

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

150680

**BAZI *Hypericum* ve *Achillea* TÜRLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDANT
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Deniz BARIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
(KİMYA ANABİLİM DALI)

150680
150680

DİYARBAKIR
AĞUSTOS - 2004

T.C
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DIYARBAKIR

Deniz BARIŞ tarafından yapılan bu çalışma, jürimiz tarafından KİMYA
Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

İmza

Başkan: Prof. Dr. Çetin AYTEKİN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fikret UYAR

(Handwritten signatures of Prof. Dr. Çetin AYTEKİN, Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL, and Yrd. Doç. Dr. Fikret UYAR)

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

20/08/2004

(Handwritten signature of Prof. Dr. Çetin AYTEKİN)

Prof. Dr. Çetin AYTEKİN

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ



TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın başından bitimine kadar yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmalarım için bana gerekli koşulları sağlayan Sayın Hocam Prof. Dr. Çetin AYTEKİN'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarımın her aşamasında desteklerini esirgmeden yardımcı olan, her türlü sorunlarımla yakından ilgilenen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat KIZIL ve Dr. Göksel KIZIL' a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmış olduğumuz bakterilerin D. Ü. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmesini sağlayan Doç. Dr. Selahattin ATMACA'ya, çalışılan bitkilerin toplanması, teşhislerinin yapılması ve fotoğraf çekimleri konusunda yardımcı olan Doç. Dr. Selçuk ERTEKİN' e, benden yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Zübeyde BAYSAL, Arş. Gör. Dr. Mehmet DOĞRU, Arş. Gör. Murat YAVUZ' a ve laboratuvarında birlikte çalıştığım arkadaşlarım Bircan ÇEKEN, Fidan HEKİMOĞLU ve Hüseyin ALKAN' a teşekkür ederim.

Bana laboratuvar imkanı sağlayan Dicle Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Dekanlığına teşekkür ederim.

Bu projeye maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Komisyonu'na (03-FF-63) teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım esnasında her zaman beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

AMAÇ	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Hypericum</i> Türlerinin Genel Özellikleri	9
1.2. <i>Achillea</i> Türlerinin Genel Özellikleri	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	12
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. MATERYAL	17
3.1.1. Kullanılan Bitki Türleri, Tanımları ve Yayılışları	17
3.1.1.1. <i>Hypericum retusum</i> Aucher	17
3.1.1.2. <i>Hypericum scabrum</i> L.	18
3.1.1.3. <i>Hypericum lysimachioides</i> Boiss. & Nöe var. <i>lysimachioides</i>	19
3.1.1.4. <i>Achillea aleppica</i> D.C.	20
3.1.1.4.a. subsp. <i>aleppica</i>	20
3.1.1.4.b. subsp. <i>zederbaueri</i> (Hayek) Hub.-Mor.	20
3.1.1.5. <i>Achillea biebersteinii</i> Afan.	21
3.1.2. Antimikrobiyal Aktivite İçin Kullanılan Mikroorganizmalar	21
3.1.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
3.1.2.3. <i>Staphylococcus epidermis</i>	23
3.1.2.4. <i>Streptococcus pyogenes</i>	24

3.1.2.5. <i>Escherichia coli</i>	25
3.1.2.6. <i>Salmonella typhimurium</i>	26
3.1.2.7. <i>Enterobacter</i>	27
3.1.2.8. <i>Klebsiella</i>	27
3.1.2.9. <i>Candida albicans</i>	28
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.1.4. Kullanılan Aletler	29
3.1.5. Kullanılan Besiyerleri	29
3.2. METOT	29
3.2.1. Kullanılan Mikroorganizmaların Büyüme Koşulları	29
3.2.2. Bitki Özütlерinin Hazırlanması	29
3.2.2.1. Metanol Özütlü	30
3.2.2.2. Etanol Özütlü	30
3.2.2.3. Su Özütlü	30
3.2.3. Stok Bitki Özütlü Çözeltilerinin Hazırlanması	31
3.2.4. Disklerin Mikroorganizmalara Uygulanması	31
3.2.5. Disk Diffüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması	31
3.2.6. Antioksidant Aktivite İçin Yapılan Testler	32
3.2.6.1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi	32
3.2.6.2. Metal Şelatlama Aktivitesi	33
3.2.6.3. Bitki Özütlерinin İçindeki Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini	34
4. BULGULAR	36
4.1. Antimikrobiyal Aktivite	36
4.2. Antioksidant Aktivite	37
4.2.1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi	37
4.2.2. Metal Şelatlama Aktivitesi	39
4.2.3. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini	40

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
5.1. Antimikrobiyal Aktivite	42
5.2. Antioksidant Aktivite	45
5.2.1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi	46
5.2.2. Metal Şelatlama Aktivitesi	49
5.2.3. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini	52
6. TABLOLAR, RESİMLER VE ŞEKİLLER	56
7. KAYNAKLAR	83
8. TABLOLARIN LİSTESİ	91
9. ŞEKİLLERİN LİSTESİ	92
10. RESİMLERİN LİSTESİ	93
11. ÖZGEÇMİŞ	95

AMAÇ

Çok eski çağlardan beri insanoğlu, bitkileri önce gıda kaynağı daha sonra yaralanmalara ve fark edebildiği hastalıklarına karşı iyileştirici olarak kullanmıştır. Bitkilerin sağlığı korumak ve tedavi amacı ile yaygın bir şekilde kullanıldığı ilk yazılı kaynaklardan anlaşılmaktadır. Bu kullanım, çağlar boyu azalmadan, kullanım şekillerindeki bazı değişiklik ve gelişmelerle devam etmiştir.

Günümüzde sentetik ilaçların neden olduğu yan etkiler, artan ilaç fiyatları ve ilaç sanayinin yarattığı kirlilik, bitkilerle tedavinin yeniden gündeme gelmesine, doğal tedavi yöntemlerine olan ilginin artarak yaygınlaşmasına neden olmuştur.

Bu çalışmadaki amacımız, bazı *Hypericum* ve *Achillea* türlerinin çiçekli ve yapraklı dallarından elde edilen ham özütlerin olası antimikrobiyal, antifungal ve antioksidant etkilerini araştırmaktır. Bu bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri disk diffüzyon metodu kullanılarak belirlendi. Antioksidant aktiviteleri ise çeşitli *in vitro* yöntemler örneğin, DPPH radikalini söndürme aktivitesi, metal iyonunu şelatlama kapasitesi ve toplam fenolik bileşen miktarlarını tayin etme ile belirlendi.

ÖZET

Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen ve tıbbi önemi olabileceği düşünülen *Hypericum retusum* Aucher, *Hypericum scabrum* L., *Hypericum lysimachioides* Boiss.&Nöe var. *lysimachioides*, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *aleppica*, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor., *Achillea biebersteinii* Afan. bitkilerinin ham halinin metanol, etanol ve su özütlerinin değişik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal, antifungal ve antioksidant aktiviteleri araştırıldı.

Çalışılan bitki özütlerinin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Çalışmada kullanılan bitkilerin ham halinin etanol özütleri ile elde edilen zon çapları, test edilen mikroorganizmaların cinsine bağlı olarak bitkilerin bu mikroorganizmaların gelişmelerini farklı şiddetlerde etkilediğini ortaya koydu. Ayrıca EDTA şelatlayıcı etkisinden dolayı Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının geçirgenliğini artırmaktadır. Bu özelliğinden yararlanarak bitkilerin EDTA eklenmiş stok çözeltilerinin antimikrobiyal aktivitesine bakıldı. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi üzerinde EDTA eklenmiş stok bitki çözeltilerinden *H. retusum* ve *A. aleppica* subsp. *aleppica*'nın zon inhibisyonunu artırdığı, *H. scabrum* ve *H. lysimachioides*'in değiştirmediği, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. biebersteinii*'nin zon inhibisyonunu azalttığı belirlendi. Bitkilerin ham halinin metanol ve su özütlerinin ise test edilen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlendi.

Bitkilerin ham halinin etanol ve su özütlerinin antioksidant aktiviteleri DPPH radikalini söndürme yöntemi, metal şelatlama yöntemi ve toplam fenolik bileşen miktarını ölçme yöntemi ile belirlendi.

50-500 µg/mL derişim aralığında *H. retusum* bitkisinin DPPH radikalini söndürme gücünün etanol özütünde % 67.40-% 85.00, su özütünde % 39.70-% 45.40 arasında, *H. scabrum* bitkisinin etanol özütünde % 88.70-% 92.60, su özütünde %50.90-%54.40 arasında, *H. lysimachioides* bitkisinin etanol özütünde % 90.00-% 94.20, su özütünde % 49.40-% 56.00 arasında, *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin etanol özütünde % 67.80-% 89.80, su özütünde % 39.80-% 43.90 arasında, *A. aleppica* subsp.

zederbaueri bitkisinin etanol özütünde % 86.30-% 90.60, su özütünde % 37.80-% 47.60 arasında, *A. biebersteinii* bitkisinin etanol özütünde % 86.80-% 91.20, su özütünde %39.20-% 45.80 arasında olduğu tespit edildi.

Metal şelatlama aktivitesinde bitkilerin ham halinin etanol ve su özütlerinin Fe^{+2} ,yi şelatlama gücüne bakıldı. Bitkilerin etanol ve su özütlerinin Fe^{+2} -Ferrozin kompleks oluşumunu inhibe ettiği belirlendi. 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında *H. retusum* bitkisinin metal şelatlama kapasitesinin etanol özütünde % 18.60-% 28.40, su özütünde % 27.30-% 30.20 arasında, *H. scabrum* bitkisinin etanol özütünde % 18.30-%27.80, su özütünde % 29.20-% 31.00 arasında, *H. lysimachioides* bitkisinin etanol özütünde % 20.20-% 27.10, su özütünde % 29.10-% 30.00 arasında, *A. aleppica subsp. aleppica* bitkisinin etanol özütünde % 27.10-% 28.40, su özütünde % 27.30-% 29.10 arasında, *A. aleppica subsp. zederbaueri* bitkisinin etanol özütünde % 27.90-% 29.90, su özütünde % 28.30-% 30.00 arasında, *A. biebersteinii* bitkisinin etanol özütünde %25.60-%28.70, su özütünde % 28.30-% 31.00 arasında olduğu tespit edildi.

Fenolik bileşenler antioksidant aktivite gösteren moleküllerdir. Bitkilerin ham halinin etanol ve su özütlerinin içindeki toplam fenolik bileşen miktarı gallik asite ekivalent olarak hesaplandı. 1 mg bitki içindeki toplam fenolik bileşen miktarı *H. retusum* bitkisinin etanol özütünde 226.0 μ g, su özütünde 103.0 μ g, *H. scabrum* bitkisinin etanol özütünde 262.0 μ g, su özütünde 76.00 μ g, *H. lysimachioides* bitkisinin etanol özütünde 266.0 μ g, su özütünde 132.0 μ g, *A. aleppica subsp. aleppica* bitkisinin etanol özütünde 118.0 μ g, su özütünde 79.00 μ g, *A. aleppica subsp. zederbaueri* bitkisinin etanol özütünde 126.0 μ g, su özütünde 71.00 μ g, *A. biebersteinii* bitkisinin etanol özütünde 134.0 μ g, su özütünde 52.00 μ g gallik asite ekivalent olarak tespit edildi.

ABSTRACT

In this study, the antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of crude methanol, ethanol and water extracts of medicinally important plants *Hypericum retusum* Aucher, *Hypericum scabrum* L., *Hypericum lysimachioides* Boiss.&Nöe var. *lysimachioides*, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *aleppica*, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor., *Achillea biebersteinii* Afan. belonging to *Hypericum* and *Achillea* family and growing in South East of Turkey were investigated.

The antimicrobial and antifungal activity of plants extracts were performed by disc diffusion assay against several bacteria. The results showed that the ethanolic crude extracts of all tested plant exhibited different activity against tested microorganisms. One of the recognised modes of action of EDTA is the disruption of the lipopolysaccharide structure in the outer membrane of Gram-negative bacteria. Through this disruption the membrane becomes more permeable to other agents. Therefore the antimicrobial activities of the EDTA added crude extracts of all plants were also studied.

It has been found that the zone diameter increased by the extract obtained from *H. retusum* and *A. aleppica* subsp. *aleppica* on *Pseudomonas aeruginosa*, and the zone diameter was not changed by the extracts of *H. scabrum* and *H. lysimachioides*. On the other hand the zone diameter was reduced by the extracts of *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* and *A. biebersteinii*. The crude methanol and water extracts of plants did not show any antimicrobial activity against tested microorganisms.

The antioxidant activities of crude ethanol and water extracts of plants were evaluated by several *in vitro* systems, e.g. DPPH radical scavenging activity, metal chelating activity and determination of total phenolic compounds.

The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol and water extracts of *H. retusum* were found to be in the range of 67.40- 85.00 %, and 39.70-45.40 %, respectively, at the concentration range between 50-500 µg/mL. The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol and water extracts of *H. scabrum* were found to be in the range of 88.70-92.60 %, and 50.90-54.40 %, respectively, at the concentration range between 50-500 µg/mL. The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol

and water extracts of *H. lysimachioides* were found to be in the range of 90.00-94.20 %, and 49.40-56.00 %, respectively, at the concentration range between 50-500 $\mu\text{g/mL}$.

The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol and water extracts of *A. aleppica subsp. aleppica* were found to be in the range of 67.80-89.80 %, and 39.80-43.90%, respectively, at the concentration range between 50-500 $\mu\text{g/mL}$. The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol and water extracts of *A. aleppica subsp. zederbaueri* were found to be in the range of 86.30-90.60 %, and 37.80-47.60%, respectively, at the concentration range between 50-500 $\mu\text{g/mL}$. The DPPH radical scavenging ability of crude ethanol and water extracts of *A. biebersteinii* were found to be in the range of 86.80 %-91.20, and 39.20-45.80%, respectively, at the concentration range between 50-500 $\mu\text{g/mL}$.

In the metal chelating activity assay, the chelating ability of crude ethanol and water extracts of plants against Fe^{2+} were investigated. It has been found that the ethanol and water extracts of plants interfered with the formation of ferrous and ferrozine complex, suggesting that they have chelating activity and capture ferrous ion before ferrozine. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *H. reretusum* were found to be in the range of 18.60-28.40 % and 27.30-30.20%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *H. scabrum* were found to be in the range of 18.30-27.80 % and 29.20-31.00%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *H. lysimachioides* were found to be in the range of 20.20-27.10% and 29.10-30.00%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *A. aleppica subsp. aleppica* were found to be in the range of 27.10-28.40% and 27.30-29.10%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *A. aleppica subsp. zederbaueri* were found to be in the range of 27.90-29.90% and 28.30-30.00%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL. The metal chelating capacity of crude ethanol and water extract of *A. biebersteinii* were found to be in the range of 25.60-28.70% and 28.30-31.00%, respectively, at the concentration range between 0.1-0.6 mg/mL.

Phenols are very important plant constituents due to their radical scavenging ability. It is also known that the phenolic compounds shows antioxidant activity. The total phenolic compounds in the both ethanol and water extracts of tested plants were determined as a gallic acid equivalent. 226.0 and 103.0 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *H. retusum*, respectively. 262.0 and 76.00 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *H. scabrum*, respectively. 266.0 and 132.0 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *H. lysimachioides*, respectively. 118.0 and 79.00 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *A. aleppica* subsp. *aleppica*, respectively. 126.0 and 71.00 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *A. aleppica* subsp. *zederbaueri*, respectively. 134.0 and 52.00 μg gallic acid equivalent of phenols was detected in 1 mg of ethanol and water extracts of *A. biebersteinii*, respectively.

KISALTMALAR

IPM	Imipenem (10 µg)
AML	Amoxycillin (25 µg)
SAM	Ampicillin/Sulbactam (10 µg/10 µg)
EDTA	Etilendiamintetraasetikası
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
H-1	<i>Hypericum retusum</i>
H-2	<i>Hypericum scabrum</i>
H-3	<i>Hypericum lysimachioides</i>
A-1	<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i>
A-2	<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i>
A-3	<i>Achillea biebersteinii</i>
KP-13883	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883
ENC-23355	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355
ST-14028	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028
SE-12228	<i>Staphylococcus epidermis</i> ATCC 12228
EC-25922	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
EA	<i>Enterobacter aerogenes</i>
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
KO	<i>Klebsiella oxytoca</i>
STRP-1	<i>Streptococcus pyogenes</i>
PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

1. GİRİŞ

Doğal ilaçların çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Farmakognozi doğal kaynaklı ilaçlarla ilgilenen bir bilim dalıdır. Başlangıçta bitkileri, ilacın orijinini tanımlamak şeklinde ortaya çıkan bu bilim dalı 1970'li yıllarda artık bitkiler yerine bitkilerde yeni ilaç hammaddelerini araştırmak biçimine dönüştü. İlk bitkisel kaynaklı moleküllerin izolasyonu 1800'lü yıllara rastlasa da, bunun yoğun bir şekilde uygulanışı 1970'li yıllarda oldu. Yani insanlar, artık bitkileri ilaç olarak, meyvesi, tohumu, gövde kabuğu ya da yapraklarıyla değil de, o kısımlarda bulunan etken madde olarak görmeye başladılar. Onu elde edelim, geliştirip, ilaca dönüştürelim çalışmalarının peşine düştüler. Sonuçta öyle bir noktaya gelindi ki, tamamen moleküle inildi. Böylece, bütün doğal organizmalar; kara bitkileri, deniz organizmaları, mikroorganizmalar vb. ilaç hammadde kaynağı olarak düşünölmeye başlandı.

Bazı bilim adamlarına göre, bitkisel ilaçların etkisi bir orkestradan alınan müzik dinletisi gibidir. Çünkü birbirlerinin etkisini artıran, güçlendiren ya da tam tersi azaltan çok farklı yapılar bir aradadır. İkincil metabolitlerin kimyasal yapıları bitkilerin alfabesidir. Bilim adamları bu alfabeyi çözerlerse onların en azından hangilerinin ne tür bir etkiye sahip olduklarını bulabileceklerini düşünmektedirler.

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılmaya başlanması 5 bin yıl öncesine dayanır. 19. ve 20. yüzyıllarda kimya ve biyokimya bilimlerindeki ilerlemeler sonucu, bitkilerin doğrudan kullanımı yerini bitkilerden elde edilen etken maddelerin kullanımına bırakmıştır. Günümüzde sentetik ilaçların neden olduğu yan etkiler, artan ilaç fiyatları ve ilaç sanayinin yarattığı kirlilik, bitkilerle tedavinin yeniden gündeme gelmesine, doğal tedavi yöntemlerine olan ilginin artarak yaygınlaşmasına neden olmuştur. 1980'lerin başında yapılan bir WHO (Dünya Sağlık Örgütü) araştırmasında dünya nüfusunun % 80'inin temel sağlık gereksinimleri için bitkisel ilaçlardan medet umduklarını ortaya çıkarmıştır. Bunun nedeni dünya ilaç üretiminde gelişmekte olan ülkelerin payının % 20 olmasından ötürüdür. Bu yönden gelişmekte olan ülkelerde yaşayanların modern ilaçlara ulaşmaları kolay değildir.

Son yıllarda sentetik ilaçlarla meydana gelebilen ciddi yan etkilerin yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar, "yaratıcıları" arasında uluslararası ilaç sanayinin de yer aldığı, endüstrileşmiş ülkelerdeki çevre kirliliğinin güçlendirdiği ekolojik yaklaşımlar

ve hareketler, küratif tedavileri henüz mümkün olmayan bir çok faktöre bağılı olarak bitkisel tedaviyi tekrar popüler hale getirmiştir. 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bitkisel ilaçların satışının bir önceki yıla göre % 59'luk bir artış göstermiş olması, hastaların % 3-5'lik bir bölümünün temel tedavi olarak sadece bitkisel tedavi alıyor olması, bu tedaviler için yalnız Amerika'da yılda 3,24 milyar dolar, İngiltere'de 40 milyon sterlin harcanması ve Dünya Sağlık Örgütü'nün insanların %80'inin doğal tedaviye inandığını açıklaması bu popülaritenin iyi bir göstergesidir. Halen bitkisel ilaçlara gönül veren bir çok hasta bitkisel ilacını, aktardan aldığı bitkiden veya bitki parçalarından kendi mutfağında hazırlar ve genelde doktora veya diğer bir uzmana danışmadan kullanır. Diğer yandan, sentetik ilaç üretimi kalitesinde ve standartlar temelinde bitkisel ilaç üreten firmaların sayısı da giderek artmaktadır.

Herbalistler (bitkisel tedavi uzmanları) bitki tedavisinde, sadece etken maddenin izole edilip verilmesini amaçlayan tedavinin aksine, maksimum etkinin bir bütünsellik içinde ortaya çıktığını, bitkinin tüm bileşenlerinin olumlu etki üzerinde bir payı olduğunu savunurlar. Onlara göre saflaştırılmamış bitkinin kullanımı, bitkiyi oluşturan maddelerin birbirini nötralize etmesi sebebiyle yan etki olasılığını azaltmaktadır.

Ancak, unutulmamalıdır ki, doğal olan her zaman güvenli olan demek değildir. Pek çok bitki yüksek derecede toksiktir ve diğer komplemanter tedavi yöntemleri içinde fitoterapi yan etki ve toksisite yönünden çok daha fazla risk taşır. Yapılan bir araştırmada, Kuzey Amerika'da bitkilerden zehirlenenlerin sayısının hayvanlar tarafından yaralananlardan daha çok olduğu ortaya konulmuştur. Literatürde ise kullanılan şifalı bitkilerin bir kısmının hepatotoksik (karaciğere toksik) olduğunu kanıtlayan çeşitli çalışmalar ve zaman zaman ölümcül olduğunu gösteren vaka sunumları bulmak mümkündür. Bu tür bir tedavinin direkt toksik etkisinden başka, hastanın kullandığı diğer konvensiyonel ilaçlarla tehlikeli boyutlarda etkileştiği bilinmektedir. Almanya'daki doktorların yazdıkları kimyasal ilaçların yan tesirinden dolayı her yıl 25 bin kişi ölmektedir. Bu konuda yazılmış olan eserler mevcuttur ve bu belgelere dayanmaktadır. Mesela bir Contagan'ın 15 bin çocuğun spastik özürülü doğmasına neden olduğu bilinmektedir. Çeşitli kuruluşlar bu denli toksik olabilen ve o kadar da rağbet gören şifalı bitkilere belli standartlar getirmeye ve fitoterapiyi bir "ototerapi" (kendi kendine tedavi) olma şekline çıkarmaya çalışmışlardır. Bu tür girişimlerin en çok yapıldığı ülke İngiltere'dir. Exeter Üniversitesi ve Medikal Herbalist

Enstitüsü, uygulayıcılar tarafından bildirilen yan etkilerin kaydedildiği bir veri bankası olan 'yeşil kart' sistemini oluşturmak için çaba sarf etmektedir. Yine aynı enstitü ve diğer bazı merkezler patoloji, biyokimya, farmakoloji, farmakognozi, fizyoloji, botanik, beslenme, klinik tanı ve diğer komplementer tedavi yöntemlerini kapsayan 4 senelik bir kurs düzenlenmekte ve mezunlarına tüm ülkede geçerli herbalist diploması vermektedir. Benzer çalışmalar Amerika ve diğer bazı Avrupa ülkelerinde de yapılmaktadır.

Amerika'da Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından, kanserde etkili tedaviyi bulmak için yapılan araştırmalarda son 10 yılda incelenen 53.000 maddenin 37.500'ünün bitki (36.000 tanesi kara, 1500 tanesi deniz bitkisi) olduğu, 1983-1993 yılları arasında tanımlanan ilaçların % 40'nın bitkilerden köken aldığı ve bunların Amerika'da reçete edilen ilaçların % 50'sini oluşturduğu bilinmektedir.

Almanya'daki bitkisel ilaçlar arasında en fazla sayıda bulunanlar psikotrop ilaçlardır. 1984-1994 yılları arasında uykusuzluk, sinirlilik gibi hallerde kullanılan *Ginkgo*, *Lavandula* (lavanta), *Kava-Kava*, *Melissa* (oğulotu), *Valeriana* (kediotu), *Passiflora* (çarkıfelek), *Hypericum* (kantaron), *Humulus lupulus* (şerbetçiotu) gibi bitkisel preparatların monografileri yayınlanmıştır. Ayrıca Almanya'da en çok satılan 7. reçeteli ilacın *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) preparatı olduğu da bilinmektedir.

