

Bazı *Salvia L.* Türlerinin Antioksidan Aktiviteleri ve Toplam Fenol İçerikleri

İlham ERÖZ POYRAZ^{1*}, Meryem KARADENİZ², Nilgün ÖZTÜRK²

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötük Botanik Anabilim Dalı, 26470 Eskişehir, TÜRKİYE

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 26470 Eskişehir, TÜRKİYE

*Sorumlu Yazar

E-posta: ieroz@anadolu.edu.tr

Geliş Tarihi: 15 Kasım 2018

Kabül Tarihi: 29 Aralık 2018

Özet

Bu çalışmada Eskişehir ve çevresinde doğal yayılış gösteren Lamiaceae familyasına ait *Salvia aethiopsis* L., *S. virgata* Jacq. ve endemik *S. dichroantha* Stapf türlerinin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol (MeOH) ve etil asetat (EtOAc) ekstraktları ile %2'lik infüzyonlarının, Folin Ciocalteu metodu ile toplam fenolik madde miktarları ile DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) üzerinden serbest radikal süpürücü etkileri ve β -karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Toplam fenolik madde içerikleri bakımından incelenen bitkilerin etil asetat ekstraktlarının polifenolik bileşiklerden dolayı diğer ekstraktlara göre daha zengin olduğu, en zengin ekstre ise *S. dichroantha* etil asetat ekstresi (299.18 ± 10.36 mg/g GA eşdeğeri) olarak tespit edilmiştir. Ekstrelerin DPPH üzerinden hesaplanan antiradikal aktiviteleri karşılaştırıldığında, *S. aethiopsis*'in %2'lik infüzyonu (%74.75 \pm 0.44; BHT (Bütillenmiş hidroksitoluol): %25.44 \pm 1.97) en aktif bulunmuştur. β -karoten/linoleik asit sisteminde ise standart antioksidan BHT'ye en yakın absorbansa sahip ekstre *S. aethiopsis* metanol ekstresi olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Salvia* L., toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, DPPH, β -karoten/linoleik asit.

GİRİŞ

Salvia L. cinsi dünyada 1000 kadar, ülkemizde 100 tür ile temsil edilen Lamiaceae familyasının en büyük cinslerinden biridir [1, 2]. Cins ülkemizde geniş yayılışa ve yüksek endemizm oranına sahiptir. "Adaçayı" *Salvia* L. türlerinin birçoğunun ortak adıdır ve bu türlerin yaprakları ilk çağlardan beri tedavide kullanılmaktadır. Ülkemiz, *Salvia* türleri kullanımı ve ihracatı açısından önemli bir yere sahiptir [3, 4]. Dünyada kullanılışı en yaygın olan tür *Salvia officinalis* L. (tıbbi adaçayı)'in yapraklarından hazırlanan infüzyon (%1-5) dahilen ya da haricen gargara olarak ağız enfeksiyonlarının tedavisinde, ayrıca dispepsi, mide krampları, antihidrotik, mide ağrılarına ve soğuk algınlığına karşı etkilidir [5]. Türler içerdikleri uçucu yağlar, terpenoidler ve fenolik maddeler sayesinde birçok ülkenin farmakopesine girmiştir [6]. Özellikle *S. officinalis* ve ekstraktları gıda endüstrisinde bozunmayı önleyici antioksidan kaynağı olarak ve uçucu yağları kozmetik sanayisinde [7-10] kullanılmaktadır. Rosmarinik asit başta olmak üzere *Salvia* türlerinde bulunan tüm fenolik asitler antioksidan etkinliğe sahiptir [3,6, 11-15].

Bu çalışmada, Eskişehir ve çevresinde doğal yayılış gösteren *S. aethiopsis*, *S. virgata* ve *S. dichroantha* (endemik) türlerinin çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol (MeOH) ve etil asetat (EtOAc) ekstraktları ve %2'lik infüzyonlarının, toplam fenolik madde miktarları ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) üzerinden serbest radikal süpürücü etkileri ve β -karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan aktiviteleri ortaya konmuştur.

MATERYAL ve METOT

Bitkisel Matertal

Çalışılan türlerin toplanma yerleri, tarihleri ve herbaryum numaraları (ESSE) aşağıda verilmiştir:

S. aethiopsis: Eskişehir: Kızılınler, Hakkı Bey'in çiftliği, 23 Mayıs 2004, Leg.: İlham Eröz, Det.: İlham

Eröz, ESSE 13326.

