

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

İrem YILDIZ

Eskişehir 2019

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

İrem YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mayıs 2019

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İrem Yıldız'ın “Türkiye’de Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı tezi 28/05/2019 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.

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)

: Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Üye

: Prof. Dr. Betül DEMİRCİ

Üye

: Prof. Dr. Ceyda Sibel KILIÇ



Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU-KARABURUN
Müdür

Enstitü Müdürü

FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled ‘Türkiye’de Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi’ has been prepared and submitted by İrem Yıldız in partial fulfillment of the requirements in “Anadolu University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in Pharmacognosy Department has been examined and approved on 28/05/2019.

Committee Members

Signature

Member (supervisor)	: Assoc. Prof. Dr. Ayhan ALTINTAŞ
Member	: Prof. Dr. Betül DEMİRCİ
Member	: Prof. Dr. Ceyda Sibel KILIÇ

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU-KARABURUN
Modür

Director

Graduate School of Institute of

Health Sciences

ÖZET

TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI BİTKİ TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTIÖKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

İrem YILDIZ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mayıs 2019

Danışman: Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

Bu çalışmada Türkiye’de doğal olarak yetişen *Alkanna macrophylla* Boiss. & Heldr., *Sphaerophysa kotschyana* Boiss., *Gagea villosa* var. *villosa* (Bieb.) Duby, *Erysimum sintenisianum* Bornm. ve *Polygonum sivasicum* Kit Tan & Yıldız bitkilerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu kapsamda bitkilerin kurutulmuş toprak üstü kısımları metanol, etil asetat, kloroform ve etanol ile ekstre edilmiştir. *P. sivasicum* dışındaki bütün türlerde antimikrobiyal etkinlik görülmüş ve *E. sintenisianum* en geniş etki spektrumuna sahip bitki olarak belirlenmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonları genel olarak 0,2 mg/mL, 0,4 mg/mL ve 0,8 mg/mL olarak bulunmuştur. Bitkilerin tüm ekstrelerinin antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiş ve *P. sivasicum*, *G. villosa* var. *villosa* ve *A. macrophylla* bitkilerinin çeşitli ekstrelerinde standart madde olarak kullanılan askorbik asite kıyasla yüksek serbest radikal süpürücü etki görülmüştür. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarının 9,67 mg GAE/g ile 918,56 mg GAE/g aralığında, toplam flavonoit miktarlarının ise 6,19 mg QE/g ile 68,57 mg GAE/g aralığında değerler aldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar incelediğimiz türlerin antimikrobiyal ve antioksidan olarak kullanılabilme potansiyellerinin olduğunu göstermiştir ve bu açıdan daha ayrıntılı araştırmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: *Alkanna macrophylla*, *Sphaerophysa kotschyana*, *Gagea villosa* var. *villosa*, *Erysimum sintenisianum*, *Polygonum sivasicum*

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME PLANT SPECIES GROWING IN TURKEY

İrem YILDIZ

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, May 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayhan ALTINTAŞ

In this study, antimicrobial and antioxidant activities of *Alkanna macrophylla* Boiss. & Heldr., *Sphaerophysa kotschyana* Boiss., *Gagea villosa* var. *villosa* (Bieb.) Duby, *Erysimum sintenisianum* Bornm. and *Polygonum sivasicum* Kit Tan & Yıldız growing naturally in Turkey were investigated. In this context, dried above-ground parts of the plants were extracted with methanol, ethyl acetate, chloroform and ethanol.. Antimicrobial activity was observed in all species except *P. sivasicum*. *E. sintenisianum* was determined as the plant with the broadest spectrum activity. Minimum inhibitory concentrations of the extracts were found to be generally 0,2 mg/mL, 0,4 mg/mL and 0,8 mg/mL.. All extracts of plants exhibited antioxidant properties. Higher free radical scavenging activity than ascorbic acid used as standard antioxidant compound was observed in various extracts of *P. sivasicum*, *G. villosa* var. *villosa* and *A. macrophylla*. The total phenolic content of the extracts was found to be between 9,67 mg GAE/g and 918,56 mg GAE/g, and the total flavonoid content of the extracts was between 6,19 mg QE/g and 68,57 mg GAE/g. These results have shown that the species we have studied have the potential to be used as antimicrobial and antioxidant and need to be investigated in more detail.

Keywords: *Alkanna macrophylla*, *Sphaerophysa kotschyana*, *Gagea villosa* var. *villosa*, *Erysimum sintenisianum*, *Polygonum sivasicum*

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince yönlendirmeleri, bilgi ve tecrübeleri ile bana önderlik eden, kendimi geliştirmemi sağlayan, çalışmalarım boyunca emeğini, sabrını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Ayhan ALTINTAŞ'a;

Mikroorganizma suşlarının temini ve çalışmalardaki yardımları için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Zahir BAKICI'ya ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli Doç. Dr. Cem ÇELİK ve Dr. Uğur TUTAR'a; laboratuvar çalışmalarında emeğini esirgemeyen Esin YILDIZ'a;

Antioksidan aktivite çalışmalarındaki bilgi ve yardımları için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR'a;

Bitki türlerinin tanınması ve toplanmasında bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ramazan Süleyman GÖKTÜRK'e; bitki türlerinin teşhisinde Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

28.05.2019

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 çalışmamın 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.

Ecz. İrem YILDIZ

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

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

Ecz. İrem Yıldız

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
FINAL APPROVAL FOR THESIS.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vii
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. İncelenen Bitki Türlerinin Özellikleri.....	4
2.1.1. <i>Alkanna macrophylla</i> Boiss. & Heldr.....	4
2.1.1.1. <i>Botanik özellikler</i>	4
2.1.1.1.1. <i>Boraginaceae</i>	5

2.1.1.1.2. <i>Alkanna Tausch</i>	7
2.1.1.1.3. <i>Alkanna macrophylla</i> Boiss. & Heldr.....	8
2.1.1.2. <i>Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları</i>	8
2.1.2. <i>Sphaerophysa kotschyana</i> Boiss.....	12
2.1.2.1. <i>Botanik özellikler</i>	12
2.1.2.1.1. <i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	13
2.1.2.1.2. <i>Sphaerophysa DC</i>	14
2.1.2.1.3. <i>Sphaerophysa kotschyana Boiss</i>	14
2.1.2.2. <i>Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları</i>	15
2.1.3. <i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i> (Bieb.) Duby.....	16
2.1.3.1. <i>Botanik özellikler</i>	16
2.1.3.1.1. <i>Liliaceae</i>	17
2.1.3.1.2. <i>Gagea Salisb</i>	18
2.1.3.1.3. <i>Gagea villosa</i> (Bieb.) Duby	19
2.1.3.2. <i>Fitokimyasal özellikleri ve aktivite çalışmaları</i>	20
2.1.4. <i>Erysimum sintenisianum</i> Bornm.....	21
2.1.4.1. <i>Botanik özellikler</i>	21
2.1.4.1.1. <i>Brassicaceae (Cruciferae)</i>	23
2.1.4.1.2. <i>Erysimum L</i>	24
2.1.4.1.3. <i>Erysimum sintenisianum</i> Bornm. (<i>E. alpestre</i> <i>Kotschy ex Boiss.</i>).....	25
2.1.4.2. <i>Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları</i>	26
2.1.5. <i>Polygonum sivasicum</i> Kit Tan & Yıldız	28
2.1.5.1. <i>Botanik özellikler</i>	28
2.1.5.1.1. <i>Polygonaceae</i>	29

2.1.5.1.2. <i>Polygonum L</i>	29
2.1.5.1.3. <i>Polygonum sivasicum Kit Tan & Yıldız</i>	30
2.1.5.2. <i>Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları</i>	31
2.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri.....	33
2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	33
2.2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
2.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	34
2.2.4. <i>Enterococcus faecalis</i>	34
2.2.5. <i>Candida albicans</i>	34
2.3. Antimikrobiyal Bitki Bileşenleri ve Etki Mekanizmaları.....	35
2.3.1. Fenolik bileşikler.....	38
2.3.2. Uçucu yağlar.....	40
2.3.3. Peptitler.....	40
2.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri.....	42
2.4.1. Disk difüzyon yöntemi.....	44
2.4.2. Broth (Sıvı) mikrodilüsyon yöntemi.....	44
2.5. Antioksidanlar.....	45
2.5.1. Radikal kavramı ve serbest radikallerin oluşumu.....	45
2.5.2. Antioksidanların etki mekanizmaları.....	47
2.5.3. Antioksidanların sınıflandırılması.....	49
2.5.3.1. <i>Endojen antioksidanlar</i>	50
2.5.3.1.1. <i>Enzimatik antioksidanlar</i>	50
2.5.3.1.2. <i>Non-enzimatik antioksidanlar</i>	51
2.5.3.2. <i>Eksojen antioksidanlar</i>	52
2.5.3.2.1. <i>Vitaminler</i>	53

2.5.3.2.2. Mineraller.....	54
2.5.3.2.3. Antioksidan bitki bileşenleri.....	54
2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	60
2.6.1. Folin-Ciocalteu yöntemi ile total fenolik bileşik tayini.....	62
2.6.2. DPPH serbest radikalini süpürücü etki tayini.....	62
2.6.3. Toplam flavonoid miktar tayini.....	64
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	65
3.1. Materyal.....	65
3.1.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyaller.....	65
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	65
3.1.3. Besiyerleri.....	66
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler	66
3.1.5. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar.....	66
3.2. Yöntemler.....	67
3.2.1. Bitki ekstralarının hazırlanması.....	67
3.2.2. Antimikrobiyal aktivite tayin çalışmaları.....	68
3.2.2.1. Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanışı.....	68
3.2.2.2. Bitki ekstralarından antibiyotik disklerinin hazırlanışı.....	68
3.2.2.3. Disk difüzyon testi.....	68
3.2.2.4. Broth mikrodilüsyon testi.....	69
3.2.2.4.1. Hazırlanan mikropoplara bakteri inokülasyonu.....	70
3.2.3. Antioksidan aktivitenin tayin çalışmaları.....	70
3.2.3.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH •) radikalini süpürücü etki tayini.....	70

3.2.3.1.1. <i>Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı</i>	70
3.2.3.1.2. <i>Deneyin yapılışı</i>	71
3.2.3.2. <i>Toplam fenol miktar tayini</i>	71
3.2.3.2.1. <i>Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı</i>	72
3.2.3.2.2. <i>Deneyin yapılışı</i>	72
3.2.3.3. <i>Toplam flavonoit miktar tayini</i>	73
3.2.3.3.1. <i>Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı</i>	73
3.2.3.3.2. <i>Deneyin yapılışı</i>	74
4. BULGULAR VE YORUM	75
4.1. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	75
4.1.1. Antimikrobiyal aktivitenin kalitatif yönden değerlendirilmesi ve disk difüzyon testi sonuçları.....	75
4.1.2. Antimikrobiyal aktivitenin kantitatif yönden değerlendirilmesi...	77
4.1.2.1. <i>İnhibisyon zon çaplarının ölçülmesi</i>	77
4.1.2.2. <i>Mikrodilüsyon testi sonuçları</i>	78
4.2. Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Sonuçlar	81
4.2.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH •) radikalini süpürücü etki tayini sonuçları.....	81
4.2.2. Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktar tayini sonuçları.	89
4.2.3. Toplam flavonoit miktar tayini sonuçları	91
5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	96
KAYNAKÇA	106
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı bitki bileşenleri ve etki mekanizmaları.....	37
Tablo 2.2. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri.....	47
Tablo 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması ve bazı önemli örnekler.....	50
Tablo 2.4. İnsan vücudunda sentezlenmeyen bazı önemli antioksidanlar (Nonenzimatikantioksidanlar).....	53
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin toplanma yeri ve zamanı.....	65
Tablo 3.2. DPPH tayini için deney esnasında yapılan pipetlemeler.....	71
Tablo 3.3. Toplam polifenolik madde miktar tayini pipetlemeleri.....	73
Tablo 3.4. Toplam flavonoit miktar tayini pipetlemeleri.....	74
Tablo 4.1. Bitki ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri.....	79
Tablo 4.2. Antimikrobiyal aktivitesi saptanan ekstraların minimum inhibitör konsantrasyon düzeyi.....	81
Tablo 4.3. Askorbik asit konsantrasyonlarının 517 nm'deki absorpsanları ve inhibisyon yüzdeleri.....	82
Tablo 4.4. <i>P. sivasicum</i> ekstralarının farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri.....	83
Tablo 4.5. <i>S. kotschyana</i> ekstralarının farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri.....	84
Tablo 4.6. <i>E. sintenisianum</i> ekstralarının farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri.....	85
Tablo 4.7. <i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i> ekstralarının farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri.....	86

Tablo 4.8.	<i>A. macrophylla</i> ekstrlerinin farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri.....	87
Tablo 4.9.	Bitki ekstrlerinin IC ₅₀ (μg/mL) değerleri.....	88
Tablo 4.10.	Bitki ekstrlerinin 700 nm’de gallik asite eşdeğer konsantrasyonları.....	91
Tablo 4.11.	Bitki ekstrlerinin 415 nm’de kersetine eşdeğer konsantrasyonları...	93
Tablo 4.12.	Bitki ekstrlerinin toplam fenolik ve flavonoit madde miktarları....	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>Alkanna macrophylla</i> yayılış haritası.....	8
Şekil 2.2. Alkannin ve şikonnin kimyasal yapıları.....	10
Şekil 2.3. <i>Sphaerophysa kotschyana</i> yayılış haritası.....	15
Şekil 2.4. <i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i> yayılış haritası.....	20
Şekil 2.5. <i>Erysimum sintenisianum</i> yayılış haritası.....	26
Şekil 2.6. <i>Polygonum sivasicum</i> yayılış haritası.....	31
Şekil 2.7. Çeşitli antimikrobiyal fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.....	39
Şekil 2.8. Antioksidan etki gösterebilen bazı polifenoller.....	55
Şekil 2.9. Fenolik asitlerin temel yapıları ve türevleri.....	57
Şekil 2.10. Temel flavonoit yapısı.....	57
Şekil 2.11. Flavonoitlerin temel alt grupları.....	58
Şekil 2.12. β -karotenin yapısı.....	60
Şekil 2.13. DPPH radikalini yapısı.....	63
Şekil 2.14. DPPH radikalini indirgenme reaksiyonu.....	63
Şekil 3.1. Mikroplak şeması.....	69
Şekil 4.1. Askorbik asit standartının DPPH radikalini süpürücü etkisi.....	82
Şekil 4.2. <i>Polygonum sivasicum</i> ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkileri.....	83
Şekil 4.3. <i>Sphaerophysa kotschyana</i> ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkileri	84

Şekil 4.4.	<i>Erysimum sintenisianum</i> ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri.....	85
Şekil 4.5.	<i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i> ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri.....	86
Şekil 4.6.	<i>Alkanna. macrophylla</i> ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri.....	87
Şekil 4.7.	Bitki ekstrelerinin ve askorbik asitin IC ₅₀ (µg/mL) değerlerinin karşılaştırılması.....	89
Şekil 4.8.	Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	90
Şekil 4.9.	Bitki ekstrelerinin gallik asite eşdeğer (mg/g) toplam fenolik madde miktarı.....	90
Şekil 4.10.	Kersetin kalibrasyon grafiği.....	92
Şekil 4.11.	Bitki ekstrelerinin kersetine eşdeğer (mg/g) toplam flavonoit miktarları.....	93
Şekil 4.12.	Bitki ekstrelerinin toplam fenolik madde ve flavonoit miktarlarının karşılaştırılması.....	94

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1.	<i>Alkanna macrophylla</i> habitatı.....	4
Görsel 2.2.	<i>Alkanna macrophylla</i> yaprak ve çiçekleri.....	4
Görsel 2.3.	<i>Alkanna macrophylla</i> yakından görünüşü.....	5
Görsel 2.4.	<i>Sphaerophysa kotschyana</i> habitatı.....	12
Görsel 2.5.	<i>Sphaerophysa kotschyana</i> toplanmış örneği.....	12
Görsel 2.6.	<i>Sphaerophysa kotschyana</i> popülasyonu.....	12
Görsel 2.7.	<i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i> habitatı.....	16
Görsel 2.8.	<i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i>	16
Görsel 2.9.	<i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i> çiçekleri popülasyonu.....	17
Görsel 2.10.	<i>Erysimum sintenisianum</i> habitatı.....	22
Görsel 2.11.	<i>Erysimum sintenisianum</i> popülasyonu.....	22
Görsel 2.12.	<i>Erysimum sintenisianum</i> çiçekleri.....	22
Görsel 2.13.	<i>Polygonum sivasicum</i> habitatı.....	28
Görsel 2.14.	<i>Polygonum sivasicum</i> yakından görünüş	28
Görsel 2.15.	<i>Polygonum sivasicum</i> genel görünüş.....	28
Görsel 3.1.	Rotavaporda çözücülerin uçurulması.....	67
Görsel 4.1.	<i>Enterococcus faecalis</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları.....	75
Görsel 4.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları (12 No'lu ekstre).....	75
Görsel 4.3.	<i>Staphylococcus aureus</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları (18, 21 No'lu ekstreler).....	76

Görsel 4.4.	<i>Escherichia coli</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları.....	76
Görsel 4.5.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları.....	76
Görsel 4.6.	<i>Candida albicans</i> ekilmiş kültürde inhibisyon zonları.....	76
Görsel 4.7.	Mikrodilüsyon testi sonucu kuyucukların görünüşü (Mikroplak 1)...	80
Görsel 4.8.	Mikrodilüsyon testi sonucu kuyucukların görünüşü (Mikroplak 2)...	80
Görsel 4.9.	DPPH testi sonucu çözeltilerin görünüşü.....	82
Görsel 4.10.	DPPH testi sonucu oluşan renk değişimleri.....	82
Görsel 4.11.	Toplam fenolik madde testi sonrası mikroplaktaki çözeltilerin görünüşü.....	89
Görsel 4.12.	Toplam flavonoit testi yapılan mikroplağın reaksiyon sonrası görünüşü.....	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

¹O₂	: Singlet Oksijen
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu)
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
Ca	: <i>Candida albicans</i>
CAT	: Katalaz
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
CLSI	: The Clinical & Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CUPRAC	: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
Ec	: <i>Escherichia coli</i>
Ef	: <i>Enterococcus faecalis</i>
ET	: Elektron Transferi
EUCAST	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FRAP	: Ferrik İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi)
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
GSH	: Glutatyon
GSSG	: Okside Glutatyon
GST	: Glutatyon S-Transferaz

HAT	: Hidrojen Atomu Transferi
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IC₅₀	: %50 İnhibisyonu Sağlayan Antioksidan Konsantrasyonu
Kp	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
LOO[•]	: Lipit Peroksil
LOOH	: Lipit Peroksit
LPS	: Lipopolisakkarit
MBC	: Minimum Bactericidal Concentration (Minimum Bakterisit Konsantrasyon)
MHA	: Mueller Hinton Agar
MİK/MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon/Minimum Inhibitory Concentration
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat)
NO[•]	: Nitrik Oksit Radikali
NO₂[•]	: Nitrojen Dioksit Radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PG	: Propil Gallat
pH	: Power of Hydrogen
POX	: Peroksidaz
QE	: Kersetin Eşdeğeri
ROO	: Peroksil Radikali
ROOH	: Alkil Hidroperoksit
ROS	: Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
Sa	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBHQ	: Tersiyer Butil Hidrokinon
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite

TRAP	: Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi
TSB	: Tryptic Soy Broth
UV	: Ultraviyole
β	: Beta

1. GİRİŞ

Bitkilerin veya onların aktif bileşenlerinin insanların hastalıklarını hafifletebileceği veya tamamen iyileştirebileceği pek çok durumda gösterilmiştir (Farnsworth ve Soejarto, 1991). Bitkilerin bu amaçlarla kullanımlarının insanlık tarihi kadar eski olduğu bilinmektedir. Birçok arkeolojik bulguda binlerce yıldır bitkilerin tedavi ve beslenme amacı ile kullanıldığı görülmüştür (Koçyiğit, 2005).

Son yıllarda özellikle 1980'lerden sonra kimya sanayindeki hızlı ilerlemeler sonucunda bitkisel tedavi ürünlerinin yerini sentetik ilaçlar almaya başlamıştır. Ancak bu sentetik ilaçların birçok yan etkisinin ortaya çıkması ve bitkilerin daha güvenli olduğunun da düşünülmesiyle insanlar yeniden bitkisel ilaçlarla tedavi yolunu tercih etmeye yönelmiştir (Yücel, 2010). Ayrıca kronik hastalıkların yaygınlaşarak başlıca ölüm nedenlerinden biri olduğu günümüzde, sentetik ilaçlarla tedavi yöntemlerinin yetersiz kalması veya istenmeyen sonuçlara yol açması da bitkilerle tedaviye ilgiyi arttırmıştır (Bacanlı vd., 2012).

Enfeksiyon hastalıkları dünya çapında ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir (Pinner vd., 1996). İnsanlarda pek çok bulaşıcı hastalığa neden olan mikroorganizmaların keşfedilmesi beraberinde bu organizmalar için toksik olabilecek maddelere de ilgi duyulmasına yol açmıştır. Yaklaşık 1940 yılında penisilinin öneminin farkına varılması, yeni antibiyotik kaynakları için mikroorganizmaların araştırılmasına dikkat çekmiştir. Bu araştırmalar ayrıca bitkileri de kapsayacak şekilde genişletilmiştir. İçlerinden bazıları bitkisel kökenli olduğu birçok madde antiseptik olarak kabul edilmiştir. Bu sürecin devamında birçok bitkinin mikroorganizmaların büyümesini inhibe eden veya onları öldüren maddeler içerdiği de ortaya konmuştur (Skinner, 1955).

Modern tıpta kullanılan pek çok ilacın bitkisel kökene sahip olmasına rağmen antimikrobiyal ilaç geliştirme sürecinde bitkisel ürünlerin çok azı antimikrobiyal kullanım için tasarlanmıştır, daha çok bakteriyel ve fungal kaynaklar tercih edilmiştir (Cowan, 1999). Mikroorganizmalardan her yıl iki veya üç antibiyotik türetilmeye başlanmıştır (Clark, 1996). Bununla birlikte diğer yandan mikroorganizmalarda direnç oluşmaya başlamış ve önemli ölçülerde artarak her on yılda yeni bir direnç ortaya

çıkıştır. Sonunda bilinen tüm antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların bulunduğu bir döneme gelinmiştir (Yarnell ve Abascal, 2002).

Çoklu antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için tıbbi bitkilerin kullanılması bir alternatif olarak görülmektedir ve bazı geleneksel bitkiler bu amaçla kullanılmaktadır (Yarnell ve Abascal, 2004).

Bitkilerin antimikrobiyal özelliklerinin belirtildiği ilk çalışmalardan olarak Glaser ve Prinz (1926) yaptıkları çalışmada bazı bitkilerden elde edilen oksidazların ilave edildiği bakteri kültürlerinde mikroorganizmaların büyümelerini inhibe ettiklerini bildirmişlerdir.

Bitkilerin bulundurdıkları bileşiklerin sayısı ve çeşitliliği fazla olduğundan, bileşimlerinin sinerjistik etkisi sayesinde tek antibiyotikle tedavi edilemeyen mikroorganizmalara karşı daha etkin tedavi sunacağı belirtilmiştir (Yarnell ve Abascal, 2013).

Tüm dünyada çoklu antibiyotik direnci gösteren bakteri suşlarının ortaya çıkmasıyla beraber hastaneler de dirençli mikroorganizmaların üreme ve yayılma ortamı haline gelmiştir (Mainous ve Pomeroy, 2001). Enfeksiyonların tedavisinde çoklu antibiyotik direncine karşı başarı sağlamak gün geçtikçe daha da zorlaşmaktadır ve bu nedenle yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılması ve geliştirilmesindeki alternatif kaynaklar olarak tıbbi bitkiler büyük önem taşımaktadır (Yetgin vd., 2017).

Bitkisel ürünlerce zengin bir diyet ile beslenmenin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve bu beslenme tarzıyla oksidatif stres ile ilişkili birçok hastalığa karşı bünyenin korunduğu ortaya çıkarılmıştır. Bitkisel kaynaklı ürünlerde vitaminler, fitoöstrojenler, sülfür bileşikler, karotenoidler ve hormonlar gibi pek çok sayıda yararlı bileşik bulunmaktadır (Manach vd., 2005).

Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin ortaya çıkardığı zararlı etkilere karşı insan vücudunun en önemli savunma sistemini antioksidanlar oluşturur (Shinde vd., 2012). Serbest radikaller enfekte hücreleri ortadan kaldırarak antimikrobiyal savunmaya katkı sağlamalarının yanı sıra, hücresel DNA gibi makromoleküllerle tepkimeye girerek veya bir zincir reaksiyon başlatarak hücresel yapıların hasar görmesine neden olmaktadır. Serbest radikallerin beyin disfonksiyonu, dejeneratif hastalıklar, kanser, yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal sistem ve

immün sistem hastalıkları gibi birçok hastalığın nedeni olabileceği bildirilmiştir (Babbs 1992; Aruoma 1998).

Antioksidanlar, hücresel hasara ve buna bağlı çeşitli hastalıklara neden olan serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek etki gösteren genellikle fenolik moleküllerdir (Kahkönen vd., 1999). Antioksidan aktiviteye sahip tipik fenolik bileşikler büyük oranda fenolik asitler ve flavonoidlerdir. Kafeik asit, ferulik asit ve vanilik asidi içeren fenolik asitler, bitki aleminde yaygındır (Spiridon vd., 2011).

Antioksidan bileşenler içeren bitkisel materyallerin önemi, hem araştırmacılar hem de gıda üreticileri ve tüketiciler için belirli etkilerin hedeflendiği fonksiyonel gıdalara duyulan ilgi ile büyük oranda artmaktadır (Lölinger, 1991; Giorgi vd., 2009). Antioksidanların eksojen kaynağı olan bitkiler, hücrelerin doğal savunma sistemlerine yardımcı olabilmektedir. Bu yüzden, geleneksel olarak geniş çapta kullanılan bitkilerin ve bitki ekstraktlarının antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerinin değerlendirilmesi gerekir (Giorgi vd., 2009). Ayrıca işlenmiş gıdalarda yaygın olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi bazı sentetik antioksidan bileşiklerin yan etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir (Mavi vd., 2004). Sentetik antioksidanların karsinogenik etkileri de doğal antioksidan bileşenlere duyulan ilginin nedenleri arasındadır.

Tüm bu veriler göz önüne alındığında bitkilerin yeni antimikrobiyal ve antioksidan ilaçların geliştirilmesi için yapılacak olan araştırmalarda model olarak da kullanılabilme potansiyelleri yüksektir. Bu nedenle farklı bitki türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırılması önemlidir.

Türkiye bitki türleri açısından oldukça zengin bir ülkedir ve bu çalışmada Türkiye’de doğal olarak yetişen *Alkanna macrophylla* Boiss. & Heldr. (endemik), *Sphaerophysa kotschyana* Boiss.(endemik), *Gagea villosa* var. *villosa* (Bieb.) Duby, *Erysimum sintenisianum* Bornm. ve *Polygonum sivasicum* Kit Tan & Yıldız (endemik) türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır.

Bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin etkili ve güvenli yeni antioksidan ve antimikrobiyal bileşikler ve yeni ilaç geliştirilmesine yönelik yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. İncelenen Bitki Türlerinin Özellikleri

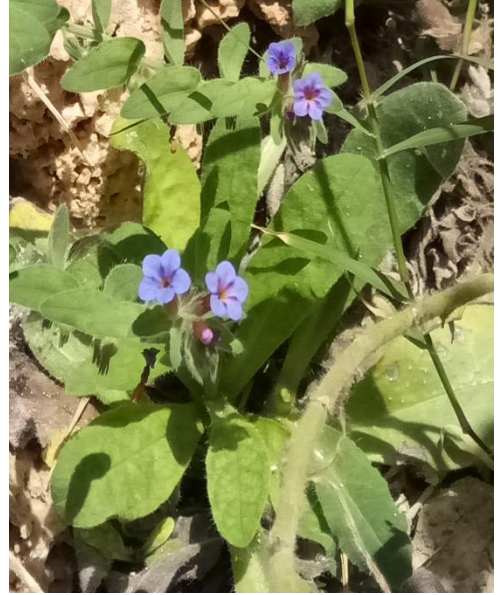
2.1.1. *Alkanna macrophylla* Boiss. & Heldr.

2.1.1.1. Botanik özellikler

Türkçe adı	: Koca havacıva
Familya	: Boraginaceae
Cins	: <i>Alkanna</i> Tausch
Endemizm	: Endemik
Habitat	: Deniz yakını kayalıklar ve harabeler, deniz seviyesi yakınında
Çiçeklenme	: 3-6. aylar
Bölge	: C3



Görsel 2.1. *Alkanna macrophylla* habitatı



Görsel 2.2. *Alkanna macrophylla* yaprak ve çiçekleri



Görsel 2.3. *Alkanna macrophylla* yakından görünüşü

Subtropik ve ılıman bölgeler Boraginaceae familyasına ait 100 cins ve 2000 türü barındırmaktadır (Feinbrun-Dothan, 1978). Bu familyanın ülkemizde 34 cins 305 türü olduğu belirlenmiştir. Boraginaceae familyasının en büyük ikinci cinsi 34 tür ile *Alkanna*'dır (Davis, 1978a).

Ülkemizde *Alkanna* cinsine ait 31'i endemik 34 tür ve 41 takson bulunmaktadır. Cinsin ülkemizdeki endemizm oranının yüksek oluşu, merkezinin Türkiye veya Ön Asya olduğunu göstermektedir. Anadolu'daki *Alkanna* cinsine ait taksonlar, yaklaşık 1500 m'de yayılış göstermektedir (Davis, 1978).

2.1.1.1.1. Boraginaceae

Boraginaceae familyası üyeleri bir, iki veya çok yıllık otsu bitkiler, nadir olarak da küçük çalı veya ağaçlardır. Yapraklar alternat, stipulasız, basit, genellikle belirgin kılsı tüy örtülüdür. Uçtaki dallar simöz çiçek durumudur. Simler (simoz çiçek durumlarından herbiri) akrep kuyruğu gibi kıvrık veya zembereksidir veya çiçek durumu nadiren tirsusa benzemektedir. Kaliks sepalleri birleşik, 5-lobludur (nadiren 9-loblu veya düzensiz dişli), çoğu kez çiçek açma devresinden sonra genişlemektedir. Korolla 5-loblu, aktinomorf veya nadiren zigomorfiktir, genellikle bariz tüp ve $\pm$ derin loblu, korolla boğazı 5 parçalıdır, tüylerden oluşan bir küme veya bölge barındırır veya pürüzsüz ve tüysüzdür. Stamen 5 adet, epipetal (petal üzerinde), korolla lobları ile almaşık konumludur. Ovaryum üst durumlu, 4 (nadiren 2) gözlü; stilus ginobazik

(ovaryumun tabanından çıkan), daha nadir olarak terminal, genellikle parçalanmamış, stigma tam veya 2(-4)-lobludur. Meyva genellikle 4 nutletli, olgunlaşmadan düşme veya birleşme nedeniyle nadiren daha az sayıda veya 2 adet mantarimsı merikarp veya bir drupadır. Nutletler piramitsi torus üstünden çıkar ve bağlanma izi dardan geniş değişik boyutlardadır, taban altı halkalı veya saplı veya değildir. Hafifçe horizontal olarak içe doğru kıvrık gaga benzeri bir uzantılı veya gagasızdır. Karinalı veya karinasızdır. Çoğu kez tabla ve kenara doğru farklılaşmıştır. Kenar bazen yayılan veya kıvrılan kanat içermektedir veya dikenli gloşitlidir. Yüzey pürüzsüzdür veya çeşitli süslerle donatılmıştır. Tüysüz, tüylü veya gloşitli küçük yumrular ve/veya dikenler bulunmaktadır (Davis, 1978).

Tayin anahtarı

1. Otsu bitkiler, nadiren de küçük çalılar, meyva kuru nutletler (nadir olarak mantarimsı merikarplar)
2. Bir yıllık, iki yıllık ve çok yıllıklar; rizom bulundurmeyen bitkiler (veya tabanda bulunan parçaları eksik)
9. Otsu bitkiler, yarı çalimsı veya değil
10. Tüylerden veya setalardan (kılısı tüylerden) veya her ikisinden oluşmuş yoğun bir tüy örtüsüne sahip bitki
14. Bütün stamenler korolla tüpü içinde (anterlerin tabanı korolla boğazını geçmez)
21. Anterler tam veya tepede kısa ek yapılarla birlikte
22. Nutletler armut şeklinde değil; kaliks 5 loblu (nadiren loblar arası dişli)
24. Simler brakteli, en azından alt kısımda
31. Pul, kıvrım veya içine çökmüş kıvrım bulundurmeyen korolla boğazı
32. Çiçekler az çok dik; korolla huni şeklinde veya yayık laminalı boru şeklinde, bariz olarak az çok derin loblu laminalı
33. Nutletler saplı, gaga yatay az çok kuvvetlice aşağı doğru kıvrık; yaprak tüy örtüsü sıklıkla salgı tüyleri içerir (Davis, 1978).

Alkanna

2.1.1.1.2. *Alkanna Tausch*

Çok yıllık otsular olup çiçekleri genellikle hoş kokuludur. Yaprakları çeşitli şekillerde, kısa yumuşak tüylü, yumuşak dik ve uzunca tüylü ve kılsı tüylüdür. Zayıf bezeli ve bezesiz tüylerden gür kılsı tüylere kadar değişen tüy örtüsüne sahiptir. Çiçek durumu uçta, simler bir veya birkaç tane, braktelidir. Kaliks neredeyse tabana kadar bölünmüş, loblar meyvada büyümüştür. Korolla mavi sarı veya beyaz laminalı ve çoğu kez siyah tüplü, huni şeklinde; boğazı halka şeklinde tüylü ve bazen küçük kıvrımlıdır. Halka küçük, tüysüz veya kirpiklidir. Stamenler tüpün ortasına yakın bir yerde halka veya spiral şeklinde bağlanmış çok kısa filamentler içermektedir. Stilus küçük ve tam stigma içermektedir. Nutletler 1-2(-4) adet, hemen hemen böbrek şeklinde veya eğik yumurta şeklindedir az çok saplı; yüzey yapısı çeşitli yumrulara sahiptir, scrobiculate (çukurlu) veya ağımsı, çoğu kez birleşmiş, nadiren pürüzsüzdür; gaga düz ve yatay yay şeklinde kıvrılmış, orta veya kuvvetli derecede aşağı doğru kıvrıktır (Huber-Morath, 1978).

Tayin için çiçekler ve olgun nutletler gerekmektedir. Burada yumuşak ince tüyler ve gür sert kılsı tüyler arasındaki sertlikteki tüyler 'setiform hairs' (kıl şeklinde tüyler) olarak adlandırılmıştır. Bazı türlerde az çok bütün tüy örtüsü tiplerine rastlanmaktadır. Bazı *Alkanna* türleri *Nonea* türlerine görünüşte oldukça benzerlik göstermektedir (Huber-Morath, 1978).

1. Korolla dış yüzeyi tüysüz
2. Korolla mavi (veya çeşitli renklerde)

Grup B

Grup B

1. Nutletler pürüzlü-skrobikulat (küçük yuvarlak çukurlar veya oluklar ile kaplı bir yüzeye sahip), ağımsı veya yoğun olarak (nadiren seyrek olarak) tabanı şişkin
2. Nutletler tabanda birleşmeyen çok sayıda (nadiren az) kabarcıklarla birlikte
3. Nutletler aşağı doğru kıvrık gagalı
5. Korolla 15-17 mm, lamina 7-11 mm çapında; gövde yaprakları 10x2,5 mm boyutlarında dikdörtgensel (Huber-Morath, 1978).

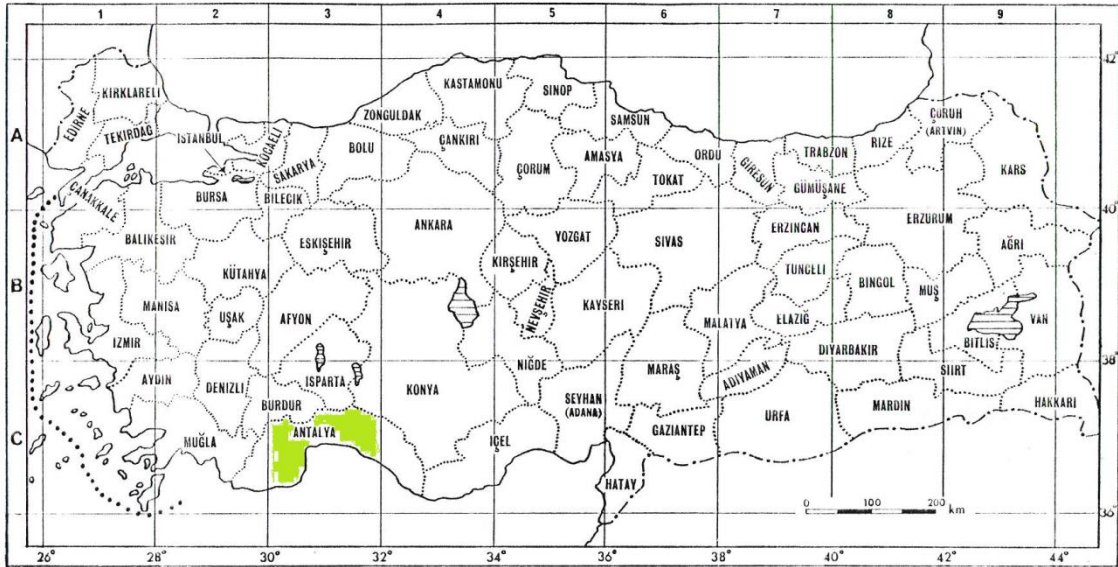
A. macrophylla

2.1.1.1.3. *Alkanna macrophylla* Boiss. & Heldr.

Bitki 20-60 cm boyundadır. Yapraklar kadifemsi tüylü, az çok parlak, 0,1-0,4 mm ölçülerinde bezeli veya bezesiz tüylerden oluşan yoğun tüy örtülü, seyrek dağılmış 1-2,5 mm bezesiz dikensi tüylüdür. Taban ve gövde yaprakları 2-10x0,5-2,5 cm boyutlarında lanseolattan oblonga değişik şekillerdedir. Simler meyva döneminde 10-25 cm'dir. Brakteler lineer oblongdan ovata değişik şekillerde 1-4x0,2-1,5 cm, kaliksten çok daha uzun, bazen tabanda subkordattır. Kaliks çiçeklenme döneminde 5-7 mm, meyva döneminde 8-10 mm'dir. Korolla mavi, dış yüzeyi tüysüz, 15-17 mm, dudaklar 7-11 mm çapındadır. Nutletler (1-7)-2-2-5 mm çapında, yoğun olarak tüberkülat, yumrular yassıdır, tabanda birleşmez, gaga kıvrıktır. Çiçeklenme 3-6 aylar. Deniz kayalıkları ve kalıntılarda yetişir (Boiss, 1852).

