

***NEPETA BETONICIFOLIA* C. A. MEYER VE *SALVIA*
LIMBATA C. A. MEYER BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞ
BİLEŞİMİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

İbrahim AFANDIYEV

Eskişehir 2023

NEPETA BETONICIFOLIA C. A. MEYER VE *SALVIA LIMBATA* C. A. MEYER

**BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞ BİLEŞİMİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

İbrahim AFANDİYEV

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Temmuz 2023**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İbrahim AFANDIYEV'in "*Nepeta betonicifolia* C. A. Meyer ve *Salvia limbata* C. A. Meyer Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşimi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 28/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Mine KÜRKCÜOĞLU
Üye	: Prof. Dr. Gökalp İŞCAN
Üye	: Doç. Dr. Fatih GÖGER

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

NEPETA BETONICIFOLIA C. A. MEYER VE SALVIA LIMBATA C. A. MEYER BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞ BİLEŞİMİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

İbrahim AFANDIYEV

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2023

Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU

Nepeta betonicifolia ve *Salvia limbata* Azerbaycan'da yetişen, *Lamiaceae* familyasının büyük öneme sahip türleridir. *Nepeta* çoğunlukla kurak koşullarda Avrasya, Kuzey Afrika ve özellikle Akdeniz'in etrafındaki ülkelerde, Azerbaycan'da özellikle Nahçıvan, Talış, Şuşa, Hınalıq, Tufandağ, Oğuz, Bozdağ, Altağa'da; *Salvia* ise Azerbaycan'da Nahçıvan, Göyçay, İsmayılı şehirlerinde, taşlık güney yamaçlarda ve çalılıklarda yetişmektedir. *Nepeta* türleri Azerbaycan'da gıda, vitamin, ilaç (derman) olarak, uçucu yağ eldesinde, baharat olarak ve dekoratif amaçlı; *Salvia* türleri vitamin, ilaç olarak, dekoratif amaçlı ve yem bitkisi olarak kullanılmaktadır. Vücuttaki zararlı toksinlerin atılmasına yardım etmekte, bronşit ve astım semptomlarını ortadan kaldırmaktadır. Karaciğeri temizlemekte, idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisine yardım etmekte, fazla terlemeyi, stresi, kan şekerini azaltmakta ve sakinleştirici olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda boğaz ağrısını azaltmakta, saçların beyazlamasını yavaşlatmakta, zihni güçlendirmekte, diş ağrılarında ve ağız yaralarını tedavi etmek için kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında Azerbaycan'dan toplanan, toplandığı ülkede üzerinde çalışmaya rastlanmamış olan *Nepeta betonicifolia* ve *Salvia limbata* bitkilerinin uçucu yağ ve hidrolat bileşimleri Gaz Kromatografisi - Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi ile belirlenmiş, biyolojik aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmış ve bu konuda araştırmalar-çalışmalar yapılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Nepeta betonicifolia*, *Salvia limbata*, Uçucu yağ, Hidrolat, Biyolojik aktivite

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS FROM *NEPETA BETONICIFOLIA* C. A. MEYER AND *SALVIA LIMBATA* C. A. MEYER

İbrahim AFANDIYEV

Department of Pharmacognosy
Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, July 2023

Supervisor: Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU

Nepeta betonicifolia and *Salvia limbata* are species of Lamiaceae family with great characteristics growing in Azerbaijan. *Nepeta* drought sources are in Eurasia, North Africa and especially in the surrounding of the Mediterranean, in Azerbaijan, especially in Nakhchivan, Talysh, Shusha, Hinalıq, Tufandağ, Oğuz, Bozdağ, Altıağa; *Salvia* grows in Nakhchivan, Goycay, Ismayilli community, stony south slopes and bushes in Azerbaijan. *Nepeta* species are used as food, vitamins, medicine (cure) in Azerbaijan, for oil use, as spice and for decorative purposes; *Salvia* species are used as a vitamin, medicine, decorative and fodder plant. It helps to remove harmful toxins in the body, eliminates bronchitis and asthma hair. It is used to clean the device, aid in the treatment of evacuation benefits, reduce excessive sweating, stress, blood sugar, and as a sedative. It is also used to relieve sore throat, slow down the graying of hair, calm the mind, treat toothaches and mouth sores.

The aim of this thesis study was to investigate the biological development of *Nepeta betonicifolia* and *Salvia limbata* plants, which have not been studied in the country where it was collected, determined by Gas Chromatography - Gas Chromatography / Mass Spectrometry, which they bring with the oils and hydrolates, and the studies and research on this subject have been carried out.

Keywords: *Nepeta betonicifolia*, *Salvia limbata*, Essential oil, Hydrolate, Biological activity

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında ve her durumda bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübesiyle hem akademik hem psikolojik desteğini esirgemeyen ve bu zorlu süreçte hoşgörüsünü esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na,

Biyolojik aktivite çalışmalarını yönetip yürüten, çalışmalar sırasında beni yalnız bırakmayan Prof. Dr. Gökâlîp İŞCAN hocama,

Bitkilerin toplanmasında, teşhisinde ve kurutulmasında, bitkiler hakkında olan bilgilerin toplanmasında bana yardımcı olan Prof. İsayev Cavanşir İsa oğlu hocama,

Azerbaycan kaynaklı kitapların ve bilgilerin bulunmasında yardımcı olan Phd. Senior lecturer Şükürova Aytən Sadiq qızı hocama,

Bitkilerin teşhis edilmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE hocama, Clevenger ve diğer çalışmalarında yardımcı olan Araştırma Görevlisi Burak TEMİZ hocama,

Bana her zaman her konuda destek olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

28/07/2023

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 ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu 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.

.....

(İmza)

İbrahim AFANİYEV

(Adı-Soyadı)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GÖRSELLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri.....	3
2.2. <i>Nepeta</i> L. Cinsi.....	3
2.2.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> C. E. Meyer	4
2.2.2. <i>Nepeta betonicifolia</i> C. E. Meyer Türüne Ait Fitokimyasal Çalışmalar.....	5
2.2.3. <i>Nepeta betonicifolia</i> C. E. Meyer Türünün Halk Arasında Kullanımı.....	7
2.2.4. <i>Nepeta betonicifolia</i> C. E. Meyer'in Biyolojik Aktiviteleri.....	7
2.3. <i>Salvia</i> L. Cinsi.....	7
2.3.1. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer	8

2.3.2. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer Türüne Ait Fitokimyasal Çalışmalar.....	10
2.3.3. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer Türünün Halk Arasında Kullanımı...	11
2.3.4. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer'in Biyolojik Aktiviteleri.....	12
2.4. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	12
2.4.1. Distilasyon yöntemleri	12
2.4.1.1. <i>Su distilasyonu yöntemi</i>	13
2.5. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon	
Solid Phase Micro Extraction (SPME).....	13
2.5.1. Daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon (D-SPME)	
Immersion-Solid Phase Micro Extraction (Im-SPME)	13
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	15
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Kimyasal Maddeler ...	15
3.1.1. Bitkisel Materyal	15
3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Standart Maddeler	17
3.3. Kullanılan Cihaz ve Apareyler	17
3.4. Deneysel Çalışmalar ve Yöntemler	18
3.4.1. Uçucu yağ miktar tayini	18
3.4.2. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME)	19
3.4.2.1. <i>Daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon (Im-SPME)</i>	19
3.4.3. Gaz kromatografisi (GK) ve Gaz kromatografisi/ Kütle spektrometrisi (GK/KS) ile uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlenmesi	19
3.4.3.1. <i>GK/KS analiz koşulları</i>	19
3.4.3.2. <i>GK/ analiz koşulları</i>	20

3.4.4. <i>Nepeta betonicifolia</i> ve <i>Salvia limbata</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	21
3.4.4.1. Antioksidan aktivite.....	21
3.4.4.1.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) serbest radikal süpürücü etki	21
3.4.4.2. Antibakteriyel ve Antikandidal Aktivite.....	21
3.4.4.2.1. Antibakteriyel ve Antikandidal Aktivite Deneylerinde Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması.....	21
3.4.4.2.2. Antibakteriyel aktivite.....	22
3.4.4.2.3. Antikandidal aktivite	23
4. BULGULAR VE YORUM ..	24
4.1. Uçucu Yağların Miktar Tayini	24
4.2. Uçucu Yağların Bileşimi	25
4.3. Hidrolatların Bileşimi	29
4.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	31
4.4.1. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	31
4.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	35
4.4.2.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	35
4.4.2.2. Antikandidal Aktivite Sonuçları.....	36
5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	37
5.1. Uçucu Yağlar.....	37
5.2. Hidrolatlar	41
5.3 Biyolojik Aktivite	41
5.3.1. Antioksidan Aktivite.....	41
5.3.2. Antikandidal ve Antibakteriyel Aktivite.....	41
KAYNAKÇA.....	44
ÖZGEÇMİŞ	50

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> ile yapılmış çalışmalar.....	7
Tablo 2.2. <i>Salvia limbata</i> ile yapılmış çalışmalar.....	10
Tablo 3.1. Deneylelerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler.....	17
Tablo 3.2. Deneylelerde kullanılan cihaz/aparey ve markaları	17
Tablo 4.1. Bitkisel materyaller	24
Tablo 4.2. <i>Nepeta betonicifolia</i> uçucu yağ bileşimi	25
Tablo 4.3. <i>Salvia limbata</i> uçucu yağ bileşimi	27
Tablo 4.4. <i>Nepeta betonicifolia</i> hidrolatının bileşimi	30
Tablo 4.5. <i>Salvia limbata</i> hidrolatının bileşimi	31
Tablo 4.6. Uçucu yağların DPPH radikal süpürücü aktiviteleri	34
Tablo 4.7. <i>Salvia limbata</i> (A) ve <i>Nepeta betonicifolia</i> (B) yağ uçucu yağlarının antibakteriyal aktivite sonuçları (MİK, µg/mL)	35
Tablo 4.8. <i>Salvia limbata</i> (A) ve <i>Nepeta betonicifolia</i> (B) yağ uçucu yağlarının antikandidal aktivite sonuçları	36
Tablo 5.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> ile yapılmış çalışmaları ile tez verisinin karşılaştırması.....	38
Tablo 5.2. <i>Salvia limbata</i> ile yapılmış çalışmaları ile tez verisinin karşılaştırması....	40
Table 5.3. <i>N. betonicifolia</i> ve <i>S. limbata</i> uçucu yağlarında bulunan ana bileşiklerin biyolojik aktiviteleri	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. KFME Enjektörü	14
Şekil 2.2. D-KFME örnekleme çalışması	14
Şekil 4.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> uçucu yağının ana bileşikleri.....	27
Şekil 4.2. <i>Salvia limbata</i> uçucu yağının ana bileşikleri	29
Şekil 4.3. Uçucu yağlara ait DPPH• serbest radikal süpürücü aktivite sonuçları	34
Şekil 4.4. <i>Salvia limbata</i> (A) ve <i>Nepeta betonicifolia</i> (B) uçucu yağlarının antibakteriyal aktivite çalışması	35
Şekil 4.5. <i>Salvia limbata</i> (A) ve <i>Nepeta betonicifolia</i> (B) yağ uçucu yağlarının antikandidal aktivite çalışması	36

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> C.E. Meyer'in Azerbaycan'daki yayılışı	4
Görsel 2.2. <i>Nepeta betonicifolia</i> C.E. Meyer	5
Görsel 2.3. <i>Salvia limbata</i> C.E. Meyer'in Azerbaycan'daki yayılışı	9
Görsel 2.4. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer	9
Görsel 3.1. <i>Nepeta betonicifolia</i> C. E. Meyer'in herbaryum örneği.....	16
Görsel 3.2. <i>Salvia limbata</i> C. E. Meyer'in herbaryum örneği	16
Görsel 3.3. Clevenger Apareyi	18
Görsel 3.4. D-KFME işlemi	19
Görsel 4.1. Clevenger Apareyinde elde edilen uçucu yağlar	24

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
GK	: Gaz kromatografisi
GK/KS	: Gaz kromatografisi/ Kütle spektrometrisi
KFME	: Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
D-KFME	: Daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon (Immersion-SPME/Im-SPME)
HS-SPME	: Headspace-Solid Phase Microextraction
Im-SPME	: Immersion-Solid Phase Microextraction
IC ₅₀	: Maksimum İnhibisyonun %50'sini Oluşturan Madde Konsantrasyonu
MİK	: Minimum inhibitor konsantrasyonu
SPME	: Solid Phase Microextraction
TB-KFME	: Tepeboşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon

1. GİRİŞ

Tabipler ve halk hekimleri birçok insan ve hayvan hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek amacıyla bitkileri kullanmışlardır. Dünya üzerinde 2000 den fazla ilaç bitkisi türü vardır. Arap, Çin, Hind, Tibet, İran halk tebabetinde ve klasik tıpta ilaç bitkileriyle tedaviye özel bir yer verilmektedir. İlaç bitkilerinin tedavi özellikleri onların içerdiği biyolojik aktif özellikteki maddelere (alkoloid, kumarin, ksanten, glikozid, flavanoid, vitamin) dayanmaktadır. Bu biyolojik aktif maddeler insan ve hayvan organizmasının fizyolojik proseslerine etki ederek, birçok hastalığın önlenmesine yardımcı olmaktadır. İlaç bitkilerinin tomurcuk, ağaç ve çalılarının kabukları, ot bitkilerinin toprak üstü-herba ve kök kısımları kullanılmaktadır.

Bitkisel materyallerden biyolojik aktif maddelerin izole edilmesi ve bu aktif maddelerin ilaç hammaddesi olarak kullanılabilmesi eczacılık biliminin karşısında duran problemlerden biridir. Dünya Sağlık Teşkilatının verdiği bilgilere göre, tıp alanında hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan ilaçların % 40'dan fazlası bitkisel kökenlidir (Aliyeva, 2017).

Azerbaycan'da sağlık sektörünün pahalı ve bazı yerlerde ulaşımın zor olması, aynı zamanda sentetik ilaçların toksik etkileri insanların doğal yollara yönelmesini arttırmıştır. Azerbaycan 4500'den fazla bitki türü ile Güney Kafkasyanın en zengin ülkesidir. Kafkasyadaki türlerin % 66'sı burada görülmektedir. Son yıllarda özellikle tıbbi ve aromatik bitkilere talep artmıştır. Dolayısıyla, geniş bir kullanıma sahip bu alanda yeni araştırmalar yapmak önemlidir. Tıbbi ve aromatik bitkilerle zengin *Lamiaceae* familyasının da bu alanda önemli bir rolü vardır. Dünyanın birçok yerinde yayılım gösteren *Lamiaceae* familyası bitkileri otsu veya çalimsı, bir veya çok yıllık bitkilerdir (Aliyeva, 2017).

Salvia cinsi Azerbaycan Florasında 27 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerin Tıp alanında kullanımı için yapılan farmakognozik çalışmalar güncel ve umut vericidir. Azerbaycan'da tıp alanında yaygın olarak kullanılan *Salvia officinalis* L.'in bitki depolarında hammadde rezervleri yoktur. Tedavide kullanılmak üzere *S. officinalis* yurt dışından ithal edilmektedir. Bu bakımdan Azerbaycan florasında geniş temsili olan *Salvia* cinsine dahil olan türlerin halk arasında kullanımı yaygındır. *Salvia officinalis*'in Azerbaycan'a yurt dışından getirilmesi, ülkemizde yetişen diğer 11 türün farmakognostik ve farmokolojik bakımdan yeterince kullanılmaması, aynı zamanda

geliştirilmiş ilaç türlerinin olmaması, bu cinse dahil olan diğer türlerin kullanılmasını güncel hale getirmektedir.