S. virgata: Eskişehir: Gümele-Akpınar arası, taş ocağı mevki, 30 Mayıs 2005, Leg.: İlham Eröz, Det.: İlham Eröz, ESSE 13268.

S. dichroantha: Eskişehir: Kızılınler, Hakkı Bey'in çiftliği, 23 Mayıs 2004, Leg.: İlham Eröz, Det.: İlham Eröz, ESSE 13321.

Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılan *Salvia* türlerinin toprak üstü kısımları gölgede kurularak toz edilmiştir. Her 3 drog içinde aynı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yaklaşık 30 g toz drog Soxhlet cihazında önce yağlarından kurtarılacak üzere petrol eteri (40-60°C) ile 8 saat ekstre edilmiş, geride kalan drog, petrol eteri uzaklaştırıldıktan sonra 2 kısma ayrılmıştır. İlk kısım %70'lik MeOH ile 40°C'deki su banyosunda 30 dakika (4 kez) ekstre edilmiş, süzüntüler 40°C'de alçak basınç altında metanolden kurtarıldıktan sonra sulu kısım liyofilize edilmiştir (Met). İkinci kısım aynı şekilde metanol ile ekstre edildikten ve süzüntüler 40°C'de alçak basınç altında metanolden kurtarıldıktan sonra sulu kısım EtOAc ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş (4 kez) ve ayrılan EtOAc fazı rotavaporda yoğunlaştırılmıştır (EtOAc). Ayrıca çalışmada türlerin, farmakopelerde belirtildiği gibi %2'lik infüzyonları hazırlanmıştır. Her ekstre için kuru baz üzerinden %'lik verim hesaplanmış ve bu şekilde her 3 bitki için elde edilen ekstraktlar aktivite tayinlerinde kullanılmıştır.

Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini

Ekstreler içindeki toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir [16]. Bütün örnekler ve standart olarak kullanılan gallik asit %50'lik metanolde çözülmüştür. 0.5 mL örnek, 2.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 7.5 mL'lik sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltilerin absorbans değerleri 750 nm'de spektrofotometrede okunmuş, toplam fenol miktarı gram

ekstrede mg gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

Test edilen *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrlerden hazırlanan çözeltilerinin DPPH üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Sanchez-Moreno ve arkadaşlarının (1998) [17] modifiye edilmiş yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Metanol içinde hazırlanmış 0.1, 0.2 ve 0.4 mL'lik örnek çözeltileri (reaksiyon ortamındaki örnek konsantrasyonları 9.6×10^{-4} - 3.6×10^{-3} µg/mL) üzerine, metanolde hazırlanmış 3 mL DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek vortekste 30 saniye karıştırılmış ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika bekletilen çözeltilerin 517 nm'de absorpsiyon değerleri kaydedilmiş, serbest radikal süpürücü etkisi (Antioksidan İndeks) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Kontrol absorpsiyonu} - \text{Örneğin absorpsiyonu}}{\text{Kontrol absorpsiyonu}} \times 100$$

Radikal süpürücü etkisi konsantrasyona karşı korele edilmiş ve %'lik inhibisyon değerleri belirlenmiştir. Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmış, referans madde olarak BHT (Bütillenmiş Hidroksitoluol) kullanılmıştır.

β-karoten/Linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntem β-karoten ve linoleik asidin sulu emülsiyon sisteminde ısı yardımıyla oksidasyonunun indüklenmesi esasına dayanır. Bu çalışmada Koleva ve ark. (2002) [18]'nin yöntemi kullanılarak β-karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Her bir deney 3 kez tekrarlanmış, sonuçlar zamana (dakika) karşı okunan absorpsiyon değerleri olarak grafiğe geçirilip, antioksidan aktivite ekstre aşığıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve sentetik antioksidan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan Aktivite} = 100 \times [1 - (A_s^0 - A_s^{180}) / (A_k^0 - A_k^{180})]$$

A_s^0 = Örneğin başlangıçtaki absorpsiyonu (470 nm)

A_s^{180} = Örneğin 180 dakika sonraki absorpsiyonu (470 nm)