Sintip: [Türkiye C3 Antalya] Perge amfi tiyatro duvarlarında (Şekil 2.1.)

Endemik. Doğu Akdeniz elementi.



Şekil 2.1. *Alkanna macrophylla* yayılış haritası

2.1.1.2. Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları

A. macrophylla'da bulunan naftakinon türevleri HPLC ile belirlenmiştir ve serbest alkannin bulunmadığı ancak total alkannin miktarının (mg/100 mg bitki materyali) %0,36 olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Türkiye'de yetişen 13 endemik *Alkanna* türünün de serbest ve total alkannin miktarları ilk kez belirlenmiştir. Bunlar içerisinde

A. tubulosa Boiss. en yüksek total alkannin miktarına sahipken, serbest alkanninin en çok bulunduğu tür *A. mughlae* Duman, Güner & Şagban olarak belirtilmiştir (Pekin vd., 2007).

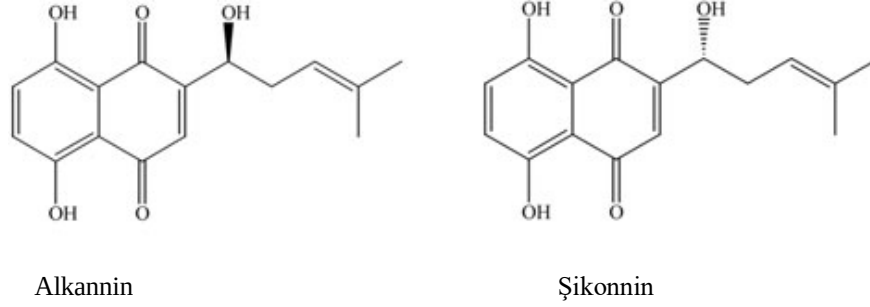
Alkanna türleri ile yapılan fitokimyasal çalışmalarda pirolizidin alkaloitleri (Roeder vd., 1984, 1992), flavonoitler (El Sohly vd., 1997), yağ asitleri (Papageorgiou ve Assimopoulou, 2003) ve naftakinon türevi bileşikler (Afzal ve Muhammad, 1983; Papageorgiou, 1977, 1978; Papageorgiou ve Digenis, 1980) elde edilmiştir. *Alkanna* türlerinin de dâhil olduğu Boraginaceae familyasındaki bitkilerin sekonder bileşikleri arasında en önemli grubu pirolizidin alkaloitleri oluşturmaktadır (Hartmann ve Witte, 1995).

Yapılan çeşitli aktivite çalışmalarında, *Alkanna* türlerinden yara iyileştirici (Papageorgiou, 1978) ve antimikrobiyal (Papageorgiou vd., 1979, 1980) özellikler gösteren naftakinonlar tespit edilmiştir. Ayrıca DNA-topoizomerez I ve II enzimlerini inhibe ettikleri de gösterilmiştir (Kourounakis vd., 2002).

Alkanna türlerinin naftakinon türevi bileşenlerinden olan alkannin, şikonnin (Şekil 2.2.) ve *A. tinctoria* (L.) Tausch kök ekstrelerinin, antioksidan etkileri bazı bitkisel ve hayvansal yağlarda çalışılmıştır (Assimopoulou vd., 2004). Alkannin bileşiği bitkinin kök ekstraksiyonundan elde edilmekte olup koyu kırmızı renk pigmentlerinin bileşimine girer. Bu özelliğinden dolayı büyük ilgi görmüş ve uzun yıllar boyunca kumaş boyama maddesi olarak kullanılmıştır. *A. tinctoria* kök ekstrelerinden aktif bileşen olarak alkannin türevleri ilk defa 1976 yılında tanımlandıktan sonra *A. tinctoria* kök ekstresini içeren merhemler formüle edilmiştir ve başarılı hayvan denemelerinden sonra yara iyi edici olarak patentleri alınmıştır (Papageorgiou, 1978; Papageorgiou vd., 1979). Aynı zamanda bu ekstrelerin yara iyi edici ve antimikrobiyal özellikleri de klinik olarak da doğrulanmıştır (Papageorgiou vd., 1999). Aynı zamanda alkannin Merck Index'te astrenjan olarak yer almıştır (The Merck Index, 1989). Şikonnin (R enantiyomer) de alkannin gibi bitkinin kök ekstresinden elde edilen kırmızı renk pigmentinin temel bileşenidir. İpek boyası olarak kullanımı uzun yıllar öncesine dayanmaktadır.

Alkannin ve şikonnin geniş bir biyolojik etki spektrumuna sahiptir ve çeşitli farmasötik ve kozmetik preparatların yapısına girmektedirler ve gıda renklendiricileri olarak da kullanılmaktadırlar (Papageorgiou, 1980; Assimopoulou vd., 2004). Şikoninin Gram pozitif ve Gram negatif çeşitli bakterilere karşı MIC değerleri belirlenmiştir.

Ayrıca şikoninin topoizomerez II aracılı DNA bölünmesini de *in vitro* olarak indüklediği gösterilmiştir (Fujii vd., 1992).



Şekil 2.2. Alkannin ve şikonin kimyasal yapıları (Pekin vd., 2007)

Boraginaceae familyası naftakinon türevi bileşikler açısından zengin olduğundan özellikle antikanser bileşikler açısından ilgi çekici olmuştur ve bu bileşiklerin sitotoksik ve antikanser etkileri üzerine pek çok incelemeler yapılmıştır (Gaddipati vd., 2000; Chenna vd., 2001; Chen vd., 2002; Sevimli Gür, 2009).

Bazı *Alkanna* türlerinin köklerinden hazırlanan preparatlar ise ülkemizde halk arasında kabızlığa karşı, yara iyi edici ve adet kesici olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan türlere örnek olarak *A. tinctoria* ve *A. orientalis* Boiss verilebilir (Baytop, 1999).

A. tinctoria (L.) Tausch subsp. *glandulosa* köklerinin dekoksasyonu Türkiye’de halk arasında dâhilen ve haricen hemoroite karşı kullanılmaktadır (Erbay ve Sarı, 2017).

Alkanna türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Bu maddeleri içeren bitkilerden elde edilen preparatlar, antibakteriyel ve antifungal özellikler göstermişlerdir.

A. tinctoria ekstresinin bir dizi mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ispatlanmış ve total fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi gösterilmiştir (Şengül vd., 2009). *A. tinctoria*, balmumu ve zeytinyağı karışımının yanık yarası üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, karışımın uygulandığı hastalarda yara iyileşmesinin hızlandığı, ağrının azaldığı ve hastanede yatış süresinin kısaldığı gözlenmiştir (Gümüş ve Özlü, 2017).

Çoklu ilaç direnci gösterdiği belirlenmiş *Acinetobacter baumannii*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerine karşı *A. tinctoria* ekstralarının difüzyon metodu ile antimikrobiyal etkilerinin ve minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyonlarının araştırıldığı bir çalışmada Imipenem ile karşılaştırıldığında *S. aureus*'a karşı tüm ekstralarda önemli düzeyde aktivite görülmüştür. Sulu ekstrenin ise, Imipenem'e kıyasla *A. baumannii* ($10\pm0,3$ mm), *P. aeruginosa* ($12\pm0,5$ mm) ve *S. aureus* ($14\pm0,5$ mm)'a karşı en iyi etkinliği gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin sulu ve etanollü ekstralarının özellikle alkaloitler, flavonoitler ve karbonhidratlar gibi çok sayıda bileşen içerdiği görülmüştür (Khan vd., 2015).

A. tinctoria ile aktif anti-kolorektal kanser bileşiklerini araştırmak için fitokimyasal çalışmalar yapılmıştır ve kinon bileşikleri (alkannin, asetil alkinnin, angelilalkannin, dimetilasil alkannin ve arnebifuranon, metoksiangenilalkannin, alkanfuranol ve alkandiol) izole edilmiştir. Bu bileşiklerden alkannin, angenilalkannin ve 5-Metoksiangenilalkannin anti-proliferatif etkiler göstermişlerdir. 5-Metoksiangenilalkannin ise en güçlü etkiyi göstermiştir (Tung vd., 2016).

A. orientalis (L.) Boiss. yaprak ve çiçek ekstresinin *Mycobacterium smegmatis* ve *S. aureus* mikroorganizmalarının büyümelerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Aktiviteden sorumlu olarak sarotidin flavonoiti izole edilmiştir (Bame vd., 2013).

Alkanna türlerinden *A. bracteosa* Boiss., *A. frigida* Boiss., *A. orientalis* ve *A. tricophila* Hub.-Mor. türlerinin bütanol, etil asetat, hekzan, kloroform ve sulu ekstralarının antioksidan etkileri 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil, ferrik tiyosiyanat ve tiyobarbitürik asit metodları kullanılarak incelenmiş ve pozitif kontrol olarak kersetin ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucu tüm ekstralarda antioksidan aktivite görülmüştür ancak bütanollü ekstre diğer ekstralardan ve kersetinden daha güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (Salimikia vd., 2015).

2.1.2. *Sphaerophysa kotschyana* Boiss.

2.1.2.1. Botanik özellikler

Türkçe adı	: Hürmüz otu
Familya	: Fabaceae
Cins	: <i>Sphaerophysa</i> DC
Endemizm	: Endemik
Habitat	: Tuz gölü yakını tuzlu ova, 1000 m
Çiçeklenme	: 5-6. aylar
Bölge	: B4



Görsel 2.4. *Sphaerophysa kotschyana* habitatı



Görsel 2.5. *Sphaerophysa kotschyana* toplanmış örneği



Görsel 2.6. *Sphaerophysa kotschyana* popülasyonu

Dünyada *Sphaerophysa* cinsi iki tür ile temsil edilmektedir. Bunlar *S. kotschyana* ve *S. salsula* (Pallas) DC türleridir. Bu iki tür yakın akraba olmakla birlikte yaprak, gövde, tohum ve kaliks boyutları açısından farklılık göstermektedir (Davis, 1970).

S. kotschyana İç Anadolu Bölgesi'ne endemik bir türdür. *S. salsula* ise Rusya, Azerbaycan, İran ve Suriye'de yayılış göstermektedir (Aytaç ve Ekim, 1996).

2.1.2.1.1. Fabaceae (Leguminosae)

Odunsu veya otsu bitkilerdir. Yapraklar genellikle stipulalı olmakla beraber alternat, bipinnat, basit pinnat, üç veya basit (sıklıkla tek veya filot şeklinde) parmaklı yaprakçıklıdır. Çiçekler ise ışınsal veya zigomorf, hipogin veya bazen perigindir ve genellikle hermafrodittir, salkım, başak veya şemsiye şeklindedir veya tek başınadır. Sepaller 4-5 tane, tek olan sepal daima öndedir. Petaller 1-5 tane, kenarları ile birbirine değeri durumda veya tomurcukta kiremitsi, serbest veya nadiren kısmi olarak birbirine yaklaşmış durumdadır. Stamenler 4 veya daha çok, genellikle 10 tane, hepsi bir tüpte birleşmiştir (hepsi bir demet halinde birleşik) veya üstteki stamen serbest halde diğerleri birleşiktir (diadelphous) veya hepsi serbesttir. Karpel 1 tane, üst durumlu, kenarsal plasentalanmalıdır. Meyva legumen (bütün karın (ovülleri taşıyan) ve sırt (ovül taşımayan) dişleri boyunca açılmıştır) veya açılmayan meyvadır, bazen de tek tohumlu kısımlara ayrılır (her bir bölümde bir tohum bulunacak şekilde boğumlu). Tohumlar bir tane veya daha çoktur (Hutchinson, 1964).

1. Yaprak laminası guddeli değil
2. Yaprakların bazıları yetişkin bitki bileşiminde
3. Yapraklar parmaklı (digitat), pinnat, bipinnat veya üç yaprakçık varsa uçtaki yaprakçık daha fazla büyümüştür veya stipulalar yaprakçıklara benzer ve yaprak sapından serbesttir.
4. Yapraklar üç yaprakçıklı, digitat veya basit pinnattır (yaprakçıklar bir veya daha fazla çift halindedir).
5. Bütün yapraklar imparipinnat (yaprakçıkları tek sayıda olan pinnat yaprak), üç yaprakçıklı veya digitattır (ana eksen uçtaki yaprakçıkta sonlanır) (Hutchinson, 1964).

Grup F

Grup F

1. Yapraklar üç yaprakçıklı veya imparipinnat
4. Uçta bulunan yaprakçıklar geri kalanlarla yaklaşık olarak aynı büyüklükte veya daha küçük
7. Yaprakçıklar basit tüylü
8. Çalılar veya ağaçlar
9. Yaprakçıklar tek renkli; çiçekler en az bir petalli
10. Dikenler yok; çiçekler zigomorf
11. Çiçek durumu salkımsı
12. Standart korolla, kanat ve omurga; meyva yassı veya şişkin, en az 15 mm
13. Çiçekler mavi (Hutchinson, 1964). ***Sphaerophysa***

2.1.2.1.2. *Sphaerophysa DC*

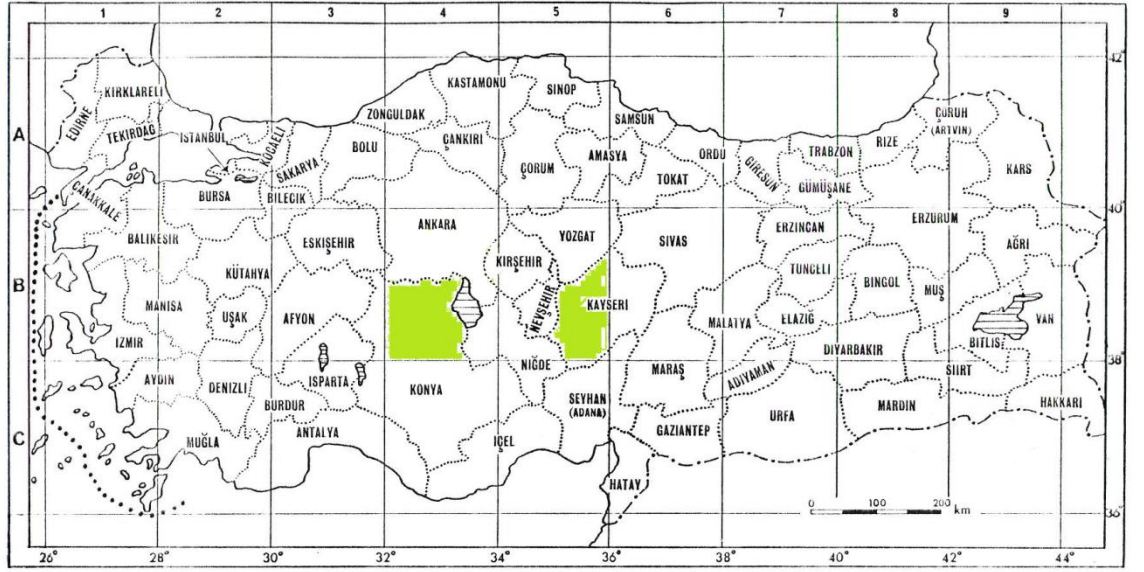
Çok yıllık bitkilerdir. Yapraklar imparipinnattır (yaprakçıkları tek sayıda olan pinnat yaprak); stipulalar yoktur. Çiçek durumu koltuklarda 5-8 çiçekli salkımdır. Kaliks çan şeklinde ve hemen hemen eşit 5 dişlidir. Korolla mavi; omurga obtustur (sivri ile yuvarlak arası). Stamenler iki küme halinde veya biri serbest diğerleri birleşiktir. Meyva hemen hemen açılmayan tipte meyva olup dikdörtgensel-elipsoit, zarımsı ve şişkindir. *Colutea* ile yakınlığı vardır (Chamberlain, 1970).

2.1.2.1.3. *Sphaerophysa kotschyana Boiss.*

Dik ve grimsi beyaz görünüşte sık tüylü bitkilerdir. 4-6 çift yaprakçığa sahiptir. 8-14x4 mm, baltamsı-dikdörtgensidir. Salkımları 5-8 çiçeklidir. Kaliks seyrek tüylüdür. Korolla mavi, 15 mm'dir. Ovaryum tüsüzdür. Olgun meyvaları bilinmemektedir. Çiçeklenme dönemi 6. ay olup tuzlu bataklık ortamda ve 1000 m yükseltide yetişir.

Tip: [Türkiye B5 Kayseri], Everek ve Dünderli arasındaki ovalar (Şekil 2.3.)

Endemik: İran-Turan elementi. Sadece toplanan tiplerden bilinmektedir. Bir Orta Asya türü olan *S. salsula*, kırmızı çiçekleri ve obtus, az çok yumuşak tüylü ovaryumu ile bu türden ayrılır (Boiss, 1872).



Şekil 2.3. *Sphaerophysa kotschyana* yayılış haritası

2.1.2.2. Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları

S. kotschyana ile yakın akrabalığı olan *S. salsula* türü Çin’de nefrit, kronik hepatit, anjiyonörotik gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan bir bitkidir (Xu vd., 2009). *S. salsula* türünün Çin’de halk arasında hipertansiyona karşı da kullanımı da vardır (Ma vd., 2002).

S. kotschyana türüne ait morfolojik, karyolojik ve ekolojik yönden çalışmalar yapılmıştır (Duran vd., 2010). Ancak bu türe ait aktivite çalışmaları ve fitokimyasal çalışmalar kısıtlıdır.

S. kotschyana bitkisinin yağ asidi bileşenleri analiz edilmiş ve ana bileşenlerin meyvede linoleik asit (%72,41) ve palmitik asit (%18,20), bitkinin yaprak-gövdesinde ise; oleik asit (%59,12) ve stearik asit (%13,42) olduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada bitkinin vitamin A ve vitamin E içeriği belirlenmiş antioksidan kapasitesi çeşitli yöntemlerle araştırılmıştır. Katyon radikali giderme aktivitesinin yüksek olduğu belirlenmiş ve total fenolik madde miktarı yaprak-gövdede (0,357 mg GAE/kg) kuru bitki ve meyveye (0,006 mg GAE/kg) göre daha fazla bulunmuştur (Güzel, 2013).

S. kotschyana bitkisinin tuzlu ortamlara adaptasyonundaki biyokimyasal tepkilerini araştırmak amacıyla bitki 0, 150 ve 300 mM NaCl’ye 7 ve 14 gün maruz bırakılmıştır. Süre sonunda antioksidan enzimlerin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz

(CAT), peroksidaz (POX) aktiviteleri ve izozim bileşimleri incelenmiştir. Çalışmalar sonucunda düşük tuz konsantrasyonlarında bitkinin oluşabilecek hasarlara karşı tolerans geliştirdiği belirtilmiştir (Yıldızıtugay vd., 2013).

S. salsula türü ile fitokimyasal çalışmalar sonucu çeşitli izoflavonlar, kumarinler ve alkaloidler izole edilmiştir (Ma vd., 2002).

S. salsula tohumlarının etanollü ekstrelerinden iki yeni 9,10-seko-sikloartan (Sphaerophyside SC ve sphaerophyside SD) izole edilmiştir (Ma vd., 2004).

2.1.3. *Gagea villosa* var. *villosa* (Bieb.) Duby

2.1.3.1. Botanik özellikler

Türkçe adı	: Tüylü yıldız, tarla altınıyıldızı
Familiya	: Liliaceae
Cins	: <i>Gagea</i> Salisb.
Endemizm	: Endemik değil
Habitat	: Bozkırlar, ekili alanlar, koru açıklıklar, 350-2300 m
Çiçeklenme	: 3-5. aylar
Bölge	: A2, A4, A5, A6, A7, A8, A9, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, C2, C3, C6, C8, C10



Görsel 2.7. *Gagea villosa* var. *villosa* habitatı



Görsel 2.8. *Gagea villosa* var. *villosa*



Görsel 2.9. *Gagea villosa* var. *villosa* çiçekleri popülasyonu

Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'da yayılış gösteren *Gagea* cinsinin 250 kadar tür içerdiği bilinmektedir ve Liliaceae familyasının en büyük cinslerinden birisidir (Caparelli vd., 2006). Türkiye'de ise bu cinsin 2'si endemik 25 türü (27 takson) bulunmaktadır (Davis, 1984).

2.1.3.1.1. Liliaceae

Çok yıllık (nadiren tek yıllık) olup genellikle rizomlu, kormuslu, soğan ya da yumrulu; nadiren çalı şeklinde tırmanıcı bitkilerdir. Yapraklar taban veya gövde yaprakları (nadiren orta damarı boyunca ikiye katlı, eksen üzerine sapsız olarak karşılıklı iki sıra üzerine aynı planda ve tabanlarıyla biri diğerini örter vaziyette sık dizilişli), bazen gövde yaprakları ölçülerine indirgenerek sonrasında oval veya linear kladodlar meydana getirmektedirler. Çiçek durumu bileşik salkım, salkım, umbella (şemsiye) veya demet şeklindedir veya çiçekler tek başınadır. Çiçek örtüsü iki sıralı, (veya nadir olarak içteki halkaların ortadan kalkmasıyla bir sıralı); çiçek örtüsü parçaları (4-)6(-8) adet, serbest veya bitişik, genellikle petaloittir. Stamenler (4-)6(-10) adettir. Nektaryumlar perde üzerinde, tabansal veya çiçek örtüsü üzerine taşınmıştır. Yumurtalık 3-gözlü, her zaman üst durumludur (nadiren perigin tabladır). Stiluslar i-3, nadiren 5, basit veya lobludur. Meyva kapsül veya üzüksüdür. Tohumlar yuvarlak, üçgen şeklinde veya disk şeklindedir (Davis, 1984).

1. Sülükleri bulunmayan tırmanıcı olmayan bitkiler; gövdeler dikensiz
2. Çiçekli bitkide toprak üzerinde görünür gövde veya çiçek sapı
4. Yapraklar normal gelişmiş, ancak bazen çiçeklenme dönemi bulunmazlar.

7. Çiçekler ne bir umbella içindedir ne de ilk önce bir spata (bir çiçeği veya çiçek durumunu tabandan saran yapraksı veya zarımsı brakte) içine alınmıştır, eğer hemen hemen umbella şeklindeyse çiçek durumundaki yaprak benzeri braktelerle ayrılır; bitki soğan veya sarımsak gibi kokmaz.

9. Çiçekli gövdeler veya çiçek sapları yapraklar veya yaprak benzeri brakteler taşır.

10. Yapraklar alternat, çift veya birkaç halka halinde, paralel damarlı; çiçekler 3 adet içerde ve 3 adet dışarda benzer çiçek örtüsü parçaları ile birlikte

11. Çiçek örtüsü parçaları tabana serbest; iplikler çiçek örtüsünün tabanına bağlanmıştır; çiçekler veya çiçek durumu uçta; meyva bir kapsüldür.

12. Stilus 1 (bazen 3 stigma lobu ile birlikte) veya stigma sapsız; çiçek durumu basit, salkımsı, neredeyse şemsiye şeklinde veya bir çiçekli; kuvvetli damarlanmayan yapraklar

13. Yapraklar distik (bir eksenin karşılıklı iki tarafında iki sıra üzerinde ve aynı planda dizili) değil, dorsiventral (üst yüzü ve alt yüzü farklı yapıda olan yapraklar); iplikler tüysüz veya tabanda genişlemiş tüylü; tohumlar iğ şeklinde, ipliksi değil

14. Stigma iyi gelişmiş bir stilus üzerinde; tohumlar çeşitlidir

15. Yapraklar birkaç tane (2-12); anterler dik, filamente tabanlarından bağlı

17. Çiçekler dik veya yükselici; çiçek örtüsü parçaları 1-2 cm (Davis, 1984).

Gagea

2.1.3.1.2. *Gagea Salisb.*

Tunikalı soğanlı bodur çok yıllıklardır; yeni soğanlar eskilerin içinde ya da yanında oluşmuştur, çoğu zaman kalınlaşmış kökler ile sarılmıştır. Taban yaprakları (0)1-2(-3) adet, şeritsi veya şeritsi lanseolat, boş, içi dolu veya yassıdır. Çiçek durumu umbellalı salkımsı, yaprağa benzeyen braktelidir, sıklıkla koltuklarında soğancıklar mevcuttur. Çiçekler sarı, nadiren beyazdır. Çiçek örtüsü parçaları serbest, nektaryumlar olmadan eşittir. Stamenler 6 adet, anterler filamente tabanlarından bağlıdır. Stilus tamdır (bizdekilerde). Tohumlar düz veya armut şeklindedir (Rix, 1984).

1. Taban yaprağı vardır; her gövde yaprağının koltuğunda bir veya daha fazla soğancık bulunur

2. Her soğan başına eşit veya nerdeyse eşit 2 veya daha fazla taban yaprakları

16. Çiçek örtüsü parçaları sivri veya sivri ile yuvarlak arası
17. Taban yaprakları şeritsi, eğer düzse daha çok çiçek durumunu aşan
18. Gövde yaprakları karşılıklı veya neredeyse karşılıklı, umbel taşır
19. Gövde yapraklarının koltuklarında soğancıklar yok; kalınlaşmış kökleri olmayan soğanlar; taban yaprakları kesitlerde D-şeklinde veya iplik şeklinde 1-2.5 mm genişliğinde
20. Taban yaprakları kesitlerde D-şeklinde; küçük çiçek sapları braktelerden daha kısadır (Rix, 1984). ***villosa***

2.1.3.1.3. *Gagea villosa* (Bieb.) Duby

Soğanlar kahverengi sert tunikalıdır. Yeni soğan eskinin yanında oluşur, genellikle kırışık derilidir ve genellikle aşağı doğru kıvrık kalınlaşmış kökler bulundurmaz. Taban yaprakları 2 tane, şeritsi, 16x1-2,5 mm, çiçek durumunu aşan, enine kesitte D-şeklinde, tüysüz veya kısa tüylüdür; yapraklar daha çok zemin seviyesindedir ve sıklıkla koltuklarında soğancıklar mevcuttur. Çiçek durumu hafifçe umbellalı, 1-10 cm, tüylü veya tüysüzdür. Gövde yaprakları karşılıklı veya hafifçe karşılıklı, gür örneklerde daha alçak, tek çiçekli veya koltuğunda daha küçük umbellalı, çok nadiren koltuklarda soğancıklarla, çiçekleri aşmayan, 9 mm genişliğindedir. Çiçekler 1-15 mm'dir. Çiçek örtüsü parçaları sarı, dar ovattır ve çiçeklenme zamanında 7-10(-20) mm'e, meyva zamanında 11-18 mm'e uzamakta ve kıvrılmaktadır, küt, bazen dışı tüylü, özellikle tabanda bulunmaktadır. Kapsül ters dönmüş kalp şeklinde (obkordat) veya yumurta şeklinde, emarginattır

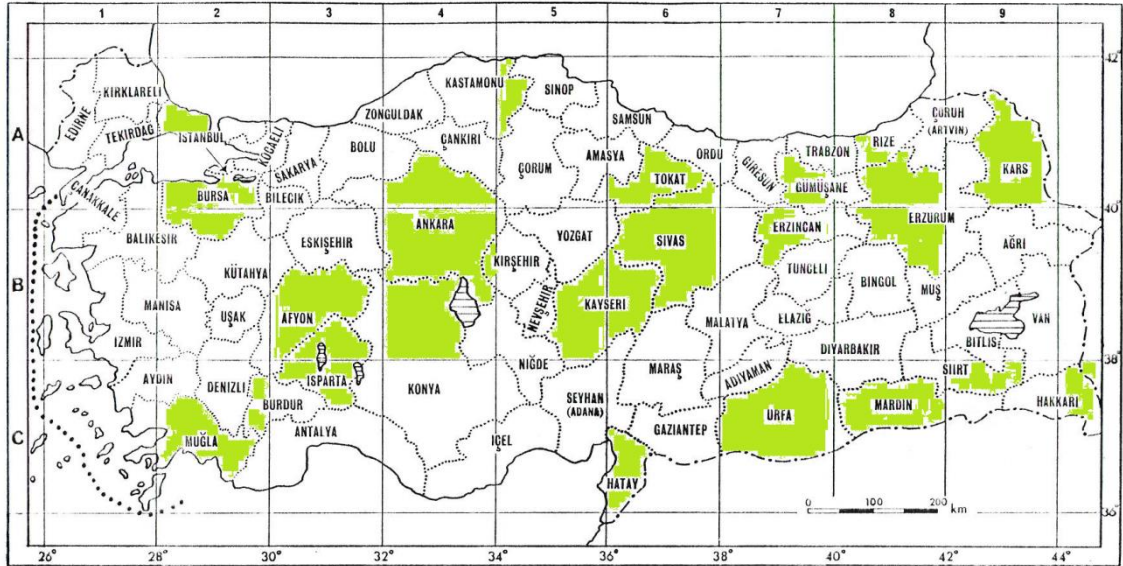
1. Çiçek örtüsü parçaları 10 mm'den daha fazladır. Çiçekler 4'ten fazladır (Duby, 1828).

var. *villosa*

***Gagea villosa* var. *villosa* (Bieb.) Duby**

Syn: *Ornithogalum arvense* Pers. Çiçeklenme zamanı 3-5. aylardır. Bozkırlar, ekili alanlar ve açık ağaçlıklar, 350-2300 m yükseklikte yetişir (Duby, 1828).

Yaygındır ancak adalarda yoktur. A2 İstanbul: Florya-Küçükçekmece, A2 Bursa: Uludağ-Bursa 1500 m, A4 Ankara: Çubuk, 1500 m, A5 Kastamonu: Tosya, Gavurdağı, A6 Tokat: Sivas-Tokat, A7 Gümüşhane, A8 Erzurum: Dumlupınar, A9 Kars: Çıldır-Ardahan, B2 Burdur: Kocayaran Dağı Gölhisar yukarısı, 1750 m, B3 Afyon: Bayat, Egerli Dağı, 1550 m, B4 Ankara: Etlik, B5 Kayseri: Erciyes Dağı, 2200 m, B6 Sivas: Gemerek, B7 Erzincan: Kemah, 1150-1750 m, B8 Erzurum: Palandöken Dağı, 2300 m, B9 Siirt: Sört-Şirvan, Akyamaç, 950 m, C2 Muğla: Yesilgöl Dağı, 1500-1800 m, C3 Isparta: Sütçüler, Kuzucaköyü, 1450-1680 m, C6 Hatay: Cilvegözü, 350 m, C7 Urfa: Viranşehir, Kızlar, C8 Mardin: Kocatepe, C10 Hakkâri: Yüksekova, Esendere, 1700-1800 m (Davis, 1984) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. *Gagea villosa* var. *villosa* yayılış haritası

2.1.3.2. Fitokimyasal özellikleri ve aktivite çalışmaları

G. villosa türü ile yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunu morfolojik, anatomik ve taksonomik çalışmalar oluşturmaktadır. Diğer *Gagea* türleri ile fitokimyasal çalışmalar ve aktivite çalışmaları mevcuttur.

İran'dan toplanan bitkilerin içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada *G. stipitata* Merckl. ex Bunge türünde flavonoit, *G. reticulata* Schult.f. türünde flavonoit, saponin ve tanin tespit edilmiştir (Fazly Bazzaz vd., 1997). Yine İran'dan toplanan içlerinde *G. stipitata*'nın da bulunduğu 306 bitki türünün metanollü ekstraktları antimikrobiyal aktivite

açısından araştırılmıştır. Çalışma sonucu *G. stipitata* 'nın *P. aeruginosa* ve *S. aureus* 'a karşı etkili olduğu görülmüştür (Fazly Bazzaz ve Haririzadeh, 2003).

Filistin'den toplanan 56 tıbbi bitkinin disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleri kullanılarak akne oluşumunu indükleyen bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *G. chlorantha* (M. Bieb.) Schult. & Schult. f. türünün *P. acnes*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* ve *K. pneumonia* türlerine karşı düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Ali-Shtayeh vd., 2013).

G. fibrosa (Desf.) Schultes & Schultes fıl türünün metanolik ve etanolik yaprak ekstratlarının toplam antioksidan aktiviteleri, β -karoten linoleik asit deneyi ve DPPH radikal süpürücü deneyi kullanılarak belirlenmiştir. Metanollü ekstratlar yüksek antioksidan aktivite (%72,54 $\pm$ 0,4) göstermiştir. Etanollü ekstratlerde ise daha düşük (%46,18 $\pm$ 0,09) aktivite görülmüştür (Mammadov vd., 2011).

2.1.4. *Erysimum sintenisianum* Bornm.

2.1.4.1. Botanik özellikler

Türkçe adı	: Köşeli zarifeotu
Familya	: Brassicaceae
Cins	: <i>Erysimum</i> L.
Endemizm	: Endemik değil
Habitat	: Düzlükler, kayalık yamaçlar, 1300-4300 m.
Çiçeklenme	: 4-7. aylar
Bölge	: A7, B5, B6, B9, C5, C6



Görsel 2.10. *Erysimum sintenisanum* habitati



Görsel 2.11. *Erysimum sintenisanum* popülasyonu



Görsel 2.12. *Erysimum sintenisanum* çiçekleri

Brassicaceae familyası, turpgiller olarak da bilinmekte olup daha çok kuzey yarım kürede nadiren tropiklerde yayılış göstermektedir (Koch vd., 2006). Bu familyada çoğunluğu tek yıllık, bir kısmı çok yıllık veya yarı çalı formunda da olabilen 338 cins ve 3700 tür yer almaktadır (Warwick ve Sauder, 2005). Flora of Turkey'e göre Brassicaceae familyasının en zengin ikinci cinsi *Erysimum* cinsidir. (Mutlu 2010).

Erysimum L. cinsine ait 290 ve 350 arasında tür bulunmaktadır ve Avrupa, Akdeniz bölgesinde, Yakın Doğu ve Doğu Asya'da ve Kuzey ve Orta Amerika boyunca yayılış göstermektedirler (Polatschek ve Snogerup, 2002). *Erysimum* cinsi taksonomik olarak zor bir cinstir. %45,6 endemizm oranına sahip *Erysimum* cinsine ait 21'i endemik 46 takson bulunmaktadır (Cansaran vd., 2007).

2.1.4.1.1. *Brassicaceae (Cruciferae)*

Otsu bitkiler, nadiren çalılardır. Yapraklar alternat, nadiren karşılıklı, stipulasızdır. Çiçekler genellikle hermafrodit, hipogin, 2 simetri eksenlidir. Sepaller 4 tane, serbest, karşılıklı çapraz iki çifttir. Petaller 4 tane, serbest, genellikle tırnaklı, sepaller ile almasıktır. Stamenler genellikle 6 adet, tetradinam (iki halka üzerinde, dış halkada 2 daha kısa, iç halkada 4 tane daha uzun stamen vardır), nadiren 4 veya 2 adettir, filamentler genellikle kanatlı, ekli veya dişlidir. Nektaryumlar stamenlerin tabanları etrafında değişik şekillerde dizilmişlerdir. Ovaryum 2 karpelli, karpelleri birleşik, genellikle iki gözlü, yalancı bir perde ile bölünmüştür. Meyva aşağıdan iki çenetle yarılmış bir kapsüldür, nadiren lomentuma benzeyen veya açılmayan meyvadır. Tohumlar nemli iken müsilaıdır (Schulz, 1936).

1. Meyva septuma paralel olarak kuvvetlice yassı veya az çok enine kesitte yuvarlak veya şişkin
2. Meyva findıksı değil, ince veya kalın çenetli, nadiren açılmayan meyva
3. Meyva gagalı değil, 2 parçaya bölünmemiş, bazen tohumlar arasında daralmasına rağmen; kotiledonlar hiçbir zaman boyuna olarak katlı değil; basit, tabandan bağlı, ikiye yarık veya dallanmış tüylü veya tüysüz bitki
4. Yapraklar basit, tamamen pinnatifit (lopları ayanın yarısının ortasına kadar derin olan pinnat damarlı yaprak şekli)
5. En azından biraz dallanmış, yıldız şeklinde veya ortalarından bağlı tüylerden veya pulsu tüylerden oluşan bitkiler (Schulz, 1936).

Grup F

Grup F

1. Meyva bir silikva (iki karpelli, iki gözlü, boyu eninden 3 misli daha uzun olan, aşağıdan yukarıya doğru iki yarıkla açılan, çenekleri düşen, fakat ortadaki yalancı perdesi kalıcı olan, kuru, açılan bir meyva (Cruciferae familyasının tipik meyva şekli), en az 3 kat, genellikle çok daha fazla şekilde boyu eninden uzun
2. Bir yıllıklar
3. Stigma az çok baş şeklinde, karpelden gelişmiş kayıcı lopsuz
5. Petaller sarı
6. Skapus taşımayan otsu bitki; tüyler yıldız şeklinde veya ikiye yarık

Erysimum

2. İki yıllık veya çok yıllık bitkiler
10. Stigma az çok baş şeklinde, karpelden gelişmiş kayıcı lopsuz
13. Çiçekler sarı
14. İçte bulunan stamenlerin filamentleri serbest; çiçekler hoş kokulu değil veya çok az kokulu
15. Gövde yaprakları ne kulakçıklı ne de gövdeyi sarıcı; çiçekler genellikle koyu sarı
17. Bitki genellikle çok daha küçük ya da eğer 30 cm'den yüksekse silikvanın genişliği 3 mm'den azdır ve sık tüylü grimsi beyaz görünüşte değildir; ortada nektaryumlar mevcut (Schulz, 1936).

Erysimum

2.1.4.1.2. *Erysimum L.*

Tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Yapraklar çoğunlukla dar, tamamen dişlidir, gövdeyi sarıcı değildir. Tüyler genellikle yatık, 2-5(-7) kolludur. Petaller sarı veya menekşe rengindedir. Filamentler bazen tabana doğru genişlemiş olmasına rağmen uzantısızdır. Nektaryumlar dış stamenlerin tabanlarını ve ayrıca iç stamenlerin dışını çevrelemektedir. Meyva yassı, dört köşeli veya silindirik bir silikvadır. Tohumlar her gözde tek sıra halindedir. Stilus 8 mm, çok kısadır. Stigma baş şeklinde veya iki lobludur. Taksonomi bakımından zor bir cinstir, çok fazla monografik çalışmaya ihtiyaç vardır (Cullen, 1965).