Bu çalışmada, ilk kez Azerbaycan'da yetişen Lamiaceae familyasına ait *Nepeta betonicifolia* C. A. Mey., *Salvia limbata* C. A. Mey. bitkilerinin uçucu yağları su distilasyonu yöntemi ile Clevenger apareyinde elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların bileşimi Gaz Kromatografisi ve Gaz Kromatografisi/Kütle spektrometrisi (GC-GC/MS) yöntemleri ile belirlenmiştir. Aynı zamanda elde edilen uçucu yağların antioksidan, antimikrobiyal ve antikandidal aktivitelerine bakılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Genel Özellikleri

Lamiaceae familyası dünyada yaklaşık 245 cins ve 7886 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye'nin büyük familyalarından üçüncüsü olan Lamiaceae 46 cins ve 782 taksonu içermektedir. Endemizm oranı yaklaşık %44'dür. Familyanın botanik özellikleri Flora ve pek çok yayında yer almaktadır (Davis, 1982; Başer vd., 1993; Tanker vd. 2004; Koyuncu vd., 2010; Celep ve Dirmenci, 2017; Başer ve Kırimer, 2018; Çetin, 2019; Yıldız, 2020).

2.2. *Nepeta* L. Cinsi

Nepeta Nepetoideae ve Mentheae alt ailesine ait olup *Lamiaceae* ailesinin en büyük cinslerindedir. *Nepeta* türlerinin en yaygın olduğu yerler İran, Türkiye ve Hindikuş dağlarıdır (Hedge ve Lamond, 1982; Kalender, 2020; Süntar ve ark., 2018; Celenk ve ark., 2008; Dirmenci, 2005; Dirmenci, 2012; Formisano vd., 2011).

Türkiye Florasında Azerbaycan'daki Talış dağında *N. betonicifolia*'nın yetiştiği konusunda bilgi de yer almaktadır (Hedge ve Lamond, 1982).

Nepeta dünyada 250-300, "Azerbaycan Florası"(1957)'n da ülkede 26 tür ve 30 taksa ile familyanın en geniş cinslerindedir. Araştırmalara göre günümüzde Azerbaycan 'da bu türlerden 23 tanesi bulunmaktadır. Ancak onlardan bazıları alt tür olarak düşünülebilmektedir. *Nepeta* çoğunlukla kurak koşullarda Avrasya, Kuzey Afrika ve özellikle Aralık denizi etrafı ülkelerde yayılım göstermiştir. Ailenin polimorf cinslerindedir. Cinsin Kafkasya ve aynı zamanda Azerbaycan türlerinin sistematigi ile farklı zamanlarda bazı botanikçiler meşgul olsalar da, yeniden çalışılmasına, araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle *N. betonicifolia*, *N. supina*, *N. tenciifolia* gibi türlerinin yayılışı ve taksonları hakkındaki fikirler farklılık göstermektedir (Askerov, 2016; Karyagin, 1957b; Salimov vd., 2018)

Azerbaycan'da yetişen türler araştırılırken Menitski'nin (1992) Kafkasya'nın Dudakçiçekleri konusundaki ve S. Çerepanov'un (1995) kitapları, literatürleri dikkate alınmıştır. Her iki yazar *N. sosnovskiyi* Askerova, *N. grossbeimii* Pojark türlerini ve Y. Menitski de *N. longitubam* türünü sinonim olarak kayda geçirmiştir (Askerov, 2016).

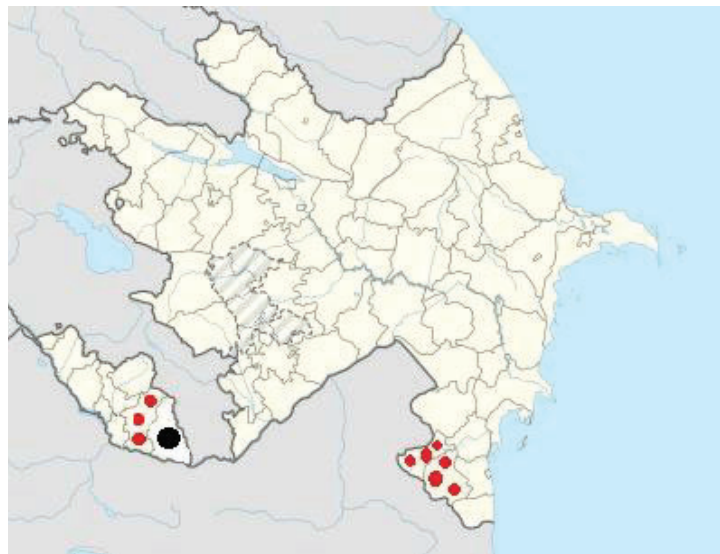
Kedinanesi cinsinden bir çok tür Azerbaycan'da (özellikle Nahçıvan, Talış,

Şuşa, Hınalıq, Tufandağ, Oğuz, Bozdağ, Altıağaç'dan) toplanmış ve teşhis edilmiştir. Bu türlerin çoğu endemiktir ve ülke için değer taşımaktadır. *Nepeta* türleri Azerbaycan'ın bir çok şehrinde, Aran bölgesinden Alp kuşağına kadar, taşlı yerlerden kaya çatlaklarına ve döküntülerin arasında, orman ve çalılıklarda, dağ çimenlerinde, bağ ve bostanlarda yaygın olarak yetişmektedir (Askerov, 2016).

2.2.1. *Nepeta betonicifolia* C. E. Meyer

Çok yıllık gri tüylü bitkidir. Sapı düz, basit, çok yapraklı, çok kıvrıkcık tüylü, gri renkli, 20-30 cm yüksekliyindedir. Yapraklar uzun yumurta şeklinde, yuvarlak tepe veya sivri uçlu, tabanı kordat, kenar dişli veya tırtıklı, alt yapraklar kısa saplı, üst yapraklar sapsızdır. Çiçekler yalancı vertisillat durumunda, sıkı ve üstde toplanmıştır. Kaliks 8-9 mm uzunlukta, tüpsü, biraz kıvrık, çok tüylü, dişleri aynı, lansetolat, sivri uçlu, mor renkli, tüpten 3-3.5 kat daha kısadır. Korolla 15(20)mm uzunlukta, dışdan kısa tüylü, tüpsü, 1/3 kat kaliksten uzun, tepede genişlemektedir. Olgun tohumlar görülmemiştir. Kavkaz, Azerbaycanda yayılış göstermektedir (Karyagin, 1957b).

Nepeta betonicifolia Azerbaycan'da çalılar arasında, orman açıklıklarında, subalpin ve alpin çimen ekosistemin içerisinde yayılış göstermektedir. Yüksek dağlık arazilerde, özellikle de Batabat, Salvartı ve Kükü dağ silsilesinde bazı *Nepeta* taksonları bulunmaktadır (Mammadova ve Mammadov, 2014).



Görsel 2.1. *Nepeta betonicifolia* C.E. Meyer'in Azerbaycan'daki yayılışı



Görsel 2.2. *Nepeta betonicifolia* C.E. Meyer

Foto: Prof. Cavanşir İsayev

2.2.2. *Nepeta betonicifolia* C. E. Meyer Türüne Ait Fitokimyasal Çalışmalar

Nepeta cinsi üzerinde yapılan biyolojik ve farmakolojik çalışmalar, antifungal, antibakterial, böcek kovucu, insektisit, larvisidal, sitotoksik, antimelanogenez, genotoksik, antioksidan, antikonvülsan, analjezik, kas gevşetici ve antiinflamatuvar gibi pek çok aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir (Akdeniz vd.,2020).

Başer vd. (2001) Sivas: Taşlıdere, Türkiye’den 19997 yılında topladıkları *N. betonicifolia*’nın herba uçucu yağının analizinde ana bileşik olarak karyofillen oksit % 39.2, spatulenol % 9.7, karyofillenol % 5.1, humulen epoksit -II % 54.7 ve isokaryofillen oksit % 4.3 olarak bulmuşlardır(Başer vd., 2001).

Senatore ve Özcan (2003) İçel, Türkiye’den topladıkları *N. betonicifolia*’nın toprak üstü kısımlarından elde ettikleri uçucu yağın analizinde linalol % 40.5, 1,8-sineol % 20.8 ve karyofillen oksit % 9.2’i ana bileşik olarak bulmuşlardır (Senatore ve Özcan, 2003).

Nepeta betonicifolia CA Meyer ve *Nepeta saccharata* Bunge'nin farklı özlerinin uçucu yağ bileşimi ve antioksidan aktivitesi

Salehi vd. (2012) 2008 yılında İran, batı Azerbaycan’dan topladıkları *N. betonicifolia*’nın herbasından %0.1 verimle uçucu yağ elde etmişlerdir. Yağın GK-GK/KS analizinde ana bileşik olarak 4 α ,7 β ,7 α -nepetalakton (%42.0), germakren D (%6.0), triplal (%5.2), 1-nor-borbonanon (4.0%) ve 1,8-sineole (%3.2) bulmuşlardır (Salehi vd., 2012).

Sharma ve Cannoo (2013) yapmış oldukları derlemede *N. betonicifolia*'nın 4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone, karyofillen oksit ve linalol içeriğinden bahsetmişlerdir (Sharma ve Cannoo, 2013).

N. betonicifolia'nın yağ asit kompozisyonu belirlenmiş ve palmitik asit (% 46.89), linoleik asit (% 11.26), stearik asit (% 28.43), linolenik asit (% 7.28) bulunmuştur (Kılıç, 2018).

Hussain vd. (2016) *Nepeta* türlerini nepetalakton içerenler ve nepetalakton içermeyenler olarak iki gruba ayırmıştır.

4 α , 7 α , 7 α -nepetalakton'nun bulunduğu türler; *N. govaniana*, *N. cadmea*, *N. cephalotes*, *N. racemosa*, *N. binaludensis* ve *N. sulforiflora* olarak bildirilmiştir. Ayrıca *N. nuda* subsp. *albiflora*, *N. rtanjensis*, *N. asterotrichus* ve *N. sintenisii*'de de 4 α , 7 α , 7 α -nepetalakton bulunduğu ifade edilmiştir. *N. heliotropifolia*'da ana bileşik 1,8-sineol bulunmuştur. Ana bileşiği karyofillen oksit olan türler ise *N. cilicia*, *N. betonicifolia* ve *N. nuda* ssp. *nuda*'dır. Aynı zaman da *N. fissa*'da karyofillen oksit ve *N. glomerulosa*'da α -pinen bulunmaktadır (Hussain vd., 2016).

Tablo 2.1. *Nepeta betonicifolia* ile yapılmış çalışmalar

<i>Nepeta betonicifolia</i> Lokalite	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Ana Bileşikler %	Kaynaklar
Sivas: Taşlıdere, Türkiye	Herba	karyofillen oksit (%39.2), spatulenol (% 9.7), karyofillenol (%5.1), humulen epoksit -II (%54.7) ve isokaryofillen oksit (%4.3)	Başer vd., 2001
Sivas: Zara, Türkiye	-	1,8-sineole (%13.7), nepetalakton (%12.2), α -kubeben (%7.5), β -pinen (%5.8) ve karyofillen oksit (%5.6),	Kılıç, 2018
İçel, Türkiye	Herba	linalol (%40.5), 1,8-sineol (%20.8) ve karyofillen oksit (%9.2)	Senatore ve Özcan, 2003
İran, Batı Azerbaycan	Herba	4 α ,7 β ,7 α -nepetalakton (%42.0), germakren D (%6.0),	Salehi vd., 2012

		triplal (%5.2), 1-nor- borbonanon (4.0%) ve 1,8- sineole (%3.2)	
--	--	---	--

2.2.3. *Nepeta betonicifolia* C. E. Meyer Türünün Halk Arasında Kullanımı

Lamiaceae familyasına ait türlerin birçok biyolojik etkileri vardır. Örneğin; *Thyumus vulgaris* (Kekik) mide rahatsızlığında, kuru öksürükde, *Lavandula officinalis* (Lavanda) kozmetikde, *Rosmarinus officinalis* (Biberiye) romatizmada, *Mentha piperita* (Nane) mide antispazmodiği ve iyi bir boğaz antiseptiğidir (Kalender, 2020; Tanker vd., 2004).

Aromatik bitki türleri uçucu yağ içerdikleri için çeşitli yiyecek ve içecek, kozmetik ürünlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Azerbaycan'da Kedinanesi türleri ilaç, uçucu yağ, gıda, vitamin, baharat, dekoratif amaçlı kullanılmaktadır (Askerov, 2016).

Nepeta betonicifolia'nın kanserlere, öksürüğe, romatizmaya ve yara iyileşmesine karşı kullanıldığı belirtilmiştir (Süntar vd., 2018; Mükemre vd., 2015; Kalender, 2020).

2.2.4. *Nepeta betonicifolia* C. E. Meyer'in Biyolojik Aktiviteleri

Salehi vd. (2012) İran, batı Azerbaycan'dan topladıkları *N. betonicifolia*'nın toprak üstü kısımlarının metanol, kloroform, bütanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerine bakmışlardır. Bütanol alt fraksiyonun aktivitesini diğer ekstraktlardan daha yüksek bulmuşlardır (Salehi vd., 2012). Ayrıca Savcı vd. (2020), Tekin vd. (2018) ve Yılmaz vd. (2012) aktivite çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmalar sonuç ve tartışma kısmında verilmiştir.

2.3. *Salvia* L. Cinsi

Lamiaceae familyasının en önemli türlerinden biri *Salvia* cinsidir. Dünyada 900, Azerbaycan'da 33, Türkiye'de ise 97 tür, 4 alttür ve 8 varyetesi bulunmaktadır. Türkiye'de ki türlerin 51 tanesi endemiktir (Hedge, 1982; İpek ve Gürbüz, 2010, Celep ve Kahraman, 2012).

Salvia'nın dünyada yetişen 700 den fazla türü vardır. "Azerbaycan florası" eserinde 33 tür kayıtlıdır. Kitabın ilave bölümünde R. Rzazade 2 tür daha tanımlamıştır. Daha sonra cinsin türlerinin yayılma ve statüsünde değişiklikler olmuştur.

Azerbaycan'da kaydedilen birkaç tür bilime önceden blinen türlerin sinonimi olarak kaydedilmiştir. Bu türler; *S. alexandri* Pobed., *S. nacbiczewanica* Pobed., *S. karabacbensis* Pobed., *S. prilipkoana* Grossh., *S. fominii* Grossh. dir (Askerov, 2016).

Y. Menitski birkaç türü (*S. armeniaca*, *S. amasiaca*, *S. tesguicola*) alt tür olarak kabul etse de, kaynaklarda tür olarak verilmektedir.