A_k^0 = Kontrolün başlangıçtaki absorpsiyonu (470 nm)

A_k^{180} = Kontrolün 180 dakika sonraki absorpsiyonu (470 nm)

TARTIŞMA ve SONUÇ

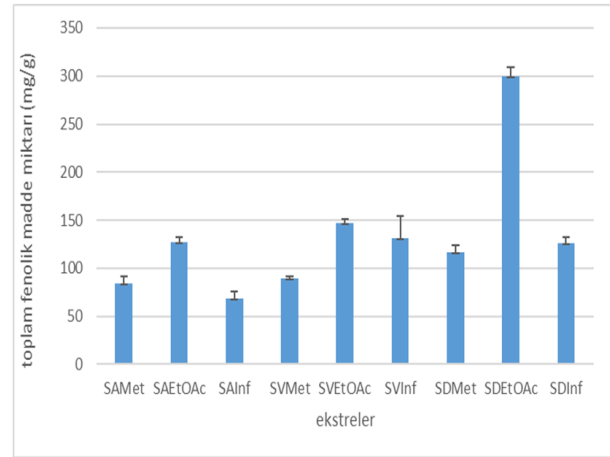
Çalışılan *Salvia* türlerine ait ekstrlerin kuru baz üzerinden hesaplanan verimleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Çizelgeye göre türlerden hazırlanan metanol ekstrlerinin diğer ekstre/infüzyonlara göre daha fazla verime sahip olduğu görülmektedir. En yüksek verime sahip metanol ekstresi *S. dichroantha* (SDMet) olarak tespit edilmiştir. Çalışılan ekstrlerin Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gallik asit üzerinden (GAE) hesaplanan toplam fenolik madde miktarları da Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışılan *Salvia* türlerinden elde edilen metanol, etil asetat ekstrleri ile %2'lik infüzyonlarının toplam fenolik madde konsantrasyonları Şekil 1'de verilmiştir. En yüksek konsantrasyona göre ekstrlerin toplam fenolik madde miktarları şu şekilde sıralanmaktadır: SDEtOAc >

SVEtOAc > SVInf > SAEtOAc > SVMet > SDInf > SDMet > SVMet > SAMet > SAInf.

Tablo 1. Çalışılan *Salvia* türlerinin ekstre verimleri ve toplam fenolik madde miktarları

Bitkisel materyal	Ekstreler	% Ekstre Verimi	Toplam fenolik madde konsantrasyonu (mg/g)
<i>S. aethiopsis</i>	SAMet	13.65	84.31 ± 6.72
	SAEtOAc	4.11	126.60 ± 5.38
	SAInf	7.12	68.39 ± 7.49
<i>S. virgata</i>	SVMet	14.5	89.41 ± 2.50
	SVEtOAc	5.62	146.45 ± 4.50
	SVInf	8.07	131.53 ± 22.26
<i>S. dichroantha</i>	SDMet	16.99	116.14 ± 8.14
	SDEtOAc	8.90	299.18 ± 10.36
	SDInf	5.73	125.80 ± 6.35

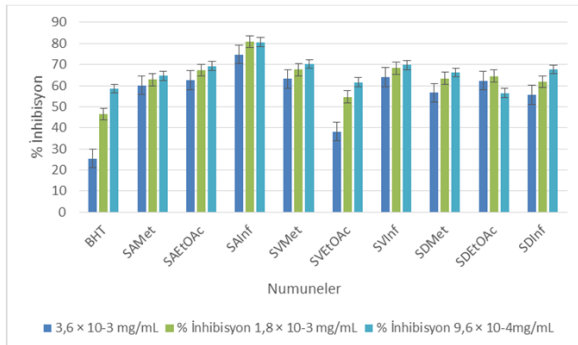


Şekil 1. Çalışılan *Salvia* ekstrlerinin toplam fenolik madde miktarları

Genel olarak, kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid oksidasyona karşı gösterdikleri antioksidan aktivitelerinin sonucudur. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivite tayini, hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa, en ucuz yöntemlerden birisidir [19]. Bu yöntemle *Salvia* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanol ve etil asetat ekstrleri ile %2'lik infüzyonlarının antiradikal aktiviteleri DPPH serbest radikali üzerinden tayin edilmiştir. Sonuçlar test edilen konsantrasyonlarda yüzde inhibisyon olarak değerlendirilmiş, sentetik antioksidan BHT'nin değerleriyle karşılaştırılmıştır. Örneklerin serbest radikal süpürücü aktiviteleri Tablo 2'de ve ilgili grafik Şekil 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışılan *Salvia* ekstrlerinin DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktiviteleri (yüzde inhibisyon)

