



**SCANDIX AUSTRALIS L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

Merve ÜSTÜNDAĞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ağustos 2015

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Merve ÜSTÜNDAĞ

27.08.2015

SCANDIX AUSTRALIS L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Merve ÜSTÜNDAĞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2015

ÖZET

Bu çalışmada *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitki özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve DNA etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak, bitkinin metanol, etanol ve su özütleri çıkarılmıştır. Özütlerin antimikrobiyal etkileri agar kuyucuk ve minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ile hesaplanmıştır. Özütlerin *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı etkili olduğu, buna karşılık mayalara karşı herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Özütlerin antioksidan etkileri 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali süpürücü aktivite ve Folin-Ciocalteu reaktifli fenolik içerik tayiniyle incelenmiştir. Metanol (IC₅₀: 74.38±2.30 µg/ml) ve etanol (IC₅₀: 81.38±3.36 µg/ml) özütlerinin su özütüne (IC₅₀: 249,24±0,46 µg/ml) göre daha yüksek DPPH radikali süpürücü etkisinin olduğu belirlenmiştir. Etanol, metanol ve su özütlerinin toplam fenolik içerikleri sırasıyla 74,38±2.30 ve 81,38±3,36 ve 16,45±0,975GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Bunlara ilave olarak, bitki özütünün plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemiyle incelenmiştir. Özütlerin konsantrasyona ve inkübasyon süresine bağlı olarak DNA'yı kesme şeklinde etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak elde edilen veriler ile *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve DNA üzerinde etkili olduğu bulunmuştur.

Bilim Kodu : 203.1.104

Anahtar Kelimeler : Animikrobiyal, antioksidan aktivite, *Scandix australis*, DNA etkileşimi

Sayfa Adedi : 67

Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF *SCANDIX AUSTRALIS* L.

(M. Sc. Thesis)

Merve ÜSTÜNDAĞ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

August 2015

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the antimicrobial, antioxidant activity and DNA interactions of *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell extracts. For this purpose methanol, ethanol and water extracts were obtained from this plant. The extracts were analysed for antimicrobial activity by agar well diffusion and minimum inhibition concentration (MIC) methods. The extracts were shown antimicrobial activity against *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. But the extracts had not any antimicrobial activity against tested candidal strains. In addition, the extracts were subjected to *in vitro* antioxidant activity evaluation by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity and total phenolic contents. According to the results, the methanol extract (IC_{50} : 79.90 ± 6.68 μ g/ml) and ethanol extract (IC_{50} : 98.53 ± 1.49 μ g/ml) had higher DPPH radical scavenging activity than water extract (IC_{50} : 249.24 ± 0.46 μ g/ml). Total phenolic contents of the methanol ethanol and water extracts were found to be 74.38 ± 2.30 , 81.38 ± 3.36 and 16.45 ± 0.975 GAE/mg respectively. The interaction between the extracts and plasmid DNA were analyzed by agarose gel electrophoresis. It was found that the extracts, depending on the concentration of compounds and the duration of incubation, showed effects such as DNA destruction and cleavage. As a result of this study, it was found that *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* L. Thell has a high antioxidant activity and it has an impact on DNA.

Science Code : 203.1.104
Key Words : Antimicrobial, antioxidant, *Scandix australis*, DNA interaction
Page Number : 67
Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a çok teşekkür ederim. Çalışmamda kullandığım bitkiyi bana temin ve teşhis eden Yrd. Doç. Dr. Osman KARABACAK'a çok teşekkür ederim. Tez savunma jürimde bulunarak tezin değerlendirilmesinde önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Nezaket ADIGÜZEL ve Sayın Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK'a çok teşekkür ederim. Yüksek lisans süresince bana destek olan değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Betül AYDIN'a Bil. Uzmanı Nagehan BAYIN, Özlem KILIÇ, Erdi Can AYTAR ve Bil. Uzmanı Ebru YILMAZ 'a çok teşekkür ederim. Bu süreçte yanımda olan ve benim bugünlere gelmemi sağlayan canım ailem: babam Nurettin ÖZAY, annem Fatma ÖZAY, kardeşim Arda ÖZAY ve eşim Yüksel ÜSTÜNDAĞ'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Tıbbi Bitkiler	5
2.2. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler	6
2.2.1. Fenolikler ve polifenoller	7
2.2.2. Uçucu yağlar	10
2.2.4. Alkoloidler	11
2.3. Apiaceae (Umbelliferae) Familyası Genel Özellikleri	11
2.4. <i>Scandix</i> cinsi	13
2.5. <i>Scandix australis</i> L.	13
2.6. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi	15
2.6.1. Antioksidan aktivite	15
2.6.2. Antimikrobiyal aktivite	22
2.6.3. Enfeksiyonlara neden olabilecek bazı mikroorganizmalar	23
2.7. DNA-İlaç Etkileşimi	27

3. MATERYAL METOT	31
3.1. Materyaller	31
3.1.1. Bitkisel materyal	31
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	31
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler	31
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	32
3.2. Metotlar	32
3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması	32
3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.....	32
3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi.....	34
3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi	35
4. DENEYSEL BULGULAR	37
4.1. Özütlerin % Verimleri	37
4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri	37
4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi.....	37
4.2.2. Özütlerin minimum inhibisyon konsantrasyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri	41
4.3. Antioksidan Sonuçları	42
4.3.1. DPPH radikalini süpürücü etki	42
4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini.....	43
4.4. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	67

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve özellikleri.....	17
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan <i>S. australis</i> bitkisinin özüt verimliliği	37
Çizelge 4.2. <i>S. australis</i> metanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları	38
Çizelge 4.3. <i>S. australis</i> etanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları	39
Çizelge 4.4. <i>S. australis</i> 'in etanol ve metanol özütlerinin MİK değerleri (mg/ml).....	41
Çizelge 4.5. <i>S. australis</i> 'in etanol ve metanol özütlerinin MBK değerleri (mg/ml).....	41
Çizelge 4.6. <i>S. australis</i> özütlerinin IC ₅₀ değerleri (µg/ml).....	43
Çizelge 4.7. <i>S. australis</i> özütünün GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (µg GAE/mg özüt)	44

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Bazı flavonoid bileşiklerin iskelet yapıları	9
Şekil 2.2. Apiaceae familyasına ait çiçek ve meyve görünümü	13
Şekil 2.3. Serbest radikallerin hücreye etkileri	16
Şekil 2.4. Reaktif oksijen türlerinin zararı	17
Şekil 2.5. Antioksidanların hücredeki etkileri	19
Şekil 4.1. Özüt ve standardın, DPPH süpürücü aktivitelerinin IC ₅₀ değerleri (µg/ml)...	43
Şekil 4.2. Bitki özütlerinin fenolik içerik miktarları (µg GAE/mg özüt)	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Scandix australis</i> L.	15
Resim 4.1. Özütlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları	40
Resim 4.2. Plazmit DNA'nın <i>S.australis</i> özütünün ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.	45
Resim 4.3. Plazmit DNA'nın <i>S.australis</i> özütünün ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.	45
Resim 4.4. Plazmit DNA'nın <i>S.australis</i> özütünün ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

g	Gram
mbar	Milibar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

Açıklama

BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anizol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Tolüen
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
DPPH	Difenilpikrilhidrazil
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MİK	Minumum İnhibisyon Konsantrasyon
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TAE	Tris Asetat EDTA

1. GİRİŞ

Bitkiler diğer canlıların yaşayabilmesi için oksijen ve besin gibi temel ihtiyaç maddelerini üretmelerinin yanı sıra yeryüzündeki sıcaklık kontrolünün sağlanması, atmosferdeki gaz dengelerinin korunması gibi tüm canlılar için önemli hayati olaylarda rol oynarlar.

İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır [1]. Bu konuda ilk yazılı belge M.Ö. 3000 yıllarına ait Ninova tabletleridir. Bu tabletler, Mezopotamya'da kurulan Sümer, Akat, Asur medeniyetlerinde bitkisel ve hayvansal ilaçlarla tedavilerin mevcut olduğunu göstermektedir. İslam uygarlığı döneminde, yirmiye yakın şifalı bitkiden bahseden ve bir kopyası Orhan Gazi kütüphanesi'nde bulunan "Kitab-al Saydalafi al Tıp" adlı kitabın yazarı Ebu Reyhan'dır. 1650'li yıllara kadar referans kitap olarak kabul edilen 800 hayvansal ve bitkisel tedaviden bahseden "Kanun fit-Tıb" ve "Şifa" adlı eserleri yazan tarihteki en büyük islam alimi İbn-i Sina (980-1037) ve Al Gafini de bitkisel tedavi konusunda önemli eserlere imza atmışlardır [2].

Türkiye ise yüzyıllar boyunca çeşitli medeniyetlere ev sahipliği yapmasından dolayı zengin bir kültüre ve kendine özgü bir halk tababetine sahip olmuştur. Türkiye mevcut bitkisel çeşitlilik yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Bunun nedenleri arasında ise üç fitocoğrafik (Akdeniz, İran-Turan ve Avrupa-Sibirya) bölgenin kesiştiği bir ülke olması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun buradan kökenlenmesi ve farklılaşım merkezinin Anadolu olmasından kaynaklanmaktadır [3-5].

Türkiye, 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir floraya sahiptir [6, 7]. Bu taksonların 234'ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir [8, 9]. Endemik türler bakımından da yurdumuz oldukça zengindir. Ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt tür ve 390 varyete de ilave edildiğinde toplam takson sayısı 3750'den fazla bir rakama ulaşmaktadır [7].

Bitkilerde primer ve sekonder bileşikler bulunur. Bunlar insan ve hayvan beslenmesinin yanında canlılara başka katkılar da sağlar. Fitonsidler bitkiler tarafından sentezlenen, mikroorganizmaları öldüren veya gelişmelerini engelleyen maddelerdir. Bitki dokularının zedelenmeleri sırasında veya herhangi bir enfeksiyon halinde, hücrelerde bulunan ve inaktif olan ana bileşiklerden enzimatik yollarla meydana gelmektedir [10].

Son yıllarda antibiyotiklerin aşırı kullanımı pek çok mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına neden olmuştur. Antibiyotik direncinin küresel bir sorun haline gelmesi yeni antibiyotiklere olan ihtiyacı artırmıştır. Yeni antibiyotiklerin araştırılması ise farklı kaynaklarda bulunan antimikrobiyal maddelerin değişik mikroorganizmalar üzerinde denenmesiyle gerçekleştirilmektedir [11].

Birçok bitki türünde antibiyotik özellik taşıyan maddeler saptanmıştır. Cruciferae familyasından *Raphanus sativus* tohumları rafanin adı verilen bir çeşit antibiyotik bulundurur. Bu antibiyotik *E. coli* ile *Salmonella* türlerine karşı etkilidir. Liliaceae familyasından *Allium cepa* ve *A. sativum* da antibiyotik nitelikte maddeler taşıyan bitkilere örnek olarak verilebilir. *A. cepa* dan elde edilen antibiyotik kateşol yapısındadır. Gram Pozitif bakteriler ile brusella türlerine karşı etki gösterir [12].

Bitkisel ilaçların daha etkili, daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlarla birlikte kullanımları tedavide tamamlayıcı rol oynamalarına imkan sağlamaktadır. Tek başlarına ise deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistem enfeksiyonlarında iyileştirici olarak kullanılmaları bitkiler ile yapılan çalışmaların artışını gündeme getirmektedir. Antibakteriyel aktiviteye sahip bitkiler, tedavi edici etkilerini bakteri kaynaklı insan, hayvan ve bitki hastalıklarında etkili bir biçimde gösterebilecekleri çeşitli çalışmalar ile bildirilmiştir [13].

Kanser başlangıcında, radyasyon, tetraklorodibenzodioksin, metil benzen, naftalin ve aroklor gibi bazı kimyasallar ve antioksidan maddelerin yetersiz kullanımı tümör başlatıcı, geliştirici yada ilerletici etki oluşturmaktadır. Yeterli düzeyde ve devamlı bitkisel antioksidan (karotenoid, vitamin C, folik asit, retinol) tüketimi oksidatif stresin DNA' da hasar oluşturmasını engellerken, aynı zamanda gelişmiş hasarlı hücrelerin büyümelerini, tümoral yapı kazanmalarını ve metastazını da engellemektedir. Kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlardan özellikle beklenen diğer bir durum ise hasarlı olmayan doku ve

hücrelerin korunmasıdır. Bu etkiye neden olan ajanların başında ise meyvelerde bulunan antioksidanlar gelmektedir. Bitkiler, önemli doğal antioksidan kaynağı olup 8000 kadar farklı yapıdaki bitki fenolikleri literatürlerde bulunmaktadır [14].

Antikanser ilaçların büyük bir kısmı DNA'ya bağlanarak antitümör etki gösterirler. Bu bağlanma DNA replikasyonu ve transkripsiyonunu hedef alması için tasarlanır. İlaç bağlanmaları tek ve çift iplikte kırılmalarla DNA'nın yapı ve şeklinde değişikliklere neden olarak DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonuna engel olur. Böylece kanserli hücrelerde DNA eşlenmesi ya da gen ifadesi engellenerek tümör hücrelerinin büyümesi önlenir [15].

Bu tez çalışmasında *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin biyolojik aktivitesini araştırmak amaçlanmıştır. Bunun için bitkinin metanol, etanol ve su özütlerinin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterilerine ve *Candida tropicalis* NRRL Y-1296, *Candida krusei* ATCC 62586, *Candida albicans* ATCC 1021 mayalarına karşı antimikrobiyal etkileri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemi ile çalışılmıştır. Antioksidan etkileri ise 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali süpürücü aktivitesi ve Folin-Ciocalteu reaktifli fenolik içerik tayini yöntemleriyle araştırılmıştır. Özütün DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tıbbi Bitkiler

Tıbbi bitkiler yüzyıllardır aktif biyomoleküllerin önemli bir kaynağını oluşturmakta ve drog olarak kullanılan kısımları (yaprak, çiçek, tohum, kök, kabuk vs.) içlerindeki etkili bileşikler nedeniyle hastalıkları iyileştirmektedir [16]. Bu yüzden bitkiler çeşitli hastalıkların, enteritlerin tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanılmıştır [17, 18].