1. Silikva birkaç tane 2 yarıkli tüyler de olmasına rağmen temelde 3-5 yarıkli tüylerden oluşan tüy örtüsüne sahip,
2. İki yıllık veya çok yıllıklar; petaller (7-) 10-20 mm
3. Silikva saplı, en az 10 mm, genellikle daha uzun
4. Silikva aşağı doğru dik-yayılan, çiçeklenme eksenine yatık değil
8. Petaller 16 mm'nin üzerinde silikva dik yayılan
9. Silikva genellikle 25 mm'den fazla; stilus 6 mm'den az; çiçekler en azından kısa saplı
10. Yumruları olmayan silikva; petaller 7 mm'den fazla
11. Gövde 5-15(-20) cm; kökten itibaren çok gövdeli bitkiler

14. Çiçekler braktesiz; petallerin rengi altın sarıdan soluk sarıya
 15. Petaller 7-10 mm, soluk sarı
 16. Stilus 2-4 mm; alt yapraklar tam veya iki tarafta 1-2 az derin dişli (Cullen, 1965).
- sintenisianum (alpestre)***

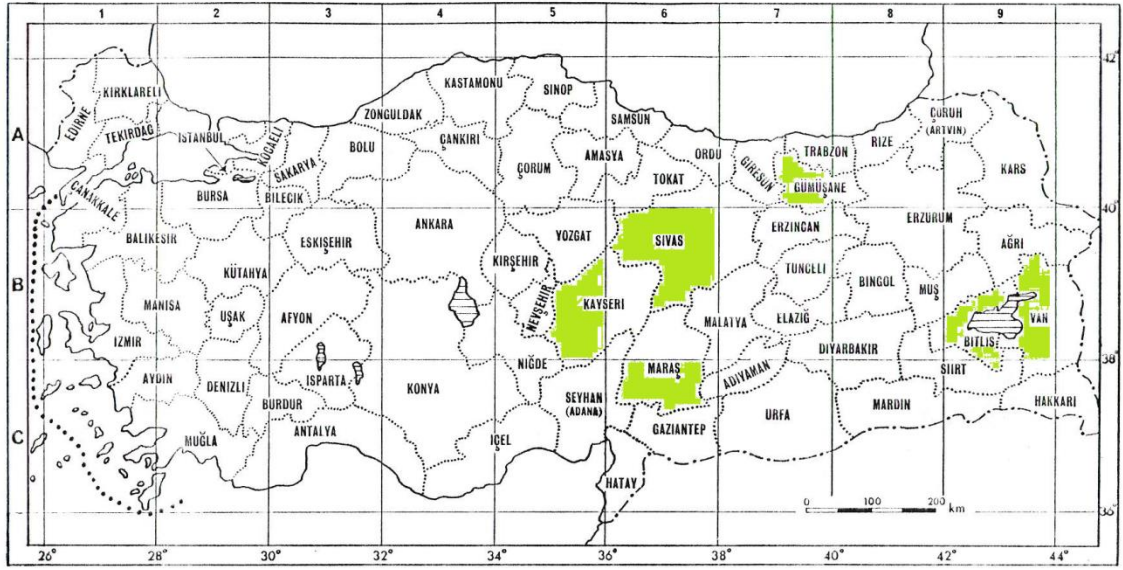
2.1.4.1.3. *Erysimum sintenisianum* Bornm. (*E. alpestre* Kotschy ex Boiss.)

Çok yıllık otsu bir bitkidir, kökten itibaren çok gövdelidir. Gövdeler dik olarak yükselici, 5-15 cm, iki kollu tüylerden oluşmuş bir tüy örtüsü ile biraz grimsi beyaz görünüşte sık tüylüdür. Alt yapraklar rozet oluşturmaktadır, oblanseolat (ters dönmüş, baş aşağı mızraksı), spatulamsı, bütün veya her iki tarafta bir ya da iki küçük tırtıklıdır; gövde yaprakları benzer veya daha dar; fakat genellikle 3-5 kollu tüylerin yanı sıra hepsi iki kollu tüylerin çoğunlukta olduğu bir tüy örtüsü ile birlikte. Çiçekler çoğu zaman sapsızdır. Çanak yapraklar 4-6 mm'dir. Taç yapraklar parlak soluk sarı, 7-10 mm'dir. Silikva yayık, eğrilmiş, silindirik 4 köşeli, 3-5 kollu tüylerle grimsi beyaz görünüşte, sık tüylü, 15-25 mm'dir. Stilus (boyuncuk) 2-4 mm'dir. Stigma (tepecik) 2 kolludur. Çiçeklenme zamanı 4-7. aylar, yetiştirme ortamı kaytaşlar, kayalık yamaçlar 1300-4300m' dir (Kotschy, 1867).

Tip: [Türkiye C5 Seyhan]

Anadolu: A7 Gümüşhane: Ak Taş, B5 Kayseri: Erciyes Dağı, B6 Sivas: Sivas, 1300-1400 m, B9 Bitlis: Nemrut Dağı, 2300 m, Van Artos Dağı, 3400 m, C6 Maraş: Berit Dağı, 3000 m (Şekil 2.5.).

İran-Turan elementi; morfolojik olarak *E. gelidum* türüne yakın (Kotschy, 1867).



Şekil 2.5. *Erysimum sintenisianum* yayılış haritası

2.1.4.2. Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları

Erysimum türlerinden bazılarının halk arasında kullanımları mevcuttur. *E. graecum* Boiss. & Heldr. bütün bitki halinde kaynatılarak çay olarak kullanılır (Baykal, 2015). *E. officinale* L. çiçekli toprak üstü kısımları infüzyon şeklinde öksürüklerde kullanılmaktadır (Tanker, 1991).

Erysimum türleri ile yapılan fitokimyasal içerik çalışmaları sonucu türlerin metiltiyoalkil, metilsülfonilalkil ve metilsülfonilalkil glikozinolatlarını içerdikleri belirlenmiştir (Daxenbichler vd., 1991).

E. cheiranthoides L. tohumlarından iki yeni kardiyak glikozit izole edilmiştir. Yapıları strophanthidin glikozitleri olarak tanımlanmıştır (Lei vd., 1998). *E. cheiranthoides*'in kardiyak glikozit biyosentezi çalışmalarında genetik ve genomik bir model olma potansiyeli üzerine araştırmalar yapılmıştır (Züst vd., 2018).

E. crepidifolium Rchb. türünün yapraklarından dört kardiyak glikoziti izole edilmiştir (Hugentobler ve Renwick 1995).

E. diffusum Ehrh. türünün glikozinalat otoliz ürünlerinin GC-MS analizi sonucu yeni bir hardal yağı bileşeni (4-İzotiyosiyanatobutanoik asit) belirlenmiştir. 4-İzotiyosiyanatobutanoik asit, antimikrobiyal aktivite açısından incelenmiş ve bazı insan

patojenlerine karşı inhibitör (10-220 µg/mL) ve mikrobisidal (10-1175 µg/mL) etkiler göstermiştir (Radulovic vd., 2011).

E. corinthium Boiss. türünde ilk defa sinigrin, progoitrin, glukoiberin, 3-(metilkarbonil) propil glikozinolat, gluko-urolin ve glikoizolin glikozinolatları tanımlanmıştır. Glikocheirolin tohumlarda biriken temel bileşiktir ve progoitrin köklerdeki ana bileşik iken, 3-(metilkarbonil) propil glikozinolat, yapraklardaki ana bileşiktir. Diğer bileşenlerden terpenler ve yağ asitleri esterleri de tanımlanmıştır. Tohumlar ve yapraklar, köklere göre daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Tohumlar, kolorektal, hepatik ve Hela hücre hatlarına karşı *in vitro* belirgin bir sitotoksiste göstermiştir (Gendy vd., 2010).

E. atichisonii O. E. Schulz tüm kısımları ve *E. ischenostylum* Freyn & Sint. toprak üstü kısımları *Morganella morganii*'ye karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Fazly Bazzaz ve Haririzadeh, 2003).

E. perofskianum Fisch. & Mey. türünün de aralarında bulunduğu Cruciferae familyasına ait bazı türlerin tohum yağları ile yapılan bir çalışmada sonucu ana bileşenler olarak miristik, palmitik, oleik, linoleik ve behenik asitlerin varlığı gösterilmiştir. Yağlar, test edilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin ve fitopatojenik mantarların çoğuna karşı orta derecede antimikrobiyal etkinlik göstermiştir (Akhtar vd., 1986).

E. bhutanicum W. W. Sm. türünde anlamlı ölçüde fenolik madde ve flavonoit bulunmuş ve bitkinin metanollü ekstresi serbest radikal temizleme aktivitesi göstermiştir (Yeshe vd., 2017).

E. kotschyana J. Gay. türünün antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada disk difüzyon yöntemi ile en yüksek antimikrobiyal etki *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine (11±1 zon çapı) karşı görülmüştür. Bitki ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi DPPH (%89,39±0,61) ve ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (%96,20±0,12) serbest radikal süpürücü aktivitesi, demir indirgeme gücü kapasitesi (0,01701±0.001), toplam fenolik (4,883±0,47) ve flavonoit madde miktarları (93,322±1,57) belirlenmiştir (Kılınçarslan, 2016).

2.1.5. *Polygonum sivasicum* Kit Tan & Yıldız

2.1.5.1. Botanik özellikler

Türkçe adı	: Sivas madımağı
Familya	: Polygonaceae
Cins	: <i>Polygonum</i> L.
Endemizm	: Endemik
Habitat	: Kayalar, açık tablalar, 1700-2400 m.
Çiçeklenme	: 7-8. aylar
Bölge	: A6, B6



Görsel 2.13. *Polygonum sivasicum* habitatı



Görsel 2.14. *Polygonum sivasicum* yakından görünüş



Görsel 2.15. *Polygonum sivasicum* genel görünüş

Polygonaceae familyası, yaklaşık 48 cins ve 1200 tür ile temsil edilmektedir. Polygonaceae familyasına ait *Polygonum* cinsi ise tüm dünyada yayılış göstermekle beraber kuzey ılıman bölgede daha yoğundur (Heywood, 1978).

Polygonaceae familyası ülkemizde 10 cins ile temsil edilmekte ve 40 tür ile en fazla tür içeren cinsi *Polygonum* oluşturmaktadır (Güner vd., 2000).

2.1.5.1.1. *Polygonaceae*

Otsu bitkiler, çalılar veya tırmanıcılardır. Yapraklar genellikle alternat, basittir. Stipulalar genellikle gövdenin etrafında zarımsı bir kın (okrea) için birleşmiştir. Çiçekler spikalarda (başaklarda), demetler veya birleşik salkımlar halindedir, hermafrodit veya tek eşeylidir, ışınsaldır. Çiçek sapları genellikle belirgin eklemlidir. Çiçek örtüsü 3-6 parçalı, parçalar aşağıda birleşmiştir, sıklıkla meyva zamanında büyürler. Taç yapraklar yoktur. Stamenler 6-9 arası, nadiren 16'ya kadardır. Ovaryum üst durumlu, tek gözlüdür. Stiluslar 2-4 tanedir. Ovül 1 tane, tabandadır. Meyva üç köşeli veya mercimek şeklinde bir nuttur (sert perikarplı tek tohumlu açılmayan kuru meyva), çoğu zaman kalıcı çiçek örtüsü içinde kapalıdır (Davis, 1967).

1. Otsular, bazen odunsu gövdeliler
4. Çiçek örtüsü parçaları 5-6 adet; yapraklar tabanda değil, böbrek şeklinde veya üçgensiz-kalp şeklinde veya uzun saplı değil
5. Çiçekler hermafrodit (erkek ve dişi organlar aynı çiçek içinde)
6. Stamenler 6-8 adet; meyva kanatlı değil; yapraklar pinnat damarlı (bir orta damarı olan ve bu ana damarın her iki yanından yan damarlar çıkan damarlanma şekli)
8. Çiçek örtüsü parçaları 5 adet, meyvada hepsi az çok eşit; stamenler genellikle 8 adet(Davis,1967).

Polygonum

2.1.5.1.2. *Polygonum L.*

Tek yıllık, çok yıllık veya odunsu bitkiler veya tırmanıcılardır. Çiçek örtüsü parçaları eşit, serbest veya birleşiktir, yukarıda petaloittir. Stamenler genellikle 8 tanedir. Stigmalar 2 veya 3 tanedir. Meyva üç köşeli veya mercimek şeklinde bir nuttur

(sert perikarplı tek tohumlu açılmayan kuru meyva), her zaman en azından kısmi şekilde kalıcı çiçek örtüsü içinde kapalıdır (Coode ve Cullen, 1967).

1. Tırmanıcı olmayan bitkiler; yapraklar kalp şeklinde-oksu değil
3. Çiçek durumu salkımsı veya başak şeklinde; çiçek örtüsü beyaz, pembe, kırmızı veya yeşilimsi
4. Stiluslar 2(-3) en az uzunluklarının yarısı kadar birleşik; yaprak sapları kanatlı değil
5. Okrea (kın) şeffaf, tepeye doğru daralmış; en azından bazı çiçekler koltuklarda ve hemen hemen tek
10. Sert odunsu yarıçalımsı bitkiler
11. Brakteler gövde yapraklarından çok daha kısa; gövdeler dik, az çok dik olarak yükselmiş
12. Yapraklar şeritsi, şeritsi-lanseolat (mızraksı), genişliğinden 3 kat daha uzun; alt okrea kuvvetlice lasiniat (dar parçalara ayrılmış)
13. Gövdeler çiçek durumunun altında dallanmış; yapraklar genellikle düz, genişliği 5 mm'den az
14. Bitki donuk mavimsi yeşil; çiçek örtüsü guddesiz, braketlerden daha kısa (Coode ve Cullen, 1967).

setosum

P. sivasicum *P. setosum* ile yakındır. Kısa, toprak üstünde yayık gövdeleri, noduslar arasından daha uzun veya eşit okreaları, kuvvetlice alta doğru kıvrık yaprak kenarları, sıkı olması, çiçek durumunun her nodusta 2-3 çiçekli olması ile hemen ayırt edilebilir. *P. setosum* az çok dallanmamış, dik, 10-40 cm tüysüz gövdeler, noduslar arasından daha kısa okrea, düz veya nadiren biraz alta doğru kıvrık yapraklar, çiçek durumu olarak dallanmış spika (başak), oldukça uzak ve her nodusta tek çiçeklere sahiptir (Coode ve Cullen, 1967).

2.1.5.1.3. *Polygonum sivasicum* Kit Tan & Yıldız

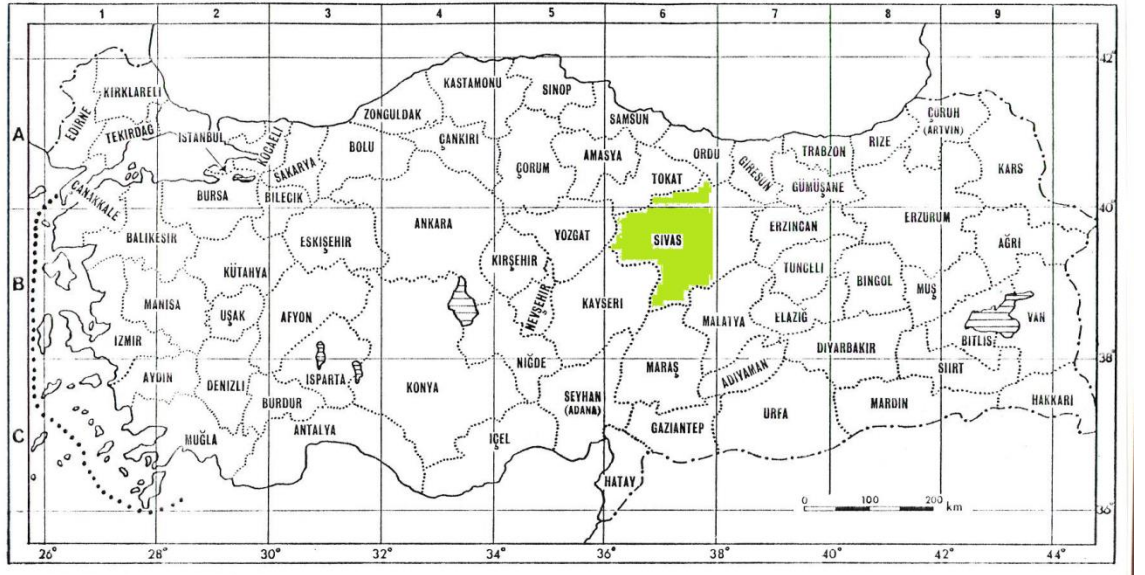
Taban kısmı sert odunsu olan çok yıllık yarı çalimsı bitkilerdir. Gövdeler çok sayıda, tabanda dallanmış, toprak üzerinde yatık, 5-10 cm, bariz şekilde boyuna oluklu; noduslar arası 5-12 mm, tüysüz veya kısa sert tüylerden dolayı pürüzlüdür. Okrea (kın)

zarımsı, 12 mm'ye kadar, nodlar arasına eşit veya ondan daha uzun, 6-8 damarlı, kuvvetlice lasiniat (dar parçalara ayrılmış), üst şeffaf, alt kırmızımsı-kahverengidir. Yapraklar çok sayıda, sapsız, şeritsi, 10-20x1-15 mm, tam, açık grimsi-yeşil, hafifçe tepecikli, kenarları alta doğru kuvvetlice kıvrık, damarlar çok belirgindir. Brakteler benzer fakat gövde yapraklarından daha küçüktür. Çiçek durumu dallanmamış, spika (başak) şeklinde, sık çiçeklidir. Çiçekler her nodusta 2-3 tane, nadiren tek, sapsız, nadiren 1-1,5 mm, ince, küçük saplıdır. Çiçek örtüsü çan şeklinde, 2,5-3 mm; loplar krem renginde beyaz, kırmızı-pembe tüplerden daha uzundur. Olgunlaşmamış fındıksı meyva üç köşeli, siyah, kalıcı çiçek örtüsüne dâhildir. Çiçeklenme zamanı 7-8. aylardır. Habitatı kayalıklar, açık kayşatlar, 1700-2400 m'dir (Tan ve Yıldız, 1988).

Tip: Türkiye B6 Sivas: Şerefiye, Köse Dağı zirve yakınları, Kırkgöz Yayla yukarısı, açık kayşatlar, 2300-2400 m (Şekil 2.6.).

Kuzeybatı Anadolu, A6 Sivas: Şerefiye, Karabayır geçiti, 1700-1800 m.

Endemizm: Endemik. İran-Turan elementi (Tan ve Yıldız, 1988).



Şekil 2.6. *Polygonum sivasicum* yayılış haritası

2.1.5.2. Fitokimyasal özellikler ve aktivite çalışmaları

Ülkemizde *Polygonum* türleri üzerine yapılan çalışmalar daha çok *P.cognatum* Meissn. ile yapılmıştır.

P. cognatum türü İç Anadolu Bölgesi'nde besin olarak tüketilmektedir. Bunun yanısıra idrar söktürücü ve böbrek taşlarını düşürücü olarak da halk arasında kullanımı vardır (Üçer, 1973).

P. cognatum, fenolik bileşiklerce zengindir ve bu bileşiklerin diğer yabani ve kültür bitkilerinin gelişimi üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Bu tür üzerine yapılan çalışmalarda 13 farklı fenolik bileşik (gallik asit, kateşol, gentisik asit, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, p-Kumarik asit, sinapik asit, kumarin, salisilik asit, kersitrin, t-Sinamik asit) belirlenmiştir (Yıllar, 2007).

P. cognatum'un eter, etanol ve su ekstreleri ile yapılan bir çalışmada, sulu ekstrede yüksek antioksidan aktivite görülmüştür. Eter ve etanollü ekstreleri ise *S. aureus* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiş, fakat sulu ekstresi antimikrobiyal açıdan herhangi bir aktivite göstermemiştir (Yıldırım vd., 2003).

P. aviculare L. türünde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu, tanenler, saponinler, flavonoidler, alkaloidler ve seskiterpenlerin varlığı ortaya çıkarılmış ve ekstreler hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı aktivite göstermiştir (Marraiki, 2010).

Türe göre farklılık göstermekle beraber içerdikleri nişasta, antrasen, tanen ve flavonoidlere bağlı olarak farmakolojik açıdan aktif bulunmuşlardır. *Polygonum* cinsinin bazı türleri geleneksel olarak tedavide kullanılmakla beraber *P. bistorta* L.'nin kurutulmuş kök ve rizomlarının Martindale monograflarındaki antitüsitif ve antimikrobiyal özellikteki bazı bileşimlerde yer aldığı belirtilmiştir (Martindale, 1993). British Herbal Farmakope'de ise antidiyareik ve antiinflamatuvar olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Keleş vd., 2001a).

P. bistorta L. ekstreleri ile yapılan başka bir çalışmada Freund's adjuvantı ile oluşturulan poliartritiste ve ayrıca karagenin ödeminde aktiviteleri incelemiştir. Hem akut hem de kronik safhada antiinflamatuvar etki gözlenmiştir (Duwýejua vd., 1994).

P. hidropiper L. türünün sitotoksik, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu ileri sürülmüş ve bu etkiden sorumlu olarak bitki köklerinin metanollü ekstrelerinden bir isokumarin olan poligonolit izole edilmiştir. Yapıca basit olan bu maddenin antiinflamatuvar ajan olarak geliştirilecek sentetik maddelere model

oluşturabileceği belirtilmiştir (Furuta vd., 1986). Bunun yanısıra *P. chinensis* L. (Tsai vd., 1998), *P. aviculare* ve *P. glabrum* Willd. türünün de antiinflamatuvar etkileri saptanmıştır (Tunon vd., 1995).

P. lapathifolium L. (Polygonaceae) türünün olası farmakolojik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *P. lapathifolium* ekstresinin antiinflamatuvar ve antipiretik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Keleş vd., 2001b).

2.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri

2.2.1. *Escherichia coli*

E. coli Gram negatif, basil formunda bir bakteridir. Spor oluşturmaz ve fakültatif anaerobtur. *E. coli* insanların ve sıcakkanlı birçok hayvanın intestinal kanal mikroflorasında bulunan bir bakteridir. *E. coli*'nin besinlerde bulunuşu fekal bir kontaminasyon sonucu gerçekleşir. Patojenik *E. coli* suşları oluşturdukları toksinlerle intoksikasyona neden olurlar. Bunun yanısıra infeksiyon tipinde besin zehirlenmesi oluşturur, gastroenteritis, diyare, peritonitis, mastitis, sepsis, üriner sistem infeksiyonu, hemolitik üremik sendrom, solunum sistemi infeksiyonu, neonatal menenjit, pnemoniye ve böbrek ve beyinde çeşitli patolojik ve fonksiyonel bozukluklara yol açabilirler (Uçar vd., 2015).

2.2.2. *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *K. pneumoniae* belirgin bir kapsüle sahip, laktoz fermente edici Gram negatif bir basildir. *K. pneumoniae*, hastane ortamında ve tıbbi cihazlarda olduğu gibi ağızda, ciltte ve bağırsaklarda yaygın olarak bulunan fırsatçı bir patojendir (Li vd., 2014). *K. pneumoniae* en çok üriner sistem olmak üzere safra kesesi, cerrahi alan enfeksiyonları, pnömoni ve çeşitli apseler de dâhil olmak üzere pek çok infeksiyonda etken olan bir bakteridir. Uzun süre hastanede yatış, cerrahi müdahale öyküsü, damar içi ya da üriner kataterler ve kolonizasyon *K. pneumoniae* enfeksiyonları ile ilişkilendirilmektedir. *K. pneumoniae* genellikle ampiciline doğal olarak dirençli olmakla beraber birçok antibiyotiğe de direnç geliştirebilen bir bakteri türü olarak bilinir (Kahraman vd., 2017).

2.2.3. *Staphylococcus aureus*

S. aureus, yuvarlak şekilli (kok), sporsuz ve hareketsiz, Gram pozitif bir bakteridir (Bilgehan, 2004). *S. aureus* insanlarda burun, deri katlantı bölgeleri, perine, vajen gibi çeşitli vücut bölgelerinde kolonize olabilir. Çoğunluğu metisiline dirençli olan *S. aureus*'lar hastane enfeksiyonlarının en sık görülen etkenlerindendir. *S. aureus*'un ilişkili olduğu başlıca enfeksiyonlar; pirojenik enfeksiyonlar (follikülit, impetigo, yara enfeksiyonları vb.), toksijenik enfeksiyonlar (stafilokokal haşlanmış deri sendromu, toksik şok sendromu), endokardit, bakteriyemi ve organ enfeksiyonları (menenjit, perikardit, pnömoni, osteomyelit vb.)'dır (Dündar ve Dündar, 2002).

2.2.4. *Enterococcus faecalis*

Enterokokların bir üyesi olan *E. faecalis* Gram pozitif, alfa, beta hemolitik ya da non-hemolitik fakültatif anaerob bakteriler olan ve tek tek, ikili veya kısa zincirler halinde bulunur (Teixeira ve Facklam, 2003). İnsanların ve sıcakkanlı hayvanların normal sindirim sistemi florasında bulunurlar. Fekal kontamine bitkilerde, sularda ve toprakta da mevcuttur (Fisher ve Phillips, 2009). Enterokoklar üriner sistem enfeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, karın içi ve pelvik enfeksiyonlar, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit ve neonatal sepsis gibi önemli pek çok enfeksiyona neden olurlar (Yıldırım, 2007). %80-90 oranla hastane enfeksiyonlarına en sık yol açan enterokok türü *E. faecalis*'tir (Arias vd., 2010). Enterokokların hastane enfeksiyonu etkenleri açısından önemli olmasının bir diğer nedeni bazı antibiyotiklere doğal dirençli olmaları ve yeni dirençler geliştirebilme yeteneğine sahip olmalarıdır (French, 2010).

2.2.5. *Candida albicans*

C. albicans Gram-pozitif, fakültatif anaerob bir mantardır. *Candida* türleri ince duvarlı, oval, kapsülsüz, hareketsizdir ve blastospor ile aseksüel olarak ürerler. *C. albicans* hif oluşturma özelliğine sahiptir ve kültür ve dokularda yalancı veya gerçek hif meydana getirebilir (Calderone, 2002).

Candida türü mantarlar doğada yaygın bir şekilde bulunmalarının yanısıra memelilerde de normal flora olarak daha çok gastrointestinal sistemde ve tüm mukokutanöz yüzeylerde bulunurlar. İnsan gastrointestinal sisteminden izole edilen mantar türlerinin de büyük çoğunluğunu *C. albicans* oluşturur. *Candida* türleri hem yüzeysel hem de derin enfeksiyonlara neden olurlar. Hastalardan en çok izole edilen mantar türü *C. albicans*'tır. Mukoza enfeksiyonlarının %90-100'ü ve kandidemilerin %50-70'inden bu tür sorumludur (Ener, 2008). Başlıca neden olduğu enfeksiyonlar oral, vajinal ve primer kutanöz kandidozlar, kandidemi, üriner sistem enfeksiyonları, *Candida* özofajiti, santral sinir sistemi enfeksiyonları ve pulmoner kandidoz olarak sıralanabilir (Şimşek, 2018).

2.3. Antimikrobiyal Bitki Bileşenleri ve Etki Mekanizmaları

Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmaların gelişmesini durdurucu veya onları öldürücü ajanlardır. Bu maddeler çok geniş bir grup olup bunlara antibiyotikler, dezenfektanlar, antiseptikler vb. dâhildir. Antibiyotikler, canlılar tarafından meydana getirilen ve çok seyreltik çözeltilerde bile bazı mikroorganizmaların üremelerini durduran veya onları öldüren bileşiklerdir (Topal vd., 2015).

Penisilinin keşfedilmesi, üretimi ve kullanılmaya başlanması ile birlikte yeni antimikrobiyaller üzerine araştırmalar giderek önem kazanmıştır. Bunun sonucunda streptomisin, aureomisin, kloromisetin ve özellikle çeşitli *Streptomyces* türlerini içeren birçok antibiyotik keşfedilmiştir. Klinikte kullanılan antibiyotiklerin çoğu mikroorganizma kaynaklı olup genellikle toprak mikroorganizmalarından ve funguslardan üretilmektedir. Bununla birlikte bitkiler de birer antimikrobiyal madde kaynağı olmuştur (Trease ve Evans, 1972). Doğal kaynaklı antibiyotikler çoğunlukla *Actinomycetes* (*Streptomyces* spp.) türleri, mantarlar (*Penicillium*, *Aspergillus*) ve daha nadiren diğer bakterilerden (*Bacillus*, *Pseudomonas*) elde edilmekle beraber biyoaktif mikrobiyal ürünlerin araştırılması sürekli bir şekilde devam etmiştir ve bu yöndeki araştırma eğiliminin de uzun süre devam etmesi beklenmektedir. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyal bileşenler, sayıca fazlalıkları ile de bu araştırmalara zengin bir kaynak oluşturmaktadırlar (Shinji, 1993).

Bitkiler mikroorganizma yoğunluğunun çok fazla olduğu topraklarda yetişmelerine rağmen enfeksiyonlara çok nadir olarak maruz kalmaktadırlar. Bu durum patojenlere karşı ürettikleri antimikrobiyal bileşiklerden ileri gelir (Mansfield, 1982).

Bitkiler primer ve sekonder metabolit olarak adlandırılan çok çeşitli organik bileşikler sentezlemektedir. Primer metabolitler; amino asitler, fitosteroller, lipitler, karbonhidratlar, nükleotitler ve proteinler olup büyüme, gelişme, fotosentez ve solunum gibi birçok süreçte önemli rol oynamaktadır. Sekonder metabolitler ise temel büyüme ve gelişme için gerekli olmayan fakat biyotik ve abiyotik streslere karşı çevresel uyumda görev alan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Nascimento ve Fett -Neto 2010).

Sekonder metabolitlerin, bitkilerin primer metabolizmasındaki işlevleri tartışmalıdır ve genellikle tozlaşma, çevresel şartlara adaptasyon, mikroorganizmalara, böceklerle ve diğer predatörlere (avcılara) karşı kimyasal savunma, başka bitkilerle yarışma gibi işlevler üstlendiği düşünölmektedir (Vanisree vd., 2004).

Bitkilerde bulunan doğal bileşenlerin antimikrobiyal etkileri pek çok farklı mekanizma ile ilişkilendirilmektedir (Cowan, 1999). Bu mekanizmalar da etkiden sorumlu bileşenin yapısına göre değişmektedir.

Bitkilerde organik asitler, fenolik bileşikler ve uçucu yağlar gibi antimikrobiyal etkiye sahip çeşitli bileşikler bulunmaktadır. Bu bileşiklerin yapısında meydana gelecek değişiklikler, antimikrobiyal etkilerinde de farklılıklar yaratmaktadır (Gyawali ve İbrahim, 2014).

Antimikrobiyal açıdan etkili olabilecek fitokimyasallar fenolik bileşikler, terpenoidler-uçucu yağlar, alkaloitler, lektinler-polipeptitler ve poliasetlenler olarak 5 grupta toplanmıştır (Cowan, 1999). Bu bileşenler ve etki mekanizmaları Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1 Antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı bitki bileşenleri ve etki mekanizmaları (Cowan, 1999)

Sınıf	Alt sınıf	Örnekler	Mekanizma
Fenolikler	Basit fenoller	Kateşol	Substrat kaybı
		Epikateşin	Membran hasarı
	Fenolik asitler	Sinamik asit	Mekanizması bilinmemektedir
	Kinonlar	Hiperisin	Adhesinlere bağlanma, Hücre duvarı ile kompleks Enzim inaktivasyonu
			Adhesinlere bağlanma
	Flavonoidler	Krisin	
	Flavonlar	Abisinon	Hücre duvarı kompleksi, Enzim inaktivasyonu, HIV revers transkriptaz inhibisyonu
	Flavonoller	Totanol	Mekanizması bilinmemektedir
Terpenoidler uçucu yağlar	Taninler	Ellagitanin	Proteinlere bağlanma, Adhesinlere bağlanma, Enzim inhibisyonu, Substrat kaybı, Hücre duvarı kompleksi, Membran tahribatı,
	Kumarinler	Varfarin	Metal-iyon kompleksi Ökaryotik DNA ile etkileşim (Antiviral aktivite)
		Kapsaisin	Membran tahribatı
	Alkaloidler	Berberin	Hücre duvarı ve /veya DNA ile interkalasyon
		Piperin	
	Lektinler ve polipeptitler	Mannoz-spesifik aglütinin	Viral füzyonunun bloke edilmesi ya da adsorbsiyon
		Fabatin	Disülfid köprü formasyonu
Poliasetilenler		8-s-heptadeka-2(Z),9(Z)-dien-4,9-din-1,8-diol	Mekanizması bilinmemektedir

2.3.1. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grup taşıyan aromatik zinciri bir veya daha fazla miktarda bulunduran bileşiklere denir (Dykes vd., 2007; Masisi vd., 2016).

Fenolik bileşik terimi; yenilebilir bitkilerde bulunan, birkaç yüz molekülden oluşan, en az bir hidroksil grubunun bağlı olduğu benzenik zincir olarak da tanımlanır. Bu bileşikler; sahip oldukları fenol zincirin sayısına ve birbirine bağlı olan yapısal elementlere göre fenolik asitler (benzoik ya da hidroksisinnamik asit türevleri), flavanoitler, stilbenler, taninler ve lignanlar olarak kategorize edilirler. Flavonoitler ise kendi içlerinde flavonoller, flavonlar, izoflavonlar, flavononlar, antosiyaninler ve flavonoller (kateşin ve proantosiyanidin) şeklinde sınıflandırılırlar (Manach vd., 2004).

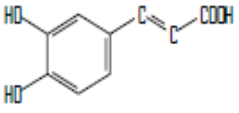
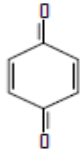
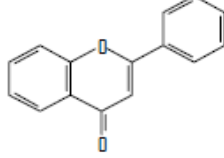
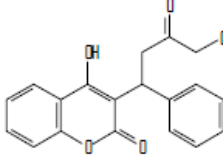
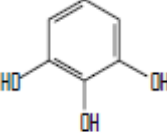
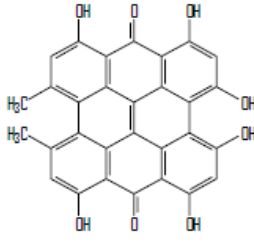
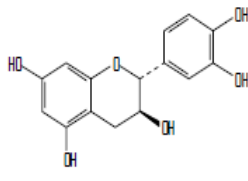
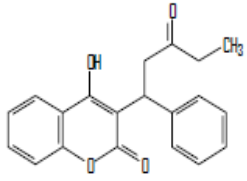
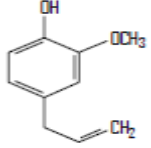
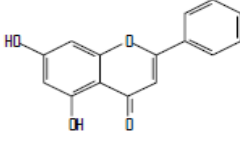
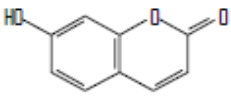
Fenolik bileşikler bitkilerde sentezlenen ikincil metabolitlerdendir ve bitkiler, kendilerine özgü duyusal özelliklerinde etkili olan fenolik bileşikler açısından oldukça zengin kaynaklardır (Cemeroğlu vd., 2004). Bazıları bitkilerin kokusundan (terpenoitler), bazıları renginden (kinonlar ve tanenler) ve birçoğu da aromasından sorumlu olan fenoller aynı zamanda mikroorganizmalara ve diğer zararlılara karşı bitki savunmasında yer almaktadırlar (Cowan, 1999). Fenoller, proteinlere ve poliamit polimerlere yüksek reaktivite gösteren hidroksillenmiş yapılardır ve antimikrobiyal etkili bitkisel bileşenlerin oldukça büyük bir çoğunluğunu oluşturmaktadır (Haslam 1996). Bitkilerde bulunan önemli fenolik bileşenlere örnekler Şekil 2.7.'de verilmiştir.

Fenolik bileşikler tarafından yapılan inhibisyonunun mikrobiyal enzimler gibi hayati önemi olan proteinlere hidrojen bağlanması veya demir yoksunluğuna bağlı olabileceği düşünülmüştür (Scalbert 1991).

Fenolik bileşiklerdeki hidroksil gruplarının mikroorganizma hücrelerinin metabolizmalarını değiştirerek enzimlerin aktif bölümünü bağlayabildikleri bildirilmiştir (Farag vd., 1989).

Fenolik bileşiklerde antimikrobiyal etkilerden hidroksil grupları önemli derece sorumludur. Bu gruplar elektronların delokalizasyonuna ve bakteri hücrelerinin sitoplazmik zar üzerindeki eğilimini azaltmaya yardımcı olarak hücre ölümüne neden olurlar (Gyawali ve İbrahim, 2014).

Şekil 2.7. Çeşitli antimikrobiyal fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları (Cowan, 1999)

Basit fenoller ve fenolik asitler	Kinonlar	Flavonlar ve flavonoidler	Kumarinler
 Kafeik asit	 Kinon	 Flavon	 Kumarin
 Kateşol	 Hiperisin	 Kateşin	 Varfarin
 Öjenol		 Krisin	 7-Hidroksikumarin

Fenolik bileşiklerden kinonların ise kararlı bir serbest radikal kaynağı sağlamalarının yanında proteinlerdeki nükleofilik amino asitlerle geri dönüşümsüz kompleksler oluşturdıkları bilinmektedir (Stern vd., 1996). Bu durum proteinin etki ve fonksiyon kaybına neden olduğundan kinonlar iyi birer antimikrobiyaldir. Kinonların mikrobiyal hücredeki hedeflerinin yüzeye maruz kalan adezinler, hücre duvarı polipeptitleri ve membrana bağlı enzimler olduğu düşünülmektedir (Cowan, 1999).

Allelokimyasallar bitkinin savunma sisteminde patojenlere karşı sinyal molekülleri olarak bilinirler ve yapıcı basit fenol yapısındadırlar. Kateşol ve pirogallol da allelokimyasallardan olup *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas pyocyanea*, *Corynebacterium xerosis*, *Fusarium oxysporium* ve *Penicillium italicum* gibi bitki patojenlerine karşı antimikrobiyal etki göstermektedirler (Erdoğan ve Everest, 2013).

2.3.2. Uçucu yağlar

Bitkilerde bulunan uçucu yağlar, bitkilerde savunma amaçlı üretilen bileşenlerdendir. Bitkinin çiçek, tomurcuk, yaprak, meyve, kabuk, tohum gibi farklı bölümlerinden su distilasyonu ile elde edilebilen bu aromatik bileşikler antimikrobiyal ve antioksidan etkilidir (Calo vd., 2015).

Uçucu yağların kimyasal bileşimleri terpenler (mono-, seski- ve diterpenler), alkoller, asitler, esterler, epoksitler, aldehytler, ketonlar, aminler ve sülfidlerden oluşur. Terpenoitler, fenilpropanoitler gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler de içerirler. Uçucu yağların biyolojik özelliklerinde esasen bileşiminin çoğunluğunu oluşturan büyük bileşiklerin etkili olduğu, daha az bulunan küçük bileşiklerin ise diğer bileşiklerle sinerjistik etkiden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Bakkali vd., 2008).