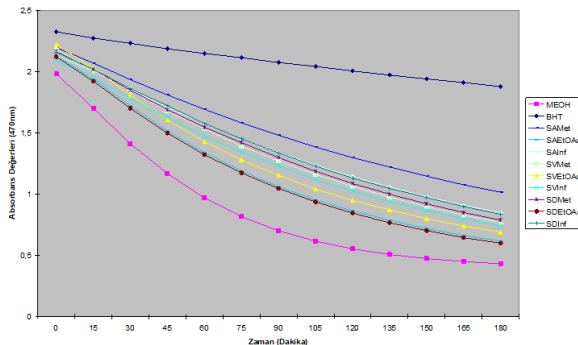
Ekstreler	Yüzde İnhibisyon		
	$3,6 \times 10^{-3}$ µg/mL	$1,8 \times 10^{-3}$ µg/mL	$9,6 \times 10^{-4}$ µg/mL
BHT	25,44±1,97	46,50 ± 0,28	58,55 ± 0,66
SAMet	60,16±0,09	62,82 ± 0,18	64,68 ± 0,18
SAEtOAc	62,61±0,1	67,31 ± 0,48	69,33 ± 0,1
SAInf	74,75±0,44	80,78 ± 1,09	80,62 ± 0,22
SVMet	63,16±0,48	67,56 ± 0,96	70,26 ± 0
SVEtOAc	38,23±0,54	54,63 ± 0	61,55 ± 0,18
SVInf	64,14±0,1	68,32 ± 0,78	69,76 ± 0,68
SDMet	56,60±0,09	63,48 ± 0,18	66,24 ± 0,27
SDEtOAc	62,35±0,74	64,52 ± 1,21	56,49 ± 6,8
SDInf	55,71±1,35	61,82 ± 2,07	67,67 ± 0,09



Şekil 2. Farklı konsantrasyonlardaki numunelerin DPPH radikal süpürücü etki tayinine göre inhibisyon yüzdeleri

Çalışılan ekstrelerin inhibisyon yüzdeleri $3,6 \times 10^{-3}$ konsantrasyonda şu şekilde azalmaktadır: SAInf > SVInf > SVMet > SAEtOAc > SDEtOAc > SAMet > SDMet > SDInf > SVEtOAc > BHT. Buna göre antioksidan etkinliği en fazla olan *S. aethiopsis*'in %2'lik infüzyonudur.

β -karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini, emülsiyondaki linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin β -karoten ile reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içinde kaybolmasına dayanır. Antioksidan madde varlığı rengin açılmasını önler [20]. β -karoten/linoleik asit sisteminde 3 saat boyunca β -karotenin solmasının önlenmesi yüksek antioksidan aktivitenin varlığını göstermektedir. Bu yöntemle çalışılan *Salvia* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanol ve etil asetat ekstreleri ile infüzyonlarının antioksidan aktiviteleri ölçülmüş ve sonuçlar sentetik antioksidan olan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılmış ve numunelerin adsorbansının zamana bağlı değişimi Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. β -karoten/linoleik asit sisteminde numunelerin adsorbansının zamana bağlı değişimi

β -karoten/linoleik asit sisteminde standart antioksidan BHT baz alındığında antioksidan aktivite sırası şu şekildedir: BHT > SAMet > SAInf > SDInf > SDMet > SVMet > SVInf > SVEtOAc > SAEtOAc > SDEtOAc. Buna göre bitkilerin etil asetat ekstreleri β -karoten/linoleik asit sisteminde düşük aktivite gösterirken, daha polar bileşikler içeren metanol ekstreleri ve infüzyonları daha aktif bulunmuştur.