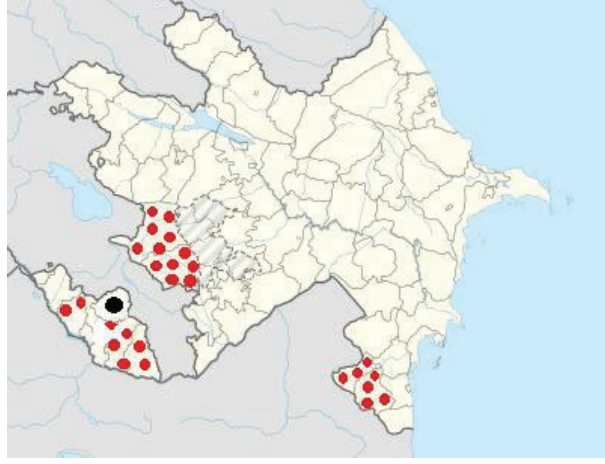
Daha sonra A. Grossheymin Kafkasya Florası eserinde *Salvia* türlerine bazı yeni ilaveler yapmıştır. 1961 yılında bulunup teşhisi yapılan *S. transcaucasia* türünün Nahçıvan'da, Alp dağlarının yüksek bölgelerinde (subalp çemenlerinde) bulunduğu, *S. alexeecoii* türüne Göyçay, İsmayılı şehirlerinde, taşlık güney yamaçlarda, çalılıklarda yetiştiği kaydedilmiştir. Azerbaycan bitki kaynaklarında cinsin 36 türü kayıtlıdır. İki türüyle ilaç ve dekoratif amaçlarla kullanılmaktadır. Fakat, cinsin türleri arasında sistematik konusu tartışılan, yetiştiği bölgelerin incelenmesini talep eden bilim insanları çoktur.

Adaçayı türlerine ülkenin çoğu bölgelerinde, kurak yamaçlarda, çay vadilerinde, orman ve çalılıklarda, yabancı bitkileri arasında rastlanıyor. Çok yıllık bazen bir yıllık yarım çalı bitkilerdir (Askerov, 2016).

2.3.1. *Salvia limbata* C. E. Meyer

Çok yıllık bitkidir. Sapı düz, ortadan biraz dallanmış, tüysüz yada biraz tüylüdür. Yüksekliği 25-70 cm, yapraklar köke yakın, yumurta şeklinde, geniş veya elliptik, 5-11 cm uzunluğunda, 3.5-7.5 cm genişliğinde, yuvarlak tepeli, kordat, kenarı çift tırtıklı yada lopu, kırışık, yüzeyi tüysüz, alt yüzey damar üzerinde tüylü, sap üzerindeki yapraklar 1-2 çift, ufak, geniş yumurta şeklinde, sapsızdır. Çiçeğe yakın yapraklar çok ufak, geniş yumurta lanseolat, sivri uçludur. Kaliks süpürgemsi, uzun çıkık dallar var. Çiçek durumunda 2-6 çiçek var, araları geniş, korolla beyaz veya pembe, kaliksten 3 kat uzun, üst dudak daha uzun, orak şeklinde kıvrılmış, beyaz örtü tüyleri vardır. Kaliks 10 mm, çan şeklinde, üst 3 kısa dişlidir. Tohum 3 mm, elips şeklindedir.

Azerbaycan'da dağlarda, kurak yamaçlarda ve taşlı yamaçlarda yayılım göstermiştir (Karyagin, 1957a).



Görsel 2.3. *Salvia limbata* C.E. Meyer'in Azerbaycan'daki yayılışı



Görsel 2.4. *Salvia limbata* C. E. Meyer

Foto: Prof. Cavanşir İsayev

2.3.2. *Salvia limbata* C. E. Meyer Türüne Ait Fitokimyasal Çalışmalar

Öğütçü vd. (2008) Erzurum'dan topladıkları *S. limbata*'nın herbasından hidrodistilasyonla elde ettikleri uçucu yağda ana bileşik olarak spatulenol %29.3, sıklareol oksit %14.8, β -ödesmol % 7.4 ve 1,8-sineol % 3.2 olarak bulmuşlardır.

Erzurum Atatürk Üniversitesi kampüsünden toplanan başka bir örnekte sabinen (%17.4), 1,8-sineole (%12.6), α -pinen (%11.2), β -pinen (%10.0) ve bisiklogermakren (%7.8) ana bileşik olarak bulunurken Van'dan toplanan örnekte α -pinen (%24.3), β -pinen (%20.9), sabinen (%14.6), 1,8-sineole (%8.9) ve bisiklogermakren (% 6.3) ana bileşik olarak bulunmuştur (Kürkçüoğlu vd., 2005).

İran'ın farklı bölgelerinden toplanan örneklerin de ana bileşikleri farklılık göstermektedir. Tahran'dan toplanan örnekte germakren D (%25.7), linalil asetat (%16.1), linalol (%17.5) ve β -karyofillen (%7.1) (Mirza vd., 2005); Mazandaran'dan toplanan örnekte karyofillen oksit (%11.5), terpinen-4-ol (%8.9), sabinen (%8.3) ve spatulenol (% 8.1) (Morteza-Semnani vd., 2014); Charmahal ve Bakhtiari örneğinde bisiklogermakren (%21.1), α -pinen (%15.5), 1,8-sineol (%11.0), sabinen (%10.6), β -pinen (%9.2), spathulenol (%8.2), β -karyofilen (%5.3)) ve δ -elemen (%5.1) (Sajjadi ve Shahpiri, 2004); Takab, Batı Azerbaycan örneğinde α -pinen (%24.4), β -pinen (%21.9), 1,8-sineole (%7.7) ve trans-karyofillen (% 5.2) ve Mashhade Ardehal örneğinde ise trans-karyofillen (%9.9), 1,8-sineole (%9.2), spatulenol (%8.1), β -pinen (%5.8) ve α -terpinolen (%5.3) (Salehi vd., 2008) ana bileşik olarak bulunmuştur.

Tablo 2.2. *Salvia limbata* ile yapılmış çalışmalar

<i>Salvia limbata</i> Lokalite	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Ana Bileşikler %	Kaynaklar
Erzurum, Türkiye	Herba	spatulenol (%29.3), sıklareol oksit % 14.8, β -ödesmol (%7.4) ve 1,8-sineol (% 3.2)	Öğütçü vd., 2008
Van, Türkiye	Herba	α -pinen (%24.3), β -pinen (%20.9), sabinen (%14.6), 1,8-sineole (%8.9) ve bisiklogermakren (% 6.3)	Kürkçüoğlu vd., 2005
Erzurum, Türkiye	Herba	sabinen (%17.4), 1,8-sineole (%12.6), α -pinen (%11.2), β -pinen (%10.0) ve	Kürkçüoğlu vd., 2005

		bisiklogermakren (%7.8)	
Tehran, İran	Herba	germakren D (%25.7), linalil asetat (%16.1), linalol (%17.5) ve β -karyofillen (%7.1)	Mirza vd., 2005
Mazandaran, İran	Herba	karyofillen oksit (%11.5), terpinen-4-ol (%8.9), sabinen (%8.3) ve spatulenol (% 8.1)	Morteza-Semnani vd., 2014
Charmahal ve Bakhtiari, İran	Herba	bisiklogermakren (%21.1), α -pinen (%15.5), 1,8-sineol (%11.0), sabinen (%10.6), β -pinen (%9.2), spathulenol (%8.2), β -karyofilen (%5.3)) ve δ -elemen (%5.1)	Sajjadi ve Shahpiri, 2004
Takab, Batı Azerbaycan, İran	Herba	α -pinen (%24.4), β -pinen (%21.9), 1,8-sineole (%7.7) ve trans-karyofillen (% 5.2)	Salehi vd., 2008
Mashhade Ardehal, Kashan, İran	Herba	trans-karyofillen (%9.9), 1,8-sineole (%9.2), spatulenol (%8.1), β -pinen (%5.8) ve α -terpinolen (%5.3)	Salehi vd., 2008

2.3.3. *Salvia limbata* C. E. Meyer Türünün Halk Arasında Kullanımı

Salvia türleri ilaç (derman), dekoratif, vitamin ve yem amaçlı kullanılan bitkilerdir. *Salvia* vücuttaki zararlı toksinlerin çıkarılmasına yardım etmekte, bronşit ve astım semptomlarını ortadan kaldırmakta, karaciyer’i temizlemekte, idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisine yardım etmekte, fazla terlemeyi, stresi ve kanda şekeri azaltmaktadır. Aynı zamanda sakinleştirici olarak, saçların beyazlamasını yavaşlatıyor, zihni güçlendiriyor, diş ağrılarında ve ağız yaralarını tedavi etmek için de kullanılmakta, boğaz ağrısını azaltmaktadır (Askerov, 2016).

Hippokrat ve Dioskorit adaçayını “kutsal ot” olarak adlandırmıştır. Bu bitki safra kesesi ve karaciyer iltihabı, ishal, gastrit ve enteritler, basur hastalıklarında etki ediyor. Halk arasında adaçayı aynı zamanda spazm zamanı ve omurga beyin hastalıklarında da kullanılmaktadır (Askerov, 2016).

2.3.4. *Salvia limbata* C. E. Meyer'in Biyolojik Aktiviteleri

Öğütçü vd. (2008) Erzurum'dan topladıkları *S. limbata* ve *Salvia sclarea* L. örneklerinin toprak üstü kısımlarından elde ettikleri uçucu yağların ve bu türlerin yapraklarının metanol ekstresinden elde ettikleri ekstrenin in-vitro antimikrobiyal, antioksidan ve antiviral aktivitelerini araştırmışlardır. 55 mikroorganizmaya karşı test edilen uçucu yağlar bazı mantarlara karşı etkiye sahip iken hiçbir bakteriye karşı aktivite gözlenmemiştir. Aktivite linoleik asit oksidasyonu ve serbest radikal süpürücü DPPH metotlarıyla çalışılmıştır. Kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan BHT (%96±1)'e karşı, β-karoten/linoleik asit sistem seviyeleri sırası ile % 85,1±1 ve % 76,6±1 olarak tespit edilmiştir. *Salvia* türlerinin MeOH ekstreleri antiviral aktivite çalışmalarında yüksek anti-influenza virüs etkisi ve az miktarda antiherpenik etki göstermiştir (Öğütçü vd., 2008). Ayrıca, Bayan ve Genç. (2016), İravani vd. (2020), Paknejadi vd. (2012) ve Firuzi vd. (2013) aktivite çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmalar sonuç ve tartışma kısmında verilmiştir.

2.4. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar, yağı taşıyan bitki kısımlarından, genellikle distilasyon yöntemi ile elde edilirler. Uygulanan yöntem, bitkinin ısıya dayanıklılığı, yağın uçucu olması, suda çözünüp çözünmemesi ve distilasyon koşullarıyla bağlantılıdır.

Uçucu yağ eldesinde uygulanan yöntemler;

- Distilasyon
- Ekstraksiyon
- Sıkma'dır (Kürkçüoğlu, 1995).

2.4.1. Distilasyon yöntemleri

Distilasyon yönteminin prensibi; birbiriyle karışmayan iki sıvının distilasyonu teorisine dayanmaktadır. Distilasyonla uçucu yağ eldesinde su distilasyonu, buhar distilasyonu, su-buhar distilasyonu, kuru distilasyon ve hidrodifüzyon yöntemleri kullanılmaktadır (Kürkçüoğlu, 1995).

2.4.1.1. Su distilasyonu yöntemi

Su ile temasta iken kaynatıldığında üründe bozunmanın olmadığı hallerde uygulanan yöntemdir. Bu yöntemle bitkilerden uçucu yağ elde edilebildiği gibi hidrolatta elde edilebilmektedir.

Bu işlemde su miktarı kullanılan bitkisel droğu örtecek kadardır. Buharlaşan su ve uçucu yağ soğutucuda yoğunlaşarak toplama kabına gelir. Burada yoğunluk farkına göre yağ ve su ayrılır (Kürkçüoğlu, 1995).

2.5. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon Yöntemi (KFME)

Solid Phase Micro Extraction (SPME)

KFME'nun genel prensibi ekstraksiyon işleminin yapıldığı fiber kaplama ile numune karışımı arasındaki analiz ürünlerinin dağılımı (partisyon)'dır.

KFME'da iki farklı uygulama şekli vardır.

- Daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon (Im-SPME)
(Immersion-Solid Phase Micro Extraction-Im-SPME)
- Tepeboşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (TB-KFME)
(Headspace-Solid Phase Micro Extraction-HS-SPME)

Tez çalışmamızda yağ altı sularının-hidrolatlarının bileşimini belirlemek için bu yöntemlerden daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır.

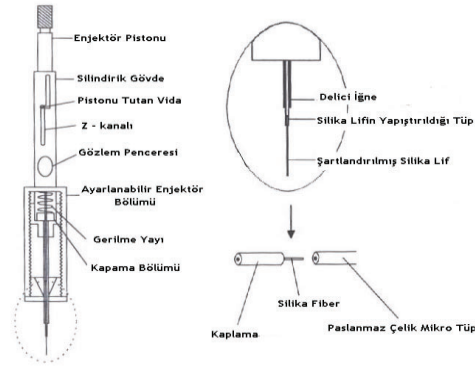
2.5.1. Daldırmalı- Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (D-SPME)

Immersion-Solid Phase Micro Extraction (Im-SPME)

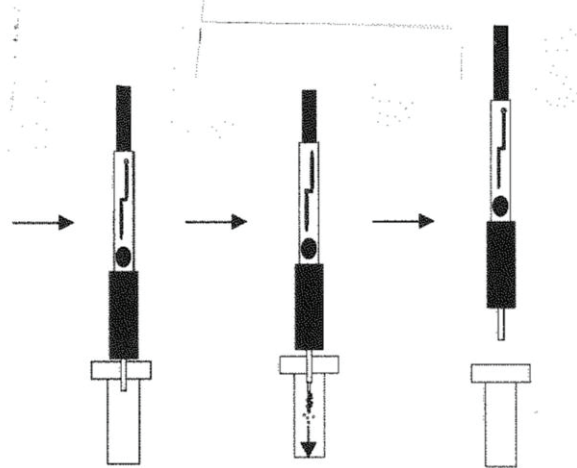
KFME tekniğinde absorbe edilecek bileşiğin yapısına uygun bir kaplama materyali ile kaplanmış KFME silika fiber analiz edilecek örneğin içerisine daldırılır. Örnekteki organik bileşikler fiberdeki kaplama materyaline (sabit faza) adsorbe olurlar. Silika fiberin numuneye daldırma derinliği ve numunenin hacmi, sonuç için oldukça önemlidir. Organik bileşikler adsorbsiyon dengesi oluşuncaya kadar sabit faz içine ayrılır. Enjektör numune çözeltisinden uzaklaştırılmadan önce fiber paslanmaz çelik ucun içerisine çekilmelidir (Anon, 1998; Schulz, 1997).

Hem TB-KFME hem de D-KFME koku bileşiklerinin tutulması için kullanılabilir. Analiz edilecek bileşikler KFME fiberine adsorplandıktan sonra, analizin yapılacağı sistemin enjeksiyon portuna enjekte edilirler. Enjeksiyon sırasında fiberin, ince enjektör ucu içerisinde dışarı itilmesi ile üzerindeki bileşikler termal desorpsiyona uğrattılır (Welkhoff ve ark., 1998).

Fiber kaplama materyalinin çeşitliliğinden dolayı KFME'nun uygulama alanının çok olması, fiberin tekrar tekrar kullanılabilme özelliğine sahip olması (50-100 kez) ve organik çözücülerle kolaylıkla temizlenebilme özellikleri nedeni ile diğer yöntemlere göre oldukça ekonomik ve kullanışlıdır (Pawliszyn, 1997; Başer, 1999).



