

ARALIK 2021

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji

RESMİYE YALÇINKAYA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OXALIS TRIANGULARIS'İN SU VE METANOL
EKSTRELERİNİN DNA KORUYUCU, ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

RESMİYE YALÇINKAYA
ARALIK 2021

***Oxalis triangularis*'in SU VE METANOL EKSTRELERİNİN DNA
KORUYUCU, ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji
Yüksek Lisans Tezi**

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

İkinci Danışman

Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

Resmiye YALÇINKAYA

Aralık 2021



©2021[Resmiye YALÇINKAYA]

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Resmiye YALÇINKAYA



“Canım Oğlum Yiğit’e”

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince her konuda desteğine ve yardımına ihtiyaç duyduğum Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden birinci tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN 'a ve ikinci tez danışmanım Doç.Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN'a,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a ve Sayın Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ'e, sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez yazım süresince bilgi ve tecrübesiyle yol gösterici olan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi öğretim üyesi çok sevdiğim abim Dr.Ahmet Aktaş'a teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarına destek veren Yüksek Biyolog Mesut ÇAY'a, Yüksek Biyolog Selin ERDİNÇ'e, Bekir ÇAKMAK'a, Mustafa KÖROĞLU'na ve AYLA DEVECİ'ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmam süresince beni her konuda destekleyen sevgili eşim Ali Fuat YALÇINKAYA'ya, oğlum Yiğit Halil YALÇINKAYA'ya, canım anneme ve babama, kardeşim Gamze Bilgin'e ve tüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
BÖLÜM 1 : GİRİŞ	1
1.1 Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler	2
1.2 Ekstraksiyon Teknikleri	5
1.2.1 Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı	5
1.3 Oxalidaceae Familyasının Genel Özellikleri	6
1.3.1 Oxalis Sp Özellikleri	7
1.3.2 <i>Oxalis triangularis</i>	8
1.4 Bitkisel Sekonder Metabolitler	9
1.4.1. Fenolik ve Flavonoid Maddeler	11
1.5 Serbest Radikaller	13
1.6 Antioksidan	14
1.6.1 Antioksidanların Etkileri	19
1.7 DNA Hasarı	19
1.7.1 DNA Onarım Mekanizmaları	21
1.7.1.1 Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi	21
1.7.1.2 Kesip Çıkarma Onarımı	22
1.7.1.3 Rekombinasyonel Tamir.	23
1.7.1.4 SOS Tamiri.	23
1.7.1.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri	23
1.8 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	24
1.8.1 Antibiyotik Direnci	27
1.8.1.1 Trimetoprim-Sulfametoksazol (ko-trimoksazol) Direnci	27
1.8.1.2 Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç	28

1.8.1.3 Aminoglikozid Direnci	28
1.8.1.4 Kinolon Direnci.....	28
1.8.1.5 Makrolid Direnci.....	29
1.8.1.6 Diğer Direnç Mekanizmaları.....	29
BÖLÜM 2 : LİTERATÜR ÖZETİ.....	30
BÖLÜM 3 : MATERYAL METOT	34
3.1 <i>Oxalis triangularis</i> Özütlerinin Elde Edilmesi	34
3.1.1 Materyal	34
3.1.2 Bitki Özütlerinin Hazırlanması	34
3.2 Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan (TOS) Belirleme Çalışmaları.....	35
3.2.1. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi:.....	35
3.2.1.1 Materyal	36
3.2.1.2. Metot	36
3.2.1.3. Hesaplamalar.....	36
3.2.2 Total Oksidan Seviye (TOS) Analizi	37
3.2.2.1. Materyal	37
3.2.2.2. Metot	37
3.3.4 Kontrol ve özütlerin hazırlanması.....	39
3.3.5 pBR322	41
3.4 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Bakterisine Karşı Etkinlik Testi.....	41
3.4.1. Materyal	42
3.4.2. Metot	42
BÖLÜM 4 : BULGULAR.....	44
3.2.2.3. Hesaplamalar.....	38
3.3 <i>Oxalis triangularis</i> Özütünün DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi:	38
3.3.1. Materyal	38
3.3.2. Metot	38
3.3.3 Agaroz Jelin Hazırlanması	39
4.1 DNA Koruyucu Aktivitesi Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar	44
4.2 TAS ve TOS Aktivite Sonuçları	45
4.3 Disk Difüzyon (Antibiyogram) Testi Sonuçları.....	46
BÖLÜM 5 : TARTIŞMA VE SONUÇ	48
KAYNAKÇA	50
ÖZGEÇMİŞ.....	62

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1.1 <i>Oxalis triangularis</i> bitkisinin sistematikteki yeri.....	9
Tablo 1.2 Serbest radikaller ve etkilediği moleküller	14
Tablo 1.3 Antioksidanların sınıflandırılması.....	15
Tablo 1.4 <i>S. maltophilia</i> 'nın bazı biyokimyasal özellikleri.	26
Tablo 4.1 TAS referans değerleri	45
Tablo 4.2 <i>Oxalis triangularis</i> yaprak özütlerinin TAS değerleri	45
Tablo 4.3 TOS Referans değerleri.....	46
Tablo 4.4 <i>Oxalis triangularis</i> yaprak özütlerinin TOS değerleri	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Soxhlet cihaz.....	6
Şekil 1.2 <i>Oxalis triangularis</i> bitki yapısı.....	8
Şekil 1.3 Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler.	11
Şekil 1.4 Genel bir fenolün kimyasal formülü.....	11
Şekil 1.5 Flavonoidlerin genel kimyasal formülü.....	12
Şekil 1.6 DNA Onarım Fonksiyonları	21
Şekil 1.7 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> mikroskop görüntüsü	24
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan <i>Oxalis triangularis</i> bitkisinin kurumuş hali.....	35
Şekil 3.2 Agaroza Jel Elektrophorezi	40
Şekil 3.3 pBR322 DNA	41
Şekil 3.4 <i>Oxalis triangularis</i> su ve metanol özütleriyle disk hazırlanması	43
Şekil 4.1 <i>Oxalis triangularis</i> yaprak ekstraktlarının jel görüntüsü.....	44
Şekil 4.2 <i>Oxalis triangularis</i> su özütünün disk difüzyon sonucu	47
Şekil 4.3 <i>Oxalis triangularis</i> metanol özütünün disk difüzyon sonucu.....	47

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

WHO	World Healty Organization
MÖ	Milattan Önce
UV	Ultraviyole
DNA	Deoksiribonükleik asit
SOD	Süperoksit Dismutaz
CAT	Katalaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonikasıit)
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrozil
DHLA	Dihidrolipoikasıit
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
MHA	Müller Hinton Agar
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
NADPH	Nikotnamid Adenin Dinükleotit Fosfat
GSH	Glutasyon
nDNA	Nükleer DNA
BER	Base Excision Repair
NER	Nücleotide Excision Repair
MER	Mismatch Excision Repair
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tıbbi aromatik bitkiler uzun zamandan beri insanlar tarafından kullanılmaktadır. Gelişen teknoloji sayesinde son yıllarda modern tıp alanında kullanılmaya başlanmıştır. Aynı zamanda fark edilen faydalarından dolayı gıda takviyesi olarak da kullanımları yaygınlaşmıştır. Bu bitkilere olan ilgi dünya genelinde her gün artmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler; hastalıkların iyileştirilmesi ve önlenmesi için alternatif tedavi yöntemi olarak kullanıma sahiptirler. Çağımızda tıbbi ve aromatik bitkilerden yararlanma oranı artmış bu nedenle bitki ve bitkisel ürünlere olan talep de artmıştır. Bu durum hem bitkilerin kullanımını arttırmış hem de bitkilerle ilgili olan çalışmaların artmasına neden olmuştur (Bayram vd.,2010).

Bitkiler 1926'dan beri laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Araştırılan noktalardan bir tanesi insan sağlığı için önemi diğeri ise bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü etkisidir (Vonderbank, 1949; Dığrak vd., 1999). Dünya sağlık teşkilatı (WHO) tıbbi bitkilerle ilgili araştırma yapmış ve 91 ülkede tedavi için kullanılan bitki sayısını 20.000 olarak belirlemiştir. (İlçim ve ark., 1998).

Antibiyotiklerin kullanım alanlarının sınırlı olması, zamanla etkilerine karşı mikroorganizmaların direnç oluşturmaları ve bilinçsiz kullanım sonucu yan etkilerinin fazlalığı, tıbbi tedavide bitki özütlerinin kullanımını arttırmıştır (Sarker ve Nahar, 2007).

Bitkiler; temel besin öğelerimiz olan karbonhidratlar, yağ, protein ve vitaminleri üretirler. Bu bileşikler bitki metabolizmasında oluşan biyoaktif maddelerdir (Örneğin eterik yağlar, alkaloidler, tanenler). Savunma gücünü destekler, organların işlevlerine yardımcı olur ve/veya iyileşme süresini kısaltırlar (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Bitkiler, genelde gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrisinde kullanılan antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip karotenoid, terpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanen, saponin, pigment, enzim ve mineral gibi oldukça fazla biyolojik aktif bölümler içerir (Madhuri ve Pandey, 2009). Bu nedenle, gelişmekte olan ülkelerde, dünya nüfusunun yaklaşık % 60-80' i yaygın ve ciddi hastalıkların %80'den fazlasının tedavisi için bitkisel ilaçların kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır (Saab vd., 2012).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında Oxalidaceae familyasına ait süs bitkisi olarak da bilinen *Oxalis triangularis* bitkisinin bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, antioksidan ve DNA koruyucu aktivitelerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu tez çalışmamızın diğer amaçları ise, farmakolojik çalışmalara yardımcı olmak, ülkemizde yapılan biyolojik aktivite belirleme çalışmalarına katkıda bulunmak ve bitkilerin bilinçli bir şekilde kullanılmasını sağlamaktır.

1.1 Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler

Tıbbi ve aromatik bitkiler; çok eski zamandan beri kozmetik, ilaç, gıda ve baharat gibi alanlarda kullanılmıştır. Bu bitkilerin bazıları kültüre alınıp üretimi yapılmaktadır bazıları ise doğadan toplanmaktadır. Doğadan toplanan bitkilerin önemli bir kısmı tedavi amaçlı kullanılanlardır.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin araştırılmak istenen özellikleri tedavi için kullanılmalarıdır. Bitkilerle tedavi; doğal, geleneksel ve tamamlayıcı tedavi gibi isimlerle dünyanın birçok yerinde kullanılmaktadır (Demirezer, 2010).

Yüzyıllardır Anadolu da ve dünyada geleneksel olarak tıbbi bitkilerden hazırlanan droglar sağlık amacıyla kullanılmaktadır. Günümüzde ise; gelişen kimya bilimi ve teknolojisi sayesinde, bitkilerden elde edilen fitokimyasallar, ilaç haline getirilerek insanların hizmetine sunulmuştur (Akçiçek 2010).

Tıbbi ve aromatik bitkilerle ilgili en eski kaynak M.Ö. 3700 yılında Çin hükümdarı Shin-Nong tarafından yazılmıştır. Hükümdar bu kitapta 200'den fazla bitkiye yer vermiştir. Eski devirlere ait kabirlerde yapılan çalışmalar sonucu elde edilen şekiller ve yazılar ise Çinliler ile Mısırlıların aynı dönemde bitkisel drogları kullandıklarını ve ticarete bu bitkilerden yararlandıklarını göstermiştir (Ceylan, 1995)

Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi yönden önemli olan bitkiler eski çağlardan beri insanlar arasında tedavi için kullanılmaktadır.

İbn-i Sina'nın "El Kanun fi't Tıb" kitabı 900 kadar tıbbi bitki, inorganik meşeli ilaç hakkında bilgi ve açıklama içermektedir. Orta Çağ'da yaşayan Müslüman doktor ve eczacıların 2000 civarında tıbbi bitkiyi bildikleri bu bitkilerden faydalandıkları ve diğer medeniyetlerden yeni bilgiler öğrendikleri görülmektedir. Bu bilgileri dünya ile paylaşan İslam doktor ve eczacıları insanlığa birçok eser miras bırakmışlardır. İbni Sina'nın Şifa' sı ile Kânûn fi't Tıb' ı, Dineveri' nin Kitâb en Nebât ile Kitâb el Bâh' ını, Birûni'nin Kitab el Saydala fil Tıb' ı bunlar arasında en önemli olanlardır.

Selçuklularda toplum sağlığı önemsenmiştir. Aromatik sular şifa amacıyla kullanılmış, hastane ve şifahaneler tesis edilmiş, ıtri bitkiler ve uçucu yağlar, farklı macun ve pomatlar tedavi amacıyla kullanılmıştır.

Osmanlılar, kendilerinden önce öğrenilen bilgileri geliştirmişlerdir. Örneğin, Şemseddin Muhammed bin Hamza (Akşemseddin) Pastör'den 400 yıl önce mikrobiyayı tanımlamıştır. Mikrobiyal hastalıklarla genetik hastalıkları ayırt etmiş, tedavi için tıbbi bitkiler kullanarak hastalıkları iyileştirme yönünde önemli adımlar atmıştır. Derin eczacılık bilgisiyle hangi bitkinin hangi hastalığa iyi geleceğini öngörebilmiştir. Fatih Sultan Mehmet, kendi yaptığı bitkisel ilaçlarla hasta olan kızı Gevher Sultanı tedavi etmiştir (Akşemseddin,1989).

Türkiye, tarımsal potansiyeli, iklim ve bitki çeşitliliği, coğrafi konumu ve geniş yüzölçümüyle birçok tıbbi ve aromatik bitkiye ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemiz florasında bulunan bu bitkiler; bitki kimyasalları, gıda ve katkı maddeleri, gelişmiş ülkelerdeki yerleşmiş bitkisel ilaç, kozmetik ve parfümeri sanayilerinin girdisini oluşturduğu için Türkiye'nin bitki ticaretinde öne çıkan ülkelere oranla olmasını sağlamıştır (Bayram ve ark., 2010).

Güner ve ark. (2012)'nin "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)" isimli çalışmalarında "İlk Milli Flora Listemiz" olarak değerlendirdikleri Türkiye Florasında yer alan toplam tür ve tür altı takson sayısı, kültür bitkileri ve yabancı kaynaklı bitkiler dahil 11707, endemik takson sayısı 3649 ve endemizm oranının ise % 31.82 olduğunu saptamışlardır. Endemik türler açısından bakıldığında en zengin bölgelerimiz İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Akdeniz bölgesidir.

Bitkilerle yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle doğal antioksidan kaynak olarak yapılan çalışmalar önem kazanmıştır. Bitkilerde yer alan uçucu yağ ve bileşenleri, farmakolojik olarak incelenip kozmetik, tıp ve endüstriyel alanlarda yararlanılacağı belirtilmiştir. Doğal olmayan antioksidan ve koruyucuların yerine doğal olarak kullanılacak özellikle bitkisel materyallerden elde edilen doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin elde edilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir(Dorman vd., 1995, Tomaino vd., 2005).

Tıbbi ve aromatik bitkilerde bulunan fenolik bileşenler, terpenler, eterler, aldehytler, esterler, alkoller ve ketonlar gibi kimyasal uçucu yağlar antioksidan aktiviteye sahiptir. Bu antioksidan kapasiteleri iki önemli özelliğe sahiptir (Miguel, 2010). Birincisi; farklı sistemlerdeki yağ oksidasyonunun inhibe edebilmesi ikincisi ise serbest radikal türlerini ortadan kaldırma yeteneğine sahip olmasıdır. Bu özellikleri ile DNA hasarları üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu yapılan araştırmalar ile ortaya çıkarılmıştır.

Antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahip bitkiler nezleden kansere kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Öztürk vd. 2010). Ayrıca esansiyel yağların antiviral, antikanserojenik, spazmolitik, hepatoprotektif gibi çeşitli farmokolojik etkileri olduğu belirlenmiştir.

Bakterilerdeki ilaç dirençliliği artmakta ve bu artış gittikçe yayılmaktadır. Bu yüzden bu ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması büyük önem taşımaktadır. Buna ek olarak bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak da kullanılmakta ve geliştirilmektedirler (Abascal ve Yarnell, 2002).

Güneş ışınlarının ozon tabakasını geçerek yerküreye ulaşan çeşitli dalga boylarına sahip UV ışınları cilt kanserine neden olmaktadır. Bitkisel ilaçların cildi UV ışınlarına karşı koruduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. (Tepe vd., 2011).