Bitkilerde bulunan uçucu yağların antimikrobiyal etkisi yaygın bir şekilde araştırmalara konu olmuştur. Uçucu yağların bakteri, virüs ve protozoalara karşı etkili oldukları bulunmuştur. Etkileri ise ekolojik koşullara ve bitkinin türüne göre değişkenlik göstermektedir (Toroğlu vd., 2006).

Uçucu yağların antimikrobiyal etkilerinin hücre duvar bütünlüğünü bozmaları, proton hareketi, elektron akışı, aktif transport ve hücre içeriğinin koagülasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir (Denyer ve Hugo, 1991). Uçucu yağların neden olduğu koagülasyon sonucu lipit ve proteinler hasar görmekte, bunun sonucunda da makromoleküllerin akışı etkilenecek lizis meydana gelmektedir. Uçucu yağlar kompleks bir yapı içerdiğinden spesifik bir bölgeye etkilerinden bahsetmek zordur. İçerdikleri fenoller, aldehytler ve alkoller uçucu yağların sitotoksitesinden sorumludur (Bakkali vd., 2008).

2.3.3. Peptitler

Peptitler antimikrobiyal etkili bitki bileşenlerinin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır ve izolasyon ve karakterizasyonlarına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Cammue vd., 1992; Terras vd., 1992; Marcus vd., 1997; Park vd., 2000). Peptitlerin antimikrobiyal etki mekanizmalarının kesin doğası hala belirsizdir (Appelt vd., 2007). Bununla birlikte, etkilerinin özellikle yapısal özelliklerine dayandığını gösteren çalışmalar vardır. Hedef hücrelerle etkileşimleri yöneten temel özellikleri

dizilişleri, büyüklükleri, katyonik yapılar, hidrofobiklikleri ve amfipatiklikleridir (Keymanesh vd., 2009). Etki mekanizmalarının mikrobiyal zarda iyon kanallarının oluşumu (Terras vd., 1993; Zhang ve Lewis, 1997) veya konağın polisakkarit reseptörlerine bağlanmada mikrobiyal proteinlerle yarışmalı inhibisyon olduğu dşnlmektedir (Sharon ve Ofek, 1986).

Antimikrobiyal peptitler doğada yaygın olarak bulunurlar ve membran yıkıcı bileşiklerden olarak etkileri yeni çalışmalar ile geliştirilmeye açıktır (Baltzer ve Brown, 2011). Antimikrobiyal peptitler sitoplazmik membranı geirgenleştirerek bakterilere etki ederler (Nguyen vd., 2011). Hedefleme ve konjugasyon yaklaşımları ile membranlar üzerindeki bu etkilerinin artırılmasına yönelik çalışmalar da yapılmıştır (Chamorro vd., 2012). Yeni terapötik ajanlar için oluşturdukları potansiyelle çalışmaların odak noktası olmuşlardır. Doğal antimikrobiyal özellikleri, seçicilikleri, hızlı etkileri, düşük bakteriyel direnç eğilimleri onları klinik gelişimler için ideal aday haline getirmiştir (Bradshaw, 2003).

Antimikrobiyal aktivite açısından taranan bitkilerin çoğunlukla Gram pozitif bakterilere Gram negatiflerden daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Tanker vd., 1980; Kelmanson vd., 2000; Masika and Afolayan, 2002; Bektaş vd., 2018).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarları Gram pozitiflerden daha farklı ve karmaşıktır. Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabaka ve hücre duvarında teikoik asit molekülleri bulunurken Gram negatiflerde sadece ince bir peptidoglikan tabaka bulunur. Ancak ikinci bir dış membran bulundururlar ki bu da esas farklılığı oluşturur ve Gram negatif bakterilere ek bir koruma sağlar. Bu membran lipid, protein ve polisakkaritlerden oluşan lipopolisakkarit (LPS) tabakasıdır. Bu dış membran antibiyotiklerin içeri alınmasında bir bariyer görevi görür ve bundan dolayı antibiyotik tedavisine Gram negatif bakteriler daha az duyarlıdır (Strelkauskas vd., 2018). LPS, aşırı hidrofobik (lipofilik) moleküllerin hücreye girişini belirgin biçimde yavaşlatırken, porin kanal proteinlerindeki değişiklikler hidrofilik moleküllerin de girişinde bir engel oluşurmaktadır. Ancak son zamanlarda stoplazmik membranda bulunan aktif pompa proteinlerinin doğal direnç mekanizmasında etkili olduğu bulunmuştur ve Gram pozitiflerde de yaygın olarak direnç saptanmıştır (Hasdemir, 2007).

Uzun yıllar boyunca enfeksiyonların tedavisinde kullanılmış çok sayıda bitki bileşeni mevcuttur. rnek olarak bir izokinolin alkaloiti olan emetin *Cephaelis*

ipecacuanha (Brot.) A. Rich bitkisinin toprak altı kısımlarından elde edilmektedir ve *Escherichia histolytica* enfeksiyonu ile meydana gelen apselerin tedavisinde kullanılmaktadır. Emetin aynı zamanda amebesidal etkilidir. Uzun yıllardır kullanılan bir diğer antiinfektif ise *Cinchona* L. ağacı kabuğundan elde edilen ve antimalaryal olarak kullanılan kinin isimli alkaloidtir (Iwu vd., 1999).

Bakteriyostatik ve antifungisidal etkili Likenler, *Allium sativum* L. türünden elde edilen antibiyotik etkili alliin ve *Hydrastis canadensis* L. türünden elde edilen antimikrobiyal etkili berberin antimikrobiyal özellikleri ilk tanımlanan bitkisel etken maddelerdendir (Trease ve Evans, 1972).

Bitkilerin antimikrobiyal özellikleri üzerine çok fazla araştırma yapılmış olup, bunlardan sadece bazı örnekler aşağıda verilmiştir.

Lauraceae familyasına ait bazı bitkilerin antifungal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada en etkili uçucu yağların sırasıyla, *Cinnamomum zeylanicum* L., *Aniba roseodora* Ducken ve *Sassafras albidum* Nutt. ve *Laurus nobilis* L. olduğu belirlenmiştir (Simic vd., 2004).

Ocimum basilicum L. uçucu yağının çoklu ilaç direnci gösteren *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* bakterilerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Opalchenova ve Obreshkova, 2003).

Capsicum L. cinsi bitkilerin çoğunluğunda bulunan kapsaisinin, özellikle *Bacillus subtilis* ve *Saccharomyces cerevisia* mikroorganizmalarına karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Kurita vd., 2002).

Boophone disticha (L.f.) Herb etanolü ekstraktlarından izole edilen alkaloidler buphanidrine ve distichamine *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı geniş spektrumlu bir antimikrobiyal etki göstermişlerdir (Cheesman vd., 2012).

2.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Klinikte *in vitro* antibiyotiklerin etki tayinleri için başlıca iki yöntem kullanılmaktadır.

- a) Kalitatif duyarlılık testleri
- b) Kantitatif duyarlılık testleri

- MIC belirleyen testler
 - 1) Agar dilüsyon
 - 2) Sıvı dilüsyon
- Bakterisit duyarlılık testleri
 - 1) MBC belirleyen testler
 - 2) Serum bakterisit testler

Kalitatif testlerden disk diffüzyon (Bauer-Kirby) testi, kantitatif testlerden ise sıvı dilüsyon (mikro ve makro) ve agar dilüsyon testleri en güvenilir ve en doğru sonuç veren testler olarak kabul edilen antibiyotik duyarlılık testleridir (Jorgensen ve Sahm, 2005).

Antibiyotik ile mikroorganizma etkileşimi antibiyotiğe, mikroorganizmaya ve ortamla ilgili pek çok faktöre bağlıdır. *In vitro* ortamda yapılan duyarlılık testleri antimikrobiyal maddenin aktivitesini stabil bir ortamda test ederler. Bu ortamda sıcaklık, pH, nem, bakteri yoğunluğu gibi faktörler belirlidir. *In vivo* şartlar bu koşullar açısından çok fazla farklılık gösterebilir (Craig, 1993).

Kalitatif duyarlılık testleri ucuz ve kolay uygulanabilir testlerdir ancak anaerob bakterilere veya geç ve güç üreyen bakterilere uygulanmaz (Sümerkan ve Gökahmetoğlu, 1998).

Kantitatif duyarlılık testleri genellikle antimikrobiyal ajanların MIC değerlerinin veya MBC değerlerinin belirlendiği testlerdir. MIC değerlerinin belirlendiği testler antimikrobiyal maddelerin bakteriyostatik veya fungostatik etkilerini saptamaya yarar ve klinikte uygulanacak antibiyotik tedavisine de yön verirler. Dolayısıyla MIC verileri antimikrobiyal etkinin araştırılması ve tedavinin gidişatında önemlidir (Sümerkan ve Gökahmetoğlu, 1998). Yukarıda belirtilen yöntemlerin dışında MIC değerlerini belirlemek için antibiyotik gradiyent yöntemleri, Flow Cytometer, E test gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Hill ve Schalkowsky, 1990).

Bu çalışmada antimikrobiyal etki tayin yöntemlerinin kalitatif testlerinden disk difüzyon testi ve kantitatif testlerden ise sıvı mikrodilüsyon testi kullanılmıştır ve bu testlerin prensipleri aşağıda açıklanmıştır.

2.4.1. Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon testi, A.W. Bauer, W.M. Kirby ve ark. tarafından 1960'lı yılların ikinci yarısında standardize edilmiştir ve bu tarihten itibaren de antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde en sık kullanılan yöntem olmuştur (Bauer vd., 1966). Yöntem antimikrobiyal madde emdirilmiş belirli çaptaki disklerin belirli miktarda mikroorganizma ekili besiyeri ortamına yerleştirilmesi ve inkübe edilmesine dayanır. İnkübasyon sürecinde mikroorganizmalar üremeye başlarken antibiyotikler de besiyerine diffüze olurlar ve mikroorganizma üremesine etkili olan antibiyotik disklerinin çevresinde üreme gözlenmez. Disklerden uzaklaştıkça besiyerine yayılan antimikrobiyal madde miktarı da azalır. Disk çevresindeki inhibisyon zonunun genişliği mikroorganizmanın antibiyotiğe duyarlılığı ile doğru orantılıdır. İnhibisyon zonu ne kadar geniş ise mikroorganizmanın inhibe olması için o kadar az antimikrobiyal gerekir. Test sonucunda inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılır. Disk difüzyon testi belirli bir mikroorganizmanın kullanılan antibiyotiğe karşı olan duyarlılık ve dirençlilik durumunu belirler (EUCAST, 2013).

2.4.2. Broth (Sıvı) mikrodilüsyon yöntemi

Antimikrobiyal ajanların MIC değerlerinin belirlenmesi için çeşitli dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. Dilüsyon yöntemlerinde antimikrobiyal maddelerin farklı dilüsyonları belli miktarda mikroorganizma içeren agar veya sıvı besiyerine eklenerek inkübasyon sonrası mikroorganizma üremesini inhibe eden en düşük antimikrobiyal konsantrasyonu MIC olarak belirlenir (CLSI, 2010; CLSI, 2012). Mikrodilüsyon yönteminin özelliği en fazla 500 mL kapasiteli mikrotitrasyon kuyucuklarının kullanılmasıdır. Genellikle 100 mL hacimde kuyucuk başına yaklaşık 5×10^4 CFU bakteri bulunur. Sıvı dilüsyon yönteminde belli sayıda bakteri eklenmiş sıvı bir besiyerine antimikrobiyal madde içeren sıvı besiyerinin eşit hacimde eklenmesi ile uygulanır. Antimikrobiyal maddenin seri dilüsyonları yapılarak farklı konsantrasyonların etkisi araştırılır. Bu yöntemin amacı mikroorganizma üremesinin

inhibe edildiği en düşük antimikrobiyal konsantrasyonun belirlenmesidir (Sümerkan ve Gökahmetoğlu, 1998).

2.5. Antioksidanlar

Organizmanın pro-oksidan/antioksidan dengesini sağlayan, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve sebep oldukları hasarları önleyen ve sağlıklı bir yaşam için detoksifikasyonu sağlayarak organizmayı koruyan savunma sistemi antioksidanların oluşturduğu savunma sistemidir (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikallerin fazlasını etkisiz hale getirmek, onların zararlı etkilerine karşı hücreleri korumak ve meydana getirdikleri hastalıkları önlemek antioksidanların vücudumuzdaki önemli görevleri arasında sayılabilir (Pham Huy vd. 2008).

2.5.1. Radikal kavramı ve serbest radikallerin oluşumu

Elektronlar orbitallerde ikili gruplar halinde bulunmaktadır. Dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron veya elektronlar bulunduran atomik veya moleküler yapılara serbest radikal adı verilir (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Elektronları eşlenmiş halde bulunan atom veya moleküller stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı stabiliteyi bozar ve elektronları yeniden eşleştirme isteği molekülü oldukça reaktif hale getirir (Acworth ve Bailey, 1997).

1900 yılında trifenilmetil radikalının varlığının gösterildiği çalışma ile serbest radikallere ilgi duyulmaya başlanmıştır (Gomberg, 1900). 1954’de oksijenin canlılardaki zararlı etkilerinin oksijen radikallerinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Gerschman vd., 1954). Oksijen reaksiyonlarda tam olarak indirgendiğinde suya dönüşür ancak ara basamaklarda reaktif metabolitler vermektedir (Fridovich, 1978). Reaktif metabolitler anaerob canlılar için kaçınılmaz bileşiklerdir ve çeşitli enzimlerin sentezinde ve çoğu organizmanın da antimikrobiyal savunmasında rol almaktadırlar (Weiss, 1989). Ancak radikal reaksiyonları kontrol edilemez ve belli bir düzeyin üstüne çıkarsa hücreler geri dönüşümsüz hasarlara maruz kalmaktadırlar (Byung, 1994). Antioksidan maddeler radikallerle çok hızlı reaksiyona girerler ve otooksidasyon/ peroksidasyon reaksiyonlarını ve bunların oluşturacağı hasarları önlerler (Karabulut ve Gülay, 2016).

Oksijenden meydana gelen radikaller biyolojik sistemlerdeki en önemli radikallerdir. Oksijen; karbon hidrojen, nitrojen ve kükürt ile birlikte, organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur ve aerobik canlıların enerji metabolizması için büyük önem taşımaktadır (Diplock, 1998). Oksijen molekülü (O_2) iki tane eşlenmemiş elektrona sahip olup kimyasal bakımdan diradikaldır ve diğer serbest radikallerle çok kolay reaksiyona girer. Başlıca reaktif oksijen türleri arasında (ROS) süperoksit (O_2^-) radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2) radikali, hidroksil (OH^-) radikali, hipokloroz asit ($HOCl$) ve singlet oksijen (1O_2) sayılabilir (Mandal vd, 2009). Hücrelerde reaktif oksijen türleri enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar olmak üzere iki yolla oluşabilir. Fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P450 sistemi serbest radikallere neden olan enzimatik reaksiyonlar arasındadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Reaktif oksijen türleri dışında nitrik oksit (NO^*), nitrojen dioksit (NO_2^*), peroksil (ROO^*) ve lipid peroksil (LOO^*) radikalleri de vardır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloroz asit ($HOCl$), nitroz asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipid peroksit ($LOOH$), serbest radikal olmamalarına rağmen oksidanlardır ve serbest radikal reaksiyonlarına yol açarak canlılara zarar verebilirler (Genestra, 2007).

Reaktif oksijen ve nitrojen türleri ve bunların içerisinde radikal olan ve olmayan gruplar Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Serbest radikal kaynakları endojen veya eksojen olabilir. Mitokondri elektron transfer zinciri, sitokrom P450 sistemi, peroksizomlar ve enfeksiyonlu hücreler endojen kaynakları oluşturmaktadır (Valko vd., 2007). Süperoksit radikallerinin oluşum kaynaklarının başında mitokondriyal veya mikrozomal elektron transferi gelmektedir. Ayrıca fagositoz, arşidonik asit metabolizması, ve ovulasyon da serbest radikal kaynağı olarak bilinmektedir (Singh vd., 2004). Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri anaerobik koşullarda da ortaya çıkabilmektedir (Bakonyi ve Radak, 2004).

Kimyasal ve organik maddelerin yanması ile açığa çıkan maddeler, radikallerin önemli kaynakları ve taşıyıcılarıdır. Çevresel etkenler ile serbest radikal oluşabilir. Sigara, hava kirliliği, çeşitli kimyasal maddeler, ilaçlar ve hiperoksijenasyon serbest radikallerin eksojen kaynaklarından en önemlilerini oluşturmaktadır (Sözmen, 2002).

Tablo 2.2. *Reaktif oksijen ve nitrojen türleri (Darley-Usmar ve Halliwell, 1996)*

Reaktif Oksijen Türleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit, O_2^-	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $OH^\cdot$	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, $ROO^\cdot$	Ozon, O_3
Alkoksil, $RO^\cdot$	Singlet oksijen, 1O_2
Hidroperoksil, $HOO^\cdot$	Peroksinitrit, $ONOO^-$

Reaktif Nitrojen Türleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Nitrik oksit, $NO^\cdot$	Nitrosil, NO^+
Nitrojen dioksit, $NO_2^\cdot$	Nitröz asit, HNO_2
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
	Nitronyum iyonu, NO_2^+
	Peroksinitrit, $ONOO^-$
	Alkil peroksinitrit, $RONOO^-$

2.5.2. Antioksidanların etki mekanizmaları

Enzimatik antioksidanların hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanların ise hücre dışında daha fazla etkili oldukları düşünülmektedir. Antioksidanlar genellikle etkilerini aşağıda belirtilen şekillerde göstermektedirler (Valenzuela, 1990; Halliwell, 1991; Winston, 1991; Murray vd., 1993; Akkuş, 1995; Hermes-Lima vd., 2001, Yıldırım Sözmen, 2002).

I. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:

- Reaksiyonları başlatan reaktif türleri uzaklaştırıcı etki,
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya oksijen konsantrasyonunu azaltıcı etki,
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

II. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

a. Toplayıcı (scavenging) etki: Serbest oksijen radikallerini tutarak veya çok daha zayıf bir moleküle çevirerek etki göstermektedirler. Örnek olarak antioksidan enzimler verilebilir.

b. Bastırıcı (quencher) etki: Serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girerek onlara bir proton ekleyip aktivitelerini azaltarak veya aktivite kaybına neden olarak etki göstermektedirler. Flavonoidler ve vitaminler bu tür antioksidanlardır.

c. Onarıcı (repair) etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarları onararak etki gösterirler.

d. Zincir kırıcı (chain breaking) etki: Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu şekilde etki gösteren antioksidanlardan olup serbest oksijen radikallerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını önleyici etki göstermektedirler.

Bunların dışında, hücresel kinaz kayıplarını önleyerek oksidasyon reaksiyonlarını durdurma ve SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan diğer antioksidanların sentezini artırma da antioksidan etki mekanizmalarındandır (Akkuş, 1995).

Antioksidanların serbest radikalleri süpürme potansiyellerini onların kimyasal aktiviteleri belirlemektedir. Aynı zamanda da hidrojen veya elektron donörü olarak indirgeme potansiyellerini ifade etmektedir. Antioksidan bir maddenin etkinliği aşağıda belirtilen özelliklerine bağlıdır;

- Radikalleri uzaklaştırabilme yeteneği
- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterdiği reaktivite (İndirgenme potansiyeline bağlıdır)
- Metal kelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidanlarla etkileşimi (Rice-Evans vd., 1997).

Antioksidanın yapısı, çözünürlük partiyon katsayısı, bağ disosiasyon enerjisi, iyonizasyon potansiyeli gibi özellikleri ve ortamdaki çözününün özellikleri de antioksidanın etkin mekanizmasının belirlenmesinde önemlidir (Prior vd., 2005).

Fiziksel faktörler, substrata bağlı faktörler, maddenin fizikokimyasal özellikleri de antioksidan aktivitesini etkileyen faktörlerdendir. Fiziksel faktörlerin başında konsantrasyon, sıcaklık ve oksijen gelir. Sıcaklık değiştiğinde antioksidan aktivitede de değişiklik görülür. Konsantrasyonun artmasıyla antioksidan aktivite de artar. Konsantrasyon belli bir eşik değerin üzerinde ise oksidasyonu yeterli düzeyde engelleyebilmektedir. Oksidasyon zincir reaksiyonun başlamasını ve ilerlemesini hızlandıran durumlar antioksidan aktiviteyi azaltabilir. Bunlara örnek olarak yüksek oksijen basıncı, oksijenle temas yüzeyinin fazla olması ve ısıtma durumları verilebilir (Pokorny vd., 2001).

2.5.3. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar çeşitli özelliklerine göre aşağıdaki gibi gruplandırılabilirler (Yalçın, 1998).

1. Yapılarına göre;

- a. Enzimatik antioksidanlar
- b. Non-enzimatik antioksidanlar

2. Kaynaklarına göre;

- a. Endojen antioksidanlar (Organizmada sentezlenen)
- b. Eksojen antioksidanlar (Dışarıdan alınan)

3. Çözünürlüklerine göre;

- a. Suda çözünenler
- b. Yağda çözünenler

4. Yerleşimlerine göre;

- a. Hücre içinde bulunanlar
- b. Hücre dışı (Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda) bulunanlar.

Antioksidanlar kaynaklarına göre organizmada üretilen endojen antioksidanlar ve dışarıdan alınan eksojen antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir (Tablo 2.3.) (Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995; Vinson vd., 1995; Clarkson, 1995; Halliwell, 1999; Velioğlu, 2000).

2.5.3.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar enzimatik veya non-enzimatik olabilirler (Tablo 2.3.)

Tablo 2.3. Antioksidanların sınıflandırılması ve bazı önemli örnekler (Yavaşer, 2011; Kasnak ve Palamutoğlu, 2015; Karabulut ve Gülay, 2016)

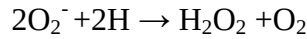
ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Enzimatik	Non-enzimatik	
SOD (Süperoksit dismutaz)	Melatonin	
Katalaz	Seruloplazmin	
Glutasyon peroksidaz	Transferrin	
Glutasyon redüktaz	Laktoferrin	
Glutasyon-S-transferaz	Glutasyon	
Mitokondriyal sitokrom oksidaz	Sistein	
	Ürik asit	
	Glikoz	
	Albumin	
	Biluribin	
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Vitaminler	İlaçlar	Mineraller
Vitamin C	Allopurinol	Selenyum
Vitamin A	Adenozin	Çinko
Vitamin E	Mannitol	
Polifenoller	Organosülfür bileşikleri	Sentetikler
Fenolik asitler	Allium	BHT, BHA
Flavonoitler	Allil sülfid	Şelat oluşturmalar
		Troloks

2.5.3.1.1. Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar tüm anaerobik organizmaların reaktif oksijen türlerine karşı geliştirdiği antioksidan savunma sistemini oluştururlar (Hermes-Lima ve Storey, 1998).

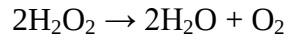
Antioksidan enzimlerin aktivitelerinin oksidatif stres tarafından tetiklendiği bilinmektedir. Antioksidan enzimlerin spesifik cevapları belirli bir modele göre değil stres, doku ve türe değişmektedir (Crawford vd., 2000).

Süperoksit dismutaz [(SOD), süperoksit oksidoredüktaz], oksijen metabolizmasının olduğu tüm yapılarda bulunmaktadır. Bu enzimin aktivitesi bakır, çinko ve mangan elementleriyle düzenlenmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2014).



İnsan hücresinde sitozolde ve mitokondri membran aralığında yer almaktadır ve süperoksidi hidrojen perokside dönüştürmekle görevli olduğu bilinmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2014).

Katalaz enzimi mitokondri ve peroksizomda bulunan, kloroplastta bulunmayan bir enzim olup hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştürerek antioksidan aktivite göstermektedir (Singh vd., 2009).



Glutasyon redüktaz (GR), yükseltgenmiş glutasyonu indirgemede görev almaktadır. Bu işlev sırasında NADPH bileşiğine ihtiyaç duymaktadır. Böylece hücre yapısı için önemli olan indirgenmiş glutasyon/okside glutasyon (GSH/GSSG) oranının korunmasını sağlamaktadır (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

Glutasyon peroksidaz (GPx), hidrojen peroksidi katalizleyerek lipid peroksitlerin indirgenmesini ve glutasyonun yükseltgenmesini sağlamaktadır. Aktivasyonu için selenyum elementine de ihtiyaç duymaktadır (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

Glutasyon S-transferazlar (GST), kataliz reaksiyonlarında, elektrofilik substratlar ile glutasyon (GSH) konjugasyonunu kataliz ederler. Aynı zamanda oksidasyonla oluşmuş endojen ürünlerin ya da eksojen yabancı maddelerin vücuda zarar vermeden atılmasını sağlayan enzimlerdir (Armstrong, 1997).

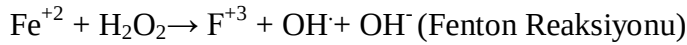
2.5.3.1.2. Non-enzimatik antioksidanlar

Glutasyon (GSH), neredeyse tüm ökaryotik hücrelerde sentezlenen bir antioksidandır. Hücrenin detoksifikasyonunda, redoks durumunun korunmasında

apoptoziste ve pek çok mekanizmada antioksidan aktivitesinden bahsetmek mümkündür (Townsend vd., 2003). Glutasyon, lipit peroksitleri ve hidrojen peroksiti GPx'in de katalizlemesi ile zararsız hale getirir. Singlet oksijen ve hidroksil radikallerini de temizler. Ayrıca vitamin E ve vitamin C gibi bazı önemli antioksidanlar da GSH tarafından düzenlenir (Sen ve Chakraborty, 2011).

Melatonin, hem doğrudan radikal süpürücü özelliği ile hem de dolaylı etkileri ile antioksidan aktivite gösteren bir hormondur. Melatonin GSH-Px enzimini aktive ederek, SOD aktivitesini artırarak, katalaz aktivitesinin azalmasını önleyerek antioksidan enzim aktivitelerini dolaylı olarak etkiler. Böylece hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, nitrik oksit gibi bazı serbest radikallerin temizlenmesini sağlar (Reiter vd., 2000).

Seruloplazmin ve transferrin vücutta çeşitli dokularda sentezlenen antioksidan özellik gösteren proteinlerdir. Seruloplazmin kandaki Cu elementinin önemli bir miktarını taşıırken, transferrin de hücrelere Fe^{+3} taşımaktadır. Fenton reaksiyonu sonucu ferröz iyonunun (Fe^{+2}) da katalizörlüğü ile H_2O_2 yüksek toksisiteye sahip $OH^{\cdot}$ radikallerine dönüşür. Transferrin serbest Fe^{+2} iyon konsantrasyonunu azaltarak fenton reaksiyonunu ve serbest radikal olan hidroksil oluşumunu inhibe eder ve oksidatif stresin artışını önler (Chauhan vd., 2004).



Ürik asit singlet oksijen, peroksil radikalleri, ozon ve HOCl gibi radikalleri temizler ve etkisizleştirir, güçlü bir radikal süpürücü olarak hareket eder (Akkuş, 1995).

Albumin antioksidan aktivite gösteren bir plazma proteindir. Serbest oksijen radikallerini tutucu etki gösterir (Roche vd., 2008). LOOH ve HOCl radikallerini temizler. Bilirubinin antioksidan etkisi ise süperoksit ve hidroksil radikallerini toplayıcı etkisinden kaylanmaktadır (Akkuş, 1995).

2.5.3.2. Eksojen antioksidanlar

Gıdalarda doğal olarak bulunan veya sonradan eklenen sentetik antioksidanlarla, bitkisel kaynaklarla veya ilaç olarak dışarıdan alınan antioksidanlar eksojen antioksidanları oluştururlar (Akkuş, 1995; Larson, 1988).

Eksojen antioksidanlar doğal veya sentetik olabilir. Sentetik antioksidanların da çoğu fenolik yapıda bileşiklerdir. BHA, BHT, tersiyerbutil hidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG) ticari olarak da kullanılan sentetik antioksidanlardandır. Doğal antioksidanlar bitki ve hayvan dokularında bulunabilirler ve bunların en önemlilerinden bazıları tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur (Madhavi vd., 1996). İnsan vücudunda sentezlenemeyen önemli doğal antioksidanlardan bazıları Tablo 2.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4. İnsan vücudunda sentezlenmeyen bazı önemli antioksidanlar (Non-enzimatik Antioksidanlar) (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015)

Sınıf	Örnek
Karotenoidler	Likopen β-Karoten Lutein
Polifenoller	Fenolik asitler Flavonoidler Antosiyaninler, Proantosiyanidinler Kateşinler (Flavanoller)
Antioksidan vitaminler	Vitamin E (Tokoferoller) Vitamin C (Askorbik asit)
Antioksidan mineraller	Selenyum Çinko

2.5.3.2.1. Vitaminler

Vitamin E lipofilik bir antioksidan olup, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirgeyerek etki gösterir (González-Pérez vd., 2008).

Vitamin C (askorbik asit) suda çözünen bir vitamindir. Antioksidan etkilerini insanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilecek süperoksit, hidroperoksil, singlet

oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit ve hipokloröz asit gibi reaktif bileşikler okside ederek gösterir (Carr ve Frei, 1999).

2.5.3.2.2. Mineraller

Selenyum, selenosistein olarak selenoproteinlerin yapısına katılan ve aminoasit sentezinde önemli olan bir elementtir. Selenoproteinlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için selenyum elementi gereklidir. Selenoproteinler antioksidan enzimler ve antioksidan proteinlerin yapısına katılırlar. Selenyum aynı zamanda GPx aktivitesini artırır ve reaktif oksijen türlerini baskılar (Kim vd., 2014).

Çinko elementi serbest radikal oluşumunu önleyerek antioksidan etki göstermektedir. Aynı zamanda enzimatik antioksidanlardan süperoksit dismutazın yapısına da katılmaktadır (Belgemen ve Akar, 2004).

Bakır da enzimatik aktivite için gerekli elementlerden biridir. Bakır eksikliğinde süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin miktarı azalmaktadır ve bu durum antioksidan sistemleri olumsuz etkilemektedir (Velioğlu, 2000).

2.5.3.2.3. Antioksidan bitki bileşenleri

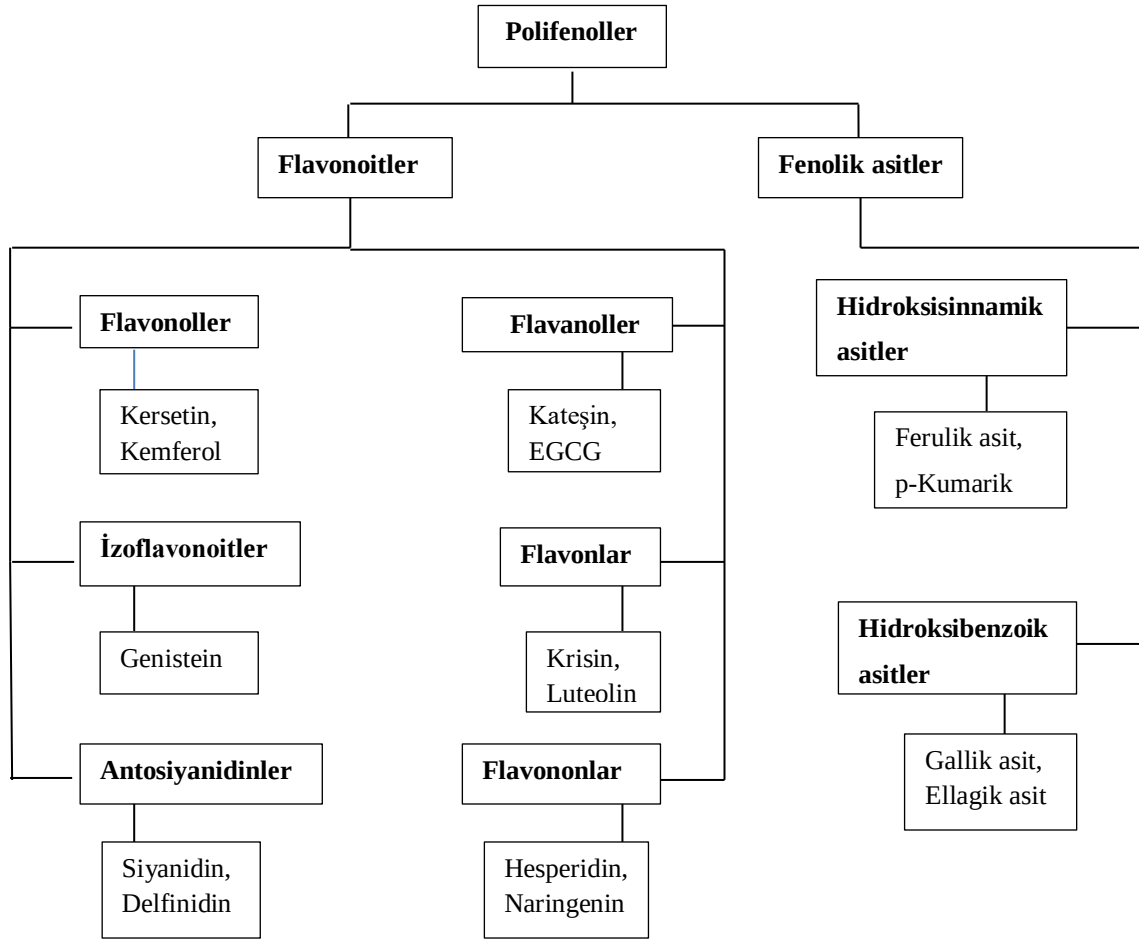
Bitkiler, fenolik asitler ve flavonoidler, tokoferoller (E Vitamini), karotenoidler, askorbik asit (C Vitamini), tanenler, lignanlar ve ligninler gibi temel antioksidanları içermektedir. Bunlar özellikle bitkilerin yaprakları, çiçekleri, gövde ve kabuk gibi odunsu kısımlarında bulunurlar (Kahkönen vd., 1999).

Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler gıda üreticileri ve araştırmacılar arasında giderek daha fazla ilgi çeker hale gelmiştir. Hem beslenmemizin bir parçası olması hem de antioksidan özellikleri sayesinde oksidatif strese bağlı çeşitli hastalıkların önlenmesindeki rolleri bu ilginin en büyük sebeplerindendir (Manach vd., 2004).

Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir (Şekil 2.8.). Fenolik bileşikler antioksidan etkilerini farklı mekanizmalarla gösterirler ancak temel

olarak redoks özellikleri etkiden sorumludur. Oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler veya hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali gibi serbest radikal türlerini söndürücü olarak hareket edebilirler. Radikal süpürücü özellikleri ile zincir reaksiyonlarının başlamasını önlerler. Ayrıca fenolik bileşiklerin metal şelasyon potansiyelleri de bulunmaktadır (Holloszy ve Coyle, 1984; Rice-Evans vd., 1995; Rice-Evans vd., 1997).



Şekil 2.8. Antioksidan etki gösterebilen bazı polifenoller (Liu, 2004)

Fenolik bileşikler gıdalarda; renk, acılık, burukluk, tat, koku gibi özelliklere ve ürünün oksidatif stabilitesine etki etmektedir (Naczki ve Shahidi, 2004). Fenolik bileşiklerin bitkilerde bulunuşları ise daha çok onları doku hasarına karşı korumak içindir. Bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinden dolayı kardiyovasküler hastalıklar, kanser, katarakt ve yaşlanmaya bağlı diğer dejeneratif hastalıklardan korunma ve karşı

koyma ile bitkisel kaynaklı gıda tüketimi arasında önemli bir ilişki olduğu saptanmıştır (Shahidi, 1996).

Flavonoitler fenolik bileşiklerin en yaygın grubudur. Basit fenoller, fenolik asitler (benzoik ve sinnamik asitler), kumarinler, stilbenler, hidrolize ve kondense tanenleri, lignan ve ligninler de diğer bitki fenollerini oluşturmaktadır (Naczki ve Shahidi, 2004).

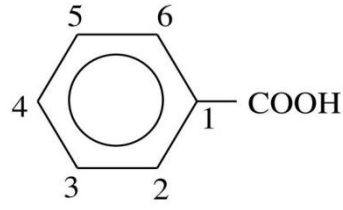
Fenolik maddeler suda çözünen ve çözünmeyenler olarak iki formda bulunurlar. Suda çözünenler bitki hücrelerinin iç kısımlarında yer alırken suda çözünmeyenler (lignin, hidroksi sinnamik asitler) hücre duvarının yapısına katılmaktadırlar. Fenolik maddeler bitkilerin dış tabakasında iç tabakaya oranla daha fazla bulunurlar (Naczki ve Shahidi, 2004).

Fenolik asitler

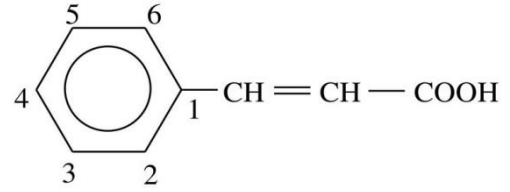
Fenolik asitler son yıllarda üzerinde çok fazla çalışma yapılan fenolik maddelerdendir. Bu durumda özellikle kanser ve koroner kalp hastalıklarındaki rolleri etkili olmuştur (Mattila ve Kumpulainen, 2002). Bu bileşiklerin antioksidan özellikleri sayesinde pek çok hastalığa karşı yararlı etkilerinden bahsedilmektedir (Balasundram vd., 2006).

Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler (Şekil 2.9.) olarak sınıflandırılırlar. Fenolik asit türevleri bu bileşiklere OH ve -OCH₃ gruplarının bağlanmasıyla oluşur (Yıldız ve Baysal, 2003).

Kafeik, p-Kumarik, klorojenik ve ferulik asitler hidroksisinnamik asitlerin en yaygın türevleri olup daha çok kuinik asit veya glukoz ile basit esterler formunda gıdalarda bulunurlar. Hidroksibenzoik asitlerin ise gıdalarda bulunuşu yaygın olarak glikozit formunda olup gallik, p-Hidroksibenzoik, vanilik ve protokateşik asitler başlıca çeşitleridir (Mattila ve Kumpulainen, 2002; Balasundram vd., 2006).



Hidroksibenzoik asitler



Hidroksisinnamik asitler

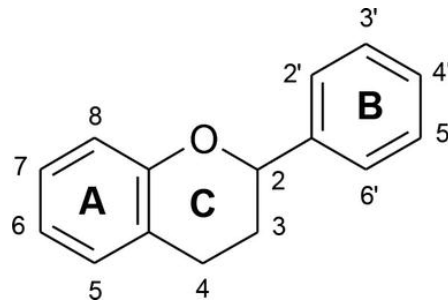
Benzoik asitler	3	4	5	Sinnamik asitler	3	4	5
p-Hidroksibenzoik	H	OH	H	p-kumarik	H	OH	H
Pirokate şuiik	OH	OH	H	Kafeik	OH	OH	H
Vanilik	H	OH	CH ₃ O	Ferulik	H	OH	CH ₃ O
Siringik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinapik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik	OH	OH	OH				

Şekil 2.9. Fenolik asitlerin temel yapıları ve türevleri (Shahidi ve Nacz 1995).