Şekil 2.1. KFME Enjektörü (Pawliszyn, 1997)



Şekil 2.2. D-KFME örnekleme çalışması (Supelco-Bulletin 923, 1998)

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Bu bölümde çalışmalarda kullanılan yöntemler, bitkisel materyaller, cihazlar, apareyler, kimyasal maddeler ve çözücüler detaylı olarak verilmiştir.

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Kimyasal Maddeler

3.1.1. Bitkisel Materyal

Materyal olarak Azarbaycan'da doğal olarak yetişen *Nepeta betonicifolia* C. A. Mey. ve *Salvia limbata* C. A. Mey. türleri kullanılmıştır.

Tezde kullanılan bitkisel materyaller;

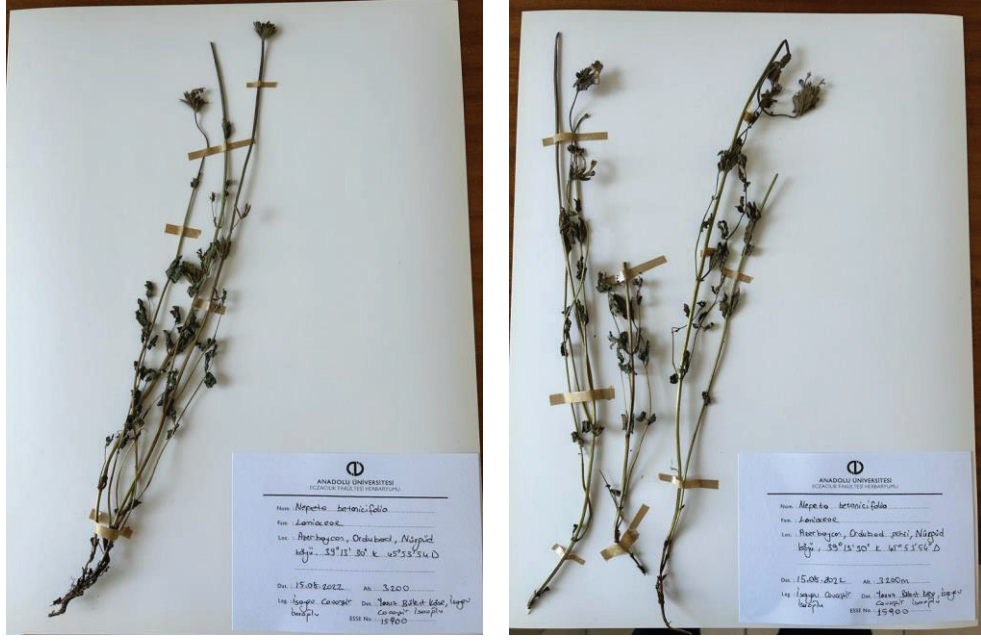
Nepeta betonicifolia C. A. Mey. 15 Ağustos 2022'de Ordubatd şehri: Nürgüd köyü, Nahçıvan, Azarbaycan'dan ve

Salvia limbata C. A. Mey. 10 Haziran 2022'de Şahbuz şehri: Biçenek Köyü, Nahçıvan, Azarbaycan'dan toplanmıştır.

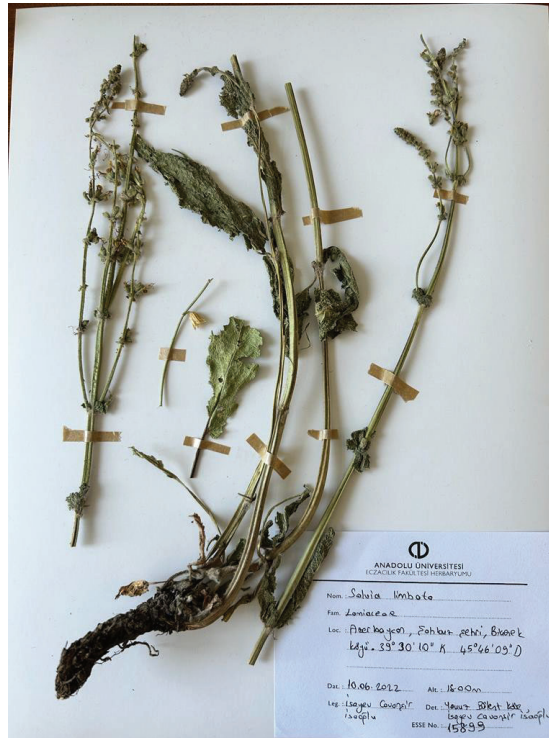
Bitkilerin teşhisleri Azarbaycan Tıp Üniversitesi, Eczacılık fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Cavanşir İsayev ve Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Y. Bülent Köse tarafından yapılmıştır. Örnekler Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ESSE) kaydedilerek kayıt altına alınmıştır.

Nepeta betonicifolia ESSE: 15900

Salvia limbata ESSE: 15899



Görsel 3.1. *Nepeta betonicifolia* C. E. Meyer'in herbarium örneği



Görsel 3.2. *Salvia limbata* C. E. Meyer'in herbarium örneği

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Standart Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Kimyasal maddeler	Firma
Etanol	Sigma-Aldrich
<i>n</i> -Hekzan	Sigma-Aldrich
DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali)	Sigma-Aldrich
Kloramfenikol (Chloramphenicol)	Sigma
Ketokanozol (Ketoconazole)	Sigma-Aldrich
Mueller-Hinton Broth	Merck
Mueller-Hinton Agar	Fluka
Patates Dekstroza Agar	Merck
RPMI-1640 Medium	Sigma
Mops (RPMI için)	Roth
Mikroplak	Brand

3.3. Kullanılan Cihaz ve Apeyler

Deneylerde kullanılan cihaz ve apeyler a ait bilgiler Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Deneylerde kullanılan cihaz/aperey ve markaları

Kullanılan Cihaz/Aperey	Marka
Clevenger apereyi	İdam
Elisa mikroplak okuyucu	Biotek
Gaz kromatografisi	Agilent 6890 N GC
Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi	Agilent 5975 GC-MSD
Vortex	IKA
Otoklav	Heraeus
Güvenlik Kabini	Nükleon
Hassas Terazi	Radwag
Kaba Terazi	AND GX-6100
pH Metre	WTW- Inolab PH 720
Su banyosu	Bandelin-Sonorex
Otomatik çoklu pipet	Eppendorf
KFME enjektörü ve fiberi (mavi renkli-65µm kaplamalı, polidimetil siloksan/divinilbenzen-PDMS/DVB)	Supelco

3.4. Deneysel Çalışmalar ve Yöntemler

Azerbaycan, Nahçıvan'dan iki farklı lokaliteden toplanan toplanan *Nepeta betonicifolia* ve *Salvia limbata* bitki örnekleri gölgede kurutulmuş ve toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyi ile hidrodistilasyon işlemi yapılarak uçucu yağları elde edilmiştir. Yağ altı suları-Hidrolatların bileşimlerinin belirlenmesindeki ilk işlem olarak D-KFME yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen uçucu yağların ve hidrolatların bileşimleri GK-GK/KS ile belirlenmiştir. Uçucu yağların antioksidan, antikandidal ve antibakteriyal aktivitelerine bakılmıştır.

Aşağıda tez çalışmasında kullanılan bu yöntemler açıklanmaktadır.

3.4.1. Uçucu yağ miktar tayini

Bitkisel materyallerden uçucu yağ eldesi Clevenger apareyi ile yapılmıştır (Görsel 3.3). 70-120 g. parçalanmış drog 2 L'ik balona konulduktan sonra üzerine 1000 mL distile su ilave edilmiştir. 3 saat süre ile distilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda apareyin soğuması beklenmiş ve uçucu yağın miktarı mL cinsinden okunmuştur. Uçucu yağın verimi % olarak hesaplanmıştır. Bu işlemler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen uçucu yağ, çeşitli analiz işlemleri ve aktivite deneyleri için +4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir.



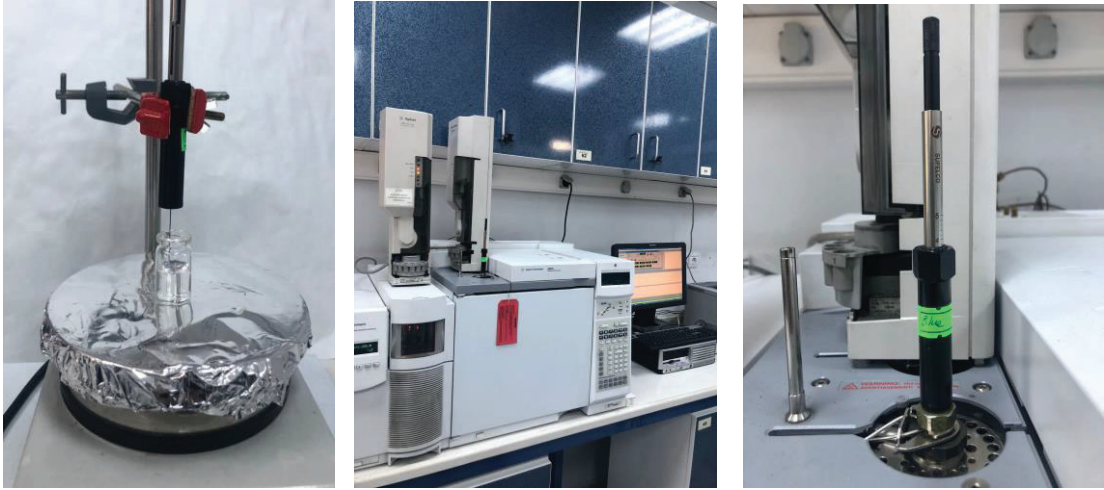
Görsel 3.3. Clevenger Apareyi

3.4.2. Katı faz mikro ekstraksiyon (KFME)

Tez çalışmamızda yağ altı sularının-hidrolatlarının bileşimini belirlemek için daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır.

3.4.2.1. Daldırmalı- katı faz mikro ekstraksiyon

Yağ altı suları renksiz şişe içerisine koyulduktan sonra KFME fiberi (mavi renkli-65µm kaplamalı, polidimetil siloksan/divinilbenzen-PDMS/DVB)) içerisine daldırılıp, oda sıcaklığın da 30 dakika ekstraksiyon işlemi için bekletildi. İşlem sonunda fiber enjektörün içerisine çekilerek bileşiklerin belirlenmesi için GK/KS cihazına enjekte edildi.



Görsel 3.4. D-KFME işlemi

3.4.3. Gaz kromatografisi (GK) ve Gaz kromatografisi/ Kütle spektrometrisi (GK/KS) ile uçucu yağın kimyasal bileşiminin belirlenmesi

Clevenger aparatında elde edilen uçucu yağların ve yağ altı sularının analizleri GK-GK/KS ile yapılmıştır.

3.4.3.1. GK/KS analiz koşulları

Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GK/KS)

Analiz Koşulları:

Sistem : Agilent 5975 GC-MSD sistemi

Kolon : HP-Innowax Silika kapiler

	(60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Sıcaklık Programı	: 60°C de 10 dak // 4°C/dak artışla 220°C ye // 220°C de 10 dak // 1°C/dak artışla 240°C ye 240°C de 20 dak
Enjektör	: 250°C
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (0.8 ml/dak)
Split oranı	: 40:1
Elektron enerjisi	: 70 eV
Kütle Aralığı	: m/z 35-425
Kütüphane	: BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams-LIBR (TP) Kütüphane tarama Yazılımları

3.4.3.2. GK analiz koşulları

Gaz Kromatografisi (GK)

Analiz Koşulları:

GK analiz koşulları; eş zamanlı olarak GK/KS sistemindeki madde çıkış zamanları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır (FID 300°C).

Sistem	: Agilent 6890N GC sistemi
Kolon	: HP-Innowax Silika kapiler (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Dedektör	: FID
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (0.8 ml/dak)
Split oranı	: 40:1
Sıcaklıklar	
Kolon	: 60°C de 10 dak // 4°C/dak artışla 220°C ye // 220°C de 10 dak // 1°C/dak artışla 240°C ye 240°C de 20 dak
Enjeksiyon	: 250°C
Dedektör	: 300°C

3.4.4. *Nepeta betonicifolia* ve *Salvia limbata* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Elde edilen uçucu yağların antioksidan, antikandidal ve antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır.

3.4.4.1. *Antioksidan aktivite*

3.4.4.1.1. *1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) serbest radikal süpürücü etki*

DPPH• süpürücü etki tayini Kumarasamy vd. (2007) yöntemine göre yapılmıştır. 0.2 mM'lık DPPH• çözeltisi karanlık ortamda metanol ile hazırlanmıştır. Deney 96-kuyucuklu mikropiplaklarda yapılmıştır. Uçucu yağ örneklerinden (2.5 mg/mL) 200 µL ilk sütuna koyulduktan sonra diğer tüm kuyucuklara 100 µL metanol koyulmuştur. Daha sonra çok kanallı pipet aracılığı ile uçucu yağlardan seri dilüsyon yapıldıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µL DPPH• eklenip oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir (A). Numune kontrolünde DPPH• yerine 100 µL metanol konulmuştur. Gallik asit pozitif kontrol, uçucu yağ+MeOH ekstre kontrolü (B), DPPH•+MeOH negatif kontrol (C) ve MeOH (D) çözücü körü olacak şekilde aynı mikropiplağa uygulanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı yapılmıştır. Absorbanslar 517 nm'de ölçülüp inhibisyon yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki yüzde inhibisyonlar hesaplandıktan sonra Sigmaplot 14.0 programı ile IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \times 100$$

3.4.4.2. *Antibakteriyel ve Antikandidal Aktivite*

3.4.4.2.1. *Antibakteriyel ve Antikandidal Aktivite Deneylerinde Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması*

Mueller-Hinton Broth (Merck), Mueller Hinton Agar (Fluka), Patates Dekstroz Agar (Merck), hazır olarak temin edilerek besi ortamları kutu üzerindeki tarife uygun olarak sulandırılarak hazırlanmış ve otoklavda steril edilerek kullanılmıştır. Katı ve sıvı besiyerleri hazırlandıktan sonra otoklavda 121 °C'de, 1.5 atm basınç altında 20 dakika

boyunca steril edilmiştir. Petri kaplarına besiyeri dökülmesi işlemi steril kabin içinde gerçekleştirilmiştir. Petriler en fazla 2 hafta süreyle saklanmış, kullanılacağı güne kadar +4°Cde muhafaza edilmiştir.

RPMI 1640 Besiyerinin Hazırlanması

Antikandidal aktivite testi için RPMI besiyeri 250 ml olarak hazırlanmıştır. İlk olarak 2,6 gram toz halindeki RPMI 1640 tartılır. 210 ml distile suya eklenerek iyice çözülür. Daha sonra 8,63 gr 0,165 M MOPS (3-N-morfolinopropanesulfonic acid) (Wisent Inc. Multicell, Kanada, ABD) ile tamponlanır. NaOH solüsyonu yavaş yavaş eklenerek pHmetre ile pH'ı 7,0'ye ayarlanır. Toplam hacim steril distile su ile 250 ml'ye tamamlanır. Enjektör filtreleri (Sartorius) yardımıyla steril şişeye süzülür ve kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklanır.

3.4.4.2.2. Antibakteriyal aktivite

Mikroorganizmalar: *Escherichia coli* NRRL B-3008, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır.

Deneyde kullanılacak bakteriler -85° C'de %50'lik steril gliserol solüsyonu içerisinde muhafaza edilmiştir.

