemistry and Biodiversity*, 17 (3), e1900677.
- [11] Zgórk, G. ve Glowniak, K. (2001). Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26 (1), 79–87.
- [12] Savcı, A., Koçpınar, E.F., Alan, Y., ve Kürşat, M. (2020). *Nepata transcaucasica* ekstraktının HPLC ile fenolik madde içeriğinin tayini, antimikrobiyal, antioksidan ve dna koruyucu aktivitelerinin belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (2), 797–803.
- [13] Topçu, G. ve Gören, A.C. (2007). Biological activity of diterpenoids isolated from anatolian lamiaceae plants. *Records of natural Products*, 1(1), 16.
- [14] Townsend, C.C. ve Davis, P.H. (1973). Flora of Turkey and the east aegean islands. *Kew Bulletin*, 28 (2), 328.
- [15] Li, B., Cantino, P.D., Olmstead, R.G., Bramley, G.L.C., Xiang, C.L., Ma, Z.H., vd. (2016). A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Scientific Reports*, 6, 18.
- [16] Theodoridis, S., Stefanaki, A., Tezcan, M., Aki, C., Kokkini, S., ve Vlachonasios, K.E. (2012). DNA barcoding in native plants of the Labiatae (Lamiaceae) family from Chios Island (Greece) and the adjacent Çeşme-Karaburun Peninsula (Turkey). *Molecular Ecology Resources*, 12 (4), 620–633.

- [17] Scheen, A.C., Bendiksby, M., Ryding, O., Mathiesen, C., Albert, V.A., ve Lindqvist, C. (2010). Molecular phylogenetics, character evolution, and suprageneric classification of Lamioideae (Lamiaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 97 (2), 191–217.
- [18] Y.Z.K. ve . S.K. (2001) Essential oils of Lamiaceae family from south east mediterranean region (Turkey). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 4 (10), 1221–1223.
- [19] Yaniv, Z., Dafni, A., ve Palevitch, D. (1982). Labiatae as medicinal plants in Israel. *Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects*, 7, 265–269.
- [20] Bendiksby, M., Thorbek, L., Scheen, A.C., Lindqvist, C., ve Ryding, O. (2011). An updated phylogeny and classification of Lamiaceae subfamily Lamioideae. *Taxon*, 60 (2), 471–484.
- [21] Bonesi, M., Loizzo, M.R., Acquaviva, R., Malfa, G.A., Aiello, F., ve Tundis, R. (2017). Anti-inflammatory and antioxidant agents from salvia genus (Lamiaceae): An Assessment of the Current State of Knowledge. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 16 (2), 70-86.
- [22] Yazgan, A.N., Yilmaz, G., ve Sever Yilmaz, B. (2010). *Ballota acetabulosa* (L.) Benth. bitkisi üzerinde anatomik çalışmalar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 39 (4), 265–274.
- [23] Doğan, H.H. ve Duman, R. (2019). Evaluation of the antiviral activity of *Ballota glandulosissima* subsp. nov. & *patzak* extracts against respiratory syncytial virus (RSV). *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 20 (2), 121–127.
- [24] Greuter, W. ve Raus, T. (1998). Med-Checklist Notulae, 17. *Willdenowia*, 28 (1–2), 163–174.
- [25] Saltan, G. (2002). *Ballota glandulosissima* subsp. nov. & *patzak* ve *Ballota inaequidens* subsp. nov. & *patzak*'in diterpen ve flavonoid içeriklerinin YBSK ile karşılaştırılması. Ankara: Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi Kesin Raporu.
- [26] Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., ve Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4 (2), 82–88.
- [27] American Botanical Council (2000). Expanded Commission E Monographs. Integrative Medicine Communications.
- [28] Çitoğlu, G.S., Sever, B., Antus, S., Baitz-Gács, E., ve Altanlar, N. (2003) Antifungal flavonoids from *Ballota glandulosissima*. *Pharmaceutical Biology*, 41 (7), 483–486.
- [29] Wu, Y.B., Ni, Z.Y., Shi, Q.W., Dong, M., Kiyota, H., Gu, Y.C., vd. (2012). Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical Reviews*, 112 (11), 5967–6026.
- [30] Kahraman, A., Celep, F., ve Dogan, M. (2010). Anatomy, trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 76 (2), 187–195.
- [31] Topçu, G., Güngördü, H.İ., ve Kuşman, T. (2012). Terpenoidlerin *Salvia Kronenburgii* Bitkisinden İzolasyonu, Antioksidan Ve Antikolinesteraz Potansiyelinin Araştırılması. *Ulusal kimya kongresi*, Muğla, 179-180
- [32] El-feky, A., Aboulthana. W. (2016). Phytochemical and Biochemical Studies of

Sage. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*. 4(5):56.