Etkileri ispat edilmiş bitkilerin etken maddelerinin araştırılması için bugün, modern biyokimyasal, moleküler hücre biyolojisi ve yapı analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar *Biochemical Systematics&Ecology*, *The Journal of Ethnopharmacology*, *Journal of Natural Products*, *Natural Medicines*, *International Journal of Pharmacognosy*, *Phytomedicine*, *Phytotherapy Research*, *Planta Medica*, *Medicinal* ve *Aromatic Plants* vs. adlı dergilerde yayınlanmaktadır.

1986'dan beri 40.000'nin üzerinde bitki taranmış ancak bunlardan yalnızca 5 tanesinin AIDS'e karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.¹

Bu gün kanser ilaçlarına baktığımızda, kullanılan ilaçların çoğunun doğal kaynaktan hareketle elde edildiğini görürüz. Örneğin şu anda göğüs kanseri tedavisinde kullanılan ve en etkili ilaçlardan biri olan Taxol (*Taxus baccata* L.) Güney Afrika'da yetişen Porsuk ağacından elde edilmiştir.^{2,3} Yine kanser hastalığının tedavisinde kullanılan Vinblastine ilacı da *Catharantus roseus* (Madagaskar menekşesi) bitkisinden elde edilmiştir. Bu bitki *Vinca rosea* veya *Periwinkle* olarak da bilinmektedir.^{4,5} Bunların dışında bleomycin, doxorubicin, daunorubicin, vincristine, mitomycin,

streptozocin gibi önemli kanser ilaçları da doğal kaynaklı olup bitkilerden veya mikroorganizmalardan elde edilmiştir.⁶

Antibiyotiklerin ise % 99'u doğal kaynaklıdır. Yine morfin kadar ağrı kesici etkisi yüksek olan bileşik, kara kurbağasından elde edilmiştir. Morfin haşhaş bitkisinin temel alkaloididir. Ancak bağımlılık yapması gibi yan etkileri vardır. Şimdi bilim adamları bu bağımlılık yapıcı özelliği yok etme uğraşı içindeler. İlaç kimyacılarının yeni ilaç geliştirmede başvurdukları yollardan biri de budur. Bunun amacı doğal bileşikte gözlenen etkiyi artırmak ve yan etkileri azaltmaktır.

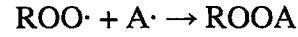
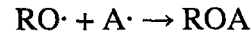
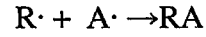
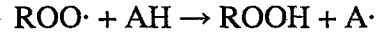
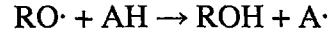
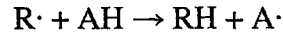
Bilgisayar teknolojisindeki gelişmeler çok farklı çalışma biçimlerini de gündeme getirmiştir. Artık, ekranda bile molekül dizaynı yapılmaktadır. Bir molekülün etkisinden sorumlu gruplarını aynı açıda, aynı uzaklıkta taşıyan moleküller üreterek, orijiniyle ilk bakışta hiçbir ilgisi olmayan molekülden yeni etkili bileşikler elde etmek olasıdır. Ama bütün bu çalışmalarda doğa yine çok önemli, hatta bulunmaz bir etken madde kaynağı olmaktadır.

Bilimin ilerlemesiyle birlikte daha çok kullanılmaya başlanan yarı sentetik antimikrobiyal maddelerin yan etkilerinin de olması ve bazı mikroorganizmaların zamanla bu kullanılan antimikrobiyal maddelere karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmeleri bu ilaçların kullanılmasını zamanla anlamsız hale getirmektedir. Antibiyotikle karşılaşa karşılaşa direnç geliştiren bakterilerden en korkulanlarından biri de *Staphylococcus aureus*'tur. Bu bakteri penisiline direnç geliştiren bakterilerden ilkidir. Bununla da kalmayıp diğer antibiyotiklerin yanı sıra, pek çok bakterinin direnç geliştiremediği metisilin antibiyotiğini bile etkisiz kılmıştır. Genellikle *S. aureus* yalnızca metisiline değil, pek çok antibiyotik grubuna da direnç göstermektedir, yani çoklu direnç söz konusudur. 1998 yılı Mayıs ayında bir Japon araştırmacı *S. aureus*'un yeni bir antibiyotik olan vankomisine direnç geliştirdiğini gözlemiştir. Dolayısıyla bu mikroorganizmaya karşı seçilebilecek çok az antibiyotik vardır, bir ya da iki antibiyotik kullanılmaktadır. Bunlar da pahalı oldukları kadar insan hücrelerine de zararlıdırlar. Bunlar glikopeptid sınıfı antibiyotiklerdir bunlardan birisi de vankomisindir. Eğer bir *S. aureus* vankomisine direnç geliştirirse öteki antibiyotik de bu bakteriyi öldüremez. Bu bakteriyle hastane ortamında yeni ameliyat olmuş bir insanın enfekte olması durumunda ölmesi mümkündür.

Antibiyotiklerin hepsi etkiledikleri bakterileri öldürmez. Kimisi karşılaşma anında onları ölüme sürüklerken kimisi onların gelişmelerini ve üremelerini önler daha sonra temizlik işini vücudun bağışıklık sistemine bırakır. Bakterileri dolaysız yok eden antibiyotiklere bakterisit adı verilir. Bakterilerin gelişmelerini ve üremelerini önleyenler ise bakteriyostatiktir. Penisilin ve vankomisin gibi etki gösteren antibiyotikler, bakterinin hücre duvarını hedef alırlar. Hücre duvarı, bakteri hücresinin bütünlüğünü sağlar. Penisilin gibi etki gösteren antibiyotikler bakterinin hücre duvarı oluşturmasını önler. Bunun üzerine bakterinin içine sıvı hücumu olur ve hücre patlayarak etkisiz hale gelir.

Bazı antibiyotikler bakterinin proteinlerini hedef alırlar. Proteinler hücrelerin yaşamsal işlevlerini gerçekleştirirler, yokluklarında da yaşamsal işlevler aksar. Proteinlerin üretimi hücrede ribozomlarda yapılır. İşte bazı antibiyotikler bakterinin ribozomuna etki ederek, bakteri için yaşamsal öneme sahip proteinlerin üretilmesini yavaşlatır ve hatta ribozoma yanlış protein üretirir. Bazı antibiyotikler ise bakterinin yaşaması için kaçınılmaz olan proteinleri oluşturması için gerekli amino asitlerin sentezini önler. Bakteriler normalde amino asitleri sentezleyebilirler ve bunları bir araya getirerek proteinleri oluştururlar. Amino asit sentezlenemeyince protein de sentezlenemez ve bakterinin yaşama şansı olmaz.

Vücudumuzda kanser, AIDS, kalp hastalıkları, alzheimer, parkinson, diyabet ve yaşlanma gibi hastalıklar için bir savaş veriyoruz. Bunlara neden olan etkenlerden biri de serbest radikallerdir. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır ve insan vücudunu oluşturan moleküllerdeki elektronların neredeyse tümü elektron çiftleri halinde bulunur. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte kalır yada ayrılırlar. Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur, eğer ayrılırlarsa da serbest radikaller oluşur. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldırırlar. Çoğu elektronlar çiftler halinde bulunurken, serbest radikaller bu elektronları birbirinden ayırarak molekülün doğasını bozar. Sonuçta serbest radikal kendine bir elektron alarak elektron çifti haline geçerken, diğer elektronu taşıyan molekül serbest radikale dönüşür. Antioksidant maddelerin serbest radikalleri söndürme mekanizması aşağıdaki reaksiyonlarda gösterildiği gibidir.



Oksidasyona yaygın olarak Reaktif oksijen türleri (ROS) radikaller ve nonradikaller neden olurlar. Aşağıda bunlardan bazıları gösterilmiştir.

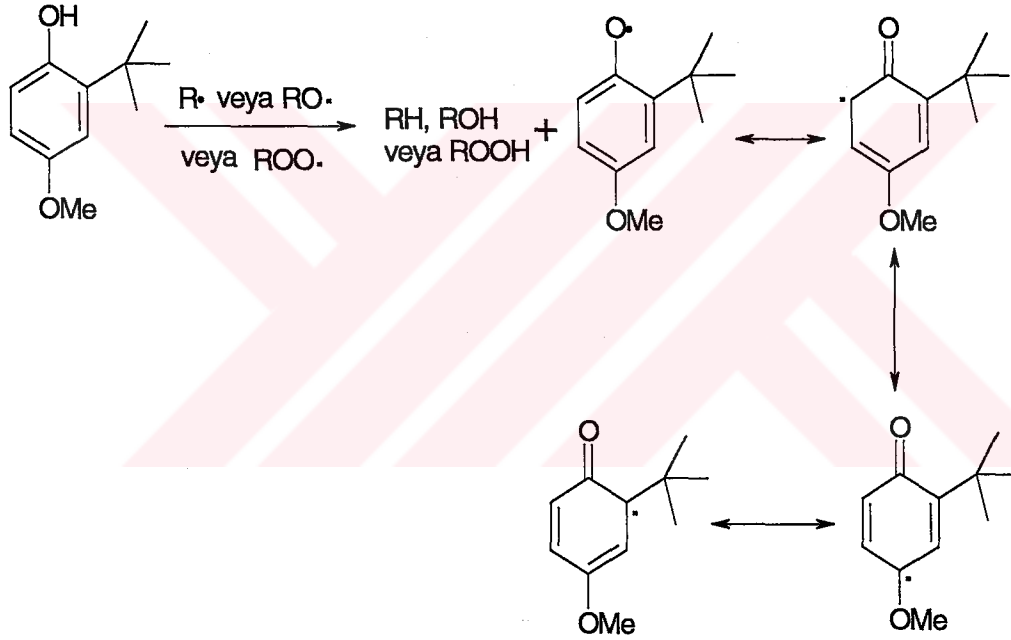
Radikaller		Nonradikaller	
Süperoxide	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$\cdot OH$	Hidroklorit asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO\cdot$	Ozon	O_3
Alkoksil	$RO\cdot$		
Hidroperoksil	$HOO\cdot$		

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin kaynağı iki türlü olup, bunlar;

1. İç Kaynaklar (Endosources): Bunlar vücut içinde oluşup, oksidatif fosforilasyon, oksidasyonlar sırasında glikolizisde ortaya çıkabilir. Hatta egzersizlerde oksijen kullanımındaki artışla beraber serbest radikal oluşumuna neden olur.

2. Dış Kaynaklar (Exosources): Bunların da kaynağı dışardandır. Sigara, pestisitler, organik çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, güneş ışınları, çevre kirleticileri, X-ışınları bu tür radikallere sebep olmaktadır.

Antioksidantlar serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluştururlar ve serbest radikalleri tutarak başka yere zarar vermesini engellerler. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. Hücre membran proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipitlerinde peroksit oluşturmak, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini zorlamak bu hasarlar arasında sayılabilir. Antioksidantlar ise bu serbest radikallerin etkilerini nötralize eden moleküllerdir. Şekil 1.1.'de Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)'ün serbest radikallerin etkilerini nasıl nötralize ettiği gösterilmektedir.



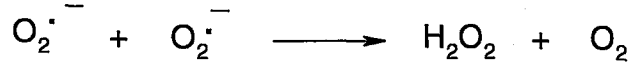
Şekil 1. 1. BHA'nın stabilizasyonu

Bir çok antioksidant madde antikanser ve antikarsinojenik özelliklere sahiptir.^{7,8} Örneğin üzümdeki ve başka yiyecek ürünlerindeki resveratrolün hücreyi oksidatif zarar ve hücre ölümlerinden koruduğu ve fareyle ilgili yapılan model çalışmada kanserojenleri engellediği görülmüştür.⁹⁻¹¹ Antioksidant olan resveratrol, siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe eder. Bu enzim kanserli hücrelerin gelişmesine neden olabilir. Resveratrolün bu amaçla iyi bir koruma aktivitesine sahip olduğu görülmüştür.^{12,13}

Bütün aerobik organizmalarda buna insanda dahil olmak üzere oksidasyonlara karşı antioksidant savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri yok eden Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutasyon Peroksidaz enzimleri ile Sülfhidril proteinleri ve diğer serum proteinleri gibi.

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Hücre içinde mitokondride doğal olarak bulunan bir enzimdir. Süperoksit radikallerini daha az reaktif olan hidrojen peroksit formuna çevirirler.



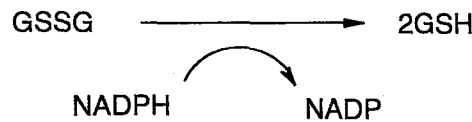
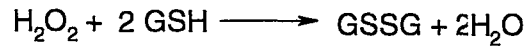
Katalaz

İnsan hücrelerindeki peroksizomlarda bulunur. Hidroksil radikallerinin oluşumunu önlemek için hidrojen peroksiti suya ayırıştırır.



Glutasyon Peroksidaz

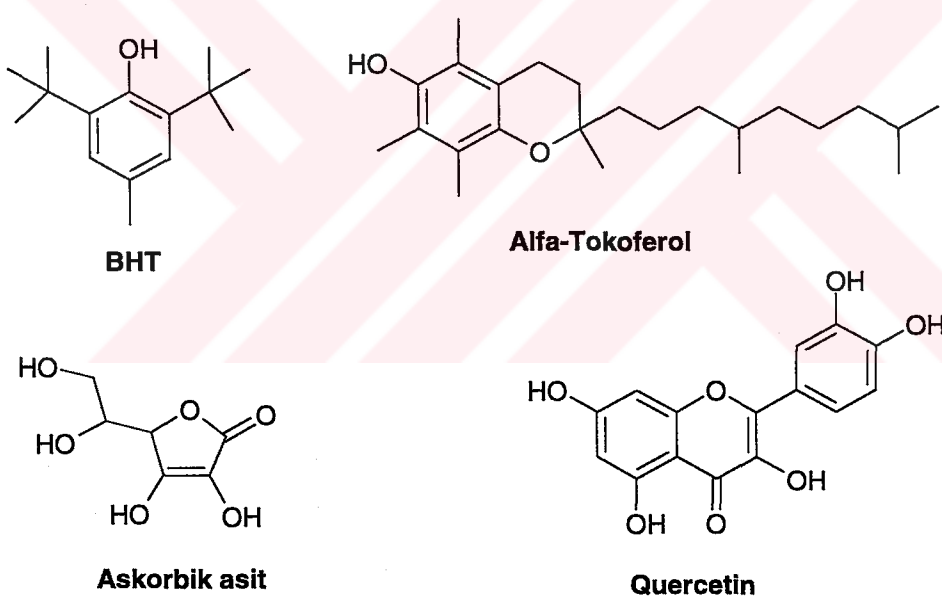
İndirgenmiş glutasyon (GSH)'un SH grubunda, su oluşturmak için hidroksil radikali ya da hidrojen peroksitle birleşmek üzere hidrojen çıkartmasını sağlar. İndirgenmiş glutasyonun geri kazanılması NADPH'a bağımlı glutasyon redüktaz enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir.



Sülhidril proteinleri ve diğer serum proteinleri

Organik peroksitleri ve hidroksil radikallerini zararsız kimyasallara dönüştürürler.

Ancak bazı durumlarda bu savunma mekanizmaları yetersiz olabilmektedir. Bundan dolayı ek olarak almamız gereken antioksidantların önemi artmaktadır. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi sentetik antioksidantlar yiyecekleri korumak için kullanılmaktadır. Fakat bazı çalışmalar göstermiştir ki bu tür antioksidantların yan etkileri mevcuttur. Kullanılan sentetik antioksidantların yan etkilerinin olması ve pahalı olmasından dolayı bizleri doğal kaynaklı maddelerden yeni antioksidantlar bulmaya yönlendirmiştir. Şekil 1.2.'de antioksidant aktivite gösteren bazı moleküllerin yapıları gösterilmektedir.



Şekil 1. 2. Antioksidant aktivite gösteren bazı moleküller

1.1. *Hypericum* türlerinin genel özellikleri

Çok yıllık otsu bitkilerdir. Yaprakları basit genellikle şeffaf, salgı noktalıdır. Çiçekleri 5 çanak ve 5' de taç yaprakтан oluşur. Taç yaprakları genellikle sarı renklidir. Taç yapraklarının üzerinde saydam salgı lekeleri kenarlarında ise siyah salgı noktaları

vardır. Stamenleri 5'li demetler halinde çok sayıdadır. Meyve kapsül tipinde olup kenarlardan açılır. Türkiye'de 78 türü bulunur. Bunlardan 13 türü Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış göstermektedir.¹⁴ *Hypericum* türlerine genel olarak kantaron, binbirdelik otu, kepir otu, mayasıl otu, koyunkıran isimleri verilmektedir.¹⁵

Hypericum bitki türleri dünyanın çeşitli yerlerinde tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.¹⁶ Bu türler üzerindeki çeşitli fitokimyasal araştırmalar bu bitkilerin antimikrobiyal, antifungal ve cytotoxic bileşenlerinin izole edilmesine yol açmıştır.¹⁷⁻¹⁹

St. John's Wort (SJW)'de denen *Hypericum perforatum* ruhsal hastalıkların tedavisinde çok sık kullanılan bir bitkidir.²⁰ Bu bitki eski Yunan ve Roma medeniyetleri zamanında kötü büyücülere karşı koruyucu olarak ünlenmişti. Başta Almanya olmak üzere bir çok Avrupa ülkesinde bu bitki "Doğal Antidepresan" olarak kullanılmaktadır. Sarı kantaron hakkında yapılan araştırmalar bu bitkinin sentetik antidepresan ilaçlarla benzer etkili olmasına rağmen daha az yan etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bitkinin yaprakları ışığa karşı tutulduğunda, yağ guddeleri, parlak noktacıklar halinde kolaylıkla görülür. Bitkiye binbirdelik otu denmesi bu özellikten ileri gelmektedir.

H. perforatum' la ilgili olarak yapılan çeşitli çalışmalar bu bitkinin antidepresan, antiviral, antimikrobiyal, anksiyete ve yara iyileştirici özellikleri olduğunu ortaya koymuştur.²¹⁻²⁶ *Hypericum* türlerinin antiviral prenylated phloroglucinol türevleri içerdiği bildirilmektedir.²⁷

Hypericum türleri flavonoids²⁸⁻³², xanthones³³⁻³⁵, chromenyl ketones^{36,37}, hyperforin türevleri³⁸⁻⁴⁰, phloroglucinols⁴¹⁻⁴³, n-alkanes⁴⁴, naphodianthrones⁴⁵ ve temel yağ asitlerini⁴⁶ içerirler.

H. scabrum, dahilen basura ve kabızlığa karşı kullanılmaktadır. *H. perforatum*, dahilen antispazmotik, kabız, yatıştırıcı ve kurt düşürücü, haricen ise antiseptik ve yara iyileştirici olarak kullanılır. Özellikle yanık yaralarının tedavisinde çok etkilidir.

1.2. *Achillea* türlerinin genel özellikleri

Çok yıllık tüysü, otsu bitkiler olup genellikle kök kısımları odunsuzdur. Yaprakları basit veya 3-4 kez tüysü parçalı bölünmüştür. Çiçek durumu yalancı şemsiye şeklinde olup dal uçlarında dizilidir. Çiçekler beyaz veya sarı renkli, küçük başçıklar

şeklinde toplanmıştır. Kenar çiçekleri dişi cinsiyetli, dilsî şekilde ve üç dişlidir. Merkezdeki çiçekleri hermafrodit, tûp şeklinde ve beş dişlidir. Akenler (meyve) diktörtgenimsî veya ters yumurtamsî şekilli, kanatsız ve tüysüz olup pappusları (tüy demeti) yoktur. Türkiye’de 40 türü bulunur. Bunlardan 8 türü Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yetişmektedir.⁴⁷ *Achillea* türlerine genel olarak civanperçemi, akbaşı, ak yavşan, barsama otu, baytaran, kandil çiçeği, *Achillea aleppica* için yılan çiçeği, yılan otu, *A. biebersteinii* için pire otu, sarı civanperçemi, *Achillea millefolium* için beyaz civanperçemi, binbiryaprak isimleri verilmektedir.¹⁵

Achillea türleri eucalyptol, camphor, α -terpineol içerirler.⁴⁸⁻⁵⁰ *A. millefolium* ve *A. biebersteinii* uçucu yağlar içerirler. Bu yağlarda azulen, limonen, borneol, pinenler ve seskiterpenler vardır.

A. millefolium, iştah açıcı, karın sancılarını giderici, kan temizleyici ve idrar söktürücü olarak kullanılır. *Achillea multifida* karın şişliklerini giderici olarak kullanılır. *A. biebersteinii* pirelere karşı kullanılır. *Achillea setacea*’nın yapraklarının ezilmesiyle elde edilen lapa haricen yara iyileştirici olarak kullanılır.⁵¹

Sentetik ilaçların neden olduğu yan etkiler, artan ilaç fiyatları ve mevcut antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnç geliştirmeleri bizleri antimikrobiyal ve antioksidant özelliğe sahip doğal kaynaklı yeni maddeler bulmaya yöneltmiştir. Bu gibi nedenlerden dolayı bu araştırma amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yapmış olduğumuz literatür taraması sonucu çalıştığımız bitkilerin çoğunun antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili çalışma tespit edilmemiştir. Diğer yandan bu bitkilerin hiç birinin antioksidant aktivitesi ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak çalıştığımız bitkilerle filogenetik olarak akraba ya da yakın bitkilerin son yıllarda özellikle kimyasal bileşimlerinin aydınlatılmasına yönelik araştırmalar sonucu elde edilen sonuçlar bizi bitkilerimizin antimikrobiyal, antifungal ve antioksidant özelliklerini incelemeye yöneltmiştir.