Bitkiler kolay ve ucuz bir tedavi imkanı sağlarlar. Etki alanları çok geniştir. Yan etkileri çok düşüktür. Bakteriler kolaylıkla direnç geliştiremezler. Sentetik ilaçlara bakteriler çok kolay direnç gösterirler Bu nedenlerle tıbbi bitkilerden yararlanma oranı gün geçtikçe artmıştır. Tüm bu faydaları nedeniyle geleneksel olarak kullanılan bazı bitkilerin fazla kullanılması bu bitkilerin zamanla yok olmasına neden olmaktadır. Bu sebeplerle henüz faydası keşfedilmemiş bitkilerin yok olmadan

farkedelip araştırılması hem de geleneksel olarak kullanılan bitkilerin araştırılması önem taşımaktadır (Cragg, 1993; Dağcı vd., 2002; Nakipoğlu ve Otan 1992; Nigg, 1992)

1.2 Ekstraksiyon Teknikleri

Ekstraksiyon işlemi hammaddeden ulaşılmak istenen ürüne göre farklı şekillerde uygulanmaktadır. Ekstraksiyon işleminin en genel anlamı, ekstrakte edilecek materyalin içerisinden bir çözücü geçirilir ve bitkisel materyalin yapısındaki çözünebilir maddeler bu çözücü yoluyla açığa çıkarılır. çıkarılır (Öztekin ve Soysal, 1998)

Katı-sıvı ekstraksiyon ve sıvı-sıvı ekstraksiyon olmak üzere iki çeşittir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon'da ayırma hunisi kullanılır. Katı-sıvı ekstraksiyon, doğal biyolojik örneklerle yapılan uygulamalarda kullanılmaktadır. Katının bünyesinde yer alan maddelerden biri veya bir kısmı uygun bir çözücü ile ekstakte edilir. Katıların ekstraksiyon işlemi genellikle uzun zaman almaktadır. Bu nedenle sürekli ekstraksiyon metodları tercih edilir. Maddenin katı içerisinden geçmesi uzun ve yavaş bir işlem olduğu için katı örnek ince toz halinde dönüştürülür daha sonra ekstrakte edilir Böylelikle madde çözücüyle daha fazla temas halinde olur. Katı-sıvı ekstraksiyon Soxhlet Ekstraktörü adı verilen bir cihazla sağlanır.

1.2.1 Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı

Soxhlet ekstraksiyon işlemini yapabilmek için özel bir cihaz kullanılmaktadır. Bu ekstraksiyon işlemi katı haldeki veya yarı-katı halde bulunan örnekler için yapılabilmektedir. Zamanımız şartlarında çok yaygın bir şekilde kullanılan bu ekstraktör çok eski ekstraktör sistemlerinden birisi olarak kullanılmaktadır. Soxhlet ekstraktör sistemi, bir akışkan şişesi, bir sifon (sıvı akış borusu), ısıtıcı sistem, soğutulmuş bir yoğunlaştırucudan meydana gelmektedir. Orta kısımda bulunan çemberin içerisindeki ekstraksiyon kabının içerisine katı örnek yerleştirilir. Ekstraksiyon kabının alt kısmında bulunan kabın içerisine çözücü eklenir. Çözücü kaynama noktasının üzerinde olacak şekilde ısıtılır ve kaynayan bu çözeltiden gelen buharlar yoğunlaşmanın gerçekleşeceği kondansatöre doğru ilerler ve yoğunlaşarak örneğin bulunduğu kısmı doğru damlamaya başlar. Böylece çözücü örneği ıslatmış olur. Bundan sonra çözücünün seviyesi sifonun zirve noktasına vardığı zaman

Çözücü bütün örnek bölmesini boşaltarak çözücü şişesine yeniden damlamaya başlar. Böylelikle sıcak halde bulunan çözücü birden fazla olacak şekilde örnek içerisinde dolaştırılmış olur. Özütle halde bulunan analitler çözücü şişesinin içerisinde kalırken, sadece temiz halde bulunan çözücü buharlaştığından her sirkülasyonda taze çözücü kullanılmış olur. Genellikle ekstraksiyon zamanları 6 saatten 24 saate kadar sürmektedir ve bunun için oldukça büyük çözücü hacimlerine ihtiyaç vardır (Kellner vd., 2004).



Şekil 1.1 Soxhlet cihaz

1.3 Oxalidaceae Familyasının Genel Özellikleri

Ekşi yoncagiller (Oxalidaceae), yağışlı bölgelerde, orman altlarında yetişen genelde otsu olan bitkileri içeren bitki familyasıdır. Oxalidaceae familyası dünyada yaklaşık 850-900 kadar tür içermektedir. 7 cinsi bulunmaktadır (Robertson, 1975). Oxalis cinsinin tür sayısı küresel ısınmaya bağlı olarak özellikle Asya, Avrupa ve Avustralya’da azalma eğilimi göstermiştir (Knuth, 1930). En yaygın tür sayısı Güney Amerika ve Güney Afrika da görülmektedir. Güney Amerika’da 250 tür tespit edilmiştir (Knuth, 1930). Güney Afrika’da ise 200 den fazla tür belirlenmiştir (Salter, 1944). Türkiye’de Oxalidaceae familyası sadece Oxalis cinsi ile temsil edilmektedir. Bu cinsin 4 türü bulunmaktadır(Cullen,1984).

Esas olarak süs bitkisi olarak yetiştirilirler ancak bazı türlerinin yumruları ve yaprakları yiyecek olarak kullanılır. Oxalis adı Yunancada ‘oxys’ kelimesinden türetilmiştir. Oxys keskin, asidik anlamlarına gelmektedir. Oxalidaceae familyasına

ait bitkiler tropik bölgelerde yayılış gösterirler. Genellikle rizomludurlar. Tek yıllık ya da çok yıllık otsu bitkilerdir. Nadir olarak çalı ve ağaç şeklindedirler. Çoğu süs bitkisi olarak kültüre alınmıştır. Yapraklar alternat, stipüllü veya stipulsüz, üçlü veya pinnattır. Çiçekler hermafrodittir. Çiçek düzeni kimoze, umbellat veya rasemoz'dur. Çiçeklerde taç ve çanak yaprakları 5'lidir. Taç yapraklar ve filamentler genellikle tabanda birleşmiştir. Stamenler 10 – 15 ve pistil sayısı tektir. Pistil 3 veya 5 karpellidir. Ovaryum üst durumlu, plesantalanma aksialdır. Meyve lokulusid kapsül ya da bakkadır. Karpellerin orta damarı boyunca yarılarak açılmaktadır (Denton, 1998). Tohum çok sayıda ve arillidir. Tohumlar ovate, sivri uçlu, kenarları dalgalı, dişli ve oymalı ve kahverengi renktedir. Tohumlar en veya boy yönünde çıkıntılı ve 3-8 bölmelidir. Hilum tabandadır. Ayrıca tohum etli endosperm içermektedir (Abid, 2010)

1.3.1 Oxalis Sp Özellikleri

Bu cinsin üyelerinin en önemli özelliği, çiğneyince ağza gelen ekşi tada neden olan oksalik asit içermeleridir. Çok büyük miktarlarda oksalik asit hafif toksik olarak kabul edilebilir. Oksalit asit içeren ve daha yaygın kullanılan bitkiler arasında ıspanak, brokoli, brüksel lahanası, greyfurt, frenk soğanı sayılabilir.

Oxalis çiçeklerinin renkleri beyazdan sarıya, şeftaliye, pembeye veya çok renkli çiçeklere kadar değişir. Oxalis türlerinden Türkiye'de daha çok tıp alanında farmakolojik açıdan faydalanılmıştır. *O. corniculata*, apse ve yaraları iyileştirici özellikte olduğu aynı zamanda balgam sökücü, idrar söktürücü ve susuzluğu giderici özellikleri vardır. *O. acetosella* bileşiminde oksalik asit tuzları vardır. Tedavide karaciğer ve hazımsızlıklara karşı kullanılır (Karamanoğlu, 1977). *O. pescaprae* türünün bir toprakta fazla miktarda bulunması toprağın azot yönünden fazlalaşmasını sağlar (Gündüz, 2005).

Kuzukulağı (bir tür oxalis), binlerce yıldır dünya çapında insanlar tarafından tüketilen yenilebilir bir yabancı bitkidir. Dr. James Duke'un Yenilebilir Otlar El Kitabında, Kızılderili Kiowa halkının uzun yolculuklarda susuzluğu gidermek için ağaç kuzukulağı çiğnediğini belirtmiştir. Ayrıca ağız yaralarını ve boğaz ağrısını hafifletmek için kramplara, ateşe ve mide bulantısına yardımcı olmak için odun kuzukulağı yendiği söylenmektedir.

1.3.2 *Oxalis triangularis*



Şekil 1.2. *Oxalis triangularis* bitki yapısı

Oxalis triangularis halk arasında ekşi yonca, uyku çiçeği, süs yoncası, mor yonca isimleriyle bilinir.

Oxalis triangularis çok yıllık bir bitkidir. Yüksek çimlenme gücüne sahiptir ve kolayca yetiştirilebilir. Nemli ve alçak tarlalarda iyi yetişir(Lourteig,1983).

Oxalis triangularis daha çok bahçıvanlar arasında popülerdir. Koyu mor renkte üç parçalı ve çok uzun olmayan yumrulu bir bitkidir. Yaprakları kelebeğin titreme kanatlarına benzer. Çiçeklenme ilkbahardan sonbahara kadar gerçekleşir. Çiçeklenme sırasında pembemsi, beyaz ve lila renklerinde küçük çiçekleri oluşur. Eski zamandan beri, asidin iyileştirici özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Yara, ülser tedavisinde kullanılmıştır. Sahte yonca olarakta adlandırılır. *O. triangularis*'in yaprakları ışık seviyelerine tepki olarak hareket eder. Yüksek ortam ışığında açılır, düşük ışık seviyelerinde kapanır. Bu hareket turgor basıncındaki değişiklikten dolayı olmaktadır. Yapraklar çiğ veya pişmiş olarak yenir ve içeriğindeki oksalik asit nedeniyle asidik bir tada sahiptir. Yapraklar ve çiçekler salatalar için süs olarak kullanılabilir. Daha fazla miktarda yaprak tüketirken oksalik asit rahatsızlığa neden olabilir. Köksaplar çiğ veya pişmiş olarak yenir ve tatlı bir tada sahiptir.

O.triangularis'in çekici renk tonu, yenilebilir karakteri onu potansiyel bir doğal renklendirici yapmaktadır. Sentetik renklendiricilerin zararlı oluşu dünyada doğal renklendiricilere ilgiyi artmıştır (Huck ve Wilkes,1996). Yapılan çalışmalar *Oxalis triangularis*'in mor yapraklarında çok fazla antosiyanin olduğunu belirlemiştir. Bu da onu doğal renklendiriciler arasında önemli bir yerde tutmaktadır. Antosiyaninler bitkilere kırmızı, mor, mavi renklerini verir. Suda çözünürler, zararsızdırlar ve doğada yaygın olarak bulunurlar. Antosiyanin, serbest radikallerle savaşarak pek çok hastalığın önlenmesini sağlar. Antosiyaninlerin renk sağlamanın yanı sıra birçok önemli özelliği vardır. Radyasyon koruyucu, vazotonik, vazoprotektif, anti-enflamatuar, kemo- ve hepato koruyucu gibi fizyolojik etkileri vardır (Kamei ve diğerleri, 1995).

Tablo 1.1 *Oxalis triangularis* bitkisinin sistematikteki yeri

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Oxalidales
Familya	Oxalidaceae
Cins	Oxalis
Tür	<i>Oxalis triangularis</i>

1.4 Bitkisel Sekonder Metabolitler

Bitkilerin kimyasal yapısı primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer metabolitler (karbonhidratlar, proteinler ve yağlar) bitkilerin vejetatif dokularında ve tohumlarında bulunur. Hücrenin metabolik yapısının temelini oluşturur ve bitkilerin fizyolojik gelişimi için çok önemlidir(Oskay ve Oskay, 2008).

Stres durumunda ve olumsuz çevre koşullarında ortaya çıkan sekonder metabolitler ise, primer metabolitlerden biyosentetik yolla üretilmiştir. Bitkiler âlemindeki yayılışı özel olan bir taksonomik grup (tür, cins, familya) ile sınırlandırılmıştır(Akçam ve Oluk, 2006). Sekonder metabolitler, bitki yapısında oldukça az miktarda bulunurlar. Ekstraksiyon ile saflaştırılmaları zordur. Çünkü,

özelleşmiş hücre tiplerinde sentezlenir ve bitkinin farklı büyüme evrelerinde ortaya çıkarlar.(Özgen vd., 2005). Bitkinin yapısında oldukça az miktarda bulunurlar.

Sekonder metabolitlerin, bitkinin primer metabolizmasındaki işlevleri tartışmalıdır. Ancak genel olarak bitki sekonder metabolitlerinin bitkideki görevleri ile ilgili bilim adamlarını birleştiren ortak görüşler şöyledir:

Mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere (avcılara) karşı kimyasal savunma yaparlar.

Simbiyotik ilişkilerin oluşmasında görev alır

Çevresel koşullara uyum sağlarlar.

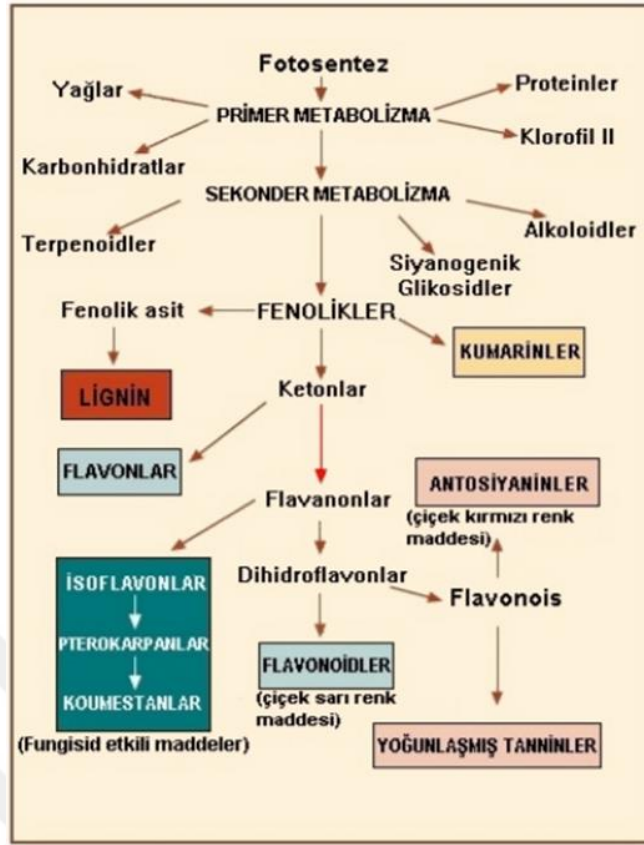
Bitkiyi bakteriyel ve fungal patojen saldırılarına karşı korurlar.

Transdüksiyon mekanizmalarında, hücre düzeyinde bitki büyüme düzenleyicileri ve gen ekspresyonunda görevlidirler

Etrafında bulunan diğer diğer bitkilerle mücadele güçlerini artırır.

Tozlaşmaya yarar sağlayan organizmaları özellikle böcekleri çeker.

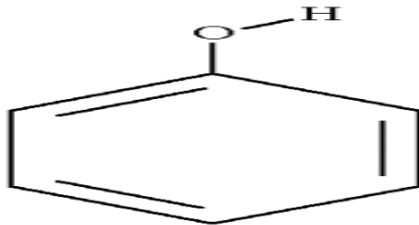
Bitkiyi maruz kaldığı abiyotik stres faktörlerine karşı korurlar. Bu stres faktörleri ultraviyole, sıcaklık değişimleri, ışık, su ve mineral madde gibi etmenlerdir.(Aydın ve Mammadov, 2017)



Şekil 1.3. Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler (Morris ve Robbins, 1997).