Tıbbi nitelikli bitkilere güvenli ilaçlar gözüyle bakılmakta, özellikle kırsal bölgelerdeki insanların %70'ten daha fazlası geleneksel tıp sistemi içerisinde bu bitkilerden öncelikli kaynak olarak faydalanmaktadır [19].

Bitkilerde büyüme, gelişme ve üreme gibi hayati olayların düzenlenmesi için gerekli karbonhidrat, lipid, hormon gibi maddeler birincil metabolitlerdir. Birincil metabolitlerden sentezlenerek ikincil metabolitler oluşur. Bu gruba örnek olan flavonoidlerin anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve anti-allerjik özellikleri yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur [20].

İlaç sanayinde kullanılan önemli bitkisel kökenli kimyasal maddelere, digoksin (kardiyonik), digitoksin (kardiyovasküler), efedrin (bronşaçıcı), kinin, kinidin (sıtma tedavisi), vinkristin, vinblastin (lösemi tedavisi) gibi bazı örnekler verilebilir. Thaumatin, safran, gingeroller, geraniol ve nerol gibi bileşikler tatlandırıcı, koku verici ve koruyucu olarak besin ve gıda sanayinde kullanılan bitkisel kökenli maddelerdir. Gül yağı, lavanta yağı, yasemin yağından parfümeri ve kozmetikte; nikotin, anakardik asit, piretrin, sinerin ve yasmolinden ise zirai mücadelede yararlanılır [21].

Geleneksel halk hekimliğinde kullanılan bitkiler bilimsel bir süzgeçten geçirilerek yeniden değerlendirilmiş ve fitoterapi bilimi gelişmiştir. Dünya Sağlık Örgütü verileri ile gelişmekte olan ülkelerde insanların %80'inin bu terapi yöntemlerini kullandığı ve 3,3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden terapi aracı olarak yararlandığı belirtilmiştir. Avrupa'da; Macaristan, Polonya, İspanya, Asya'da; Çin, Hindistan, Güney Amerika'da; Arjantin tıbbi bitkilerin geniş ölçekli tarımının yapıldığı başlıca ülkeler arasındadır [22].

Ülkemizde ticari değeri olan tıbbi bitkiler Asteraceae (Compositae), Lamiaceae (Labiatae), Apiaceae (Umbelliferae), Solanaceae, Lauraceae, Fabaceae (Leguminosae), Rutaceae ve Ranunculaceae familyalarına aittir. Tıbbi ve aromatik bitkiler açısından en zengin olan familyalar ise Asteraceae (Compositae), Apiaceae (Umbelliferae) ve Lamiaceae (Labiatae)'dir [23].

Apiaceae familyasına ait türlerin tıbbi kullanımına; *Ammi majus* L. (ağız ve diş eti ağrısı giderici), *Eryngium* L. (öksürük kesici, diüretik uyarıcı, iştah açıcı, şeker kontrolü), *Coriandrum sativum* L. (iştah açıcı, hazmettirici), *Foeniculum vulgare* Mili. (midevi, gaz söktürücü, süt artırıcı), *Ferula eleaocytris* Kor. (kısırlık) gibi türler örnek olarak verilebilir. [24].

2.2. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler

Droglarda bulunan kimyasal maddeler, bitkilerin birincil ve ikincil metabolizma ürünleridir. Birincil metabolitler bitkilerin temel yapı ve besin depo maddeleri olan; karbonhidratlar, yağlar ve proteinlerdir [25].

Birincil metabolitler yüksek bitkilerin tohum ile vejetatif dokularında oldukça fazladır ve hücre metabolizmasındaki temel görevlerinden dolayı, bitkinin fizyolojik gelişimi için gereklidirler [26]. İkincil metabolitler ise birincil metabolitlerden biyosentetik yolla üretilmiştir. İkincil metabolitlerin genelde tozlaşma, çevresel koşullara uyum, mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere karşı kimyasal savunma gibi rollere sahip oldukları düşünülmektedir [27]. Bitkilerin yapılarında bulunan bazı ikincil metabolitler bir bitki cinsine veya bazen tek bir bitki türüne özgü olabilirken, diğer bitkiler tarafından üretilmeyebilirler [28, 29].

İkincil metabolitlerin bitki bünyesindeki işlevlerinin oldukça karmaşık olması, araştırmacıların bu bileşikler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu alanda yapılan çalışmalar, hem bu bileşiklerin elde etme yöntemlerinin geliştirilmesine, hem de etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik olarak sürdürülmektedir. Özellikle ikincil metabolitler içinde yer alan fenolik bileşikler ile tokoferollerin, insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin belirlenmesi ile bu yönde yapılan çalışmaların son yıllarda büyük bir önem kazandığı görülmektedir [21]. Diyabetik farelere tropikal tokoferol uygulaması ile

yara iyileşmesinde önemli düzelmeler gerçekleştirdiğini [30], melanom ve melanom dışı deri kanserlerinde tokoferolün melanom gelişimini, tümör hücre apoptozisini ve VEGF-a aracılığıyla anjiyogenezi inhibe ederek yavaşlattığını ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır [31].

Bitkilerde bulunan ve aktivite gösteren bazı bileşikler; fenolik bileşikler, uçucu yağlar ve alkaloidlerdir.

2.2.1. Fenolikler ve polifenoller

Fenolik bileşikler; bitkilerde doğal olarak bulunan ve antioksidan özellik gösteren önemli ikincil metabolitlerdir. Çoğunlukla suda çözünür ve aromatik zincir halkasına bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubu içerirler. Büyük kısmı basit fenolik bileşiklerin polimerleşmesi ile oluşan geniş bir gruptur [32].

Basit bioaktif fitokimyasallar bazı fenolik halkalar içerirler. Sinnamik ve kafeik asit yüksek oksidasyon etkisi olan bileşenlerden türetilmiş fenil prapon grubu içerisinde yer alırlar. Fenol gruplarında yer alan hidroksil gurubunun sayısı bileşiğin mikroorganizmalara olan toksik etkisi ile ilişkilidir. Bu konu ile ilgili çalışmalar ile hidroksil gurubu fazla olan fenol bileşenin toksitesinin arttığı gözlenmiştir [33].

Polifenolik bileşikler, serbest radikal zincirlerini süpüren ve redoks aktif metal iyonlarını şelatlayarak lipit peroksidasyonunu engelleyen bileşiklerdir. Güçlü antioksidan olan fenolik bileşikler etkilerini arttırıp bitkilerde; kuraklık, tuzluluk, UV ışınları gibi değişik çevre faktörlerinin oluşturduğu strese, herbivorlara ve mikroorganizmalara karşı savunma oluştururlar [34].

Fenolik bileşikler temel fenolik asitler ve flavonoidler olarak ikiye ayrılır:

Fenolik asitler

Fenolik asitler, kimyasal yönden hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu bileşiklerden hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan, hidroksisinamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısındadır. Hidroksibenzoik asit

türevlerine örnek olarak; p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit ve gallik asit verilebilir. Kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve o-kumarik asit ise önemli hidroksisünamik asit türevleridir [35, 36].

Fenolik asitler enzimsel aktivitelerin kontrolü, kanserojen etkiye sahip nitrozaminlerin oluşmasının engellenmesi ve kan lipid düzeyi dengesizliklerinin giderilmesinde aktif rol oynar. Acı biberde bulunan ve bilinen en acı bileşiklerden biri olan kapsaisinin de fenolik asit gibi nitrozamin oluşumunu baskıladığı bildirilmiştir. Başlıca fenolik asit bulunduran meyve ve sebzeler; fındık, ceviz gibi kabuklu yemişler, havuç, kiraz, vişne, elma, çilek, frambuaz, brokoli, portakal, domates ve kepekli tahıllardır [4].

Flavonoidler

Polifenolik bileşiklerden olan flavonoidler, özellikle Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Umbelliferae, Compositae gibi familyalarda yaygın olarak bulunan genellikle sarı, kırmızı, mavi renkli pigmentler olarak bilinirler. Genellikle yaprak, çiçek ve tomurcuklarda bulunur. Flavonoidlerin bitkide oksidasyon-redüksiyon olaylarına katıldığı ve büyümede rol oynadıkları bilinmektedir [37, 38].

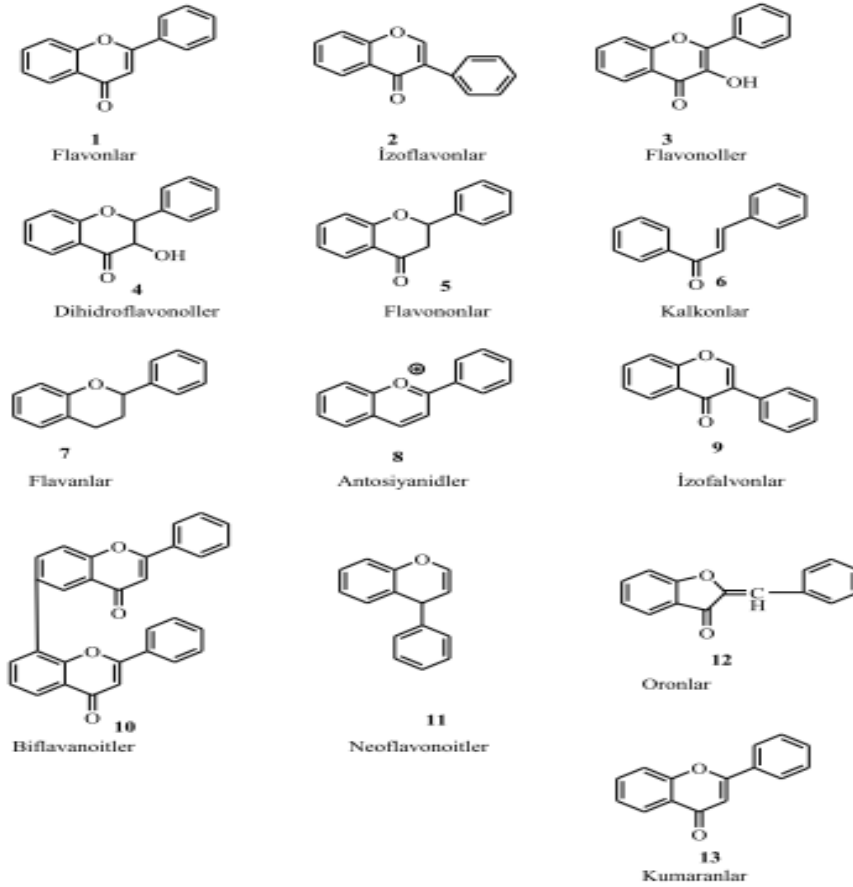
Flavonoidler, bitkilerde özellikle çiçeklerde renklenmeyi sağlayan ikincil bileşiklerdir [37]. Çeşitli flavonoidlerin polar oksin taşınmasını negatif yönde etkilediği, ayrıca *Arabidopsis* polenlerinde yapılan çalışmalarda polen çimlenmesini artırıcı etkiye sahip oldukları kanıtlanmıştır. Bunlara ilave olarak flavonoidlerin mikroorganizma ve böcek saldırılarına karşı koruyucu etkiye sahip oldukları da belirtilmiştir [38].

Flavonoidler hidroksillenmiş fenil bileşenleri içermeleri ve C6-C3 ünitelerine bağlı olarak aromatik halka biçiminde olmaları sayesinde bitkilerde meydana gelen mikrobiyal aktiviteye cevap oluşturabilen bileşiklerdir. Böylece *in-vitro* şartlarda da geniş bir spektrumdaki mikroorganizmalara karşı etki gösterirler. Flavonoidlerin ayrıca çok sayıda virüs türüne karşı da etkili olduğu bildirilmiştir [26]. Bazı flavonoid bileşiklerin iskelet yapıları Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Flavonoidler serbest radikal süpürücü olmaları, enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre bölünmelerini inhibe etmeleri, antibiyotik, antiallerjen, antidiyareik, antiülser

antiinflamatuvar ve antitrombotik etkileri sayesinde araştırmacıların ilgisini çekmektedir [39].

Canlı tarafından oluşturulan; Glutasyon S-Transferaz; katalaz gibi enzimsel olan veya melatonin, miyoglobin gibi enzimsel olmayan antioksidanlara endojen antioksidan denir. Çeşitli çalışmalarla flavonoidlerin oksidatif DNA hasarını serbest radikal süpürücü mekanizmalar ve endojen antioksidanları koruyarak önlediğini belirtilmektedir. Flavonoidlerin çoğu bir endojen antioksidan olan glutasyon-S transferazı (GST) aktiveştirme yeteneğine sahiptir. Kuersetin, mirisetin ve fisetin gibi flavonoidler anlamlı derecede GST aktivitesini arttırır. GST zehir etkili, mutajen ve çoğunlukla elektrofilik olan ksenobiyotikleri enzim vasıtası ile etkisiz hale getirir. Böylece, GST aktivitesini arttıran bileşiklerin, oksidatif stresi azaltıp ksenobiyotiklerin mutajenik etkilerini önledikleri söylenebilmektedir [40].



Şekil 2.2. Bazı flavonoid bileşiklerin iskelet yapıları [41]

2.2.2. Uçucu yağlar

Farmakolojik etkilere sahip bileşiklere 'etken madde' adı verilir [16]. Bu maddelerden biri olan uçucu yağlar, esas itibariyle terpenlerden oluşan karışımlardır. Oda sıcaklığında sıvı, bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsıdırlar [12]. Su buharı ile sürüklenir, suda çözünmez, organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Özellikle çiçek ve meyvelerde bulunmakla beraber bitkinin diğer organlarından da elde edilebilir. Uçuya yağ eldesinde su buharı distilasyonu veya organik çözücüler ile ayırıştırma yöntemleri kullanılır [42].

Uçucu yağlar bitkinin tüm organlarında, taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi kısımlarında yada bir organın belirli dokularında bulunabilir. Uçucu yağlar bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunabilir [43].