Matsuhisa ve ark., Özbekistan'dan toplanan *H. scabrum* bitkisinin gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından dokuz tane yeni polyprenylated benzoylphoroglucinol türevi izole etmişlerdir. Bunların yapısını 2D NMR ve HRMS ile belirleyip, bazı bileşenlerinin metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA)'a karşı hafif *in vitro* antibakteriyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.⁵²

Sökmen ve ark., 33 bitkinin metanol özütünün 11 bakteri (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Branhamella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium glutamicum*, *Mycobacterium smegmatis*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *S. aureus* ve *Streptococcus pneumonia*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini agar diffüzyon testini kullanarak incelemişlerdir. Bu bitkilerin 9 tanesinin 18 ham özütünün (*Agrimonia eupatoria*, *H. scabrum*, *Mentha longifolia*, *Onobrychis tournefortii*, *Peganum harmala*, *Phlomis sicheana*, *Pimpinella anisum*, *Salvia verticillata* ve *Tanacetum vulgare*) test edilen mikroorganizmaların en az birinde ya da daha fazlasında antibakteriyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Aktif özütün minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerini belirlemişler ve genellikle metanol özütünün suda çözünen kısımlarının yine aynı özütün suda çözünmeyen kısımlarına kıyasla test edilen mikroorganizmalar üzerinde daha etkili olduğunu bulmuşlardır.⁵³

Baser ve ark., *H. scabrum* ve *H. perforatum* bitkilerinin temel yağ asitlerinin yapılarını GC/MS ile analiz etmişlerdir. *H. scabrum*'un temel yağ asitlerinin ana bileşenleri olarak alfa-pinen (% 11.20), spathulenol (% 7.2), p-cymene (% 6.1), acetophenone (% 4.8) ve carvacrol (% 4.7)'u içerdiğini bulmuşlardır. *H. perforatum*'un temel yağ asidi olarak ise beta-caryophyllene (% 11.70), caryophellene oxide (% 6.3), spathulenol (% 6.0) ve alfa-pinen (% 5.0) içerdiğini tespit etmişlerdir.⁵⁴

Yeşilada ve ark., Türkiye’de geleneksel tıpta ülser tedavisinde kullanılan *Cedrus libani*, *Centaurea solstitialis* subsp. *solstitialis*, *Cistus laurifolius*, *H. scabrum*, *Plantago major*, *Sambucus ebulus* ve *Spartium junceum* bitkilerinin farelerde oluşturulan ülser üzerine tedavi edici etkisini incelemişlerdir. Bütün bitkilerin sulu ekstraktının oral yolla alındığında önemli bir antiülsergenojik etkilerinin olduğunu bulmuşlardır. *C. laurifolius*’un yüksek dozda (746 mg/kg) alındığında toksik olduğunu, düşük dozda (300 mg/kg) alındığında ise yüksek antiülsergenojik etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır.⁵⁵

Saboiev ve Mastonshoeva, *H. perforatum* ve *H. scabrum*’un gövde, yaprak ve çiçek kısımların kimyasal analizini yapmışlardır. Her iki türünde yüksek miktarda flavonoid (% 3.24-5.74), coumarin (% 0.73-0.87), carotenoid (74-82 mg/100 g) ve askorbik asit (323-362 mg/100g) içerdiğini bulmuşlardır.⁵⁶

Zevakov ve ark., *H. perforatum*, *Hypericum maculatum*, *Hypericum tetrapterum*, *Hypericum elegans*, *H. scabrum*, *Hypericum hirsutum* ve *Hypericum ascyron*’un tohumlarını analiz etmişlerdir. Tüm bitki türlerinde hypericin ve ilk dört türde pseudohypericin olduğunu tespit etmişlerdir.⁵⁷

Çakır ve ark., Türkiye’den toplanan *H. scabrum* ve *H. perforatum*’un uçucu yağ bileşenlerini kıyaslamışlardır. *H. scabrum* ve *H. perforatum*’un gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının uçucu yağ bileşenlerini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. *H. scabrum*’un uçucu yağlarının alfa-pinen (% 71.60), beta-caryophyllene (% 4.8), myrcene (% 3.8), cadalene (% 3.4) ve beta-pinen (% 2.9), içerdiğini bulmuşlardır. *H. perforatum*’un uçucu yağlarının ise alfa-pinen (% 61.70), 3-carene (%7.5), beta-caryophyllene (% 5.5), myrcene (%3.6), cadalene (% 3.2) ve başka komponentler içerdiğini bulmuşlardır. *H. scabrum*’un uçucu yağlarının içerdiği 29, *H. perforatum*’un uçucu yağlarının içerdiği 27 terpenoid bileşenin yapısını aydınlatmışlardır.⁵⁸

Özen ve ark., *H. scabrum*, *Hypericum scabroides* ve *Hypericum amblysepalum*’un çiçekli kısımlarının yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonlarını gaz kromatografisiyle belirlemişlerdir. Bu çalışmada *H. scabrum*’un 5, *H. scabroides*’in 9 ve *H. amblysepalum*’un 8 yağ asiti kompozisyonu aydınlatılmıştır. En önemli komponentler olarak *H. scabrum*’un alfa-linolenik (% 48.60), linolenik (% 32.53), oleik (% 11.45), *H. scabroides*’in alfa-linolenik (%29.84), palmitik (% 27.90), oleik

(%16.49), *H. amblysepalum*'un ise alfa-linolenik (% 41.79) ve palmitik asit (% 32.28) içerdiğini tespit etmişlerdir.⁵⁹

Kızıl ve ark., *H. scabrum*, *H. scabroides* ve *Hypericum triquetrifolium*'un temel yağ asitlerinin antimikrobiyal aktivitelerini 9 organizmaya karşı ilk kez incelemişlerdir. *Hypericum* türlerinin test edilen 9 organizmaya karşı ve mayaya karşı antibakteriyel etki gösterdiğini bulmuşlardır.⁶⁰

Özen ve ark., *H. perforatum* ve *H. retusum*'un çiçekli kısımlarının yağ asitlerini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. En önemli komponentler olarak *H. perforatum*'un C16:O (% 24.87), C18:3 (% 21.94), 3-OH-C(18:O) (% 18.46) ve 3-OH-C14:O (%14.22) yağ asitlerini içerdiğini, *H. retusum*'un 3-OH-C14:O (% 28.29), C18:O (%16.47) ve C16:O (%14.17) yağ asitlerini içerdiğini tespit etmişlerdir.⁶¹

Özen ve ark., *H. lysimachioides*'in yaprak ve çiçek kısımlarının yağ asitlerini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. *H. lysimachioides*'in normal yağ asitleri dışında nadiren 3-hidroksi yağ asitleri [3-hidroksi-tetradekanoik asit (3-OH-C14:0) ve 3-hidroksi-oktadekanoik asit (3-OH-C18:0)] yağ asitlerini içerdiğini tespit etmişlerdir.⁶²

Sökmen ve ark., Türkiye'de yetişen 24 tane tıbbi bitkiden elde edilen dış kabuk kısımlarının, 11 tanesinin hücre kültüründen elde edilen ekstraktlarının ve ham özütünü hazırlamışlar ve bunların antimikrobiyal aktivitelerine *in vitro* olarak bakmışlardır. 5 tane bitkinin hücre kültürünün (*A. biebersteinii*, *Hypericum capitatum*, *H. scabrum*, *Nigella sativa* ve *Pimpinella anisum*) 3 bakteri ve *Candida albicans*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bitkilerin basit herpes virüsüne karşı HSV-I ve II aktivite göstermediğini ancak *H. capitatum*'un bir özütünün HIV-I'e karşı zayıf anti-retroviral aktivite gösterdiğini saptamışlardır.⁶³

Yine Sökmen ve ark., 35 bitkiden 76 ekstrakt elde etmişlerdir. Bunlardan *H. scabrum*'un suda çözünmeyen metanol özütünün *C. albicans*'a karşı belirgin bir şekilde antifungal etki gösterdiğini bulmuşlardır. *B. cereus* ve *S. aureus*'a karşı *H. scabrum*'un suda çözünmeyen metanol ve aseton özütlerinin antimikrobiyal aktivite göstermediğini saptamışlardır. Yine *H. scabrum*'un suda çözünmeyen metanolik kısmının ve aseton ekstraktının *C. perfringens*'e karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. *H. scabrum*'un Hypericaceae kısmının ve *A. biebersteinii*'nin gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının ise test edilen mikroorganizmaların hiçbirine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini bulmuşlardır.⁶⁴

Jaimand ve Rezaee, İran'dan toplanan *Achillea tenuifolia*, *A. biebersteinii* ve *Achillea filipendulina* bitkilerinin çiçekli kısımlarının temel yağ asitlerini belirlemişlerdir. Üç bitkinin de kuru ağırlığının % 0.2'sini oluşturan temel yağ asitlerini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. Temel yağ asitlerinin başlıca monotermen içerdiklerini saptamışlardır. En önemli komponentler olarak *A. tenuifolia*'nın gamma-murolene (%13.30), alfa-pinen (%10.00), camphor (%9.4), p-cymene (%8.5), ve trans-carveol (%8.4), *A. biebersteinii*'nin piperitone (%45.90), 1,8-cineole (%17.60), limonene (%5.6) ve p-cymene (%5.2), *A. filipendulina*'nın limonene (%26.70), carvacrol (%9.3), 1,8-cineole [eucalyptol] (%8.7), borneol (%7.8) ve alfa-humulene (%5.6) içerdiğini tespit etmişlerdir.⁶⁵

Ammar ve ark., Ürdün'den toplanan *Achillea santolina* ve *A. biebersteinii*'nin temel yağ asidi kompozisyonlarını belirlemişlerdir. Bu iki bitkinin temel yağ asitlerinin oldukça farklı olduğunu saptamışlardır. *A. santolina*'nın başlıca 1,8-cineole, camphor, 4-terpineol ve trans-carveol içerirken *A. biebersteinii*'nin cis-ascaridole, p-cymene, carvenone oxide ve camphor içerdiğini tespit etmişlerdir.⁶⁶

Küsmenoğlu ve ark., Türkiye'nin 2 farklı yerinden toplanan *A. biebersteinii*'nin gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının temel yağ asitlerini GC ve GC-MS ile belirlemişlerdir. Ankara'dan toplanan *A. biebersteinii*'nin piperitone (%49.90) ve 1,8-cineole [eucalyptol] (%10.81), Erzurum'dan toplanan *A. biebersteinii*'nin ise 1,8-cineole (%29.93) ve camphor (%17.35) içerdiğini tespit etmişlerdir.⁶⁷

Chialva ve ark., Erzurum'dan toplanan *A. biebersteinii*'nin gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının temel yağ asitlerini GC ve GC-MS ile belirlemişler ve 47 komponentin yapısını aydınlatmışlardır. Önemli komponentler olarak 1,8-cineole (%46.20), camphor (%17.60), alfa-terpineol (%8.2), borneol (%3.4), sabinene (%3.2) ve terpinen-4-ol (%3.1) içerdiğini saptamışlardır.⁶⁸

Rustaiyan ve ark., İran'dan toplanan *Achillea talagonica*, *Achillea vermicularis* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin yaprak ve çiçek kısımlarının temel yağ asitlerini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. *A. talagonica*'nın 1,8-cineole [eucalyptol] (%27.00) ve camphor (%20.00), *A. vermicularis*'in 1,8-cineole [eucalyptol] (%29.00) ve camphor (%32.00), *A. biebersteinii*'nin ascaridole (%37.00), piperitone (%17.00) ve camphor (%12.00) içerdiklerini bulmuşlardır.⁶⁹

Oskay ve Yeşilada, *A. biebersteinii*'den 4 flavonoid, 2-tricosanone, quercetagitrin, patulitrin, jaceidin ve 3 tane başka bileşeni izole edip yapılarını aydınlatmışlardır.⁷⁰



3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

Bu çalışmanın materyalini oluşturan bitki örnekleri Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümünden Doç. Dr. A. Selçuk ERTEKİN tarafından toplandı ve teşhis edildi. Bitkilerin resimleri de kendisi tarafından çekilmiştir. Teşhis edilen bitki örnekleri Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Herbaryumunda (DUF) saklanmaktadır.

3.1.1. Kullanılan Bitki Türleri, Tanımları ve Yayılışları

H. retusum, Diyarbakır: Çüngüş, Çermik-Çüngüş 17 km, tarla kenarından 27.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9503

H. scabrum, Diyarbakır: Ergani, Ergani-Maden 3 km, yamaçlardan 25.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9501

H. lysimachioides, Diyarbakır: Ergani, Ergani-Çermik 11 km, yamaçlardan 27.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9502

A. aleppica subsp. *aleppica*, Diyarbakır: Diyarbakır-Silvan 38 km, yol kenarından 28.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9504

A. aleppica subsp. *zederbaueri*, Mardin: Mazıdağı, Yukarı konak köyü 2-3 km, yamaçlardan 18.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9500

A. biebersteinii, Diyarbakır: Diyarbakır-Siverek 45 km, yol kenarından 30.05.2003 tarihinde toplandı. No: DUF 9505

3.1.1.1. *Hypericum retusum* Aucher

Dalları 15-50 cm boyunda, dik ve tüsüzdür. Düzensiz siyah salgı keseleri bulunur. Ana gövde üzerindeki yapraklar 10-30 mm boyunda, şeritsi şekilde kenarları geriye doğru kıvrıktır. Yaprığın ucunda bir siyah salgı kesesi vardır. Çiçek durumu genellikle silindirik şekilli olup çok çiçeklidir. Çanak yapraklar dikdörtgenimsidir ve kenarlarında sapsız siyah salgı keseleri vardır. Orta kısmında 2 tane uzunlamasına siyah

salgı kanalı uzanır. Taç yapraklar 7-10 mm boyunda olup genellikle yüzeyinde siyah salgı keseleri bulunur. Kenarlarda salgı keseleri yoktur. Kapsül 5-7 mm boyunda yumurtamsı şekildedir (Resim 3.1.).

Genel Coğrafi Yayılışı: Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Suriye.¹⁴



Resim 3.1. *Hypericum retusum*

3. 1. 1. 2. *Hypericum scabrum* L.

Dalları 15-45 cm boyunda, dik ve tüsüzdür. Genellikle kırmızı salgı keseleri vardır. Ana gövde üzerindeki yapraklar 7-20 mm boyunda, genellikle dikdörtgenimsi veya mızraklı şekillidir. Çiçek durumu yalancı şemsiye şeklinde olup çok çiçeklidir. Çanak yapraklar dikdörtgenimsi genellikle 1/3'ü veya yarısına kadar birleşik, kenarları düzensiz siyah salgılı ve dişçiklidir. Taç yapraklar 5-7 mm boyundadır. Kapsül 5-8 mm boyunda ve yumurtamsı üçgen şekildedir (Resim 3.2.).

Genel Coğrafi Yayılışı: Türkiyede yaygın bir türdür. Ayrıca Güneybatı Asyada yetişir.¹⁴



Resim 3.2. *Hypericum scabrum*

3. 1. 1. 3. *Hypericum lysimachioides* Boiss. & Nöe var. *lysimachioides*

Dalları 35-75 cm boyunda, dik, tüysüz ve genellikle salgısızdır. Ana gövde üzerindeki yapraklar 30-60 mm boyunda, yumurtamsı, dar mızrak veya şeritsi dikdörtgenimsi şekillidir. Çiçek durumu dar piramit şeklinde ve çok çiçeklidir. Taç yapraklar 8-16 mm. boyundadır. Kenarlarında siyah salgı keseleri vardır. Kapsül 8-10 mm boyunda geniş yumurtası şeklindedir (Resim 3.3.).

Genel Coğrafi Yayılışı: Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Kuzey Irak ve Batı İran.¹⁴



Resim 3.3. *Hypericum lysimachioides*

3. 1. 1. 4. *Achillea aleppica* D.C.

Dalları 5-60 cm boyunda, yuvarlak, boyuna çizgili otsu bitkilerdir. Yapraklar tüysü parçalı bölünmüş, şeritsi-ipliksi şekilli ve genellikle yoğun tüylüdür. Orta yapraklar 10-40 mm boyunda, 0.8-1.5 mm enindedir. Yaprak parçaları 0.5 mm boyunda, kiremitsi dizili ve 3 lobludur. Başçıklar 6-120 adet olup genellikle çiçek sapı bulunmaz. Çanak (involucrum) dikdörtgenimsi silindirik ve 3.5-5.5 mm boyundadır. Kenar çiçekleri 2-4 adet, kirli beyaz, sarı veya altın sarısı renkli olup 1-2 mm boyundadır.

3. 1. 1. 4. a. subsp. *aleppica*

Bitki genellikle 25-60 cm boyundadır. Çanak 4-5.5 mm uzunluğunda, yalancı şemsiye 2-4.5 cm enindedir. Başçıklar genellikle 25-120 adet olup kenar çiçekleri genellikle altın sarısı renklidir.

Genel Coğrafi Yayılışı: Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Irak, Suriye, Lübnan ve Filistin.⁴⁷

3. 1. 1. 4. b. subsp. *zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor.

Bitki genellikle 5-15 cm. boyundadır. Çanak 3.5-4 mm uzunluğunda, yalancı şemsiye 1-1.5 nadiren 2.5 cm enindedir. Başçıklar genellikle 4-20 adet olup kenar çiçekleri genellikle bej veya sarı renklidir (Resim 3.4.).

Genel Coğrafi Yayılışı: İç Anadolu Bölgesi ve Mardin'de yetişen endemik bir türdür.⁴⁷

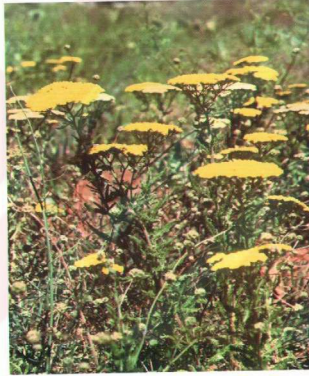


Resim 3.4. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*

3. 1. 1. 5. *Achillea biebersteinii* Afan.

Dalları 10–100 cm boyunda, yuvarlak, boyuna çizgili ve yoğun tüylü otsu bitkilerdir. Yaprakları 2–3 kez tüsü parçalı, seyrek veya yoğun tüylüdür. Orta yapraklar şeritsi veya şeritsi mızrakı şekilli, 2.5–12 cm boyunda, 0.5–2.5 cm enindedir. Yaprak parçaları 1–4 mm boyundadır. Başçıklar 30–200 adettir. Yalancı şemsiye 2–10 cm enindedir. Brakteler tüylü, yumurtamsı–üçgensiz şekillidir. Çanak dikkörtgenimsi–geniş yumurtamsı şekilli ve 3–4 mm boyundadır. Kenar çiçekleri 4–5 adet, altın sarısı renkli olup 1–2 mm boyundadır (Resim 3.5.).

Genel Coğrafi Yayılışı: Türkiyede yaygın bir türdür. Ayrıca Güney Bulgaristan, Güneybatı ve Orta Asyada yetişir.⁴⁷



Resim 3.5. *Achillea biebersteinii*

3. 1. 2. Antimikrobiyal Aktivite İçin Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan *P. aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *S. aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus pyogenes* (2 klinik izolat) ve *C. albicans* klinik izolatı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümünden temin edildi. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Enterobacter cloacae* ATCC 23355, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus epidermis* ATCC 12228 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterileri

ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Merkezinden temin edildi.

3. 1. 2. 1. *Pseudomonas aeruginosa*

Genel özellikleri: Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *P. aeruginosa* 1.5–3 µm uzunluğunda ve 0.5 µm kadar genişliğinde, bazen çift çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır. Çoğu kez bir ucunda 1–3 adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanırlar ve gram negatiftirler.

Genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla optimal 30-37 °C'lerde ve hafif alkali ortamda bol olarak ürerler. Aerob olmakla beraber anaerob üreyebilen türlerine de rastlanır. *Pseudomonas*'lar ısıya dirençsizdirler. 55 °C'de 1 saat ve 60 °C'de 15 dakikada ölürlür. Çevre ısısı koşullarında sulara aylarca canlı kalırlar.

P. aeruginosa'lar özellikle hastane ortamında daha kolay barınma ortamı bulurlar. Cerrahi, doğum servisinde ve özellikle yanık koşullarında bu bakteriyeye rastlanma olasılığı artmaktadır. Bu ortamlarda kuruyan bakteriler uzun süre canlılıklarını korurlar. Steril saf su içinde bile ve oda derecesinde üremeye alıştıkları bildirilmektedir. İyi muhafaza edilmeyen ağız açık antiseptiklerin ve hatta *pseudomonas*'ların kısmen direnç gösterdikleri dörtlü amonyum bileşikleri kökenli dezenfektanların bu bakteriler için bir karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıldıkları bildirilmiştir.

Bulunduğu yerler: Doğada çok yaygın olup sulara, toprakta, insan ve memeli hayvanların bağırsağında bulunurlar.

Yaptığı hastalıklar: Yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjitler, göz enfeksiyonları, bronşit ve bronkopnömoni, sepsis, dış kulak yolu iltihapları, orta kulak iltihabı.⁷¹

3. 1. 2. 2. *Staphylococcus aureus*

Genel özellikleri: Stafilokok hücreleri teker teker incelendikleri zaman diğer koklara göre daha çok tam yuvarlağa yakın şekildedir. Stafilokoklar yaklaşık olarak 1 µm çapındadırlar. Üreme esnasında bölünme sonucunda meydana gelen hücreler

birbirinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünce çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar.

Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitifler. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram negatifmiş gibi görünebilirler. Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdürler.

Stafilokoklar basit besiyerleri dahil birçok besiyerlerinde ürerlerse de kanlı besiyerlerinde daha iyi çoğalırlar. Fakültatif anaerobtur. Oksijenli ortamda üremeyi yeğ tutarlarsa da belli miktarda oksijenli ve hatta tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler. Optimal olarak 37 °C'de ve pH 7.4'de ürerler. Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer bakterilerin çoğu 60 °C'de 30 dakika bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar 1 saat bile canlıklarını koruyabilirler.

Bulunduğu yerler: Doğada oldukça yaygın olmakla beraber, tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvanlarda deri, ağız, nazofarinks floralarında bulunan bu bakterilerin, günümüz için en önemli özellikleri kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır.

Yaptığı hastalıklar: Deri ve mukoza enfeksiyonları, yaygın deri döküntülü stafilokok enfeksiyonları, sepsis ve endokarditler, besin zehirlenmeleri.⁷¹

3. 1. 2. 3. *Staphylococcus epidermis*

Genel özellikleri: Gram pozitif olup aureus stafilokoklara göre daha küçük, konveks, düz yada granüllü yüzeyli koloniler yaparlar. Fakültatif anaerobtur ancak oksijenli ortamda daha iyi ürerler. Üreme dereceleri 15 – 45 arası olup en iyi 30 – 37 °C'de ürerler. % 7.5 NaCl ortamında iyi üremekle beraber % 10 NaCl ortamında daha güç üreme gösterirler. Gram pozitifler.

Bazıları bakteriosin ve stafilokoksin niteliğinde ve başka stafilokok ve bakteriler üzerinde bakteriyostatik veya bakterisit etki yapan antibiyotik maddeler oluştururlar. Faj tiplendirmeleri güçlük gösterir. Kültürlerinden yapılan preparatlarda dörtlü görünüş ya da düzensiz kümeler görülebilir. Bazıları sarı yada turuncu pigment yapabilirler.

Bulunduğu yerler: Çoğu kez deri ve üst solunum yolları mukozasında bulunurlar. İnsanlarda normal mukozada bulunmalarına karşılık en fazla buldukları yer insan derisidir.

Yaptığı hastalıklar: Yumuşak dokuların abseleri, yara enfeksiyonları, pnömoni, menenjit, sepsis, endokardit bazen idrar yolları hastalıkları gibi enfeksiyonları görülmüştür.⁷¹

3. 1. 2. 4. *Streptococcus pyogenes*

Genel özellikleri: Genel olarak yuvarlak ve yaklaşık 0.6-10 µm çapında koklardır. Streptokoklar zincir yapma alışkanlığındadır. Yaptıkları zincirlerin uzunlukları bulunduğu koşullara ve bazı tiplerine göre farklılık gösterebilir. Besiyerlerinde uzun zincir yapan streptokokların hastalık materyalinde 5-8 koktan ibaret kısa zincirler yaptıkları bilinir.

Sporsuz ve hareketsizdirler. Çoğu streptokoklarda hiyalüronik asit ihtiva eden bir kapsül bulunmaktadır. Özellikle patojen (A Grubu) streptokoklarda bulunan bu kapsül organizmadan yeni ayrıldıklarında ve zengin besiyerlerinde açıktır. Besiyerlerinde üretilmeye devam edildiği takdirde kapsül görünmez olur ve besiyeri içerisinde hiyalüronik asit maddesi dağılık halde saptanabilir.

Genel olarak bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar. Gram pozitif olup eski kültürlerinde arada gram negatif olanları tespit edildiği gibi, aynı zincir üzerinde gram pozitif ve gram negatif bireylere rastlanabilir.

S. pyogenes, genel olarak değişebilen anaerobtur. Adi besiyerlerinde üreseler de besiyerine kan, serum, haben ve glikoz gibi maddeler eklenmesiyle zenginleştirilecek olursa üreme daha kolay ve bol olur.

Ortalama pH 7'de üremeyi severler. Optimal üreme ısısı 37 °C'dir. Kuruluğa oldukça dayanıksızdırlar. Antibiyotiklere karşı güç direnç kazanırlar.

Patojen streptokoklar insan ve hayvanlarda meydana gelen birçok hastalıklardan sorumludurlar. Bu streptokoklar organizma üzerinde etkili olabilecek 20'den çok çeşitli madde salgırlar. Bu maddelerin bir kısmı hücre dışına salgılanır ve diğer kısmı ise hücre içinde oluşup, bakteri eridikten sonra bulunduğu ortama salınır.

Bu maddelerin en önemlileri şunlardır: Streptolysinler, streptokinaz, streptodornaz, hyalüronidaz, eritrojinik toksin.

Bulunduğu yerler: Streptokoklar doğada oldukça yaygın olup, insan vücudu normal florasında buldukları gibi, saprofit olarak süt ve süt ürünleri gibi besin maddelerinde rastlanır. Ayrıca patojen olanları insan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonların etkinidirler.

Yaptığı hastalıklar: Yılcık, sepsis, loğusa humması, deri altı lokalizasyonları, streptokok anjini, akut bakteriyal endokarditler, akut eklem romatizması, akut glomerulonefrit, genital organ enfeksiyonları, üriner enfeksiyonlara neden olmaktadır.⁷¹

3. 1. 2. 5. *Escherichia coli*

Genel özellikleri: Hafif hareketli, bazen hareketsiz, şekerleri asit ve gaz yaparak parçalayan, laktozu ve mannitolu ayrıştıran bakteriler olup indol oluştururlar.

Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığıyla hareket ederler ama hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler.

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül yada mikrokapsül bulunur.

E. coli buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Fakültatif anaerob olup optimal üreme ısısı 37 °C'dir. 15-45 derecelerde üreyebilirler. Özellikle 44 °C'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir.

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilirler. Soğuğa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir.

Bulunduğu yerler: Memeli ve kuşların barsaklarında yaşarlar. Aslında normal barsak florasında bulunup ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma-mayalaşma dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlara yardımcı olur.

Yaptığı hastalıklar: Uygun olmayan koşullarda *E. coli* insan ve hayvanlar için patojen olup gerek yangı, gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan barsak hastalıklarına

etken olur. Barsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri patojenlik kazanmaları için en önemli etkidir. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve manajlere ulaşan *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar.⁷¹

3. 1. 2. 6. *Salmonella typhimurium*

Genel özellikleri: *Salmonella* bakterileri yaklaşık olarak 2.0-5.0 µm boyunda 0.7-1.5 µm eninde çomakçık şeklinde peritrih kirpikleri aracılığı ile hareketli, sporsuz, kapsülsüz bakterilerdir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar ve gram negatiftirler.

Salmonella bakterileri alışılmış birçok besiyerlerinde kolayca ürerler. Aerob ve fakültatif anaerobtur, 37 °C'de en iyi ürerlerse de üreme ısıları sınırı oldukça geniştir. (20 °C–42 °C). Bunun özellikle besin zehirlenmesi yapan *salmonella*'ların oda ısısında da üreyebilmeleri yönünden önemi vardır. Ortalama pH 7.2 ortamında üremeyi severler.

Salmonella bakterileri ısıya dirençsizdirler. 55 °C'de 20 dakikada ölürlür. Kuruluğa dirençleri yoktur. Ancak gün ışığından uzak nemli ortamlarda lağım sularında, kuyu sularında ve toprakta uzun süre canlı kalabilirler. Soğuğa çok dirençlidirler. Soğuk yiyecek ve içeceklerde canlı kalmalarının epidemiyolojik önemi vardır.

Doğrudan temas etmek koşulu ile antiseptikler çabuk etkilidirler. Normal konsantrasyonlardaki klor, sulardaki *salmonella*'ları öldürür. Ancak dışkı parçaları ve diğer organik maddeler içindeki *salmonella*'lara bu maddelerin etkisi azalmaktadır.

Bulunduğu yerler: *Salmonella* hayvanlar aleminde yaygın olarak dağılmışlardır. Kimi bir kısım hayvanların normal barsak florasında bulunurlar ya da taşıyıcılık şeklinde barınırlar. *S. typhimurium* aynı zamanda farelerde barınan bir bakteri olması nedeniyle epidemiyolojisinde bu hayvanların çıkartılarının besin maddelerine karışması da önemli rol oynar.

Yaptığı hastalıklar: Genel olarak *salmonella* bakterilerinin yaptığı hastalıklar üç tipte toplanır. Genel enfeksiyon niteliğindeki hastalıklar (tifo, paratifo), Enterokolitler (besin zehirlenmeleri), sepsis ve lokalize organ hastalıkları.⁷¹

3. 1. 2. 7. *Enterobacter*

Genel özellikleri: *Enterobacter* cinsi içerisinde bugün *E. cloacea*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter agglomerans*, *E. aerogenes* ve *Enterobacter gergoviae* olmak üzere beş tür bulunmaktadır. Bu genusta insanlarda enfeksiyon oluşturan başlıca türler *E. aerogenes* ve *E. cloacea*'dir. Peritrih kirpikleriyle hareketli, yaklaşık 0.6-1.0 µm eninde 1.2-3.0 µm boyunda düzgün çomakçıklardır. Sporsuz, çoğu kez kapsülsüz ve kapsüllü olmaları halinde ince kapsüllü bakterilerdir. Gram negatif, fakültatif anaerobtur. Genel kullanım besiyerlerinde ve Enterobacteriaceae için hazırlanmış besiyerlerinde ürerler. Organizmadan soyutlanan kökenler daha çok 37 °C, çevreden soyutlananlar 20-30 °C'de daha iyi ürerler. *Enterobacter*'ler ampicillin ve cefalosporinlere dirençli, carbenicillin ve cefotaxime gibi antibiyotiklere nispeten duyarlıdırlar. Son zamanlarda *Enterobacter*'lerin gittikçe artan oranlarda hastane enfeksiyonları yaptıkları bildirilmektedir.

Bulunduğu yerler: Toprakta, sulara, seyrek olarak insan ve bazı hayvanların barsak florasında bulunurlar.

Yaptığı hastalıklar: Prematüre çocuklarda, immün yetmezlikli ve immün süpressifli, yanıklı kimselerde başta idrar yolları, üst solunum yolları, yara ve yanık enfeksiyonları, menenjit ve sepsisler olmak üzere çeşitli hastalıklar oluştururlar.⁷¹

3. 1. 2. 8. *Klebsiella*

Genel özellikleri: Hareketsiz, sporsuz genellikle kapsüllü gram negatif ve Enterobacteriaceae genel karakterlerini gösteren bazen ikişer ikişer bazen kısa zincir oluşturan 0.7-1.5 x 2.0-5.0 µm boyutlarında çomakçıklardır. İndol olumlu ve jelatinaz oluşturan *Klebsiella* bakterileri eskiden *Bacterium oxytocus* adı ile ayrı bir grup altında toplanmışken DNA'larının, *K. pneumoniae* ile % 75-95 uyumlu bulunması nedeniyle *Klebsiella* cinsi içerisinde *K. oxytoca* adı ile yeniden adlandırılmıştır. İnsan ve hayvan barsak florasında *E. coli*'ye göre çok daha az yoğunlukta bulunur. Şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. *K. pneumoniae* nişastayı en geç 4 gün içerisinde parçalayıp gaz oluşturmaları ile diğer barsak bakterilerinden ayırım gösterirler. *K. pneumoniae*'ler 60°C'de 20 dakikada ölürlere ve dezenfektanlara da duyarlıdırlar. *E. coli* gibi bunlarda

oda ısısında haftalar veya aylarca canlı kalırlar. Kuruluğa karşı oldukça dayanıklıdır.⁷²

Bulunduğu yerler: Toprakta, sulara, insan ve hayvan barsak florasında ve üst solunum yollarında bulunurlar.

Yaptığı hastalıklar: İnsanlarda başlıca solunum ve idrar yolları enfeksiyonları, prostatit, otitis media, sinüzit, kolesistit, peritonit, anjin, menenjit ve daha az olmak üzere sepsis, karaciğer absesi ve çeşitli organ hastalıkları yaparlar.⁷¹

3. 1. 2. 9. *Candida albicans*

Tomurcuklanma ile çoğalan mayamsı mantardır. Uygun şartlarda psödohifa, psödomiselyum ve hakiki miselyumlar meydana getirir. İnsan vücudunda hastalığa sebep olmadan bulunabilir veya deri mukoza ve iç organların candidiasisini yapar.

Meydana getirdiği enfeksiyonlar primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır.

Primer candidiasis, deri ve tırnaklarda, mukozalarda ve iç organlarda teşekkül ederek, çeşitli arızalar gösterir. Deri, tırnak ve mukoza enfeksiyonlarına insanlar arasında sık rastlanır ve kolay teşhis edilir. İç organların candidiasisi ise oldukça nadir görülür ve sekonder enfeksiyondan ayırt edilmesi güçtür.⁷³

3. 1. 3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Imipenem (IPM, 10 µg), Amoxycillin (AML, 25 µg), Ampicillin/Sulbactam (SAM, 10 µg/10 µg) içeren antibiyotik diskleri ve boş kağıt diskler Oxoid'den, etanol ve metanol Merck'ten, 1,1-diphenyl-2-picryl-hidrazyl (DPPH), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), askorbik asit, quercetin, α-tokoferol, gallik asit, folin&ciocalteu's phenol reagent, sodyum karbonat (Na₂CO₃), demir-2-klorür (FeCl₂), etilendiamintetraasetikasit (EDTA), Ferrozine, Sigma, Aldrich GmbH, Sternheim, Germany'den ticari olarak temin edildi.

3. 1. 4. Kullanılan Aletler

Spektrofotometre (Shimadzu, UV/Visible Recording spektrofotometre), etüv (nüve EN 400), vorteks (FISONS, whirli mixer), vakumlu evaporatör (RE 100B, Bibby Strilin Ltd.), terazi (GEC AVERY), membran filtresi (Schleicher&Schuell), otoklav, çalkalayıcı (Memmert), blender ve defreeze (Sanyo Medical Freezer) kullanıldı.

3. 1. 5. Kullanılan Besiyerleri

Bakteriler için Müller Hinton Broth ve Müller Hinton Agar (Difco laboratories, Detroid, Mich.) besiyerleri kullanıldı.

C. albicans mayası için ise Sabouraud Dextrose Agar ve Sabouraud Dextrose Broth (Oxoid, Ltd. Basingstoke, UK) besiyerleri kullanıldı.

3. 2. METOT

3. 2. 1. Kullanılan Mikroorganizmaların Büyüme Koşulları

Tüm bakteriler 25 mL'lik Müller Hinton Broth besiyerinde 37 °C'de 4-6 saat arasında üretildi. Absorbans 0.5 Mc Farland (1×10^8 cfu/mL) standardına eşitlendi. Daha sonra mikropipet ile 50 µL alınıp steril pamuklu çubuklarla Müller Hinton Agar besiyerine yayılıp 37 °C'de etüvde 24 saat süreyle üremeye bırakıldı.⁷⁴

C. albicans mayası ise Sabouraud Dextrose Agar besiyerinde 37 °C'de 3 gün boyunca inkübasyona bırakılarak üretildi.

3. 2. 2. Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Toplanan bitkiler gölgede ve havadar bir yerde 15-20 gün süreyle kurumaya bırakıldı. Bu çalışmada bitkilerin çiçekli ve yapraklı dalları kullanıldı.

3. 2. 2. 1. Metanol Özütü

Tüm bitki türlerinden 20 g alınıp blender yardımıyla iyice toz haline getirildi. Toz haline gelen 20 g bitki örnekleri oda sıcaklığında 200 mL metanolde 1 hafta süreyle karıştırıldı. Daha sonra çözünmeyen kısımlar filtre edilip atıldı. Süzüntülerin vakum altında çözücüsü uçuruldu.

H. retusum'dan 5 g bordo renkli, *H. scabrum*'dan 5 g yeşil renkli, *H. Iysimachioides*'den 5 g bordo renkli, *A. aleppica* subsp. *aleppica*'dan 2 g koyu yeşil renkli, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri*'den 1 g koyu yeşil renkli ve *A. biebersteinii*'den 2 g koyu yeşil renkli metanol özütleri elde edildi.

3. 2. 2. 2. Etanol Özütü

Tüm bitki türlerinden 20 g alınıp blender yardımıyla iyice toz haline getirildi. Toz haline gelen 20 g bitki örnekleri oda sıcaklığında 200 mL % 70'lik etanolde 3 gün süreyle karıştırıldı. Daha sonra çözünmeyen kısımlar filtre edilip atıldı. Süzüntülerin vakum altında çözücüsü uçuruldu.

H. retusum'dan 5 g mor renkli, *H. scabrum*'dan 5 g hardal renkli, *H. Iysimachioides*'den 5 g bordo renkli, *A. aleppica* subsp. *aleppica*'dan 3 g hardal renkli, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri*'den 2 g hardal renkli ve *A. biebersteinii*'den 2 g hardal renkli etanol özütleri elde edildi.

3. 2. 2. 3. Su Özütü

Tüm bitki türlerinden 20 g alınıp blender yardımıyla iyice toz haline getirildi. Toz haline gelen 20 g bitki örneklerinin üzerine 240 mL kaynar su ilave edildi ve 45 dakika hafif ısıda karıştırılarak 1 gece oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra çözünmeyen kısımlar filtre edilip atıldı. Süzüntülerin vakum altında çözücüsü uçuruldu.

H. retusum'dan 2 g bordo renkli, *H. scabrum*'dan 2 g kahve renkli, *H. Iysimachioides*'den 2 g açık bordo renkli, *A. aleppica* subsp. *aleppica*'dan 2 g hardal renkli, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri*'den 1 g hardal renkli ve *A. biebersteinii*'den 2 g hardal renkli su özütleri elde edildi.

3. 2. 3. Stok Bitki Özütü Çözeltilerinin Hazırlanması

Tüm bitki özütleri ile ayrı ayrı stok çözeltiler hazırlandı. Stok metanol özütü çözeltisi, bitkilerin metanol özütlerinin metanol içinde 100 mg/mL olacak şekilde çözünmesiyle elde edildi.

Stok etanol özütü çözeltisi iki farklı şekilde hazırlandı. Birinci çözelti bitkinin etanol özütünün % 70'lik etanol içinde 100 mg/mL olacak şekilde çözünmesiyle elde edildi. İkinci çözelti ise; yine her bitkinin etanol özütünün % 70'lik etanol içinde 100 mg/mL olacak şekilde çözünmesiyle elde edilen stok çözeltilisine 1 mg EDTA ilave edilmesiyle hazırlandı.

Stok su çözeltisi ham bitkilerin saf su içinde 100 mg/mL olacak şekilde çözünmesiyle elde edildi. Hazırlanan stok çözeltiler steril 0.2 µm-por çapına sahip polisülfon membran filtresinde steril edildi.

3. 2. 4. Disklerin Mikroorganizmalara Uygulanması

6 mm çapındaki steril boş kağıt disklerin 2.0 mg madde içermesi sağlandı. Kağıt disklerin bu derişimde madde içermesi için metanol, etanol ve su özütlerin olduğu her bitkinin stok çözeltilisinden (100 mg/mL) 20 µL emdirildi.

3. 2. 5. Disk Diffüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması

Bu yöntem klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının çoğunda tercih edilen kalitatif bir yöntemdir. Belirli yoğunlukta bakteri besiyerine yayılır ve antibiyotik emdirilmiş diskler bunun üzerine yerleştirilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra diskin çevresindeki inhibisyon zon çapı ölçülerek bakterinin o antibiyotiğe duyarlı olup olmadığı saptanır. Bu testte sonuçlar 'duyarlı', 'dirençli' ve 'orta dirençli' şeklinde verilmektedir.⁷⁵

Antimikrobiyal aktivite N.C.C.L.S (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) kurallarına göre disk diffüzyon deneyi ile belirlendi.⁷⁵ Disk diffüzyon testi Müller Hinton Agar besiyerinde yapıldı. Mikroorganizmaların aşılınması işlemi yapılmadan önce katı besiyerleri 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Kullanılan bakteri suşları 25 mL Müller Hinton Broth besiyerinde 4-6 saat üretildi. 625 nm'de 0.08

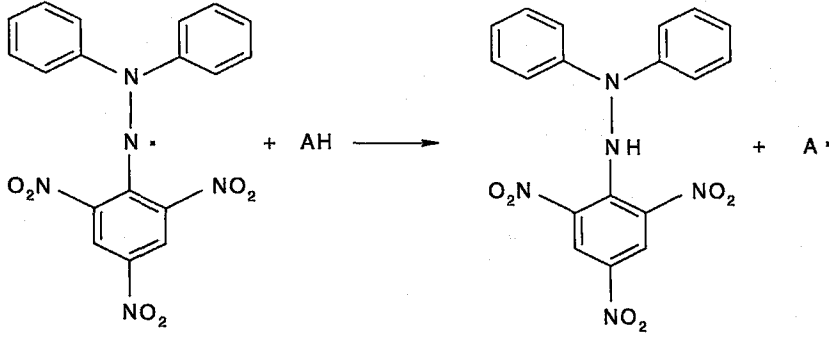
ile 0.1 arasında absorbans ayarı yapıldı. Böylece absorbans 0.5 Mc Farland (1×10^8 cfu/mL) standardına eşitlendi. *C. albicans* ise Sabouraud Dextrose Broth besiyerinde (25 mL) 8-10 saat arasında absorbans 0.5 Mc Farland standardına eşitlendi.

Bu besiyerinden mikropipet yardımıyla 50 μ L alınıp katı besiyerine bırakıldı. Steril pamuklu çubuklar yardımıyla katı besiyerinin yüzeyine homojen bir biçimde yayılmaları sağlandı. Daha sonra 6 mm çapındaki kağıt diskler aşılama yapılmış Müller Hinton Agar ve *C. albicans* için kullanılan Sabouraud Dextrose Agar besiyerlerine yerleştirilip, bu disklere 20 μ L'lik bitki özütleri emdirildi. Besiyerleri 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *K. oxytoca*, *S. pyogenes* (2 klinik izolat), *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. epidermis* ATCC 12228 ve *E. coli* ATCC 25922 bakterileri 24, *C. albicans* ise 48 saat sonra oluşan inhibisyon zonları ölçüldü. Pozitif kontrol olarak Imipenem (10 μ g), Amoxycillin (25 μ g) ve Ampicillin/Sulbactam (10 μ g/10 μ g) antibiyotikleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak ise etanol emdirilmiş kağıt diskler kullanıldı.

3. 2. 6. ANTIOKSİDANT AKTİVİTE İÇİN YAPILAN TESTLER

3. 2. 6. 1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi

Kararlı DPPH radikalini söndürme metodu diğer antioksidant aktivite ölçme metotlarına göre daha kısa zamanda yapılmakta ve daha yaygın kullanılmaktadır. Antioksidant özellik, maddelerin hidrojen verme yeteneklerinden ötürü DPPH radikalini söndürmelerinden kaynaklanmaktadır.⁷⁶ Bu metot kararlı serbest bir radikal olan DPPH'in ortamdaki derişiminin azalması temeline dayanmaktadır.⁷⁷ DPPH'in azot üzerindeki tek (ortaklanmamış) elektronu görünür bölgede 517 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. Hidrojen verebilen antioksidant maddelerin varlığında alkolik DPPH radikalinin 517 nm'deki absorbans değeri azalmaktadır. Sonuçta oluşan yapı radikalik olmayan DPPH-H'dir.⁷⁸ (Şekil 3.1.)



Şekil 3.1. DPPH'in indirgenmesi

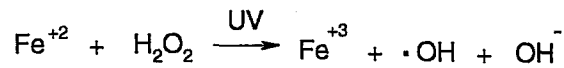
Daha önce hazırlanan bitkilerin etanol ve su özütlerinin 1 mg/mL'lik stok çözeltilerinden 50-500 µg/mL arasında değişen derişimlere sahip seyreltmeler yapıldı. Diğer yandan % 96'lık etanol içinde 0.1 mM'lık DPPH çözeltisi hazırlandı. Seyreltilen bitki özütü çözeltilerinden 3 mL alınarak üzerlerine 0.1 mM'lık DPPH çözeltilisinden 1 mL ilave edildi. Kuvvetlice çalkalandıktan sonra 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi ve ardından 517 nm'de UV cihazında absorbans değeri ölçüldü. Bu yöntemde pozitif kontrol olarak antioksidant aktivite gösterdiği bilinen α-tokoferol, askorbik asit, bütillenmiş hidroksitoluen ve quercetin kullanıldı. Negatif kontrol olarak 0.1 mM DPPH'ten 1 mL ve 3 mL % 96'lık etanol karışımı kullanıldı. Kör olarak da 4 mL %96'lık etanol kullanıldı.

Sonuçlar artan özüt derişimlerine karşılık % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. % İnhibisyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.⁷⁹

$$\% I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

3. 2. 6. 2. Metal Şelatlama Aktivitesi

Fenton kimyasında Fe⁺²'nin Fe⁺³'e dönüşümü ve ·OH radikallerinin oluşumu gerçekleşmektedir.



Eğer ortamda Fe^{+2} olmazsa bu dönüşüm gerçekleşmeyecektir. Bu nedenle Fe^{+2} 'nin şelatlaşması 'OH radikallerinin oluşumunu engellemek açısından çok önemlidir. Metal şelatlama aktivitesinde bitkinin Fe^{+2} 'yi şelatlama kapasitesine bakıldı.

Daha önce hazırlanan bitkilerin etanol ve su özütlerinin 10 mg/mL 'lik stok çözeltilerinden 0.1-0.6 mg/mL arasında değişen derişimlere sahip seyreltmeler yapıldı. Hazırlanan çözeltilerden 1 mL alınıp üzerine 2 mM demir 2-klorür çözeltilisinden 100 µL ve 0.5 mM Ferrozine çözeltilisinden 200 µL ilave edildi ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 562 nm'de UV cihazında absorbans değeri ölçüldü. Pozitif kontrol olarak metal şelatlama aktivitesi olduğu bilinen EDTA ve BHT kullanıldı. Negatif kontrol olarak kompleks oluşturan demir 2-klorür ve ferrozine, kör olarak ise alkol ve su karışımı kullanıldı.

Sonuçlar artan özüt derişimlerine karşılık % inhibisyon değeri grafiğe geçirildi. % İnhibisyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.⁸⁰

$$\% I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

3. 2. 6. 3. Bitki Özütlerinin İçindeki Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini

Fenolik bileşenler antioksidant aktivite gösteren moleküllerdir. Örneğin BHT, α-tokoferol, quercetin ve gallik asit fenolik bileşenlerdir. Bu yöntemin dayandığı temel prensip gallik asit içindeki fenolik bileşen miktarını gallik asitin artan derişimlerine karşı ölçmek ve bitki özütü içindeki toplam fenolik bileşen miktarını gallik asite ekivalent olarak hesaplamaktır.^{81,82} Bu yöntemde 5 mg/mL'lik gallik asit stok çözeltilisinden 50-500 µg/mL arasında değişen derişimlere sahip gallik asit içeren seyreltmeler yapıldı. Bu çözeltilerden 40 µL alınıp üzerine 1160 µL saf su ve 200 µL folin&ciocalteu's phenol reagent (2.0 Normal) ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve üzerine 600 µL % 20'lik sodyum karbonat çözeltilisi ilave edilerek tekrar karıştırıldı. 2 saat çalkalayıcıda oda sıcaklığında karıştırıldı ve ardından 765 nm'de UV cihazında absorbans değeri ölçüldü. Kör olarak gallik asit dışındaki tüm maddeler kullanıldı.⁸³

Sonuçlar gallik asitin artan derişimlerine karşılık absorbens değeri grafiğe geçirildi. Böylece aşağıdaki gibi bir eşitlik türetildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,001 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Daha sonra bitkilerin etanol ve su özütlerinden 1 mg/mL derişimlerde hazırlanan stok çözeltilerinden 40 μL alınıp üzerine 1160 μL saf su ve 200 μL folin&ciocalteu's phenol reagent (2.0 Normal) ilave edilerek çalkalandı. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve üzerine 600 μL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek tekrar karıştırıldı. 2 saat çalkalayıcıda oda sıcaklığında karıştırıldı ve ardından 765 nm'de UV cihazında absorbens değeri ölçüldü. Kör olarak bitki çözeltisi hariç tüm maddeler kullanıldı. Ölçülen absorbens değeri türetmiş olduğumuz;

$$\text{Absorbans (A)} = 0,001 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

denkleminde kullanılarak bitkinin içerdığı toplam fenolik bileşen miktarı gallik asite ekivalent olarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Antimikrobiyal Aktivite

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından çeşitli klinik örneklerden (idrar, yara akıntısı, dış kulak gibi) izole edilen *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *K. oxytoca*, *S. pyogenes* (2 klinik izolat) ve *C. albicans* mayası ile TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma merkezinden temin edilen *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. epidermis* ATCC 12228, *E. coli* ATCC 25922 bakterileri üzerine çalışılan bitkilerin metanol, etanol ve su özütlerinin antimikrobiyal etkisi disk diffüzyon yöntemi ile incelendi.