1.4.1. Fenolik ve Flavonoid Maddeler

Bütün bitkiler yapılarında sekonder metabolit olan fenolik bileşikler bulundururlar. Fenolik bileşikler, benzen halkası içerirler. Bu benzen halkasına bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubu bağlanmıştır (MEB, 2013). Fenolik bileşikler bütün gıdalarda farklı çeşitlikte ve nitelikte bulunmaktadır. Ancak bitkilerin yapısında bulunan bu fenolik bileşiklerin henüz ne gibi önemli etkileri olduğu yeterince bilinmemektedir.



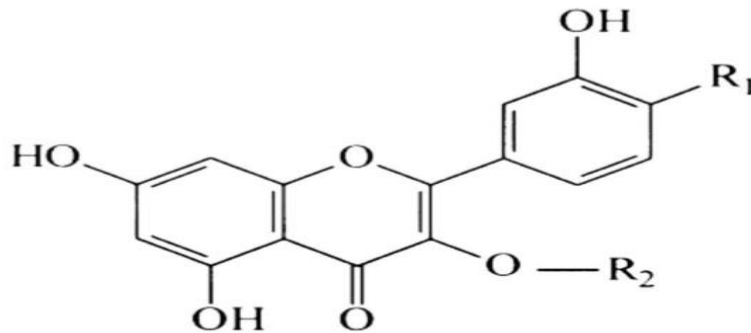
Şekil 1.4 Genel bir fenolün kimyasal formülü

Fenolik bileşikler şu şekilde sınıflandırılmaktadır (MEB, 2013):

- 1) Fenolik asitler
 - a) Hidroksisinamik asitler
 - b) Hidroksibenzoik asitler
- 2) Flavonoidler
 - a) Antosiyanidinler
 - b) Flavonlar ve Flavonoller
 - c) Flavanonlar
 - d) Kateşinler
 - e) Proantosiyadinler
 - f) İzoflavonoidler

Fenolik bileşikler flavonoidler ve fenolik asit olmak üzere iki grupta incelenir. Bazı fenolik bileşikler meyve sebzelerin ağızda bıraktığı acı ve buruk bir tat bırakarak lezzet oluşumunda görev yaparlar. Meyvelerin kendilerine has renk oluşumunu da antosiyanin gibi fenolik maddeler etkilemektedir. Fenolik maddelerin antimikrobiyal ve antioksidatif etkileri nedeniyle sağlık üzerinde olumlu sonuçları vardır(MEB,2013).

Flavonoidler, geniş çaplı vasküler bitkiden elde edilebilen ve yaklaşık 800 bileşene sahip fenolik maddelerdir. Flavonoidler; antioksidanlar, antimikrobiyal, fotoreseptör, görsel çekici ve ışık görüntülemeye rol oynamaktadırlar. Ayrıca antiviral, antiaterjenik, antiinflamatuvar ve vazodilatör etkiler gibi biyolojik aktivitelere de sahiptirler. Flavonoidlerin en önemli özelliği ise antioksidan etkiye sahip olmasıdır (Pietta, 2000).



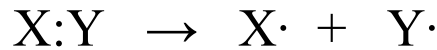
Şekil 1.5.Flavonoidlerin genel kimyasal formülü

1.5 Serbest Radikaller

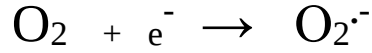
Serbest radikallerin yapısında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulundurulur. Serbest radikaller, varlığını kısa sürede gösteren, molekül ağırlığı hafif seviyede, kararsız yapıda ve çok etkili moleküllerdir (Abdollahi ve ark. 2003, Abdollahi ve ark. 2004)

Serbest radikaller vücutta doğal metabolik yollarla meydana gelmektedir. Antioksidanlar radikalleri parçalamaktadır. Oluşan serbest radikaller, antioksidan sistemlerle yıkılmaktadır ve bu yıkılmayla herhangi bir sitotoksite meydana gelmemektedir. Ancak bu durumun radikaller lehine bozulduğu zamanlarda ortaya patolojik sorunlar çıkmaktadır (Yen vd., 1999). Bu patolojik olaylara oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stresin; DNA hasarı ve yaşlanma, kanser, immun sistem bozukluğu, kardiyovasküler hastalıklar, böbrek bozuklukları, lipid peroksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu ve aktivasyonu, sıtma, katarakt gibi birçok olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır (Halliwell vd., 1997). Çeşitli kimyasal ve fiziksel olaylar sonucunda hücrelerde sürekli bir radikal oluşum söz konusudur. Serbest radikaller üç yolla oluşur (Akkuş, 1995; Onat vd., 2002)

- a) Kovalent bağların kopması sırasında bağ yapısında yer alan iki elektrondan her biri farklı atomlar üzerinde kalır. (Kovalent bağların homolitik kırılması)



- b) Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün dış orbitalinde elektron kaybı sonrasında eşleşmemiş elektron kalırsa radikal form oluşur. Mesela, hücrel antioksidanlardan olan askorbik asit ve tokoferol, radikal türlere tek elektron verirler ve indirgerken, kendilerinin radikal formu ortaya çıkar. (Normal bir molekülün elektron kaybetmesi)
- c) Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün dış orbitalinde tek elektron transferi ile eşleşmemiş elektron kalırsa radikal oluşumuna neden olur. Örneğin, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidi oluşturur. (Normal bir moleküle tek bir elektron transferi)



Tablo 1.2 Serbest radikaller ve etkilediği moleküller(Akpoyraz ve Durak, 1995)

Etkilenen Bileşiğin Adı	Etkinin Sonuçları
Doymamış amino asitler ve kükürt içeriği olan amino asitler	Protein denatürasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibisyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik Asit Bazları	Mutasyon Hücre gelişiminde değişimler
Karbonhidratlar	Hücre yüzey alıcılarında değişimler
Proteinler	Denatürasyon Peptid zincirinde kırılmalar
Doymamış Yağlar	Kolesterol ve yağ asitleri oksidasyonu
Antioksidanlar	Alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
DNA	Baz modifikasyonu Zincirde kırılmalar

1.6 Antioksidan

Serbest radikalleri oluşturan nedenler; bilinçsiz beslenme ve hareketsizlik, tüm gün soluduğumuz kirli hava, katkı maddeleri, bozulmuş besinlerdeki zararlı maddelerdir. Etrafta oluşan bu zararlı etkilerle kopan oksijen atomları, vücudumuzda serbestçe dolaşmaktadır. Bu oksijen atomları hidrojen atomlarını kopararak dokuların tahrip olmasına yol açmaktadır. Serbest radikaller özellikle bağışıklık sistemimize ve hücrelerimize saldırmaktadır. Vücuttaki serbest radikallerin etkisini azaltan, erken yaşlanmaya yol açan reaksiyonları önleyen moleküllere “antioksidan” madde denilmektedir (Alaca Güre ve Arabacı, 2005).

Günümüzde kullanılan antioksidanlar sağlık ve gıda açısından önemli bir yer tutmaktadır. Hem gıdaların raf ömrünü uzatır hemde serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı vücut savunma mekanizmalarına yardımcı olurlar. Bu yüzden antioksidanların sınıflandırılmasını gıda ve sağlık açısından ele aldığımızda iki temel başlık altında toplayabilmekteyiz. Birincisi doğal antioksidanlar ikincisi ise sentetik antioksidanlardır.

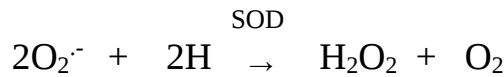
İnsan vücudundaki antioksidanlar doğal olarak sentezlenebildiği gibi dışarıdan hazır olarak da alınmaktadır. Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklıdır ve serbest radikal engelleyici olarak görev yapmaktadırlar. Bu nedenle immün sistemin etki alanını arttırıp hastalık riskini azaltırlar(Shinde ve ark. 2012)

Antioksidanlar, hücre metabolizması faaliyeti sonucu ortaya çıkarlar ve toksik etki gösteren serbest radikalleri engelleyerek koruyucu etki gösterirler (Sen ve ark. 2010).

Tablo 1.3 Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Karadağ 2009, Sen ve Chakraborty 2011)

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Enzimatik antioksidanlar	Nonenzimatik antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik Asit	α-Lipoik Asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albumin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Antioksidanlar	
α tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri	
β karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri	
Askorbik asit(Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B)	Trolox-C (Vitamin E analogu)	

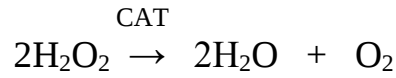
Süperoksit Dismutaz(SOD): Reaktif oksijen türevlerine karşı ilk savunma hattını oluşturan antioksidandır. Süperoksit radikalini (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik antioksidandır. Katalizlenme olduktan sonra hidrojen peroksit CAT veya GPx aracılığıyla ortamdan uzaklaştırılır (Young ve Woodside 2001).



İnsan hücrelerinde SOD'un iki tane izoenzimi bulunmaktadır. Birincisi sitozol kısmında yer alan çinko ve bakır bulunduran Cu-Zn-SOD, ikincisi mitokondride yer alan mangan içeren Mn-SOD'dur.

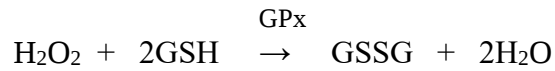
Katalaz (CAT): Katalaz, proteinlerden meydana gelmiştir ve bu proteinler dört alt birimden oluşmaktadır. Her alt birimde bir hem [Fe(III)-protoporfirin] grubu ve bir

NADPH molekülü vardır (Young ve Woodside 2001, Kirkman ve ark. 1987). NADPH molekülü birçok katalazda yüzeye yakın ve sıkı şekilde bağlı bulunmaktadır (Zamocky ve Koller 1999). Oksijenli solunum yapan her hücre katalaz enzimini bulundurur. Karaciğer ve böbreklerde, kan, mukoz membranlar ve kemik iliğinde çok fazla bulunur (İmik vd., 1999; McCord, 1985; Hirata ve Hayaishi, 1971). Katalazın görevi; Hidrojen peroksitin H_2O ve O_2 'ye dönüştürülmesini sağlamaktır (Limon-Pacheco ve Gonsebatt 2009).

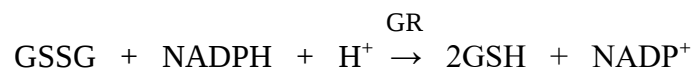


Glutasyon Peroksidaz(GPx): H_2O_2 varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesinde görev yapmaktadır. Hücrelerde oluşan hidroperoksitleri uzaklaştıran enzimdir. Glutasyon peroksidaz proteinlerden meydana gelmiştir ve bu proteinler dört alt birimden oluşur. Her alt birimde selenyum atomu vardır (Sen ve Chakraborty, 2011).

Gerçekleşen tepkimede H_2O_2 suya indirgenir, organik hidroperoksitler ise alkole indirgenir. Okside glutatyon (GSSG) yükseltgenen Glutasyon (GSH)larla tepkime devam eder (Chaudiere ve Iliou, 1999). Antioksidan savunmanın etkinliği ancak oksitlenmiş glutatyonun tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesiyle gerçekleşir. Eğer hücrede GSSG konsantrasyonunda artışı varsa bu oksidatif stresin meydana geldiğinin bir göstergesidir (Seven ve Candan, 1996).



Glutasyon Redüktaz(GR): Glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz aracılığıyla hidrojen peroksitlerin indirgenmesiyle meydana gelen okside glutatyonun yeniden indirgenmiş glutatyon (GSH) çeviren enzimdir (Pektaş, 2009). Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutatyonun disülfid bağlarına vererek yeniden GSH'ye dönüştürmektedir.



Glutasyon(GSH):Glutasyon, bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenen bir tripeptiddir. Bu yüzden hücrelerde yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. Glutasyon antioksidan özelliğinin yanında birçok görevi vardır. Hücre sinyal sisteminin düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda, detoksifikasyon mekanizmasının çalışmasında antioksidan olarak görev alır (Townsend ve ark. 2003).

Melatonin: Melatonin, pineal bezden endojen kaynaklı olarak sentezlenip dolaşıma katılır. Sentezinin gerçekleşebilmesi için ortamın karanlık olması gerekmektedir (Hevia ve ark. 2014). Melatonin pigmenti, serbest radikallerin yol açtığı hataları inhibe eder. Hücre içi kısımlarda yer alan makromolekülleri oksidatif hasara karşı korur. Proteinleri, lipitleri, çekirdek DNA'sını, mitokondriyal DNA'yı hasarlara karşı korumada görevlidir.

Ürik Asit: Vücutta çok fazla bulunduğu zaman kristalleşebilen, böbrek taşları ve gut artritisine sebep olan bir atık son üründür. Ürik asit, kanda bulunan toplam antioksidan kapasitenin neredeyse yarısından sorumludur. Lipit peroksidasyonunu durdurarak koruyucu görev yapmaktadır. Aynı zamanda singlet oksijen, peroksinitrik asit, süperoksit, hidroksil peroksinitrit anyonu etkisiz hale getirip geçiş metallerini şelatlar (Kumar ve ark. 2015, Waring 2002).

Bilirubin: Bilirubin, ömrü sona eren alyuvarların parçalanmasıyla alyuvar içinde yer alan hem proteinlerinin yıkılması sonucu oluşur. Bilirubin, dolaşım sırasında karaciğere alınır burada biyotransformansyona uğratarak safrayla ya da idrarla atılımı yapılır (Gutteridge 1995, Burtis ve Ashwood 2005).

Albumin: Yapısında 585 tane aminoasit bulunduran ve 66 kDa ağırlığında olan bir proteindir. Albumin, plazmada 35-50 mg/ml civarında bulunur. Farmakolojik ve fizyolojik olarak büyük önem sahip olan bu protein yüksek seviyelerde çözünebilme yeteneğine sahiptir. Albumin, plazmadaki en önemli ve en etkili antioksidanlardandır. Ozmotik basıncın düzenlenmesinde görev almaktadır (Roche ve ark. 2008).

Koenzim Q10: Koenzim Q10 vitamin benzeri benzokinon bileşiğidir. İnsan bünyesinde doğalyollarla üretilebilen bir bileşiktir ve ubikinonlar olarak adlandırılan bileşiklerin bir parçasıdır. Ubikinonlar bütün insan ve hayvanlarda sentezlenebilirler bu nedenle vitamin olarak kabul edilmezler. Koenzim Q10, insan hücrelerinde

trozinden üretilebilirler. Hücre membranlarında ve lipoproteinlerin yapısında bulunurlar. Oksidatif fosforilasyonda görev almaktadırlar (Gürkan ve Bozdağ-Dündar 2005).

Selenyum: Selenyum, selenosistein olarak da adlandırılır. Antioksidan ve immün sistem düzenleyici olarak görev yapar. Aminoasit üretimi için kullanılır. İnsan vücudunda en az 25 selenoprotein bulunur (Kim ve ark. 2014).

α -Lipoik Asit: α -Lipoik asit ve α -lipoik asitin indirgenmiş şekli olan dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidanlardandır. α -Lipoik asit (LA), hidroksil, hipokloröz asit, peroksinitrit anyonu ve singlet oksijeni engeller. Dihidrolipoik asit ayrıca süperoksit ve peroksil radikallerini de süpürür (Packer ve ark. 2001).

Seruloplazmin ve Transferrin: Seruloplazmin, birçok dokuda üretilir bunlara beyin de dahildir. Kandaki bakırın yaklaşık %95'ini taşımaktadır. Eritrosit zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini aktif oksijen türlerinin oluşturacağı hasarlardan korur. Transferrin ise, hücrelere Fe^{+3} taşıyan bir proteindir. H_2O_2 'i OH^- 'ye katalizler. Oksidatif strese sebep olan ferroz iyon konsantrasyonunu azaltıp antioksidan gibi davranır. (Chauhan ve ark., 2004)

Vitamin E (α tokoferol): Doğada dört formda bulunur(α , β , γ , δ). En çok bulunan ve en aktif bulunan şekli α tokoferoldür Yüksek antioksidan etkiye sahiptir. Hücre zarını serbest radikallerin zararlarına karşı korumada görev alır. Ayrıca lipid peroksidasyonuna karşı korumada etkilidir (Pham-Huy ve ark. 2008). Bu bileşikler yağda çözünürler fakat suda çözünmezler. Aynı zamanda bu bileşikler oksijenin olmadığı ortamlarda ısıya ve asite dayanıklıdır. Eşleşmemiş elektronlarla tepkimeye girerler ve indirgeyebilen hidroksil içerirler. Radikal tepkimelerde zincir kırıcı özelliğe sahiptir (Antmen, 2005).