Uçucu yağlar suda az çözünürken etanol, benzen, eter, petrol eteri gibi organik çözücülerde ve sabit yağlarda daha çok çözünebilir. Sulu etanolde çözünebilme uçucu yağları sabit yağlardan ayıran özelliklerden biridir. Belli derecelerdeki etanolde çözünürlük oranı ise uçucu yağların saflık kontrolünde yararlanılan özelliklerindedir. Yağların hacimce hangi miktarda sulu etanolde homojen olarak çözüldüğü farmakopelerde belirtilmiştir. Karanfil, tarçın esansları hariç sudan hafiftirler. Suda fazla çözünmedikleri için suyun yüzeyinde toplanırlar. Ancak bileşimlerindeki oksijenli bileşiklerin bir kısmı suda çözünür. Bu özelliklerine dayanılarak aromatik sular hazırlanabilmektedir [44].

Bilindiği gibi uçucu yağların, uçuculuk, hidrofobiklik, solunum sistemine etki gösterme ve çeşitli kokulara sahip olma gibi özellikleri vardır. Uçucu yağların en çok antimikrobiyal etkiye sahip olmaları rapor edilmiştir [45].

Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşiğin bulunduğu belirtilmiştir. Bunların en önemlileri terpenler, fenil propanlar vs. dir. Ayrıca su buharında uçucu özellik gösteren azot ve kükürt içeren bileşikler de bulunmaktadır. Bu bileşiklerin fizyolojik etkileri, bazen tek tek bazen de karışım halinde terapi amaçlı kullanılmalarını sağlamıştır [43].

Uçucu yağlar, bitkilerin özellikle çiçek ve meyvelerinde bulunsa da diğer organlarında da (yaprak, tohum, kök, kabuk, odun) bulunabilirler. Apiaceae familyasının ise meyvelerinde sadece perikarpta uçucu yağların bulunduğu belirtilmiştir [46].

2.2.3. Alkoloidler

Alkoloidler heterosiklik nitrojen içeren bileşiklerdir ve bitkinin kök, kabuk, meyve, yaprak gibi kısımlarında toplanmıştır. Alkoloidler bitkide özellikle bazı inorganik asitlerin (H_2SO_4 , H_3PO_4) veya organik asitlerin (laktik asit, malik asit) tuzları halinde ya da akonitik asit, mekanik asit gibi özel asitlerin içerisinde bulunabilir. 1805 yılında *Papaver somniferum* L.'dan izole edilen morfin, tıbbi anlamda kullanılan ilk alkoloiddir. Yapılan araştırmalar alkoloid ve türevlerinin antimikrobiyal etkilerini ortaya çıkarmıştır. *Solanum khasianum* L.'dan izole edilen solamarjin glikoalkoloidinin HIV enfeksiyonuna karşı kullanılabileceği belirtilmiştir [26].

Alkoloidlerin *Giardia* ve *Entamoeba* gibi protozoa türlerine karşı aktif olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır [26]. Ayrıca *Boophone disticha* (L.f) Herb. etanol özütünden elde edilen bufanidrin ve distikamin alkaloidleri *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *B. subtilis*'a karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirtilmiştir [47]. Berberin ve harman alkoloid aktivitesi ise mikroorganizmanın DNA molekülüne interkalasyonu ile ilgili olduğu anlaşılmıştır [26].

Compositae, Leguminose, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Apocynaceae ve Solanaceae familyalar alkaloid içeriği açısından zengindir [25]. Bu çalışmada kullanılan *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell türü Apiaceae (Umbelliferae) familyasına aittir.

2.3. Apiaceae Familyası Genel Özellikleri

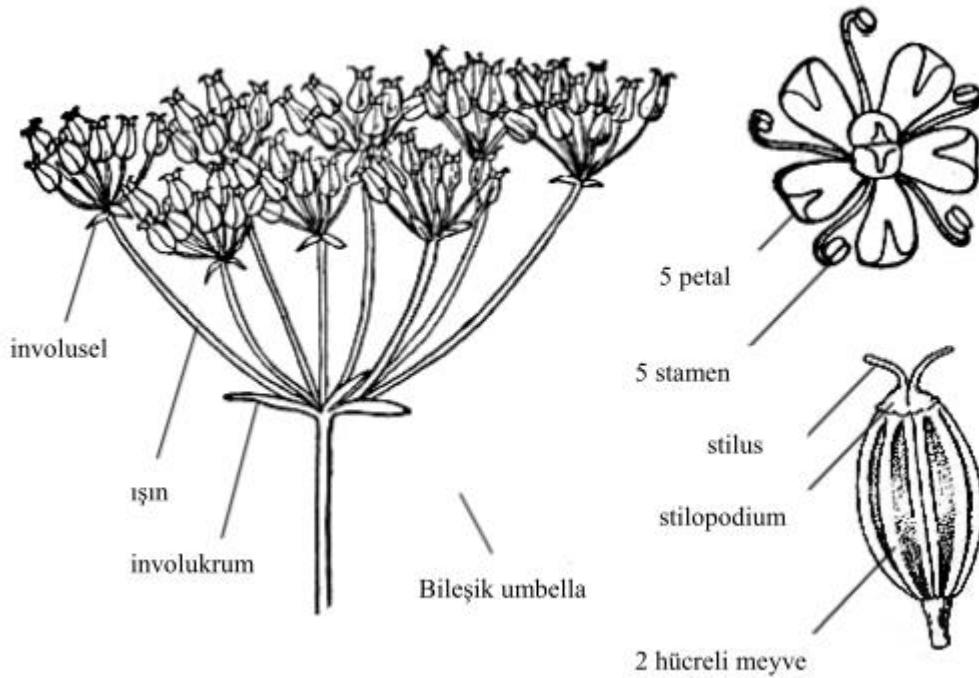
Apiaceae familyası ilk olarak 16. yüzyılda tipik çiçeklenme şekli ile dikkati çekmiştir. Ancak bu familyanın insanlık tarihindeki etkisi, bu tarihten çok eskilere dayanmaktadır. Öyle ki, eski Roma ve Çin'de Apiaceae familyasına ait farklı droglar (parçalar, kuru kısımlar) kullanılmış ve bu ülke kültürlerinin gelişiminde etkili olmuştur [48]. Karakteristik şemsiye (umbel) tipindeki çiçek durumu ve olgunlaştığında ortadan ikiye

bölünen meyvesi (şizokarp) ile doğada çok kolay tanınabilen Apiaceae familyası çok geniş yayılışa sahiptir. Tek, iki veya çok yıllık çalimsı bitkilerdir [49]. Apiaceae familyası Türkiye’de 102 cins ve 451 türle temsil edilir [9]. Bu cinslerden 53’ünde sadece 1 tür vardır. Aynı zamanda 3 endemik cins ve 42 cinse ait 140 endemik tür bulundurur [50]. Türkiye’deki 451 türün 159’u endemiktir. Familya endemizm oranı yaklaşık %33’tür [51].

Apiaceae familyası üyeleri genellikle internodları dolu ve kuvvetli gövdeye sahip otsu bitkilerdir. Bitkiler sukulent ya da değildir. Yapraklar tabanda rozet şeklinde; gövdede almaçlı dizilmiş olup tabanda yaprak kını bulunur. Yapraklar basit, bileşik yada bazen kalkansıdır (peltat). Yaprak kenarı düz, parçalı yada dikenli olabilir. Stipul bulunmaz; yaprak büyüklüğü değişken olabilir. Pinnat, palmat ya da paralel damarlanmalar görülebilir. Genellikle birleşik umbel yada basit umbel görülür. Çiçek durumunda ya brakte yoktur ya da 3 brakte vardır. Çiçekler genellikle küçük brakteole sahiptir. Bitkiler genellikle hermafrodittir. Kaliks indirgenmiştir. İndirgenmemiş ise serbest ya da birleşik iken kesinlikle kaliks tüpü oluşturmaz, sepaller ise çok küçüktür. Serbest korollaya sahiptir. Stamenler perianttan bağımsız, sepallerle karşılıklı dizilir. Ovaryum alt durumludur. Stilusler geniş bir taban ile stilopodyumu oluşturmuştur. Plesantasyon aksillar ya da apikaldır. Her bölmede 1 veya 2 ovül bulunur. Meyve kurudur. Her merikarp 1 tohumludur [50, 52]. Apiaceae familyasına ait çiçek ve meyve görüntüsü Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Sırtlar arasında yağ taşıyan vittae adı verilen kanallar bulunur. Distilasyon öncesi bu kanalların dövülmek suretiyle parçalanması yağ verimini artırır [53].

Apiaceae familyasındaki bitkiler genellikle kendilerine has bir kokuya sahiptir, buna neden taşıdıkları uçucu yağ, reçine, zank veya müsilaj karışımlarıdır. Bu karışımlar bitkinin özellikle meyve, petiol, gövde, yaprak ve köklerinde yer alan salgı kanallarında bulunur. Apiaceae familyasında *Conium maculatum* L. ve *Aethusa cynapium* L. gibi pek çok zehirli tür bulunurken, *Petroselinium crispum* (Miller) A.W.Hill., *Daucus carota* L., *Apium graveolens* Linn., *Pastinaca sativa* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Pimpinella anisum* L., *Anethum graveolens* L., *Coriandrum sativum* L. ve *Carum carvi* L. gibi türleri sebze, şifalı bitki ve baharat olarak değerlendirilir. *Dorema ammoniacum* D. Don. ve *Aegopodium podagraria* L. gibi bazı türler de uzun süre şifalı bitki olarak kullanılmıştır. *Eryngium maritimum* L. ise afrodisyak ve iştah açıcı özellikleri nedeniyle korumaya alınmış tıbbi bir bitkidir [54].

Apiaceae familyası üyeleri dünyada ekonomik öneme sahip bitki gruplarındandır. Özellikle besin kaynağı ve hayvan yemi olarak kullanılır. Park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan türleri mevcuttur. İçerdikleri alkaloidler ve reçineler nedeniyle tıpta (özellikle bağırsak rahatsızlıkları) ve kozmetikte yaygın kullanım alanlarına sahiptir. Doğal kaynakların gitgide tükenmesi ve bu denli ekonomik öneme sahip olmaları sebebiyle gelecekte Apiaceae familyası üyelerine daha fazla ihtiyaç duyulabilir [54].



Şekil 2.3. Apiaceae familyasına ait çiçek ve meyve görünümü [55]

2.4. *Scandix* cinsi

Çalışmada kullanılan bitki *Scandix* cinsine ait *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell alttürüdür. Bu türe ait sistematik bilgisi ve botanik özellikleri şu şekildedir.

2.5. *Scandix australis* L.

Sistematikteki yeri

Alem : Plantae

Bölüm : Magnoliophyta

Sınıf : Dicotyledones

Takım : Apiales
Familiya : Apiaceae
Cins : *Scandix*
Tür : *Scandix australis* L.
Alttür : *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell

Bitkinin tüysüz olanından uzun beyaz tüylü olanına kadar çeşitleri mevcuttur. 5-20 (-40) cm. Alt yapraklar dikdörtgen-oval, 1-2 tüysü yaprağı mevcuttur, 2,5-9(-13) x 0,75-2 cm, nihai loblar doğrusal, 1-3 x 1 mm'ye kadar. Üst yapraklar daha geniş ve uzun lobludur (-1,5 cm). Bir çoğu, ok uzunluğu 2-5 arasında değişen ikinci şemsiye şeklinde çiçeğe sahiptir. Brakteoller 3-5 elips-oval, tepe veya dişli, kenarları zarsı, genellikle refleksi 2-4 x 1,5-2 mm. Sapçıkları aşağı yukarı 3-16 en fazla 4 mm. En üst umbeller genellikle çok çiçekli ve kısır. Dış taç yaprakları genellikle parlak obovat (geniş ucu yukarıya doğru olan), 2,5-7 x 1-3 mm. Meyvesi tüysüz, sporsuz veya çok dikenli, genellikle kanca biçiminde, 1,5-4 cm x 1-1,5 mm, ağzı 1,3 x verimli kısım kesin olarak ayrılmış değildir, nadiren sıkıştırılmıştır. Ana meyve genellikle sapsız, tüysüz olanından yoğun tüylü olanına kadar değişik çeşitleri vardır, tohumları kendi kendine açılmaz dış meyvelerden daha kısa ve geniştir [52]. Resim 2.1 de *S. australis*'e ait herbaryum örneği görülmektedir.

S. australis L. bitkisi Türkiye Bitkileri Listesi kitabında “Kışkış” olarak Türkçe isimlendirilmiştir [56]. Bitkinin biyolojik aktivitesi ile daha önce yapılmış çalışma bulunmamaktadır.



Resim 2.1. *Scandix australis* L. [57]

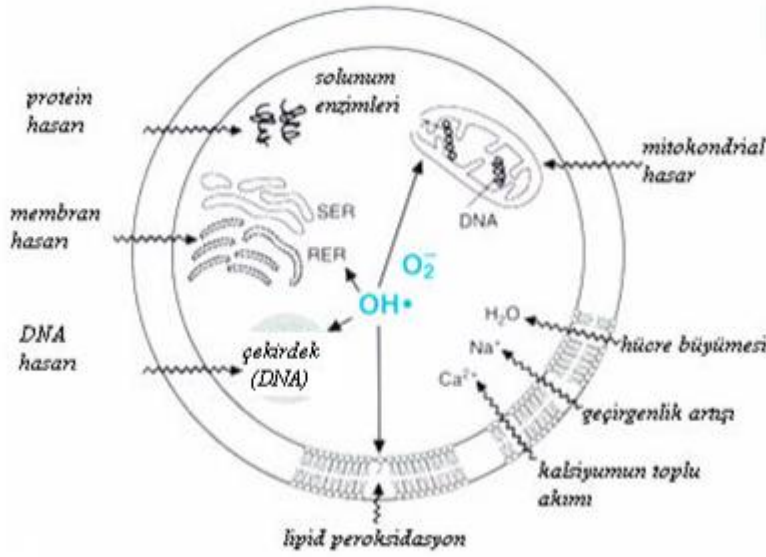
2.6. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi

Bitkilerin biyolojik aktivitesi sahip oldukları metabolitlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde belirlenir.