Çalışmada kontrol olarak Imipenem (10 µg), Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg) ve Amoxycillin (25 µg) antibiyotikleri kullanıldı. Deneylerde kullanılan *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. oxytoca* bakterilerinin denenen standart antibiyotiklerden Amoxycillin ve Ampicillin/Sulbactam'a karşı dirençli oldukları Imipenem'e karşı ise duyarlı oldukları görülmektedir. *K. pneumoniae*'nin denenen standart antibiyotiklerden yalnızca Amoxycillin'e karşı dirençli olduğu, Ampicillin/Sulbactam ve Imipenem'e karşı duyarlı olduğu görülmektedir. *S. pyogenes*'in, *E. cloacae*'nin, *S. typhimurium*'un, *S. epidermis*'in, *S. aureus*'un ve *E. coli*'nin ise denenen tüm standart antibiyotiklere karşı duyarlı oldukları görülmektedir (Tablo 4.1. - 4.2.).

Bitkilerin tamamının metanol ve su özütlerinin denenen klinik izolatlar üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı, sadece etanol özütlerinin etkili olduğu saptandı (Resim 4.1. - 4.11. ve Tablo 4.1. - 4.2.).

H. retusum'un etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerine oluşturdukları zon çapları 8-20 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol özütünün çözeltilisine 3.2.3' te belirtildiği şekilde EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatı üzerine oluşturduğu zon çapı 24 mm olarak bulundu (Tablo 4.1.).

H. scabrum'un etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerine oluşturdukları zon çapları 8-16 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol

özütünün çözeltisine öngörülen miktarda EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerine oluşturduğu zon çapı 16 mm olarak bulundu (Tablo 4.1.).

H. lysimachioides'in etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları zon çapları 10-18 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol özütünün çözeltisine EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerine oluşturduğu zon çapı 18 mm olarak bulundu (Tablo 4.1.).

A. aleppica subsp. aleppica'nin etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları zon çapları 8-12 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol özütünün çözeltisine EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerine oluşturduğu zon çapı 12 mm olarak bulundu (Tablo 4.2.).

A. aleppica subsp. zederbaueri'nin etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları zon çapları 10-12 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol özütünün çözeltisine EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerine oluşturduğu zon çapı 10 mm olarak bulundu (Tablo 4.2.).

A. biebersteinii'nin etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamalarının mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları zon çapları 8-14 mm arasında değişmektedir. Aynı bitkinin etanol özütünün çözeltisine EDTA ilave edilmiş halinin 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerine oluşturduğu zon çapı 10 mm olarak bulundu (Tablo 4.2.).

4. 2. Antioksidant Aktivite

4. 2. 1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi

Tüm bitki türlerinin etanol ve su özütlerinin DPPH radikalini söndürme gücü artan derişimlerine karşılık % inhibisyon olarak ölçüldü.

H. retusum'un DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında askorbik asit için % 85.50-% 95.60 arasında, quercetin için % 89.90-% 93.80 arasında, α-tokoferol için % 90.80-% 92.10 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 75.80-%92.50 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında % 67.40-% 85.00 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 39.70-% 45.40 arasında bulundu (Tablo 4.3.; Şekil 4.1.).

H. scabrum'un DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında askorbik asit için % 95.70-% 96.50 arasında, quercetin için % 90.00-% 93.90 arasında, α-tokoferol için % 94.40-% 95.70 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 74.40-%93.50 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında % 88.70-% 92.60 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 50.90-% 54.40 arasında bulundu (Tablo 4.4.; Şekil 4.2.).

H. lysimachioides'in DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında askorbik asit için % 95.40-% 97.30 arasında, quercetin için % 91.10-% 94.60 arasında α-tokoferol için % 96.90-% 97.30 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 73.40-%95.00 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında % 90.00-% 94.20 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 49.40-% 56.00 arasında bulundu (Tablo 4.5.; Şekil 4.3.).

A. aleppica subsp. *aleppica*'nın DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında askorbik asit için % 95.50-% 95.80 arasında, quercetin için % 91.30-%94.70 arasında α-tokoferol için % 94.70-% 95.10 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 66.70-% 91.70 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında % 67.80-% 89.80 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 39.80-% 43.90 arasında bulundu (Tablo 4.6.; Şekil 4.4.).

A. aleppica subsp. *zederbaueri*'nin DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 µg/mL derişim aralığında askorbik asit için % 95.30-% 95.70 arasında, quercetin için % 90.10-

%94.00 arasında α - tokoferol için % 94.90-% 95.70 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 63.50 - % 94.90 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığında % 86.30-% 90.60 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 37.80-% 47.60 arasında bulundu (Tablo 4.7.; Şekil 4.5.).

A. *biebersteinii*'nin DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 50-500 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığında askorbik asit için % 85.50-% 95.60 arasında, quercetin için % 89.90-% 93.80 arasında, α - tokoferol için % 90.80-% 92.10 arasında, bütillenmiş hidroksitoluen için % 75.80-%92.50 arasında bulundu. Bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 50-500 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığında % 86.80-% 91.20 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 39.20-% 45.80 arasında bulundu (Tablo 4.8.; Şekil 4.6.).

4. 2. 2. Metal Şelatlama Aktivitesi

Tüm bitki türlerinin etanol ve su özütlerinin metal şelatlama aktivitesi artan derişimlerine karşılık % inhibisyon olarak ölçüldü. Metal şelatlama aktiviteleri incelenirken kullanılan pozitif kontrollerin % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında EDTA için % 97.90-% 99.50 arasında, BHT için % 76.70-% 87.80 arasında bulundu.

H. *retusum*'un metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında % 18.60-% 28.40 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 27.30-% 30.20 arasında bulundu (Tablo 4.9.; Şekil 4.7.).

H. *scabrum*'un metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında % 18.30-% 27.80 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 29.20-% 31.00 arasında bulundu (Tablo 4.10.; Şekil 4.8.).

H. *lysimachioides*'in metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında % 20.20-% 27.10 arasında, su

özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 29.10-% 30.00 arasında bulundu (Tablo 4.11.; Şekil 4.9.).

A. aleppica subsp. aleppica'nın metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında %27.10-%28.40 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 27.30-% 29.10 arasında bulundu (Tablo 4.12.; Şekil 4.10.).

A. aleppica subsp. zederbaueri'nin metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında % 27.90-%29.90 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 28.30-% 30.00 arasında bulundu (Tablo 4.13.; Şekil 4.11.).

A. biebersteinii'nin metal şelatlama aktivitesi için bitkinin etanol özütünün % inhibisyon değerleri 0.1-0.6 mg/mL derişim aralığında % 25.60-% 28.70 arasında, su özütünün % inhibisyon değerleri ise aynı aralıkta % 28.30-% 31.00 arasında bulundu (Tablo 4.14.; Şekil 4.12.).

4. 2. 3. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini

Tüm bitki türlerinin etanol ve su özütlerinin içerdiği toplam fenolik bileşen miktar tayini gallik asite ekivalent olarak hesaplandı. Standart olarak kullanılan gallik asitin 50-500 µg/mL derişim aralığına karşılık olarak bulunan absorbands değerleri grafiğe geçirildi. Böylece aşağıdaki gibi bir eşitlik türetildi (Şekil 4.13.).

$$\text{Absorbans (A)} = 0.001 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlik yardımıyla bitkiler için bulunan absorbands değerleri formülde kullanılarak 1 mg' larının içerdikleri toplam fenolik bileşen miktarları gallik asite ekivalent olarak hesaplandı.

H. retusum'un etanol özütünün 1 mg'nın içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 226.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nın içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 103.0 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

H. scabrum'un etanol özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 262.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 76.00 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

H. lysimachioides'in etanol özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 266.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 132.0 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

A. aleppica subsp. *aleppica*'nın etanol özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 118.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 79.00 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

A. aleppica subsp. *zederbaueri*'nin etanol özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 126.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 71.00 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

A. biebersteinii'nin etanol özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 134.0 µg gallik asite ekivalent olarak, su özütünün 1 mg'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 52.00 µg gallik asite ekivalent olarak belirlendi (Tablo 4.15).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5. 1. Antimikrobiyal Aktivite

Bitkilerde antimikrobiyal aktivite gösteren bileşenlerin flavonoidler, terpenoidler ve alkaloidler olduğu bilinmektedir. *Hypericum calycinum*'dan elde edilen floroglusinol türevinin antimalarial, *Hypericum brasiliense*'den elde edilen hiperbrasilon ve ksantonların antifungal, *Hypericum drummondii*'den elde edilen drummondin türevlerinin antibakteriyal etkisi ve *H. scabrum*'un ham özütünün antimikrobiyal etkiye sahip olduğu çalışmalarla rapor edilmiştir.^{84-86, 53} *A. millefolium*' un temel yağ asitlerinin de düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.⁸⁷

Çalışılan bitki türlerinin hepsinin etanol özütlerinin belirli oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Bitkilerin metanol ve su özütlerinin ise antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edildi. Bu da bize bitkinin içinde bulunan etken maddelerin metanol ve su fazına yeterince geçmediğini göstermektedir.

Negatif kontrol olarak 20 µL 'lik etanol kullanıldı ve hiçbir inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlemlendi. Bu bakteriler klinik olarak patojen mikroorganizmalardır. Özellikle *S. aureus* genel olarak antibiyotiklere karşı her on yılda bir direnç kazanmaktadır.⁸⁸

H. retusum bitkisinin etanol özütünün *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ve *K. oxytoca* bakterileri üzerinde zon inhibisyonu oluşturmadığı, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *C. albicans* üzerinde 8 mm çapında, *S. epidermis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde 14 mm çapında, *S. pyogenes*'in 2 klinik izolatu üzerinde 16 mm ve *S. aureus* bakterisi üzerinde 20 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edildi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının 24 mm olduğu görüldü. *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde denenen standart antibiyotiklerden yalnızca İmipenemin 26 mm çapında zon oluşturduğu Amoxycillin ve Ampicillin/Sulbactam'ın hiç zon inhibisyonu oluşturmadığı saptandı (Tablo 4.1.). Bu da *H. retusum* bitkisinin etanol özütünün 2.0 mg'lık uygulamasının *P. aeruginosa* üzerinde Amoxycillin ve Ampicillin/Sulbactam

antibiyotiklerinden daha etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca bitki özütünün içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon inhibisyonunu artırdığı görülmektedir. EDTA gibi şelatlayıcı maddeler gram negatif bakterilerde bulunan dış membrandaki +2 yüklü katyonları bağlayarak lipopolisakkaritlerin yaklaşık % 40'ının kopmasını sağlarlar. Bu da geçirgenliğin artmasına neden olur.^{89,90}

H. scabrum bitkisinin etanol özütünün *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisi üzerinde zon inhibisyonu oluşturmadığı, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *C. albicans* üzerinde 8 mm, *S. pyogenes*'in bir klinik izolatu üzerinde 12 mm, *S. pyogenes*'in diğer klinik izolatu, *S. epidermis* ATCC 12228, *S. aureus* üzerinde 14 mm ve *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde 16 mm çapında zon inhibisyonu oluşturduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının değişmediği yine 16 mm olduğu tespit edildi. Ayrıca *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine AML antibiyotiği etki etmezken bitki bu bakteri üzerinde 8 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmaktadır. Aynı şekilde *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* bakterilerine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken bitki bu bakteriler üzerinde 8-16 mm arasında değişen değerlerde zon inhibisyonu oluşturmaktadır (Tablo 4.1.).

H. lysimachioides bitkisinin etanol özütünün *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *K. oxytoca* bakterileri üzerinde zon inhibisyonu oluşturmadığı, *C. albicans* üzerinde 8 mm, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* bakterileri üzerinde 10 mm, *S. epidermis* ATCC 12228 üzerinde 12 mm, *S. aureus* ve *S. pyogenes*'in bir izolatında 16 mm, *P. aeruginosa* ve *S. pyogenes*'in diğer izolatında 18 mm çapında zon inhibisyonu oluşturduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının değişmediği yine 18 mm olduğu tespit edildi. Ayrıca *E. aerogenes* ve *P. aeruginosa* bakterilerine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken bitki bu bakteriler üzerinde 10-18 mm arasında değişen değerlerde zon inhibisyonu oluşturmaktadır (Tablo 4.1.).

A. aleppica subsp. aleppica bitkisinin etanol özütünün denenen tüm klinik izolatlar üzerinde belirli oranlarda zon inhibisyonu oluşturduğu tespit edildi. *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes*, *K. oxytoca* ve *C. albicans* üzerinde 8 mm çapında, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. epidermis* ATCC 12228, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*'in iki klinik izolatu üzerinde 10 mm çapında ve *S. typhimurium* ATCC 14028 bakterisi üzerinde 12 mm çapında zon inhibisyonu oluşturduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının arttığı ve 12 mm olduğu tespit edildi. Ayrıca *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* bakterilerine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken bitki bu bakteriler üzerinde 8-10 mm arasında değişen değerlerde zon inhibisyonu oluşturmaktadır. Aynı şekilde *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine AML antibiyotiği etki etmezken bitki bu bakteri üzerinde 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturmaktadır (Tablo 4.2.).

A. aleppica subsp. zederbaueri bitkisinin etanol özütünün denenen tüm klinik izolatlar üzerinde belirli oranlarda zon inhibisyonu oluşturduğu tespit edildi. *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. epidermis*, ATCC 12228, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *K. oxytoca*, *S. pyogenes*'in 2 klinik izolatu ve *C. albicans* üzerinde 10 mm çapında, *P. aeruginosa* bakterisi üzerinede 12 mm çapında zon inhibisyonu oluşturduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının 10 mm olduğu yani biraz azaldığı tespit edildi. Ayrıca *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* bakterilerine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken bitki bu bakteriler üzerinde 10-12 mm arasında değişen değerlerde zon inhibisyonu oluşturmaktadır. Aynı şekilde *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine AML antibiyotiği etki etmezken bitki bu bakteri üzerinde 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturmaktadır (Tablo 4.2.).

A. biebersteinii bitkisinin etanol özütünün denenen tüm klinik izolatlar üzerinde belirli oranlarda zon inhibisyonu oluşturduğu tespit edildi. *K. oxytoca* bakterisi üzerinde 8 mm çapında, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *E. cloacae* ATCC 23355, *S. typhimurium* ATCC.14028, *S. epidermis* ATCC 12228, *E. coli* ATCC

25922, *E. aerogenes*, *S. aureus*, *S. pyogenes*'in 2 klinik izolatu ve *C. albicans* üzerinde 10 mm çapında, *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde 14 mm çapında zon inhibisyonu oluşturduğu gözlemlendi. Aynı bitkinin içine EDTA ilave edilmiş çözeltilisinin *P. aeruginosa* bakterisi üzerindeki zon çapının 10 mm olduğu yani biraz azaldığı tespit edildi. *Achillea* türlerinde EDTA ilave edilmiş özütlerin denenmesiyle elde edilen zon çapları değerlerinin düşmüş olması deneysel hatalardan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* bakterilerine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken bitki bu bakteriler üzerinde 8-14 mm arasında değişen değerlerde zon inhibisyonu oluşturmaktadır. Aynı şekilde *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine AML antibiyotiği etki etmezken bitki bu bakteri üzerinde 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturmaktadır (Tablo 4.2.).

5. 2. Antioksidant Aktivite

Kanser kadın ve erkek ölümlerinin en büyük sebeplerinden biridir. Her yıl dünya çapında 6 milyonun üzerinde insanın bu hastalığı yaşadığı iddia edilmektedir. American Academy of Nutritional Research antioksidantların kansere karşı koruma etkisinin olduğu bilgisinin tıbbi literatürlerle de desteklendiğini bildirmektedir. Bu maddelerin erken yaşlanmaya, kronik ve dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu olduğu önerilmektedir. Genellikle araştırmacılar tarafından E vitamini, C vitamini ve beta-karoten antioksidantları daha fazla dikkat çekmektedirler. Antioksidant ilavesiyle yapılan terapilerde antioksidantların vücudu serbest radikallere karşı koruyabildiği görülmüştür.⁹¹

Antioksidant aktivite değişik yöntemlerle ölçülebilmektedir. DPPH radikalini söndürme yöntemi, metal şelatlama yöntemi, toplam fenolik bileşen miktar tayini, toplam antioksidant aktiviteye bakılması, DNA kesimi, thiobarbituric acid-reaktif maddeler (TBARS) testi, indirgeme gücü ve lipid peroksidasyon bunlardan bazılarıdır. Çalıştığımız bitkilerin antioksidant özellikleri DPPH radikalini söndürme, metal şelatlama ve toplam fenolik bileşen miktar tayini yöntemleri kullanılarak incelendi.

5. 2. 1. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi

DPPH radikalini söndürme yöntemi, antioksidant aktivite ölçme çalışmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır.⁷⁸ Bu yöntem kararlı serbest bir radikal olan DPPH' in indirgenmesi temeline dayanmaktadır. DPPH' in ortaklanmamış elektronu 517 nm'de güçlü bir absorpsiyon vermektedir. Elektron veren bir antioksidantın varlığında bu absorpsiyon azalmaktadır.⁹² DPPH' in mor rengi antioksidant madde ilavesiyle gözle görünür şekilde sarıya dönüşmektedir.⁷⁶ Bu yöntemde pozitif kontrol olarak antioksidant aktivite gösterdiği bilinen BHT, askorbik asit, α -tokoferol ve quercetin kullanıldı. Çalıştığımız tüm bitkilerin etanol özütlerinin su özütlerinden daha yüksek değerlerde DPPH radikalini söndürdüğü tespit edildi.

H. retusum' un DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetin'in inhibisyon gücünün 50 μ g/mL'de % 93.80 iken 500 μ g/mL'de değişmeyip yine % 93.80 olduğu, askorbik asitin % 85.50 olan inhibisyon değerinin % 95.60'ya çıktığı, BHT'nin % 75.80 olan inhibisyon değerinin %92.50'e çıktığı ve α -tokoferolün % 92.10 olan inhibisyon değerinin % 90.80'e düştüğü gözlenmektedir. *H. retusum* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü 50 μ g/mL'de % 85.00 iken derişim arttıkça bu değer azalmakta ve en fazla derişim olan 500 μ g/mL'de % 67.40 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50 μ g/mL'de %45.40 oranında inhibisyon gösterirken bu değer 500 μ g/mL'de % 41.00 olmaktadır. Bu sonuçlar bize derişim arttıkça buna bağlı olarak % inhibisyon değerinin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50 μ g/mL'deki inhibisyon değerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin 50 μ g/mL'deki inhibisyon değerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.3.; Şekil 4.1.).

H. scabrum' un DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetin'in inhibisyon gücünün 50 μ g/mL'de % 93.90 iken 500 μ g/mL'de değişmeyip yine %93.90 olduğu, askorbik asitin % 95.70 olan inhibisyon değerinin % 96.10'e çıktığı, BHT'nin % 74.40 olan inhibisyon değerinin %93.50'e çıktığı ve α -tokoferolün % 94.40 olan inhibisyon değerinin değişmeyip yine %94.40 olduğu gözlenmektedir. *H. scabrum* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü

50µg/mL'de % 92.60 iken derişim arttıkça bu değer azalmakta ve en fazla derişim olan 500 µg/mL'de % 88.70 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50 µg/mL'de %53.00 oranında inhibisyon gösterirken bu değer 500 µg/mL'de % 50.90 olmaktadır. Bu sonuçlar bize derişim arttıkça buna bağlı olarak % inhibisyon değerinin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50-350 µg/mL aralığındaki derişimlerde % inhibisyon değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT' nin bu derişimlerdeki % inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.; Şekil 4.2.).

H. lysimachioides' in DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetinin inhibisyon gücünün 50 µg/mL'de % 94.60 iken 500 µg/mL'de değişmeyip yine % 94.60 olduğu, askorbik asitin %96.10 olan inhibisyon değerinin %97.30'e çıktığı, BHT'nin %73.40 olan inhibisyon değerinin %95.00'a çıktığı ve α-tokoferolün %97.30 olan inhibisyon değerinin %96.90'a indiği gözlenmektedir. *H. lysimachioides* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü 50 µg/mL'de %94.20 iken derişim arttıkça bu değer genellikle azalmakta ve 500 µg/mL'de % 90.40 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50 µg/mL'de % 56.00 oranında inhibisyon gösterirken bu değer 500 µg/mL'de % 49.40 olmaktadır. Bu sonuçlar bize derişim arttıkça buna bağlı olarak % inhibisyon değerinin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50-250 µg/mL'deki % inhibisyon değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT' nin bu derişimlerdeki % inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.5.; Şekil 4.3.).

A. aleppica subsp. aleppica' nın DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetinin inhibisyon gücünün 50 µg/mL'de % 94.70 iken 500 µg/mL'de değişmeyip yine % 94.70 olduğu, askorbik asitin % 95.50 olan inhibisyon değerinin % 95.80'e çıktığı, BHT'nin % 66.70 olan inhibisyon değerinin % 91.70'ye çıktığı ve α-tokoferolün % 95.10 olan inhibisyon değerinin değişmeyip yine % 95.10 olduğu gözlenmektedir. *A. aleppica subsp. aleppica* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü 50 µg/mL'de % 67.80 iken derişim arttıkça bu değer genellikle artmakta ve 500 µg/mL'de % 89.40 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50µg/mL'de % 43.90 oranında inhibisyon gösterirken bu değer

500µg/mL'de % 39.80 olmaktadır. Bu sonuçlar bize bitkinin etanol özütünün % inhibisyon gücünün derişim arttıkça yükseldiğini ancak su özütünün % inhibisyon gücünün derişim arttıkça düştüğünü göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50-350 µg/mL'deki %inhibisyon değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin bu derişimlerdeki %inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.6.; Şekil 4.4.).

A. aleppica subsp. *zederbaueri*' nin DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetinin inhibisyon gücünün 50 µg/mL'de % 94.00 iken 500 µg/mL'de değişmeyip yine % 94.00 olduğu, askorbik asitin % 95.30 olan inhibisyon değerini değişmeyip yine % 95.30 olduğu, BHT'nin % 63.50 olan inhibisyon değerinin % 94.90'a çıktığı ve α-tokoferolün % 95.70 olan inhibisyon değerinin % 94.90'a düştüğü gözlenmektedir. *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü 50 µg/mL'de % 86.30 iken derişim arttıkça bu değer genellikle artmakta ve 500 µg/mL'de % 89.70 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50 µg/mL'de % 47.60 oranında inhibisyon gösterirken bu değer 500 µg/mL'de %37.80 olmaktadır. Bu sonuçlar bize bitkinin etanol özütünün % inhibisyon gücünün derişim arttıkça yükseldiğini ancak su özütünün % inhibisyon gücünün derişim arttıkça düştüğünü göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50-150 µg/mL'deki %inhibisyon değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin bu derişimlerdeki %inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.7.; Şekil 4.5.).

A. biebersteinii' nin DPPH radikalini söndürme aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan quercetinin inhibisyon gücünün 50 µg/mL'de % 93.80 iken 500 µg/mL'de değişmeyip yine % 93.80 olduğu, askorbik asitin % 85.50 olan inhibisyon değerinin % 95.60'ya çıktığı, BHT'nin % 75.80 olan inhibisyon değerinin %92.50'e çıktığı ve α-tokoferolün % 92.10 olan inhibisyon değerinin % 90.80'e düştüğü gözlenmektedir. *A. biebersteinii* bitkisinin etanol özütünün % inhibisyon gücü 50 µg/mL'de % 86.80 iken derişim arttıkça bu değer genellikle artmakta ve 500 µg/mL'de % 89.90 olduğu gözlenmektedir. Bitkinin su özütü ise 50 µg/mL'de % 39.20 oranında inhibisyon gösterirken bu değer 500 µg/mL'de % 41.90 olmaktadır. Bu sonuçlar bize bitkinin etanol özütünün % inhibisyon gücünün derişim arttıkça

yükseldiğini su özütünün % inhibisyon gücünün ise düzenli bir değişime sahip olmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol özütünün 50-250 µg/mL derişim aralığında %inhibisyon değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin bu derişimlerdeki %inhibisyon değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.8.; Şekil 4.6.).

Antioksidant özellik incelenirken ister kontrol olarak kullanılan quercetin, askorbik asit, BHT ya da α-tokoferol olsun, isterse de çalışılan bitkilerin etanol ya da su özütleri olsun % inhibisyona karşı derişimler grafiğe geçirildiğinde elde edilen eğrinin sigmoidal olması ve her bir antioksidant için derişime bağlı olarak yaklaşık sabit değerlerin hesaplanmış olması, inkübasyon süresi içinde hidrojen transferi işlemi sonunda (α-tokoferol'un yağ asitlerinin peroksidasyonunu önleme işleminde olduğu gibi) yeniden antioksidant bileşiğin derişiminin ortamda sabit kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Diğer yandan bazı deneylerde çalışılan bitkilerin özellikle su özütlerinin artan derişimlerine bağlı olarak inhibisyon değerlerinde düşme gözlenmesi, özüt içinde derişim artışının antioksidant özelliği önleyici bileşen lehine bir sonuç doğurmuş olabileceği kanısını uyandırmaktadır.