Vitamin C (Askorbik asit): Suda çözünebilen düşük molekül ağırlıklı bir vitamindir. Kollojen, karnitin, nörotransmitter biyosentezi, demir absorpsiyonu için gerekli bir vitamindir (Li ve Schellhorn 2007) Vücutta depolanmadığından her gün mutlaka dışarıdan alınması gerekir.

Vitamin A (β -Karoten): β karoten güçlü bir antioksan olup karotenoidlerin yağda çözünen formudur. B karotenoidler, aktif A vitaminine çevirilebilirler. Bu nedenle

provitamin olarak adlandırılırlar. β -karoten, retinole çevrilerek karanlıkta görmeyi sağlar(Pham-Huy ve ark. 2008).

Vitamin B (Folik Asit): Folik asit, suda çözünen bir vitamindir. Çok güçlü antioksidan etkiye sahiptir (Ebaid ve ark. 2013). Folik asitin birçok görevi vardır. Hamilelik, çocukluk gibi büyüme dönemlerinde ve hücre bölünme aşamalarında etkilidirler. Erkeklerde sperm üretiminde görev alır. DNA üretimi, eritrosit üretimi için gerekli bir vitamindir (Hussein ve ark. 2012).

1.6.1 Antioksidanların Etkileri

Antioksidanların etkileri,, onarıcı etki,bastırıcı etki, toplayıcı etki,zincir kırıcı etkidir(Odabaşoğlu, 1999; Halıcı, 2003; Odabaşoğlu, 2006; Halıcı, 2008; Simpson vd., 1992; Jornot vd., 1998)

1) Onarıcı etki: DNA’da oluşan hasarların tamir edilmesinde onarıcı etki görev almaktadır.

2)Bastırıcı etki: Serbest halde bulunan oksijen radikalleriyle etkileşime girip onlara bir hidrojen atarak etkinliklerini azaltan veya tepkisiz hale dönüştüren etkidir.

3) Toplayıcı etki: Serbest haldeki oksijen radikallerini etkileyip onları yeni bir moleküle çeviren etkidir.

4)Zincir kırıcı etki: Serbest haldeki oksijen radikallerini kendilerine bağlayıp, zincirleri kırıp görevlerini engelleyen etkidir.

1.7 DNA Hasarı

DNA, organizmalar için en önemli biyomoleküldür. DNA organizmaya ait tüm genetik bilgiyi içerir. Nesilden nesile aktarılarak devamlılığı sağlar (Wang, 2000; Gooding, 2002) DNA, diğer moleküller gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlara maruz kalabilir. Fakat DNA, insan genomunun kalıcı tek kopyası olduğu için, DNA’nın yapısında meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik büyük sorunlara yol açabilir. DNA’nın yapısında meydana gelen ekzojen ve endojen kaynaklı değişikliklere "DNA hasarı" denir (Kulaksız ve Sancar, 2007).

Oksidatif DNA hasarı; DNA’da reaktif oksijen türleri aracılığı ile ortaya çıkan hasardır. Hem nükleer hem de mitokondriyal DNA, farklı DNA dönüşümleri ile sonuçlanan reaktif oksijen saldırılarına hedef olabilmektedirler (Henle ve Linn, 1997). mtDNA reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarlara karşı nDNA’dan 3 kat daha hassas bir yapıya sahiptir (Wei ve Lee, 1997; Sawyer ve Houten, 1999).

DNA hasarına neden olan etmenler fiziksel mutajenler, çevresel faktörler ve kimyasal mutajenlerdir. Fiziksel mutajenlerin en önemlisi radyasyondur. Radyasyon, DNA zincir kırıklarına doğrudan etki etmektedir. Radyasyon sonucu oluşan enerjiyle hidroksil radikalleri uyarılıp DNA ile etkileşime girer. Bu etkileşim sonucunda hem DNA zincir kırıkları oluşur hemde oksidatif baz modifikasyonlarının oluşur.

Fiziksel mutajenlerin diğeri ise UV ışınlarıdır. UV ışınlarının DNA üzerine etkileri şu şekildedir: Çapraz bağlanmalara neden olur. Pirimidin dimerlerini oluşturur ve zincir kırıklarına neden olur.

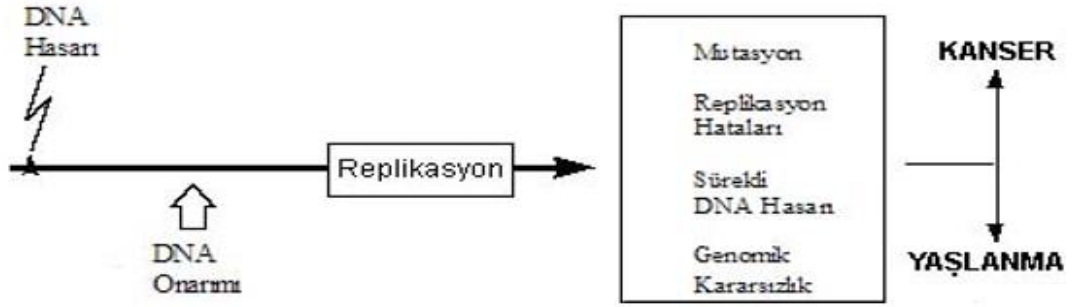
DNA hasarına neden olan kimyasal mutajenler ise, alkilleyici maddeler, nitroz asid platinyum türevleri vb çapraz bağlayıcılardır (Dinçer ve Akçay, 2000).

Yeryüzüne ulaşan UV ışınları canlıları olumsuz etkilemektedir. Antioksidanlar, UV ışınlarının neden olduğu zararlı etkilere karşı canlıları korumaktadır. Serbest radikaller de UV ışınlar gibi DNA hasarına neden olurlar. Hidrojen peroksit bir serbest radikal türüdür. Guanini, 8 hidroksiguanine dönüştürerek DNA hasarına neden olur(Gutteridge 1984).

DNA hasarı meydana geldiğinde 4 cevap oluşur:

- 1.DNA onarımı, hatalı DNA çıkarılarak DNA çift zincirlerinin yeniden yapılandırılır,
2. DNA kontrol noktaları aktive olur ve hücre döngü aşamaları engellenir,
3. Gen transkripsiyon seviyeleri hücreye fayda sağlayacak şekilde değiştirilir, (transkripsiyonel cevap),
4. Tahribata uğramış hücreler elenir (programlı hücre ölümü)

Bu cevaplardan herhangi biri görevini yerine getirmezse kanser, genetik hastalıklar veya yaşlanma meydana gelir(Zhang ve Rohde,2009).



Şekil 1.6 DNA Onarım Fonksiyonları

1.7.1 DNA Onarım Mekanizmaları

1) Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi

- a) Fotoreaktivasyon
- b) O-6-metilguanin tamiri
- c) Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

2) Kesip çıkarma tamiri (Eksizyon)

- a) Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)
- b) Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)
- c) Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

3) Rekombinasyonel Tamir

4) SOS Tamiri

5) DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

- a) Serbest Uçların Homolog Olmayan Bağlanması (NHEJ)
- b) Homolog Rekombinasyon (HR)

1.7.1.1 Direk Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi

- a) **Fotoreaktivasyon:** DNA diziliminde oluşan hasarlanmanın geri çevrilmesi kinetik ve termodinamik sebepler nedeniyle pek olası görülmemektedir. DNA hasarının görüldüğü bazı durumlarda O-6-Metil-DNA-alkiltransferaz ve

Fotolizaz enzimleri ile meydana getirilen reaksiyonlarda hasarlanmanın tamir edilmesine yardım eder. Fotolizaz enzimi ile Siklobütan pirimidin dimerleri, ayrılarak hasarlanma onarılır. Bu tamir olayına fotoreaktivasyon denilmektedir (Onur ve ark., 2009).

b) O-6-metilguanin tamiri: O-6-metilguanin alkilleyici ajanlar varlığında oluşmaktadır ve oluşan bu O-6-metilguanin mutasyona çok yatkındır. Hücre DNA' sında metilasyon ajanları aracılığıyla oluşturulan O6-Metilguanin eklentisi, O --6-metilguaninDNA metiltransferaz (MGMT) isimli bir enzim tarafından tamir edilir ve oluşan bu metilasyon ortadan kaldırılır. Memelilerde hücre ve dokularda DNA alkilleyici ajanlarının hasarlandırıcı etkilerine karşı MGMT koruyucu bir etki göstermektedir (Kaina vd,2007).

c) Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu: DNA zincirleri üzerinde kırıklara neden olan bazı ajanlar X ışınları veya peroksidlerdir. DNA ligaz enzimi mdana gelen DNA kırıklarının onarılmasını sağlamaktadır. DNA ligaz enzimi 3'OH grubu ile 5' fosfat grubu arasındaki fosfodiester bağı oluşturur ve böylece meydana gelen DNA hasarının onarılmasını sağlamaktadır (Onur ve ark., 2009).

1.7.1.2 Kesip Çıkarma Onarımı (Eksizyon)

Eksizyon onarım mekanizmasındaki ana prensip; DNA'daki hasarlanmış olan bazı oligonükleotid bölgelerinin DNA dizisinden çıkarılıp hasarlanmış olan bu DNA zincirinin doğru bazlarla yeniden yapılması ve meydana gelen çentiğin bağlanmayla kapatılmasıdır (Kulaksız ve Sancar 2007).

a) Baz eksizyon onarımı (BER) (base excision repair): Olmaması gereken yerlere getirilen ve hatalı bazları ortadan kaldırmak için kullanılan tamir mekanizmasıdır. BER 3 adımda gerçekleşir.

1. DNA N-glikozilaz sayesinde hatalı baz uzaklaştırılır ve böylece AP bölgesi meydana gelir. AP bölgeleri ya kendiliğinden kaybolur yada glikozilaz etkisiyle DNA dizisinden uzaklaştırılır.
2. Hasarlanmış olan DNA diziindeki AP bölgesinin AP endonükleaz tarafından 5' ucuna doğru DNA dizisinin açılması ve AP kısmına yakın bir 3'-OH ucu meydana getirilmesi

3. AP kısmı kesilip çıkarılır (excision) ve ortamdan uzaklaştırılır. 3'-OH ucu DNA polimeraz enzimi aracılığıyla uzatılır (Frosina ve ark.,1996).

b) Nükleotid eksizyon onarımı (NER excision repair) (nucleotide excision repair): Hasarlı DNA bazları üzerinde meydana gelen ve büyük eklentiler meydana getiren çok sayıda değişik hasarlanmayı tanıyan mekanizmadır (Amundson ve ark., 2002). Aşamaları aşağıdaki gibidir:

1. Hasarlanmanın belirlenmesi
2. Hasarlanmış olan bölgeye protein komplekslerinin bağlanması
3. Hasarlanmış bölgenin her iki tarafında da ~24-32 nükleotid büyüklüğünde bir fragment içerisinde kalacak şekilde hatalı olan DNA zincirinin ortadan kaldırılması (incision)
4. Hatalı olan oligonükleotidin ortamdan ayrıştırılması (Degradasyon)
5. DNA polimeraz enzimi tarafından DNA sarmalı üstünde meydana gelen boşluğun kapatılması (polimerizasyon)
6. Ayrılmış olan ve hatalı olmayan DNA parçalarının bağlanması (Ligasyon)

c) Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon onarımı (MER): Bu tamir mekanizması, DNA çoğalması sırasında oluşan ve DNA' nın çift sarmalında normal olmayan boyutlara sebep olan, normal bazlarda meydana gelen yanlış eşleşme durumundaki yanlışlıkları düzeltir (Debeleç ve Kantarcı,2006).

1.7.1.3 Rekombinasyon Tamiri: DNA replikasyonu sonrasında devreye giren ve enerji gerektiren bir tamir mekanizmasıdır. Hasarlanmış olan DNA kısımlarının yeniden düzenlenmesinde şablon olarak kullanılacak DNA zincirinin bulunmadığı zaman kullanılır (Kurtuğlu ve Tekedereli, 2015).

1.7.1.4 SOS Tamiri: Hücrelerde beklenmedik DNA hasarlanmalarına karşı hızlı cevap olarak DNA tamir enzimlerinin sayısının artmasıdır (William ve Michael 2002).

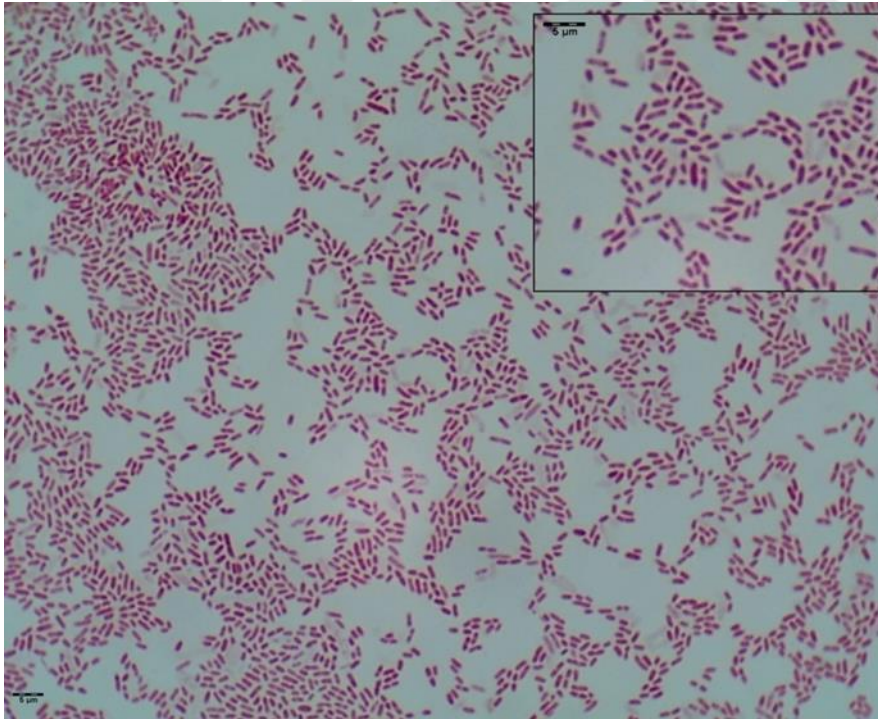
1.7.1.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri: DNA hasarlanmasının en hasar verici şekli DNA' da meydana gelen çift zincir kırıklarıdır. Kırıklar tamir edilmezse kromozomlar kırılabilir hatta hücreler ölebilir. Eğer yanlış tamir edilirse kansere sebep olabilir. 2 şekilde tamir edilir.

a. Homolog olmayan halde serbest uçların bağlanması (non-homolog and Joining) (NHEJ):

DNA dizilerinin kopmuş olan kısımlarına Ku 70-Ku 80 (DNA- depended protein kinaz katalitik subunit) kompleksleri bağlanmaktadır. DNA depended protein kinaz aktifleştikten sonra hasarlanmış bölgeye diğer proteinlerin de gelmesini sağlamaktadır. Hasarlanmış olan bölgeye gelen protein kompleksleri DNA ligaz IV-XRCC4 yapısının hasarlanmış ve kırılmış olan uçlarına bağlanmasına neden olur (Zhang ve ark.,2009). Yapılan tüm bu işler homolog bir kromozom olmaksızın hasarlanmış olan DNA kısımlarının biyokimyasal olarak bağlanmanın yoludur.

b. Homolog Rekombinasyon (HR): Genetik bilgiler korunularak DNA dizilerinin çift zincirinde meydana gelen hasarlanmalar, homolog DNA dizilimi ile rekombinant olarak tamir edilebilir.

1.8 *Stenotrophomonas maltophilia*



Şekil 1.7 *Stenotrophomonas maltophilia* mikroskop görüntüsü

S. maltophilia, 1943 yılında ilk olarak J. L. Edwards tarafından plevral sıvıdan elde edilmiştir ve “*Bacterium bookeri*” ismiyle adlandırılmıştır. Latince “malt seven ve üremesi için çok az besine ihtiyaç duyan bakteri” anlamı taşımaktadır. *S. maltophilia*

hücresi, düz veya hafif kıvrık şekilde olup 0,5 – 1,5 µm uzunluğunda, tek veya çiftler halinde bulunabilen, polar flagelları sayesinde hareketli bir bakteridir (Denton ve Kerr,1998).