2.6.1. Antioksidan aktivite

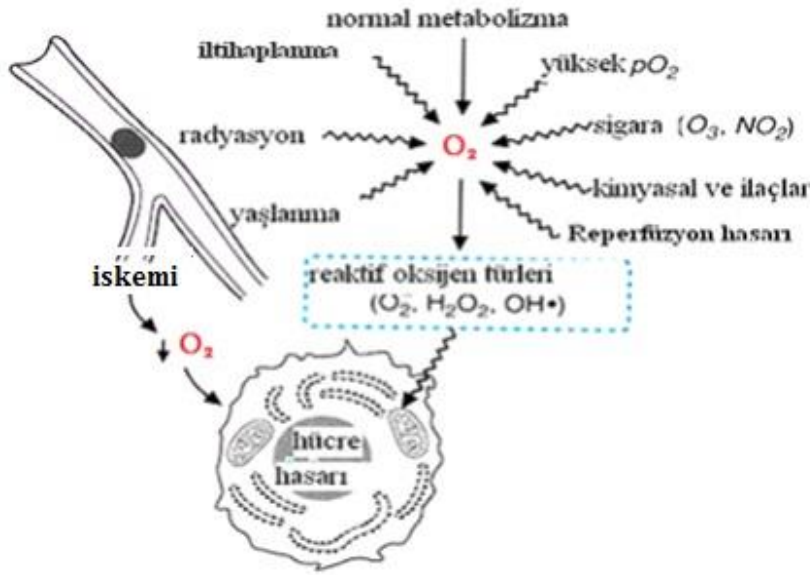
Bitkiler güneş enerjisini kullanarak ATP sentezlerken memeliler ise redükte molekülleri birçok biyokimyasal basamak sonucunda CO_2 ve H_2O 'ya indirgeyerek, enerjiyi kullanılabilir ve depo edilebilir fosfat bileşiklerine çevirebilmektedir. Bu indirgenme-yükseltgenme olayları redoks tepkimeleri olup; okside edilebilir moleküllerden oksijene elektronların transferini içermektedir. Bir maddenin elektronlarını kaybetmesine oksidasyon, elektron almasına ise redüksiyon adı verilmektedir. Redoks tepkimeleri sadece elektronların transferi ile değil; aynı zamanda kovalent bağlarda elektron yörüngelerinin değişmesi ile de meydana gelmektedir. Okside olmuş ajanlar ise hayli elektrofilik oldukları için, diğer moleküllerden elektron alabilmekte ve bunun sonucunda serbest radikalleri meydana getirmektedir [58].

Hayvan ve bitkilerde serbest radikaller aerobik metabolizma esnasında üretilir. Oluşan serbest radikaller memeli hayvanlar ve bitkilerde lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile hücrelerin ölümüne neden olabilir. Ayrıca insanlarda oksidatif strese bağlı olarak alzheimer, parkinson, romatoid artrit, diabetes mellitus gibi rahatsızlıkların oluşabileceği de bilinmektedir. Yaşlanmaya da, serbest radikallerin çok fazla birikerek veya hücrenin tamir yeteneğini bozarak neden olduğu ileri sürülmektedir. Serbest radikallerin hücreye etkileri Şekil 2.3'te gösterilmiştir [59].



Şekil 2.4. Serbest radikallerin hücreye etkileri [60]

Serbest radikal oluşturan kaynaklar; radyasyon, virüsler, UV ışınları, X-ışınları, ozon, kozmik ışınlar, fosil kökenli yakıtların oluşturduğu ürünler, sigara dumanı, egzoz gazları, sanayi atıkları, enfeksiyonlar, stres, hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları gibi etkenlerdir [61]. Reaktif oksijen türlerinin zararları Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Reaktif oksijen türlerinin zararları [60]

Biyoloji ve tıpta yaşamsal bir öneme sahip olan radikal tepkimeleri bütün canlılarda sürekli oluşup kaybolmaktadır. Çünkü radikaller, metabolizma faaliyetleri sırasında üretilmektedir. Moleküler oksijen (O_2) de bir serbest radikaldir ve oksijen atomlarının her ikisinde de birer eşlenmemiş elektron içerir [61]. Biyolojik sistemlerde sıklıkla kullanılan ve serbest oksijen radikalleri Çizelge 2.1’de verilmektedir.

Çizelge 2.1. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve özellikleri [62]

Adı	Simge	Etkisi
Hidrojen radikali	$H\cdot$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	$O_2\cdot$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	$OH\cdot$	En toksik oksijen metabolit radikali
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	${}_1O_2$	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksi radikali	$HO_2\cdot$	Lipidlerle hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali	$ROO\cdot$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlerle lokalize olur
Triklorometil radikali	$CCL_3\cdot$	CCL_4 metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	$RS\cdot$	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	$RO\cdot$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	$NO\cdot$	L argininden <i>in vivo</i> üretilir
Azot dioksit	$NO_2\cdot$	$NO\cdot$ 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen moleküllere antioksidan moleküller denir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini önleyen ve genellikle fenolik madde içeren moleküllerdir [63].

Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşikler, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize ederler ve bu sırada zararlı etkileri olan serbest radikallere dönüşmezler [64].

Antioksidanları 6 sınıfta değerlendirmek mümkündür:

1. Serbest radikallerinin aktivitesini azaltan gerçek antioksidanlar (fenolik bileşikler),
2. Hidroperoksitlerin serbest radikallere parçalanmasını önleyen hidroperoksit kararlılığını arttırıcılar (fenolik bileşikler gibi),
3. Gerçek antioksidanların aktivitesini arttıran sinerjistler (sitrik asit, askorbik asit gibi),
4. Ağır metalleri bağlayıp aktivitelerini azaltan metal şelat yapıcılar (fosforik asit ve sitrik asit gibi),
5. Singlet oksijeni triplet oksijene dönüştürenler (karotenler),
6. Radikalik olmayan bir yolla hidroperoksit indirgeyici olarak görev yapan bileşikler (proteinler ve amino asitler gibi) [65].

Antioksidanlar oksidasyonu iki tür etki ile durdurabilirler. Bunlardan birincisi serbest radikal süpürücü etkidir. Bu durumda bileşik “birincil antioksidan” adını alır. İkincisi yol ise doğrudan radikal süpürücü etki içermeyen bir mekanizma ile antioksidan aktivite gerçekleştirir. Metal iyonlarının bağlanması, oksijenin süpürülmesi, hidroperoksitlerin radikal olmayan türlere dönüştürülmesi, UV ışığı absorplama veya singlet oksijenin deaktivasyonu bu duruma örnek olarak verilebilir. Bu şekilde etki gösteren bileşiğe ise “ikincil antioksidan” adı verilir. Birincil antioksidanlara vitamin E gibi fenolik bileşikler örnek verilebilir. Bu gibi bileşikler, gıdaların veya organizmaların serbest radikallerden etkilenme sürecinde tüketilirler. İkincil antioksidanlar ise genelde ortamda başka bir bileşen varsa etki gösterirler. Örneğin, sitrik asit gibi bloke edici maddeler ancak ortamda metal iyonu varsa ve askorbik asit gibi indirgeyici maddeler de ancak ortamda tokoferoller yada diğer birincil antioksidanlar varsa etkinlik göstermektedir [66]. Farklı

antioksidanların Şekil 2.5'te belirtildiği gibi hücrenin farklı bölgelerinde oluşan serbest radikallere etkileri göstermektedirler.



Şekil 2.6. Antioksidanların hücredeki etkileri [60]

Antioksidanlar doğal veya sentetik antioksidanlar olmak üzere iki grupta toplanabilir. Doğal antioksidanlar arasında enzimler (superoksit dismutaz-SOD, katalaz-CAT, glutatyon peroksidaz-GP, glutatyon redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, miyoglobin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β -karoten, A-vitamini, C-vitamini, E-vitamini, tokoferoller, tiyol içerenler, glutatyon peroksidaz, N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubikinon) sayılabilir [67].

Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksidi etkisiz hale getirmek için memelilerde olduğu gibi bitkilerde de önce bir ara ürün olarak katalaz- H_2O_2 bileşiği oluşmakta; ikinci basamak reaksiyonunda ise H_2O ve O_2 meydana gelirken enzim serbestleşmektedir [68]. Böylece enzim etkinliği ile antioksidan etki gerçekleşmektedir.

Süperoksit dismutaz (SOD)

Hücre içi savunma sisteminin enzimatik antioksidanlarından SOD, hayvansal organizmalara benzer olarak bitkilerde $O_2^{\cdot -}$ in H_2O_2 'ye dismutasyonunu gerçekleştirir. Fe-SOD kloroplast stromasında, Mn-SOD mitokondrilerde ve Cu Zn-SOD ise sitoplazma ve kloroplastlarda oluşmaktadır [59].

Bir oksidan olan süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$), H_2O_2 gibi organik birçok bileşikle doğrudan reaktif değildir. Ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Tütün bitkisinin yaşlı yapraklarında SOD ve katalaz enzim aktivitelerinde azalma membran dejenerasyonunun bir işaretidir. Bu enzimlerin aktivitesi ile yapraklardaki lipid peroksidasyonu arasında belirgin bir korelasyon vardır ve enzimlerin yaprağı lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden koruduğu iddia edilmektedir [69].

Glutasyon ve glutasyon peroksidaz (GSHPx)

Tiyol grupları, serbest radikalleri enzimatik yollarla yakalayan hücrel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilen bir tiyol olan glutasyon birçok hücrede yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Biyolojik membranları enzimatik aktivite ile lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır [61].

Vitamin E (α -Tokoferol)

Vitamin E radikal süpürme, zincir kırma, baskılama, onarma, endojen antioksidan savunma kapasitesini artırma ve hücre içi enzim kinaz kayıplarını önleme mekanizmalarının tümünü kullanabilen güçlü bir antioksidan moleküldür [70].

Tokoferoller, hidroksil grubunda bulunan hidrojenlerini, lipid peroksil radikaline vererek antioksidan etki gösterir. α -tokoferolden oluşan bu radikal, geriye kalan tek elektronun aromatik halka yapısı üzerine yerleşmesiyle kararlılık kazanır [66].

Askorbik asit (vitamin C)

Hayvan ve bitki dokularında bulunan önemli antioksidan bileşikler arasında yer alır. Askorbat indirgeyici olarak çalışarak oksidatif hasara karşı koruma sağlar. Ayrıca askorbat birçok reaksiyonda elektron vericisi olarak görev yapar [71].

C Vitamini, peroksinitrit ve diğer serbest radikallerin vücuttan temizlenmesinde olumlu etkiler göstermektedir. Yeni çalışmalar, oksidatif stres ile atriyal fibrilasyonun ve yangısal olguların endotel fonksiyon kayıpları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Miyofibriler proteinlerin oksidatif modifikasyonu teşvik eder, miyofibrillerdeki C vitamini düzeyindeki azalma ise protein biyoyararlanımının artışı ve hücrelere Ca^{+} yüklenmesinde önemli uyarlayıcı mekanizma olarak rol alır. Miyofibrillerdeki oksidatif hasarın hidroksil radikalleri ve peroksinitrit ile miyofibriler kreatin kinaz aktivitesinin uyarılmasıyla ilişkili olduğu rapor edilmektedirler [72].

Kronik inflamasyon olgularında ve lipid peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarda askorbik asit düzeyinde düşüşlerin gerçekleştiği bildirilmiştir. Kroner arter hastalığı olanlarda ve kanserli hastalarda plazma askorbat düzeyinin normalden daha düşük olduğu kaydedilmiştir [73].

Karoten

Karotenler yağda çözünebilen bitkisel pigmentlerin çeşitli renklere (kırmızı, turuncu, sarı) sahip olduğu bir gruptur. İnsan vücudunda önemli rol oynayan karotenler vücutta A vitaminine dönüştürülerek antioksidan etki gösterirler. Bunlar “provitamin A” olarak adlandırılır. Bu karoten grubuna lutein, likopen, zeaksantin örnek verilebilir [74].

Anavatanı Meksika ve Peru olan ve tek yıllık bir bitki olan domates, içeriğindeki likopenden dolayı doğal antioksidan olarak kabul edilmektedir. Likopen, bazı sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten ailesine ait bir pigmenttir. İnsan vücudu likopen üretemez ve bu maddeyi dışarıdan alması gerekir. Karotenler ve prostat kanseri riski arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, likopen olarak adlandırılan bir karotenin bu kanser riskine karşı koruyucu özelliği olduğu açıklanmıştır. Günlük

beslenmesinde yüksek miktarda (6,5 mg/gün veya daha yüksek) likopen alan erkeklerde daha az likopen alanlara göre prostat kanseri riskinin %21 azaldığı gösterilmiştir [75].

2.6.2. Antimikrobiyal aktivite

Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçların yan etkileri ve ayrıca mikroorganizmaların bu antibiyotiklere zamanla oluşturdukları direnç ise göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle alımlarında, etkene ve konağa ait faktörler dikkate alınarak kullanılmalıdır. “Antibiyotikler”, bazı bakteri ve mantarlarca üretilen ve diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyen (bakteriyostatik) veya onları öldüren (bakterisidal) doğal maddelerdir [76].

Penisilinin keşfi ile birlikte antimikrobiyal araştırmalar hız kazanmış ve mikroorganizmalardan streptomisin, aureomisin, kloromisetin gibi sayısız antibiyotikler keşfedilmiştir. Tıbbi olarak kullanılan mikroorganizma kaynaklı bu antibiyotikler genellikle toprak mikroorganizmalarından ve funguslardan üretilmektedir. Doğal antibiyotiklerin üretildiği mikroorganizmalar çoğunlukla *Actinomycetes* (*Streptomyces* spp.) ve *Penicillium* türlerinden oluşmaktadır. Biyoaktif mikrobiyal ürünlerin araştırılması yıldan yıla devamlılık arz etmektedir ve bitki temelli antimikrobiyal bileşenler (fitokimyasallar), nicelik olarak gösterdikleri tedavi potansiyeli ile zengin bir alternatif sunmaktadırlar [77]. Bizim çalışmada kullandığımız antimikrobiyal aktivite yöntemleri ise agar kuyucuk difüzyon ve minimal inhibitör konsantrasyon yöntemleridir.