5. 2. 2. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama yöntemi Fe⁺² ile ferrozinin oluşturduğu kompleks yapının başka bir şelatlayıcı molekül tarafından engellenmesi temeline dayanmaktadır. Ortamda başka bir şelatlayıcı molekül bulunduğu zaman bu madde Fe⁺² ile kompleks oluşturmaktadır. Fe⁺² ile ferrozin kompleksi 562 nm' de absorpsiyon vermektedir. Bu kompleksin oluşumu engellendiği zaman kırmızı renk oluşumu azalmaktadır.⁸⁰ Metal şelatlama yönteminde pozitif kontrol olarak şelatlayıcı özelliği bilinen EDTA ve BHT kullanıldı.

H. retusum' un metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.70 iken % 78.00'a indiği gözlenmektedir. *H. retusum* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 28.40 iken 0.6 mg/mL'de % 18.60'ya düştüğü, bitkinin su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise % 30.20'den % 27.30'e indiği tespit edildi.

Bu durum bize *H. retusum* bitkisinin çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin su özütünün genel olarak etanol özütünden daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.9.; Şekil 4.7.).

H. scabrum' un metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.70 iken % 78.00'a indiğı gözlenmektedir. *H. scabrum* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 27.80 iken 0.6 mg/mL'de % 18.40'e düştüğü, bitkinin su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise % 31.00'dan % 29.20'ye indiğı tespit edildi. Bu durum bize *H. scabrum* bitkisinin çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin su özütünün etanol özütünden daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.10.; Şekil 4.8.).

H. lysimachioides' in metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.60 iken % 77.80'e indiğı gözlenmektedir. *H. lysimachioides* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 27.10 iken 0.6 mg/mL'de % 20.20'ye düştüğü , bitkinin su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise % 30.00'dan % 29.30'e indiğı tespit edildi. Bu durum bize *H. lysimachioides* bitkisinin çok fazla çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin su özütünün etanol özütünden daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.11.; Şekil 4.9.).

A. aleppica subsp. aleppica' nın metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.60 iken %77.80'e indiğı gözlenmektedir. *A. aleppica subsp. aleppica* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 28.40 iken 0.6 mg/mL'de % 27.10'e düştüğü bitkinin

su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise % 29.10'den %27.30'e indiği tespit edildi. Bu durum bize *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin su özütünün genel olarak etanol özütünden daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.12.; Şekil 4.10.).

A. aleppica subsp. *zederbaueri*' nin metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.80 iken %78.10'e indiği gözlenmektedir. *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 29.90 iken 0.6 mg/mL'de %28.30'e düştüğü, bitkinin su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise %29.60'dan % 28.30'e indiği tespit edildi. Bu durum bize *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* bitkisinin çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin etanol ve su özütlerinin birbirine çok yakın değerlerde metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.13.; Şekil 4.11.).

A. biebersteinii' nin metal şelatlama aktivitesine bakılırken pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA' nın inhibisyon gücünün 0.1 mg/mL'de % 99.20 iken 0.6 mg/mL'de % 99.50'e çıktığı, BHT'nin aynı derişimlerde ise % 87.80 iken % 78.10'e indiği gözlenmektedir. *A. biebersteinii* bitkisinin etanol özütünün metal şelatlama gücü 0.1 mg/mL'de % 28.70 iken 0.6 mg/mL'de % 25.90'a düştüğü, bitkinin su özütünün aynı derişimlerde metal şelatlama gücünün ise % 31.00'dan % 28.30'e indiği tespit edildi. Bu durum bize *A. biebersteinii* bitkisinin çok fazla metal şelatlama gücünün olmadığını ve derişim arttıkça bu değerin artmadığını göstermektedir. Ayrıca bitkinin su özütünün genel olarak etanol özütünden daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.14.; Şekil 4.12.).

Böyle bir sonucun elde edilmesi bitkilerin su özütlerinin oransal olarak metal şelatlama kapasitesi yüksek polar bileşen içermesi olasılığının etanol özütüyle kıyaslandığında daha yüksek olmasıyla açıklanabilir.

5. 2. 3. Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayini

Toplam fenolik bileşen miktar tayininde amaç bitkinin içerdiği gallik asite ekivalent fenolik bileşen miktarını bulmaktır. Genellikle güçlü radikal söndürme ve antioksidant aktivitesi olan maddelerin yüksek oranda fenolik bileşen içerdikleri bulunmuştur. Bu nedenle bu yöntem bitkilerin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarını ölçme temeline dayanmaktadır.⁹³

Bu yöntemde öncelikle fenolik bir bileşen olan standart olarak kullandığımız gallik asitin artan derişimlerine karşılık absorbans değerleri bulunup grafiğe geçirildi. Böylece aşağıdaki gibi bir eşitlik türetildi (Şekil 4.13).

$$\text{Absorbans (A)} = 0.001 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlik yardımıyla bitkiler için bulmuş olduğumuz absorbans değerleri formülde kullanılarak 1 mg' larının içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı gallik asite ekivalent olarak hesaplandı. Çalıştığımız tüm bitkilerin etanol özütlerinin su özütlerine oranla daha fazla fenolik bileşen içerdiği tespit edildi.

H. retusum' un etanol özütünün absorbans değeri olan 0.226 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 226.0 μg , su özütünün absorbans değeri olan 0.103 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 103.0 μg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

H. scabrum' un etanol özütünün absorbans değeri olan 0.262 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 262.0 μg , su özütünün absorbans değeri olan 0.076 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 76.00 μg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

H. lysimachioides' in etanol özütünün absorbans değeri olan 0.266 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 266.0 μg , su özütünün absorbans değeri olan 0.132 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 132.0 μg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

A. aleppica subsp. aleppica'nın etanol özütünün absorbans değeri olan 0.118 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 118.0 μg , su

özütünün absorbans değeri olan 0.079 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 79.00 µg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

A. aleppica subsp. zederbaueri' nin etanol özütünün absorbans değeri olan 0.126 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 126.0 µg, su özütünün absorbans değeri olan 0.071 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 71.00 µg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

A. biebersteinii' nin etanol özütünün absorbans değeri olan 0.134 formülde kullanıldığında 1 mg bitki içindeki fenolik bileşen miktarı 134.0 µg, su özütünün absorbans değeri olan 0.052 formülde kullanıldığında ise fenolik bileşen miktarı 52.00 µg olarak hesaplanmaktadır (Tablo 4.15.).

İnsanlık tarihi boyunca bitkisel ilaçlarla tedavinin bir çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bugün bile birçok gelişmiş ülkede bitki materyalleri hastalıkları tedavide ilk müdahale olarak büyük rol oynamaktadır. Batı tıbbında kullanılan ilaçların % 25'ini yüksek bitki türlerinden elde edilen maddeler oluşturmaktadır. Ayrıca 121 biyoaktif bitki türlerinden elde edilen bileşenlerin % 74' ü dünyada hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek bitki türlerinin yeni antimikrobiyal maddeler için potansiyel bir kaynak olduğu bilinmektedir. Bitki ekstraktlarının taranması ve bunlardan keşfedilecek yeni ilaçların çeşitli hastalıklar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi bilim adamlarının oldukça ilgisini çeken konular arasındadır.⁹⁴

Bitki türlerinin araştırılması ve yapılarının analiz edilmesi bizce insan sağlığı açısından çok önemli bir konudur. Bizler doğada bulunan henüz araştırılmamış bir çok bitki türünün hastalıklardan koruyucu özellikleri olduğu kanısındayız. Yaptığımız çalışmada da daha önce antimikrobiyal ve antioksidant özellikleri araştırılmamış bazı *Hypericum* ve *Achillea* türü bitkilerin bu özelliklerini araştırmaya çalıştık. Çalışmalar sonucunda bitki türlerinin hemen hemen hepsinin özellikle de *Hypericum* türü bitkilerin yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Ayrıca bazı bakterilere, IPM hariç diğer antibiyotikler etki etmezken bitkilerin bu bakteriler üzerinde değişik oranlarda zon inhibisyonu oluşturduğu tespit edildi. Örneğin *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin 8 mm, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin

10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. Yine *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterisine AML antibiyotiği etki etmezken *H. scabrum* bitkisinin 8 mm, *A. aleppica* subsp. *aleppica*, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. *E. aerogenes* bakterisine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken *H. scabrum* ve *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkilerinin 8 mm, *H. lysimchioides*, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. *K. oxytoca* bakterisine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken *H. scabrum*, *A. aleppica* subsp. *aleppica* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin 8 mm, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* bitkisinin 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. Yine denenen klinik izolatlardan *P. aeruginosa* bakterisine AML ve SAM antibiyotikleri etki etmezken *H. retusum* ve *A. biebersteinii* bitkilerinin 14 mm, *H. scabrum* 16 mm, *H. lysimachioides* 18 mm, *A. aleppica* subsp. *aleppica* 10 mm, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* 12 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. Bu bakteri üzerinde *H. retusum* bitkisinin 1 mL'sine 1 mg EDTA ilave edilmiş halinin oluşturduğu zon inhibisyonunun artarak 24 mm, *H. scabrum*'un değişmeyip 16 mm, *H. lysimachioides*'in değişmeyip 18 mm, *A. aleppica* subsp. *aleppica*'nın artarak 12 mm, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. biebersteinii*'nin azalarak 10 mm çapında zon inhibisyonu oluşturdıkları gözlemlendi. Genel olarak AML ve SAM antibiyotiklerinin etki etmediği tüm bakteriler üzerinde *Achillea* türü bitkilerin tamamının *Hypericum* türlerinin ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 dışındaki diğer bakterilere karşı çoğunun antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi.

DPPH radikalini söndürme aktivitesinin en fazla *H. lysimachioides*'in etanol özütünün gösterdiği, *Achillea*'ların 3 türünün benzer aktivite gösterdikleri ve bitkilerin tamamının su özütlerinin aktivitelerinin etanol özütlerinden daha düşük olduğu belirlendi.

Metal şelatlama aktivitelerinin bitkilerin hemen hemen hepsinde aynı olduğu ve su özütlerinin etanol özütlerine oranla az bir farkla daha yüksek olduğu belirlendi.

Bitkilerin 1 mg'larının içerdiği toplam fenolik bileşen miktarının en fazla *H. lysimachioides*'in etanol özütünün içerdiği ve *Hypericum* türlerinin *Achillea* türlerine oranla daha fazla miktarda fenolik içerdikleri belirlendi. Ayrıca tüm bitki türlerinin etanol özütlerinin su özütlerinden daha fazla fenolik bileşen içerdikleri de tespit edildi. Bitkilerin daha yüksek oranda fenolik bileşen içeren etanol özütlerinin DPPH radikalini

söndürme aktivitelerinin su özütlerine oranla daha fazla olduğu saptandı. Ancak metal şelatlama aktivitesi için bu durumun geçerli olmadığı küçük bir farkla da olsa bitkilerin su özütlerinin etanol özütlerine oranla daha fazla metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edildi.

Bu araştırma bize çalışılan bitkilerin antimikrobiyal ve antioksidant maddeler için iyi bir kaynak olabileceğini göstermiştir. Bu tür bitkilerin tıptaki önemi ve bitkilerin toplandığı bölgelerdeki insanların sağlık problemlerinin ilk çözümü için temel oluşturabilmesi açısından önem taşımaktadır. İster DPPH radikalini söndürme yöntemi, ister metal şelatlama özelliğini ölçme yöntemi, isterse de toplam fenolik bileşen ölçme yöntemi ile çalışılan her bir bitkinin etanol ve su özütlerinin farklı antioksidant özellik göstermeleri çalışılan bitkilerin birden fazla sayıda bu özelliğe sahip bileşen içerdiğini göstermektedir. Bundan sonraki çalışmalarda özütlerin bileşenleri saflaştırılıp hem antimikrobiyal hem de antioksidant özelliklerinin araştırılması hedeflenmektedir.



6. TABLOLAR, RESİMLER VE ŞEKİLLER



Tablo 4.1. *Hypericum retusum*, *Hypericum scabrum*, *Hypericum lysimachioides* bitkilerinin etanol özütlelerinin ve standart antibiyotiklerin seçilen mikroorganizmalar için neden oldukları zon çapları (mm).

Test Edilen Mikroorganizmalar	İnhibisyon Zonları (mm)					
	H-1	H-2	H-3	Antibiyotikler		
	2.0 mg	2.0 mg	2.0 mg	IPM	AML	SAM
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 ^a	-	-	-	28	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883 ^a	-	8	-	24	-	10
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355 ^a	8	8	10	24	18	18
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 ^a	8	8	10	24	20	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228 ^a	14	14	12	30	28	24
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^a	-	8	10	30	20	14
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^b	-	8	10	26	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ^b	20	14	16	30	14	16
<i>Klebsiella oxytoca</i> ^b	-	8	-	30	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> ^b	16	14	16	30	30	20
<i>Streptococcus pyogenes</i> ^b	16	12	18	18	12	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^b	14	16	18	26	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{b,c}	24	16	18	26	-	-
<i>Candida albicans</i> ^b	8	8	8	T.E	T.E	T.E

^aTÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsünden temin edilen bakteriler.

^bDicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalından alınan klinik izolatlar.

^cEDTA içeren özet çözeltisi emdirilmiş disklerle elde edilen değerler.

IPM: Imipenem (10µg), AML: Amoxicillin (25µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg)

H-1: *Hypericum retusum*, H-2: *Hypericum scabrum*, H-3: *Hypericum lysimachioides*

-: Zon oluşturmadı, T.E: Test edilmedi.

Tablo 4.2. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*, *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*, *Achillea biebersteinii* bitkilerinin etanol özütlerinin ve standart antibiyotiklerin seçilen mikroorganizmalar için neden oldukları zon çapları (mm).

Test Edilen Mikroorganizmalar	İnhibisyon Zonları (mm)						
	A-1	A-2	A-3	Antibiyotikler			
	2.0 mg	2.0 mg	2.0 mg	IPM	AML	SAM	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 ^a	8	10	10	28	-	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883 ^a	10	10	10	24	-	10	
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355 ^a	10	10	10	24	18	18	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 ^a	12	10	10	24	20	16	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228 ^a	10	10	10	30	28	24	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^a	8	10	10	30	20	14	
<i>Enterobacter aerogenes</i> ^b	8	10	10	26	-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i> ^b	10	10	10	30	14	16	
<i>Klebsiella oxytoca</i> ^b	8	10	8	30	-	-	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ^b	10	10	10	30	30	20	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ^b	10	10	10	18	12	18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{b,c}	10	12	14	26	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{b,c}	12	10	10	26	-	-	
<i>Candida albicans</i> ^b	8	10	10	T.E	T.E	T.E	

^aTÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsünden temin edilen bakteriler.

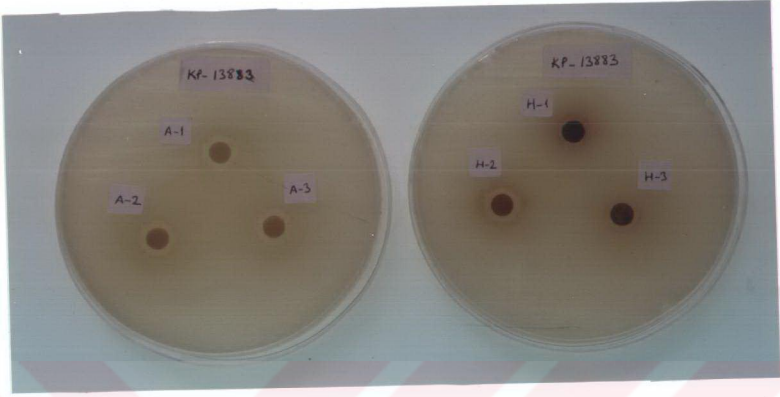
^bDicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalından alınan klinik izolatlar.

^cEDTA içeren özüt çözeltisi emdirilmiş disklerle elde edilen değerler.

IPM: İmpenem (10µg), AML: Amoxicillin (25µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg)

A-1: *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*, A-2: *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*, A-3: *Achillea biebersteinii*

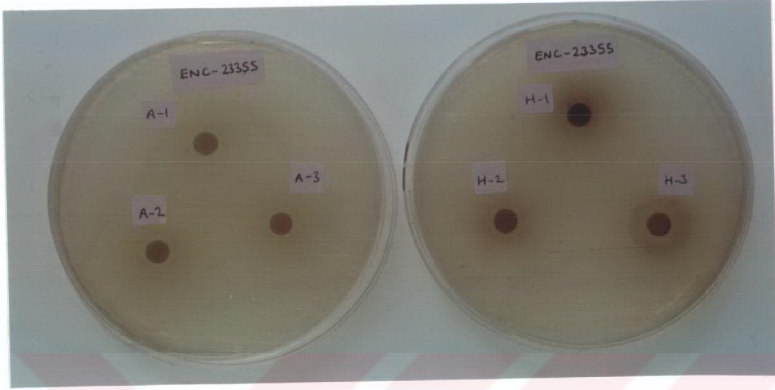
-: Zon oluşturmadı, T.E: Test edilmedi.



Resim 4.1.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *K. pneumoniae* ATCC 13883 üzerine antimikrobiyal etkisi.



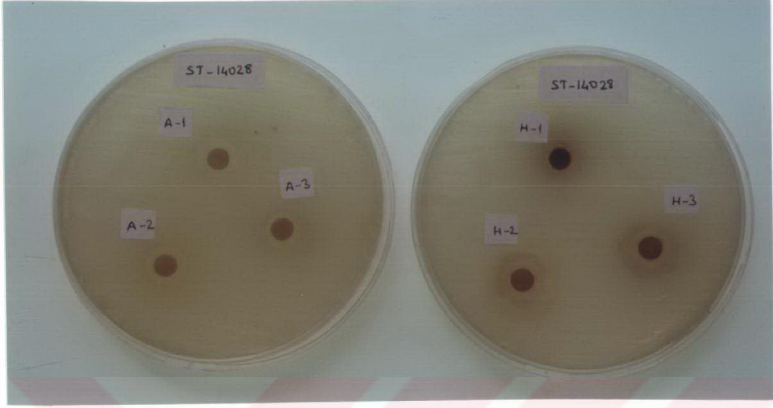
Resim 4.1.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *K. pneumoniae* ATCC 13883 üzerine antimikrobiyal etkisi.



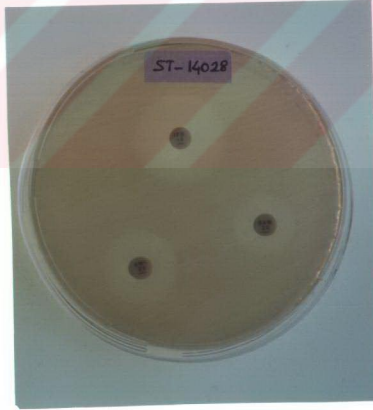
Resim 4.2.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *E. cloacae* ATCC 23355 üzerine antimikrobiyal etkisi.



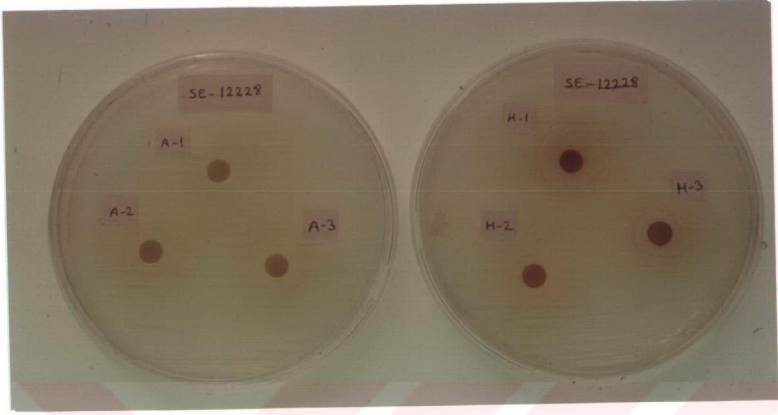
Resim 4.2.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. cloacae* ATCC 23355 üzerine antimikrobiyal etkisi.



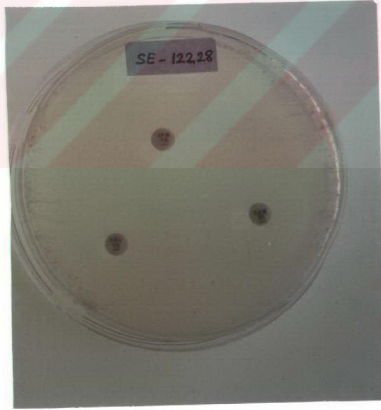
Resim 4.3.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *S. typhimurium* ATCC 14028 üzerine antimikrobiyal etkisi.



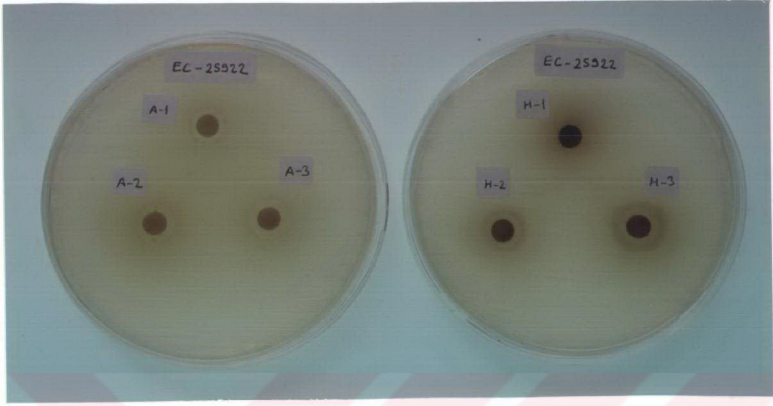
Resim 4.3.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. typhimurium* ATCC 14028 üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.4.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *S. epidermis* ATCC 12228 üzerine antimikrobiyal etkisi.



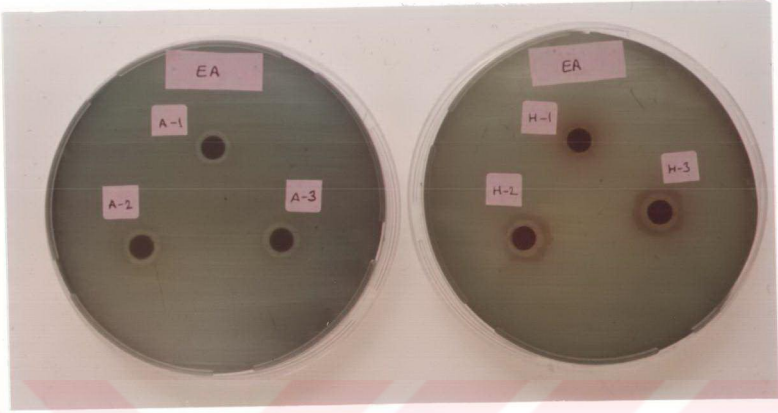
Resim 4.4.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. epidermis* ATCC 12228 üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.5.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *E. coli* ATCC 25922 üzerine antimikrobiyal etkisi.



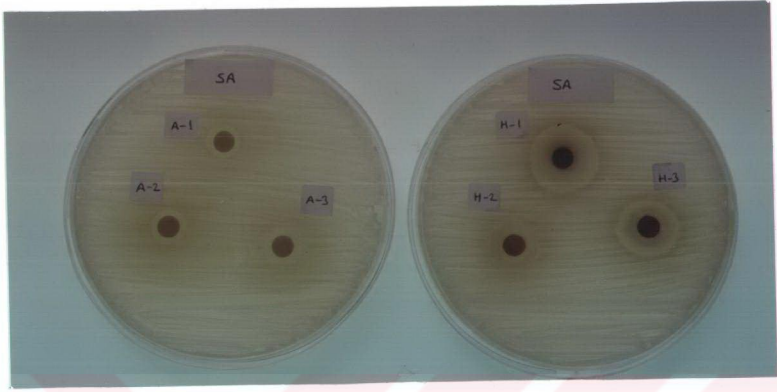
Resim 4.5.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. coli* ATCC 25922 üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.6.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *E. aerogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.