Stenotrophomonas maltophilia aerob, nonfermentatif, gram negatif ve basil şeklinde olan bir bakteri türüdür. Yoğun bakım ünitelerinde(YBÜ) yatan hastalarda enfeksiyona neden olmaktadır. (Dülger ve Bektaş, 2007). Üremeleri için en iyi ortam sıcaklığı 35 derecedir. 5° C'nin altında ve 40° C'nin üzerinde üreyemez.

Besiyeri olarak %5 koyun kanlı agar kullanıldığında düzgün, parlak, beyaz, soluk sarı renkte görülür ve amonyak benzeri kokusu olan koloniler oluşturur. MacConkey agar gibi standart bakteriyolojik besiyerleri kullanıldığında laktozu fermente etmeyen şeffaf koloniler oluşturur. Bazı suşlar saydam besiyerlerinde kahverengimsi pigmentasyon meydana getirebilir (Denton ve Kerr, 1998; Tille, 2014)

S. maltophilia'nın, aminoglikozid asetiltransferaz, beta-laktamaz ve eritromisini inaktive eden enzimleri ve dışa atım pompaları kodlayan genleri vardır. Bu genleri sayesinde birçok antibiyotiğe doğal olarak direnç göstermektedir. *S. maltophilia* enfeksiyonları için en etkin antibiyotik olarak Trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SXT) kullanılmaktadır. Florokinolon grubu ilaçlarda *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. YBÜ'de yaygın görülen nonfermentatif gram-negatif bakterilerde antibiyotik direnç oranları yüksek olduğundan, tedavide karbapenemler gibi geniş spektrumlu antibiyotikler tercih edilmektedir (Brooke 2012, Gulcan 2004, Kandemir 2007, Pien 2015, Şen 2017, Yıldırım 2009).

Tablo 1.4 *S. maltophilia*'nın bazı biyokimyasal özellikleri (Denton ve Kerr, 1998).

Test	Reaksiyon ^a
İndofenol oksidaz	-
Katalaz	+
Üreme	
5°C	-
18°C	+
37°C	+
Hareket	
18°C	+
37°C	v
İndol	-
Lizin-dekarboksilaz	+
Omitin-dekarboksilaz	-
Metil red	-
Voges-Proskauer	-
Hidrojen sülfid	-
Nitrat redüksiyonu	v
Sitrat	v
Fenilalanin deaminaz	-
β-Galaktozidaz (ONPG)	v
Hidroliz	
Eskülin	+
Jelatin	+
Tween 80	+
DNA	+
Nişasta	-
Üre	-
Karbon kaynağı	
Adonitol	-
Arabinoz	-
β-Hidroksibutirat	-
Sellobioz	v
Dulsitol	-
Glukoz	+
Fruktoz	v
Galaktoz	v
Mannitol	-
Mannoz	v
Ramnoz	-
Salisin	-
Sorbitol	-
Trehaloz	-

^a+, >85% pozitif; v, 16-84% pozitif; -, <15% pozitif

S. maltophilia, toplumsal bakteriyemi, hastane kaynaklı enfeksiyonlar, yumuşak doku ve deri enfeksiyonları, orta kulak enfeksiyonları, pnömoni, göz enfeksiyonları, ve üriner sistem enfeksiyonlarına da sebep olabilmektedir. Bu enfeksiyöz durumlarda genellikle, travma, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), HIV enfeksiyonu gibi immün sistemin baskılandığı hastalıklarda, hastane öyküsü, antibiyotik kullanımı gibi durumlar altta yatan nedenler olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastane dışında gelişen enfeksiyonlara kaynak olarak; su depoları, musluklar, evlerde kullanılan solunum cihazları gösterilmektedir (Brooke,2012)

Genel olarak *S. maltophilia*'nın enfeksiyon oluşturabilmesi için genel olarak risk faktörleri aşağıdaki gibi sıralanabilir

- 1) Lösemi, lenfoma gibi hematolojik maligniteler
- 2) Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- 3) HIV enfeksiyonu varlığı
- 4) Hematopoietik kök hücre nakli
- 5) Damar içi kateterler ve üriner kateterler
- 6) Travma (cerrahi travma veya kaza)
- 7) Uzun hospitalizasyon
- 8) Yoğun bakım ünitesinde yatış ve mekanik ventilasyon
- 9) Kortikosteroid ve immünosüpresif tedavi
- 10) Kistik fibrozis
- 11) Gastrointestinal kolonizasyon ve mukozit
- 12) İntravenöz ilaç bağımlılığı

1.8.1 Antibiyotik Direnci

S. maltophilia, β -laktam antibiyotikler, makrolidler, sefalosporinler, florokinolonlar, aminoglikozidler, karbapenemler, kloramfenikol, tetrasiklin, polimiksin ve SXT'de dahi enfeksiyonlarda kullanılabilecek çok sayıda antibiyotiğe direnç göstermektedir (Brooke,2012).

1.8.1.1 Trimetoprim-Sulfametoksazol (ko-trimoksazol) Direnci

Trimetoprim-sulfametoksazol patojenlere karşı tüm dünyada kullanılmaktadır. Tercih edilme nedenleri arasında uygun toksisite profili, kuvvetli bakterisidal etkisi, hem oral hem de parenteral yoldan uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması sayılabilir (Goldbery ve Bishara,2012). Trimetoprim ve sulfonamid grubundaki

sulfametoksazolün 1/19 oranında birleştirilmesiyle oluşmuştur (CLSI, 2006). DNA sentezi için folik asit gereklidir ve bakterile bu folik asiti kendileri sentezler. Trimetoprim ve sulfametoksazol, bakterilerin folik asit sentezini engellerler (Murray vd., 2009; Murray vd., 2010).

Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından SXT, *S.maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılması tavsiye edilen ilk ilaçtır. *S.maltophilia*, dikey geçişle gram pozitif bakterilerden bile antibiyotik direnci genleri alabileceği gösterilmiştir. Bu direnç genlerinin transferinde integronların önemli bir payı vardır (Nyc ve Mateskova, 2010).

1.8.1.2 Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç

S.maltophilia beta laktam grubu antibiyotiklerin çoğuna dirençlidir. Dirençten sorumlu olan enzimler beta laktamaz ailesinde yer alan L1 ve L2 enzimleridir (Denton ve Kerr,1998). Kromozomal genler tarafından bu enzimlerin ekspresyonu düzenlenmektedir. Neredeyse tüm beta laktam grubu antibiyotiklere dirence sebep olan L1-metallo-beta-laktamaz; 18 kDa ağırlığında olup hemotetramer yapısındadır. Aktifleşmek için ise Zn^{+2} 'ye ihtiyaç duyar. Penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize ederken monobaktamlara etki etmezler. L2 serin-beta-laktamaz ise sefalosporinaz grubundadır. Aztreonamı hidrolize edebilirler. L1 beta-laktamaz klavulanik asit tarafından inhibe olmazken L2 beta-laktamaz parsiyel olarak inhibe olur (Nicodemo ve Paez, 2007).

1.8.1.3 Aminoglikozid Direnci

Aminoglikozid direnci *S. maltophilia*'da, ısıya bağlı dış membran proteinlerindeki değişiklikler, efluks pompaları ve aminoasit modifiye eden enzimler sebebiyle olmaktadır. Aminoglikozid asetil transferans ve aminoglikozid fosfotransferazı kromozomal genler kodlamaktadır (Looney vd.,2009). Bu enzimler netilmisin, amikasin, tobramisin, paromomisin ve neomisin duyarlılığını azaltırlar. En önemli direnç mekanizması, aminoglikozidlerin hücre içerisine alınmasındaki azalmadır. Isıya bağlı membran değişikliği yaparak aminoglikozidlere olan duyarlılık azaltılmaktadır (Denton ve Kerr,1998).

1.8.1.4 Kinolon Direnci

Kinolonlara karşı dirençte dış membran permeabilitesinin düşük geçirgenliği ve efluks pompa ekspresyonu (özellikle SmeDEF) etkilidir. Aynı zamanda topoizomerazların mutasyonu da kinolon direncinde etkilidir. Kinolon direncinde smeIJK, smeDEF, smeVWX, Smqnr ve smeABC, genlerinin yer aldığı gösterilmiştir (Denton ve Kerr, 1998). Kinolona dirençli suşların çapraz reaksiyon ile doksisisikline ve kloramfenikol e karşı direnç geliştirdikleri belirtilmiştir (Denton ve Kerr,1998). Diğer antibiyotiklere karşı direnç artınca in-vivo ve in-vitro kinolon direnci de hızla artmaktadır (Looney vd.,2009).

1.8.1.5 Makrolid Direnci

S.maltophilia diğer gram negatif basiller gibi eritromisine orta duyarlıdır. İlaça karşı geçirgenliği ve efluks pompalarının etkisi bu duyarlılığı sağlamaktadır (Alonso vd.,2000).

1.8.1.6 Diğer Direnç Mekanizmaları

S.maltophilia'nın hücre membranında yer alan fosfat içeriği ve polisakkarit sayısı, lipopolisakkaritlerin dizilimi sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle farklı sıcaklıklarda gösterilen direnç farklı yanıtlar oluşturur. Aminoglikozid ve polimiksin B direnci 37⁰C'den 30⁰C'ye düşürüldüğünde arttığı belirtilmiştir (McKay vd., 2003). Ayrıca suşlar metal direnç fonksiyonu geliştirerek gümüş kaplı katateri bile tolere edebilmektedir (Crossman vd., 2008; Pages vd., 2008).

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

Hammerschmidt ve Pratt (1978), kuru soya fasülyelerinin fenolik antioksidanlarını belirlemek için çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda linoleik asit ve karoten varlığına ulaşmışlardır.

Ay ve Yavaşoğlu (2001), *Lepidium sativum* L. bitkisinden elde edilen özütlerden antioksidan kapasitelerini ölçmüşlerdir. Bu çalışmada DPPH, CUPRAC, TEAC yöntemleri kullanmışlardır. Çalışma sonunda 587,48 mg ferulik asit/g özüt ve 853,83 mg ferulik asit/g özüt olarak fenolik bileşen elde etmişlerdir.

LIU Shi-wang ve arkadaşları (2006), *Oxalis corniculata* L.'nin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin büyüme eğrisini çizerek büyüme eğrisindeki değişime göre etkiyi inceledi. Sonuçlar 0.01 g / mL *Oxalis corniculata* L., *S. aureus* üzerinde bariz antimikrobiyal etkiye sahipti, ancak *Oxalis corniculata* L.'nin tüm ekstraktlarının *E.coli* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkisi yoktu. *Oxalis corniculata* L.'nin etanol ekstresi seçici antimikrobiyal etkiye sahipti.

Ushimaru ve arkadaşları (2007), bazı tıbbi bitkilerin (*Psidium guajava*, *Caryophyllus aromaticus*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Mikania glomerata* ve *Zingiber officinale*) metanol özütlerinin *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus spp.* türlerine karşı in vitro antibakteriyal aktivitesine ilişkin çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda *Caryophyllus aromaticus* bitkisinin metanol özütünün test edilen tüm bakterilere karşı etkin olduğunu belirlemiştir. En yüksek antibakteriyal aktiviteyi *S. aureus* a karşı gösterdiğibildirilmiştir.

Soong ve Barlow (2009), avakado, jackfruit, longan, mango meyvelerinin tohumları üzerinde antioksidan aktivite ve fenolik bileşim belirlemek için çalışmışlardır. Bu çalışmada FRAP yöntemi kullanmışlardır. Mango tohumunun bu tohumlar içerisinde en yüksek antioksidan aktiviteye ve fenolik içeriğe sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

LI Ruo-nan (2010), Oxalis ailesinin taze yapraklarından elde edilen metanol ekstraktlarının serbest radikal temizleme aktivitelerini belirlemek için bir çalışma yapmıştır. DPPH-mikroplaka analizi ve bir DPPH-titer plate sonucunda; test edilen tüm bitkilerin farklı serbest radikal temizleme aktivitelerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. *Oxalis rubra*, en güçlü serbest radikal temizleme aktivitesine sahiptir. Testler aynı zamanda, test edilen bitkilerden elde edilen ekstraktların serbest radikal temizleme aktivitelerinin konsantrasyonları ile pozitif yönde ilişkili olduğunu açığa çıkarmıştır.

Raghavendra ve arkadaşları (2011), *Oxalis corniculata* (Family; Oxalidaceae), bitkisini antibakteriyel aktivite açısından test etmişlerdir. Toz haline getirilmiş yaprak malzeme, Soxhlet cihazı kullanılarak farklı çözücüler ile ekstrakte edilmiştir. Bu çözücüler petrol eteri, benzen, kloroform, metanol ve etanol. Tüm beş solvent ekstraktının antibakteriyel aktivite analizi, metanol ve etanol ekstraktlarının hem fitopatojenik hem de insan patojenik bakterilere karşı önemli aktivite gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Diğer çözücü özütleri, yani petrol eteri, benzen ve kloroform, kontrol ile karşılaştırıldığında önemli bir inhibisyon bölgesi göstermedi. Metanol özütü, bitki patojenik bakterilere karşı K-siklin ve Bact-805 ile karşılaştırıldığında oldukça önemli aktivite gösterdi. İnsan patojenik bakteri durumunda metanol özütü, Streptomisin ile karşılaştırıldığında orta derecede önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir. İnsan patojenleri arasında *Salmonella paratyphi B*, *Streptococcus faecalis* ve *S. aureus* metanol ve etanol özütlerine karşı oldukça duyarlıydı.

Moresco vd.(2012), Oxalidaceae ailesinden *Averrhoa carambola* bitkisinin yapraklarının toksisite ve antioksidan etkisini belirlemek için çalışma yapmıştır. Bu çalışmada Glikosil flavon 3, *A.carambola*'da ilk kez rapor edilmiştir. *A. carambola*'dan izole edilen bileşikler, düşük antioksidan aktivite göstermiştir.

Hacıbekiroğlu ve Kolak (2012), *Iris albicans*'ın rizom ve toprak üstü kısmından elde edilen petroleum eter, kloroform, metanol özütlerinin antioksidan ve antikolinesteras potansiyelini incelemişlerdir. Rizomlardan elde edilen kloroform özütlerinin fenolik madde ($431,98 \pm 0,49$ lgPEs/mg) bakımından, toprak üstü kısmından elde edilen kloroform özütlerinin toplam flavonoid madde ($663,05 \pm 0,32$ lgQEs/mg) bakımından zengin olduğunu tespit etmişlerdir. Lipid peroksidasyon inhibisyon metoduna göre özütler arasında en iyi antioksidan aktiviteyi ($80 \mu\text{g/mL}$) rizom kloroform özütü gösterirken, $200 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda bütirilkolinesteraza karşı $\% 78,44 \pm 0,51$ değeriyle toprak üstü kısmından elde edilen kloroform özütü sergilemiştir.

Berk ve Tepe (2012), *Inula oculus-christi*, *Pistacia vera*, *Ceterach officinarum*, *Myrtus communis*, *Arum maculatum* bitkilerinin DNA koruyucu aktivitelerini araştırmışlardır. A. Maculatum hariç diğer bitkilerin UV ve H_2O_2 varlığında DNA'yı koruyucu aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir.

James vd.(2013), *Habiscus cannabinus* bitkisinin metanolik yaprak özütünü DPPH metodu kullanarak incelemişlerdir. *Habiscus cannabinus*'un metanolik yaprak özütünde, tanin, saponin, flavonoidler gibi fenolik bileşenler saptamışlardır.

Golla ve Bhimathati (2014), *Desmostachya bipinnata* L. mantarının hidroalkolik özütünün antioksidan aktivitesini ve DNA hasarına karşı koruyucu aktivitesini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucuna göre mantar özütünün ortamdaki H_2O_2 ' in yarısını $264,18 \pm 3,47 \mu\text{g/mL}$ lik IC50 değeri ile temizlediğini ve $50 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda fenton ajanıyla oksidatif hasara uğrattıkları DNA'yı koruyucu aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Mantar özütünün doza bağlı olarak antioksidan ve DNA koruyucu aktiviteyi içeren biyolojik aktivitelere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Oğuzkan vd (2016)., fındık bitkisinin yeşil kabuk ve yaprak ekstraktlarında biyolojik aktivite üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Antibakteriyel aktivite tayini için DPPH yöntemini kullanmışlardır. Ekstraktları H_2O_2 'ye maruz bırakmışlardır. DNA hasarı üzerine etkilerini öğrenmek için pBR322 plazmid DNA'sı kullanmışlardır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda, fındık yeşil kabuk ekstraktının DNA üzerine

koruyucu etkisi olduğunu ancak yeşil yaprak ekstraktının böyle bir etkiye sahip olmadığını ortaya koymuşlardır.