Tepe ve ark. (2006) [21], Sivas (Taşlıdere)'dan toplanan *S. aethiopsis* sulu ekstresinin DPPH serbest radikal süpürücü etkisini sıfır (BHT %1.8±1.21); β -karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan etkisini %29.0±2.05 (BHT %96.0±0.23) olarak belirlemiştir. Aynı çalışmada *S. aethiopsis*'in %2'lik infüzyonunun DPPH radikal süpürücü aktivite % inhibisyon değeri $3,6 \times 10^{-3}$ konsantrasyonda (%74.75±0.44; BHT: %25.44±1.97) olarak; β -karoten/linoleik asit sisteminde BHT'ye en yakın adsorbansa sahip ekstre *S. aethiopsis* metanol ekstresi olarak elde edilmiştir. Eröz Poyraz ve ark. (2017) [2], Eskişehir civarından toplanan *S. aethiopsis* metanol ve etil asetat ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarlarını sırası ile 94.36±1.53 ve 290.62±3.51 GAE/g eşdeğeri olarak; DPPH üzerinde radikal süpürücü inhibisyon yüzdesini $3,6 \times 10^{-3}$ konsantrasyonda sırası ile %22.24 ve %45.68 (BHT:

%56.2) olarak bulmuştur. Bu çalışmada ise toplam fenolik madde içeriği bakımından en zengin ekstre *S. dichroantha* etil asetat ekstresi olarak bulunmuştur (299.18 ± 10.36 GAE/g ekstre eşdeğeri). Tosun ve ark. (2009) [22] tarafından yapılan, tütün Erzurum'dan toplanan örneklerinin metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı 82.1 µg GAE/g kuru baz olarak; DPPH radikal süpürücü etkisinin IC₅₀ değeri 34.0 µg/mL olarak (BHA (Bütillenmiş Hidroksianizol): 15.2 µg/mL); β -karoten/linoleik asit üzerinden antioksidan aktivitesi %70.4 (BHA: %98.3) olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada Erzurum'dan toplanan *S. virgata*'nın metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı 101.2 µg GAE/g kuru ağırlık olarak; DPPH radikal süpürücü etkisinin IC₅₀ değeri 23.4 µg/mL olarak (BHA 15.2 µg/mL); β -karoten/linoleik asit üzerinden antioksidan aktivitesi %69.4 (BHA: %98.3) olarak elde edilmiştir. Sivas'tan toplanan *S. virgata*'nın DPPH radikal süpürücü etkisi ise 65.70 ±2.12 µg/mg (BHT: 18.80 ±1.21) ve β -karoten/linoleik asit sisteminde inhibisyonu %54.42±2.44 (BHT: %96.00±0.23) olarak belirtilmiştir [6]. Bir başka çalışmada, Eskişehir (Sivrihisar)'dan toplanan *S. virgata*'nın toprak üstü kısımlarının metanol ve sulu ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları sırası ile 133.79±0.79 ve 64.47±1.04 mg GAE/g ekstre; DPPH radikal süpürücü etkisinin IC₅₀ değerini 1.7 mg/mL (BHT: 1.0 mg/mL) ve β -karoten/linoleik asit sisteminde antioksidan aktiviteleri metanol ekstresi için %70, sulu ekstre için %38 olarak elde etmiştir [22], *S. dichroantha*'nın Konya (Hadim-Bozkır)'dan toplanan örneklerinin metanol ekstresinin toplam fenolik madde içeriği 8.5 mg GAE/100 mL ve DPPH üzerinden radikal süpürücü antioksidan kapasitesi %73.855 olarak bulunmuştur [24].