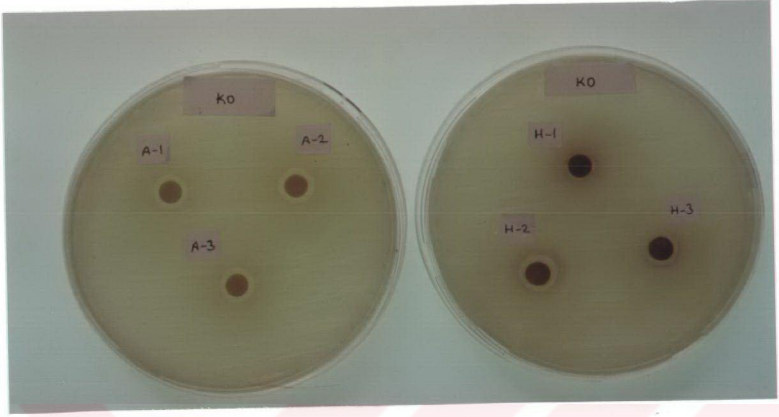
Resim 4.6.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. aerogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.7.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi.



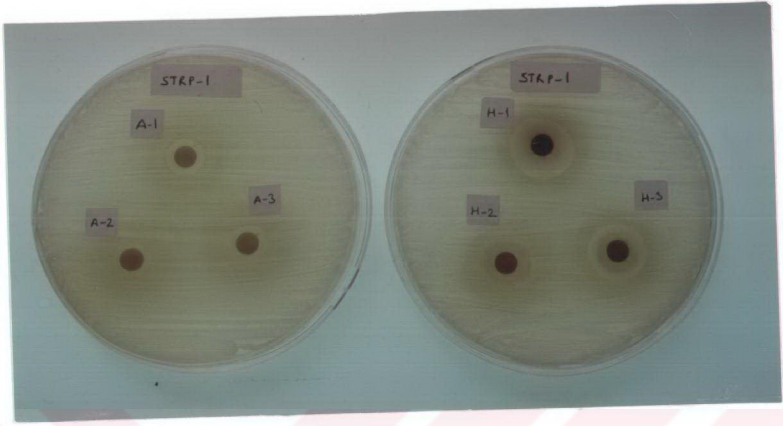
Resim 4.7.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.8.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlüğünün *K. oxytoca* üzerine antimikrobiyal etkisi.



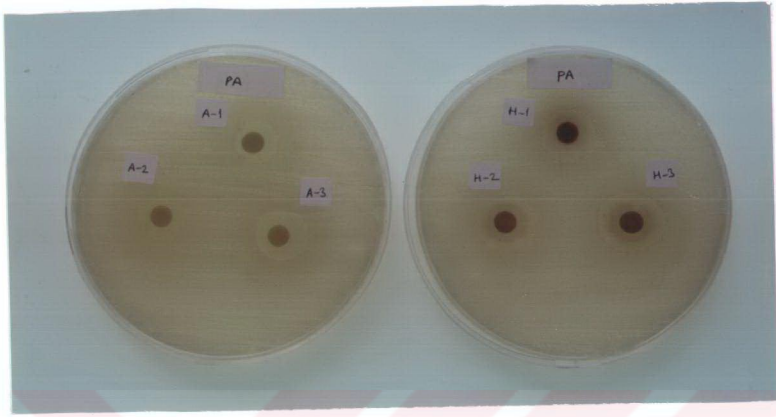
Resim 4.8.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *K. oxytoca* üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.9.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *S. pyogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.



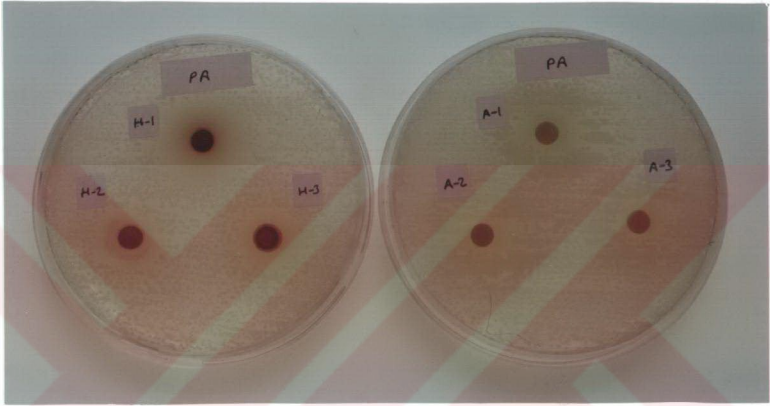
Resim 4.9.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. pyogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.10.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.



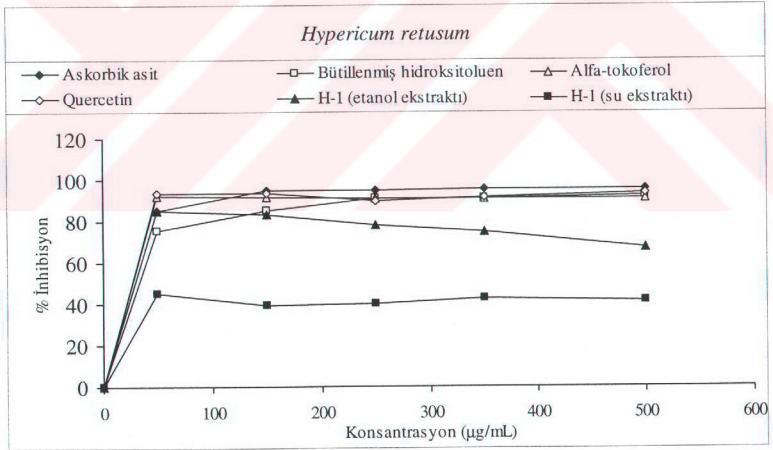
Resim 4.10.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.



Resim 4.11. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin EDTA içeren etanol özütlерinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	93.80	93.40	89.90	91.60	93.80
Askorbik asit	85.50	95.20	95.20	95.60	95.60
Bütillenmiş hidroksitoluen	75.80	85.00	90.80	91.20	92.50
α-Tokoferol	92.10	91.60	91.20	91.20	90.80
<i>Hypericum retusum</i> (etanol ekstraktı)	85.00	83.30	78.00	74.90	67.40
<i>Hypericum retusum</i> (su ekstraktı)	45.40	39.70	40.10	42.30	41.00

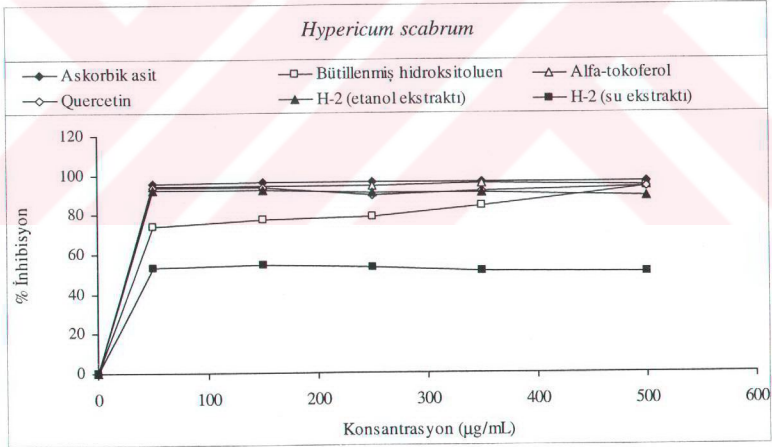
Tablo 4.3. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.1. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	93.90	93.50	90.00	91.70	93.90
Askorbik asit	95.70	96.50	96.50	96.50	96.10
Bütillenmiş hidroksitoluen	74.40	77.80	79.10	84.40	93.50
α-Tokoferol	94.40	94.40	94.40	95.70	94.40
<i>Hypericum scabrum</i> (etanol ekstraktı)	92.60	92.60	90.90	90.90	88.70
<i>Hypericum scabrum</i> (su ekstraktı)	53.00	54.40	53.00	51.30	50.90

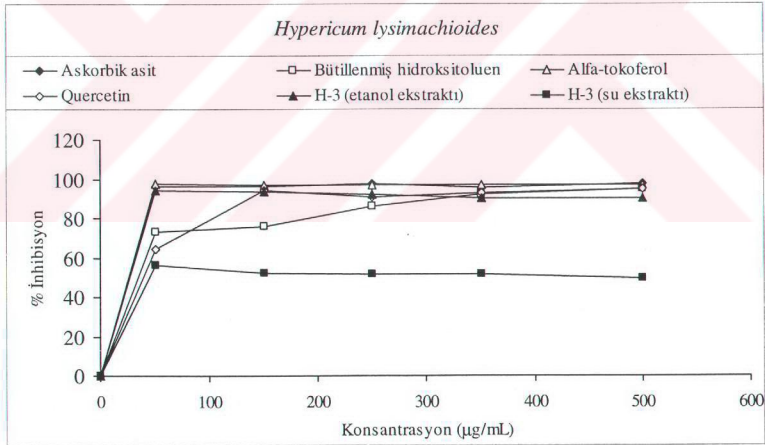
Tablo 4.4. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.2. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	94.60	94.20	91.10	92.70	94.60
Askorbik asit	96.10	96.10	97.30	95.40	97.30
Bütillenmiş hidroksitoluen	73.40	76.10	86.10	92.30	95.00
α-Tokoferol	97.30	96.90	96.90	96.90	96.90
<i>Hypericum lysimachioides</i> (etanol ekstraktı)	94.20	93.40	91.90	90.00	90.40
<i>Hypericum lysimachioides</i> (su ekstraktı)	56.00	52.10	51.70	51.70	49.40

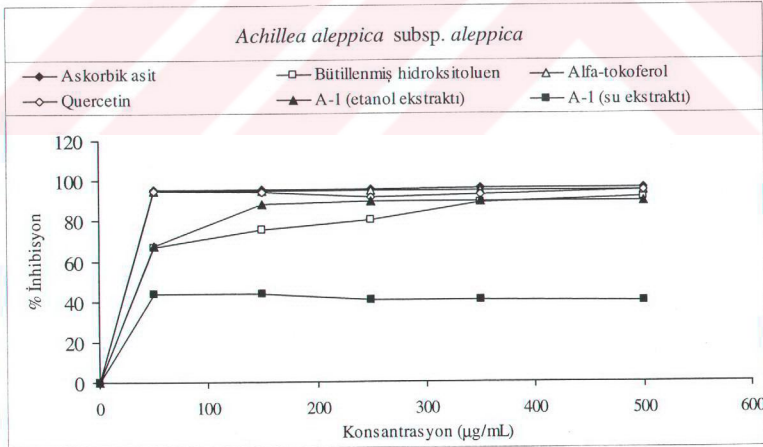
Tablo 4.5. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.3. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özütleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	94.70	94.30	91.30	92.80	94.70
Askorbik asit	95.50	95.50	95.50	95.80	95.80
Bütillenmiş hidroksitoluen	66.70	75.80	80.30	88.60	91.70
α-Tokoferol	95.10	95.10	94.70	94.70	95.10
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (etanol ekstraktı)	67.80	88.30	89.40	89.80	89.40
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (su ekstraktı)	43.90	43.60	40.50	40.50	39.80

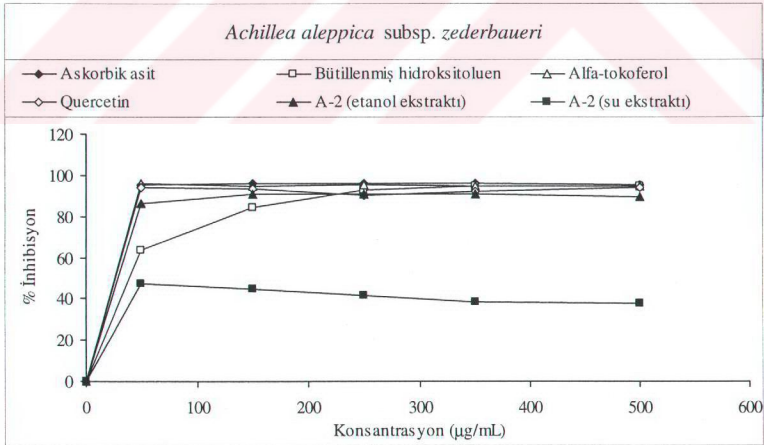
Tablo 4.6. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.4. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	94.00	93.60	90.10	91.90	94.00
Askorbik asit	95.30	95.70	95.70	95.70	95.30
Bütillenmiş hidroksitoluen	63.50	84.10	92.70	94.90	94.90
α-Tokoferol	95.70	94.90	95.30	94.90	94.90
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (etanolekstraktı)	86.30	90.60	90.60	90.60	89.70
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (su ekstraktı)	47.60	44.60	41.60	38.20	37.80

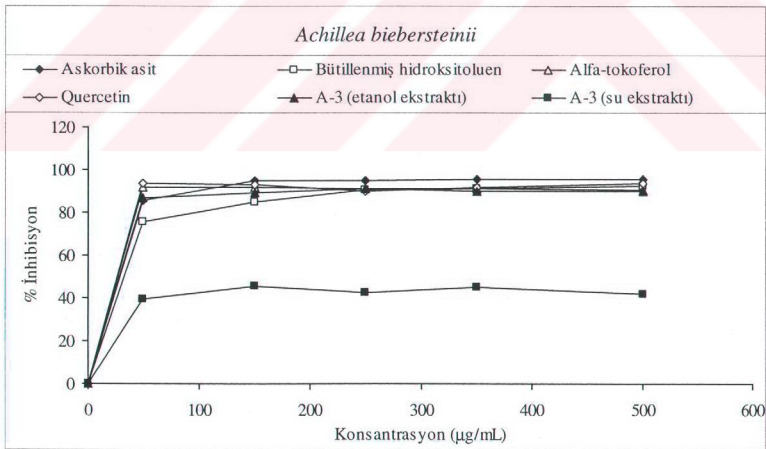
Tablo 4.7. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.5. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı				
	50 µg/mL	150 µg/mL	250 µg/mL	350 µg/mL	500 µg/mL
Quercetin	93.80	93.40	89.90	91.60	93.80
Askorbik asit	85.50	95.20	95.20	95.60	95.60
Bütillenmiş hidroksitoluen	75.80	85.00	90.80	91.20	92.50
α-Tokoferol	92.10	91.60	91.20	91.20	90.80
<i>Achillea biebersteinii</i> (etanol ekstraktı)	86.80	89.40	91.20	89.90	89.90
<i>Achillea biebersteinii</i> (su ekstraktı)	39.20	45.80	42.70	44.90	41.90

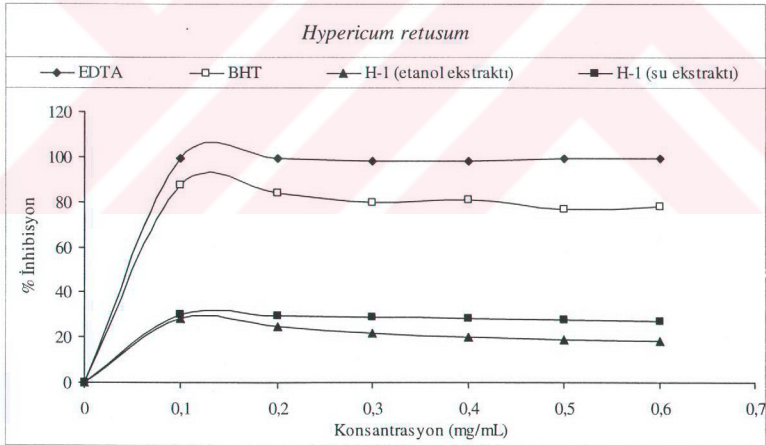
Tablo 4.8. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.6. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özütleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	98.00	98.10	99.50	99.50
BHT	87.70	84.10	79.80	80.90	77.00	78.00
<i>Hypericum retusum</i> (etanol ekstraktı)	28.40	24.80	21.60	19.90	19.20	18.60
<i>Hypericum retusum</i> (su ekstraktı)	30.20	29.50	29.10	28.60	27.90	27.30

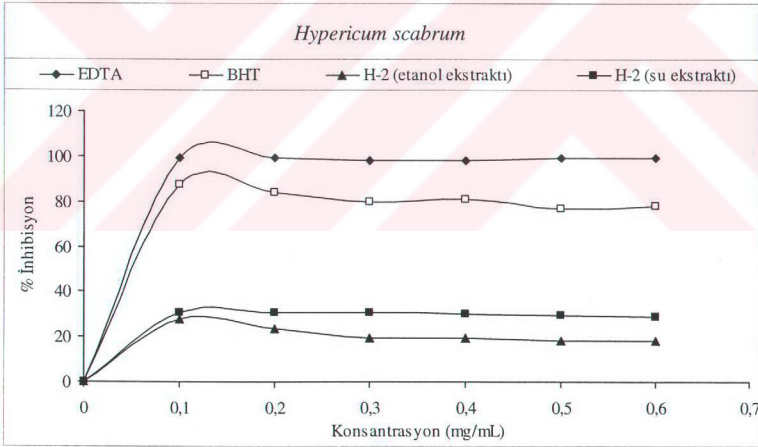
Tablo 4.9. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.7. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	98.00	98.10	99.50	99.50
BHT	87.70	84.10	79.80	80.90	77.00	78.00
<i>Hypericum scabrum</i> (etanol ekstraktı)	27.80	23.40	19.70	19.60	18.30	18.40
<i>Hypericum scabrum</i> (su ekstraktı)	31.00	30.60	30.50	30.00	29.60	29.20

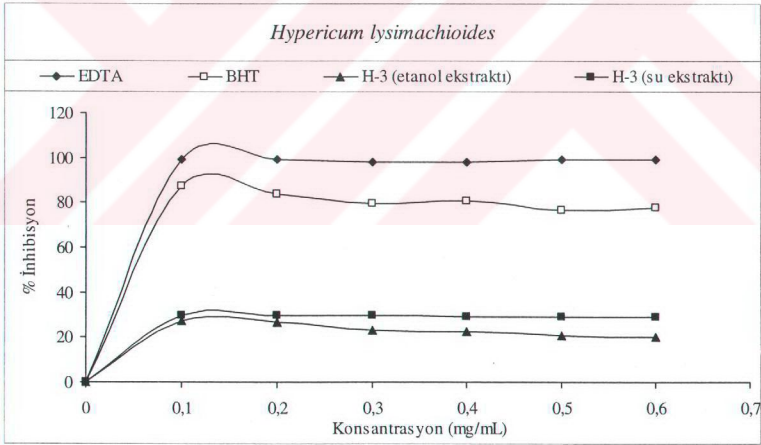
Tablo 4.10. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.8. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özütleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	97.90	98.10	99.50	99.50
BHT	87.60	84.00	79.60	80.80	76.70	77.80
<i>Hypericum lysimachioides</i> (etanol ekstraktı)	27.10	26.50	23.30	22.50	21.00	20.20
<i>Hypericum lysimachioides</i> (su ekstraktı)	30.00	29.50	29.70	29.10	29.20	29.30

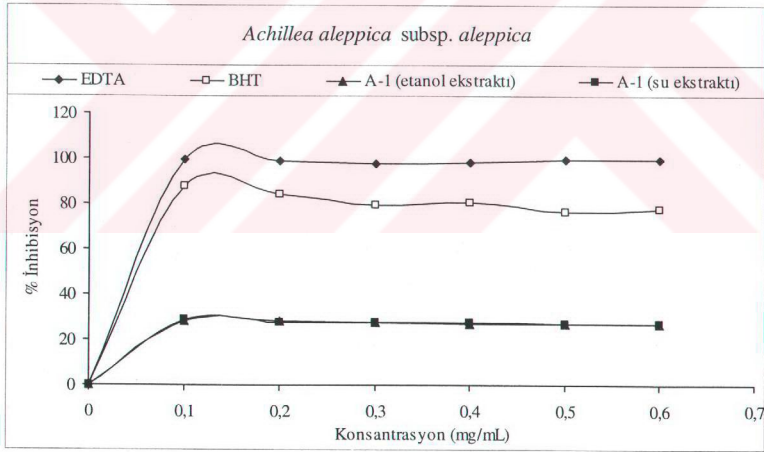
Tablo 4.11. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.9. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	97.90	98.10	99.50	99.50
BHT	87.60	84.00	79.60	80.80	76.70	77.80
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (etanol ekstraktı)	28.40	28.30	27.80	27.30	27.10	27.10
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (su ekstraktı)	29.10	27.80	27.80	27.80	27.30	27.30

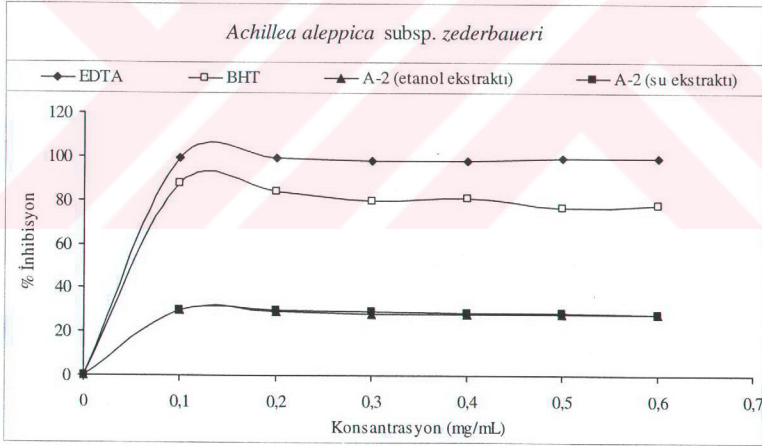
Tablo 4.12. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.10. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	98.00	98.10	99.50	99.50
BHT	87.80	84.20	79.90	81.00	77.00	78.10
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (etanol ekstraktı)	29.90	29.20	28.30	28.10	27.90	28.30
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (su ekstraktı)	29.60	30.00	29.00	28.70	28.70	28.30

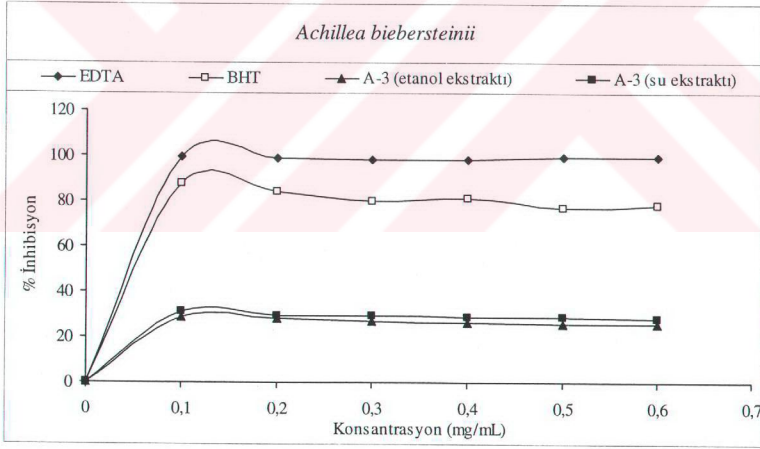
Tablo 4.13. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



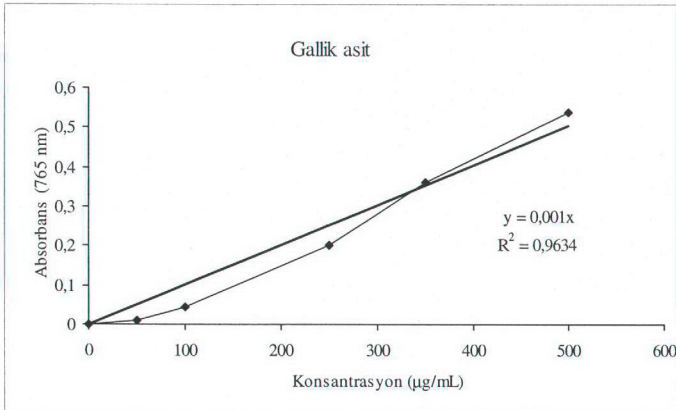
Şekil 4.11. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Kullanılan Pozitif Kontroller ile Bitkinin Etanol ve Su Özüleri	Konsantrasyon aralığı					
	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	0.3 mg/mL	0.4 mg/mL	0.5 mg/mL	0.6 mg/mL
EDTA	99.20	99.10	98.00	98.10	99.50	99.50
BHT	87.80	84.20	79.90	81.00	77.00	78.10
<i>Achillea biebersteinii</i> (etanol ekstraktı)	28.70	28.10	27.00	26.50	25.60	25.90
<i>Achillea biebersteinii</i> (su ekstraktı)	31.00	29.60	29.60	28.60	28.60	28.30

Tablo 4.14. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.