- [33] Baytop, T. (2021). *Türkiyede bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün*. (3). Ankara: Ankara nobel tıp kitapçıları.
- [34] Hochmuth, D. H. (2008). MassFinder 4.0, Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg, Germany.
- [35] McLafferty, F.W. ve Stauffer, D.B. (1989). The wiley/nbs registry of mass spectral data, New York: J Wiley and Sons.
- [36] Singleton, V.L., Orthofer, R., ve Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 152–178.
- [37] Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., ve Sarker, S.D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytotherapy Research*, 21 (7), 615–621.
- [38] Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M., vd. (2006). Inhibitory activity on amyloid- β aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (23), 8762–8768.
- [39] Aktas, K., Oezdemir, C., Oezkan, M., Akyol, Y., ve Baran, P. (2009). Morphological and anatomical characteristics of *Salvia tchihatcheffii* endemic to Turkey.
- [40] Will, M., Bockhoff, R. (2017). Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae) – New insights from Old World *Salvia* phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109, 33-58.
- [41] Sözen, E. ve Yücel, E. (2015). Determination of genetic relationships between some endemic *Salvia* species using RAPD markers. *Biological diversity and conservation*, 8, 248-253.
- [42] Özkan, M. (2006). Karyotype analysis on two endemic *Salvia* L. (Lamiaceae) species in Turkey. *International journal of botany*, 2(3), 333-335.
- [43] Başer, K., (2002). Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry*, 74 (4), 527-545.
- [44] Azcan, N., Ertan A., Demirci B., Baser, K., (2004). Fatty acid composition of seed oils of twelve *Salvia* species growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (3), 218-221.
- [45] Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S., Ahmad, A., Santha Kumar, T.R., Gupta, V.K., ve Kumar, S. (2002). Enantiomeric distribution of some monoterpenes in the essential oils of some *Salvia* species. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (1), 54–58.
- [46] Uygun, M., Uygun, D., Aktaş, K., Özdemir, C., Özkan, M., Karagözler, A. (2012). Antioxidant activity of *Salvia tchihatcheffii* leaf extracts. *Ege uni. j. Of faculty of sci.*, 36 (1/2), 18-33.
- [47] Topçu, G., Kartal, M. ve Ulubelen, A. (1997). Terpenoids from *Salvia tchihatcheffii*. *Phytochemistry*, 44(7), 1393-1395.
- [48] Arıdur, R. ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *SAU J. Sci.*, 17 (2), 241–246.
- [49] Orhan, I. E., Yılmaz, B. S., Altun, M. L., Saltan, G. (2010). Radical quenching activity, ferric- reducing antioxidant power, and ferrous ion-chelating capacity of

- 16 Ballota species and their total phenol and flavonoid contents. *Journal of medicinal food*, 13(6), 1537-1543.
- [50] Hennebelle, T., Sahpaz, S., Ezer, N., Bailleul, F. (2008). Polyphenols from *Ballota larendera* and *Ballota pseudodictamnus*. *Biochemical systematics and ecology*, 36, 441-443.
- [51] Rosselli, S., Fontana, G. ve Bruno, M. (2019). A review of the phytochemistry, traditional uses, and biological activities of the genus *Ballota* and *Otosegia*. *Planta medica*, 85(11), 869-910.
- [52] Vural, K., Nurten, E., Erol, K., Şahin, P. (1996). Anxiolytic and antidepressant activities of some *Ballota* species. *J. Fac. Pharm. Gazi*, 13(1), 29-32.
- [53] Atak, E. ve Uslu M. E. (2018). Fenolik bileşikler, ekstraksiyon metotları ve analiz yöntemleri. *M C B Ü Soma meslek yüksekokulu teknik bilimler dergisi*, 3(27), 39-48.
- [54] Kaya, B. (2020). *Alchemilla persica*'nın farklı polaritelerdeki ekstraktlarının antitoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk doğa ve fen dergisi*, 2(9), 157-169.
- [55] Açar, D. (2016). *Sideritis hispidula* P. H. Davis bitkisinin fitokimyasal analizleri. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi. Balıkesir: Balıkesir üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü
- [56] Altundağ, Ş. (2007). *Labiatae familyasına ait bazı endemik türlerin önemli bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması*. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi. Ankara: Gazi üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü.
- [57] Yılmaz, B., Altanlar, N. ve Çitoğlu, G. (2005). Antilisterial activity of *Ballota* species growing in Turkey. *J. Fac. Pharm*, 34(3), 155-164.
- [58] Tan, N., Mat, A., Tan, E., Şatana, D., Uruşak, E.A., Yeşil, Y., vd. (2017). Anadolu'da yetişen *salvia* türlerinin antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilmesi.