Flavonoitler

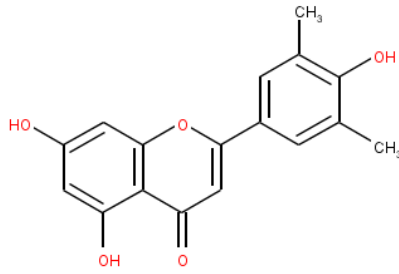
Flavonoitlerin çoğu bitkilerde bulunan polifenolik yapıdaki renk pigmentleridir. Bitkilerden çok fazla sayıda flavonoit elde edilmiştir ve hepsinin antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Nacz ve Shahidi, 2004). Flavonoitlerin temel kimyasal yapısı Şekil 2.10.'da gösterilmiştir.

Flavonoitler, kimyasal yapılarına göre alt gruplara ayrılabilirler (Şekil 2.11.) Bunlar; flavanon, flavonlar, izoflavonoitler, flavanoller, antosiyaninler ve flavonoller olarak (Madhavi, 1996; Rice-Evans vd., 1996 ; Peterson ve Dwyer, 1998; Özenç, 2011).

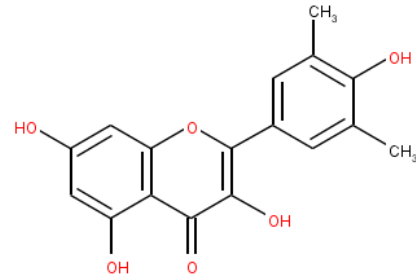


Şekil 2.10. Temel flavonoit yapısı (Özenç, 2011)

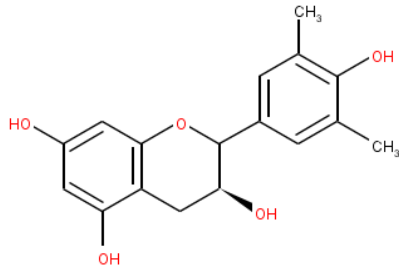
Flavonoitlerde 3'-4'dihidroksi yapısı antioksidan aktivite göstermektedir. B halkasındaki hidroksilasyon durumu antioksidan aktivite için önemlidir ve aktiviteyi güçlendirir. 5' pozisyonunda ilave hidroksil grubu bulunduran robinetin ve mirisetinde antioksidan aktivite güçlüdür. Naringenin ve hesperidin ise B halkasında tek hidroksil grubu taşıdığından görece daha az antioksidan aktivite gösterir. İzoflavonlarda ise antioksidan aktivite için 4' ve 5' pozisyonlarda hidroksil grubu gereklidir (Feredioon vd., 1992; Cotelle vd., 1992; Rice-Evans vd., 1996). Antioksidan aktiviteyi etkileyen bir diğer özellik de C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlardır (Madhavi, 1996).



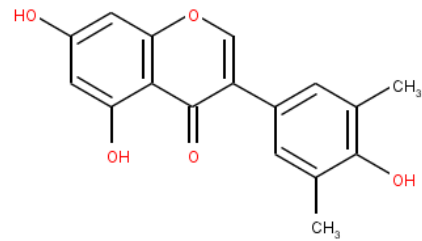
Flavon



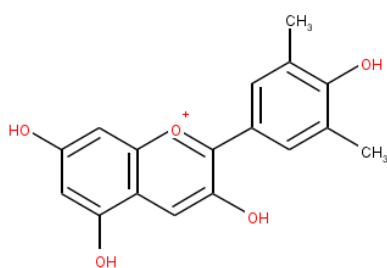
Flavonol



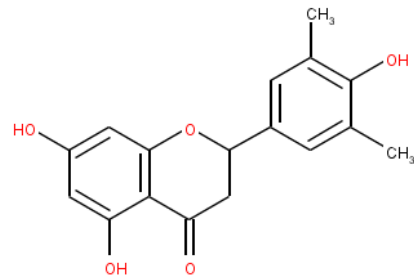
Flavanol



İzoflavon



Antosiyanidin



Flavanon

Şekil 2.11. Flavonoitlerin temel alt grupları (Özenç, 2011)

Flavonoitlerin ksantin oksidaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe etmeleri, bazı metal iyonları ile şelat oluşturmaları gibi çok çeşitli antioksidan etki mekanizmaları vardır. Süperoksit, lipid peroksil ve hidroksil radikallerini tuttukları ve diğer antioksidanlarla da etkileştikleri bildirilmiştir (Disilvestro, 2001).

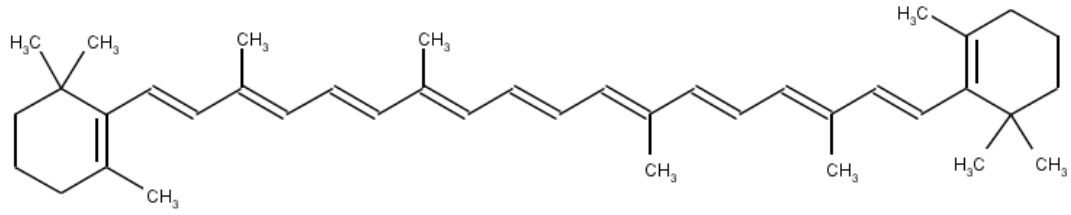
Antosiyaninler

Flavonoitlerden olan antosiyaninler doğal renk pigmentleridir ve çeşitli mekanizmalarla antioksidan aktivite göstermektedirler. Metal iyonlarıyla şelat oluşturmaları ve proteinleri bağlama özellikleri bu mekanizmalardandır (Satué-Garcia vd., 1997).

Antioksidan aktivite antosiyaninlerin yapılarına göre değişmektedir. Antosiyaninler aglikon kısım olarak antosiyanidinler ve bunlara bağlı şeker gruplarından oluşur. Bu grupların yeri ve sayısı aktivite ile yakından ilişkilidir. Yapılarında bulunan hidroksil sayısı, B halkasındaki o-dihidroksi yapı, 3' ve 4' karbona hidroksillerin bağlanması antioksidan aktiviteyi artıran özelliklerdendir. Özellikle 3. karbona glikoz bağlı olanların antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Zheng ve Wang, 2003).

Karotenoitler

Karotenoitlerin yapısal özellikleri sayesinde antioksidan etkiler göstererek oksidatif strese bağlı hasarı azalttıkları bilinmektedir. Özellikle yapılarındaki konjuge çift bağlar önemlidir ve sayıları arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır. Karotenoitler serbest radikal oluşumunu önleyerek veya oluşan reaktif türleri inhibe ederek etki gösterirler (Baysal ve Ersus, 1999). Serbest radikaller tarafından oluşturulan DNA hasarına karşı β -karotenin koruyucu etkisi pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Dembinska-Kiec, 2005). β -karoten (Şekil 2.12.) A-provitamini olarak da bilinir ve antioksidan özelliktedir (Özenç, 2011).



Şekil 2.12. *β*-karotenin yapısı (Özenç, 2011)

Birçok meyve, sebze, tahıllar, baharatlar ve kabuk, kök, yaprak, tohum gibi çeşitli bitkisel materyaller antioksidan aktivite açısından araştırılmıştır (Larson, 1988; Rice-Evans vd., 1995; Ramarathnam vd., 1997; Velioğlu vd., 1998).

Çeşitli meyve, sebze, çay ve şarapta bulunan polifenolik flavonoidlerin antioksidan aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada kersetin ve siyanidin Troloks'tan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Rice-Evans vd., 1995).

Ayçekirdeği, keten tohumu, buğday tohumu, karabuğday ve çeşitli meyve ve sebzeler ve tıbbi bitkiler dahil olmak üzere 28 bitki türünün antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada aynı zamanda toplam fenolik bileşen miktarı ve antioksidan aktivite arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Velioğlu vd., 1998).

Urtica dioica L. türünün sulu ekstraksiyonu ile yapılan bir çalışmada serbest radikal temizleme, süperoksit anyon radikal ve hidrojen peroksit temizleme ve metal şelatlama özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir. Antioksidan aktivitesi standart antioksidanlarla karşılaştırıldığında oldukça güçlü bulunmuştur. (Gülçin vd., 2004).

Yapılan başka bir çalışmada *Quercus calliprinos* Webb. yaprak ve meyveleri, *Punica granatum* L. kabuk kısımları, *Cinchona ledgeriana* Moens ex Trimen ve *Juniperus communis* L. yapraklarının yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Al-Mustafa ve Al-Thunibat, 2008).

2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

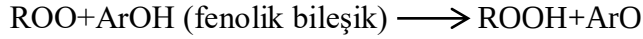
Antioksidan aktivite antioksidanların çok çeşitli kimyasal yapılarına, substratların özelliklerine, oksidasyon şartları ve aşamalarına bağlı olduğundan *in vitro* koşullara bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Frankel ve Meyer, 2000). Antioksidan kapasiteyi ölçmek için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemlerin hiçbiri antioksidan

kapasiteyi tümüyle yansıtmamaktadır. Bu nedenle bitkilerin antioksidan kapasiteleri belirlenirken tek bir yöntem yerine birkaç farklı yöntem kullanılmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir (Wong vd., 2006). Bu yöntemler kullanılan kimyasal reaksiyonlar açısından başlıca iki gruba ayrılırlar:

- i) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
- ii) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT esaslı analiz yöntemlerinde çoğunlukla yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir. Bu metodlarda peroksil radikali üretmek amacıyla genellikle sentetik bir radikal oluşturucu kullanılır. Eklenen antioksidanlar peroksil radikallerinin giderilmesi için substrat ile yarışmalı bir reaksiyon gösterirler (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).

HAT esasına dayanan yöntemlerin mekanizması şu şekildedir:



Hidrojen transferine dayalı yöntemler antioksidanların hidrojen atomu vererek serbest radikal yakalama kapasitesini ölçmektedir (Apak vd., 2007). HAT esaslı antioksidan kapasite analiz yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) ORAC (Oksijen radikali absorplama kapasitesi) metodu
- c) TRAP (Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi/Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu) metodu
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).

ET esaslı analiz yöntemleri antioksidan ile reaksiyon sonucu oksidanın indirgenmesine dayanır. Antioksidanın indirgeme kapasitesine bağlı olarak oksidan maddede indirgenme sonucu renk değişimi gözlenir. ET esaslı analiz yöntemleri:

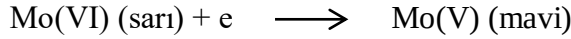
- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- b) (TEAC) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini
- c) (FRAP) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü tayini
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- f) CUPRAC (Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).

Bu çalışmada kullanılan antioksidan aktivite tayin yöntemlerinin prensipleri aşağıda açıklanmıştır.

2.6.1. Folin-Ciocalteu yöntemi ile total fenolik bileşik tayini

Folin-Ciocalteu yöntemi kolorimetrik tayin ile bitki ekstralarının toplam fenolik madde miktarını ortaya koymak için kullanılmaktadır. Folin-Ciocalteu reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktiftir. Bitki ekstralarında çözünmüş olarak bulunan fenolik maddeler Folin reaktifi ile bazik ortamda renkli kompleksler oluştururlar. (Singleton ve Rossi, 1965).

Folin ((PMoW₁₁O₄₀)⁻⁴, Molibdo-fosfotungstat) reaktifi 1 elektron alarak Mo(VI), Mo(V)'e indirgenir ve mavi renkli türler oluşur.

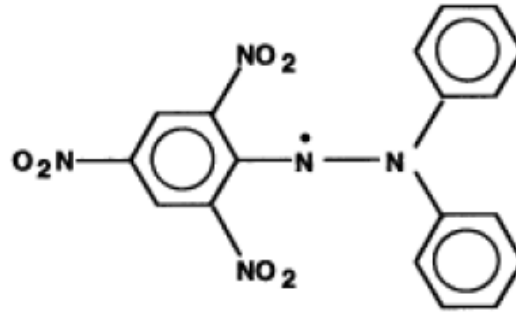


Sodyum karbonatla bazikleştirilmiş ortamın pH'sı 10 civarındadır. Bazik ortamda fenolik maddeler yükseltgenirler. Bu yöntemde antioksidan maddeler Folin reaktifinin çalışma pH'sında protonlarını verdiklerinden fizyolojik pH'larda daha düşük antioksidan kapasite gösterebilirler (Özenç, 2011).

FCR reaktifi sadece fenolik bileşikler değil örnek içinde bulunan diğer indirgen maddeler tarafından da indirgenebilir. Bu nedenle yöntemin örnekteki total fenolik içeriği tam olarak yansıtmadığı daha doğru bir deyişle total indirgeme kapasitesini ölçtüğü düşünülmektedir (Ikawa vd., 2003). Ancak basit ve tekrarlanabilir bir yöntem olduğundan Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında rutin olarak kullanılan bir yöntemdir (Huang vd., 2005).

2.6.2. DPPH serbest radikalini süpürücü etki tayini

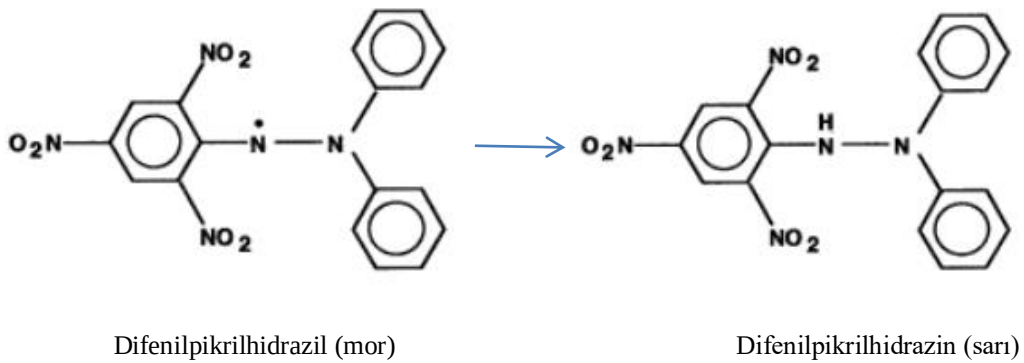
DPPH (Şekil 2.13.) azot köprüsünde eşleşmemiş bir elektrona sahip, ticari olarak temin edilebilen stabil bir radikaldir (Huang vd., 2005).



Şekil 2.13. DPPH radikalının yapısı (Molyneux, 2004)

DPPH radikalının antioksidanların tayininde kullanılabileceği ilk kez Blois (1958) tarafından ortaya atılmıştır ve bu metod Brand-Williams ve arkadaşları (Brand-Williams vd., 1995) tarafından da geliştirilerek sıkça kullanılan yöntemlerden biri olmuştur.

DPPH ile radikal süpürücü etki tayin yönteminin esası etanoldeki çözeltisi mor renkli olan DPPH'nin antioksidan ile indirgenmesi sonucu renginin solması ve reaksiyonun ilerleyişinin spektrofotometre ile izlenmesine dayanır (Frankel ve Meyer, 2000). DPPH'nin antioksidan ile indirgenmesi sonucu sarı renkli difenilpikrilhidrazin meydana gelir (Şekil 2.14.). Yöntemin sonunda antioksidanın etkinliği IC_{50} (etkin konsantrasyon) değeri ile belirtilir. IC_{50} , reaksiyon başlangıcındaki DPPH derişiminin %50'sinin azalması için gereken antioksidan miktarıdır (Brand-Williams vd., 1995). IC_{50} değerinin düşük olması antioksidanın etkinliğinin yüksek olduğu anlamına gelir.



Şekil 2.14. DPPH radikalının indirgenme reaksiyonu (Molyneux, 2004)

DPPH yöntemi kolay uygulanabilir bir yöntemdir. Ancak antioksidanların çoğu DPPH ile yavaş reaksiyon vermektedir. Fizyolojik şartlarda çeşitli reaktif türlerinin

süpürölme kapasitesini doğru bir şekilde ifade etmediğı düşünölmektedir. Bunun yanısıra DPPH derişiminin reaksiyon sürecini tam olarak yansıtmadığı da bilinmektedir (Huang vd., 2005; Molyneux, 2004).

2.6.3. Toplam flavonoit miktar tayini

Bitki ekstralarının toplam flavonoit miktarının belirlenmesinde alüminyum klorür ($AlCl_3$) kolorimetrik metodu kullanılmaktadır. Bu yöntemin esası alüminyum klorür ile flavonlar ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil gruplarının ve ayrıca flavonoitlerin A- veya B- halkalarının orto-dihidroksil gruplarının asidik ortamda kompleks oluşturmalarıdır. Standart flavonoit madde olarak genellikle kersetin kullanılmaktadır. Oluşan renkli komplekslerin absorbansları ölçölerek toplam flavonoit miktarı kersetin eşdeğeri cinsinden belirlenir (Chang vd., 2002).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyaller

Bu çalışmada Boraginaceae familyasına ait *A. macrophylla*, Fabaceae familyasına ait *S. kotschyana*, Liliaceae familyasına ait *G. villosa* var. *villosa*, Brassicaceae familyasına ait *E. sintenisianum* bitkileri kullanılmıştır. Muhtemel lokaliteleri Türkiye Florası'nın (Davis, 1965; Davis, 1967; Davis, 1970; Davis, 1978; Davis, 1984; Davis, 1988) ilgili cildi taranarak tespit edilen bu bitkilerin toprak üstü kısımları toplanmıştır ve gölgede, oda sıcaklığında kurutulmuş ve teşhisleri yine Türkiye Florası'ndaki teşhis anahtarlarına göre yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanma yeri ve zamanı Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin toplanma yeri ve zamanı

Bitki	Toplandığı yer, yükseklik	Toplama zamanı
<i>Alkanna macrophylla</i>	C3, Antalya-Lara Fener altı falezler, 20 m	16.03.2018
<i>Sphaerophysa kotschyana</i>	B5, Konya-Cihanbeyli Bolluk Gölü civarı, 925 m	05.05.2018
<i>Gagea villosa</i> var. <i>villosa</i>	C4, Konya-Kızılören Köyü, 1400 m	15.04.2018
<i>Erysimum sintenisianum</i>	C5, Niğde-Ulukışla, Pozantı yolu Meydan	08.05.2018
	Yaylası Maden Köyü, 1552 m	
<i>Polygonum sivasicum</i>	B6, Sivas-İşhan Köyü, 1274 m	01.04.2018

3.1.2. Mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan mikroorganizma suşları Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir. Araştırmada Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063, Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mantar türü olarak da *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşları kullanılmıştır.

3.1.3. Besiyerleri

Mikroorganizmalardan kültürlerin hazırlanmasında Brain Heart Infusion agar, disk difüzyon testi için ise Mueller Hinton Agar ve mikrodilüsyon testi için sıvı besiyeri olarak Tryptic Soy Broth kullanılmıştır.

3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

- 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich-STBC5115V)
- Müeller Hinton hazır besiyeri (BD-PA-254032.08)
- Tryptic Soy Broth (Merck-105459)
- % 0,45 Saline Solüsyon Ref V1204
- Al(NO₃)₃ (Sigma-Aldrich-237973)
- Askorbik asit (100468.0500 – Merck Millipore)
- Etanol (Merck-1.00983.2511)
- Etil asetat (Merck-1.09623)
- Folin-Ciocalteu reaktifi (109001-Merck Millipore)
- Gallik asit (842649- Merck Millipore)
- KCH₃COO (104820- Merck Millipore)
- Kloroform (Merck-1.02445)
- Metanol (Merck-1.06008.2500)
- Na₂CO₃ (106392-Merck Millipore)
- Quersetin (Sigma-Aldrich-PHL89262)

3.1.5. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

- Bakteriyolojik etüv, (Nüve FN400)
- Biyogüvenlik kabini (Teknomar, Chemocell Lrcx-UV)
- Ciprofloksasin disk (Bioanalyse-170328G)
- Dispenser (Brand)
- Nistatin disk (Bio-Rad-62856)

- Rotavapor (Heidolph)
- Steril boş antibiyotik disk (Bioanalyse)
- UV spektrofotometre (SPECTROstar^{Nano}, BMG LABTECH)
- Vankomisin disk (Bioanalyse-171109E)
- Vorteks (Velp Scientifica- ZX3 Velp Vorteks Tüp Karıştırıcı - 3000 rpm)

3.2. Yöntemler

3.2.1. Bitki ekstralarının hazırlanması

Bitkisel materyallerin kurutulmuş toprak üstü kısımlarından alınan 10'ar g örnek, çözücü olarak etil asetat, metanol, etanol, kloroform kullanılarak oda sıcaklığında 24 saat süreyle ekstre edilmiştir. Bu sürenin sonunda karışımlar süzölmüş ve sonra kalan bitki parçacıklarının üzerine yine aynı miktarlarda aynı çözücüler eklenerek aynı prosedür bir kez daha tekrarlanmıştır. Elde edilen sıvı ekstraları toplanmış ve düşük basınç altında rotavaporda ($< 40^{\circ}\text{C}$) çözücüler uçurulmuştur (Görsel 3.1.). Kalan katı ekstralar deneylerde kullanılmaya kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir.



Görsel 3.1. Rotavaporda çözücülerin uçurulması

3.2.2 Antimikrobiyal aktivite tayin çalışmaları

Antimikrobiyal aktivite tayini kantitatif ve kalitatif olmak üzere iki şekilde yapılmıştır. Kalitatif olarak değerlendirme disk difüzyon yöntemi ile kantitatif olarak değerlendirme ise broth (sıvı) mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.

3.2.2.1. Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanışı

Bakteri suşları 37°C’de 24 saat *Candida albicans* suşları ise 27°C’de 48 saat süre ile stok kültürlerden ekimleri yapılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tek düşmüş koloniler seçilerek inokulumların yoğunluğu Tryptic Soy Broth içinde 0,5 McFarland standart bulanıklığına (yaklaşık 1×10^8 cfu/mL) göre ayarlanarak Mueller Hinton Agar (MHA)’a inoküle edilmiştir.

3.2.2.2. Bitki ekstrelerinden antibiyotik disklerinin hazırlanışı

Bitki ekstrelerinin 10 mg/mL konsantrasyonlardaki stoklarından 6 mm çapındaki steril boş antibiyotik disklere 20 µL emdirilerek antibiyogram diskleri hazırlanmıştır. Sadece çözücülerin emdirildiği diskler negatif kontrol olarak, standart antibiyotik diskler ise karşılaştırma amacıyla pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Gram pozitif bakteriler için Vankomisin (30 µg), Gram negatif bakteriler için Siprofloksasin (30 µg), ve antifungal olarak da Nistatin (30 µg), diskleri kullanılmıştır.

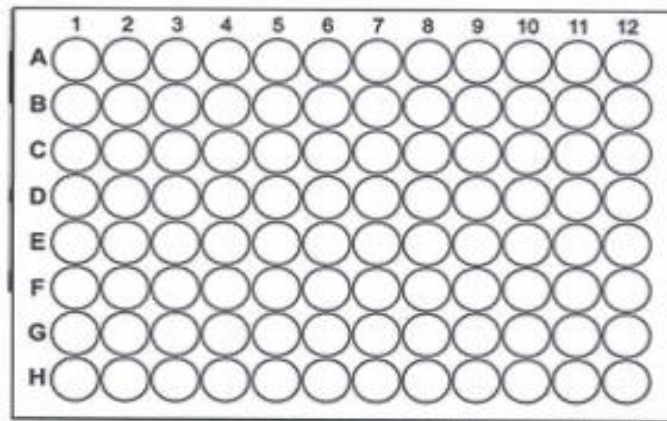
3.2.2.3. Disk difüzyon testi

Antimikrobiyal aktivitenin saptanması için BauerKirby yöntemini temel alarak EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) tarafından geliştirilen standart disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır (Aydemir vd., 2016). Mikroorganizmalar McFarland 0,5 (10^8 mikroorganizma/mL)’e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulduktan sonra Mueller Hinton hazır besiyeri yüzeyine bu süspansiyondan steril bir eküvyon yardımıyla alınan inokulum üç yönde yayılmıştır. Bitki ekstrelerinin emdirildiği diskler ve negatif kontrol diskleri ve pozitif kontrol olarak antibiyotik diskleri steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Bu yerleştirme işlemi oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için belli aralıklarla

(diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık) yapılmıştır. Besiyerleri 24 saat boyunca 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Her örnek için ölçümler üçer defa tekrarlanmıştır (n=3).

3.2.2.4. *Broth mikrodilüsyon testi*

Disk difüzyon testinde antimikrobiyal aktivite tespit edilen ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla sıvı mikrodilüsyon testi uygulanmıştır (CLSI, 2010; CLSI, 2012). Sıvı besiyeri olarak Tryptic Soy Broth (TSB) kullanılmıştır. Test, 96 kuyucuklu U-tabanlı mikropatlarda uygulanmıştır. Disk difüzyon testinde antimikrobiyal aktivite gözlenen bitki ekstrelerinden 1,6 mg/mL konsantrasyonda stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Mikroplağın tüm kuyucuklarına 100 µL besiyeri konulmuştur. Hazırlanan bu stok solüsyonlardan 100’er µL ilk kuyucuklara alınıp sonrasında iki katlı 10 seri dilüsyon yapılarak 0,8-0,00078125 mg/mL sınırları içinde sırayla azalan konsantrasyonlar elde edilmiştir (en son 100 µL dışarı atılmıştır). Plaklarda sadece besiyerinden oluşan sterilit kontrol kuyucuğuna, besiyeri ve mikroorganizmadan oluşan üreme kontrol kuyucuğuna ve besiyeri ve mikroorganizmaya ilaveten sadece çözücülerden oluşan kontrol kuyucuklarına yer verilmiştir. Mikrodilüsyon plaklarının şeması ve kuyucukların içerdiği konsantrasyonlar Şekil 3.1.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *Mikropatlak şeması*, (1) 0,8 mg/mL, (2) 0,4 mg/mL, (3) 0,2 mg/mL, (4) 0,1 mg/mL, (5) 0,05 mg/mL, (6) 0,025 mg/mL, (7) 0,0125 mg/mL, (8) 0,00625 mg/mL, (9) 0,003125 mg/mL, (10) 0,0015625 mg/mL, (11) 0,00078125 mg/mL

3.2.2.4.1. Hazırlanan mikropklara bakteri inokölasyonu

McFarland 0,5 standartı bulanıklığında hazırlanan inokölumlar 1:200 oranında seyreltilerek sterilitte kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara 100 µL olarak ilave edilmiştir. Mikropkların kapakları kapatılarak 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki bulanıklık değeriendirilmiş ve gözle görülebilir mikroorganizma gelişiminin inhibe edildiği konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Her örnek için üçer tekrar yapılmıştır (n=3).

3.2.3. Antioksidan aktivitenin tayin çalışmaları

3.2.3.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH •) radikalini süpürücü etki tayini

Çalışmada kullanılan bitki ekstralarının serbest radikal süpürücü etkileri DPPH radikali kullanılarak tayin edilmiştir (Molyneux, 2004; Wu vd., 2006). DPPH menekşe/mor renkli bir serbest radikaldır ve bir hidrojen aldığında sarı renge sahip difenilpikrilhidrazine dönüşür. Bu yöntem 517 nm’de numunelerin DPPH ile oluşturdukları rengin ölçülmesine ve standartlar ile karşılaştırılmasına dayanır. Bitki ekstralarının bu radikalini menekşe/mor rengini giderme yetenekleri ile DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri ölçülmektedir. (Blois, 1958).

3.2.3.1.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

0,1 mM DPPH çözeltisi: 3,94 mg DPPH tartılmıştır, etanol ile çözölüp hacmi 100 mL’ye tamamlanmıştır.

Askorbik asit çözeltisi: 4,40 mg askorbik asit 5 mL saf su ile çözölerek 50000 µM’lik askorbik asit standartı elde edilmiştir. Bu çözeltiden 25 kat dilüsyon ile 200 µM’lik standart elde edilmiştir bundan da 7 seri dilüsyon yapılarak askorbik asit konsantrasyonları oluşturulmuştur.

Ekstreler: 1000 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltilerden 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarının kuyucuklarına sırasıyla 100'er µL aktarılmıştır ve her ekstre kendi çözücüsü ile iki katlı 7 seri dilüsyon yapılarak seyreltilmiştir.

3.2.3.1.2. Deneyin yapılışı

Bu yöntemde yapılan pipetlemeler Tablo 3.2.'de gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak hazırlanan askorbik asit çözeltisinin farklı konsantrasyonları, numune olarak ekstrelerden hazırlanan farklı konsantrasyonlar, negatif kontrol olarak ekstrelerde kullanılan çözücüler ve kör olarak da etanol kullanılmıştır. Bunlardan 500'er µL bulunan tüplerin kör hariç hepsine hazırlanan DPPH çözeltisinden 500'er µL eklenmiştir. Mikroplaklara hazırlanan tüm bu çözeltilerden 200'er µL alınmıştır ve 30 dakika süreyle karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. UV absorbans 517 nm'de mikropate spektrofotometre kullanılarak oda sıcaklığında okunmuştur. Her örnek için ölçümler üçer defa tekrarlanmıştır (n=3). Sonuçlar, doğal antioksidan olarak kullanılan askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Numuneler ve standartların radikal süpürücü aktivitesi negatif kontrole oranla % olarak verilmektedir ve %50 inhibisyon konsantrasyonu değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri DPPH radikalinin yarısını süpürebilen örnek konsantrasyonunu ifade etmektedir. IC₅₀ değerinin düşük olması antioksidan kapasitesinin yüksek olduğunu göstermektedir.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.1)$$

A_{kontrol} = Kontrolün absorbans, A_{numune} = Numunenin absorbansı

Tablo 3.2. DPPH tayini için deney esnasında yapılan pipetlemeler

	Kontrol	Numune	Standart
Çözücüler	500 µL	-	-
DPPH çözeltisi	500 µL	500 µL	500 µL
Ekstreler (değişik konsantrasyonlarda)	-	500 µL	-
Standart (değişik konsantrasyonlarda)	-	-	500 µL

3.2.3.2. Toplam fenol miktar tayini

Bitki ekstralarının toplam polifenol miktarı, Lachman ve arkadaşları (1998) tarafından tarif edilen modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Horzic vd., 2009).

Metod; fosfotungstik asitin ($H_3P[W_3O_{10}]_4$) bazik çözeltide fosfotungstik mavisine indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Ölçülen absorbans miktarı, fenolik grupların sayısı ile orantılıdır ve toplam polifenol miktarının ifade edilebilirliği için standart olarak galik asit kullanılmaktadır (Horzic vd., 2009).

3.2.3.2.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%20'lik Na_2CO_3 çözeltisi: 10 g Na_2CO_3 tartılmıştır, saf su ile çözülüp hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

1:10 Folin-Ciocalteu reaktifi: 1 mL 2 N Folin-Ciocalteu reaktifi, 9 mL saf su eklenerek 1:10 oranında seyreltilmiştir. Tayin öncesi hazırlanarak taze olarak kullanılmıştır.

Standartlar: 10 mg galik asit 1 mL saf su ile çözülerek 10000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik galik asit standartı elde edilmiştir. Bundan 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik standart hazırlanarak saf su ile çözülmüştür. 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,5625 $\mu\text{g/mL}$ 'lik galik asit standartları seri dilüsyon ile oluşturulmuştur.

Ekstreler: Ekstrelerden 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda stok çözeltileri hazırlanmıştır. 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda hazırlanan bitki ekstraları 1:50 oranında seyreltilerek 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlar oluşturulmuştur.

3.2.3.2.2. Deneyin yapılışı

Tablo 3.3.'te belirtilen pipetlemeler 96 kuyucuklu mikropakta yapılmıştır. Mikropaklar oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir. 700 nm'de absorbans ölçülmüştür. Her örnek için ölçümler üçer defa tekrarlanmıştır ($n=3$). Sonuçlar galik asit standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.3. Toplam polifenolik madde miktar tayini pipetlemeleri

	Kör	Numune	Standart
Çözücüler	12.5 µL	-	-
Ekstreler	-	12.5 µL	-
Standart	-	-	12.5 µL
1:10 Folin-Ciocalteu reaktifi	62.5 µL	62.5 µL	62.5 µL
%20'lik Na₂CO₃ çözeltisi	125 µL	125 µL	125 µL

3.2.3.3. Toplam flavonoit miktar tayini

Toplam flavonoit miktar tayini AlCl₃ kolorimetrik metodu kullanılarak yapılmıştır. Standart madde olarak kersetin kullanılmış ve ekstrelerin flavonoit miktarı kersetin eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir (Chang vd., 2002).

3.2.3.3.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%80'lik etanol çözeltisi: 80 mL'lik saf etanolün hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

1 M KCH₃COO çözeltisi: 2,454 g KCH₃COO tartılıp saf su ile çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır.

%10'luk Al(NO₃)₃ çözeltisi: 2,5 g Al(NO₃)₃ tartılıp saf su ile çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Standartlar: 10 mg kersetin 800 µL saf etanol ile çözülerek hacmi saf su ile 1000 µL'ye tamamlanmıştır ve böylelikle 10000 µg/mL'lik kersetin standartı elde edilmiştir. Bu ana stoktan 1:10 dilüsyon ile 1000 µg/mL'lik standart hazırlanarak %80'lik etanol ile çözülmüş ve 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 ve 1,5625 µg/mL'lik kersetin standartları seri dilüsyon ile oluşturulmuştur.

Ekstreler: 1000 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltilerden 1:20 oranında seyreltilerek 50 µg/mL konsantrasyonlar oluşturulmuştur.

3.2.3.3.2. Deneyin yapılışı

Hazırlanan bitki ekstralarının toplam flavonoid içeriklerini belirlemek amacıyla 96 kuyucuklu mikrotiplerde yapılan pipetlemeler Tablo 3.4.'te gösterilmiştir. Pipetlemeler sonrası mikrotipler oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edilmiştir. 415 nm'de mikrotipler okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür. Her örnek için ölçümler üçer defa tekrarlanmıştır (n=3). Sonuçlar kasetin standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.4. Toplam flavonoid miktar tayini pipetlemeleri

	Kör	Numune	Standart
Etanol	20 μL	-	-
Ekstreler	-	20 μL	-
Standart	-	-	20 μL
%80'lik etanol	172 μL	172 μL	172 μL
%10'luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	4 μL	4 μL	4 μL
1 M KCH_3COO	4 μL	4 μL	4 μL

4. BULGULAR VE YORUM

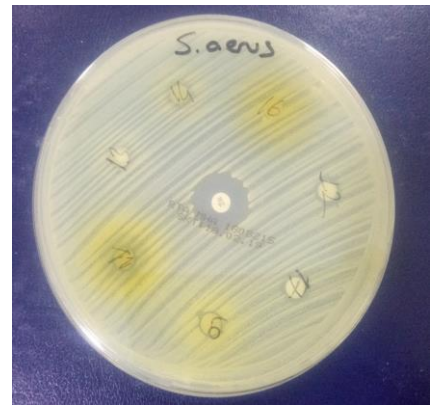
4.1 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.1.1 Antimikrobiyal aktivitenin kalitatif yönden değerlendirilmesi ve disk difüzyon testi sonuçları

5 bitki türünden 4 farklı çözücü kullanılarak hazırlanan 20 ekstrenin 4 bakteri ve bir mantar türüne karşı üreme inhibisyon sonuçları disk difüzyon testi yapılarak değerlendirilmiştir. *E. faecalis* suşuna karşı *S. kotschyana* etanollü ekstresi ve *E. sintenisianum* metanollü ekstresi, *S. aureus* suşuna karşı *E. sintenisianum* etil asetat ekstresi ve *G. villosa* var. *villosa* kloroform ekstresi ve *A. macrophylla* metanol ekstresi, *E. coli* suşuna karşı *E. sintenisianum* metanollü ekstresi, *K. pneumoniae* suşuna karşı *S. kotschyana* etanollü ekstresi ve *E. sintenisianum* etil asetat ekstresi, *C. albicans*'a karşı ise *E. sintenisianum* metanollü ekstresi inhibisyon zonu oluşturmuşlardır (Görsel 4.1-4.6). Disklerin etrafında inhibisyon zonunun oluşması bu ekstrelerin mikroorganizma üremesini durdurduğunu göstermektedir. Diğer ekstrelerde hiçbir mikroorganizmaya karşı inhibisyon zonu görülmemiştir. Bu ekstreler mikroorganizma üremesine etki etmemiştir.



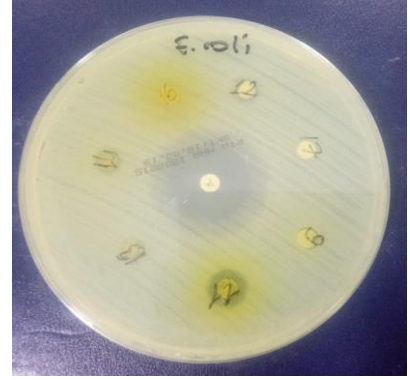
Görsel 4.1. *Enterococcus faecalis* ekilmiş kültürde inhibisyon zonları



Görsel 4.2. *Staphylococcus aureus* ekilmiş kültürde inhibisyon zonları (12 No'lu ekstre)



Görsel 4.3. *Staphylococcus aureus* ekilmiş
kültürde inhibisyon zonları
(18, 21 No'lu ekstreler)



Görsel 4.4. *Escherichia coli* ekilmiş
inhibisyon zonları



Görsel 4.5. *Klebsiella pneumoniae* ekilmiş
inhibisyon zonları



Görsel 4.6. *Candida albicans* ekilmiş kültürde
kültürde inhibisyon zonları

Bitki ekstrelerinden 5 tanesinin en az bir mikroorganizmaya etkili olduğu görülmüştür. 15 ekstrenin ise incelenen mikroorganizma türlerine karşı etkisiz olduğu bulunmuştur. Bitki ekstrelerinden 3 tanesinin birden fazla sayıda mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi saptanmıştır.

Bitki ekstreleri tarafından üremeleri inhibe edilen mikroorganizma sayısı dikkate alındığında en geniş antimikrobiyal etki spektrumu *E. sintenisianum* metanollü ekstresinde görülmüştür. Bu ekstre Gram pozitif bakterilerden *E. faecalis*'e, Gram negatif bakterilerden *E. coli*'ye ve mantar türü *C. albicans*'a karşı etki göstermiştir. Aynı bitkinin etil asetatlı ekstresi de *S. aureus* ve *K. pneumoniae*'ye etki gösterdiğinden bu bitkinin çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalara etkili olduğu görülmüştür.