Şekil 4.12. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.



Şekil 4.13. Gallik asitin artan derişimlerine karşılık ölçülen absorbans değerleri.

Bitki Özütləri	Gallik asit ekvivalentleri (µg GAE/mg ekstrakt)
<i>Hypericum retusum</i> (Etanol özütü)	226.0
<i>Hypericum retusum</i> (Su özütü)	103.0
<i>Hypericum scabrum</i> (Etanol özütü)	262.0
<i>Hypericum scabrum</i> (Su özütü)	76.00
<i>Hypericum lysimachioides</i> (Etanol özütü)	266.0
<i>Hypericum lysimachioides</i> (Su özütü)	132.0
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (Etanol özütü)	118.0
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>aleppica</i> (Su özütü)	79.00
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (Etanol özütü)	126.0
<i>Achillea aleppica</i> subsp. <i>zederbaueri</i> (Su özütü)	71.00
<i>Achillea biebersteinii</i> (Etanol özütü)	134.0
<i>Achillea biebersteinii</i> (Su özütü)	52.00

Tablo 4.15. Bitki özütleri içindeki gallik asite ekvivalent toplam fenolik bileşen miktarları (µg/mg).

7. KAYNAKLAR

1. Taylor, L. Plant Based Drugs and Medicines. *Nutrition*. **2000**, *16*, 20-28.
2. Schiff, P. B.; Fant, J. & Horwitz, S. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by Taxol. *Nature*. **1979**, *277*, 665-667.
3. Mann, J. Perspectives. *Nature*. **2002**, *2*, 143-148.
4. Nelson, R. The comparative clinical pharmacology and pharmacokinetics of vindesine, vincristine and vinblastine in human patients with cancer. *Med. Pediatr. Oncol*. **1982**, *10*, 115-127.
5. Iwu, M. M.; Duncan, A. R.; Okunji, C. O. New Antimicrobials of Plant Origin. *Perspectives on new crops and new uses*. Janick, J., Ed.; ASHS: Alexandria, VA, **1999**, pp 457-462.
6. Topliss, J. G.; Clark, A. M.; Ernst, E.; Hufford, C. D.; Johnston, G. A. R.; Rimoldi, J. M.; Weimann, B. J. Natural and Synthetic Substances Related To Human Health. *Pure Appl. Chem*. **2002**, *74*, 1957-1985.
7. Johnson, I. T.; Williamson, G.; Musk, S. R. Anticarcinogenic factors in plant foods: a new class of nutrients. *Nutr. Rev*. **1994**, *7*, 175-204.
8. Dragsted, L. O.; Strube, M.; Larsen, J. C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. *Pharmacol. Toxicol*. **1993**, *72*, 116-135.
9. Jang, M.; Cai, L.; Udeani, G. O.; Pezzuto, J. M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. **1997**, *275*, 218-220.
10. Chanvitayapongs, S.; Draczynska-Lusiak, B.; Sun, A. Y. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC 12 cells. *Neuroreport*. **1997**, *8*, 1499-1502.
11. Clement, M. V.; Hirpara, J. L.; Chawdhury, S.; Pervaiz, S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood*. **1998**, *92* (3), 996-1002.
12. Leao, M. B. C.; Souza, F. N.; Taft, C. A.; Pavao, A. C. Cancer protector activity of antioxidant compounds. *Theo. Chem*. **2003**, *640*, 163-165.
13. Pavao, A. C.; Taft, C. A.; Guimaraes, T. C. F.; Leao, M. B. C.; Mohallem, J. R.; Lester, W. A. *J. Phys. Chem*. **2001**, *105*, 5.
14. Robson, N. K. B. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Davis, P. H., Ed.; Vol. 2. Edinburgh University Press, Edinburgh, **1967**, pp 355-401.

15. Baytop, T. *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Türk Dil Kurumu Yayınları, No:578, Ankara, 1997, p 60-152.
16. Yazaki, K.; Okada, T. *Hypericum erectum* Thunb. (St. John's wort): *in vitro* culture and the production of procynadins. *Biotechnol. Agric. and Forest.* 1994, 26, 167-178.
17. Ishiguro, K.; Yamaki, M.; Kashiwara, T.; Takagi, S.; Isoi, K. *Planta Med.* 1990, 274.
18. De Costerd, L.; Stoeckli-Evans, H.; Msonthi, J. D.; Hostettmann K. *Helv. Chim. Acta.* 1987, 70, 1694.
19. Jayasuriya, K.; Mechesney, J. D.; Swanson, S. M.; Pezzuto, J. M. *J. Nat. Prod.* 1989, 52, 325.
20. Hu, L. H.; Sim, K. Y. Sampsoniones A-M, a unique family of caged polyprenylated benzoylphloroglucinol derivatives, from *Hypericum sampsonii*. *Tetrahedron.* 2000, 56, 1379-1386.
21. Barnes, J.; Anderson, L. A.; Phillipson, J. D. St John wort (*Hypericum perforatum* L.) : a review of its chemistry pharmacology and clinical properties. *J. Pharm. Pharmacol.* 2001, 53, 583-600.
22. Butterweck, V.; Wall, A.; Lieflander-Wulf, U.; Winterhoff, H.; Nahrsted, A. Effects of the total extract and fractions of *Hypericum perforatum* in animal assays for antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry.* 1997, 30, 117-124.
23. Butterweck, V.; Jurgenliemk, G.; Nahrstedt, A.; Winterhoff, H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med.* 2000, 66, 3-6.
24. Butterweck, V.; Bockers, T.; Korte, B.; Wittkowski, W.; Winterhoff, H. Long-term effects of St. John's wort and hypericin on monoamine levels in rat hypothalamus and hippocampus. *Brain Res.* 2002, 930, 21-29.
25. Flausino, O. A.; Zangrossi, H.; Salgado, J. V.; Viana, M. B. Effects of acute and chronic treatment with *Hypericum perforatum* L. (LI 160) on different anxiety-related responses in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002, 71, 251-257.
26. Sakar, M. K.; Tamer, A. U. Antimicrobial activity of different extracts from *Hypericum* species. *Fitoterapia.* 1990, 61, 464-466.
27. Tada, M.; Chiba, K.; Yamada, H.; Maruyama, H. Phloroglucinol derivatives as competitive inhibitors against thromboxane A₂ and leukotriene D₄ from *Hypericum erectum*. *Phytochemistry.* 1991, 30, 2559-2562.
28. Chung, M. I.; Lai, M. H.; Yen, M. H.; Wu, R. R.; Lin, C. N. Phenolics from *Hypericum geminiflorum*. *Phytochemistry.* 1997, 44, 943-947.

29. Dias, A. C. P.; Tomas-Barberan, F. A.; Fernandes-Ferreira, M.; Ferreres, F. Unusual flavonoids produced by callus of *Hypericum perforatum*. *Phytochemistry*. **1998**, *48*, 1165-1168.
30. Ishiguro, K.; Nagata, S.; Fukumoto, H.; Yamaki, M.; Takagi, S.; Isoi, K. A Flavanonol rhamnoside from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*. **1991**, *30*, 3152-3153.
31. Ishiguro, K.; Nagata, S.; Fukumoto, H.; Yamaki, M.; Isoi, K.; Oyama, Y. An isopentenylated flavonol from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*. **1993 a**, *32*, 1583-1585.
32. Ishiguro, K.; Yamaki, M.; Kashihara, M.; Takagi, S.; Isoi, K. A chromene from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*. **1993 b**, *29*, 1010-1011.
33. Gunatilaka, A. A. L.; Balasubramaniam, S.; Kumar, V. 2, 3,-Dimetoxyxanthone from *Hypericum mysorensense*. *Phytochemistry*. **1979**, *18*, 182-183.
34. Rath, G.; Potterat, O.; Mavi, S.; Hostettmann, K. Xanthones from *Hypericum roeperanum*. *Phytochemistry*. **1996**, *43*, 513-520.
35. Wu, Q. L.; Wang, S. P.; Du, L. J.; Zhang, S. M.; Yang, J. S.; Xiao, P. G. Chromone glycosides and flavonoids from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*. **1998 a**, *49*, 1417-1420.
36. Ishiguro, K.; Yamaki, M.; Kashihara, M.; Takagi, S.; Isoi, K. Srothralin G: a new antimicrobial compound from *Hypericum japonicum*. *Planta Med*. **1990**, *56*, 274-276.
37. Wu, Q. L.; Wang, S. P.; Du, L. J.; Yang, J. S.; Xiao, P. G. Xanthones from *Hypericum japonicum* and *H. henryi*. *Phytochemistry*. **1998b**, *49*, 1395-1402.
38. Decosterd, L. A.; Stoeckli-Evans, H.; Chapuis, J. C.; Msonthi, J. D.; Sordat, B.; Hostettmann, K. New hyperforin derivatives from *Hypericum revolutum* Vahl with growth-inhibitory activity against a human colon carcinoma cell line. *Helv. Chim. Acta*. **1989**, *72*, 464-471.
39. Maisenbacher, P.; Kovar, A. Adhyperforin: a homologue of hyperforin from *Hypericum perforatum*. *Planta Med*. **1992**, *58*, 291-293.
40. Trifunovic, S.; Vajs, V.; Macura S.; Juranic, N.; Djarmati, Z.; Jankov, R.; Milosavljevic, S. Oxidation products of hyperforin from *Hypericum perforatum*. *Phytochemistry*. **1998**, *49*, 1305-1310.
41. Decosterd, L. A.; Hoffmann, E.; Kyburz, R.; Bray, D.; Hostettmann, K. A new pholoroglucinol derivative from *Hypericum calycinum* with antifungal and *in vitro* antimalarial activity. *Planta Med*. **1991**, *57*, 548-551.

42. Ishiguro, K.; Nagareya, N.; Fukumoto, H. A phloroglucinol derivative from cell suspension cultures of *Hypericum patulum*. *Phytochemistry*. **1998**, *47*, 1041-1043.
43. Ishiguro, K.; Nagata, S.; Fukumoto, H.; Yamaki, M.; Isoi, K. Phloroglucinol derivatives from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*. **1994**, *35*, 469-471.
44. Brondz, I.; Greibrokk, J.; Aasen, A. J. n-Alkanes of *Hypericum perforatum*: a revision. *Phytochemistry*. **1983**, *2*, 295,-296.
45. Kitanov, G. M. Hypericin and pseudohypericine in some *Hypericum* species. *Biochem. Syst. Ecol.* **2001**, *29*, 171-178.
46. Çakir, A.; Duru, M. E.; Harmandar, M.; Ciriminna, R.; Passannanti, S.; Piozzi, F. Comparison of the volatile oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flavour Frag. J.* **1997**, *12*, 285-287.
47. Huber-Morath, A. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Davis, P. H., Ed.; Vol 5., Edinburgh University Press, Edinburgh, **1975**, pp, 224-252.
48. Rustaiyan, A.; Komeilzadeh, H.; Shariatpanahi, M. S.; Jassbi, A.; Masoudi, S. Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *J. Essent. Oil Res.* **1998**, *10*, 207-209.
49. Chalchat, J. C.; Gorunovic, M. S.; Petrovic, S. D. Aromatic plants of Yugoslavia. I. chemical composition of oils of *Achillea millefolium* L. ssp. *pannonica* (Scheele) Hayak, *A. crithmifolia* W. et K., *A. serbica* Nym. and *tanacetifolia* all. *J. Essent. Oil Res.* **1999**, *11*, 306-310.
50. Simic, N.; Andjelkovic, S.; Palic, R.; Vajs, V.; Milosavicevic, S. Composition and antibacterial activity of *Achillea chrysocoma* essential oil. *J. Essent. Oil Res.* **2000**, *12*, 784-787.
51. Baytop, T. *Türkiyede Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3255, İstanbul, **1984**, p 196-197.
52. Matsuhisa, M.; Shikishima, Y.; Takaishi, Y.; Honda, G.; Ito, M.; Takeda, Y.; Shibata, H.; Higuti, T.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. Benzoylphloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*(3), 290-294.
53. Sökmen, A.; Vardar-Ünlü, G.; Darici, N.; Şahin, S. Antimicrobial activities of methanolic extracts of various plants growing in the Sivas district. *Turk. J. Infect.* **2000**, *14*(2), 253-256.
54. Baser, K. H. C.; Özek, T.; Nuriddinov, H. R.; Demirci, A. B. Essential oils of two *Hypericum* species from Uzbekistan. *Chem. Nat. Compd.* **2002**, *38*(1), 54-57.

55. Yeşilada, E.; Sezik, E.; Fujita, T.; Tanaka, S.; Tabata, M. Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. *Phytother. Res.* **1993**, *7*(3), 263-265.
56. Saboiev, S. S.; Mastonshoeva Kh. S. Raw material reserves of 2 species of the genus *Hypericum* L. and *Origanum tyttanthum* Gontsch. in the western regions of Gorno-Badakhshan district of Tajikistan. *Rastitel'nye Resursy.* **1992**, *28*(2), 36-46.
57. Zevakov, V. A.; Glyzin, V. I.; Shemeryankina, T. B.; Patudin, A. V. Quantitative evaluation of some species of St. John's wort for their level of hypericins by the HPLC method. *Chem. Nat. Compd.* **1991**, *27*(1), 122.
58. Çakir, A.; Duru, M. E.; Harmandar, M.; Ciriminna, R.; Passannanti, S.; Piozzi, F. Comparison of the volatile oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flavour Frag. J.* **1997**, *12*(4), 285-287.
59. Özen, H. Ç.; Başhan, M. The Composition of Fatty Acids in *Hypericum scabrum*, *H. scabroides* and *H. amblysepalum*. *Turk. J. Chem.* **2003**, *27*, 723-725.
60. Kızıl, G.; Toker, Z.; Özen, H. Ç.; Aytekin, Ç. The Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Hypericum scabrum*, *Hypericum scabroides* and *Hypericum triquetrifolium*. *Phytother. Res.* **2004**, *18*(4), 339-341.
61. Özen, H. Ç.; Başhan, M.; Keskin, C.; Toker, Z. Fatty acid and 3-hydroxy fatty acid composition of two *Hypericum* species from Turkey. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2004**, *106*, 68-70.
62. Özen, H. Ç.; Başhan, M.; Toker, Z.; Keskin, C. 3-Hydroxy Fatty Acids from the Flowers of *Hypericum lysimachioides* var. *lysimachioides*. *Turk. J. Chem.* **2004**, *28*, 223-226.
63. Sökmen, A.; Jones, B. M.; Erturk, M. Antimicrobial activity of extracts from the cell cultures of some Turkish medicinal plants. *Phytother. Res.* **1999**, *13*(4), 355-357.
64. Sökmen, A.; Brian, M. J.; Murat, E. The *in vitro* antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *67*, 79-86.
65. Jaimand, K.; Rezaee, M. B. Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *J. Essent. Oil Res.* **2001**, *13*(5), 354-356.
66. Ammar, B.; Flamini, G.; Cioni, P. L.; Morelli, I. Essential oil composition of *Achillea santolina* L. and *Achillea biebersteinii* Aftan. collected in Jordan. *Flavour Frag. J.* **2003**, *18*(1), 36-38.

67. Kusmenoğlu, S.; Baser, K. H. C.; Ozek, T.; Harmandar, M.; Gökalp, Z. Constituents of the essential oil of *Achillea biebersteinii* Afan. *J. Essent. Oil Res.* **1995**, *7*(5), 527-528.
68. Chialva, F.; Monguzzi, F.; Manitto, P.; Akgul, A. Essential oil constituents of *Achillea biebersteinii* Afan. *J. Essent. Oil Res.* **1993**, *5*(1), 87-88.
69. Rustaiyan, A.; Komeilizadeh, H.; Shariatpanahi, M. S.; Jassbi, A.; Masoudi, S. Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *J. Essent. Oil Res.* **1998**, *10*(2), 207-209.
70. Oskay, E.; Yeşilada, A. Four flavonoids and 3 other constituents from *Achillea biebersteinii*. *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 742.
71. Bilgehan, H. *Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. Barış Yayınları, Bornova, İzmir, **1990**.
72. Akan, E. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Saray Medikal Yayıncılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Bornova, İzmir, **1993**.
73. Payzın, S.; Özsan, K.; Aksoycan, N.; Ekmen, H.; Akman, M. Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji. II. Özel Mikrobiyoloji. Ankara. **1968**.
74. Rasoanaivo, P.; Ratsimonango, V. N. Biological Evaluation of Plant with Reference to the Malagasy Flora, Monograph for the IFS-NAPRE, Workshop on Bioassay, Antanarivo, Madagascar, **1993**, 72-79.
75. Appelbaum, P. C.; Catherina, L. C.; Jacobs, M. R. Antipneumococcal Activities of Levofloxacin and Clarithromycin as Determined by Agar Dilution, Micro Dilution E-Test and Disk Diffusion Methodologies. *J. Clin. Microbiol.* **1988**, 3579-3584.
76. Gülçin, İ.; Beydemir, Ş.; Alici H. A.; Elmastaş, M.; Büyükkuroğlu, M. E. *In vitro* antioxidant properties of morphine. *Pharmacol. Res.* **2004**, *49*, 59-66.
77. Blois, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* **1958**, *26*, 1199-1200.
78. Koleva, I. I.; Beek T. A. V.; Linssen, J. P. H.; Groot, A. D.; Evstatieva, L. N. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. *Phytochem. Anal.* **2002**, *13*, 8-17.
79. Zhu, Q. Y.; Hackman, R. M.; Ensunsa, J. L.; Holt, R. R.; Keen, C. L. Antioxidative Activities of Oolong Tea. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*(23), 6929-6934.
80. Dinis, T. C. P.; Madeira, V. M. C.; Almeida, L. M. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid

- peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* **1994**, *315*, 161-169.
81. Chandler, S. F.; Dodds, J. H. The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasidine in callus cultures of *Solanum lacinitum*. *Plant Cell Rep.* **1983**, *2*, 105.
82. Slinkard, K.; Singleton, V. L. Total phenol analyses automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticult.* **1997**, *28*, 49-55.
83. Şahin, F.; Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen, M.; Polissiou, M.; Agar, M.; Özer, H. Biological activities of the essential oils and methanol extracts of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control.* **2004**, *15*, 549-557.
84. Decosterd, L. A.; Hoffmann, E.; Kybruz, R.; Bray, D.; Hostetmann, K. A New Phloroglucinol Derivatives from *Hypericum calycinum* with Antifungal and *In vitro* Antimalarial Activity. *Planta Med.* **1991**, *57*, 548-551.
85. Jayasuriya, J.; Clark, A. M.; Mcchesney, J. D. New Antimicrobial Filicinic Acid Derivatives from *Hypericum drumandii*. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*(5), 1314-1320.
86. Rocha, L.; Marston, A.; Kaplan, M. A.; Stoeckli-Evans, H.; Thull, U.; Testa, B.; Hostetmann, K. An Antifungal Gamma-pyrone and Xanthenes with MAO Inhibitory Activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry.* **1994**, *36*(6), 1381-1385.
87. Candan F.; Unlu, M.; Tepe, B.; Daferera, D.; Polissiou, M.; Sökmen, A.; Akpulat, H. A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *87*(2-3), 215-220.
88. Mansouri, S. Inhibition of *Staphylococcus aureus* Mediated by Extracts of Iranian Plants. *Pharm. Biol.* **1999**, *37*(5), 375-377.
89. Helander, I. M.; Mattila-Sandholm, T. Fluorometric assessment of Gram-negative bacterial permeabilization. *J. Appl. Microbiol.* **2000**, *88*, 213-219.
90. Lambert, R. J. W.; Hanlon, G. W.; Denyer, S. P. The synergistic effect of EDTA, antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Appl. Microbiol.* **2004**, *96*, 244-253.
91. Leao, M. B. C.; Pavao, A. C. *Int. J. Quantum Chem.* **1997**, *62*, 323.
92. Russo, A.; Acquaviva, R.; Campisi, A.; Sorrenti, V.; Giacomo, C. D.; Virgata, G.; Barcellona, M. L.; Vanella, A. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biol. Toxicol.* **2000**, *16*, 91-98.

93. Parejo, I.; Viladomat, F.; Bastida, J.; Romero, A. R.; Saavedra, G.; Murcia, M. A.; Jimenez, A. M.; Codina, C. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sci.* **2003**, *73(13)*, 1667-1681.
94. Dimayuga, R. E.; Garcia, S. K. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur. Mexico. *J. Ethnopharmacol.* **1991**, *31*, 181-192.

8. TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 4.1. *Hypericum retusum*, *Hypericum scabrum*, *Hypericum lysimachioides* bitkilerinin etanol özütlerinin ve standart antibiyotiklerin seçilen mikroorganizmalar için neden oldukları zon çapları (mm).

Tablo 4.2. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*, *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*, *Achillea biebersteinii* bitkilerinin etanol özütlerinin ve standart antibiyotiklerin seçilen mikroorganizmalar için neden oldukları zon çapları (mm).

Tablo 4.3. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.4. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.5. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.6. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.7. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.8. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.9. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.10. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.11. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.12. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.13. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.14. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi olarak hesaplanan % inhibisyon değerleri.

Tablo 4.15. Bitki özütleri içindeki gallik asite ekvalent toplam fenolik bileşen miktarları ($\mu\text{g}/\text{mg}$).

9. ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. 1. BHA'nın stabilizasyonu.

Şekil 1. 2. Antioksidant aktivite gösteren bazı moleküller.

Şekil 3.1. DPPH'in indirgenmesi.

Şekil 4.1. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.2. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.3. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.4. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.5. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.6. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin DPPH radikalini söndürme etkisi.

Şekil 4.7. *Hypericum retusum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.8. *Hypericum scabrum*'un ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.9. *Hypericum lysimachioides*'in ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.10. *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.11. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.12. *Achillea biebersteinii*'nin ve pozitif kontrollerin metal şelatlama etkisi.

Şekil 4.13. Gallik asitin artan derişimlerine karşılık ölçülen absorbands değerleri.

10. RESİMLERİN LİSTESİ

Resim 3.1. *Hypericum retusum*.

Resim 3.2. *Hypericum scabrum*.

Resim 3.3. *Hypericum lysimachioides*.

Resim 3.4. *Achillea aleppica* subsp. *zederbaueri*.

Resim 3.5. *Achillea biebersteinii*.

Resim 4.1.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *K. pneumoniae* ATCC 13883 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.1.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *K. pneumoniae* ATCC 13883 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.2.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *E. cloacae* ATCC 23355 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.2.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. cloacae* ATCC 23355 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.3.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *S. typhimurium* ATCC 14028 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.3.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. typhimurium* ATCC 14028 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.4.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *S. epidermis* ATCC 12228 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.4.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. epidermis* ATCC 12228 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.5.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *E. coli* ATCC 25922 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.5.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. coli* ATCC 25922 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.6.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *E. aerogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.6.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *E. aerogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.7.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlерinin *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.7.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.8.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *K. oxytoca* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.8.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *K. oxytoca* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.9.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *S. pyogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.9.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *S. pyogenes* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.10.a. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin etanol özütlerinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.10.b. IPM, AML ve SAM antibiyotiklerinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Resim 4.11. *Achillea* (A-1, A-2 ve A-3) ile *Hypericum* (H-1, H-2 ve H-3) türlerinin EDTA içeren etanol özütlerinin *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi.

11. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : ÇETİN AYTEKİN
Doğum Tarihi : 02.05.1977
Doğum Yeri : Eskişehir
Adres : 06070 Beştepe/Beştepe
 Ankara
 06500 Çankaya/Çankaya
 Ankara
E-mail : aytekin@dic.ac.tr

Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalında Profesör Çetin AYTEKİN danışmanlığında “**Bazı *Hypericum* ve *Achillea* Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidant Aktivitelerinin Araştırılması**” adlı yüksek lisans tezini bitirdim.