Mikrodilüsyon Deneyi

Test edilecek örnekler kısmen modifiye edilmiş “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M7-A7 protokollü uyarınca yapılmıştır. Bir gün önceden Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarında canlandırılan belirtilen bakteriler McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre 10⁶ KOB/mL olacak şekilde bulanıklık ölçer (BIOSAN) kullanılarak ayarlanmıştır. Uçucu yağlar 16 mg tartılmış, 2 ml steril DMSO (%100)'da eklenerek iyice çözünmesi sağlanmış ve testlerde kullanılmıştır. Steril U tabanlı, 96 kuyucuklu (well) mikropelateler kullanılmıştır. Ayrıca DMSO çözücü kontrolü, besiyerinin sterilite kontrolü ve kloramfenikol standart ajan olarak test edilmiştir. 37°C de 24 saat inkübasyon sonunda resazurin ile boyanarak minimum inhibitor konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir (NCCLS, 2006).

3.4.4.2.3. Antikandidal aktivite

Mikroorganizmalar: Testlerde *C. albicans*'ın iki suşu (ATCC-10231, ATCC 90028), *C. utilis* (NRRL Y-900), *Candida tropicalis* (ATCC 750) ve *C. parapsilosis* (NRRL Y- 12696) kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak mayalar -85° C'de %50'lik steril gliserol solüsyonu içerisinde muhafaza edilmiştir.

Mikrodilüsyon Deneyi

Test edilecek örnekler kısmen modifiye edilmiş “Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü”nün yayımladığı CLSI (NCCLS) M27-A2 protokollü uyarınca yapılmıştır.

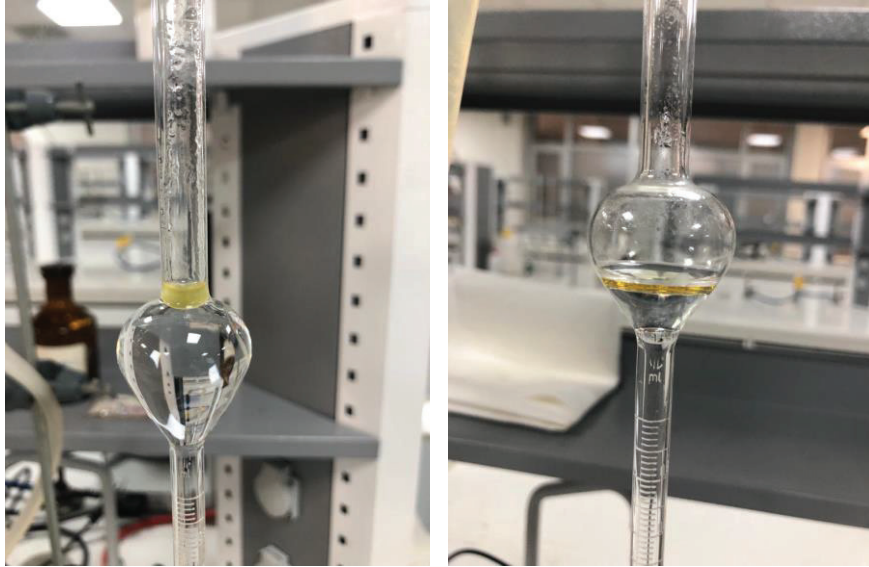
Bir gün önceden Patates Dekstroz Agar (PDA) plaklarında canlandırılan *Candida* kültürlerinden koloniler seçilerek steril salin solüsyonu (0.85%) içinde konsantrasyonu McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre 10⁶ KOB/mL olacak şekilde bulanıklık ölçer (BIOSAN) kullanılarak ayarlanmıştır. Uçucu yağlar 16 mg olarak tartılmış, 2 ml steril %100'lük DMSO (Dimetilsülfoksit) 'da çözülerek testlerde kullanılmıştır. Steril U tabanlı, 96 kuyucuklu (well) mikroplateler'e RPMI besiyeri 100'er µl eklenmiştir. Antibakteriyal yöntemdeki biçimde tasarlanan plaklar 37°C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda sonuçların daha net gözlemlenmesi amacıyla mavi renkli resazurin boyası her bir kuyucuğa 20'şer mikrolitre eklenmiştir ve tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Resazurin canlı hücrelerde enzimatik reaksiyonlarla resorufine indirgenerek pembe rengini almaktadır. Rengin mavi olarak kaldığı son kuyucuk minimum inhibitor konsantrasyon (MİK) olarak belirlenmiştir. Ketokonazol (Sigma) standart antifungal ajan olarak kullanılmıştır (NCCLS, 2002; İşcan, 2009)

4. BULGULAR VE YORUM

N. betonicifolia ve *S. limbata* Azerbaycan'dan toplanmış, teşhisleri yapılmış ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumuna kayıtları yapılarak ESSE numaraları alınmıştır.

4.1. Uçucu Yağların Miktar Tayini

N. betonicifolia'nın toprak üstü kısımlarından Clevenger apareyinde % 0.13 verimle ve *S. limbata*'nın toprak üstü kısımlarından % 0.16 verimle elde edilen uçucu yağların analizleri GK-GK/KS cihazında yapılmıştır.



Görsel 4.1. Clevenger Apareyinde elde edilen uçucu yağlar

Tablo 4.1. Bitkisel materyaller

Bitkisel materyal	Kullanılan Kısım	Toplandığı Yer ve Tarih	ESSE	Uçucu Yağ Verimi %
<i>Nepeta betonicifolia</i>	Herba	Ordubad şehri: Nürgüd köyü, Nahçıvan, Azerbaycan/15 Ağustos 2022	15900	0.13
<i>Salvia limbata</i>	Herba	Şahbuz şehri: Biçenek Köyü, Nahçıvan, Azerbaycan / 10 Haziran 2022	15899	0.16

4.2. Uçucu Yağların Bileşimi

N. betonicifolia ve *S. limbata* herbalarından elde edilen uçucu yağların GK-GK/KS analizleri sonucunda;

N. betonicifolia uçucu yağında ana bileşik olarak geraniol % 48.8, geraniol % 9.1 ve spatulenol % 9.1 olarak bulunurken, *S. limbata* uçucu yağında spatulenol % 21.6, germakren D % 19.6, bisiklogermakren % 17.1, 8,13-epoksi-15,16-dinor-labd-12-en % 12.1 ve 1,8-sineol % 5.3 bulunmuştur.

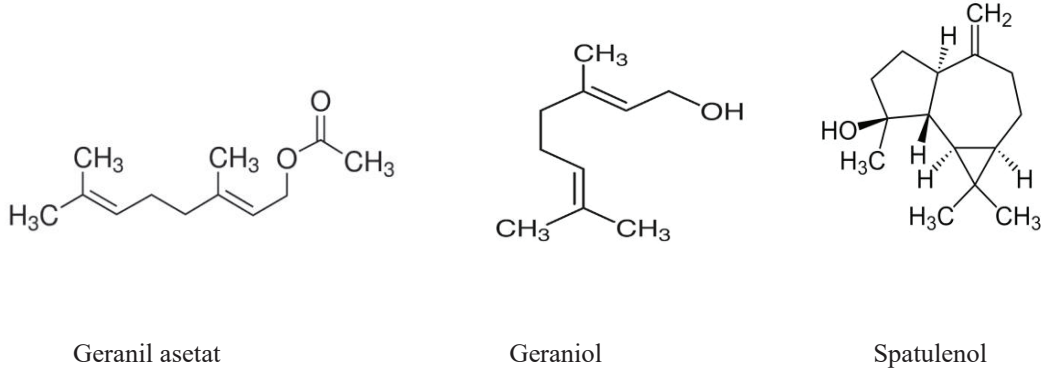
Tablo 4.2. *Nepeta betonicifolia* uçucu yağ (B) bileşimi

RRI	Bileşikler	%	IM
1203	Limonen	tr	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	tr	t _R , MS
1244	Amilfuran	tr	MS
1246	(Z)-β-Osime	tr	t _R , MS
1266	(E)-β-Osime	tr	t _R , MS
1280	p-Sime	tr	t _R , MS
1296	Oktanal	tr	t _R , MS
1362	cis-Roz oksit	0.3	MS
1374	trans-Roz oksit	0.1	MS
1400	Nonanal	tr	MS
1450	trans-Linalol oksit (Fur.)	tr	MS
1480	Nerol oksit	tr	MS
1487	Sitronellal	0.2	MS
1495	Bisikloelemen	0.1	MS
1497	α-Kopaen	0.2	MS
1532	Kafur	tr	t _R , MS
1535	β-Burbonen	0.3	t _R , MS
1538	trans- Krizanthenil asetat	0.1	MS
1553	Linalol	1.6	t _R , MS
1565	Linalil asetat	0.1	t _R , MS
1600	β-Elemen	0.3	MS

1604	β -Kubeben izomer	0.1	MS
1612	β -Karyofillen	0.2	t _R , MS
1661	Alloaromadendren	0.4	MS
1668	Sitronellil asetat	3.8	MS
1726	Germakren D	4.5	MS
1740	Geranial	0.4	MS
1751	Bisiklogermakren	3.5	MS
1765	Geranil asetat	48.8	t _R , MS
1772	Sitronellol	0.4	t _R , MS
1773	δ -Kadinen	2.0	t _R , MS
1857	Geraniol	9.1	t _R , MS
1957	(<i>E</i>)- β -Ionon	0.3	MS
2008	4a β , 7 α , 7a α -Nepetalakton	0.2	MS
2016	4a α , 7 α , 7a α -Nepetalakton	0.2	MS
2037	Salvial-4(14)-en-1-on	0.1	MS
2069	Germakren D-4-ol	0.4	MS
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	0.3	t _R , MS
2144	Spatulenol	9.1	t _R , MS
2241	<i>trans</i> - α -Bergamotol	1.1	MS
2255	α -Kadinol	0.7	t _R , MS
2379	Manoil oksit	5.2	MS
2524	Abietatrien	1.3	MS
2622	Fitol	1.6	MS
2900	Nonakosan	0.4	MS
2931	Hekzadekanoik asit	1.4	MS
	Monoterpen hidrokarbonlar	e	
	Oksijenli monoterpenler	12.5	
	Seskiterpen hidrokarbonlar	11.6	
	Oksijenli seskiterpenler	11.4	
	Diterpenler	1.3	
	Oksijenli diterpenler	6.8	

	Diğerleri	55.2	
	Toplam %	98.8	

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; %: FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser (< %0.1); IM: tanımlama Yöntemi; t_R : HP Innowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama; MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama.



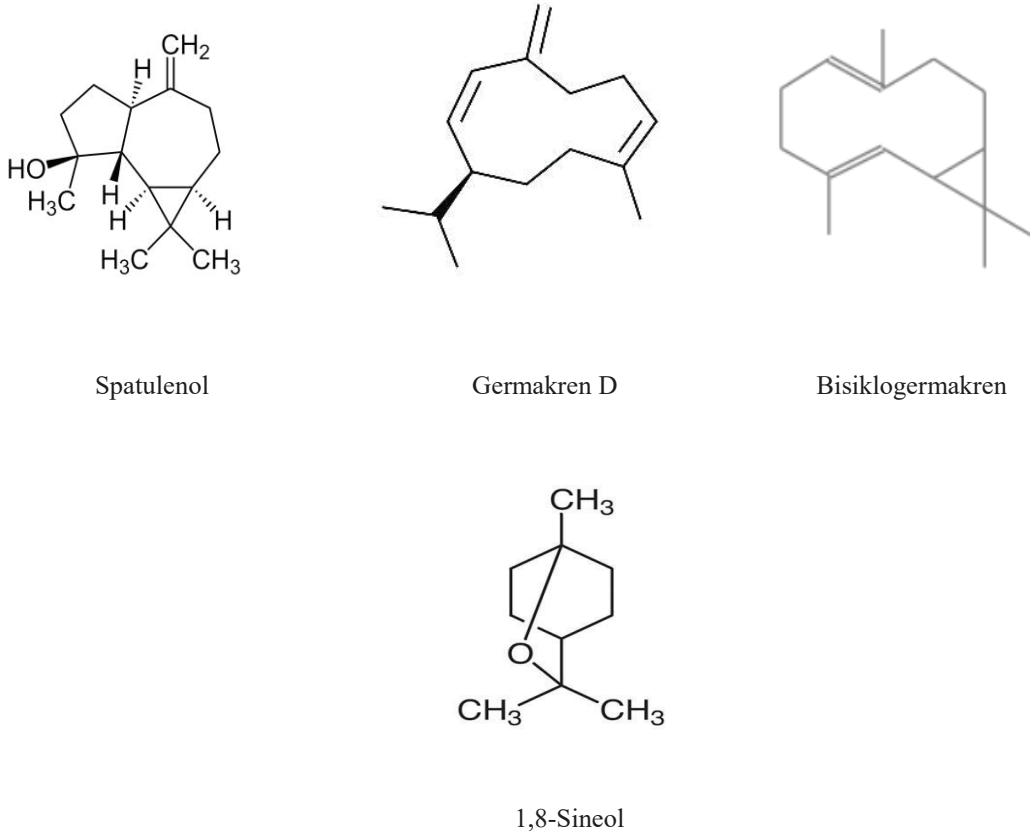
Şekil 4.1. *Nepeta betonicifolia* uçucu yağının ana bileşikleri

Tablo 4.3. *Salvia limbata* uçucu yağ (A) bileşimi

RRI	Bileşikler	%	IM
1032	α -Pinen	4.1	t_R , MS
1076	Kamfen	0.3	t_R , MS
1118	β -Pinen	4.8	t_R , MS
1132	Sabinen	3.1	t_R , MS
1174	Mirsen	0.3	t_R , MS
1188	α -Terpinen	0.2	t_R , MS
1203	Limonen	0.7	t_R , MS
1213	1,8-Sineol	5.3	t_R , MS
1246	(<i>Z</i>)- β -Osimen	0.1	t_R , MS
1255	γ -Terpinen	0.6	t_R , MS

1280	<i>p</i> -Simen	0.7	t _R , MS
1290	Terpinolen	0.4	t _R , MS
1497	α -Kopaen	0.9	MS
1535	β -Bourbonen	1.3	t _R , MS
1600	β -Elemen	0.5	MS
1611	Terpinen-4-ol	1.0	t _R , MS
1612	β -Karyofillen	1.1	t _R , MS
1648	Mirtenal	0.4	MS
1687	α -Humulen	tr	t _R , MS
1707	α -Terpinil asetat* impure	1.5	t _R , MS
1726	Germakren D	19.6	MS
1751	Bisiklogermakren	17.1	MS
1772	δ -Kadinen	0.9	t _R , MS
1945	1,5-Epoksi-salvial (4)14-en	tr	MS
1949	<i>trans</i> -Jasmon	1.1	MS
2008	Karyofillen oksit	tr	t _R , MS
2037	Salvial-4 (14)-en-1-on	tr	MS
2144	Spatulenol	21.6	t _R , MS
2287	8,13-Epoksi-15,16-dinor-labd-12-en	12.1	MS
	Monoterpen hidrokarbonlar	15.3	
	Oksijenli monoterpenler	6.7	
	Seskiterpen hidrokarbonlar	41.4	
	Oksijenli seskiterpenler	21.6	
	Diğerleri	14.7	
	Toplam %	99.7	

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; %: FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser (< %0.1); IM: tanımlama Yöntemi; t_R: HP Innowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama; MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama.