Shareef ve arkadaşları (2012), *Cardiospermum halicacabum* L. bitkisinin butanol, asetilasetat, etanol ve su özütlerinin bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal aktivitesini test etmişlerdir. Bitkinin asetilasetat özütleri gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı 7mm-14mm aralığında, butanol özütleri 7mm-10mm aralığında, su özütleri 7mm-9mm aralığında antibakteriyel aktivite göstermiştir. Su özütleri 18 mm lik inhibisyon zonuyla *Candida albicans* türüne karşı antifungal aktivite gösterirken; etanol özütleri 18 mm lik inhibisyon zonuyla *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktivite göstermiştir.

Jung-Sup Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2018), *Oxalis triangularis*'in ekstraktlarında *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite açısından test edilmiştir. Antibakteriyel aktivite, *O. triangularis* yapraklarından elde edilen ısıtılma tabii tutulmuş özütlerde ve ayrıca NaOH ilavesiyle çeşitli pH özütlerinde test edilmiştir. Yapraklardan özler, saplar, kökler ve *O. triangularis* tomurcukları tüm bakterilere karşı geniş spektrumlu bir antibakteriyel aktivite göstermiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL METOT

3.1 *Oxalis triangularis* Özütlerinin Elde Edilmesi

3.1.1 Materyal

Özütleme işlemi için materyal olarak şunlar kullanılmıştır:

- Kurutulmuş *Oxalis triangularis* bitkisi
- Metanol (CH_3OH) (Sigma Aldrich marka)
- Distile su (dH_2O)
- Soxhlet (Gerhardt basınçlı ekstraksiyon cihazı)
- Evaporatör (Heildolph Heizbad HB Digit)

3.1.2 Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Gaziantep Üniversitesi kampüsü Biyoloji Bölümünde kültür bitkisi olarak bulunan *Oxalis triangularis*'in yaprakları toplanıp kullanılmadan önce distile suyla yıkanmış ve kurutma kağıdı üzerine serilerek gölgede kurutulmuştur. Kurutulan *Oxalis triangularis* yaprakları ekstraksiyon için öğütücü ile parçalanmıştır. Ekstraksiyon için çözücü ile beraber basınç uygulaması yapılmıştır. Ekstraksiyonda su ve metanol çözücü olarak kullanılmıştır.

Ekstraksiyon metodunda kurutulmuş olan *Oxalis triangularis* 5 gr olarak tartılmış Soxhlet cihazının beherleri içine yerleştirilmiştir. Su için 5.1 bar basınçta, 2 saat boyunca 5 grama 150 ml distile su konularak 130°C ' de işleme tabi tutulmuştur.

Metanol içinde aynı miktarlar kullanılarak su yerine 150 ml metanol eklenerek özütleme uygun sıcaklık ve süre belirlenerek gerçekleştirilmiştir. Açığa çıkan özütler Rotary Evaporator'de 90°C 'de evaporasyon (buharlaştırma) yöntemiyle metanol ve

su uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan özütler +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Gülaçtı vd., 2007).



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan *Oxalis triangularis* bitkisinin kurumuş hali (orijinal)

3.2 Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan (TOS) Belirleme Çalışmaları

Çalışmamızda *Oxalis triangularis* özütünün toplam oksidan (TOS), toplam antioksidan (TAS) kapasitesinin belirlenmesi, potansiyel antioksidan potansiyelinin ortaya konulması planlanmıştır. Çalışmanın TAS ve TOS bölümü Erel, O. (2004; 2005), yöntemine dayanarak ticari kit ile yapılmıştır.

3.2.1. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi:

TAS analizinin prensibi şu şekildedir:

Örnekteki antioksidanlar, Regant 2 içinde bulunan koyu mavi-yeşil ABTS’yi, renksiz indirgenmiş ABTS’ye dönüştürür.

660 nm absorbanstaki farklılaşım örneğin total antioksidan seviyesini gösterir. Radikal olarak ABTS (2,2 AzinoBis 3-Etil Benzo Tiazolin-6-Sulfonik Asit)’i,

Antioksidan olarak Vitamin E'nin analogu olan Trolox ve sentetik antioksidan kullanılmaktadır (Halliwell, Gutteridge. 2000).

3.2.1.1 Materyal

- TAS assay kit (Rel Assay Diagnostics, Korea)

Kit içerisinde;

- Reagent 1: (Buffer),
- Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Çözeltilisi),
- Standart 1 (0,0mmol Trolox Equiv./L),
- Standart 2 (1.00mmol Trolox Equiv./L) bulunmaktadır.
- *Oxalis triangularis* bitkisinin yaprak özütleri
- Spektrofotometre (Thermo Scientific, USA)
- Eliza plate kullanılmıştır.

3.2.1.2. Metot

- Reagent 1'den 200 µl alınıp kuyucuğa eklenmiştir.
- Üzerine 12 µl % 5'lik özütümüzden konulmuştur.
- Başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.
- Ölçüm sonrası üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edilmiştir.
- 5 dakika 37°C' de inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonrası 660 nm' de ikinci absorbans ölçümü yapılır.
- Metanol özütü için de aynı işlem tekrarlanmıştır.

3.2.1.3. Hesaplamalar

$$TAS \text{ (mmol/L)} = [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] / [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] \times 20$$

Hesaplamada kullanılacak veriler:

$$\Delta \text{ Standart1 absorbansı} = (\text{Std1'in ikinci absorbansı} - \text{Std1'in birinci absorbansı})$$

$\Delta \text{Standart2 absorbans} = (\text{Std2'nin ikinci absorbans} - \text{Std2'nin birinci absorbans})$

$\Delta \text{Örnek absorbans} = (\text{Örneğin ikinci absorbans} - \text{Örneğin birinci absorbans})$

3.2.2 Total Oksidan Seviye (TOS) Analizi

TOS analizinin prensibi şu şekildedir:

Araştırılmak istenen örneklerin oksidan potansiyelini tespit etmektir. Örnekte bulunan oksidanlar, demir iyonu şelat kompleksini demir iyonuna yükseltgerler. Yükseltgenme reaksiyonu, ortamda bulunan arttırıcı moleküllerle uzatılır. Ortamda oksidanların artmasına bağlı olarak oksidasyon reaksiyonlarında artış görülür ve demir iyonu, asidik bir ortamdaki kromojen ile renkli bir yapı meydana getirir. Bu rengin şiddeti, spektrofotometrik ölçülebilir. Okunan absorbans değeri örneklerdeki oksidan değerini belirtir. Oluşan sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ ile karşılaştırılarak TOS değeri bulunur (Tarpey vd., 2004).

3.2.2.1. Materyal

- TOS assay kit (Rel Assay Diagnostic),
Kit içerisinde;
 - Reagent 1 (Assay Buffer) 1x50ml
 - Reagent 2 (Prokromojen Solusyon) 1x10ml
 - Standart 1 (Blank Solusyon: deiyonize su)
 - Standart 2 solusyon 1x5ml bulunmaktadır.
- *Oxalis triangularis* bitkisinin yaprak özütleri,
- Spektrofotometre (Vantaa, Finland),
- Eliza plate

3.2.2.2. Metot

- Reagent 1' den 200 μl eliza plate kuyucuklarına koyulmuştur.
- Regant1 üzerine hazırlanan stok solüsyondan 30 μl eklenmiştir.
- 530 nm' de ilk spektrofotometrik okuma gerçekleştirilmiştir.
- Daha sonra 10 μl Reagent 2 eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.
- 530 nm' de ikinci spektrofotometrik okuma yapılmıştır.

- Aynı işlemler standart 2 için de tekrarlanmıştır.

3.2.2.3. Hesaplamalar

TOS ($\mu\text{mol/L}$) = (Abs. Örnek / AbsStandart2) X 20 (Standart2 Değeri)

Abs.Örnek = (Örneğin ikinci absorbansı - Örneğin birinci absorbansı.)

Abs Standart2:(Std2'nin ikinci absorbans - Std2'nin birinci absorbansı)

Standart 2 Değeri =20 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L

3.3 *Oxalis triangularis* Özütünün DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi:

3.3.1. Materyal

- pBR322 DNA(vivantis)
- H_2O_2
- % 1,25'lik agoroz jel
- Distile su (dH₂O)
- UV translüminatör (DNR-IS)
- Jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MiniBIS Pro)
- DMSO

3.3.2. Metot

Oxalis triangularis ekstraktlarının UV hasarına karşı DNA koruyucu aktivitesinin belirlenebilmesi için pBR322 plazmid DNA materyali (Vivantis Technologies) kullanılmıştır.

Plazmide ait DNA materyali her bir ekstrakt ile ayrı ayrı muamele edilmiş ve ortama H_2O_2 eklenmiştir

Bu ortam UV altında 5 dakika tutularak ortamda bulunan DNA partikülünün hasara uğratılması sağlanmıştır.

Farklı çözücüler ile çıkarılan özütler 50 mg kuru ağırlıkları ile tartılarak üzerlerine 1000 μl distile su eklenmiş ve özütlerin çözünmesi sağlanmıştır.

Bu aşama sonrasında hem metanol hem su ekstraktları için %1.5'lik agaroz jelde 60 dk ve 100 voltta DNA örnekleri yürütülmüştür.

Yürütme işleminden sonra jel görüntüleme cihazında görüntüleme yapılmıştır.

Stok olarak hazırlanan pBR322 1:3 oranında distile su ile seyreltilmiştir.

3.3.3 Agaroz Jelin Hazırlanması

- % 1'lik TBE tampon çözeltisi; elektroforez tankını doldurmak ve agaroz jeli yapmak için kullanılır.
- Erlenmayer içerisinde bulunan 100 ml 1x TBE tamponuna % 1,25 konsantrasyonda olacak şekilde 1,25 g toz agaroz eklenmiştir.
- Tampon içindeki agarozun erimesi için yeterli süre mikrodalga fırında tutulmuştur.
- Çözelti 60°C'ye soğutulmuştur.
- DNA'nın yerleştirileceği kuyucukların yapılması için cam plaka yüzeyinin 0,5-1 cm yukarı kısmına tarak yerleştirilmiştir.
- Agaroz jelin üzerine 25 µl etidyum bromür eklenmiştir. Hazırlanmış olan ılık agaroz çözeltisi kalıba aktarılır. Jel kalınlık olarak 3-5 mm civarında olmalıdır. Tarağın alt kısmına veya aralarında hava baloncuklarının olmamasına özen gösterilmiştir.
- Agaroz jelin normal oda sıcaklığında katılaşması için 1-1,5 saat civarında bekletilmiştir. Agaroz jel donduktan sonra cam plaka ve tarakın kenarları özenle çıkarılıp, elektroforez tankının içerisine agaroz jel yerleştirilmiştir.

3.3.4 Kontrol ve özütlerin hazırlanması

K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)

K2: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl) + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

S1: Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Su özütü 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

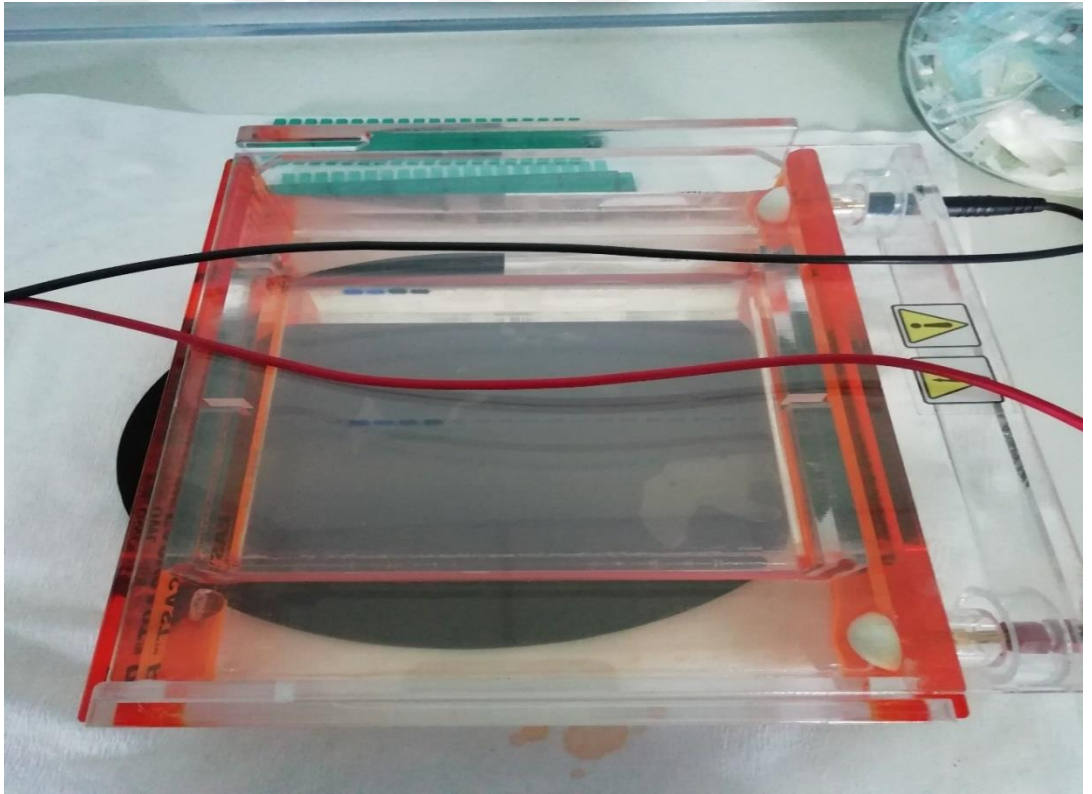
M1: Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Metanol özütü 5µl + UV(5dk)+H₂O₂ (1µl)

Hazırlanan örneklerin üzerine 5 mikrolitre yükleme tamponu eklenerek bu karışımdan 10 mikrolitre alınıp 1mm derinlikdeki tampon içerisinde gömülü halde bulunan jelin kuyucuklarına özenle eklenmiştir.

Tankın kapağı kapatılıp elektrik bağlantıları yapıldıktan sonra elektroforez 100 volt ve 60 dk ayarlanarak çalıştırılmıştır.

Jelde oluşan görüntünün fotoğrafını çekmek için jeli aydınlatan UV ışık kaynağı kullanılmıştır.

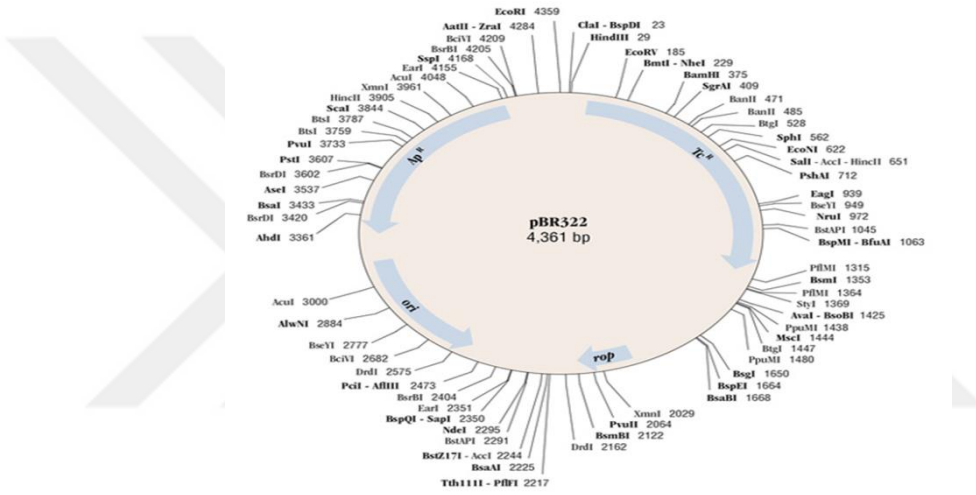
Agaroz jel elektroforezi uygulamalarından sonra jel dökümantasyon sisteminde görüntülenerek fotoğraf elde edilmiştir.