S. kotschyana bitkisinin sadece metanollü ekstresinde etki görülmüştür ve bu etki *E. faecalis* ve *K. pneumoniae* türlerine karşı olmuştur. *G. villosa* var. *villosa* sadece *S. aureus* türüne karşı etkili olmuştur. Bu etki de sadece kloroformlu ekstresinde görülmüştür. *A. macrophylla* bitkisi de sadece *S. aureus* türüne karşı etkili olmuştur. Bu etki metanollü ekstresinde görülmüştür. *P. sivasicum* bitkisinden elde edilen ekstreler hiçbir mikroorganizmaya etkili olmamıştır.

Üremeleri inhibe edilen mikroorganizma sayısı dikkate alındığında en çok metanollü ekstrelerde etki görülmüştür. Etanollü iki ekstre, etil asetatlı iki ekstre, kloroformlu bir ekstre mikroorganizmalara etkili olmuştur.

Uygulanan bitki ekstrelerine karşı en duyarlı mikroorganizma 3 ekstre tarafından da inhibe edilebilen *S. aureus*'tur. *E. coli* ve *C. albicans* sadece birer ekstre tarafından inhibe edilirken *E. faecalis* ve *K. pneumoniae* ikişer ekstre tarafından inhibe edilmiştir.

4.1.2 Antimikrobiyal aktivitenin kantitatif yönden değerlendirilmesi

4.1.2.1. İnhibisyon zon çaplarının ölçülmesi

Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite deneyinde disklerin etrafında üreme olmayan kısımların zon çapları cetvel yardımıyla ölçülmüştür ve Tablo 4.1.'de mm cinsinden verilmiştir.

Standart olarak kullanılan antibiyotik disklerinden Vankomisin *E. faecalis* ve *S. aureus*'a karşı sırasıyla 17,5 mm ve 20 mm inhibisyon zon çapı göstermiştir. Siprofloksasin *E. coli*'ye karşı 25 mm, *K. pneumoniae*'ye karşı 15 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Nistatin ise *C. albicans*'a karşı 15 mm zon çapı göstermiştir.

En büyük inhibisyon zonu *C.albicans*'a karşı *E. sintenisianum* metanollü ekstresinde görülmüş olup 22 mm'dir. Standart antifungal disk olarak kullanılan Nistatine göre (15 mm) daha geniş zon çapı görülmüştür.

S. kotschyana etanollü ekstresi *E. faecalis*'e karşı Vankomisine yakın bir inhibisyon zonu göstermiştir. *A. macrophylla* metanollü ekstresi *S. aureus*'a karşı Vankomisine yakın inhibisyon zonu göstermiştir. *E. sintenisianum* etil asetatlı ekstresi *K. pneumoniae*'ye karşı Siprofloksasine yakın inhibisyon zonu oluşturmuştur. *E.*

sintenisianum metanollü ekstresi ve *G. villosa* var. *villosa* kloroformlu ekstresi kontrol grubu antibiyotiklere oranla düşük inhibisyon zon çapı oluşturmuşlardır.

S. aureus'a etki gösteren üç ekstre içinde en yüksek inhibisyon zon çapını oluşturan *A. macrophylla* metanollü ekstresidir (17,5 mm). Daha sonra *E. sintenisianum* etil asetatlı ekstresi gelmektedir (10 mm). Bu mikroorganizmaya en düşük inhibisyon zonunu *G. villosa* var. *villosa* kloroformlu ekstresi meydana getirmiştir (8 mm). Vankomisin'in oluşturduğu zon çapı ise hepsinden yüksek olup 20 mm'dir.

E. faecalis'e karşı *S. kotschyana* etanollü ekstresi (15 mm) *E. sintenisianum* metanollü ekstresine göre (8 mm) daha yüksek zon çapı oluşturmuştur. Ancak Vankomisin'in zon çapı iki ekstreden de yüksektir (17,5 mm).

K. pneumoniae'ye karşı etki gösteren *E. sintenisianum* etil asetatlı ekstresi 9 mm zon çapı verirken, *S. kotschyana* etanollü ekstresi 12 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ancak ikisi de Siprofloksasin'in zon çapından (15 mm) düşüktür.

E. sintenisianum metanollü ekstresi *E. coli*'ye karşı Siprofloksasinden düşük zon çapı oluşturmuştur.

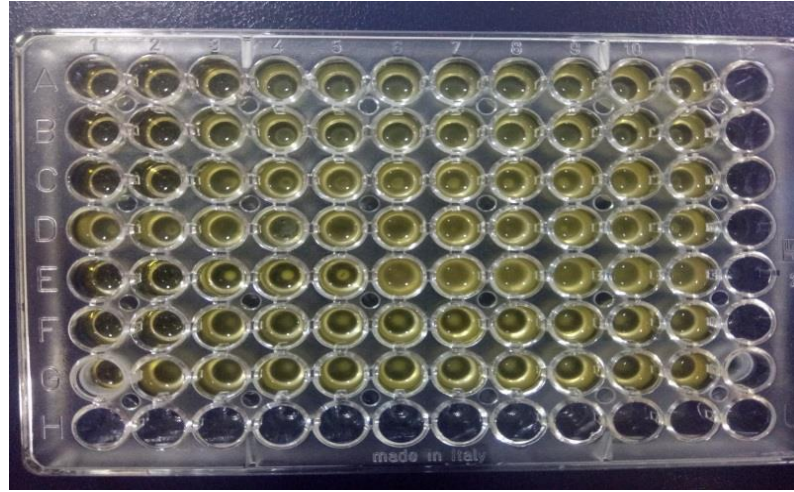
Sadece çözücülerin mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin incelendiği kontrol disklerinde inhibisyon zon çapı görülmemiştir.

4.1.2.2. Mikrodilüsyon testi sonuçları

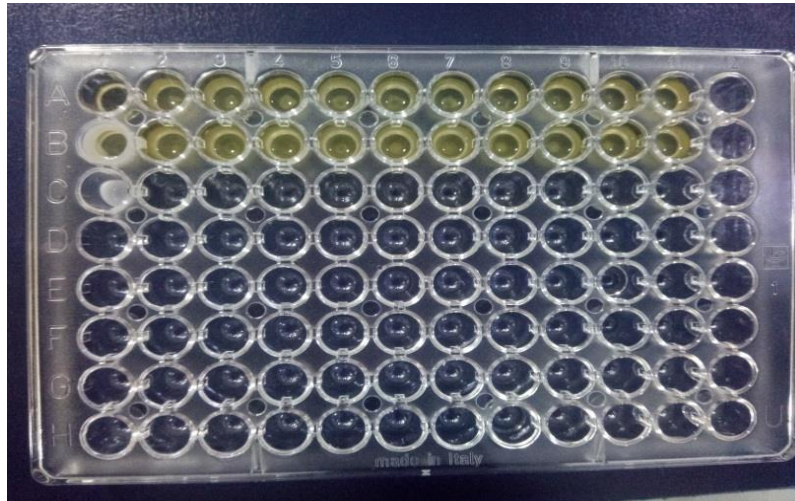
Antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile tespit edilen 5 ekstrenin farklı konsantrasyonları etkili oldukları mikroorganizmalar üzerinde mikrodilüsyon yöntemi ile denenmiştir (Görsel 4.7. ve 4.8.). Mikroplaklarda bulanıklık olmayan tüpler değerlendirilmiş ve gözle görülebilir mikroorganizma gelişiminin inhibe edildiği konsantrasyonlar Tablo 4.2.'de gösterildiği gibi minimum inhibitör konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Mikroorganizma üreme kontrol kuyucuğunda üreme olduğu, besiyeri kontrol kuyucuğunda üreme olmadığı tespit edilmiştir. Sadece çözücülerin mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin incelendiği kontrol kuyucuklarında inhibisyon görülmemiştir.

Tablo 4.1. Bitki ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri

Antimikrobiyal aktivite inhibisyon zonları (mm)							
Bitki	Çözücü	Ekstre no	<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Ca</i>
<i>P. sivasicum</i>	Metanol	1	-	-	-	-	-
	Etil asetat	2	-	-	-	-	-
	Kloroform	3	-	-	-	-	-
	Etanol	4	-	-	-	-	-
<i>S. kotschyana</i>	Metanol	6	-	-	-	-	-
	Etil asetat	7	-	-	-	-	-
	Kloroform	8	-	-	-	-	-
	Etanol	9	15	-	-	12	-
<i>E. sintenisianum</i>	Metanol	11	7,5	-	12	-	22
	Etil asetat	12	-	10	-	9	-
	Kloroform	13	-	-	-	-	-
	Etanol	14	-	-	-	-	-
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Metanol	16	-	-	-	-	-
	Etil asetat	17	-	-	-	-	-
	Kloroform	18	-	8	-	-	-
	Etanol	19	-	-	-	-	-
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	21	-	17,5	-	-	-
	Etil asetat	22	-	-	-	-	-
	Kloroform	23	-	-	-	-	-
	Etanol	24	-	-	-	-	-
Vankomisin			17,5	20			
Siprofloksasin					25	15	
Nistatin							15
<i>Ef</i> : <i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Sa</i> : <i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Ec</i> : <i>Escherichia coli</i>		
<i>Kp</i> : <i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Ca</i> : <i>Candida albicans</i>					



Görsel 4.7. Mikrodilüsyon testi sonucu kuyucukların görünüşü (Mikroplak 1), (A) *E. faecalis* suşuna karşı 9 nolu ekstre, (B) *E. faecalis* suşuna karşı 11 nolu ekstre, (C) *S. aureus* suşuna karşı 21 nolu ekstre, (D) *S. aureus* suşuna karşı 18 nolu ekstre, (E) *E. coli* suşuna karşı 11 nolu ekstre, (F) *K. pneumoniae* suşuna karşı 9 nolu ekstre, (G) *K. pneumoniae* suşuna karşı 12 nolu ekstre.



Görsel 4.8. Mikrodilüsyon testi sonucu kuyucukların görünüşü (Mikroplak 2), (A) *C. albicans* suşuna karşı 11 nolu ekstre, (B) *S. aureus* suşuna karşı 12 nolu ekstre.

0,2 mg/mL konsantrasyon ile en düşük MIC değerine sahip, aynı zamanda Vankomisin'e yakın yüksek inhibisyon çapı oluşturan bitki *E. faecalis*'e karşı *S. kotschyana* olmuştur.

E. sintenisianum etil asetatlı ekstresi ile *G. villosa* var. *villosa* kloroformlu ekstresinin *S. aureus*'a karşı sırasıyla 10 mm ve 8 mm inhibisyon zonu oluşturmalarına

karşın MIC değeri saptanmasında kullanılan başlangıç konsantrasyonu 0,8 mg/mL de bile mikroorganizma üremesini inhibe edemedikleri gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Antimikrobiyal aktivitesi saptanan ekstrelerinin minimum inhibitör konsantrasyon düzeyi

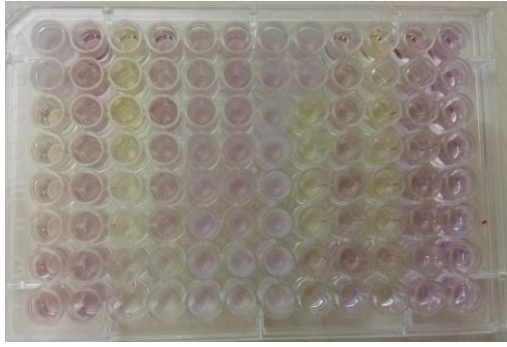
Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) (mg/mL)							
Bitki	Çözücü	Ekstre no	<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Ca</i>
<i>S. kotschyana</i>	Etanol	9	0,2			0,4	
<i>E. sintenisianum</i>	Metanol	11	0,4		0,4		0,8
<i>E. sintenisianum</i>	Etil asetat	12		-		0,8	
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Kloroform	18		-			
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	21		0,4			
<i>Ef: Enterococcus faecalis</i>		<i>Sa: Staphylococcus aureus</i>			<i>Ec: Escherichia coli</i>		
<i>Kp: Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Ca: Candida albicans</i>					

4.2. Antioksidan Aktivite Tayinine Ait Sonuçlar

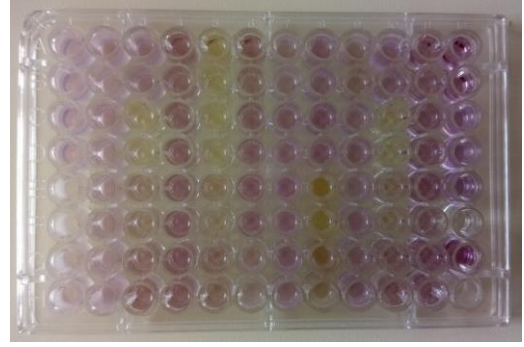
4.2.1. 1,1-Difenil-2- pikrilhidrazil (DPPH •) radikalini süpürücü etki tayini

sonuçları

DPPH radikali ile antioksidan maddelerin reaksiyonu sonucu hidrojenin bağlanması ile serbest radikal ortamdan süpürülmekte ve bu durum da absorbansın düşmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla numune ve DPPH karışımının absorbansının düşük olması numunenin serbest radikal giderici aktivitesinin yüksek olduğunu gösterir. Mor renkli DPPH çözeltisinin sarı renge dönüşmesi antioksidan tarafından indirgenildiğini göstermektedir (Görsel 4.9. ve 4.10.).

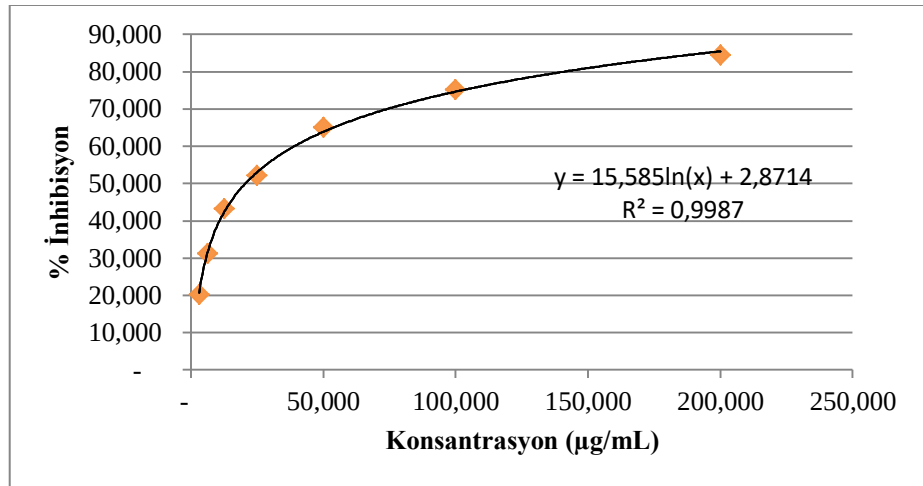


Görsel 4.9. DPPH testi sonucu çözeltilerin görünüşü



Görsel 4.10. DPPH testi sonucu oluşan renk değişimleri

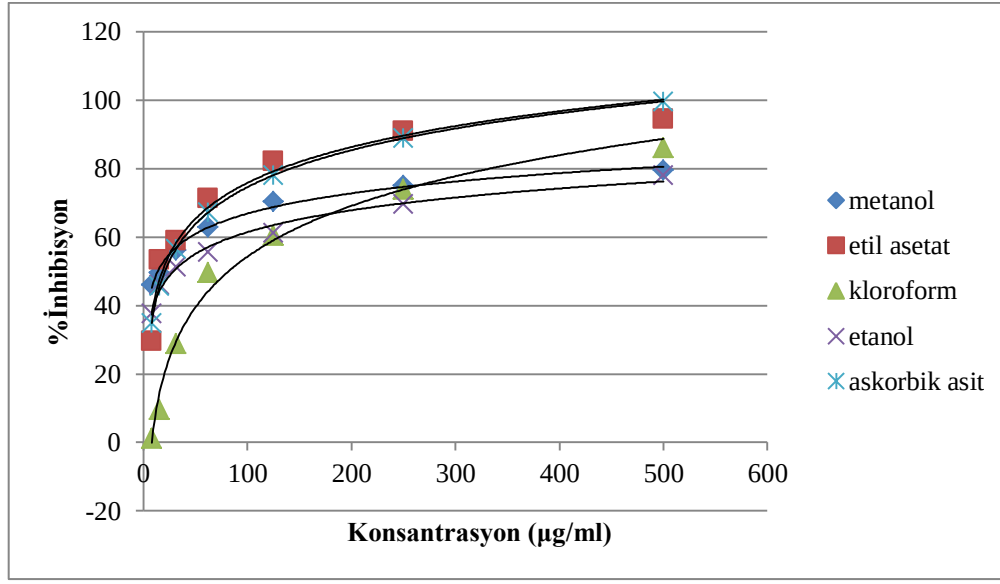
Çalışmamızda standart madde olarak askorbik asit kullanılmıştır. Askorbik asitin ve bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri konsantrasyona karşı % inhibisyon grafikleri ile gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Askorbik asit standartının DPPH radikalini süpürücü etkisi

Tablo 4.3. Askorbik asit konsantrasyonlarının 517 nm'deki absorbansları ve inhibisyon yüzdeleri

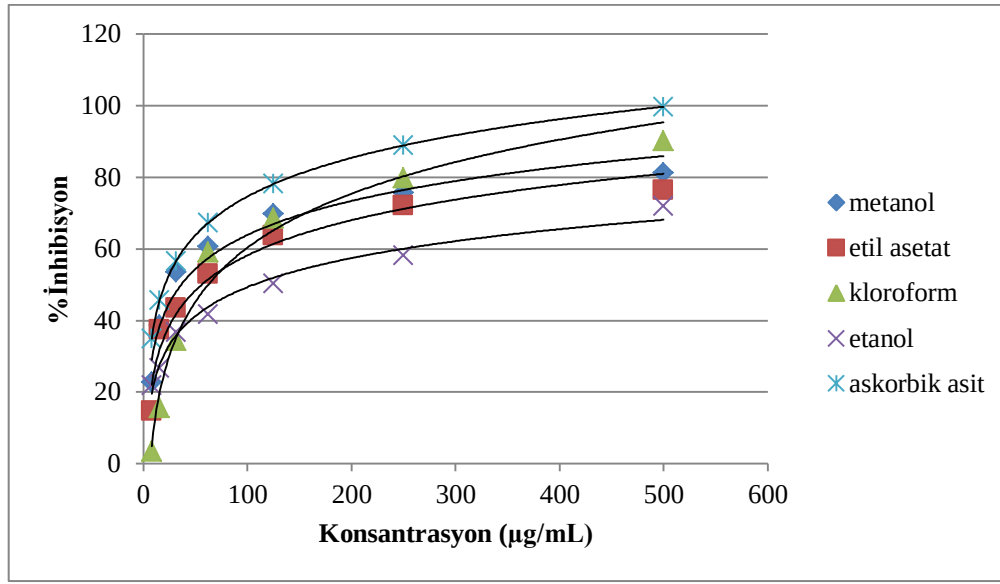
Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans	% İnhibisyon
200	0,050	84,47
100	0,080	75,16
50	0,113	64,91
25	0,154	52,17
12,5	0,183	43,17
6,25	0,221	31,21
3,125	0,257	20,19



Şekil 4.2. *Polygonum sivasicum* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

Tablo 4.4. *P. sivasicum* ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri

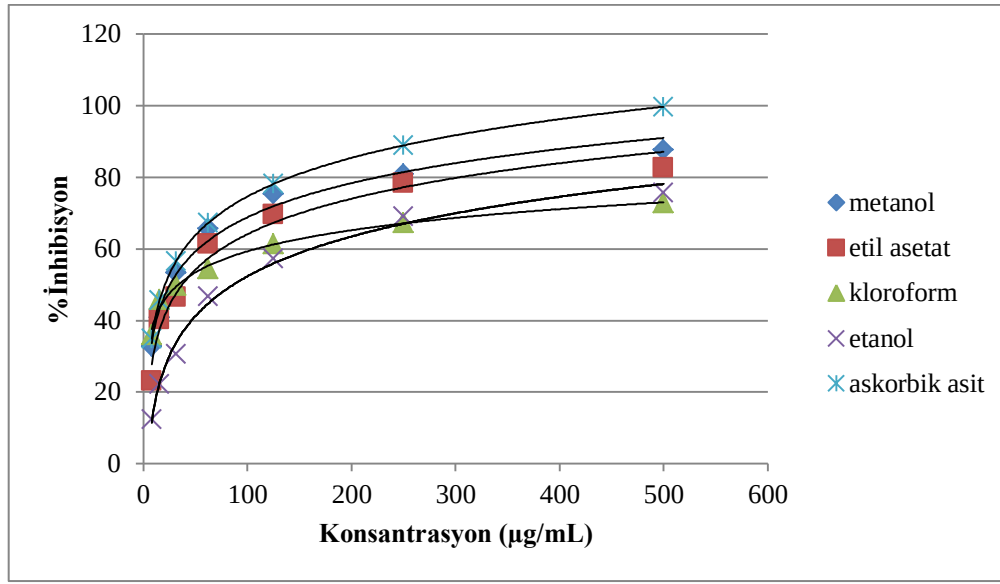
<i>P. sivasicum</i> Ekstrelerinin % İnhibisyonu				
Konsantrasyon (µg/mL)	Metanol	Etil asetat	Kloroform	Etanol
500	79,611	94,58	86,12	78,14
250	75,08	91,08	73,97	69,76
125	70,55	82,32	60,50	61,38
62,5	62,94	71,40	49,60	55,69
31,25	56,31	58,99	28,98	51,35
15,625	49,68	53,34	9,68	46,10
7,8125	46,12	29,64	1,15	37,72



Şekil 4.3. *Sphaeropysa kotschyana* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

Tablo 4.5. *S. kotschyana* ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri

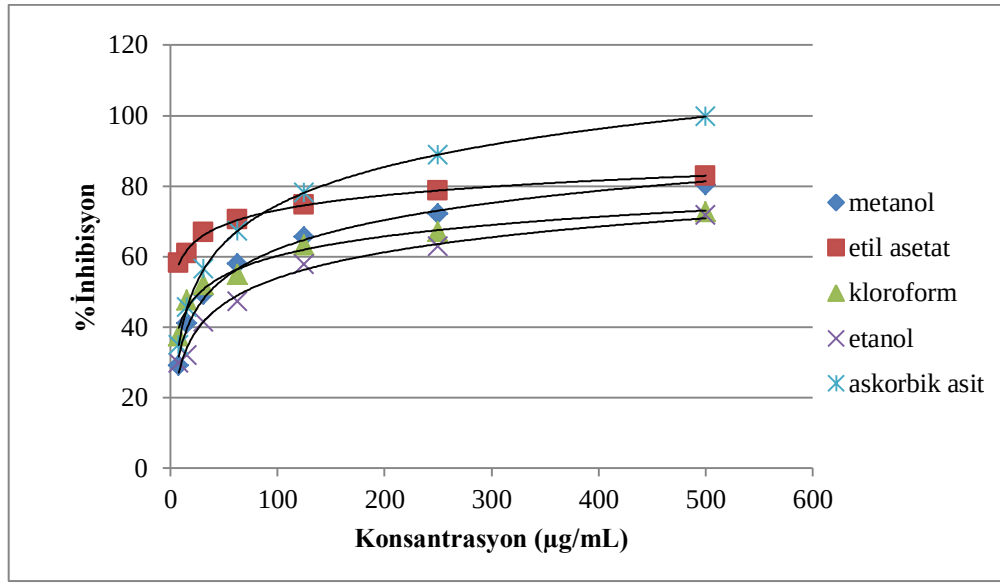
<i>S. kotschyana</i> Ekstrelerinin % İnhibisyonu				
Konsantrasyon (µg/mL)	Metanol	Etil asetat	Kloroform	Etanol
500	81,23	76,45	90,14	71,86
250	75,73	72,07	79,80	58,08
125	69,74	63,74	68,48	50,30
62,5	60,68	53,05	58,97	41,62
31,25	53,56	43,54	34,33	36,68
15,625	38,67	37,44	15,58	26,65
7,8125	22,65	14,64	3,51	21,86



Şekil 4.4. *Erysimum sintonianum* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

Tablo 4.6. *E. sintonianum* ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri

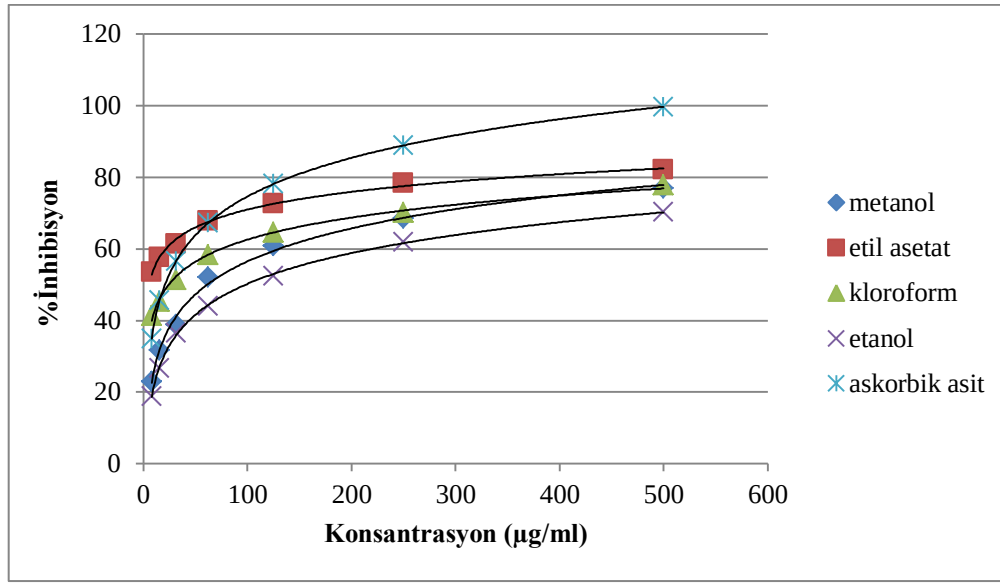
<i>E. sintonianum</i> Ekstrelerinin % İnhibisyonu				
Konsantrasyon (µg/mL)	Metanol	Etil asetat	Kloroform	Etanol
500	87,70	82,62	72,79	75,75
250	80,91	78,31	67,30	69,16
125	75,40	69,54	61,33	57,19
62,5	65,70	61,37	54,39	46,71
31,25	53,40	46,58	49,74	30,54
15,625	40,78	40,19	45,85	22,16
7,8125	32,69	23,18	35,93	12,28



Şekil 4.5. *Gagea villosa* var. *villosa* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

Tablo 4.7. *G. villosa* var. *villosa* ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri

<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i> Ekstrelerinin % İnhibisyonu				
Konsantrasyon (µg/mL)	Metanol	Etil asetat	Kloroform	Etanol
500	80,26	82,84	72,65	71,86
250	72,17	78,60	67,09	62,87
125	65,70	74,74	63,24	57,78
62,5	57,93	70,51	54,95	47,31
31,25	49,19	66,94	52,03	41,47
15,625	41,10	60,92	47,73	32,04
7,8125	29,13	58,10	37,52	29,79



Şekil 4.6. *Alkanna macrophylla* ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkileri

Tablo 4.8. *A. macrophylla* ekstralarının farklı konsantrasyonlarının % inhibisyon değerleri

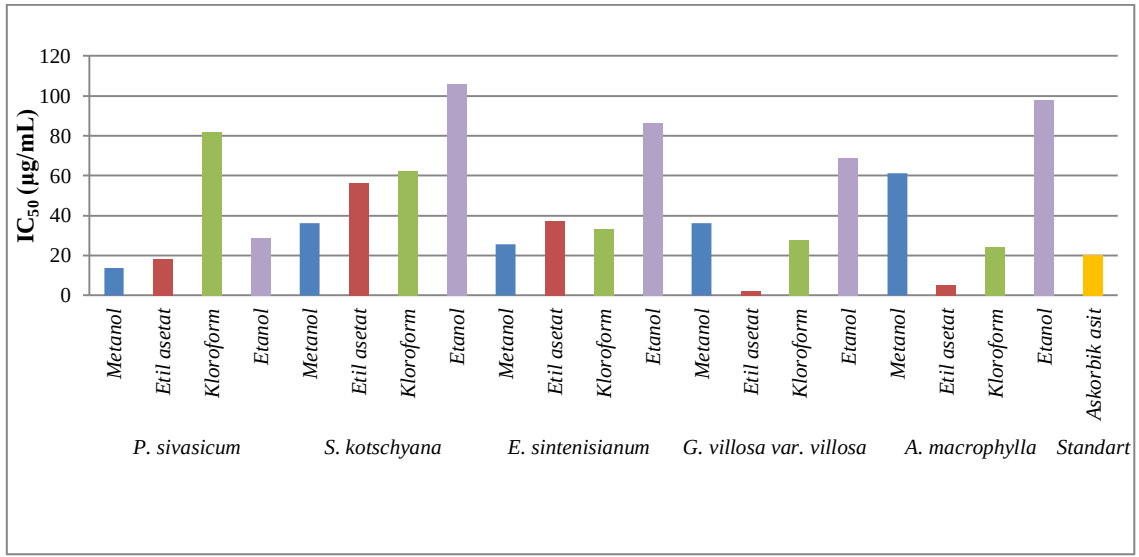
<i>A. macrophylla</i> Ekstrelerinin % İnhibisyonu				
Konsantrasyon (µg/mL)	Metanol	Etil asetat	Kloroform	Etanol
500	77,02	82,10	77,82	70,36
250	68,51	78,45	70,22	61,98
125	60,84	72,66	64,53	52,40
62,5	52,10	67,76	58,35	44,01
31,25	38,83	61,29	51,41	36,53
15,625	31,61	57,58	45,37	26,65
7,8125	22,98	53,57	41,27	18,86

Bitki ekstralarının DPPH serbest radikalının yarısını süpüren konsantrasyonları (IC_{50}) Tablo 4.9. ve Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. DPPH radikalının yarısının süpürüldüğünü gösteren IC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin güçlü olduğunu gösterir. Standart madde olarak kullanılan askorbik asitin IC_{50} değeri 20,57 µg/mL olarak bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan bitki ekstralarının IC_{50} değerleri standart madde askorbik asit ile karşılaştırıldığında daha düşük IC_{50} değerine sahip ekstralar sırasıyla *G. villosa* var. *villosa* (etil asetat) < *A. macrophylla* (etil asetat) < *P. sivasicum* (metanol) < *P. sivasicum* (etil asetat) < askorbik asit şeklindedir. Bu ekstraların dışındaki tüm bitki ekstraları askorbik asitten daha yüksek IC_{50} değerine sahiptirler ve dolayısıyla daha düşük serbest radikal süpürücü kapasitesi göstermişlerdir.

DPPH serbest radikal süpürücü kapasite en yüksek ekstre 2,1511 µg/mL IC₅₀ değeri ile *G. villosa* var. *villosa* bitkisinin etil asetatlı ekstresi, en düşük ekstre 105,7608 µg/mL IC₅₀ değeri ile *S. kotschyana* etanollü ekstresidir.

Tablo 4.9. Bitki ekstrelerinin IC₅₀ (µg/mL) değerleri

Bitki	Çözücü	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>P. sivasicum</i>	Metanol	13,78
	Etil asetat	18,08
	Kloroform	81,64
	Etanol	28,69
<i>S. kotschyana</i>	Metanol	36,25
	Etil asetat	55,97
	Kloroform	62,16
	Etanol	105,76
<i>E. sintenisanum</i>	Metanol	25,47
	Etil asetat	37,25
	Kloroform	33,39
	Etanol	86,33
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Metanol	36,20
	Etil asetat	2,15
	Kloroform	27,89
	Etanol	68,62
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	61,23
	Etil asetat	5,30
	Kloroform	24,23
	Etanol	98,15



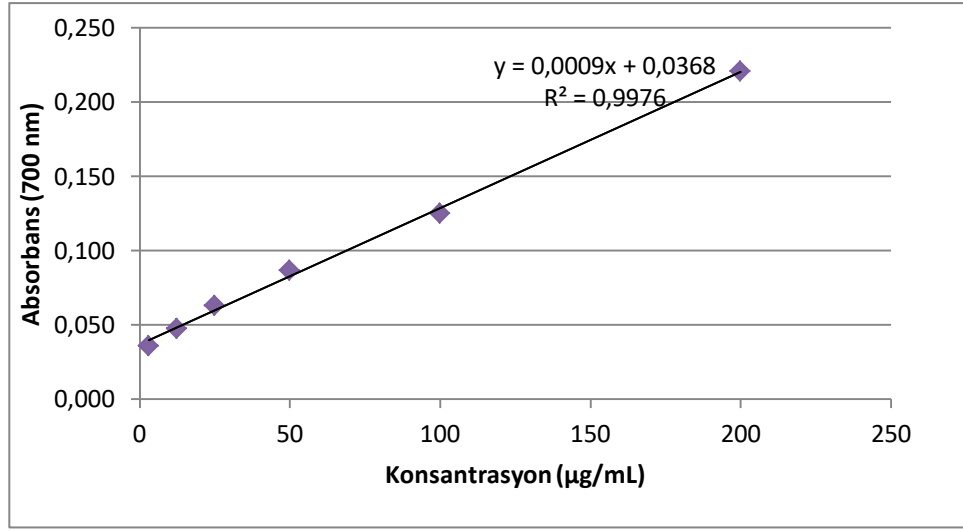
Şekil 4.7. Bitki ekstralarının ve askorbik asitin IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerlerinin karşılaştırılması

4.2.2. Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenol miktar tayini sonuçları

Toplam fenolik bileşik miktar tayininde reaktif olarak Folin-Ciocalteu reaktifi standart olarak ise en çok kullanılan gallik asit kullanılmıştır. Gallik asit standartının konsantrasyona karşı absorbans grafiği Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. Bu grafikten elde edilen eşitlik kullanılarak bitki ekstralarının toplam fenolik madde miktarları gallik asite eşdeğer olarak verilmiştir.



Görsel 4.11. Toplam fenolik madde testi sonrası mikropłaktaki çözeltilerin görünüşü

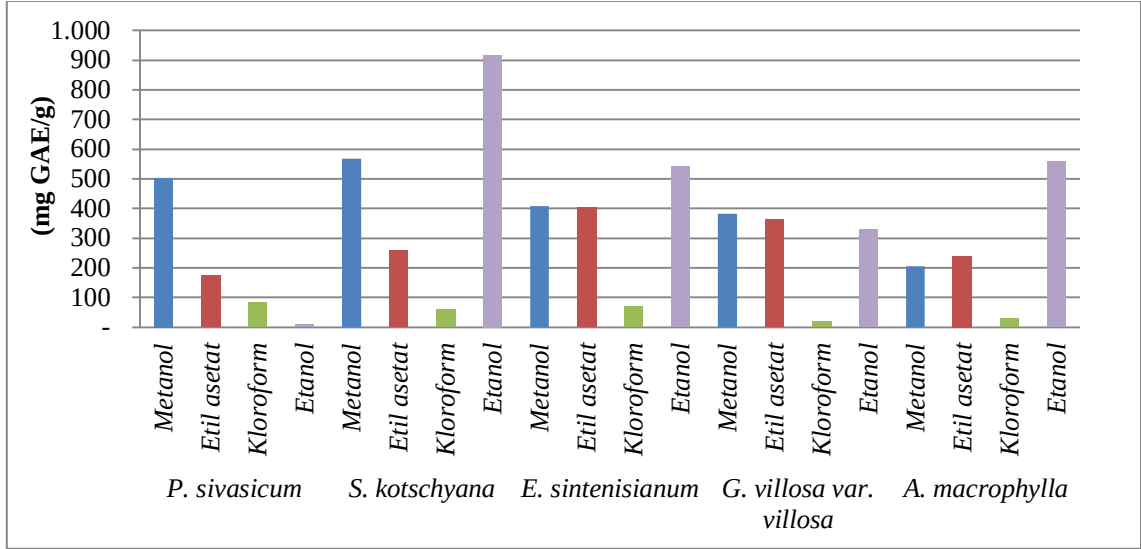


Şekil 4.8. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Gallik asit standart grafiğinden elde edilen doğrunun denklemi :

$$\text{Absorbans} = 0,0009 \times \text{toplam fenolik bileşik miktarı (GAE)} + 0,0368 \quad (4.1)$$

kullanılarak bitki ekstralarının 20 µg/mL konsantrasyondaki örneklerinin toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.9. ve Tablo 4.10.).



Şekil 4.9. Bitki ekstralarının gallik asite eşdeğer (mg/g) toplam fenolik madde miktarı

Tablo 4.10. Bitki ekstralarının 700 nm 'de gallik asite eşdeğer konsantrasyonları

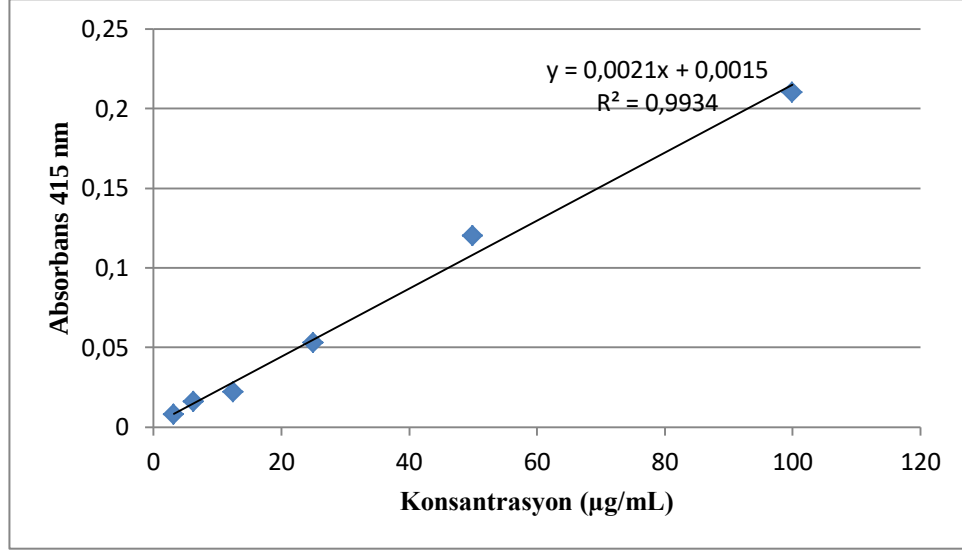
Bitki	Çözücü	Absorbans	GAE(mg/g)
<i>P. sivasicum</i>	Metanol	0,491	504,11
	Etil asetat	0,193	174,00
	Kloroform	0,113	84,11
	Etanol	0,046	9,67
<i>S. kotschyana</i>	Metanol	0,549	568,56
	Etil asetat	0,268	257,33
	Kloroform	0,092	60,78
	Etanol	0,864	918,56
<i>E. sintenisianum</i>	Metanol	0,405	408,56
	Etil asetat	0,400	404,00
	Kloroform	0,099	68,56
	Etanol	0,526	543,00
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Metanol	0,382	383,00
	Etil asetat	0,363	362,89
	Kloroform	0,054	18,56
	Etanol	0,332	327,44
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	0,221	204,11
	Etil asetat	0,253	240,67
	Kloroform	0,065	30,78
	Etanol	0,538	556,33

Bu sonuçlara göre incelenen bitki türleri içerisinde en fazla fenolik madde bulunduran ekstrenin *S. kotschyana* türünün etanollü ekstresi (918,56 mg GAE/g), en az fenolik madde miktarı olan ekstrenin ise *P. sivasicum* türünün etanollü ekstresi (9,67 mg GAE/g) olduğu belirlenmiştir. *S. kotschyana*, *E. sintenisianum* ve *A. macrophylla*'nın tüm ekstraları içerisinde en az fenolik madde içeren ekstralarının çözücü olarak kloroform kullanılan ekstralar olduğu görülmüştür.