Seyreltme yöntemleri ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK)

Birden fazla konsantrasyonda denenilen antimikrobiyal özellik gösteren maddenin mikrobiyal gelişimi tamamen yok ettiği yada engellediği en düşük konsantrasyon MİK olarak tanımlanmaktadır. MİK belirlemek için sıvı ya da katı agar besi ortamında antimikrobiyal seyreltmelerin hazırlanması sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır [78]. Bir antimikrobiyalın MİK değeri mikroorganizma, inkübasyon sıcaklığı ve inokulum miktarı gibi faktörlere bağlı olmaktadır [79].

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Agar kuyucuk difüzyon yönteminde denenen mikroorganizma ile inokule edilmiş katı agar üzerinde oluşturulan havuzcuk/kuyuya homojen olarak antimikrobiyal madde eklenmektedir. Agar üzerinde açılan kuyucuk içindeki antimikrobiyalın difüzlenebilme etkisine bağlı olarak kuyucuk etrafında inhibisyon zonları oluşmakta, bu zonların çapları ölçülerek antimikrobiyal etki hakkında bilgi edinilmektedir [80]. Kuyucuklara koyulan maddenin farklı konsantrasyonlardaki aktivitesi sonucu oluşan inhibisyon zon çaplarında konsantrasyon ile orantılı olarak artma ya da azalma beklenmektedir [81].

Inhibisyon zonunun büyüklüğü etken maddenin çözünürlüğüne ve difüzlenebilme yeteneğine bağlı olmaktadır [78]. Çok sayıda mikroorganizma ya da çok sayıda antimikrobiyal incelemek için pratik bir yöntemdir. Ayrıca birbiri içerisinde bağlı antimikrobiyal etkiyi belirleme imkanını sağlamasına rağmen denenen mikroorganizma üzerindeki etkisini belirlemek için tek başına yeterli olmamaktadır [82].

2.6.3. Enfeksiyonlara neden olabilecek bazı mikroorganizmalar

Escherichia coli

Gram negatif, düzgün basil/çubuk şekilli bir bakteri olan *E. coli* peritrik (kirpiklerin her tarafta bulunma durumu) kirpiklidir. Laktozu fermente eder. O ve H antijenlerinden oluşan karmaşık bir yapısı vardır. Fimbriya (patojen bakterileri hedef dokudaki hücrelere bağlayan pilus) antijenleri de tanımlanmıştır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0,1-0,5 µm çapındadır [83].

Normal bağırsak bakterisi olarak memeliler ve kuşlarda bulunur. Bağırsak içinde kokuşma, mayalaşma ve beslenme ile ilgili işlemlerde yardımcı bir bakteri ve diğer bağırsak bakterileri ile dengeli olarak bulunan flora bakterisidir. Fakat canlılığının savunma gücünün azaldığı durumlarda doku ve kana yayılarak enfeksiyon özelliği göstermektedir [84].

Oldukça dirençli bir bakteri olan *E. coli* 60°C sıcaklıkta 30 dakika, oda sıcaklığında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı ise dirençsizdir. Malaşit yeşili, brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları,

sodyum tetratiyonat, bizmut sitrat, sodyum sülfat, sodyum dezoksikolat ve selenit tuzlarına karşı dirençleri, *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerin gösterdikleri dirençten daha azdır [85].

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus yaklaşık 1 µm en ve 1 µm boyunda Gram pozitif, *S. aureus* pigmentli, fakültatif anaerop çoğunlukla aerob üreyen, koagülaz ve hemolize uğrayabilir. Mannitol, sükröz, maltoz ve trehalozdan asit yapabilir. %10 NaCl' de üreyebilen, alfa toksin yapan, novobiosine duyarlı, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz bir bakteridir. Lizozim enziminden etkilenmez. İnsanlarda ve sıcak kanlı hayvanlarda gıda zehirlenmesi ve piyoenik enfeksiyonları yapabilen bir stafilokoktur. Doğada her yerde yaygın olarak bulunur [85].

Stafilokok türleri basit besiyerlerinde üremelerine rağmen kanlı besiyerinde daha iyi çoğalır ve kolonilerinin etrafında tam hemoliz meydana getirebilirler. En iyi 37°C sıcaklıkta ve pH 7,4 de ürerler. Jeloz besiyerinde ürer ve yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler yapar. *S. aureus* altın sarısı renginde pigment oluşturur [85].

S. aureus, normal insanların yaklaşık %30'unda deri ve mukozaları kolonize eden, nispeten dirençli bir mikroorganizmadır. En sık yerleştiği bölge ön burun delikleridir. Ön burun deliklerinde yerleşme eğilimi göstermesinin nedeni, 30-37°C arasındaki sıcaklık derecelerinde iyi üremesidir [86].

S. aureus bakterisinin yaptığı başlıca hastalıklar; deri ve mukoza enfeksiyonları (ter bezleri ve yağ bezlerinde iltihaplanma, sivilce, sakal kıl kökleri yangısı, göz kapağı yangısı, arpacık, bademcik iltihaplanması), yaygın deri döküntülü stafilokok enfeksiyonları (toksik şok sendromu, haşlanmış deri sendromu), sistem ve organ enfeksiyonları (stafilokok pnömonisi), sepsis, endokardit, besin zehirlenmeleri ve enteritlerdir. *S. aureus* enfeksiyonları sonrasında güçlü veya uzun süreli bir bağışıklık oluşmaz; bunun en belirgin göstergesi bireylerin yaşamları boyunca *S. aureus* enfeksiyonlarına duyarlı olmalarıdır [85].

Tedavide cerrahi girişimlerin yanı sıra antibiyotik uygulanması tedavinin önemli bir parçasıdır. Antibiyotik tedavisi için, suşların %70-80'inin penisilaz üretmesi nedeniyle, penisilinaza dirençli olan penisilin seçilir. Bu penisilinler metisiline dirençli suşlara ise etkili değildirler. *S. aureus*'un yaygın bulunduğu yerler deri ve mukozalar olduğu için en önemli koruyucu önlem ellerin yıkanmasıdır [87].

Bacillus subtilis

Yaklaşık 1,5-3 µm boyunda, 0,5-0,8 µm eninde, tek tek, bazen zincirler yapan, çomakçık şeklinde, aerob, Gram pozitif bir bakteridir. Sporları doğada çok yaygın olup toprak, bitki, hayvan gübreleri, sütte ve sularda bulunabilir. Peritrik kirpikleri hareketli olup; sporları oval şekilde ve subterminaldır. Kirpikler bakterinin kalınlığını aşmaz ve hücre şeklini bozmazlar. Genellikle kapsülü yoktur. Uygun ortamlarda (bikarbonatlı ve CO₂'li) polipeptid yapıda kapsül geliştirir. Jelozdaki kolonileri kirli beyaz, gri renkte, mat, yüzeyi granüllü R tipindedir [88]. Çoğunlukla besin zehirlenmesi ve dokularda veya göz içerisinde enfeksiyon ve hasara sebep olurlar [89].

Salmonella typhimurium

Salmonellalar insan gastroenteritleri arasında önemli bir yere sahip Gram negatif bakterilerdir. Ayrıca asemptomatik kolonizasyondan, menenjit, osteomyelit ve özellikle bebeklerde sepsis gibi önemli hastalıklara da neden olmaktadır. *S. typhimurium* salmonellalar içinde farklı konaklarda hastalık oluşturması ve çoklu antibiyotik dirençliği nedeniyle ayrı bir önem arz etmektedir. Bu yüzden *S. typhimurium* enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisinin semptomları süre ve ciddiyetini azaltmadığı, konvulsan dönemi ve taşıyıcılığı uzattığı dirençli bakteri oluşumuna neden olduğu için komplike olmayan vakalarda kullanılmamaları, ancak yeni doğan döneminde bakterilerin menenjit gibi ciddi bağırsak dışı yerleşimlerinde de tedavinin gerekli olduğu kabul edilmektedir [90].

Pseudomonas aeruginosa

Gram negatif basil ya da kokobasil morfolojisinde, sporsuzdur. Genellikle 0,5-0,8 µm eninde ve 1,5-3 µm boyundadır. Tüm suşları glikozu okside eden, polar kamçılı, hareketli, oksidaz pozitif ve 42⁰C'de üreyebilen bakterilerdir [91].

Fırsatçı bir patojen olan *P. aeruginosa* hastane enfeksiyonlarının önde gelen etkenlerindedir. Pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, cerrahi enfeksiyonlar, yanık enfeksiyonları, kemoterapi gören ve antibiyotik tedavisi uygulanan hastalarda çeşitli enfeksiyonların oluşmasında etkindir [89].

Klebsiella pneumoniae

1-2 µm boyunda ve 0,5-0,8 µm eninde etrafında polisakkarit yapıda geniş bir kapsül bulundurur. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Polisakkarit kapsüllerinden dolayı gram boyamada geniş görünürler [86]. Kapsüllü, hareketsiz çomak şeklinde bakteridir. 30-35⁰C'de optimum üreme gösterir. Memelilerde geniş bir yayılım gösterir. Nosokomiyal patojenler arasında önemli bir yeri vardır. Özellikle hastanelerde yatan hastalarda solunum yolu enfeksiyonlarına yol açar [92].

Üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunabilen *K. pneumoniae* bakterileri, buldukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde piyelit, piyelonefrit, prostatit, pnömoni gibi hastalıklara neden olur [93].

Bacillus cereus

Besin zehirlenmesine etkili bir bakteridir. Düz, veya çok az kıvrılmış, 3-12 µm uzunluğundadır. Gram pozitif, endospor oluşturan, anaerop bir bakteridir. 30-40⁰C'de gelişim gösterir [92]. *B. cereus* bağırsakta oluşan enterotoksin ve gıdalar yoluyla oluşup vücuda alınan emetik toksin olmak üzere iki farklı toksin oluşturur. Enterotoksin diyareye neden olurken emetik toksin ise kusmaya neden olur [94].

Enterococcus faecalis

Enterokok türlerinin 12 türünden en sık enfeksiyonlara neden olan oval yaklaşık 1 µm büyüklüğünde, görünümüleri olan *E. faecalis*'tir. 10⁰C den 45⁰C' ye kadar gelişim gösterir. Gram pozitifdir. Bu bakteri genelde hastanelerde bir hastadan diğerine bulaşır ve ağız boşluğu ile gastrointestinal bölgede taşınan fırsatçı bir patojendir. *E. faecalis* yetişkinlerde endokardit, idrar yolu enfeksiyonları, kolesistid, nadiren menenjit, septisemi gibi

enfeksiyonlar yapabilir. Safra kanalı enfeksiyonlarında safra tuzlarına dayanıklılık açısından incelendiğinde *E. coli* türünden sonra gelir [95].

Candida albicans

2-3 x 3-6 µm boyutlarında oval şekilli fırsatçı patojen bir maya türüdür. *Candida* türleri insan ve hayvan mukozalarında kommensal olarak yaşar. Kandidiyasis denen bir enfeksiyona neden olurlar. *Candida* enfeksiyonları genellikle vitamin eksikliği, şeker hastalığı, nem artışı gibi nedenler ile vücut direnci zayıflamış hastalarda görülür [96]. Deri, ağız, vajina ve bağırsakların normal florasında bulunur. Antibiyotik kullanımı sonrasında flora ortamında çoğalmaya başlar ve enfeksiyon oluşturur [97].

Candida krusei

Yalancı hifler ve uzun ‘ağaca benzer’ dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur [98]. Bir antifungal olan flukonazole doğal direnç oluşturduğu için önemli bir türdür. *C. krusei*, özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan merkezlerde sorun oluşturmaktadır. *C. krusei* ilk kez 1991 yılında flukonazol profilaksisi alan nötropenik ve kemik iliği transplantasyonu geçiren hastalarda bildirilmiştir En sık ise nötropenik (periferik kanda mutlak nötrofil sayısının azaldığı) kanser hastalarında görülmektedir. Bunlar içinde ise lösemiler ilk sıradadır [99].

Candida tropicalis

Yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş blastokonidyumlar, bazen yalancı hif uçlarında klamidyospora benzer ancak ince duvarlı yuvarlak veya armut görünümlü hücreler şeklindedir [98]. *C. tropicalis* özellikle kanser hastalarında ve kemik iliği alıcılarında kandidemi ve invaziv kandidiyazise neden olan türdür [100]. En yüksek risk faktörü olarak nötropeni bildirilmiştir [101].

2.7. DNA İlaç Etkileşimi

Bir kimyasal maddenin veya metabolitin DNA ile etkileşimi sonrasında DNA’da oluşabilecek yan ürünlerin kısa zamanda tayini kanser gibi hastalıkların araştırmaları için

çok önemlidir. Ayrıca çeşitli kronik ve metabolik hastalıkların da tedavisinde kullanılan ilaçların DNA ile etkileşiminin incelenmesi kişiye özgü ilaç geliştirilmesine imkan sunmaktadır [102]. İlaçların DNA ile etkileşimi kemoterapötik açıdan olduğu kadar bilimsel açıdan da büyük önem oluşturmaktadır [103]. Ayrıca, bazı bileşiklerin DNA ile etkileşimleri sonucu yeni DNA konformasyonları bulunmuştur [104].

Antikanser ilaçların büyük bir kısmı DNA'ya bağlanarak antitümör etkisi gösterirler. Böylece kanserli hücrede DNA eşlenmesini engelleyerek, tümör hücrelerinin büyümesini inhibe eder. DNA bağlanma ve kesme mekanizmasını anlamak, etkili antitümör ilaçlarının tasarlanmasında en önemli temeldir. Bu tür ilaçların başarısı, DNA'ya ilgilerine ve bağlanma modlarına göre belirlenir. Dolayısıyla DNA'ya farklı fiziksel şartlar altında bağlanabilen maddeler, antitümör etki mekanizmasındaki yapı ve aktivite ilişkisini anlamak için önemlidir [105].