Şekil 4.2. *Salvia limbata* uçucu yağının ana bileşikleri

4.3. Hidrolatların Bileşimi

Clevenger aparatında bitkisel materyallerden elde edilen uçucu yağların hidrolatların-yağ altı sularının bileşimleri D-KFME yöntemi ile belirlenmiştir.

GK/KS analizleri sonucunda; *N. betonicifolia* hidrolatının ana bileşikleri geraniol % 31.4, linalol % 12.7 ve dihidronepetalaktan % 6.9 olarak bulunmuştur. *Salvia limbata* hidrolatında da 1,8-sineol % 29.7, terpinen-4-ol % 7.2 ve α -terpineol % 5.1 ana bileşik olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4. *Nepeta betonicifolia* hidrolatının bileşimi

RRI	Bileşikler	Hidrolat %	IM
1174	Mirsen	0.8	t _R , MS
1266	(E)- β -Osimen	0.4	t _R , MS
1348	6-Metil-5-hepten-2-on	0.6	MS
1362	<i>cis</i> -Roz oksit	3.5	MS
1374	<i>trans</i> - Roz oksit	2.1	MS
1391	(<i>Z</i>)-3-Hekzen-1-ol	0.3	t _R , MS
1450	<i>trans</i> -Linalol oksit (<i>Fur.</i>)	1.0	MS
1452	1-Okten-3-ol	0.7	t _R , MS
1463	Heptanol	0.1	t _R , MS
1466	4,4-Dimetil-2-sikloheksen-1-on	0.2	MS
1479	Furfural	0.5	t _R , MS
1480	Nerol oksit	1.2	MS
1506	(<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	1.0	MS
1522	3,5-Oktadien-2-on	0.4	MS
1541	Benzaldehit	1.5	MS
1553	Linalol	12.7	t _R , MS
1574	(E, E)-3,5-Oktadien-2-on	0.9	MS
1604	6-Metil-3,5-heptadien-2-on	1.3	MS
1611	Terpinen-4-ol	0.6	t _R , MS
1617	Hotrienol	0.2	MS
1655	2,6-Dimetil-5-hepten-1-ol	0.5	t _R
1658	Fenillaset aldehit	0.7	MS
1694	Neral	0.9	MS
1706	α -Terpineol	1.4	t _R , MS
1740	Geranial	1.7	MS
1765	Geranil asetat	0.8	t _R , MS
1772	Sitronellol	5.0	t _R , MS
1808	Nerol	3.2	t _R , MS
1857	Geraniol	31.4	t _R , MS
2144	Spatulenol	3.9	t _R , MS

2162	4-Methoksi asetofenon	0.8	MS
2186	Öjenol	0.5	t _R , MS
2200	3,4-Dimetil-5-pentil-5H- furan-2-on	0.6	t _R , MS
2241	<i>trans</i> - α -Bergamotol	0.8	MS
2373	Dihidronepetalakton	6.9	MS
2471	İndol	0.3	t _R , MS
	Monoterpen hidrokarbonlar	1.2	
	Oksijenli monoterpenler	72.1	
	Oksijenli seskiterpenler	4.7	
	Diğerleri	11.4	
	Toplam %	89.4	

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; %: FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser (< %0.1); IM: tanımlama Yöntemi; t_R: HP Innowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama; MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama

Tablo 4.5. *Salvia limbata* hidrolatının bileşimi

RRI	Bileşikler	Hidrolat %	IM
1138	Tuya-2,4 (10)-dien	0.5	MS
1195	Dihidro-1,8-sineol	0.2	t _R , MS
1213	1,8-Sineol	29.7	t _R , MS
1255	γ -Terpinen	0.3	t _R , MS
1280	<i>p</i> -Simen	0.2	t _R , MS
1348	6-Metil-5-hepten-2-on	0.1	MS
1360	Hekzanol	0.1	t _R , MS
1391	(<i>Z</i>)-3-Hekzenol	0.1	t _R , MS
1439	γ -Kamfolen aldehit	0.1	MS
1452	<i>p</i> -Simenen	0.2	MS
1458	1-Okten-3-ol	0.3	t _R , MS
1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	1.6	t _R , MS

1541	Benzaldehit	0.5	MS
1553	Linalol	0.7	t _R , MS
1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	1.1	t _R , MS
1571	<i>trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	0.4	MS
1586	Pinokarvon	2.0	MS
1589	Nopinon	0.7	MS
1602	6-Metil-3,5-heptadien-2-on	0.3	MS
1611	Terpinen-4-ol	7.2	t _R , MS
1648	Mirtenal	2.5	MS
1651	Sabinaketon	0.4	MS
1658	Fenilaset aldehyt	0.5	MS
1667	<i>cis</i> -Verbenol	1.2	Ms
1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	2.7	t _R , MS
1682	δ-Terpineol	1.8	t _R , MS
1683	<i>trans</i> -Verbenol	3.1	MS
1706	α-Terpineol	5.1	t _R , MS
1719	Borneol	3.7	t _R , MS
1725	Verbenon	1.1	t _R , MS
1747	<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	0.9	MS
1757	Karvon	0.4	t _R , MS
1758	<i>cis</i> -Piperitol	0.1	MS
1797	<i>p</i> -Metil asetofenon	0.5	MS
1802	Mirtenol	1.9	MS
1814	<i>p</i> -Menta-1,5-dien-7-ol	0.2	MS
1815	<i>p</i> -Menta-1,3-dien-7-al	0.3	MS
1838	(E)-β-Damaskenon	0.2	MS
1845	<i>trans</i> -Karveol	1.8	t _R , MS
1856	Geraniol	0.3	t _R , MS
1864	<i>p</i> -Simen-8-ol	0.9	t _R , MS
1882	<i>cis</i> -Karveol	tr	t _R , MS
1949	<i>trans</i> -Jasmon	2.8	MS
2037	Salvial-4(14)-en-1-on	0.2	MS

2057	<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-ol	1.2	MS
2096	Globulol	0.2	MS
2104	Viridiflorol	0.1	MS
2113	Kumin alkol	0.5	t _R , MS
2144	Spatulenol	4.5	t _R , MS
2186	Öjenol	1.7	t _R , MS
2219	4-Vinil guaiakol	0.6	t _R , MS
2241	<i>trans</i> - α -Bergamotol	0.6	MS
2255	α -Kadinol	0.7	t _R , MS
2278	Torilenol	0.1	MS
2369	Ödesma-4(15), 7-dien-1 β -ol	0.2	MS
	Monoterpen hidrokarbonlar	1.2	
	Oksijenli monoterpenler	71.2	
	Oksijenli seskiterpenler	6.6	
	Diğerleri	10.3	
	Toplam %	89.3	

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; %: FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser (< %0.1); IM: tanımlama Yöntemi; t_R: HP Innowax kolonda standart bileşiklerin analizi ile belirlenen tutunma zamanlarına ve spektrumlarına dayalı tanımlama; MS: Kullanılan kütüphane ve literatürlerdeki indeksler ve mas spektrumları ile karşılaştırmaya dayalı tanımlama.

4.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

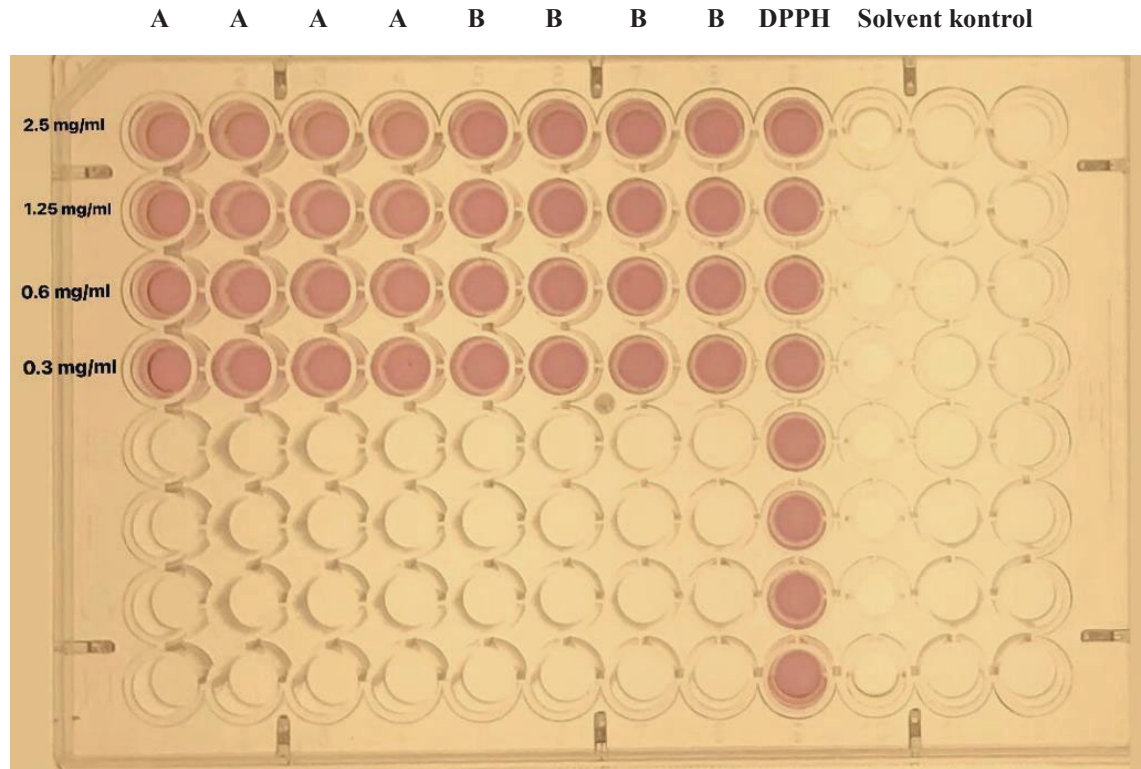
4.4.1. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Her iki örnek 2.5 mg/ml dozda (metanolde) denenmiş ve herhangi bir renk değişikliği görülmemiştir. Pozitif kontrol olarak gallik asit kullanılmıştır. Etki gözlemlenmemiştir.

Tablo 4.6. Uçucu yağların DPPH radikal süpürücü aktiviteleri

Numuneler	% İnhibisyon (2.5 mg/mL)
A	-
B	-
Gallik asit	3.94 ± 0.14 (IC ₅₀ , µg/mL)

A: *Salvia limbata*; B: *Nepeta betonicifolia*; -: etki gözlemlenmedi



A: *Salvia limbata*; B: *Nepeta betonicifolia*

Şekil 4.3. Uçucu yağlara ait DPPH• serbest radikal süpürücü aktivite sonuçları (mg/mL)

4.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Uçucu yağların antibakteriyel ve antikandidal aktivite verileri Tablo 4.7 ve Tablo 4.8’de verilmiştir.

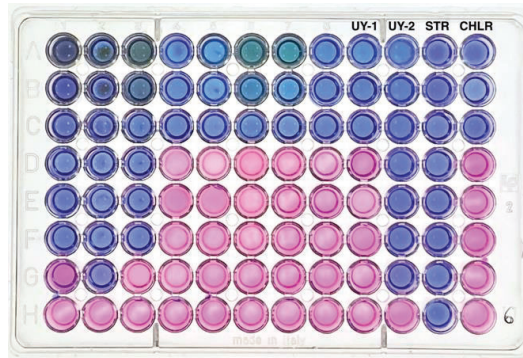
4.4.2.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Yapılan testler sonunda *S. limbata* uçucu yağının bazı bakterilere karşı denenen en yüksek doz olan 1 mg/mL de dahi etki göstermezken, *P. aeurigonosa*’yı 500 µg/mL’de inhibe etmiştir. Örnek test plakları Şekil 4.3 ve 4.4’de verilmiştir. Aynı şekilde bu yağın patojen kandida hücrelerine olan etkileri de >1000 ile 500 µg/mL aralığındadır. *Nepeta betonicifolia* uçucu yağı ise *Salvia* yağından farklı olarak belirgin şekilde *S. aureus* ve *S. typhimurium*’u 62,6 µg/mL’de inhibe etmiştir (MİK).

Tablo 4.7. *Salvia limbata* (A) ve *Nepeta betonicifolia* (B) uçucu yağlarının antibakteriyel aktivite sonuçları (MİK, µg/mL)

Mikroorganizmalar	A	B	S
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	>1000	>1000	1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1000	62,5	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	500	500	32
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	1000	62,5	1
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	>1000	500	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	>1000	>1000	8

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu; S: Kloramfenikol



UY-1: *Salvia limbata* (A); UY-2: *Nepeta betonicifolia* (B); *Salmonella typhimurium*, CHLR: Kloramfenikol, STR: Sterilite kontrolü

Şekil 4.4. *Salvia limbata* (A) ve *Nepeta betonicifolia* (B) uçucu yağlarının antibakteriyel aktivite çalışması

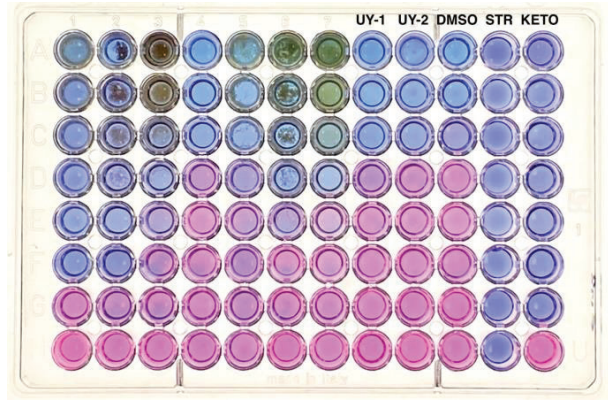
4.4.2.2. Antikandidal Aktivite Sonuçları

Yapılan antikandidal aktivite sonuçları Tablo 4.8 de gösterilmiştir. *Salvia limbata*, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. utilis* NRRL Y-900 ve *C. albicans* ATCC 10231 suşlarına karşı 500 µg/mL dozda inhibe edici etki göstermiştir. *Nepeta betonicifolia* uçucu yağı ise *C. utilis* NRRL Y-900 ve *C. albicans* ATCC 10231 suşlarına karşı 500 µg/mL, *C. tropicalis* ATCC 750 şusuna karşı 250 µg/mL, dozda inhibe edici etki göstermiştir.

Tablo 4.8. *Salvia limbata* (A) ve *Nepeta betonicifolia* (B) yağ uçucu yağlarının antikandidal aktivite sonuçları (MİK, µg/mL)

Mikroorganizmalar	A	B	S
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	500	500	0,125*
<i>C utilis</i> NRRL Y-900	500	500	0,06*
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	>1000	>1000	0,06*
<i>C tropicalis</i> ATCC 750	500	250	0,125*
<i>C parapsilosis</i> ATCC 22019*	1000	1000	0,03*

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu; * Ketokonazol



UY-1: *Salvia limbata* (A); UY-2: *Nepeta betonicifolia* (B); *Candida parapsilosis*, Keto: Ketokonazol, STR: Sterilite kontrolü

Şekil 4.5. *Salvia limbata* (A) ve *Nepeta betonicifolia* (B) yağ uçucu yağlarının antikandidal aktivite çalışması

5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Lamiaceae familyasında yer alan *Nepeta* ve *Salvia* cinslerinin Azerbaycan'da yetişen ve bu ülkede üzerinde hiç çalışma yapılmamış olan *N. betonicifolia* ve *S. limbata* türlerinin uçucu yağları ve hidrolatlarının bileşimleri belirlenmiş, uçucu yağların antikandidal ve antibakteriyal aktivitelerine bakılmıştır.