4.2.3. Toplam flavonoit miktar tayini sonuçları

Toplam flavonoit miktar tayininde ekstraların flavonoit miktarı kersetin eşdeğeri (mg QE/g) olarak verilmiştir. Kersetin kalibrasyon grafiğinden (Şekil 4.10.)

yararlanılarak belirlenen flavonoit miktarları Tablo 4.11.'de ve Şekil 4.11.'de gösterilmiştir.



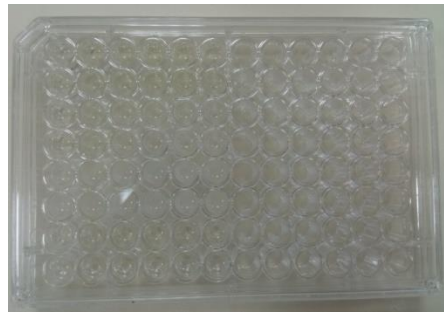
Şekil 4.10. Kersetin kalibrasyon grafiği

Kersetin standart grafiğinden elde edilen doğrunun denklemi :

$$\text{Absorbans} = 0,0021 \times \text{toplam flavonoit miktarı (QE)} + 0,0015 \quad (4.2)$$

kullanılarak bitki ekstralarının 50 µg/mL konsantrasyondaki örneklerinin toplam flavonoit miktarı kersetin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

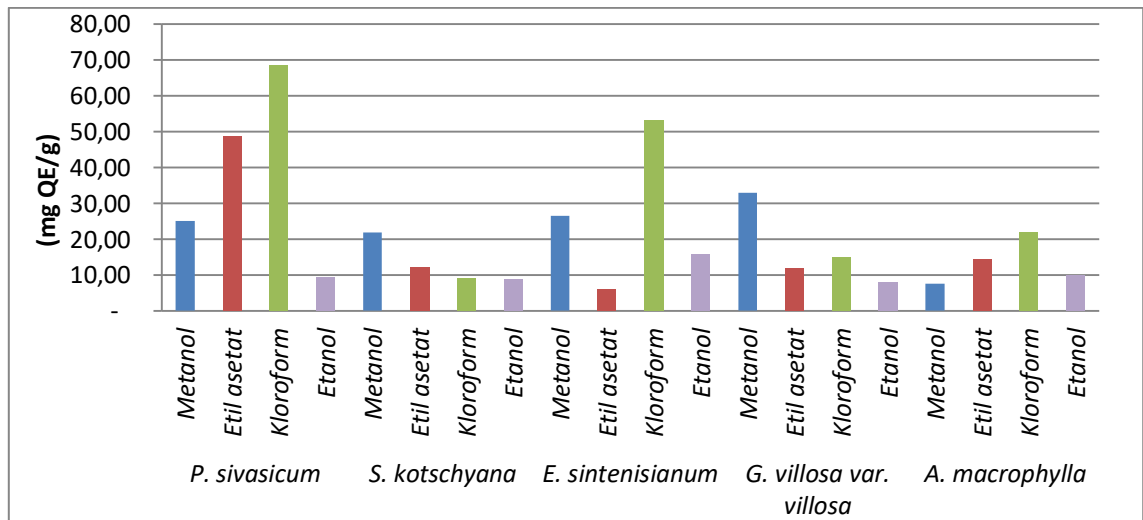
Elde edilen sonuçlara göre çalışmamızda kullanılan bitki ekstralarının toplam flavonoit miktarları kersetin eşdeğeri olarak 6,19 mg/g (*E. sintenisianum* etil asetatlı ekstresi) ile 68,57 mg/g (*P. sivasicum* kloroformlu ekstresi) aralığında değişmektedir. Genel olarak kloroformlu ekstraların flavonoit miktarları aynı bitkinin diğer çözücülerle hazırlanan ekstralarından daha yüksek bulunmuştur.



Görsel 4.12. Toplam flavonoit testi yapılan mikroploğun reaksiyon sonrası görünümü

Tablo 4.11. Bitki ekstrlerinin 415 nm ' de kersetine eşdeğer konsantrasyonları

Bitki	Çözücü	Absorbans	QE(mg/g)
<i>P. sivasicum</i>	Metanol	0,0540	25,00
	Etil asetat	0,1035	48,57
	Kloroform	0,1455	68,57
	Etanol	0,0210	9,29
<i>S. kotschyana</i>	Metanol	0,0475	21,90
	Etil asetat	0,0270	12,14
	Kloroform	0,0205	9,05
	Etanol	0,0200	8,81
<i>E. sintenisianum</i>	Metanol	0,0570	26,43
	Etil asetat	0,0145	6,19
	Kloroform	0,1135	53,33
	Etanol	0,0350	15,95
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Metanol	0,0705	32,86
	Etil asetat	0,0265	11,90
	Kloroform	0,0330	15,00
	Etanol	0,0180	7,86
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	0,0175	7,62
	Etil asetat	0,0320	14,52
	Kloroform	0,0475	21,90
	Etanol	0,0225	10,00

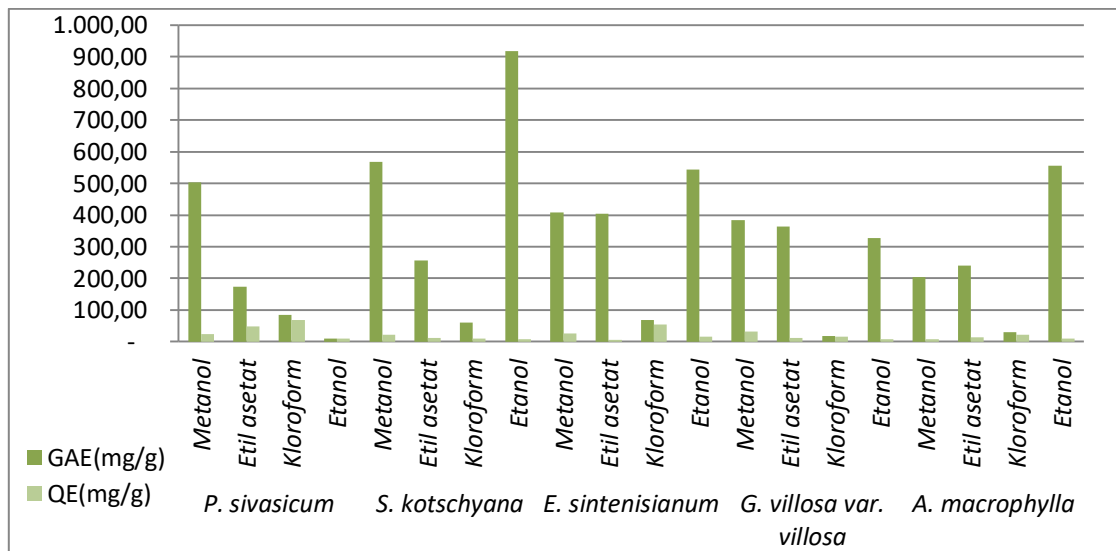


Şekil 4.11. Bitki ekstrlerinin kersetine eşdeğer (mg/g) toplam flavonoit miktarları

Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoit miktarları arasındaki karşılaştırmalar Tablo 4.12. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoit madde miktarları

Bitki	Çözücü	GAE (mg/g)	QE (mg/g)
<i>P. sivasicum</i>	Metanol	504,11	25,00
	Etil asetat	174,00	48,57
	Kloroform	84,11	68,57
	Etanol	9,67	9,29
<i>S. kotschyana</i>	Metanol	568,56	21,90
	Etil asetat	257,33	12,14
	Kloroform	60,78	9,05
	Etanol	918,56	8,81
<i>E. sintenisianum</i>	Metanol	408,56	26,43
	Etil asetat	404,00	6,19
	Kloroform	68,56	53,33
	Etanol	543,00	15,95
<i>G. villosa</i> var. <i>villosa</i>	Metanol	383,00	32,86
	Etil asetat	362,89	11,90
	Kloroform	18,56	15,00
	Etanol	327,44	7,86
<i>A. macrophylla</i>	Metanol	204,11	7,62
	Etil asetat	240,67	14,52
	Kloroform	30,78	21,90
	Etanol	556,33	10,00



Şekil 4.12. Bitki ekstrelerinin toplam fenolik madde ve flavonoit içeriklerinin karşılaştırılması

Buna göre *P. sivasicum* etanollü ekstresinin fenolik madde miktarının tamamına yakın bir kısmını (%96,07) flavonoidler oluşturmaktadır. Bu ekstre flavonoid miktarının fenolik maddeye oranla en yüksek olduğu ekstrelerdir. *S. kotschyana* etanollü ekstresi ise fenolik madde miktarına oranla flavonoid miktarı en düşük olan ekstrelerdir ve flavonoid miktarı fenolik madde miktarının %0,96'sını oluşturmaktadır.

5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Antimikrobiyal direncinin küresel ölçekte artması araştırmacıları alternatif antimikrobiyal tedaviler için yeni ve etkili stratejiler geliştirmeye zorlamıştır. Bunun sonucunda tıbbi bitkiler ve bileşenleri bu araştırmalar için en önemli odak noktalarından biri olmuştur. Çoklu ilaç direncine sahip mikroorganizmalar tedavinin etkinliğini önemli ölçüde azaltmaktadır. Antimikrobiyal ajanlar arasındaki kombinasyonlar bu tip mikroorganizmalara karşı umut verici olmuş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bitkiler sekonder metabolitleri ve bileşenlerinin sayıca fazlalığı, kompleks etki mekanizmaları ve çok yönlü tedavi edici özellikleri ile bu kombinasyonlar için yüksek bir terapötik potansiyel barındırmaktadır (Rai ve Kon, 2013).

Bu çalışmada Türkiye’de doğal olarak yetişen ve farklı illerden toplanan 3’ü endemik 5 bitki türünün (*P. sivasicum*, *S. kotschyana*, *E. sintenisianum*, *G. villosa* var. *villosa*, *A. macrophylla*) metanol, etanol, etil asetat ve kloroform kullanılarak hazırlanan ekstralarının antimikrobiyal etkinlikleri ve konsantrasyona bağlı aktivite düzeyleri incelenmiştir. İki adet Gram negatif basil (*K. pneumoniae*, *E. coli*), iki adet Gram pozitif kok (*S. aureus*, *E. faecalis*) ve bir adet Gram pozitif mantar (*C. albicans*) olmak üzere beş adet mikroorganizma suşu kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite tayini için disk difüzyon yöntemi ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan *P. sivasicum* türünün literatürde antimikrobiyal aktivite çalışmalarına rastlanılmamıştır. *P. cognatum* türünün eter, etanol ve sıcak su ekstraları ile yapılan bir çalışmada, bitkinin eter ve etanollü ekstraları *S. aureus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiş, fakat sulu ekstresi antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Yıldırım vd., 2003). *P. aviculare* türünün gövde ve yaprak ekstraları ile yapılan bir çalışmada içlerinde *E. coli* ve *S. aureus*’un da bulunduğu Gram negatif ve Gram pozitif çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel aktivite tespit edilmiş fakat *C. albicans*’a karşı antifungal etki görülmemiştir. Ekstrelerin MIC değerlerinin 1 mg/mL ile 20 mg/mL arasında değiştiği ve kloroformlu ekstraların su, etanol ve aseton ekstralarına göre daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Marraiki, 2010). Çalışmamızda *P. sivasicum* türünden elde edilen ekstraların hiçbirisi kullandığımız konsantrasyonlarda mikroorganizmalara karşı etki göstermemiştir. Disk difüzyon

yönteminde bu bitkiye ait ekstreler hiçbir mikroorganizmaya karşı inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

Çalışmamızda kullandığımız *S. kotschyana* türünün etanollü ekstresi Gram pozitif bakterilerden *E. faecalis*'e, Gram negatif bakterilerden *K. pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. MIC değerleri *E. faecalis* için 0,2 mg/mL, *K. pneumoniae* için 0,4 mg/mL olarak belirlenmiştir. *C. albicans*'a karşı ise etki göstermemiştir. Bitkinin diğer ekstrelerinde mikroorganizmaların hiçbirine karşı aktivite görülmemiştir. Etanollü ekstrede standart antibiyotiklere yakın bir aktivite görülmüştür. Vankomisin *E. faecalis*'e karşı 17,5 mm zon çapı oluştururken *S. kotschyana* etanollü ekstresi 15 mm zon çapı oluşturmuştur. Siprofloksasin *K. pneumoniae*'ye karşı 15 mm inhibisyon zonu oluştururken *S. kotschyana* etanollü ekstresi 12 mm zon çapı göstermiştir. Literatürde *S. kotschyana* ve diğer *Sphaerophysa* türleri ile yapılan herhangi bir antimikrobiyal aktivite çalışmasına rastlanılmamıştır.

G. villosa var. *villosa* türünün kuru toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrelerden sadece kloroformlu ekstre Gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus* suşuna karşı 8 mm'lik inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. 20 mm zon çapı oluşturan Vankomisine kıyasla oldukça düşük bir aktivite göstermiştir. MIC değeri saptanması için kullanılan mikrodilüsyon testinde en yüksek konsantrasyon olan 0,8 mg/mL'de bile mikroorganizma üremesini inhibe etmediği görülmüştür. Literatür araştırmalarında *G. villosa* türünün antimikrobiyal aktivite çalışmalarına rastlanılmamıştır. İran'dan toplanan 306 bitki türünün metanollü ekstrelerinin antimikrobiyal aktivite açısından araştırıldığı bir çalışmada *G. stipitata*'nın *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Fazly Bazzaz ve Haririzadeh, 2003). Filistin'den toplanan *G. chlorantha* türünün disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleri kullanılarak akne oluşumunu indükleyen bakterilerden *P. acnes*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* ve *K. pneumoniae* türlerine karşı düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Ali-Shtayeh vd., 2013).

Bu tez kapsamında *E. sintenianum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrelerden metanollü ekstre disk difüzyon yönteminde *E. faecalis* (7,5 mm), *E. coli* (12 mm) ve *C. albicans* (22 mm) suşlarına karşı inhibisyon göstermiştir. Bu türün etil asetatlı ekstresi ise *S. aureus* ve *K. pneumoniae* suşlarına sırasıyla 10 mm ve 9

mm'lik inhibisyon zonları oluşturmıştır. Disk difüzyon testinde *E. sintenisanum* bitkisi farklı ekstreleri ile kullandığımız beş mikroorganizma türüne de etki ederek çalışmamızda sayıca en çok mikroorganizma türüne karşı etki gördüğümüz bitki olup, metanollü ekstresi ise en çok mikroorganizmaya etki eden ekstre olmuştur. İnhibisyon zon çapları ve kullanılan çözücü türüne bakılmaksızın bir genelleme yapılacak olursa çalışmamızdaki etki spektrumu en geniş olan bitkinin *E. sintenisanum* olduğu görülmektedir. Ancak bakterilere karşı oluşturduğu tüm inhibisyon zonları kullanılan standart antibiyotiklerin oluşturduklarından daha düşüktür. *C. albicans*'a karşı ise pozitif kontrol Nistatin diskinden (15 mm) daha büyük zon çapı oluşturarak (22 mm) yüksek antifungal etkinlik göstermiştir. Aynı türün etanollü ve kloroformlu ekstrelerinde ise hiçbir mikroorganizmaya karşı etki görülmemiştir. MIC değerleri ise *E. faecalis* ve *E. coli*'ye karşı 0,4 mg/mL, *K. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı 0,8 mg/mL olarak tespit edilmiştir. *S. aureus*'a karşı MIC değeri 0,8 mg/mL konsantrasyonun üzerindedir. *Erysimum* bitkileri ile yapılan çalışmalar metiltiyoalkil, metilsülfonilalkil ve metilsülfonilalkil glikozinolatlarını bulundurdıklarını ortaya koymuştur (Daxenbichler vd., 1991). Glikozinolatlar Brassicaceae (Cruciferae) familyası bitkilerine özgü maddelerdendir ve önemli bazı etkileri arasında antimikrobiyal etkileri de vardır (Özay, 2015). Çalışmamızda Brassicaceae familyasından *E. sintenisanum* türünün antimikrobiyal aktivitesi açısından elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumluluk göstermektedir. *E. sintenisanum* türünün antimikrobiyal aktivitesine dair bir çalışma bulunmamaktadır. *E. perofskianum* türü antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada test edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin ve fitopatojenik mantarların çoğuna karşı orta derecede aktivite göstermiştir (Akhtar vd., 1986). Başka bir çalışmada *E. diffusum* türünün bazı insan patojenlerine karşı yüksek inhibitör (10-220 µg/mL) ve mikrobisidal (10-1175 µg/mL) aktivitesi gösterilmiştir (Radulovic vd., 2011).

Çalışmamızda incelenen *A. macrophylla* ekstrelerinden sadece metanollü ekstre *S. aureus* suşuna karşı 17,5 mm inhibisyon zonu oluşturarak Vankomisine (20 mm) yakın bir aktivite göstermiştir. Broth mikrodilüsyon testi sonucu MIC değeri 0,4 mg/mL olarak belirlenmiştir. *Alkanna* türlerinin naftakinon türevi bileşenlerinden olan alkanin ve şikonin geniş bir etki spektrumuna sahiptir ve bu etkilerden biri de antimikrobiyal etkidir (Assimopoulou vd., 2004). Çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii*, *E. coli*, *P.*

aeruginosa ve *S. aureus* suşlarına karşı *A. tinctoria* ekstrelerinin difüzyon metodu ile antimikrobiyal etkilerinin ve minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyonlarının araştırıldığı bir çalışmada Imipenem ile karşılaştırıldığında *S. aureus*'a karşı tüm ekstrelerde önemli düzeyde aktivite görülmüştür. Imipenem'e kıyasla *A. baumannii* ($10 \pm 0,3$ mm), *P. aeruginosa* ($12 \pm 0,5$ mm) ve *S. aureus* ($14 \pm 0,5$ mm)'a karşı en iyi etkinliği sulu ekstrenin gösterdiği belirlenmiştir (Khan vd., 2015). Bame ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada *A. orientalis* yaprak ve çiçek ekstresinin *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarının büyümelerini inhibe ettiği gösterilmiştir.

Antibakteriyel ajanlara karşı Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflerden daha duyarlı oldukları bilinmektedir. Bu durum Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki farklılıklardan kaynaklanır. Gram negatiflerdeki LPS tabakası antibiyotiklerin içeri alınmasında bir bariyer görevi görür ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarını azaltır (Strelkauskas vd., 2018). 5 bitki türünden farklı çözücüler kullanarak hazırladığımız toplam 20 ekstrenin 5 tanesi Gram pozitif bakterilere etkili olurken Gram negatif bakterilere karşı 3 ekstrede etki görülmüştür ve bunlardan ikisi aynı zamanda Gram pozitiflere de etkili bulunmuştur. Gram negatiflere etkili bulunan 3 ekstreten ikisi polar protik solventlerden olan etanol ve metanolün kullanıldığı ekstrelerdir. Polar protik çözücülerin farklı dielektrik sabitine sahip olanlarının hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde antibakteriyel aktivitenin artmasına olan etkisinin incelenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir (Berk vd., 2011; Özay, 2015). Çalışmamızdaki bitkilerden *S. kotschyana*, *E. sintenisianum*, *G. villosa* var. *villosa* türleri Gram pozitif bakterilerden en az birine etkili olmuş ancak Gram negatif bakterilere sadece *E. sintenisianum* ve *S. kotschyana*'da etki görülmüştür.

Yapılan çalışmalar bitki ekstrelerinin antibakteriyel etkinliklerinin antifungal etkinliklerine göre daha güçlü olduğunu göstermektedir (Dığrak vd., 1999; Ünal, 2006; Zoral ve Turgay, 2014; Kara vd., 2016). Ökaryotik hücre membranındaki sterollerin bu durum üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bakteri hücreleri sterol taşımazken mantar hücrelerinin inhibisyonu için antifungal maddelerin hücre membranında bulunan sterollere bağlanması gerekmektedir (Ali-Shtayeh vd., 1998). Çalışmamızda da 20 ekstreten sadece bir tanesinde *C. albicans*'a karşı aktivite görülürken, bakteri türlerine karşı etkili olan ekstre sayısı daha fazladır.

Serbest radikallere bağlı olarak oksidatif stresin kanser, diyabet, katarakt, romatoid artrit ve yaşlanma gibi çeşitli inflamatuvar ve dejeneratif hastalıklara neden olduğu son yıllarda yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Prior ve Cao, 1999). Oksidatif reaksiyonlar lipitler, nükleik asitler, proteinler gibi vcttaki önemli bileşiklerin hasarına yol açmaktadır (Poli vd., 2004). UV ışınları, kimyasal maddeler, evre kirliliği ya da çeşitli endojen etmenlere bağlı olarak oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak ve oksidatif reaksiyonlarını önlemek için bu radikaller ile endojen ve eksojen antioksidan sistem arasındaki dengenin korunması canlılar için önemlidir (Akkuş, 1995; Prior ve Cao, 1999). Organizma tarafından üretilen endojen antioksidanlar zamanla yetersiz kalabilmekte ve yaşlandıkça organizmadaki üretimini azalmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Bu nedenle eksojen antioksidanlara gereksinim vardır ve doğal antioksidan kaynaklarının belirlenmesi ile ilgili araştırmalar önem taşımaktadır.

Türkiye’de doğal olarak yetişen bitki türlerinin antioksidan olarak kullanılabilme potansiyellerini belirlemek amacıyla bu çalışmada *P. sivasicum*, *S. kotschyana*, *E. sintenisianum*, *G. villosa* var. *villosa*, *A. macrophylla* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından metanol, etanol, etil asetat ve kloroform ile hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Ekstraksiyon işlemlerinde farklı polaritelerde çözücüler kullanılarak farklı aktif bileşen gruplarının bitkiden kazanımı amaçlanmıştır.

En yaygın kullanılan antioksidan kapasite tayin yöntemlerinden biri DPPH radikali süpürücü etki tayinidir. Bu yöntem hızlı sonuç veren, basit, kullanışlı ve ucuz bir yöntemdir (Molyneux, 2004). DPPH daha çok fenolik yapıdaki antioksidan maddelerin aktivitelerini incelemek için kullanılan bir azot radikalidir (Frankel ve Meyer, 2000). DPPH zeltisi koyu mor renkli bir çözelti olup antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini vermesi sonucu indirgendiğinde sarı renkli hidrazine dönüşür ve 517 nm’de absorbensında düşme meydana gelir (Huang vd., 2005).

Çalışmamızda 5 bitki türüne ait toplam 20 ekstre DPPH radikalini süpürücü etki açısından taranmıştır. Antioksidan kapasiteleri standart madde askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Askorbik asitin IC₅₀ değeri 20,57 g/mL olarak bulunmuştur. Kullandığımız bitki ekstrelerinin IC₅₀ değerleri ise en düşük 2,1511 g/mL (*G. villosa* var. *villosa* etil asetatlı ekstresi) ile en yüksek 105,7608 g/mL (*S. kotschyana* etanollü ekstresi) arasında değişen değerler almışlardır. DPPH serbest radikal süpürücü kapasite

taininde radikalın yarısının süpürüldüğünü gösteren IC₅₀ değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksekliğini gösterir. Çalışmamızda araştırılan bitki ekstrelerinden *P. sivasicum* metanollü ve etil asetatlı ekstreleri, *G. villosa* var. *villosa* etil asetatlı ekstresi ve *A. macrophylla* etil asetatlı ekstresi için askorbik asitten düşük IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Bu ekstrelerin DPPH radikal süpürücü kapasitelerinin askorbik asite kıyasla daha yüksek oldukları söylenebilir. *S. kotschyana* ve *E. sintenisianum* bitkilerinin hiçbir ekstresi askorbik asitten yüksek aktivite göstermemiştir.

Fenolik maddeler ve flavonoidlerin bitkilerin antioksidan özellikleriyle ilgisi olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda yer alan tüm ekstrelerin toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları tayin edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı literatürde en sık kullanılan yöntem olan Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki ekstrelerinin fenolik madde miktarı standart bir fenolik madde olan gallik asite eşdeğer olarak verilmiştir. Yöntemin basamakları gallik asite uygulanarak elde edilen kalibrasyon eğrisi üzerinden ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir. Buna göre toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstre) olarak en yüksek *S. kotschyana* türünün etanollü ekstresi (918,56 mg GAE/g), en düşük ise *P. sivasicum* türünün etanollü ekstresi (9,67 mg GAE/g) bulunmuştur.

Fenolik yapılarda bulunan -OH gruplarının polaritesi yüksektir. Dolayısıyla yüksek polaritedeki çözücülerde daha fazla çözünürler (İşbilir, 2008). Çalışmamızda kullanılan çözücülerin polariteleri metanol > etanol > etil asetat > kloroform şeklindedir. Elde ettiğimiz sonuçlar da bu doğrultuda olup tüm bitkilerde metanol ve etanollü ekstrelerin diğer ekstrele göre fenolik madde içerikleri daha yüksek bulunmuştur.

Bu tez kapsamında incelenen bitki ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarları alüminyum kolorimetrik metodu kullanılarak kersetine eşdeğer (mg QE/g) olarak tayin edilmiştir. *E. sintenisianum* etil asetatlı ekstresi 6,19 mg QE/g ile en düşük flavonoid miktarına sahipken, *P. sivasicum* kloroformlu ekstresi 68,57 mg QE/g ile en yüksek flavonoid miktarına sahip ekstre olarak belirlenmiştir.

Literatürde *A. macrophylla* türü ile yapılmış antioksidan aktivite çalışmasına rastlanılmamıştır. *Alkanna* cinsine ait türlerden *A. bracteosa*, *A. frigida*, *A. orientalis* ve

A. tricophila bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada tüm türlerin antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan aktivitenin kullanılan çözücülere göre bütanol > etil asetat > hekzan > kloroform > su şeklinde olduğu görülmüştür. Bütanol ekstralarında de ($IC_{50}=0,17-0,20$ mg/mL) kersetine göre ($IC_{50}=0,30$ mg/mL) daha düşük IC_{50} değerleri görülmüştür (Salimikia vd., 2015). Çalışmamızda incelediğimiz *A. macrophylla* türünde ise DPPH radikali süpürücü etki çözücülere göre etil asetat > kloroform > metanol > etanol şeklindedir. Bitkinin tüm ekstraları DPPH radikali süpürücü etki göstermesine rağmen sadece etil asetatlı ekstre ($5,30$ µg/mL) standart madde askorbik asitten ($20,57$ µg/mL) daha düşük IC_{50} değeri göstermiştir. Bu türe ait ekstraların fenolik madde miktarları en düşük (kloroformlu ekstre) $30,78$ mg GAE/g ile en yüksek (etanollü ekstre) $556,33$ mg GAE/g arasındadır. Ekstrelerin toplam flavonoid miktarları ise $7,62$ mg QE/g ile $21,90$ mg QE/g arasında değişmektedir.

S. kotschyana bitkisinin antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarı daha önce araştırılmış ve BHA ve Troloks standart maddelerine göre (%80-90) DPPH radikali süpürücü etkisi yaprak ve meyvede (%20 ve %10) çok düşük bulunmuştur. Total fenolik bileşiklerinin ise yaprak-gövdede $0,357$ meyvede ise $0,006$ mg Gallik asite eşdeğer/kg bitki olarak bulunmuştur (Güzel, 2013). Çalışmamızda da benzer sonuçlar görülmüş olup *S. kotschyana* ekstralarının hiçbirinin DPPH radikali süpürücü etkisi askorbik asitten yüksek bulunmamıştır. $36,25$ µg/mL IC_{50} değeri ile askorbik asite en yakın aktivite gösteren ekstre metanollü ekstre olmuştur. Ekstrelerin fenolik madde içerikleri ise $60,78-918,56$ mg GAE/g arasında değişmektedir. Etanollü ekstrenin fenolik madde miktarı en yüksek olup onu sırasıyla metanol, etil asetat ve kloroformlu ekstralar izlemektedir. Toplam flavonoid miktarı en yüksek metanollü ekstrede ($21,90$ mg QE/g), en düşük ise etanollü ekstrede ($8,81$ mg QE/g) tespit edilmiştir.

G. villosa türü ile daha önce yapılmış bir antioksidan aktivite çalışmasına rastlanılmamıştır. *G. fibrosa* ile yapılan bir çalışmada β -karoten-linolenik asit yöntemi ile yaprak ekstralarının antioksidan aktivitesi araştırılmıştır ve metanollü ekstraların total antioksidan kapasitesi etanollü ekstralardan daha yüksek bulunmuştur. DPPH radikali süpürücü etki tayininde metanollü ve etanollü ekstraların IC_{50} değerleri sırasıyla %61,16 ve %37,32 olarak bulunmuştur. Metanollü ekstraların total fenolik madde miktarı $60,86$ mg/100 g, etanollü ekstrenin ise $26,57$ mg/100 g olarak belirtilmiştir.

(Mammadov vd., 2011). *G. villosa* var. *villosa* ile yaptığımız çalışmamızda sadece etil asetatlı ekstre (2,15 µg/mL) askorbik asitten daha yüksek DPPH radikali süpürücü etki göstermiştir. Diğer ekstrelerin antioksidan kapasitesi kloroform > metanol > etanol şeklindedir. *G. fibrosa* ile benzer şekilde metanollü ekstre etanollü ekstreden daha yüksek aktivite göstermiştir. Total fenolik içerikleri tüm ekstrelerde birbirine yakın iken (327-383 mg GAE/g) kloroformlu ekstrede (18, 56 mg GAE/g) oldukça düşüktür. Metanollü ekstre 32,86 mg QE/g olarak en yüksek flavonoit miktarına sahiptir. Flavonoit miktarının en az olduğu ekstre 7,86 mg QE/g ile etanollü ekstredir.

E. sintenisianum ile daha önce antioksidan aktivite çalışması yapılmamıştır. *E. kotschyanum* Gray. türünün serbest radikal süpürücü etkisinin DPPH metodu ile araştırıldığı bir çalışmada bitkinin etanol ekstresinin serbest radikal süpürücü aktivitesi %89,39, aseton ekstresinin serbest radikal süpürücü aktivitesi %83,78, su ekstresinin serbest radikal süpürücü aktivitesi %57,66 şeklinde gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarı *E. kotschyanum*'un aseton ekstrelerinde 4.883±0,47 mg GAE/g, *E. kotschyanum* etanol ekstrelerinde 3.798±0,29 mg GAE/g olarak görülmüştür. Flavonoit bileşik içerikleri etanol ekstrelerinde 93.322±1,57 mg QE/g olarak, su ekstrelerinde ise 31.73±0,90 mg QE/g olarak belirlenmiştir (Kılınçarslan, 2016). Bu çalışma ile DPPH radikali süpürücü aktivitesi araştırılan *E. sintenisianum* ekstrelerinin hiçbirisi askorbik asitten daha düşük IC₅₀ değeri göstermemiştir. Ancak etanol ekstresi (86,33 µg/mL) dışındaki tüm ekstreler 25,47-37,25 µg/mL arasında IC₅₀ değerleri ile askorbik asite yakın aktivite göstermişlerdir. Kloroformlu ekstre 68,56 mg GAE/g ile en düşük fenolik madde miktarına sahip olmasına rağmen flavonoit miktarı en yüksek ekstredir (53,33 mg QE/g). Antioksidan aktivitesinde flavonoit miktarının önemli düzeyde etkili olduğu söylenebilir. En düşük flavonoit miktarı ise etil asetatlı ekstrede görülmüştür (6,19 mg QE/g). Diğer ekstrelerin total fenolik madde miktarları ise 404-543 mg GAE/g arasında olup en yüksek miktar etanollü ekstrededir.

Polygonum türleri içerisinde en çok çalışma yapılan tür olan *P. cognatum* türünün DPPH radikali süpürücü aktivitesi su ekstresinde %50, etanol ekstresinde %12 olarak bulunmuştur, eter ekstresinde aktivite gözlenmemiştir. Su, etanol ve eter ekstrelerinin 10 µg/mL'deki fenolik madde konsantrasyonları sırasıyla 0,48, 0,50 ve 0,01 µg/mL gallik asit eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Yıldırım vd., 2013). *P.sivasicum* ile yaptığımız çalışmada metanollü ve etil asetatlı ekstreler askorbik asite göre daha düşük IC₅₀

değerleri ile (13,78 ve 18,08 µg/mL) yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Etanollü ekstre de askorbik asite yakın (28,69 µg/mL) aktivite göstermesine rağmen kloroformlu ekstrenin IC₅₀ değeri askorbik asite göre yüksektir (81,64 µg/mL). En yüksek fenolik madde miktarı metanollü ekstrede görülmüş olup diğer ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları çözücüye göre sırasıyla etil asetat > kloroform > etanol şeklindedir. Etanollü ekstrenin flavonoit miktarı fenolik madde miktarına oranla yüksektir. Kersetin eşdeğeri olarak en yüksek flavonoit miktarı kloroformlu ekstrede (68,57 mg QE /g).

Çevresel faktörler ve stres koşulları bitkilerde fenil propanoit metabolizmasında ve fenolik bileşik miktarlarında ve antioksidan aktivitelerinde artışa neden olmaktadır (Tewari vd., 2006; Quan vd., 2008). Ayrıca bileşiğin yapısı ile antioksidan kapasitesi yakından ilişkilidir; fenolik bileşiklerde OH grubu sayısı, flavonoitlerde B halkasının 5-OH, 3-OH ve 4-OH grupları olması antioksidan aktivite üzerinde etkilidir (Çimen, 1999).

Antioksidan kapasite ölçümleri genel olarak örnekte bulunan heterojen antioksidan karışımının kapasite ve miktarını verdiğinden her bir bileşene ait antioksidan kapasitesini belirlemez (MacDonald-Wicks, 2006). İncelenen örneklerdeki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği de uygulanan farklı antioksidan kapasite testleri arasında doğrusal ilişki olmasını engelleyebilir. Literatürde de elde edilen sonuçlar göstermektedir ki antioksidan kapasite kullanılan yöntemle göre değişiklik gösterebilmektedir ve bitki ekstralarının total fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasiteleri arasında doğrusallık gözlenmeyebilir (Zoral ve Turgay, 2014). Ayrıca incelenen örneğin antioksidan kapasitesi reaksiyonların hız sabitleri de farklı olduğundan kullanılan oksidan maddelere göre de değişkenlik göstermektedir (Ghiselli vd., 2000). Analizin yapıldığı ortam koşulları da test sonuçlarını büyük oranda etkilemektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda incelenen bitkilerin içerisinde antimikrobiyal özelliğe sahip bitkilerin bulunduğu ve bu bitkilerden özellikle *E. sintenisianum*'un geniş bir etki spektrumu gösterdiği tespit edilmiştir. Bu türler ile ileride yapılacak çalışmalarla antimikrobiyal etkilerinin mekanizmaları aydınlatılabilir, yeni antimikrobiyal ajanlar geliştirilerek günümüzde önemli bir sorun olan çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı doğal antimikrobiyaller veya kombinasyonları oluşturulabilir. Bitkilerin ve onların bileşenlerinin antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılması da

mikroorganizmaların antimikrobiyal direncini engelleyebilir ve duyarlılıklarını ve dolayısıyla tedavide başarıyı artırabilir.

Çalışmamızda incelen bitki türlerinin hepsinin antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm ekstrelerin toplam fenolik madde ve toplam flavonoit miktarları da belirlenmiştir. Özellikle *P. sivasicum*, *G. villosa* var. *villosa* ve *A. macrophylla* bitkilerinin ekstralarında standart madde olarak kullanılan askorbik asite kıyasla yüksek serbest radikal süpürücü aktivitesi belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler incelediğimiz bitkilerin farmasötik açıdan antioksidan olarak kullanılabilme potansiyellerini ortaya koymaktadır ve daha ayrıntılı araştırmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Acworth, I. N, Bailey, B. (1997). Reactive Oxygen Species. In: The handbook of oxidative metabolism (p. 1-1,4-4) Massachusetts: ESA Inc.
- Afzal, M., Muhammad, N. (1983). Shikonin β,β -dimethylacrylate: A component of *Alkanna hirsutissima*. *Agric. Biol. Chem.*, 47(2), 411-412.
- Akhtar, K. A., Bokadia, M. M., Mehta, B. K. Batra, K. A. (1986). Chemical characterization and antimicrobial activity of some seed oils of Cruciferae family. *Grasas. Aceites.*, 148-151.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları.
- Ali-Shtayeh, M. S., Al-Assali, A. A., Jamous, R. M. (2013). Antimicrobial activity of Palestinian medicinal plants against acne-inducing bacteria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7(21), 2560-2573.
- Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, M. R., Faidi, Y. R., Salem, K., Al-Nuri, M. A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J. Ethnopharm.*, 60, 265-271.
- Al-Mustafa, A., Al-Thunibat, O. (2008). Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak. J. Biol. Sci.* 11(3), 351-358.
- Apak, R., Kubilay, G., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, E. S., Bektaşoğlu, B., Berker, I. K., Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Mol.* 12, 1496-1517.
- Appelt, C., Schrey, A. K., Soderhall, J. A., Schmieder, P. (2007). Design of antimicrobial compounds based on peptide structures. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 2334-2337.
- Arias, C. A., Contreras, G. A., Murray, B. E. (2010). Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clin. Microbiol. Infect.*, 16(6), 555-562.
- Armstrong, R. N. (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem. Res. Toxicol.*, 10(1), 2-18.

- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 75, 199-212.
- Assimopoulou, A. N., Boskou, D., Papageorgiou, V. P. (2004). Antioxidant activities of alkannin, shikonin and *Alkanna tinctoria* root extracts in oil substrates, *Food Chem.*, 87, 433–438.
- Aydemir, Ş., Çöplü, N., Gülay, Z., Gür, D., Hasdemir, U., Karahan, Z., C., Karatuna, O., Kayacan, Z., Ç., Söyletir, G. (2016). Antibiyotik duyarlılık testleri, EUCAST: Uygulama, yorum ve uzman kuralları, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi*, Gür, D. (ed.) içinde sayı 46, (s. 2-10), İstanbul: Logos Yayıncılık.
- Aytaç, Z., Ekim, T., (1996). *Sphaerophysa kotschyana* Boiss. Fabaceae/Leguminosae (Baklagiller), *Karaca Arbor. Mag.*, 3(3), 89-91.
- Babbs, C. F. (1992). Oxygen radicals in ulcerative colitis. *Free Radic. Biol. Med.*, 13, 169-181.
- Bacanlı, M., Taner, G., Başaran, A. A., Başaran, N. (2012). Bitkisel kaynaklı fenolik yapıdaki bileşikler ve sağlığa yararlı etkileri, *Pharm. Sci.* 1, 83-94.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.* 46(2), 446-475.
- Bakonyi, T., Radak, Z. (2004). High altitude and free radicals. *J. Sports Sci. Med.*, 3, 64-69.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191-203.
- Baltzer, S. A., Brown, M. H. (2011). Antimicrobial peptides promising alternatives to conventional antibiotics. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 20, 228–235.
- Bame, J. R., Graf, T. N., Junio, H. A., Bussey, R. O., Jarmusch, S. A., El-Elmat, T., Falkinham, J.O., Oberlies, N. H., Cech, R. A., Cech, N. B. (2013). Sarothrin from *Alkanna orientalis* is an antimicrobial agent and efflux pump inhibitor. *Planta Med.*, 79(5), 327-329.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45, 493-96.
- Baykal, H. (2015). Başhemşin (Çamlıhemşin/Rize)'in florası, fitososyolojisi ve etnobotanik özellikleri. (Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi).

- Baysal, T., Ersus, S. (1999). Karotenoitler ve insan sağlığı. *Gıda*. 24(3), 177-185.
- Baytop, T. (1999). Therapy with medicinal plants (Past and Present), 2nd Edition, Istanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.
- Bektaş, E., Kaltalıoğlu, K., Şahin, H., Türkmen, Z., Kandemir, A. (2018). Analysis of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial properties of some endemic medicinal plants. *IJSM.*, 5(2), 75-86.
- Belgemen, T., Akar, N. (2004). Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mecmuası*, 57, 161-166.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S. (2011). Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Inula oculus-christi*, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 5(14), 1695-1702.
- Bilgehan, H. (2004). Gram Olumlu Koklar, Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 4. Baskı. İzmir: Fakólter Kitabevi Barış Yayınları, 31, 495-523.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Boiss., Diagn. ser. (1852). 1(11): 120. In: Davis PH ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 6 Edinburgh: Edinburgh University Press, 414–434.
- Boiss.. Fl. Or. (1872). 2: 197. In: Davis PH ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 3 Edinburgh: Edinburgh University Press, 44-46.
- Bradshaw, J. (2003). Cationic antimicrobial peptides: issues for potential clinical use. *BioDrugs.*, 17, 233–240.
- Brand-Williams, W., Cavalier, M. E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.*, 28(1), 25-30.
- Byung, P. Y., (1994). Celular defenses against damage from reactive species. *Physiol Rev.*, 74(1), 139-172.
- Calderone, R. A. (2002). Taxonomy and biology of *Candida*. In: Calderone, R. A., (ed.) *Candida and Candidiasis*. 1st ed. Washington DC: Am. Soc. Microbiol. Press, 15-27.
- Calo, J. R., Crandall, P.G., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control.*, 54, 111-119.

- Cammue, B. P. A., De Bolle, M. F. C., Terras, F. R. G., Proost, P., van Damme, J., Rees, S. B., Vanderleyden, J., Broekaert, W. F. (1992). Isolation and characterization of a novel class of plant antimicrobial peptides from *Mirabilis jalapa* seeds. *J. Biol. Chem.*, 67, 2228-2233.
- Cansaran, A., Akçin Ergen, Ö., Kandemir, N. (2007). A study on the morphology, anatomy and autecology of *Erysimum amasianum* Hausskn. & Bornm. (Brassicaceae) distributed in Central Black Sea Region (Amasya-Turkey), *IJST.*, 2(1), 13-24.
- Caparelli, K. F., Peruzzi, L., Cesca, G. (2006). A comparative analysis of embryo sac development in three closely-related *Gagea* species (Liliaceae), with some considerations on their reproductive strategies. *Plant Biosyst.*, 140(2), 115-122.
- Carr, A. C., Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69(6), 1086-1107.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M. (2004). Meyve ve sebzelerin bileşimi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1 içinde, (s.1-188). Cemeroğlu B, (editör). Ankara: Başkent Klîşe Matbaacılık.
- Chamberlain, 1970. In: Davis PH ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands , Vol. 3 Edinburgh: Edinburgh University Press, 44-46.
- Chamorro, C., Boerman, M. A., Arnusch, C. J., Breukink, E., Pieters, R. J. (2012). Enhancing membrane disruption by targeting and multivalent presentation of antimicrobial peptides. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1818, 2171–2174.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.*, 10, 178-182.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sci.*, 75, 2539–2549.
- Cheesman, L., Nair, J. J., Van Staden, J. (2012). Antibacterial activity of crinine alkaloids from *Boophone disticha* (Amaryllidaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 140(2), 405-408.

- Chen, X., Yang, L., Oppenheim, J. J., Howard, O. M. Z. (2002). Cellular pharmacology studies of shikonin derivatives. *Phytother. Res.*, 16(3), 199-209.
- Chenna, D. H. P., Doctorovich, B. V., Baggi, F. R., Garland, T. M., Burton, G., (2001). Preparation and cytotoxicity toward cancer cells of mono (arylimino) derivates of β -lapachone. *J. Med. Chem.*, 44, 2486-2489.
- Clark, A. M. (1996). Natural products as a resource for new drugs. *Pharm. Res.*, 13 (8), 1133-44.
- Clarkson, M. P. (1995). Antioxidants and physical performance. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 131-141.
- CLSI, (2010). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline-second edition. M45-A2, 30(18), Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI, (2012). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-eleventh edition. M02-A11, 32(1), Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coode, M. J. E., Cullen, J. (1967). In: Davis, P. H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 2, 265-270. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Cotelle, N., Bernier, J. L., Henichart, J. P., (1992). Scavenger and antioxidant properties of ten synthetic flavones. *Free Radic. Biol. Med.*, 13, 211-9.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (4), 564-582.
- Craig, W. A. (1993). Qualitative susceptibility tests versus qualitative MIC tests. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 16,231-236.
- Crawford, D. R., Suzuki, T., Davies, K. J. A. (2000). Redox regulation of gene expression. Sen, C. K., Sies, H., Baeuerle, P. A. (Editörler). Antioxidant and redox regulation of genes içinde. (s.21-45). San Diego: Academic Press.
- Cullen, J. (1965). Davis, P. H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 1, 471. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Çimen, M. B. Y. (1999). Flavonoitler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19, 296-304.

- Darley-USmar, V., Halliwell, B. (1996). Blood radicals. Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharm. Res.*, 13(5), 649-662.
- Davis, P. H. (1965). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 1, 248-260. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (1967). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 2, 265-270. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 3, 1-627. Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (1978). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 6, 237-434. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Davis, P. H. (1984). Flora of Turkey and the east Aegean Islands. Vol 8, 67-327. Edinburg: University Press.
- Daxenbichler, M. E., Spencer, G. F., Carlson, D. G., Rose, G. B., Brinker, A. M., Powell, R. G. (1991). Glucosinolate composition of seeds from 297 species of wild plants, *Phytochemistry*, 30, 2623–2638.
- Dembinska-Kiec, A. (2005). Carotenoids: risk or benefit for health. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1740, 93-94.
- Denyer, S. P., Hugo, W. B., (1991). Mechanisms of antibacterial action-A summary. Denyer, S. P., Hugo, W. B. (editörler) *Mechanisms of Action of Chemical Biocides içinde* (s. 331-334), Blackwell: Oxford.
- Dıǧrak, M., İlçim, A., Alma, M. H. (1999). Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytother. Res.*, 13, 584-587.
- Diplock, A. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series*, 59, 16-21. Belgium: ILSI Press.
- Disilvestro, R. A. (2001). Flavonoids as antioxidants. Wildman, R. E. C. (editör). Handbook of nutraceuticals and functional foods içinde (s, 127-138). USA: CRC Press.
- Duby, (1828). Bot. Gali. 1:467. In: Davis, P. H. (1984). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 8, 326. Edinburg: University Press.

- Duran, A., Martin, E., Öztürk, M., Çetin, Ö., Dinç, M., Özdemir, A. (2010). Morphological, karyological and ecological features of halophytic endemic *Sphaerophysa kotschyana* Boiss. (Fabaceae) in Turkey. *Biodivers. Conserv.*, 3(2), 163-169.
- DuwYejua, M., Zeitlin, I. J., Waterman, P. G., Gray, A. I. (1994). Antiinflammatory activity of *Polygonum bistorta*, *Guaiacum officinale* and *Hamamelis virginiana* in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, 46, 286-290.
- Dündar, V., Dündar, D. Ö. (2002). Stafilokok infeksiyonları, infeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, (s.1507-1516), Topçu, W. A., Söyletir, G., Doğanay, M. (eds), Nobel Tıp Kitabevleri.
- Dykes, L., Rooney, L. W. (2007). Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World.*, 52(3), 105–111.
- El Sohly, H. N., El-Feraly, F. S., Joshi, A. S., Walker, L. A. (1997). Antiviral flavonoids from *Alkanna orientalis*, *Planta Med.*, 63(4), 384.
- Ener, B. (2008). *Candida* enfeksiyonlarında epidemiyoloji ve laboratuvar tanı. *ANKEM Derg.*, 22(2), 264-269.
- Erbay, M. Ş., Sarı, A. (2017). Plants used in traditional treatment against hemorrhoids in Turkey. *Marmara Pharm. J.*, 110-132.
- Erdoğan, A. E., Everest, A. (2013). Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (2), 27-32.
- EUCAST, (2013). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, www.eucast.org. Version 1.0
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedı, F. M., El-Baroty, G. S. A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, 52(9), 665-667.
- Farnsworth, N. R., Soejarto, D. D. (1991). Global importance of medicinal plants. Akerele, O., Heywood, V., Synge, H. (Editörler), *Conservation of Medicinal Plants* içinde (s. 26). Cambridge: Cambridge University Press.
- Fazly Bazzaz, B. S., Haririzadeh, G. (2003). Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. *Pharm. Biol.*, 41(8), 573–583.

- Fazly Bazzaz, B. S., Haririzadeh, G., Imami, S. A., Rashed, M. H. (1997). Survey of Iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins [Khorasan Province], *Int. j. pharmacogn.*, 35(1), 17-30.
- Feinbrun-Dothan, N. (1978). Flora Palaestina, *Jerusalem Academic Press*, 3, 50-92.
- Feredoon, S., Janitha, P. K., Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 32(1), 67-103.
- Fisher, K., Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiol.*, 155, 1749-1757.
- Frankel, E. N., Meyer, A. S. (2000). The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1925-1941.
- French, G. L. (2010). The continuing crisis in antibiotic resistance. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 36, 3-7.
- Fridovich, I. (1978). The biology of oxygen radicals. *Sci.*, 8, 201(4359), 875-80.
- Fujii, N., Yamashita, Y., Arima, Y., Nagashima, M., Nakano, H. (1992). Induction of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by the plant naphthoquinones plumbagin and shikonin. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 36, 2589-2594.
- Furuta, T., Fukuyama, Y., Asakawa, Y. (1986). Polygonolide, anisocoumarin from *P. hydropiper* possessing anti-inflammatory activity. *Phytochemistry.*, 25(2), 517-520.
- Gaddipati, J. P., Mani, H., Shefali, Raj, K., Mathad, V. T., Bhaduri, A. P., Maheshwari, R. K. (2000). Inhibition of growth and regulation of IGF's and VEGH in human prostate cancer cell lines by shikonin analogue 93/637 (SA). *Anticancer Res.*, 20(4), 2547-2552.
- Gendy, A. A., El-Gindi, O. D., Hafez Al, S., Ateya, A. M. (2010). Glucosinolates, volatile constituents and biological activities of *Erysimum corinthium* Boiss. (Brassicaceae), *Food Chem.*, 118, 519–524.
- Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Review. *Cell Signal.*, 19, 1807–1819.
- Gerschman, K., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., Fenn, W. O. (1954). Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Sci.*, 119, 623-626.

- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radical Bio. Med.*, 29, 1106-14.
- Giorgi, A., Bombelli, R., Luini, A., Speranza, G., Cosentino, M., Lecchini, S., Cocucci, M. (2009). Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rchb. *Phytother. Res.*, An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 23(4), 540-545.
- Glaser, E., Prinz, F. (1926). Über die Bakterienfeindliche wirksamkeit der fermente. *Fermentforschg.*, 9, 64-73.
- Gomberg, M., (1900). An incidence of trivalent carbon trimethylphenyl, *J. Am. Chem. Soc.* 22, 757–771.
- González-Pérez, O., Moy-López, N. A., Guzmán-Muñiz, J. (2008). Alpha-tocopherol and alpha-lipoic acid. An antioxidant synergy with potential for preventive medicine. *Rev. Invest. Clin.*, 60, 58-67.
- Gutteridge, J. M., (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41, 1819-28.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, I., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobiol, antiulcer and analgesic activities of Nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacol.*, 90, 205-215.
- Gümüş, K., Özlü, Z. K. (2017). The effect of a beeswax, olive oil and *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch mixture on burn injuries: An experimental study with a control group. *Complement. Ther. Med.* 34, 66-73.
- Güner, A., Özhatay, N. Ekim, T., Baser, K. H. C. (2000). Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 11 supplement.
- Güzel, A. (2013). *Sphaerophysa kotschyana* bitkisinin bazı kimyasal bileşenlerinin analizi ve antioksidan kapasitesinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi).
- Gyawali, R., Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control.*, 46, 412-429.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Res.*, 31(4), 261-272.

- Halliwell, B., Aruoma, O. I., (1991). DNA damage by oxygen-derived species: Its mechanisms and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.*, 281, 9-19.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Hartmann, T., Witte, L. (1995) Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In Peletier, S. W. (ed.) Alkaloids: Chemical & Biological Perspectives. (Pp 155–233), Vol 9. GB-Trowbridge: Pergamon.
- Hasdemir, U. (2007). Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu ve aktif pompa sistemlerinin rolü. *Mikrobiyol. Bült.* 41, 309-327.
- Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat. Prod.*, 59, 205–215.
- Hermes-Lima, M., Storey, K. B. (1998). Role of antioxidant defenses in the tolerance of severe dehydration by anurans. The case of the leopard frog *Rana pipiens*. *Mol. Cell. Biochem.*, 189, 79-89.
- Hermes-Lima, M., Storey, J. M., Storey, K. B. (2001). Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. *Cell and Molecular Response to Stress*, 2, 263-287.
- Heywood, V. H. (1978). Flowering plants of the world, Oxford: Oxford University Press, 336.
- Hill, G. B., Schalkowsky, S. (1990). Development and evaluation of the spiral gradient endpoint method for susceptibility testing of anaerobic Gram-negative bacilli. *Rev. Infect. Dis.*, 12 (2), 200-209.
- Holloszy, J. O., Coyle, E. F., (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J. Appl. Physiol.*, 56, 831-838.
- Horzic, D., Komes, D., Belscak, A., Ganic, K. K., Ivekovic, D., Karlovic, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chem.*, 115, 441-448.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841-1856.
- Huber-Morath, A 1978. Alkanna. In: Davis PH ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 6 Edinburgh: Edinburgh University Press, 414–434.

- Hugentobler, U., Renwick, J. A. A. (1995). Effects of plant nutrition on the balance of insect relevant cardenolides and glucosinolates in *Erysimum cheiranthoides*. *Oecologia.*, 102, 95-105.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollord, C. A., Sosner, J. J. (2003). Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 51(7), 1811-1815.
- Iwu, M. M., Duncan, A. R., Okunji, C. O. (1999). New antimicrobials of plant origin. Janick, J. (ed.), (s. 457-62). Alexandria, VA: ASHS Press.
- İşbilir, Ş. S. (2008). Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi (Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi).
- Jorgensen, J. H., Sahm, D. F. (2005). Antimicrobial susceptibility testing: general considerations. In: Murray, P., Baron, E., Pfaller, M. A. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. (p. 1277-1280). Sixth edition, Washington D.C.: American Society for Microbiology Press.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3954-3962.
- Kahraman, E. P., Karakeçe, E., Erdoğan, F., Uluyurt, H., Köroğlu, M., Çiftçi, İ. H. (2017). *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi, *Ortadoğu Medical Journal*, 9(1), 12-18.
- Kara, A. A., Algur, Ö. F., Köseoğlu, M. Ş. (2016). Bazı şifalı bitkilerin *Helicobacter pylori* üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri, *CFD.*, 37(2), 129-140.
- Karabulut, H., Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*, 1(1), 65-76.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *TURJAF.*, 3(5), 226-234.
- Keha, E., Küfrelioğlu, İ. (2014). *Biyokimya* 10. Baskı, ss. 328. İstanbul: Aktif Yayınevi.
- Keleş, O., Ak, S., Bakırel, T., Alpınar, K. (2001a). Türkiye’de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel etkisinin incelenmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 559-565.
- Keleş, O., Bakırel, T., Şener, S., Aydın, H., Alpınar, K. (2001b). Ratlarda *Polygonum lapathifolium*’un antiinflamatuvar ve antipiretik aktivitesi, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*,

- Kelmanson, G. E., Jäger, A. K., Van Staden, J. (2000). Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.*, 69, 241-46.
- Keymanesh, K., Soltani, S., Sardari, S. (2009). Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 933–944.
- Khan, U. A., Rahman, H., Quasim, M., Hussain, A., Azizllah, A., Murad, W., Khan, Z., Anees, M., Adnan, M. (2015). *Alkanna tinctoria* leaves extracts: a prospective remedy against multidrug resistant human pathogenic bacteria. *ISCMR.*, 15, 127.
- Kılınçarslan, Ö. (2016). *Erysimum kotschyanum*’ un ağır metal içeriği ile ekstraktlarının bazı biyolojik aktivitelerinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi).
- Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y., Suh, G. J., Shin, H. K. (2014). Antioxidant and antiinflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *J. Inflamm.*, 11(1), 36.
- Koch, M., Kiefer, C., Vogel, J., (2006). Three times out of Asia Minor-the phylogeography of *Arabis alpine* L. (Brassicaceae). *Mol. Ecol.*, 15, 825-839.
- Koçyiğit, M. (2005). Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. (Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Kotschy ex Boiss., Fl. Or. 1: 202 (1867). In: Davis, P. H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 1, 471. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Kourounakis, A. P., Assimopoulou, A. N., Papageorgiou, V. P., Gavalas, A., Kourounakis, P. N., (2002). Alkannin and shikonin: effect on free radical processes and on inflammation - a preliminary pharmacochemical investigation. *Arch. Pharm.*, 335(6), 262-266.
- Kurita, S., Kitagawa, E., Kim, C. H., Momose, Y., Iwahashi, H. (2002). Studies on the antimicrobial mechanisms of capsaicin using yeast DNA microarray. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 532–536.
- Lachman, J., Hosnedl, V., Pives, V., Orsák, M. (1998). Polyphenols in cereals and their positive and negative role in human and animal nutrition, *Proceedings of conference cereals for human health and preventive nutrition*, 118-125.
- Larson, R. A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.*, 27, 969-978.

- Lei, Z. H., Jin, Z. X., Ma, Y. L., Tai, B. S., Kong, Q., Yahara, S., Nohara, T. (1998). Cardiac glycosides from *Erysimum cheiranthoides*. *Phytochemistry*, 49(6), 1801-1803.
- Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., Zhou, D. (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*, *Future Microbiol.*, 9(9), 1071-1081.
- Liu, R. H., (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevent: mechanisms of action. *J. Nutr.*, 134, 3479-3485.
- Lopez-Alarcon, C., Lissi, E. (2006). A novel and simple ORAC methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. *Free Radic. Res.*, 40 (9), 979-985.
- Löliger, J. (1991). The use of antioxidants in food. Aruoma, O. I., Halliwell, B. (Eds). *Free Radicals and Food Additives içinde* (s.129-150). London: Taylor and Francis.
- Ma, Z., Fujii, I., Ebizuka, Y., Li, X., Shimomaki, S., Sakano Y. (2004). Flavonoids from the seeds of *Sphaerophysa salsula*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 6(1), 69-73.
- Ma, Z., Li, X., Li, N., Wang, J., (2002). Stilbenes from *Sphaerophysa salsula*, *Fitoterapia*, 73, 313-315.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *J. Sci. Food Agr.*, 86, 2046-56.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., Salunkhe, D. K. (1996). Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. (s.41-50). Newyork: CRC Press.
- Mainous, A. G., Pomeroy, C. (2001). Management of antimicrobials in infectious diseases: Impact of antibiotic resistance. New York: *Humana Press*, 349.
- Mammadov, R. Ili, P. Ertem Vaizogullar, H. (2011). Antioxidant activity and total phenolic content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*, 30(3), 57-62.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79(5), 727-747.

- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 230-242.
- Mandal, S., Yadav, S., Nema, R. K. (2009). Antioxidants: A review. *J. Chem. Pharm. Res.*, 1(1), 102-104.
- Mansfield, J. R. (1982). Mansfield, J. A., Bailey, J. R. (Editörler). *Phytoalexins*, (s. 253-288), New York: John Wiley & Sons.
- Marcus, J. P., Goulter, K. C., Green, J. L., Harrison, S. J., Manners, J. M. (1997). Purification, characterization and cDNA cloning of an antimicrobial peptide from *Macadamia integrifolia*, *Eur. J. Biochem.*, 244(3), 743-749.
- Marraiki, N., (2010). Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), naturally growing in Egypt *Saudi J. Biol. Sci.*, 17(1), 57-63.
- Martindale, W., (1993). *Martindale the Extra Pharmacopoeia*, 30th. ed. London: The Pharmaceutical Press.
- Masisi, K., Beta, T., Moghadasian, M. H. (2016). Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies. *Food chem.*, 196, 90-97.
- Masika, P. J., Afolayan, A. J. (2002). Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock diseases in Eastern Cape, South Afr. *J. Ethnopharmacol.*, 83, 129-134.
- Mattila, P., Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3660-3667.
- Mavi, A., Terzi, Z., Özgen, U., Yildirim, A., Coşkun, M., (2004). Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biol. Pharm. Bull.*, 27(5), 702-705.
- Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219.
- Murray, K. R., Mayes, P. A., Granner, P. K., Rodwel, V. W. (1993). *Harper's Biochemistry*. 24. Ed. Prentice-Hall International Inc.

- Mutlu, B., (2010). New morphological characters for some *Erysimum* (Brassicaceae) species. *Turk. J. Bot.*, 34, 115-121.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A.*, 1054, 95-111.
- Nascimento, N. C., Fett-Neto, A. G. (2010). Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview, *Plant Secondary Metabolism Engineering*, 1-13.
- Nguyen, L. T., Haney, E. F., Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends Biotechnol.*, 29, 464-472.
- Opalchenova, G., Obreshkova, D., (2003). Comparative studies on the activity of basilan essential oil from *Ocimum Basilicum* L. against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *J. Microbiol. Methods.*, 54, 105-110.
- Özay, C. (2015). Ege Bölgesi'ndeki bazı *Alyssum* L. taksonlarının biyolojik aktivitelerinin incelenmesi ve aktif bileşenlerinin karakterizasyonu (Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi).
- Özenç, B. (2011). *Fumaria officinalis*'un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi).
- Papageorgiou, V. P., Digenis, G. A. (1980). Isolation of two new alkannin esters from *Alkanna tinctoria*. *Planta Med.*, 39(1), 81-84.
- Papageorgiou, V. P. (1977). A new pigment of *Alkanna tinctoria* having naphthaquinone structure. *Planta Med.*, 31(4), 390-394.
- Papageorgiou, V. P. (1978). Wound healing properties of naphthaquinone pigments from *Alkanna tinctoria*. *Experientia.*, 34(11), 1499-1501.
- Papageorgiou, V. P. (1980). Naturally occurring isohexenylnaphthazarin pigments: a new class of drugs. *Planta Med.*, 38, 193-203.
- Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. (2003). Lipids of the hexane extract from the roots of medicinal boraginaceous species. *Phytochem. Anal.*, 14(4), 251-258.
- Papageorgiou, V. P., Mellidis, A. S., Sagredos, A. N., (1980). Study on the antibiotic fraction of *Alkanna tinctoria* Tausch, *Chimika Chronika*, 9(1), 57-63.

- Papageorgiou, V. P., Winkler, A., Sagredos, A. N., Digenis, G. A., (1979). Studies on the relationship of structure to antimicrobial properties of naphthaquinones and other constituents of *Alkanna tinctoria*, *Planta Med.*, 35(1),56-60.
- Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N., Couladouros, E.A., Hepworth, D., Nicolaou, K.C. (1999). The chemistry and biology of alkannin, shikonin and related naphthazarin natural products, 38th ed. *Angew. Chem. Int.*, 270–300.
- Park, C. J., Park, C. B., Hong S. S., Lee, H. S., Lee, S. Y., Kim, S. C. (2000). Characterization and cDNA cloning of two glycine-and histidin-rich antimicrobial peptides from the roots of shepherd's purse, *Capsella bursa-pastor*. *Plant. Mol. Biol.*, 44(2), 187-197.
- Pekin, G., Ganzera, M., Şenol, S., Bedir, E., Korkmaz, K. S., Stuppner, H. (2007). Determination of naphthazarin derivatives in endemic Turkish *Alkanna* species by reversed phase high performance liquid chromatography. *Planta med.*, 73(3), 267-272.
- Peterson, J., Dwyer, J., Bhagwat, S., Haytowitz, D., Holden, J., Eldridge, A. L., Beecher, G., Aladesanmi, J. (2005). Major flavonoids in dry tea. *J. Food Compos. Anal.*, 18, 487-501.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int. J. Biomed Sci.*, 4(2), 89-96.
- Pinner, R. S., Teutsch, L., Smolsen, L. (1996). Trends in infectious disease mortality in The United States. *J. Am. Med. Assoc.*, 275, 189-193.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (2001). Antioxidants in food, USA: CRC Press.
- Polatschek, A., Snogerup, S. (2002). *Erysimum* L. In: Flora Hellenica, Strid, A., Tan, K. (eds.), 2 (s. 130). Germany: Koeltz Scientific Books.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F. Chiarpotto, E. (2004). Oxidative stress and cell signalling, *Curr. Med. Chem.*, 11, 1163–1182.
- Prior, R. L., Cao, G. (1999). *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic. Biol. Med.*, 27, 1173-1181.
- Prior, R. L., Wu, X., Scaich, K., (2005). Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Free Radic. Biol. Med.*, 53(8), 3110-3113.

- Quan, L. J., Zhang, B., Shi, W. W., Li, H. Y. (2008). Hydrogen peroxide in plants: A versatile molecule of the reactive oxygen species network. *J. Integrat. Plant. Biol.*, 50, 2-18.
- Radulovic, N., Dekic, M., Stojanovic-Radic, Z. (2011). A new antimicrobial glucosinolate autolysis product, 4-isothiocyanatobutanoic acid, from the diffuse wallflower (*Erysimum diffusum*): Methyl 4-isothiocyanatobutanoate, a long unrecognized artifact of the isolation procedure? *Food Chem.*, 129 (1), 125-130.
- Rai, M. K., Kon, K. V. (2013). Fighting multidrug resistance with herbal extracts, essential oils and their components. First edition, 1-164, London: Academic Press.
- Ramarathnam, N., Ochi, H. Takeuchi, M. (1997). Antioxidant defense system in vegetable extracts. Shahidi, F. (Editör). *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications içinde* (s.76-87). Champaign, IL: AOCS Press.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C., Gitto, E. (2000). Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J. Biomed. Sci.*, 7, 444-458.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res.*, 22, 375-383.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20(7), 933-56.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends Plant Sci.*, 2, 152-159.
- Rix, E. M. (1984). Davis, P. H. (. *Flora of Turkey and the east Aegean Islands*. Vol 8, 312- 313. Edinburg: University Press.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.*, 582, 1783–1787.
- Roeder, E., Sarg, T., El-Dahmy, S., Abdel Ghani, A. (1992). Pyrrolizidine alkaloids from *Alkanna orientalis*. *Fitoterapia*, 63, 405-408.
- Roeder, E., Wiedenfeld, H., Schraut, R., (1984). Pyrrolizidine alkaloids from *Alkanna tinctoria*, *Phytochemistry*, 23(9), 2125-2126.

- Salimikia, I., Yazdinezhad, A. R., Golfakhrabadi, F., Esfahani, H. R. M. (2015). *In vitro* antioxidant and free radical scavenging activity of four *Alkanna* species growing in Iran. *Pharmacognosy Res.*, 7(1), 100–104.
- Satué-Garcia, M. T., Heinonen, M., Frankel, E. N. (1997). Anthocyanins as antioxidants on human low density lipoprotein and lecithin liposome systems. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3362-3367.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883.
- Schulz, O. E. (1936). Cruciferae. Nat. Pflanzenfam. 17b: 227-656. In: Davis, P. H. (1965). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 1, 248-260. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Sen, S., Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1, 1-37.
- Sevimli Gür, C. (2009). Bazı *Alkanna* türlerinin biyoaktivite rehberli izolasyon yöntemi kullanarak çeşitli kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin *in vitro* ortamlarda taranarak, hücresel mekanizmalara ve apoptoz yollarına olan etkilerinin araştırılması. (Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Shahidi, F. (1996). Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. (s. 1-5), Champaign- Illinois: AOCS Press.
- Shahidi, F., Naczk, M., (1995). Food Phenolics. Technomic Publishing Lanchester, USA: Company Book, 199-225.
- Sharon, N., Ofek, I. (1986). Mannose specific bacterial surface lectins. Mirelman, D. (Editör). In: Microbial lectins and agglutinins (s. 55-82), New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. (2012). Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. *J. Dent. Allied. Sci.*, 1(2), 63-66.
- Shinji, M. (1993). Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: A producing microorganism approach. *Actinomycetoliga*, 7,3 100-106.
- Simic, A., Sokovic, M. D., Ristic, M., Grujic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin, P. D. (2004). The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytother. Res.*, 18, 713-717.

- Singh, B. K., Sharma, S. R., Singh, B. (2009). Combining ability for superoxide dismutase, peroxidase and catalase enzymes in cabbage head (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *Sci. Hort.*, 122, 195–199.
- Singh, R. P., Sharad, S., Kapur, S. (2004). Free radicals and oxidative stress neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *JIACM.*, 5(3), 218-225.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
- Skinner, F. (1955). Antibiotics. Paech, K., Tracey, M. V. (Editörler), *Modern Methods of Plant Analysis* içinde 3, (s.626-722). Berlin, Gottingen, Heidelberg: Springer Verlag.
- Sözmen, E. Y. (2002). Radikal kavramı ve oksijen radikalleri, insan biyokimyası, Ankara: Palme Yayıncılık.
- Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C. A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent. Eu.r J. Biol.*, 6(3), 388-396.
- Stern, J. L., Hagerman, A. E., Steinberg, P. D., Mason, P. K.(1996). Phlorotannin-protein interactions. *J. Chem. Ecol.*, 22, 1887–1899.
- Strelkauskas, A., Edwards, A., Fahnert, B., Pryor, G., Strelkauskas, J. (2018). Mikrobiyoloji klinik bir yaklaşım. Koçoğlu, E., Emekdaş, G. (editörler). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Sümerkan, B., Gökahmetoğlu, S. (1998). MIC, MBC Testleri, Rutindeki Önemi ve Uygulamaları. *Flora*, 3(2), 91-95.
- Şengül, M., Yıldız, H., Güngör, N., Çetin, B., Eser, Z., Ercişli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(1), 102-106.
- Şimşek, (2018). Trombositlerin *Candida albicans* üzerine antifungal etkinliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi).
- Tan, K. Yıldız, (1988). In: Davis, P. H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 11, 54-55. Edinburgh: Edinburgh University Press
- Tanker, M. (1991). Folklorik ilaçlara ulaşımın metodolojisi. MİEP, Eczacı Odası Yayınları, 119-146.

Tanker, N., Gürtürk, S., Kol, Ü. (1980). Antibiyotik aktivite gösteren bazı tohumlu bitkiler üzerine araştırmalar. *J. Fac. Pharm. Ankara.*, 10, 17-29.

Teixeira, L. A., Facklam, R. R. (2003). Enterococcus. In Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H. (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth edition, Washington: ASM Pres., 422-433.

Terras, F. R. G., Schoofs, H. M. E., De Bolle, M. G. C., Van Leuven, F., Rees, R. B., Vanderleyden, J., Cammue, B. P. A., Broekaert, W. F. (1992). Analysis of two novel classes of plant antifungal proteins from *Radish (Raphanus sativus L.)* Seeds. *J. Biol. Chem.*, 267, 15301-15309.

Terras, F., Schoofs, H., Thevissen, K., Osborn, R. W., Vanderleyden, J., Cammue, B., Broekaert, W. F. (1993). Synergistic enhancement of the antifungal activity of wheat and barley thionins by radish and oilseed rape 2S albumins and by barley trypsin inhibitors. *Plant. Physiol.*, 103(4), 1311-1319.

Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N. (2006). Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. *Planta*, 223: 1145-53.

The Merck Index, (1989), Budavari, S. (Ed.), Merck, Rahway, N. J., 11th ed., 43.

Topal, M., Şenel, G. U., Topal, E. I. A., Öbek, E. (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31(3), 121-127.

Toroğlu, S. M., Diğrak, M., Çenet, M., (2006). Determination of antimicrobial activities of essential oils of consumed for spice *Laurus nobilis* Linn and *Zingiber officinale* Roscoe and their effects on antibiotics in-vitro. *KSU. J. Sci. Engineer.*, 9, 20-26.

Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomed. Pharmacother.*, 57(3-4), 145- 155.

Trease, G., Evans, W. (1972). *Pharmacognosy*. (p. 444-446). Aberdeen, Great Britain: Univ. Press.

Tsai, P., Wang, J., Chang, C., Kuo, S., Lee Chao, P. (1998). Constituents and bioactive principles of *Polygonum chinensis*. *Phytochemistry*, 49(6), 1663-1666.

Tung, N. H., Wang, C. Z., Du, G. J., Yuan, C. S., Uto, T., Shoyama, Y. (2016). Chemopreventive activity of naphthoquinones from *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch in human colorectal cancer cells. *Journal of GHR.*, 5(4), 2115-2121.

- Tunon, H., Olavsdotter, C., Bohlin, L. (1995). Evaluation of antiinflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. *J. Ethnopharmacol.*, 48, 61-76.
- Uçar, G., Yörük, N. G., Güner, A. (2015). *Escherichia coli* enfeksiyonları, *Türkiye Klinikleri J. Food Hyg. Technol-Special. Topics.*, 1(3), 22-29.
- Üçer, M. (1973). Sivas Folkloru, 1(5), 3-6.
- Ünal, E. (2006). Türkiye florasında doğal olarak yetişen bazı bitki türlerinin antimikrobial ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi).
- Valenzuela, A. (1990). The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Scien.*, 48, 301-309.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39, 44-84.
- Vanisree, M., Lee, C. Y., Lo, S. F., Nalawade, S. M., Lin, C. Y., Tsay, H. S. (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 45(1), 22.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4113-4117.
- Velioğlu, S. (2000). Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri, *GIDA*, 25(3), 167-176.
- Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonoids are powerfull antioxidants using an *in vitro* oxidation moder for hearts disease. *J. Agricl. Food Chem.*, 43,2-2800.
- Warwick, S. I., Sauder, C., (2005). Phylogeny of tribe Brassicaceae based on chloroplast restriction site polymorphisms and nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) and chloroplast trnl intron sequences, *Can. J. Bot.*, 83, 467-483.
- Weiss, S. J. (1989). Tissue destruction by neutrophills. *N. Engl. J. Med.* 7, 320-365.
- Winston, G. W., (1991). Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100, 173-176.

- Wong, S. P., Leong, L. P., Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.*, 99, 775-783.
- Wu, C., Chen, F., Wang, X., (2006). Antioxidant constituents in fewerfew (*T. parthenium*) extract and their chromatographic quantification. *Food Chem.*, 96, 220-227.
- Xu, L., Xu, J. J., Liu, Q. L., Xie, R. M., Wei, G. H. (2009). Genetic diversity in rhizobia isolated from *Sphaerophysa salsulain* several regions of northwestern China. *Biodivers. Sci.*, 17,69–75.
- Yalçın, A. S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* (Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Özel Sayısı), 11, 342-6.
- Yarnell, E., Abascal, K. (2002). Herbs and drup resistance: Part 1- Herbs and microbial resistance to antibiotics. *Altern. Complement. Ther.*, 8(4), 237.
- Yarnell, E., Abascal, K. (2004). The leading publisher in biotechnology. *Altern. Complement. Ther.*, Part:2 10(5), 277-284.
- Yarnell, E., Abascal, K. (2013). Plants for addressing multidrug resistance. *Altern. Complement. Ther.*, 19 (3), 126.
- Yavaşer, R. (2011). Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi).
- Yeshe, K., Yangdon, P., Kashyap, S., Wangchuk, P. (2017). Antioxidant activity and the polyphenolic and flavonoid contents of five high altitude medicinal plants used in Bhutanese Sowa rigpa medicine, *JBAPN.*, 7(1), 18-26.
- Yetgin, A., Şenturan, M., Benek, A., Efe, E., Canlı, K. (2017). *Pterigynandrum filiforme* Hedw. türünün antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. *Anatolian Bryol.*, 3(1), 43-47.
- Yıldırım Sözmen, E. (2002). Yaşlanma Biyokimyası. Onat, T., Emerk, K., Yıldırım Sözmen, E. (Editörler), İnsan Biyokimyası içinde (s. 665-674). Ankara: Palme Yayınları.
- Yıldırım, A., Mavi, A., Kara, A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts. *J. Sci. Food Agric.*, 83(1), 64–69.
- Yıldırım, M. (2007). Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Düzce Tıp Fak. Derg.*, 2, 46-52.

- Yıldız, H., Baysal T. (2003). Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 29-35.
- Yıldızıtugay, E., Özfidan-Konakci, C., Kucukoduk, M. (2013). *Sphaerophysa kotschyana*, an endemic species from Central Anatolia: antioxidant system responses under salt stress, *J. Plant. Res.*, 126, 729-742.
- Yıllar, M. (2007). *Polygonum cognatum* Meissn. (madımak)'un allelopatik potansiyelinin belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yücel, E. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştiriciliği. Anadolu Üniversitesi Yayını, 2101.
- Zhang, Y., Lewis, K. (1997). Fabatins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiol. Lett.*, 149, 59–64.
- Zheng, W., Wang, S. Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 502-509.
- Zoral, F. B., Turgay, Ö. (2014). Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 17(2), 24-33.
- Züst, T., Mirzaei, M., Jander, G. (2018). *Erysimum cheiranthoides*, an ecological research system with potential as a genetic and genomic model for studying cardiac glycoside biosynthesis. *Phytochem Rev.*, 17(6), 1239-1251.