DNA ilaç (kovalent olmayan) etkileşimleri interkalasyonlar ve oluk bağlayıcılar olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. İnterkalasyonlar DNA sarmalında azalmalar gerçekleştirerek DNA ipliğinin uzamasına ve DNA baz çiftlerinde düzlemsel moleküler etkisi ile insersiyonlara yol açar. DNA replikasyonu sırasında süper sarmalın açılmasını sağlayan tek veya çift iplikte geçici kırıklar oluşturan enzim grubu topoizomerazlardır. Topoizomerazlar etki şekillerine göre Tip I (Topo I, Topo III α , Topo III β) ve Tip II (Topo II α , Topo II β) olmak üzere iki gruba ayrılır. Birçok antikanser ilaç Tip II enzimlerini inhibe ederek interkalasyon yapabilmektedir. Topo II α gen ifadesi hızlı bölünen ve yayılma özelliği olan hücrelerde belirgin seviyede artar. Antrasiklin ve etoposid Topo II α 'ya bağlanıp çift zincir kırıkları oluşturarak hücre döngüsünü durdurur. Antikanser aktivitesi gösteren bu bileşikler tıbbi olarak kullanılan topoizomeraz inhibitörleridir [106]. Oluk bağlayıcı moleküller ise çoğunlukla adenin ve timince zengin belirli dizilere bağlanır. Oluk çeperleri ve ligandlarla beklenen en iyi van der Waals etkileşimi AT dizi bölgesinin elektonegatifliği sayesinde gerçekleştiği için bu bağlanma tercih edilir. Ayrıca olukların yapısal farklılığı, guanin bazının C2 amino grubu AT dizilerine bağlanma eğilimini artırır [107].

Apoptozis hücre ölümünün fizyolojik bir şekli olarak tanımlanması ile birlikte son yıllarda kanser tedavisi için daha efektif terapötik modellenen ilaçları üretmeye yönelik araştırmalarda sıkça kullanılmaya başlamıştır. Bu nedenle kanser kemoterapisinde yeni odak

kemoterapötik ilaçların kanser hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü indüklediği ve internükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olduğu uygun dozlar ve tedavi süreleri araştırılmaktadır [108].

Kemoterapi ile birlikte antioksidan takviyesi yapılması konusunda en çok tartışma, sitotoksik etkilerini serbest radikaller oluşturarak gösteren ajanlar (alkilleyici ajanlar, radyasyon gibi) konusundadır. Antioksidanların serbest radikalleri süpürerek bu ajanların etkisini azaltabileceği teorik olarak söylenmektedir. Ancak antioksidanların, kemoterapinin etkinliğini azaltmadığını bildiren çok sayıda yayın bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda özellikle antioksidanların, *in vivo* ve *in vitro* olarak kemoterapinin antitümör etkilerini artırdıkları belirtilmiştir [109]. Yapılan bir çalışmada, kemoterapi ve radyoterapiye bağlı oksidatif strese karşı; E, A ve C vitaminleri kullanılmış, *in vivo* ve *in vitro* olarak vitaminlerin tedavi edici etkiyi artırdığı, normal hücreleri de apoptozdan koruduğu tespit edilmiştir [110].

Kanser kemoterapisinde sıklıkla kullanılan antioksidanlar, E vitamini, C vitamini, β -karoten ve A vitamini dir. Radyoterapi ve kemoterapi ile tedavi görmüş skuamöz ağız kanserli hastalarda, β -karoten desteğinin oral mukoza enfeksiyonlarına karşı koruyucu etkisi bildirilmiştir. Benzer şekilde, adenokarsinomlu sıçanlarda, radyoterapinin yanısıra β -karoten verilmesi, yan etkileri azalttığı, hayatta kalma süresini ise artırdığı gözlenmiştir [111]. Servikal neoplazi tedavisinde A vitamininin tedaviyi destekleyici etkisi olduğu, özellikle yüksek risk altındaki kişilerde önemli bir alternatif olabileceği ifade edilmiştir [112].

3. MATERYAL METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Bitkisel materyal

Çalışmada kullanılan ve step alanlarda yetişmekte olan O.K8824 kodlu *Scandix australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisi Yrd. Doç. Dr. Osman KARABACAK tarafından 28.04.2013 tarihinde, Batman Tepe Beldesinde, 550 m yükseklikten toplanmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Araştırmada *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterileri ve *Candida tropicalis* NRRL Y-1296, *Candida krusei* ATCC 62586, *Candida albicans* ATCC 1021 mayaları kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler sırasıyla; Nutrient agar (Merck), Nutrient broth (Merck), Saboroud dekstrozu agar (Merck), Sodyum klorür (Merck), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma), Gallik asit (Sigma), Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Sigma), Folin reaktifi (Merck), Etanol (Merck), Metanol (Merck), Distile su, Sodyum karbonat (Na₂CO₃) (Merck), Agaroz (Sigma), Tris Asetat EDTA (TAE) (Sigma), Brom fenol blue (Merck), Etidyum bromür (Merck).

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar ise sırasıyla; Evaporotör, blender, otoklav, etüv, spektrofotometre, hassas terazi, terazi, mikrodalga fırın, manyetik karıştırıcı, yatay elektroforez, güç kaynağı, derin dondurucu, ısıtmalı karıştırıcı, vorteks, mikrosantrifüj, pipetler, pipet uçları, petri kapları, şırınga filtreleri, şırıngalar, ependorf, balon joje, beher, cam şişe, öze, drigalski öze, steril cerrahi eldiven, buzdolabı (+4 °C)

3.2. Metotlar

3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması

Araştırmada kullanılan *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisi serin ve rutubetsiz bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkisel materyal blender yardımıyla toz hale getirilmiştir. Bitki numunesinin on katı kadar çözücü eklenmiştir. Alkol bir hafta, su bir gün karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kurutma kağıdı ile süzildükten sonra evaporotörde 45⁰C'de 70 mbar basınç aralığında çözücüsünden ayrılmış ve katı özüt elde edilmiştir. Özüt miktarının belirlenmesi ile % verim hesaplanmıştır.

3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

Besiyerlerinin hazırlanması

Çalışmamızda bakterilerinin gelişmesi için Nutrient agar ve Nutrient broth kullanılmıştır. Nutrient agar'dan 28 gr alınıp 1000 ml saf su içinde karıştırarak çözülmesi sağlanmıştır. Besiyerleri hazırlandıktan sonra 121⁰C'de, 1,5 atm basınçta, 15 dakika steril edilmiştir. Steril petri kaplarına yaklaşık 25 ml olacak şekilde dökülmüş, katılaştıktan sonra buzdolabında saklanmıştır. Nutrient broth 8 gr alınmış 1000 ml saf su içinde karıştırarak çözülmesi sağlanmıştır. Kapaklı tüplere 5 ml konularak steril edilmiş ve buzdolabında saklanmıştır.

Bitki özütlerinin konsantrasyonlarının hesaplanması

Antimikrobiyal etki tayini için metanol ve etanol özütlerinin her biri 250 mg/ml derişimlerde olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Su özütünün ise yine aynı derişimlerde distile suda çözümlenerek hazırlanmıştır. Özütler antimikrobiyal etki deneylerinde kullanılmadan önce 0,45 µm çapındaki filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir. DMSO ve distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Gerek DMSO gerekse distile su içinde çözümlenerek hazırlanan özütler koyu renkli ve kapaklı şişelerin içerisinde antimikrobiyal etki deneyleri yapıncaya kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmamızda kullanılan bakteriler ve mayalar stok kültürlerin aktifleştirilmesiyle elde edilmiştir. Aktifleştirmede bakteriler için Nutrient agar, mayalar için Saboroud dekstroz agar kullanılarak hazırlanan besiyerlerine ekilerek etüvde bakteriler 37°C'de 24 saat, mayalar 30°C'de 48 saat beklemeye bırakılmıştır. %0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltilisi hazırlanarak, besiyerlerinde tek koloni düşen mikroorganizmalar öze yardımıyla çözeltiliye alınmıştır. Mikroorganizma süspansiyonu 0,5'lik McFarland standardına göre ayarlanmıştır.

Agar kuyucuk yönteminde 0,5 McFarland standardına göre ayarlanan mikroorganizma süspansiyonlarından 100 µL alınarak besiyerine drigalski özesiyle petrilere yayılmıştır. 6 mm çapındaki delgeç ile besiyerlerinin belirli noktalarında kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara farklı konsantrasyondaki bitki özütlerinden konulmuştur. İki saat buzdolabında bekletilerek bakteriler 37°C'lik evüte, mayalar 30°C'lik etüve konulmuş ve inkübasyondan sonra oluşan zonların çapları mm olarak ölçülmüştür. Bu çalışma her bir özüt için üç kere tekrarlanmış, elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Negatif kontrol olarak bitki özütlerini çözdüğümüz DMSO ve su kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak bakteriler için kloramfenikol ve ampisilin; mayalar için ketakanazol kullanılmıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerinin belirlenmesi

Aktif mikroorganizma kültürleri serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Özütlar 250 mg/ml konsantrasyondan başlayarak içerisinde sıvı besiyeri bulunan 96 kuyulu mikrolaklarda her bir kuyuda konsantrasyon yarıya düşecek şekilde 8 konsantrasyon seyreltilmiştir. 0,5 McFarlanda ayarlanan mikroorganizmalar 1/10 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve her kuyuya 5 µl mikroorganizma eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak besiyeri ve mikroorganizma; negatif kontrol olarak da DMSO kullanılmıştır. Mikrolakların üstü kapatılarak bakteriler için 37⁰C’de 24 saat; mayalar için ise 30⁰C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her bir kuyudan 10 µl alınarak katı besiyerine damlatma ekim yapıp tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Mikroorganizma gelişiminin azaldığı en düşük konsantrasyon minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri; mikroorganizma gelişiminin tamamen durduğu en düşük konsantrasyon ise bakteriler için minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK), mayalar için minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) olarak kaydedilmiştir.

3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi

Bitki özütlerinin hazırlanması

Bitki özütleri 2,2’-difetil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve toplam fenolik içerik tayininde kullanılmak üzere 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bitkiler, özütleri hazırlanırken kullanılan çözücülerine (metanol, etanol veya su) göre hazırlanmıştır.

DPPH yöntemi

Bitki özütlerinin serbest radikal süpürücü etkisini belirlemek için %0,004 DPPH (2,2’-difetil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlanmıştır. Deneyde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan özütlerden 1 ml, %0,004’lük DPPH çözeltisinden de 1 ml alınarak karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir.

Örnekler UV spektrofotometrede 517 nm’de ölçülerek okunan absorbans değeri, kontrol olarak kullanılan örneğe (1ml çözücü+1ml DPPH) karşı değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol

olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır. DPPH'nin % inhibisyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

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

Toplam fenolik içerik miktar tayini

Çalışmada 1 mg/ml konsantrasyondaki bitki özütleri ve gallik asit hazırlanmıştır. Deneyde 100 µl özüt üzerine 200 µl %50'lik Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek 3 dakika bekletilmiştir. Son olarak 1 ml %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda UV spektrofotometrede 760 nm'de ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar standart gallik asit grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak µg gallik asite eşdeğer mg özüt miktarı olarak belirlenmiştir.

3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi

S. australis L. subs. *grandiflora* (L.) Thell metanol özütü DMSO içerisinde 20 mg/ml konsantrasyonda hazırlanarak plazmit DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Metanol özütü 20 mg/ml'den başlayarak 7 konsantrasyon seyreltilip plazmid DNA ile 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda agaroz jel elektroforezi ile bantlar gözlenmiştir. Kontrol olarak metanol özütü ile etkileşime sokulmamış plazmid DNA kullanılmıştır ve ilk kuyucuğa konularak karşılaştırma yapılmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Özütlerin % Verimleri

Bitki ve çözücü karışımından çözücünün evaporatörde uzaklaştırılması ile elde edilen özütün yüzde verimleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Çizelge 4.1’e bakıldığında % verim etanol için 3,1, metanol için 8,75, su için 14,55 bulunmuştur. En yüksek verimin su özütüne ait olduğu görülmektedir.

Yüzde Verim (%) = (Ekstraksiyon sonrası elde edilen özüt / Başlangıçta tartılan bitki miktarı) x 100

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan *S. australis* bitkisinin özüt verimliliği

Eksraksiyon çözücüsü	% Verim (g/g)
Etanol	3,1
Metanol	8,75
Su	14,55

4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri

4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmada kullanılan *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinden elde edilen etanol, metanol ve su özütlerinin antimikrobiyal etkilerine agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile bakılmıştır. Negatif kontrol olarak %100’lük DMSO kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak bakteriler için ampisilin ve kloramfenikol, mayalar için ketokonazol kullanılmıştır. Etanol ve metanol özütlerinin mikroorganizmalara karşı oluşturdukları zon çapları Çizelge 4.2’de ve Çizelge 4.3’te; özütlerin antimikrobiyal etkilerini belirten zon çapları Resim 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *S. australis* metanol özütünün (250 mg/ml) agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

Mikroorganizma	<i>S. australis</i> metanol özütü	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>B. cereus</i>	12±1	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	16±1	-	23±1	21±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	18±0	25±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	-	-	8±0	-
<i>S. aureus</i>	11±1	-	44±1	24±1	-
<i>P. aeruginosa</i>	12±3	-	60±0	34±0	-
<i>E. faecalis</i>	14±1	-	27±0	20±0	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	11±1
<i>C. tropicalis</i>	-	-	-	-	18±1
<i>C. krusei</i>	-	-	-	-	33±0

*Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)