5.1. Uçucu Yağlar

Nepeta türlerinden elde edilen uçucu yağlarla yapılmış çok çalışma bulunmasına rağmen tez kapsamında çalışılan *N. betonicifolia* üzerinde yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır.

N. betonicifolia ve *S. limbata* herbalarından Clevenger apareyinde sırası ile % 0.13 ve % 0.16 verimle elde edilen uçucu yağların analizleri GK-GK/KS cihazında yapılmıştır.

N. betonicifolia uçucu yağında, yağın % 98.8'ine karşılık gelen 46 bileşik belirlenmiştir. Oksijenli monoterpenler % 12.5, seskiterpen hidrokarbonlar % 11.6, oksijenli seskiterpenler % 11.4, oksijenli diterpenler % 6.8, diterpenler % 1.3 ve monoterpen hidrokarbon grubundaki bileşikler yağda eser miktarlarda bulunurken diğer bileşikler yağın % 55.2'sini oluşturmuştur.

Salehi vd. (2012) İran, batı Azerbaycan'dan topladıkları *N. betonicifolia*'nın toprak üstü kısımlarından elde ettikleri uçucu yağda toplamda % 5.4 monoterpen hidrokarban, % 62.7 oksijenli monoterpen, % 19.1 seskiterpen hidrokarban, % 6.7 oksijenli seskiterpen ve % 4.0 de diğer bileşikleri bulmuşlardır (Salehi vd., 2012).

Türkiye'de üç farklı lokaliteden toplanan örneklerin hepsinin ana bileşiği farklı bulunmuştur. Bu bileşikler; karyofillen oksit-spatulenol, 1,8-sineol-nepetalakton ve linalol-1,8-sineol'dür.

N. betonicifolia uçucu yağı ile daha önce yapılmış olan çalışmalarda bulunan ana bileşikler ile tez kapsamında ki bileşikler farklılık göstermektedir (Tablo 5.1). Türkiye, Azerbaycan ve İran kaynaklı bitkisel materyallerden elde edilen uçucu yağların ana bileşikleri farklılık göstermektedir.

Tepe vd. (2007) *Nepeta* cinsi üzerinde yapılan çalışmaları inceleyerek üç kemotip olduğunu açıklamışlardır.

Bu kemotipler;

Nepetalakton kemotipi

Karyofillen oksit kemotipi

1,8-Sineol ve/veya linalool kemotipidir (Tepe vd., 2007).

Formisano vd. (2011) *Nepeta* türlerinin uçucu yağları ile yapılan çalışmaları incelediklerinde iklim koşullarına, yetiştirme şartlarına, lokalitelerine dayanarak kimyasal polimorfizm olduğunu ifade etmişlerdir. Genel olarak *Nepeta*'da iki kemotip olduğunu birincisinin nepetalakton, ikincisinin de 1,8-sineol ve/veya linalool kemotipi olduğunu belirtmişlerdir (Formisano vd., 2011)

Fakat, tez kapsamında Azerbaycan, Nahçıvan'dan toplanan bitkisel materyalde geranil asetat, geraniol ve spatulenol ana bileşik olarak bulunmuştur.

Tablo 5.1. *Nepeta betonicifolia* ile yapılmış çalışmalar ile tez verisinin karşılaştırması

<i>N. betonicifolia</i> Lokalite	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Ana Bileşikler %	Kaynaklar
Sivas: Taşlıdere, Türkiye	Herba	karyofillen oksit %39.2, spatulenol % 9.7, karyofillenol % 5.1, humulen epoksit -II %54.7 ve isokaryofillen oksit %4.3	Başer vd., 2001
Sivas: Zara, Türkiye	-	1,8-sineole (%13.7), nepetalakton (% 12.2), α -kubeben (% 7.5), β -pinen (% 5.8) ve karyofillen oksit (% 5.6),	Kılıç, 2018
İçel, Türkiye	Herba	linalol %40.5, 1,8-sineol %20.8 ve karyofillen oksit % 9.2	Senatore ve Özcan, 2003
İran, Batı Azerbaycan	Herba	4 α ,7b,7 α -nepetalakton (%42.0), germakren D (%6.0), triplal (%5.2), 1-nor-borbonanon (4.0%) ve 1,8-sineole (%3.2)	Salehi vd., 2012
Nahçıvan, Azerbaycan	Herba	geranil asetat % 48.8, geraniol % 9.1 ve spatulenol % 9.1	Tez Çalışması

S. limbata uçucu yağında, yağın % 99.7'isne karşılık gelen 29 bileşik belirlenmiştir. Seskiterpen hidrokarbonlar % 41.4, oksijenli seskiterpenler % 21.6, monoterpen hidrokarbonlar % 15.3, oksijenli monoterpenler % 6.7 ve diğer bileşikler % 14.7 olarak bulunmuştur.

Morteza-Semnani vd. (2014) *S. limbata* uçucu yağında monoterpen hidrokarbonlar % 51.1, seskiterpen hidrokarbonlar % 37.6, diterpen % 1.0 ve diğerlerini % 2.4 olarak bulmuşlardır. İran, Mazandaran'dan toplanan örneklerde karyofillen oksit (%11.5), terpinen-4-ol (%8.9), sabinen (%8.3) ve spatulenol (% 8.1) ana bileşik olarak bulunmuştur (Morteza-Semnani vd., 2014).

İran, Takab'dan toplanan örneğin ana bileşikleri α -pinen (%24.4), β -pinen (%21.9) ve Mashhade Ardehal'den toplanan örneklerin ana bileşiği ise trans-karyofillen (%9.9), 1,8-sineole (%9.2), spatulenol (%8.1) olarak bulunmuştur (Salehi vd., 2008). Tehran örneğinde germakren D (%25.7), linalol (%17.5), linalil asetat (%16.1) ve β -karyofillen (%7.1) ana bileşik olarak bulunmuştur (Mirza vd., 2005). Charmahal ve Bakhtiari örneğinde de bisiklogermakren (%21.1), α -pinen (%15.5), 1,8-sineol (%11.0), sabinen (%10.6), β -pinen (%9.2), spathulenol (%8.2) ana bileşik olarak bulunmuştur (Sajjadi ve Shahpiri, 2004).

Türkiye'de Erzurum'dan toplanan *S. limbata* örneğinde sabinen (%17.4), 1,8-sineole (%12.6), α -pinen (%11.2), β -pinen (%10.0) ve bisiklogermakren (%7.8) ana bileşik olarak bulunurken Van'dan toplanan örnekte α -pinen (%24.3), β -pinen (%20.9), sabinen (%14.6) ana bileşik olarak bulunmuştur (Kürkçüoğlu vd., 2005).

Erzurum'dan toplanan başka bir örnek ile (Öğütçü vd., 2008) tezde çalışılan örneğin ana bileşiği spatulenol olarak bulunmuştur. Erzurum'dan iki farklı lokaliteden toplanan örneklerin ana bileşikleri de farklı bulunmuştur (Öğütçü vd., 2008; Kürkçüoğlu vd., 2005).

Tez kapsamında çalışılan *S. limbata* uçucu yağında % 12.1 bulunan 8,13-epoksi-15,16-dinor-labd-12-en daha önce *Cistus parviflorus* uçucu yağında % 3.34 bulunmuştur. Ayrıca, *C. parviflorus* uçucu yağında labdan türevlerinden 8,13-epoksi-15,16-dinorlabdan % 0.10, 8 α -13-oksi-14-en-epilabdan % 18.24 bulunmuştur. *Cistus laurifolius* uçucu yağında ise 8 α -13-oksi-14-en-epilabdan % 0.62 bulunmuştur (Tetik, 1996).

Tablo 5.2. *Salvia limbata* ile yapılmış çalışmalar ile tez verisinin karşılaştırması

<i>Salvia limbata</i> Lokalite	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Ana Bileşikler %	Kaynaklar
Erzurum, Türkiye	Herba	spatulenol (%29.3), sıklareol oksit % 14.8, β -ödesmol (%7.4) ve 1,8-sineol (% 3.2)	Öğütçü vd., 2008
Van, Türkiye	Herba	α -pinen (%24.3), β -pinen (%20.9), sabinen (%14.6), 1,8-sineole (%8.9) ve bisiklogermakren (% 6.3)	Kürkçüoğlu vd., 2005
Erzurum, Türkiye	Herba	sabinen (%17.4), 1,8-sineole (%12.6), α -pinen (%11.2), β -pinen (%10.0) ve bisiklogermakren (%7.8)	Kürkçüoğlu vd., 2005
Tehran, İran	Herba	germakren D (%25.7), linalol (%17.5), linalil asetat (%16.1) ve β -karyofillen (%7.1)	Mirza vd., 2005
Mazandaran, İran	Herba	karyofillen oksit (%11.5), terpinen-4-ol (%8.9), sabinen (%8.3) ve spatulenol (% 8.1)	Morteza-Semnani vd., 2014
Charmahal ve Bakhtiari, İran	Herba	bisiklogermakren (%21.1), α -pinen (%15.5), 1,8-sineol (%11.0), sabinen (%10.6), β -pinen (%9.2), spatulenol (%8.2), β -karyofillen (%5.3)) ve δ -elemen (%5.1)	Sajjadi ve Shahpiri, 2004
Takab, Batı Azerbaycan, İran	Herba	α -pinen (%24.4), β -pinen (%21.9), 1,8-sineole (%7.7) ve trans-karyofillen (% 5.2)	Salehi vd., 2008
Mashhade Ardehal, Kashan, İran	Herba	trans-karyofillen (%9.9), 1,8-sineole (%9.2), spatulenol (%8.1), β -pinen (%5.8) ve α -terpinolen (%5.3)	Salehi vd., 2008
Nahçıvan, Azerbaycan	Herba	spatulenol % 21.6, germakren D % 19.6, bisiklogermakren % 17.1, 8,13-epoksi-15,16-dinor-labd-12-en % 12.1 ve 1,8-sineol % 5.3	Tez Çalışması

5.2. Hidrolatlar

N. betonicifolia hidrolatının % 89.4'üne karşılık gelen 36 bileşik belirlenmiştir. Hidrolatın % 72.1'ini oksijenli monoterpenler, % 4.7'sini oksijenli seskiterpenler, % 1.2'sini monoterpen hidrokarbonlar ve % 11.4'ünü diğer bileşikler oluşturmaktadır.

S. limbata hidrolatının analiz sonucunda 55 bileşiğe karşılık gelen hidrolatın % 89.3'ü belirlenmiştir. Hidrolatın % 71.2'sini oksijenli monoterpenler, % 6.6'sını oksijenli seskiterpenler, % 1.2'sini monoterpen hidrokarbonlar ve % 10.3'ünü diğer bileşikler oluşturmaktadır.

Bu türler üzerinde daha önce hidrolatlar ile yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Tez kapsamında yapılmış olan ilk çalışmadır.

5.3 Biyolojik Aktivite

5.3.1. Antioksidan Aktivite

Tez çalışması kapsamında taranan kaynaklarda *Nepeta betonicifolia* ile yapılmış antioksidan aktivite çalışmasına rastlanmamıştır.

Yılmaz (2011) *Nepeta sorgerae* ve *Nepeta obtusicrena*'nın metanol ve diklorometan ekstralarının antioksidan aktivitelerine bakmışlar, standartlarla kıyaslandıklarında orta derecede etkili olduğunu bulmuşlardır (Yılmaz, 2011).

Tekin (2018) *Nepeta congesta* var. *congesta* ile yapmış olduğu tez çalışmasında antioksidan ve enzim inhibitör aktiviteye bakmıştır. Antioksidan aktivite için total antioksidan kapasite, DPPH, ABTS, demir ve bakır indirgeme ve metal şelatlama metotlarını kullanmıştır. Bu çalışmasının sonucunda *N. congesta* var. *congesta*'nın metanol ekstresinin enzim inhibisyon ve antioksidan aktivitesinin olduğunu belirlemiştir (Tekin, 2018).

Savcı vd. (2020) *Nepeta transcaucasica*'nın etanol ekstresi ile dört farklı metot kullanarak yaptıkları antioksidan aktivite çalışmasında ekstrenin standart antioksidanlara yakın aktiviteye sahip olduğunu belirlenmişlerdir (Savcı vd., 2020).

Öğütçü vd. (2008) *S. limbata* ve *S. sclarea* uçucu yağlarının antioksidan aktivitesine iki metot kullanarak (DPPH ve linoleik asit oksidasyonu) bakmışlardır. Kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan BHT (%96±1)'e karşı, β-karoten/linoleik asit sistem seviyeleri sırası ile % 85,1±1 ve % 76,6±1 olarak tespit etmişlerdir. Bu

bitkilerin uçucu yağlarında antioksidan aktivite görülmemiş fakat metanol ekstralarında düşük aktivite gözlemlenmiştir (Öğütçü vd., 2008).

Salvia verticillata subsp. *amasiaca*'nın metanol ekstresinin antioksidan kapasitesine farklı metotlarla bakılmış ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bayan ve Genç, 2016).

Tez kapsamında yapmış olduğumuz antioksidan aktivite çalışmasında bitkisel materyalin azlığı ve yağ miktarının az olması nedeni ile daha yüksek konsantrasyonda çalışma yapılamamıştır. Çalıştığımız konsantrasyonlarda antioksidan aktivite görülmemiştir.

5.3.2. Antikandidal ve Antibakteriyel Aktivite

N. betonicifolia uçucu yağında geranil asetat % 48.8, geraniol % 9.1 ve spatulenol % 9.1; *S. limbata* uçucu yağında ise spatulenol % 21.6, germakren D % 19.6, bisiklogermakren % 17.1, 8,13-epoksi-15,16-dinor-labd-12-en % 12.1 ve 1,8-sineol % 5.3 ana bileşik olarak GC-GC/MS analizinde bulunmuştur. *Nepeta betonicifolia* uçucu yağının *S. aureus* ve *S. typhimurium* şuşlarına karşı belirgin olarak gözlenen inhibe edici etkinin *S. limbata*'nın aksine bileşiminde yüksek miktarlarda bulunan geranil asetat, geraniol'den ileri geldiği düşünülebilir.

Öğütçü vd. (2008) *S. limbata* ve *S. sclarea* uçucu yağlarının bazı mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ancak bakterilere karşı aktivitesinin olmadığını belirtmişlerdir (Öğütçü vd., 2008).

Paknejadi vd. (2012) içerisinde *S. limbata*'nın da bulunduğu beş *Salvia* türünün uçucu yağlarını elde ederek bunların antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlardır. Bu türlerden *S. multicaulis* ve *S. sclarea*'nın iyi derecede antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Paknejadi vd., 2012).

İravani vd. (2020) dört *Salvia* türü (*S. limbata*, *S. ceratophylla*, *S. reuteriana* ve *S. syriaca*) üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışması yapmıştır. Çalışma sonuçlarına göre *S. reuteriana* diğer *Salvia* türlerine göre en yüksek sitotoksositeye sahip olmuştur. Bundan başka incelenen tüm ekstraktlar zayıf ila orta derecede antioksidan aktivite göstermiştir (İravani vd., 2020).