Sonuç olarak, çalışılan *Salvia* türlerinden elde edilen ekstrelerin antioksidan olarak kullanımı ve antioksidan potansiyelleri olan *Salvia* preparatlarının hazırlanması mümkündür. Ülkemizde yetişen *Salvia* türleri geniş yayılışı ile belirlenen ihtiyaçları karşılama doğal kapasiteye sahiptir. Birçok drog yurt dışında kültürü yapılarak ülkemize ithal edilmektedir. Fakat bu drogların kaynakları ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Bu konu bilimsel alanlarda teşvik edilmeli, zirai olarak türlerin kültürleri düzenli hale getirilmeli, antioksidan madde olarak sentetik maddeler yerine yetiştirilen bu bitkilerin ekstreleri veya bunlardan elde edilecek doğal maddeler kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] Celep, F., Dirmenci, T., Güner, Ö. 2015. *Salvia hasankeyfense* (Lamiaceae), a new species from Hasankeyf (Batman, South-eastern Turkey). Phytotaxa. 227: (3), 289-294.
- [2] Eröz Poyraz, İ., Akalın Çiftçi, G., Öztürk, N. 2017. Phenolic Contents, in vitro Antioxidant and Cytotoxicity Activities of *Salvia aethiopsis* L. and *S. ceratophylla* L. (Lamiaceae). Rec Nat Prod. 11: (4), 345-355.
- [3] Erdoğan-Orhan, İ., Baki, E., Şenol, S., Yılmaz, G. 2010. Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities. JSCS. 75: (11): 1491-1501.
- [4] İpek A., Gürbüz, B., 2010. Türkiye florasında bulunan *Salvia* türleri ve tehlike durumları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19: (1-2), 30-35.
- [5] Eröz, İ., Koca, F., 2001. Eskişehir Çevresinde Yetişen Tıbbi Bazı *Salvia* L. Türleri Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- [6] Tepe B., 2008. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. Bioresour Technol. 99: 1584-1588.
- [7] Akkol E.K., Göger F., Koşar M., Başer K.H.C., 2008. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. Food Chem. 108: 942-949.
- [8] Hirasa, K., Takemasa, M. 1998. Spice Science and Technology. CRC Press., 2, 5, https://www.taylorfrancis

- .com/books/9780585367552 (10.10.2018).
- [9] Jantová, S., Hudec, R., Sekretár, S., Kučerák, J., Melušová, M. 2014. *Salvia officinalis* L. extract and its new food antioxidant formulations induce apoptosis through mitochondrial/caspase pathway in leukemia L1210 cells. *Interdiscip Toxicol.* 7: (3): 146-153.
- [10] Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, Nobel Yayınevi, İstanbul.
- [11] Jacobo-Velázquez, D.A., Cisneros-Zevallos, L. (2009) Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medicinal plants. *JFS.* 74: 9, R107-R113.
- [12] Kıvrak, Ş., Göktürk, T., Kıvrak, İ., Kaya, E., Karababa, E. 2018. Investigation of phenolic profiles and antioxidant activities of some *Salvia* species commonly grown in Southwest Anatolia using UPLC-ESI-MS/MS. *Food Sci Technol.* 0-0 (<http://www.scielo.br/pdf/cta/2018nahead/0101-2061-cta-fst32017.pdf>)
- [13] Lu, Y., Foo, L.Y. 2002. Polyphenolics of *Salvia*—A Review. *Phytochemistry.* 59: 2, 117-140.
- [14] Öztürk, N., Tunçel, M., Uysal, Ü.D., Öncü-Kaya, E.M., Koyuncu, O. 2011. Determination of rosmarinic acid by high-performance liquid chromatography and its application to certain *Salvia* species and rosemary. *Food Anal Method.* 4: 3, 300-306.
- [15] Shaheen, U Y., Hussain, M.H., Ammar, H.A. 2011. Cytotoxicity and Antioxidant Activity of New Biologically Active Constituents from *Salvia Lanigra* and *Salvia Splendens*. *Phcog J.* 3: 21, 36-48.
- [16] Folin, O., Ciocalteu V., 1928. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J Biol Chem.* 73: 627–650.
- [17] Sanchez-Moreno, C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F.A. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of phenols, *J Sci Food Agric.* 76: 270–276.
- [18] Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P., Groot, A.D., Evstatieva, L.N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques.* 13:1, 8-17.
- [19] Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., Taniguchi, H. 2002. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J Agric Food Chem.* 50: 7, 2161-2168.
- [20] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.* 85: 4, 633-640.
- [21] Tepe, B., Sökmen, M., Akpulat, H.A., Sökmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* 95: 2, 200-204.
- [22] Tosun, M., Ercisli, S., Şengül, M., Özer, H., Polat, T., Öztürk, E. 2009. Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia* species from Turkey. *Biol Res.* 42: 2, 175-181.
- [23] Koşar, M., Göger, F., Başer, K.H.C. 2008. In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *J Agric Food Chem.* 56: 7, 2369-2374.
- [24] Er, M., Tugay, O., Özcan, M.M., Ulukuş, D., Fahad, A.J. 2013. Biochemical properties of some *Salvia* L. species. *Environ Monit Assess.* 185: 6, 5193-5198.