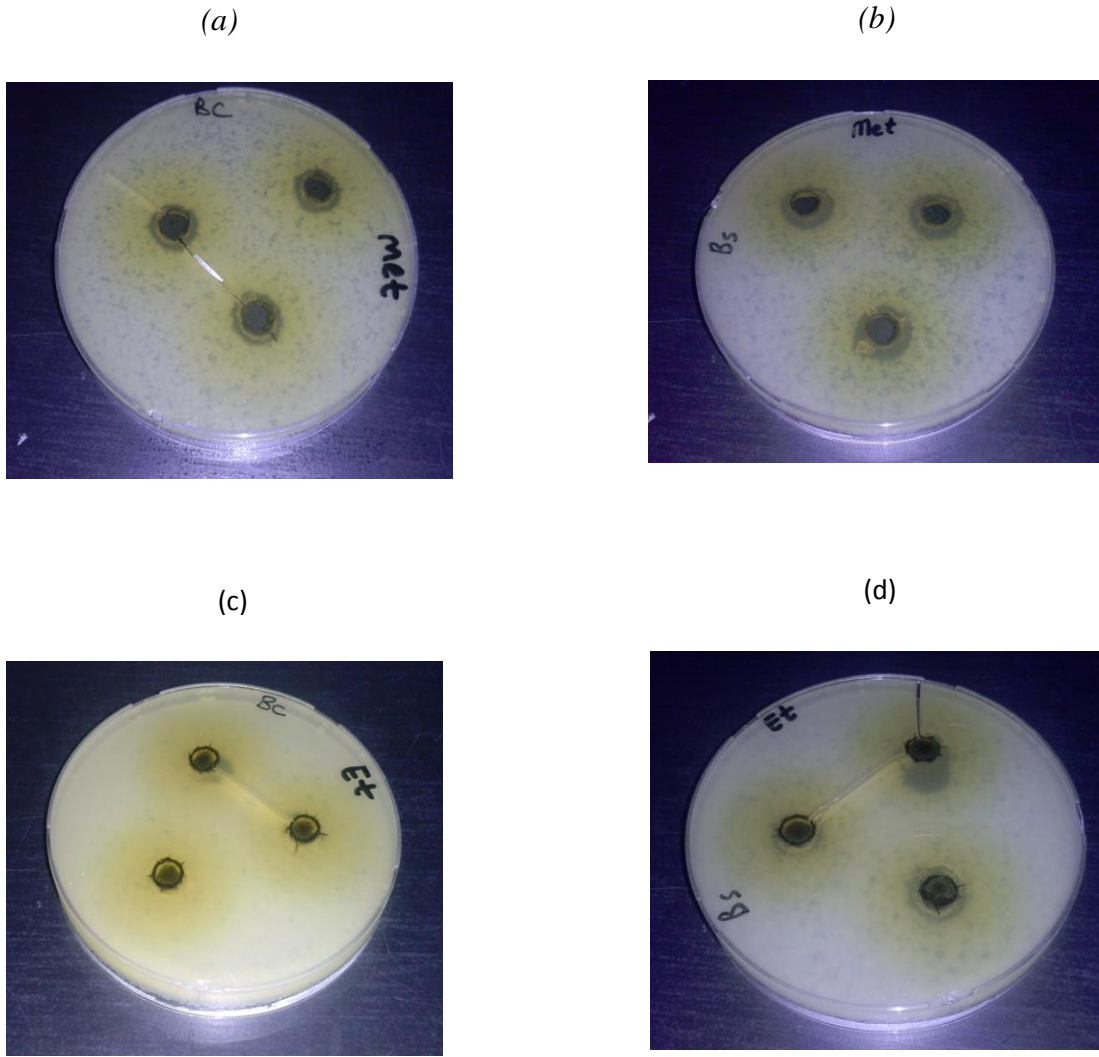
Çizelge 4.2.'ye bakıldığında *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 12±1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün 16±1 mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün 11±1 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 12±3 mm *E. faecalis* ATCC 29212 'nin 14±1 mm olarak ölçülmüştür. Metanol özütünün en yüksek etkiyi *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin metanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir.

Çizelge 4.3. *S. australis* etanol özütünün (250 mg/ml) agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdıkları inhibisyon çapları (mm)

Mikroorganizma	<i>S. australis</i> etanol özütü	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>Bacillus cereus</i>	14±1	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	14±1	-	23±1	21±0	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	18±0	25±0	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	-	-	-	8±0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	12±1	-	44±1	24±1	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13±1	-	60±0	34±0	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	18±1	-	27±0	20±0	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-	-	18±1
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	-	-	33±0

*Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)

Çizelge 4.3.'e bakıldığında *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin etanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 14±1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün 14±1 mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün 12±1 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 13±1 mm *E. faecalis* ATCC 29212 'nin 18±1 mm olarak ölçülmüştür. *S. australis*'in etanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir. Etanol özütünün en yüksek etkiyi *E. faecalis* ATCC 29212'e karşı gösterdiği belirlenmiştir.



Resim 4.1. Özütlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları. (a) metanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi, (b) metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi, (c) etanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi, (d) etanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi.

S. australis L. subs. *grandiflora* (L.) Thell su özütü bakteri ve mayalar üzerinde etkili olmamıştır. Sonuç olarak *S. australis*'in etanol ve metanol özütlerinin bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği; en yüksek antimikrobiyal etkinin etanol özütünde olduğu görülmüştür. Çalışmada kullanılan özütlerin hiçbiri patojen mayalar üzerinde etki göstermemiştir.

4.2.2. Özütlere minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) değerleri

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonucuna göre özütlere etki gösterdiği bakterilere MİK deneyi uygulanmıştır. *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisine ait tüm özütlere 250 mg/ml konsantrasyondan başlanarak seyreltme yapılmıştır. *S. australis*'in minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) sonuçları Çizelge 4.4'de, minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) sonuçları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. *S. australis*'in etanol ve metanol özütlere MİK değerleri (mg/ml)

Mikroorganizma	Etanol özütü	Metanol özütü
<i>Bacillus cereus</i>	3,9	3,9
<i>Bacillus subtilis</i>	< 0,97	< 0,97
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,9	3,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62,5	62,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	31,25	31,25

Çizelge 4.5. *S. australis*'in etanol ve metanol özütlere MBK değerleri (mg/ml)

Mikroorganizma	Etanol özütü	Metanol özütü
<i>Bacillus cereus</i>	3,9	3,9
<i>Bacillus subtilis</i>	< 0,97	< 0,97
<i>Staphylococcus aureus</i>	31,25	31,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62,5	62,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	62,5	62,5

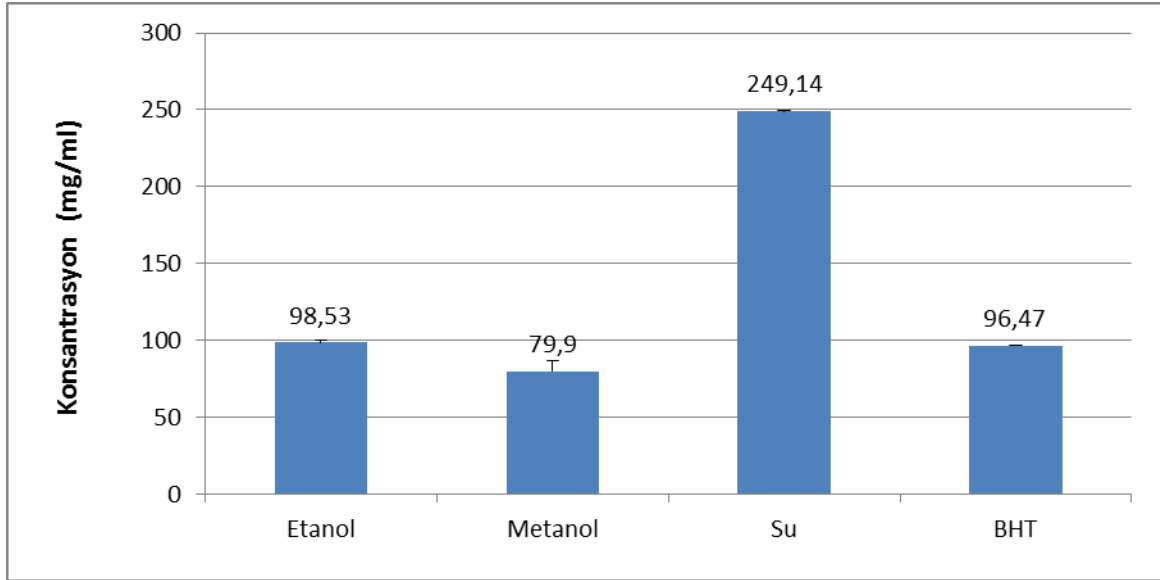
Hem MİK hem MBK değerlerine bakıldığı zaman etanol ve metanol özütlerinin her ikisinde çok düşük konsantrasyonda bile ($< 0,97$ mg/ml) *Bacillus subtilis* bakterisini inhibisyon etkisi olduğu görülmüştür.

4.3. Antioksidan Sonuçları

4.3.1. DPPH radikalini süpürücü etki

Özütlerin antioksidan aktiviteleri süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell etanol, metanol ve su özütlerinden 30-150 µg/ml aralığında farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Özütlerin ve BHT'nin 517 nm'de okunan absorbans değerleri, % İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$ formülü ile hesaplanan DPPH süpürücü etkileri Şekil 4.1'de IC₅₀ değerleri ise Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

IC₅₀ değeri özütün veya standardın serbest radikali süpürdüğü % inhibisyon değerinin yarısına karşılık gelen derişim değeri olarak belirlenmiştir. Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan etkiyi göstermektedir. Metanol özütünün IC₅₀ değerlerinin daha düşük olduğu dolayısıyla DPPH süpürücü aktivitelerinin standarda göre yüksek olduğu böylelikle metanol özütünün standardımız olan BHT ye göre güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu da tespit edilmiştir. Etanol özütünün IC₅₀ değeri BHT ye çok yakın bir değer olduğu su özütünün ise etki derecesinin düşük olduğu belirtilmiştir. Özütlerin ve standardın DPPH süpürücü aktivitesi en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla şu şekildedir: Metanol özütü (IC₅₀: 79,90±6,68 µg/ml) > BHT (IC₅₀: 96,47±032 µg/ml) > etanol özütü (IC₅₀: 98,53±1,49 µg/ml) > su özütü (IC₅₀: 249,24±0,46 µg/ml) .



Şekil 4.1. Özütlerin ve standardın, DPPH süpürücü aktivitelerinin IC₅₀ değerleri (µg/ml)

Çizelge 4.6. *S. australis* özütlerinin IC₅₀ değerleri (µg/ml)

Özütler	Etanol	Metanol	Su
IC ₅₀ Değerleri	98,53±1,49	79,90±6,68	249,14±0,46

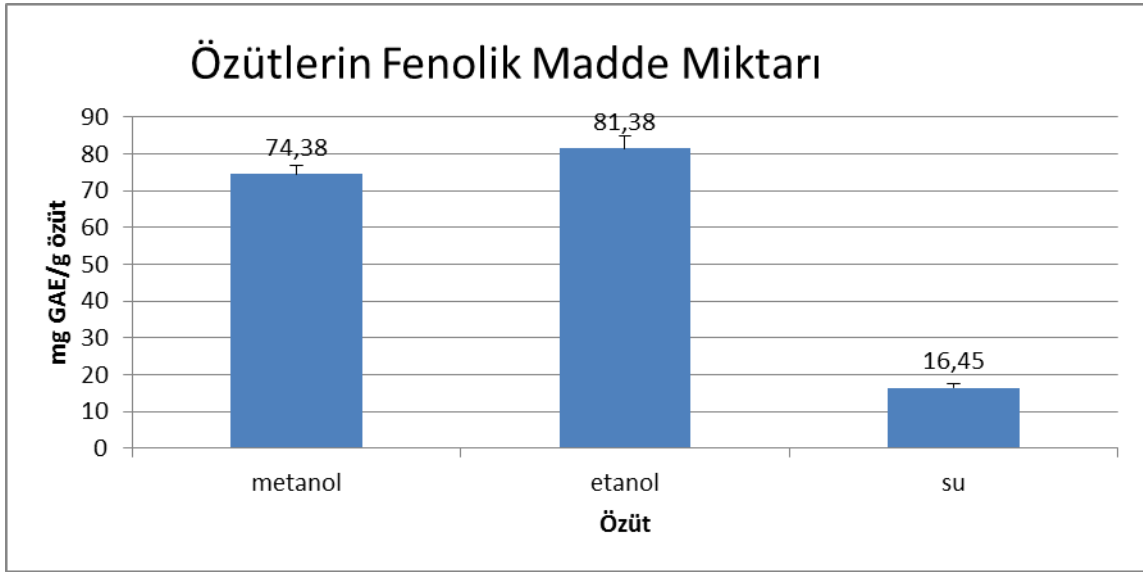
4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini

Toplam fenolik içerik tayininde kontrol olarak gallik asit kullanılmış ve standart grafik elde edilmiştir. Bitki özütlerinin toplam fenolik içeriklerinin miktarı (µg), standart grafik yardımıyla denklemi kullanılarak gallik asite eşdeğer fenolik madde miktarı cinsinden hesaplanmıştır. Özütlerin toplam fenolik madde miktarları (µg GAE/mg özüt) Çizelge 4.7 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. *S. australis* özütlerinin GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (μg GAE/mg özüt)

Özütler	Etanol	Metanol	Su
<i>S. australis</i> 'in toplam fenolik madde değerleri	81,38±3,36	74,38±2,30	16,45±0,975

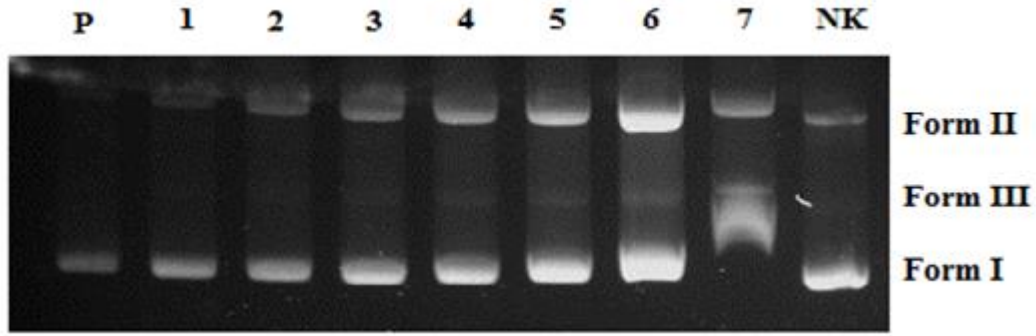
Etanol, metanol ve su özütlerinden en fazla fenolik içeriğin etanol özütüne ait olduğu görülmüştür. *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell fenolik madde miktarı etanol özütünde 81,38±3,36 μg GAE/mg, metanol özütünde 74,38±2,30 μg GAE/mg ve su özütünde 16,45±0,975 μg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Etanol, metanol ve su özütlerinden en fazla fenolik maddenin etanol özütüne ait olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. Bitki özütlerinin fenolik içerik miktarları (μg GAE/mg özüt)

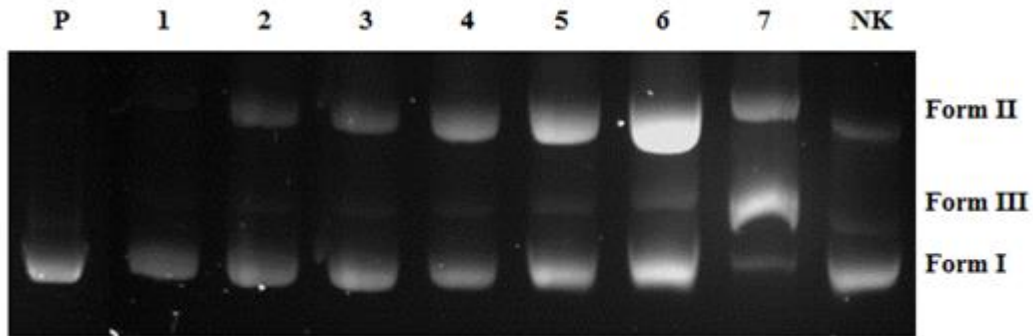
4.4. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi

S. australis L. subs. *grandiflora* (L.) Thell metanol özütü DMSO'da çözülerek 20 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış ve plazmid DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Metanol özütü 20 mg/ml'den başlayarak seyreltme yapılarak ve plazmid DNA ile 37⁰C'de inkübasyona bırakılmıştır. %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra boyanarak UV ışık altında fotoğrafı çekilmiştir.