Firuzi vd. (2013) İranın farklı bölgelerinden onbir *Salvia* türünü toplamış (*S. aegyptiaca*, *S. aethiopsis*, *S. atropatana*, *S. eremophila*, *S. hypoleuca*, *S. limbata*, *S. nemorosa*, *S. santolinifolia*, *S. sclarea*, *S. syriaca*, *S. xanthocheila*), sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlardır. *S. limbata*, *S. hypoleuca* ve *S. aethiopsis* 'in diklorometan ekstraktları test edilen hücre hatlarına karşı önemli ölçüde sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan aktivite açısından test edilen bitkiler arasında *S. nemorosa*, *S. atropatana*, *S. santolinifolia* ve *S. eremophila* aktivitesi en yüksek olan *Salvia* türleri olarak belirlenmiştir (Firuzi vd., 2013).

İşcan (2017) uçucu yağların içerdiği bileşiklerin antikandidal ve antibakteriyal aktiviteleri üzerine yapmış olduğu çalışmada tez kapsamında çalışılan yağların ana bileşiklerinden olan geraniol, geranil asetat, 1,8-sineol ve spatulenol'ün düşük aktiviteye sahip olduğunu bulmuştur (İşcan, 2017). Bu nedenle yağın bileşimindeki maddelerin birbirlerinin etkisini arttırdığı, yağın doğrudan kullanımının uçucu yağı oluşturan ana etkili bileşiklerin ayrı olarak kullanımlarına oranla test edilen mikroorganizmalar üzerinde farklı etkileri olabileceği düşünülebilir.

Table 5.3. *N. betonicifolia* ve *S. limbata* uçucu yağlarında bulunan ana bileşiklerin biyolojik aktiviteleri

Sekonder Metabolitler	Biyolojik Aktiviteler	Kaynaklar
Bisiklogermakren	Larvisidal, radikal süpürücü etki	Tosun vd., 2023
8,13-Epoksi-15,16-dinor-labd-12-en	Aktivite çalışması bulunamamıştır.	-
Geraniol	Antidiyabetik, kalbi koruyucu, antitümör, antidepresan, insektisidal, antienflamatuar, antibakteriyel, antioksidan	Lira vd., 2020
Geranilasetat	Antibakteriyel, antifungal	Capelezzo vd., 2022
Germakren D	Sitotoksik, antioksidan, böceköldürücü, böcekcezb edici, antibakteriyel	Tosun vd., 2023
1,8-Sineol	Antienflamatuar, antioksidan,	Cai vd., 2021
Spatulenol	Antioksidan, antibakteriyel, antiproliferatif, antikanseröz, antienflamatuar, immünomodülatör	Aggarwal vd., 2018

Bu tez kapsamında; Azerbaycan'da daha önce üzerinde çalışma yapılmadığı belirlenen ve tez materyalleri olarak seçilen bu iki türün uçucu yağları ve hidrolatları elde edilerek bileşimleri belirlenmiş, uçucu yağların antioksidan, antikandidal ve antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır.

KAYNAKÇA

- Aggarwal, V., Varghese, J. ve Joshi, N. (2018). Antioxidant potential of fruit peel waste of two species of annonaceae and detection of spathulenol and β -pimaric acid as major bioactive compounds by GC-MS. *Journal of Current Pharma Research*, 9 (1), 2695-2715.
- Akdeniz, M., Ertaş, A., Yener, İ., Fırat, M., Kolak, U. (2020). Phytochemical and biological investigations on two *Nepeta* species: *Nepeta heliotropifolia* and *N. congesta* subsp. *cryptantha*. *Journal of Food Biochemistry*, 13124
- Aliyeva, S. (Sənəm Eldar qızı Əliyeva). (2017). *Salvia L. Cinsinə ait bəzi türlərin farmakognozik araşdırılması (Salvia L. cinsinə aid bəzi növlərin farmakognostik tədqiqi)*, Doktora tezi, Azərbaycan.
- Anon. (1998). Solid Phase Microextraction: Solventless Sample Preparation of Monitoring Flavor Compounds by Capillary Gas Chromatography. *Supelco Bulletin* 869 A, Sigma-Aldrich Co.1-7
- Askerov, A. (2016). *Azərbaycan'ın Bitki Alemi* (Ed. Tariyel Talıbov), TEAS Press Yayın evi, Bakü, Azərbaycan.
- Başer, K.H.C., Özek, T., Tümen, G., Sezik, E. (1993). Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance. *Journal of Essential Oil Research*, 5 (6), 619-623.
- Başer, K., Kırımer, N. (2018). Essential oils of Anatolian Lamiaceae-an update. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 5 (4), 1-28.
- Başer, K.H.C. (1999). *Essential Oil Extraction from Natural Products; Non-Traditional Methods, Training Course on Process Simulation and Essential Oil Extraction from Aromatic Plants*, Trieste-Italy
- Başer, K.H.C., Özek, T., Demirci, B. and Tümen, G. (2001) Composition of the Essential oil of *Nepeta betonicifolia* C.A. Meyer from Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 13, 35-36.
- Bayan, Y. ve Genç N. (2016). *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca*'nın toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5 (2), 158-166.
- Cai, Z.-M., Peng, J.-Q., Chen, Y., Tao, L., Zhang, Y.-Y., Fu, L.-Y., Long Q.-D. and Shen, X.-C. (2021). 1,8-Cineole: A review of source, biological activities, and application. *Journal of Asian natural products research*, 23 (10), 938-954.

- Capelezzo, A. P., Celuppi, L. C. M., Camerini, T., Macuvele, D. L. P., Zeferino, R. C. F., Mello, J. M. M. D., Riella, H. G. and Fiori, M. A. (2022). Antimicrobial bentonite by the addition of geranyl acetate for aflatoxin B1 adsorption. *Research, Society and Development*, 11(2), e12411225647-e12411225647.
- Celenk, S., Dirmenci, T., Malyer, H., Bıçakcı, A. (2008). A palynological study of the genus *Nepeta* L.(*Lamiaceae*). *Plant systematics and evolution*, 276(1-2), 105-123.
- Celep, F. Ve Kahraman A. (2012). *Salvia*. In: Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Edits., Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T., Eds.; Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, Türkiye, pp. 575-585.
- Celep, F., Dirmenci, T. (2017). Systematic and Biogeographic overview of *Lamiaceae* in Turkey. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 4 (4), 14-27.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard* Seventh Edition. CLSI document M7-A7 (ISBN 1-56238-587-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
- Çetin, D.N. (2019). *Bitkisel Drog Monografi Hazırlanması: Mentha spicata L.*, Yüksek Lisans Tezi. (Danışman Gökalep İşcan)
- Davis, P.H. (1982). *Flora of Turkey and East Eagean Island*, Vol. 7., Edinburgh University Press, Edinburgh, p.36.
- Dirmenci, T. (2005). A new subspecies of *Nepeta* (*Lamiaceae*) from Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147 (2), 229-233
- Dirmenci, T. (2012). *Nepeta*. In: Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Edits., Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T., Eds.; Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, Türkiye, pp. 564-568.
- Formisano, C., Rigano, D. an, Senatore, F. (2011). Chemical constituents and biological activities of *Nepeta species*. *Chemistry & Biodiversity*, 8 (10), 1783-1818.
- Firuzi, O., Miri, R., Asadollahi, M., Eslami, S., & Jassbi, A. R. (2013). Cytotoxic,

- antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia* species from Iran. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR, 12 (4), 801-810.
- Hedge, I.C. (1982). *Salvia* L. In: P.H. Davis (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.7. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh. pp. 400, 450-451.
- Hedge, I.C. and Lamond, J.M. (1982). *Nepeta* L. In: P.H. Davis (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.7. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh. pp. 264, 277-278.
- Hussain, H., Al-Harrasi, A., Green, I.R. (2016). Chapter 73 - Pune-sa (*Nepeta*) Oils, (Ed.) Victor R. Preedy. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, Academic Press, 641-648.
- İpek, A. ve Gürbüz, B. (2010). Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19 (1-2), 30-35.
- İravani, M., Mahinpour, R., Zahraei, Z., Toluei, Z., Asgari, F., & Haghhighipour, N. (2020). Comparison of cytotoxic and antioxidant activities and phenol content of four *Salvia* L. species from Iran. Journal of Medicinal Plants, 19 (76), 59-68.
- İşcan, G. (2009). *Bazı doğal aromatik maddelerin mikrobiyal transformasyonu ve biyolojik etkileri*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir.
- İşcan, G. (2017). Antibacterial and anticandidal activities of common essential oil constituents. Rec. Nat. Prod., 11 (4), 374-388.
- Kalender, S. (2020). (Danışman Alper Gökbulut). *Nepeta cadmea* Boiss. Üzerinde Farmakognozitik Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Karyagin, İ.İ. (1957a). *Azerbaycan Florası*, Azerb Elmler Akadem Naşriyyatı, Bakü, *Salvia limbata* sy. 342-343,
- Karyagin, İ.İ. (1957b). *Azerbaycan Florası*, Azerb Elmler Akadem Naşriyyatı, Bakü, *Nepeta betonicifolia* sy. 260-261.
- Kılıç, Ö. (2018). Essential Oil and Fatty Acid Composition of Leaves of Some *Lamiaceae* Taxa From Turkey, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21 (6), 1706-1711.
- Koyuncu, O., Yaylacı, Ö.K., Öztürk, D., Erkara, İ.P., Savaroğlu, F., Akçoşkun, Ö., Ardiç, M. (2010). Osmaneli (Bilecik-Türkiye) ve çevresinde doğal yayılış gösteren *Lamiaceae* taksonlarının risk kategorileri ve etnobotanik özellikleri,

- Biological Diversity and Conservation, 3 (3), 31-45.
- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. (2007) Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytother Res* 21(7),615-621.
- Kürkçüoğlu, M. (1995). *Türk Gül Yağı, Konkretileri ve Absolüsünün Üretimi ve Özellikleri*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Kürkçüoğlu, M., Demirci, B., Baser, K.H.C., Dirmenci, T., Tümen, G. and Özgen, U. (2005). The essential oil of *Salvia limbata* C.A. Meyer growing in Turkey, *J. Essent. Oil Res.*, 17, 192-193.
- Lira, M.H.P.D., Andrade Júnior, F.P.D., Moraes, G.F.Q., Macena, G.D.S., Pereira, F.D.O. and Lima, I.O. (2020). Antimicrobial Activity of Geraniol : an Integrative review. *Journal of Essential Oil Research*, 32 (3), 187-197.
- Mammadova, Z., Mammadov, R. (2014). Nahcivan Özerk Cumhuriyeti (Azerbaycan) Arazisinde Yayılış Gösteren *Nepeta* L. Türleri. *AKÜ FEMÜBİD-AKÜ J. Sci. Eng.*, 14, 1-6.
- Mirza, M., Mozaffarian, V. and Nik, Z.B. (2005). Composition of the essential oil of *Salvia limbata* C.A. Mey, *J. Essent. Oil Res.*, 17, 10-11.
- Morteza-Semnani, K., Saeedi, M. and Akbarzadeh, M. (2014). Chemical Composition of the Essential Oil of *Salvia limbata* C. A. Mey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17 (4), 623-628.
- Mükemre, M., Behçet, L., & Çakılcıoğlu, U. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361–374.
- NCCLS (CLSI), National Committee for Clinical Laboratory Standards ((2002). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Edition. NCCLS document M27-A2 (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
- NCCLS (CLSI) National Committee for Clinical Laboratory Standards (2006). M7-A7, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Seventh Edition Approved Standard.
- Öğütçü, H., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M. Ve Serkedjieva (2008).

- Bioactivities of the Various Extracts and Essential Oils of *Salvia limbata* C.A.Mey. and *Salvia sclarea* L., Turk J. Biol.,32, 181-192.
- Paknejadi, M., Foroohi, F. ve Yousefzadi, M. (2012). Beş *Salvia* türünün uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. *Biyobilimlerdeki Gelişmeler Arşivi* , 3 (2), 12-18.
- Pawliszyn, J. (1997). *Solid Phase Microextraction-Theory and Practice*, Willey-VHC, New York, USA.
- Sajjadi, S.E. and Shahpiri Z. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Salvia limbata* C. A. Mey., *Daru*, 12, 94-97.
- Salehi, P., Sonboli, A., Dayeni, M., Eftekhari, F. and Yousefzadi, M. (2008). Chemical composition of essential oils of *Salvia limbata* from two different regions in Iran and their biological activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 44 (1).
- Salehi, P., Sonboli, A., Khaligh, P., ve Mirzajani, F. (2012). Essential oil composition and antioxidant activity of different extracts of *Nepeta betonicifolia* C.A. Meyer and *Nepeta saccharata* Bunge, *Natural Product Research*, 26 (8), 736-743.
- Salimov, R., Karimov, V., Babayeva, Z., Gasimova, G., Aliyeva, Z., Akbarova, A., Fatdayeva, A., Nabilieva, P., Isgandarova, L. and Hajiyeva, S. (2018). Vascular plants of Azerbaijan: a nomenclatural update and survey of *Lamiaceae* L. *Plant and Fungal Research*, 1 (1), 69-85.
- Savaş Tetik, Ş. (1996). *Cistus laurifolius* L. ve *Cistus parviflorus* Lam. Uçucu Yağlarının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Savcı, A., Koçpınar, E. F., Alan, Y. ve Kürşat, M. (2020). *Nepeta transcaucasica* Grossh.(kaf pisikotu)Estraktının HPLC ile Fenolik Madde İçeriğinin Tayini, Antimikrobiyal, Antioksidan ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (2), 797-803.
- Schulz,, H. (1997). Improving the quality of essential oil plants through cultivation. *Dragoco Report*, 6, 225-243
- Senatore, F. ve Özcan, M. (2003). Composition of the Essential oil of *Nepeta betonicifolia* C. A. Meyer (*Lamiaceae*) from Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 15, 200-201.
- Sharma, A. and Cannoo, D.S. (2013). Phytochemical composition of essential oils isolated from different species of genus *Nepeta* of *Labiatae* family: A Review.

- Pharmacopore, 4 (6), 181-211.
- Supelco - Bulletin 923 (1998). Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions.
- Süntar, I., Nabavi S.M., Barreca, D., Fischer, N., Efferth, T. (2018). Pharmacological and chemical features of *Nepeta* L. genus: Its importance as a therapeutic agent. *Phytotherapy Research*, 32(2), 185-198.
- Tanker N., Koyuncu M. ve Coşkun M. (2004). *Farmasötik Botanik*. Ankara:Ankara Üniversitesi Basımevi, p.: 301-307.
- Tekin, Z. (2018). *Türkiye İçin Endemik Bir Tür Olan Nepeta congesta var. congestanın (Lamiaceae) Antioksidan Özelliklerinin ve Enzim İnhibitör Etkisinin Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.S., Polissiou, M., Sokmen, A. (2007). Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. *Food Chemistry*, 103, 1358-1364.
- Tosun, F., Göger, F., İşcan, G., Kürkçüoğlu, M., Kuran, F.K. ve Miski, M. (2023). Biological Activities of the Fruit Essential Oil, Fruit, and Root Extracts of *Ferula drudeana* Korovin, the Putative Anatolian Ecotype of the Silphion Plant. *Plants*, 12, 830.
- Yıldız, G. (2020) *Origanum minutiflorum*, *O. Schwarzed*, *P.H. Davis zerine Farmakognozik Araştırmalar*, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Yılmaz, A. (2011). *Nepeta sorgerae* ve *Nepeta obtusirena* Bitkilerinin Antioksidan ve Anti-Alzheimer Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Welkhoff, P., Brennecke, S., Bretschneider, W. (1998). Modern methods and extraction techniques isolating volatile flavor compounds. *Contact*, 2, 16-23.