Şekil 3.2 Agaroz Jel Elektroforezi

3.3.5 pBR322

pBR322 yaygın olarak kullanılan ve geliştirilen ilk vektörlerden biridir. pBR322 plasmidi 4362 baz çifti uzunluğundadır. İçerisinde Amfisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine direnç genleri içerir. Ve birçok restriksiyon enzim bölgesi içermektedir (T.A Brown, 2006). pBR322 plasmid DNA'sı agaroz jel elektroforezinde iki bant göstermektedir. Birincisi hızlı yürüyen ve plasmidin doğal formu olan süpercoiled DNA'dır. İkincisi yavaş yürüyen open-circular DNA'dır. H₂O₂ nin bulunduğu ortamda DNA UV ışınlarına maruz kalınca open-circular DNA kırılır ve doğrusal DNA oluşur(Tepe vd., 2011).



Şekil 3.3 pBR322 DNA

3.4 *Stenotrophomonas maltophilia* Bakterisine Karşı Etkinlik Testi

Oxalis triangularis çözeltilerinin, antimikrobiyal aktivitelerini belirleyebilmek için *Stenotrophomonas maltophilia* kullanılmıştır. Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşları Disk difüzyon yönteminde kullanılmıştır.

3.4.1. Materyal

- Mikropipet
- Mueller-Hinton Agar
- Bakteri suşu *S.maltophilia*
- İnkübatör
- Vorteks
- McFarland Cihazı
- Petri kapları
- Eküvyon çubuk
- Blank disk (6mm)
- Otoklav
- Hassas Terazî

3.4.2. Metot

Oxalis triangularis özütleri, *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi kullanılarak antimikrobiyal aktivitelerinin belirleme çalışmaları yapılmıştır. Antimikrobiyal belirlenebilmesi için Disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. % 5 *Oxalis triangularis* su ve metanol özütleri 6mm çapındaki steril blank (boş) disklerle 30µl olmak üzere emdirilmiştir. Daha sonra önceden besiyerlerinde üreme kontrolleri yapılan *S. maltophilia* bakteri suşundan bir miktar alınarak ayrı ayrı SF içerisinde 0.5 Baryum Sülfat Bulanıklık Standartı baz alınarak Mcfarland cihazında belirlemeler yapılmıştır. Süspanse hale getirilerek vortekslenerek steril eküvyon yardımı ile alınıp örnek Mueller-Hinton agar yüzeyine 100 µl inoküle edilip disk difüzyon için kullanılmak amacıyla ekimi gerçekleştirilmiştir. On dakika süreyle kurumaya bırakılmıştır. *Oxalis triangularis* su ve metanol emdirilmiş diskler steril bir pens ile agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Besiyerleri 24 saat süreyle 37°C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından disklerin etrafında zon oluşup oluşmadığı kaydedilmiştir.



Şekil3.4 *Oxalis triangularis* su ve metanol özütleriyle disk hazırlanması

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 DNA Koruyucu Aktivitesi Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar

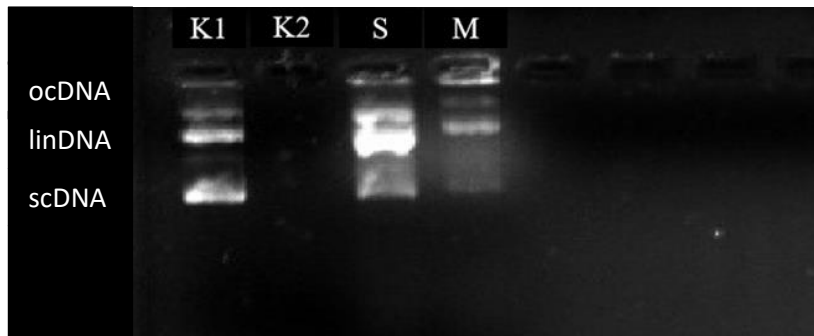
DNA koruyucu aktivite çalışması ile *Oxalis triangularis* yapraklarının su ve metanol özütünün DNA koruyucu etkisine bakılmıştır. Bu metod ile DNA'da hasara neden olan UV ışınları ve H₂O₂ varlığında oluşturduğumuz ekstraktların DNA hasarını engelleyebilme potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışma ile elde edilen jel görüntü kaydı Şekil 4.1'de verilmiştir. Sonuçlara göre su ve metanol özütünün DNA koruyucu etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)

K2: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)+ UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

S1: Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Su özütü 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

M1: Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Metanol özütü 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)



K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl), **K2:** Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)+ UV (5dk) + H₂O₂ (1µl), **S:** Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Su özütü 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl), **M:** Plazmit DNA(3µl)+*Oxalis triangularis* yaprağı Metanol özütü 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

Şekil 4.1. *Oxalis triangularis* yaprak ekstraktlarının jel görüntüsü

4.2 TAS ve TOS Aktivite Sonuçları

Oxalis triangularis yapraklarının su ve metanol özütlerinin, ticari kit ile Total antioksidan ve Total oksidan seviyelerine bakılmıştır.

Tablo 4.1 TAS referans değerleri

TAS REFERANS DEĞERLERİ (mm Trolox Equiv/L)		
>2.0		Çok İyi
1,45	2,0	Normal
1,2	1,45	Normal Kabul Edilebilir
1	1,1	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

Tablo 4.2 *Oxalis triangularis* yaprak özütlerinin TAS değerleri(mmol Trolox Equiv/L)

Örnekler	Su	Metanol
TAS Değeri	4,307	4,359

Yapılan çalışma sonucu referans değerler ile karşılaştırıldığında, total antioksidan değeri hem su hem de metanol özütleri için çok iyi seviyelerde olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.3 TOS Referans değerleri

TOS REFERANS DEğERLERİ ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L)		
<5.0		Çok İyi
8	5	Normal
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

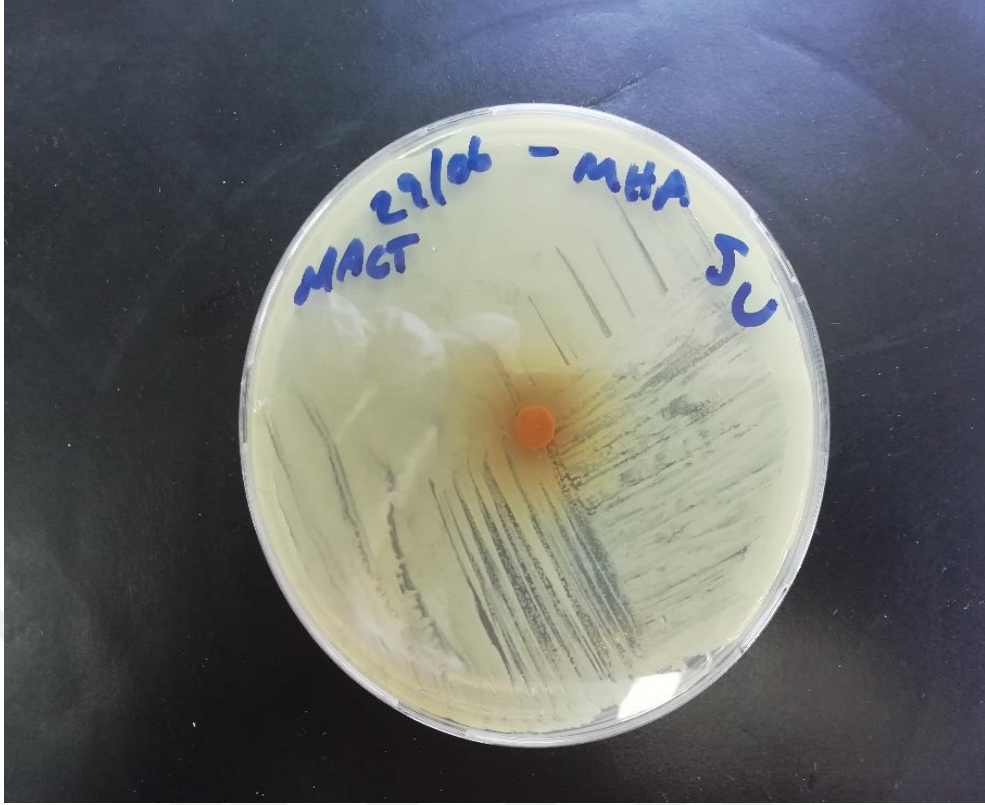
Tablo 4.4 *Oxalis triangularis* yaprak özütlerinin TOS değerleri($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L)

Örnekler	Su	Metanol
TOS Değeri	4,362	3,966

Yapılan çalışma sonucu referans değerler ile karşılaştırıldığında, total oksidan değeri hem su hem de metanol özütleri için çok iyi seviyelerde olduğu belirlenmiştir.

4.3 Disk Difüzyon (Antibiyogram) Testi Sonuçları

Oxalis triangularis yapraklarının su ve metanol özütlerinin *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkisinin olup olmadığı disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda *Oxalis triangularis* yapraklarının su ve metanol özütlerinin *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2 *Oxalis triangularis* su özütünün disk difüzyon sonucu



Şekil 4.3 *Oxalis triangularis* metanol özütünün disk difüzyon sonucu

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Oxalis triangularis su ve metanol özütlerinin *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkisi, antioksidan-oksidan potansiyeli, DNA hasarı üzerine koruyucu etkileri bu tez çalışmasında araştırılmıştır.

Son yıllarda kullanılan doğal olmayan maddelerin yan etkilerinin fazla olması ve organizmaların kullanılan ilaçlara karşı direnç oluşturmalarının farkına varılmasıyla, insanlar organik yapılı doğal kaynakları ve bu maddeleri bünyesinde barındıran bitkileri tercih etmeye başlamışlardır.

İçerdikleri antimikrobiyal bileşikler sayesinde özellikle tıp alanında kullanılan bu bitkilerin araştırılması çok önemlidir. Aynı zamanda güvenilir olmaları ve doğal ürünler olmalarından dolayı tüketici talebinde ilginin artmasına neden olmuştur. Bundan dolayı tıbbi bitkilerle ilgili daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerekliliğini beraberinde getirmiştir. Bitkilerin çeşitli kısımlarının antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antiviral, antikarsinojenik gibi özelliklerini saptamaya yönelik araştırmalar olduğu görülmektedir.

Çalışma kapsamında *Oxalis triangularis* yaprak özütlerinin oksidan ve antioksidan kapasiteleri ortaya çıkarılmıştır. Çıkan oksidan ve antioksidan seviyeleri kıyaslanarak çalışma kapsamındaki özütlerin en düşük oksidan ve en yüksek antioksidan seviyelerine sahip olanları belirlenmiştir. *Oxalis triangularis* bitkisinden elde edilen su ve metanol özütlerinin TAS (Total Antioksidan Seviye) ve TOS (Total Oksidan Seviye) aktiviteleri “Rell Assay Diagnostic” kitleri ile belirlenmiştir. *Oxalis triangularis* bitkisinin yaprak kısımlarının su ve metanol özütlerine ait TAS, TOS değerleri Tablo 4.2 Tablo 4.3 Tablo 4.5 Tablo 4.6 da görülmektedir. *O.triangularis* bitkisinin su özütünün TAS değeri 4,307 mmol/L ve metanol özütünün TAS değeri

4,359 mmol/L'dir. Değerlerin 2'nin üzerinde olması bu özütlerin oldukça iyi antioksidan olduklarını gösterir. Su özütünün TOS değeri 4,362 ve metanol özütünün TOS değeri 3,966'dır. TOS değerinin 5' ten düşük olması oksidan aktivite göstermediğini ve kabul edilebilir bir TOS değerinin olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmada *Oxalis triangularis* yapraklarının su ve metanol özütlerinin antioksidan yönünden zengin olduğu belirlenmiştir. Oksidan yönünden ise su ve metanolün çok iyi oksidan seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Serbest radikallerin süpürülmesinde *Oxalis triangularis* yapraklarından yararlanılabileceği belirlenmiştir. Antioksidanların da oksidatif DNA hasarına koruyucu etkiye sahip oldukları saptanmıştır.

Çalışmamızdan *Oxalis triangularis* özütlerinin DNA koruyucu aktivitesi potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışma kapsamında hem su hem de metanol özütünün DNA koruma potansiyeline göre DNA üzerinde koruyucu aktiviteye sahip oldukları Şekil 4.1' de görüntü üzerinden değerlendirilmiştir. Özellikle su özütünün koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiştir. Piyasada yer alan kişisel bakım ürünleri, güneş kremleri, el ve vücut kremleri içerisinde UV koruyucu etkisi olduğu düşünülen retinil palmitat ve oxybenzon gibi aktif bileşenler çok sık kullanılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin yan etkilerinin çok fazla olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra Oxybenzonun genotoksik ve endokrin sistemi olumsuz yönde etkileyen bir bileşen olduğu belirtilmiştir (Zachary vd., 2017).

Sonuç olarak; *Oxalis triangularis* bitkisinin yüksek antioksidan olması ve UV'ye karşı koruyucu olması insan sağlığı, farmakoloji ve endüstriyel açıdan önemli bir yer tutmaktadır.

Çalışmamızda hastane infeksiyonu olan *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı *Oxalis triangularis* yapraklarının antibakteriyel etkileri araştırıldığında bu bakteriye karşı herhangi bir etkinliğinin olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonuçlar, *Oxalis triangularis* bitkisinin yüksek koruyucu potansiyele sahip olması ve kullanılan bitkinin yan etkilerinin olmaması bu bitkinin önemini arttıracaktır. Biyolojik aktivite belirleme çalışmalarına katkı sağlayıp farmakolojik çalışmalara yol gösterici olacaktır. Bu çalışma, ileride yapılacak olan çalışmalar için de bir temel oluşturacaktır.

BÖLÜM 6

KAYNAKÇA

- Abascal, K., Yarnell, E. (2002). Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes. *Alternative & Complementary Therapies*, Part:1, 237-241
- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K.,(2003). Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-Induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C.* **135**, 331-336.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., (2004). Pesticides and Oxidative Stress: a Review. *Med. Sci. Monit.* **10**, 141-147.
- Abid, C.,(2010). The seed atlas of Pakistan-IV Oxalidaceae, Pak. J. Bot., **42(3)**
- Akçam, E., Oluk, E., (2006). Bitki Hücre Süspansiyon Kültürleri ve Sekonder Metabolit Üretimi, Anadolu University Journal of Science and Technology. **7(2)**, 303-310
- Akçiçek E (2010). Bitkilerle Tedavide Güncel Arastirmalar (Eski ilaçlar, Yeni Uygulama Alanları). Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, Merkezefendi Geleneksel Tıp Derneği, İstanbul, 50-51.
- Akkuş İ. (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Konya.
- Akpoyraz, M., Durak, İ., (1995). Serbest Radikalların Biyolojik Etkileri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. **48(2)**
- Alaca Güre, F. ve Arabacı,(2005). Bazı tıbbi bitkilerdeki doğal antioksidanlar ve önemi. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, (Derleme Sunusu Cilt I, Sayfa 465-470), Antalya.

Alonso, A., Sanchez, P., Martínez, J. L. (2000). *Stenotrophomonas maltophilia* D457R Contains a Cluster of Genes from Gram-positive Bacteria Involved in Antibiotic and Heavy Metal Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **44(7)**, 1778-1782.

Amundson, S. A., Patterson, A., Do, K. T., Fornace, Jr, A. J. (2002). A nucleotide excision repair master-switch: p53 regulated coordinate introduction of global genomic repair genes. *Cancer biology & therapy*, **1(2)**, 145-149.

Antmen, E. (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Aydemir, B., Karadağ, Sarı, E., (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*. **2(2)**, 56-60.

Aydın, Ç., Mammadov, R., (2017). İnsektisit Aktivite Gösteren Bitkisel Sekonder Metabolitler ve Etki Mekanizması, *Marmara Pharmaceutical Journal*. **21(1)**, 30-37.

Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kizil, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları, *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*. 11-15.

Brooke, J. S. (2012). *S. maltophilia* a mutiple-drug-resistant pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, **25(1)**, (s.2-41).

Burtis C.A., Ashwood E.R., Vitaminler. Aslan, D. Eds., (2005). *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Palme Yayınları, Ankara.

Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism, Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life sciences*, **75(21)**, 2539-2549.

Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular Antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, **37**: 949-962.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Document M7-A7. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*. Approved Standard 7th Ed.

Crossman, L.C., Gould, V.C., Dow, J.M., Vernikos, G.S., Okazaki, A., Sebahia, M. (2008). The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biology*. **9** (4), R74.

Ceylan A (1995). *Tıbbi Bitkiler I. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* No:312, III. Baskı, İzmir

Cragg, G.M., Body, M.R., Cardellina, J.H., Grever, M.R., Schepartz, S.S. Spader, K.M. (1993). The role of plants in the drug discovery program of the US manipulation.eln., International Crop Science 1 Maddison, USA", *Crop Science Society of America*, 179-196.

Cullen, J., (1984). *Oxalis L.* In: Davis PH, ed. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 2. Edinburgh: Edinburgh Univ. Press, 488-490.

Dağcı, E.K., İzmirli, M. and Dığrak, M. (2002). Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması, *KSÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* (5), 38-46

Debeleç Bütüner B, Kantarcı G.(2006) Mutasyon, DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları, ve Kanserle ilişkisi. *J Fac Pharm*; **35** (2); 149-70.

Demirezer, L.Ö,(2010). Bitkilerin Tıpta Kullanılması Konusundaki Sorumluluklarımız. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu 5-6 Haziran 2010 Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı, s: 87-88.

Denton M. (1973). A monograph of *Oxalis*, section *Ionoxalis* (Oxalidaceae) in North America. Publications of the Michigan State Univ. Museum, Biological Series 4: 455– 615.

Denton, M., Kerr, K.G. (1998). Microbiological and Clinical Aspects of Infection Associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews*. 57-80

Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. (1999). Antimicrobialactivities of several parts of Pinus brutia, Juniperusoxycedrus, Abies cilicia, Cedrus libani and Pinus nigra *Phytotherapy Research*, **13**: 584-587.

Dinçer Y, Akçay T.(2000). DNA damage. *Türk Biyokimya Dergisi*; **25(2)**:73-9

Dorman, H.J.D., Deans, S.G. Noble, R.C. (1995). Evaluation in vitro plant essential oils as natural antioxidants, *Journal of Essential Oil Research*, **71**, 645-651.

Ebaid, H., Bashandy S. A. E., Alhazza IM, Rady, A., El-Shehry, S., (2013). Folic Acid and Melatonin Meliorate Carbon Tetrachlorideinduced Hepatic Injury, Oxidative Stress and İnflammation in Rats. *Nutr Metab.* 10(20) doi,10.1186/1743-7075-10-20.

Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* **37**, 112-119.

Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* **38**, 1103–1111.

Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S., (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi, Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi.

Frosina, G., Fortini, P., Rossi, O., Carrozzino, F., Raspaglio, G., Cox, L. S., Dogliotti, E. (1996). Two pathways for base excision repair in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, **271(16)**, 9573-9578.

Goldberg E, Bishara J. (2012). Contemporary unconventional clinical use of cotrimoxazole. *Clinical Microbiology and Infection.* **18**, 8-17.

Gooding, J.J. (2002). Electrochemical DNA hybridization biosensors. *Electroanalysis*, **14**:1149- 1156

Gulcan, H., Kuzucu, C. Durmaz, R. (2004). Nosocomial Stenotrophomonas maltophilia cross-infection: three cases in newborns. *AJIC: American Journal of Infection Control*, **32(6)**, (s.365-368).

Gutteridge, J.M.C. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide- dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. FEBS Lett 172: 2459

Gutteridge, J. M. C., (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. Clin Chem. **41(12)**, 1819- 1828.

Gülaçtı, T., Ay, M., Bilici A., Sarıkurkcu, C. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. *Food Chemistry*. **103(3)**:816-822

Gündüz, N., (2005). Synthesis and Characterization of New Biss (crown ether) of Schiff Base type containing recognition sites for Sodium and Nickel guest cations,” J. Prakt. Chem., 341: **(6)**, 568-573.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T.,(2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul

Gürkan, A. S., Bozdağ-Dündar, O., (2005). Coenzyme Q10. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara. **34(2)**: 129-154.

Halıcı, M. (2003). *Ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde “Usnea longissima” dan elde edilen su ekstresinin antiülserojenik ve bazı antioksidan enzim 52 aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması*. Sağ. Bil. Enst. Ecz. Fak. Biyokimya ABD. Yüksek Lisans tezi. Erzurum.

Halıcı, M. (2008). *Bazı likenlerden izole edilen maddelerin sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde antiülser mekanizmalarının araştırılması*. Fen Bilimleri Enst. Kimya ABD. Doktora tezi. Erzurum.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Third ed. Oxford: Oxford Science Publications. (2000). p. 617–24.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. *Nutr. Rev.* **55(1)**:S44–S52.

Henle, E.S., Linn, S., (1997). Formation, Prevention, and Repair of DNA Damage by Iron/ Hydrogen Peroxide, *J. Biol. Chem.* **272** (31), 19095–19098.

Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., Sainz, R. M., (2014). Melatonin Enhances Photo-Oxidation of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein by an Antioxidant Reaction That Renders N1- Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK). PLoS ONE. 9(10): e109257.

Hirata, F., Hayaishi, O. (1971). Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3 -dioxygenase reaction. J. Biol. Chem. **25**: 7825.

Huck, P. Wilkes, M. C. (1996). Beverage natural colors: chemistry and application. In: International Congress & Symposium on Natural Colorants, Puerto de Acapulco. Abstracts...(pp. 11). Mexico: Asociaci3n Mexicana de Especialistas en Colorantes y Pigmentos Naturales, A.C.

Hussein, H. K., Elnaggar, M. H., Al-Zahrani, N. K., (2012). Antioxidant Role of folic Acid Against Reproductive Toxicity of Cyhalothrin in Male Mice. Glo Adv Res J Environ Sci Toxicol. **1(4)**, 66-71.

Ilçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E., (1998). Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, Tr. J. of Biology, **22**: 119-125.

İmik, H., Fidancı, U.R, Sel, T. (1999). Ankara Keçisi oğlaklarında C ve E vitaminlerinin metabolik strese karşı etkisi. Vet. Bil. Derg. **15**: 47-53.

Kamei, H., Kojima, T., Hasewaga, M., Koide, T., Umeda, T., Yukawa, T., & Terabe, K. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. Cancer Invest., **13(6)**, 590–594.

Jornot, L., Petersen, H., Junod, A.F. (1998). Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. Biochem. J. **335**: 85-94.

Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP.(2007) MGMT: Key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. DNA Repair (Amst); **6(8)**:107999.

Kandemir, Ö. (2007). Çoğul dirençli bakterilerde tedavi yaklaşımı, Stenotrophomonas maltophilia. Erişim adresi:

Karamanoğlu, K. (1977). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. II. Baskı, Ankara Üniv. Eczacılık. Fak. Yay.

Kim, Y, Kim, D. C, Cho, E. S., Ko S. O., Kwon, W. Y., Suh G. J., Shin H. K., (2014). Antioxidant and Antiinflammatory Effects of Selenium in Oral Buccal Mucosa and Small İntestinal Mucosa During İntestinal İschemia-Reperfusion İnjury. J Inflamm. 11(36)

Kirkman, H. N., Galiano, S., Gaetani, G. F., (1987). The Function of Catalase-Bound NADPH. J Biol Chem. **262(2)**, 660–666.

Knuth R. (1930). Oxalidaceae. In: Engler A. ed. Das Pflanzenreich, Vol. 4. Leipzig: Engelmann, 1–481.

Kulaksız, G. Sancar, A. (2007). Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser Türk Biyokimya Dergisi, **32 (3)**; 104-111.

Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., Srivastava, A. K., (2015). Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. Archives Medical Review Journal. **24(1)**, 19-40.

Kurtuğlu, E.L., Tekedereli, İ. (2015). DNA Onarım Mekanizmaları, Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, **4(3)**: 169-177.

Li, Y., Schellhorn, H. E., (2007). New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. J Nutr. **137(10)**, 2171-2184.

Limon-Pacheco J., Gonsebatt, M. E., (2009). The Role of Antioxidants and Antioxidantrelated Enzymes in Protective Responses to Environmentally İnduced Oxidative Stress. Mutat Res. **674(1-2)**, 137-147.

Looney, W. J., Narita, M., ve Mühlemann, K. (2009). Stenotrophomonas maltophilia: an emerging opportunist human pathogen. The Lancet infectious diseases, **9(5)**, 312323.

Lourteig, A. (1983). Oxalida' ceas. In R. Reitz (Ed.), As plantas (pp. 101–103). Itajapei': Flora Ilustrada Catarinense.

Madhuri, S., Pandey, G. (2009). Some anticancer medicinal plants of foreign origin. *Current Science*, **96**, No. 6, 25.

McKay, GA., Woods, DE., MacDonald, KL., Poole, K. (2003). Role of phosphoglucosyltransferase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infection and immunity*. **71(6)**, 306875.

McCord, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England J. Med.* **312**: 159-163.

Milli Eğitim Bakanlığı (MEB). (2013). Gıda Teknolojisi, Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri, Ankara.

Miguel, M.G. (2010). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants, A review, *Flavour and Fragrance Journal*, **25(5)**, 291-312.

Morris, P. and Robbins, M. (1997). Manipulating the Chemical Composition of Plants. <http://www.aber.ac.uk/en/media/ch2.pdf> 10.05.2021

Muhammed bin Hamza (Akşemseddin). (1989) TDV İslam Ansiklopedisi Cilt 2: 299-302.

Nakipoğlu, M. ve Otan, H. (1992). Tıbbi Bitkilerin Flavonoidleri, Anadolu, *Journal of AARI* **4 (1)**, 70-93.

Nicodemo, AC., Paez, JIG. (2007). Antimicrobial therapy for *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *European Journal of Clinical Microbiology of Infection Disease*. **26**, 229-237.

Nigg, H.N. and Seigler, D. (1992). Phytochemical resources from medicine and agriculture, New York, Plenum Press. 76-363.

Nyč, O., Matějková, J. (2010). *Stenotrophomonas maltophilia*: Significant Contemporary Hospital Pathogen. *Folia Microbiologica*. **55(3)**, 286–294.

Odabaşoğlu, F. (1999). Antioksidan Vitaminler. Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Konferans Kitapçığı. Erzurum.

Odabaşoğlu, F. (2006). Antioksidan vitaminler. Pharma Şark 1 (1): 19-21.

Onat, T., Emerk, K., Sözmen, EY. (2002), İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara.

Onur, E., Tuğrul, B., ve Bozyiğit, F. (2009). DNA hasarı ve onarım mekanizmaları. Türk Klinik Biyokimya Derg, 7(2), 61-70

Oskay, D., Oskay M. (2009). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi, *Ecological Life Sciences*, 4(2), 31-41.

Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N. ve Sancak, C. (2005). Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar: Bitki Biyoteknolojisi. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 315-346, Ankara

Öztekin, S., Soysal, Y. (1998). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Ekstraksiyon Yöntemleri, Tarımsal Mekanizasyon 18. Ulusal Kongresi, Tekirdağ. 731-734

Öztürk, M., Altundağ, E., Gücel, S. (2010). Medicinal and Aromatic Plants (Turkey). *Ethnopharmacology*, 1-11.

Pham-Huy L. A., He, H., Pham-Huy, C., (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 4(2), 89-96.

Packer, L., Kraeme, K., Rimbach, G., (2001). Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition*. 17, 888-895.

Pages, D., Rose, J., Conrod, S., Cuine, S., Carrier P., Heulin, T., Achouak, W. (2008). Heavy metal tolerance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS ONE*. 3(2), e1539.

Pektaş, İ. (2009). Bitki Gelişim Düzenleyicilerinin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.

Pien C.-J., Kuo H.-Y., Chang S.-W., Chen P.-R., Yeh H.-W., Liu C.-C. ve Liou M-L (2015). Risk factors for levofloxacin resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* from respiratory tract in a regional hospital. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **48**, (s.291-295).

Pietta, P. G., (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of natural products*. **63(7)**, 1035-1042.

R. Kellner, M.M., M.Otto, M.Valcarcel, H.M. Widmer,(2004) Sample Preparation, in *Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science*, Wiley: Weinheim. p. 506-508.

Robertson, KR., (1975). The Oxalidaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor*. **56(2)**: 223-239.

Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., Bourdon, E., (2008). The Antioxidant Properties of Serum Albumin. *FEBS Lett*. **582(13)**, 1783-1787.

Saab, A.M., Tundis, R., Loizzo, M.R., Lampronti, I., Borgatti, M., Gambari, R., Menichini, F., Esseily, F., Menichini, F. (2012). Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. *Nat. Prod. Res.*, **26**, 1741 .

Salter, TM. (1944). The genus *Oxalis* in South Africa: a taxonomic revision. *Journ. of South African Bot.* 1: 1–355.

Sarker, S. D., Nahar, L. (2007). *Chemistry for Pharmacy Students General, Organic and Natural Product Chemistry*. John Wiley and Sons, England: 283-359.

Sawyer, D. E., Van Houten, B., (1999). Repair of DNA Damage in Mitochondria, *Mutat. Res.* 434, 161-176.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, YSR, De B., (2010) Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **3(1)**, 91-100.

Sen, S., Chakraborty, R., (2011) The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter 1, 137.

Seven, A., Candan, G., (1996). Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, **27(1)**, 41-50.

Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., (2012). Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *J Dent Allied Sci.* **1(2)**, 63-66.

Simpson, J.A., Narita S., Gieseg S., Gebicki S., Gebicki J.M., Dean R.T. (1992). Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochem. J.* **282**: 621-624.

Şen, P., Yula, E., Er, H., Güngör, S., Özdemir, R., Baran, N., Demirdal, T. ve Demirci, M. (2017). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarında antibiyotiklere direnç oranı. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, **9(3)**, (s. 113-117).

T.A Brown “Gene Cloning & DNA Analysis” Amerika, Blackwell Publishing, 2006

Tarpey, M.M., Wink, D.A., Grisham, M.B. (2004). Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am j physiol, regul integr comp physiol*; **286(3)**, r431–44.

Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., Sarikurkcu, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and anti-tumor activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, **82(2)**: 237–246.

Tille, P.M. (2014). *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, and similar organisms. In: Bailey & Scott’s diagnostic microbiology (13th ed) Elsevier, Missouri. pp. 329-34.

Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. and Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical comparison of some spice essential oils. *Food Chemistry*, **89**, 549-554.

Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H., (2003). The Importance of Glutathione in Human Disease. *Biomed Pharmacother.* **57(3-4)**, 145-155.

- Vonderbank, H. (1949). Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. *Pharmazie*, 4:198-207.
- Wang, J. (2000). Flux-averaging analysis of type Ia supernova Data. *The Astrophysical Journal*, 536: 531-539.
- Waring, W. S., (2002). Uric acid: An Important Antioxidant in Acute Ischaemic Stroke. *QJM*. **5(10)**, 691-693.
- Wei, Y., Lee, H., (1997). Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Mutation, and Impairment of Antioxidant Enzymes in Aging, *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* **217**, 53-63.
- William S. Klug, Micheal R. Cummings. Genetik Kavramlar. Altıncı Baskıdan Türkçe Çeviri. Palme Yayıncılık. Ankara, 2002, 477-481.
- Yen, G. C., Wu, J. Y. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem.*, **65**, 375-379.
- Yıldırım, F., Kart Yaşar, K., Şengöz, G., Yamanlar, R., Nayman, F. ve İdin, K. (2009). Erişkin yoğun bakım ünitesinde *Stenotrophomonas maltophilia* enfeksiyonu ve kontrolü. *ANKEM: Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, **23(4)**, (s.166-171).
- Young, I. S., Woodside, J.V., (2001). Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* **54(3)**, 176-186.
- Zachary, R., Hopkins, Sebastian S., Lee B. (2017). Ozonation of the oxybenzone, octinoxate, and octocrylene UV-filters: Reaction kinetics, absorbance characteristics, and transformation products, *Journal of Hazardous Materials*, 338 23–32.
- Zamocky, M., Koller, F., (1999). Understanding the Structure and Function of Catalases: Clues from Molecular Evolution and in Vitro Mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol.* **72(1)**, 19-66.
- Zhang, Y., Rohde, L. H., ve Wu, H. (2009). Involvement of nucleotide excision and mismatch repair mechanisms in double strand break repair. *Current genomics*, **10(4)**, 250-258.