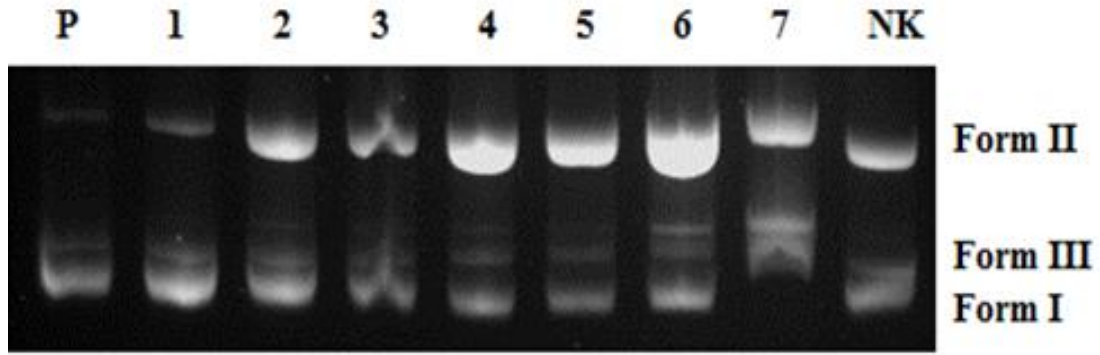
Resim 4.2. Plazmit DNA'nın *S. australis* özütü ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü

P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 0,31mg/ml; 2: 0,62 mg/ml; 3: 1,25 mg/ml; 4: 2,5 mg/ml; 5: 5 mg/ml; 6: 10 mg/ml; 7: 20 mg/ml; NK: DMSO ile muamele edilmiş plazmit DNA.



Resim 4.3. Plazmit DNA'nın *S. australis* özütü ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü

P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 0,31mg/ml; 2: 0,62 mg/ml; 3: 1,25 mg/ml; 4: 2,5 mg/ml; 5: 5 mg/ml; 6: 10 mg/ml; 7: 20 mg/ml; NK: DMSO ile muamele edilmiş plazmit DNA.



Resim 4.4. Plazmit DNA'nın *S.australis* özütü ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü

P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 0,31mg/ml; 2: 0,62 mg/ml; 3:1,25 mg/ml; 4: 2,5 mg/ml; 5: 5 mg/ml; 6: 10 mg/ml; 7: 20 mg/ml; NK: DMSO ile muamele edilmiş plazmit DNA.

Resim 4.2 de görüleceği gibi kontrol DNA da iki tane bant bulunmaktadır. Bu bantlardan önde giden daha güçlü banta sahip süper sarmal DNA yani Form I, arkada kalan daha zayıf ve daha açık renkte görülen tek ipliği çentik oluşturmuş halkasal DNA yani Form II den oluşmaktadır. Bitki özütünün konsantrasyonu arttıkça form I DNA'nın hareketliliği azalırken Form II DNA'nın hareketliliği artmıştır. Ayrıca konsantrasyon arttıkça doğrusal olan Form III DNA'ya rastlanmıştır. En yüksek konsantrasyonda ise Form I DNA'nın hareketliliği ve yoğunluğu azalmış doğrusal DNA'nın yoğunluğu artmıştır. Bu durum doğrusal DNA'ya ait bantların oluşmasını inkübasyon süresine bağlı olarak arttırmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Apiaceae familyasında kullanılan pek çok türün gerek tıbbi gerek halk arasında kullanımı bu familyaya ait bitki türlerini araştırmaya değer kılmaktadır. *Foeniculum vulgare* (rezene); yaprakları yara iyileştirici, kökü idrar söktürücü olarak, *Pimpinella anisum* (anason); iştah açıcı, uyku verici, süt arttırıcı, gastrik şikayetleri ve bağırsak gazlarını giderici, karaciğeri koruyucu olarak, *Coriandrum sativum* (kişniş) ise gut hastalığında, baş ve diş ağrılarında, farenjitte, idrar yolu enfeksiyonlarında halk arasında kullanılan bazı Apiaceae türlerine örnek olarak verilebilir [17].

Apiaceae familyası üyesi olan *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisine ait mevcut biyolojik aktivite çalışması bulunmamaktadır. Familyada tıbbi olarak kullanılan bitki türleri bulunduğu için çalışmamızda *S. australis* bitkisi tercih edilmiş ve bitkinin antimikrobiyal, antioksidan ve DNA ile etkileşimleri araştırılmıştır.

S. australis L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin metanol, etanol ve su özütlerinin 250 mg/ml derişimlerdeki antimikrobiyal etkisine agar kuyucuk ve MİK yöntemiyle bakılmıştır. Bitkinin metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 12 ± 1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün 16 ± 1 mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün 11 ± 01 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 12 ± 3 mm, *E. faecalis* ATCC 29212'nin 14 ± 1 mm olarak ölçülmüştür. Bu inhibisyon zonları bize bitkinin bakterilere karşı orta derecede antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu göstermiştir. *S. australis* subs. *grandiflora* (L.) Thell metanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir.

Bitkinin etanol özütünün ise *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 14 ± 1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün 14 ± 1 mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün 12 ± 01 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 13 ± 1 mm, *E. faecalis* ATCC 29212'nin 18 ± 1 mm olarak ölçülmüştür. Bitkinin etanol özütünün mayalar üzerine etkileri görülmemiştir.

Ayrıca hem metanol hem etanol özütleri denenen bakteriler arasında daha çok Gram (+) bakterilere karşı etki gösterirken sadece Gram (-) bakterilerden tek bir türe etki göstermiştir.

Çalışmada kullanılan metanol ve etanol özütleri bakterilere karşı orta derecede antimikrobiyal etki göstermiştir. Etanol özütünün metanol özütü ile kıyaslandığında daha geniş çapta inhibisyon zonuna sahip olduğu saptanmıştır. Etkileri arasında gözlenen bu farklılığın nedeni ise özütlerin hazırlanmasında kullanılan polar çözücüler olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca polar çözücülerle açığa çıkan farklı ikincil metabolitlerle de ilgili olduğu sanılmaktadır.

Su özütü ise denenen mikroorganizmalara ve mayalara karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir. Negatif kontrol olarak kullanılan %50 DMSO'nun mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal bir etkisi görülmemiştir. Antimikrobiyal etkilere bakılarak *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisinin etanol ve metanol özütlerinde etkili olan mikroorganizmaların MİK değerleri hesaplanmıştır.

Bakterilerin MİK değerleri metanol özütünde *B. subtilis* ATCC 6633 < 0,97 mg/ml, *B. cereus* NRRL B-3711 3,9 mg/ml, *S. aureus* ATCC 25923 3,9 mg/ml *E. faecalis* ATCC 29212 31,25 mg/ml ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 62,5 mg/ml olarak tesbit edilmiştir. Bakterilerin MİK değerleri etanol özütünde *B. subtilis* ATCC 6633 < 0,97 mg/ml, *B. cereus* NRRL B-3711 3,9 mg/ml, *S. aureus* ATCC 25923 3,9 mg/ml *E. faecalis* ATCC 29212 31,25 mg/ml ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 62,5 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Etanol ve metanol özütlerinin her ikisinde çok düşük konsantrasyonlarda bile *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bakterisi üzerinde etkili olmasının dikkate değer bir veri olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak bitki özütlerinin orta derecede antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlenmiştir. Her ne kadar agar kuyucuk yöntemi sonucu düşük çıksada ortaya çıkan MİK değerlerine göre düşük konsantrasyonda bile etki gözlenmiştir.

Bitki özütlerindeki bu antimikrobiyal etkinin kaynağı sekonder bileşikler ve uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır. Bu konularda yapılan çalışmalardan birisi Radulovic ve arkadaşları (2014) tarafından *Scandix pecten-veneris* toprak üstü ve toprak altı kısımları ile meyvelerin uçucu yağ bileşenleri GC ve GC/MS analizi ile belirlenmiştir. Çalışmada uçucu yağ ana bileşeni tridekanın ve uzun zincirli alkol yeni esterlerinin MİK yöntemi ile

antimikrobiyal aktiviteleri Gram (-) olarak *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis* bakterileri ve Gram (+) olarak *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* bakterileri ve mantar organizmaları olarak ise *Candida albicans* ile *Aspergillus niger*'e karşı belirlenmiştir. Denenen alkol zincirleri ve uçucu yağ bileşenleri için *Escherichia coli* dışında tüm bakteriler için MİK ve MBK değerleri 1,00-8,00 mg/ml olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen alkaloid bileşikler arasında en etkili MİK ve MBK değerleri tridesil 3-metilbütanoat için hesaplanmıştır. (MİK 1.00–4.00 mg/ml MBK/MFK 1.00–4.00 mg/ml) için hesaplanmıştır. *A. niger* ve *C. albicans* mantar organizmalarına karşı ise zayıf etki gözlenmiştir. Bununla birlikte çalışma uçucu yağ ve sentezlenmiş alkol esterleri *B. cereus*'e karşı yüksek inhibitör etki ortaya çıkarmıştır. *E. coli*, *S. enteritidis* ve *A. niger* bu bileşenlere karşı yüksek konsantrasyonlarda bile direnç gösterdiği belirtilmiştir. Böylece ortaya çıkan düşük ile orta derece arasında olan antimikrobiyal aktivitenin bitki fitopatogenlerine karşı savunma sağladığı belirtilmiştir [113]. Bizim bitkimizle aynı familyada bulunan *S. pecten- veneris* ile yapılan çalışma bizim çalışmamıza paralel olarak *E. coli*'ye karşı etki göstermezsen, *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*' a karşı etki göstermiştir. Bu çalışmada denenen bakterilere ait MİK değerlerimiz ise 0,97 ile 3,9 mg/ml aralığında olup bitki özütlerimizin antimikrobiyal etkisi *S. pecten- veneris*'in bakterilere karşı en etkili olan alkol zincirlerinin antimikrobiyal etkisi ile benzerlik göstermektedir.

Uğuz ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Apiaceae familyasına ait *Chenopodium botrys*'in metanol özütünün disk difüzyon metodu ile *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus megaterium*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus brevis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* bakterilerinde antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *Staphylococcus aureus*'da 18 mm, *Bacillus cereus*'da 7 mm, *Micrococcus luteus*'da 7 mm, *Pseudomonas aeruginosae*'da 7 mm zon çapları ölçülmüştür. Diğer bakterilerde ise etki görülmemiştir [114]. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile karşılaştırdığımızda ise metanol özütümüz *P. aeruginosae*, *B. cereus* bakterilerine karşı daha yüksek etki, *S. aureus* bakterisine karşı ise daha düşük etki göstermiştir.

Thiem ve arkadaşları Apiaceae familyasına ait 3 *Eryngium* L. Türünün (*E. planum*, *E. campestre*, *E. maritimum*) yaprak ve köklerinin etanol özütünün antimikrobiyal aktivitelerini MİK yöntemi ile hesaplamışlardır. *E. planum* türü yaprak etanol özütü MİK

değerleri *Staphylococcus aureus* için 400 mg/ml, *Bacillus subtilis* için 500 mg/ml, *Candida albicans* ATCC 1231 için 90 mg/ml bulunmuştur. *E. planum* kök etanol özütü MİK değerleri ise *Staphylococcus aureus* için 1,1 mg/ml *Bacillus subtilis* için 2,2 mg/ml *Candida albicans* için 1,1 mg/ml bulunmuştur *E. campestre* türü yaprak etanol özütü MİK sonuçları; *Staphylococcus aureus* için 1,9 mg/ml *Bacillus subtilis* 15 mg/ml *Candida albicans* için 7,5 mg/ml bulunmuştur *E. campestre* türü kök etanol özütü MİK sonuçları; *Staphylococcus aureus* için 0,9 mg/ml *Bacillus subtilis* için 1,9 mg/ml *Candida albicans* için 0,9 mg/ml bulunmuştur. *E. maritimum* türü yaprak etanol özütü MİK sonuçları; *Staphylococcus aureus* için 0,7 mg/ml, *Bacillus subtilis* için 5 mg/ml, *Candida albicans* için 1,3 mg/ml bulunmuştur *E. maritimum* türü kök etanol özütü MİK sonuçları; *Staphylococcus aureus* için 0,7 mg/ml, *Bacillus subtilis* için 1,3 mg/ml, *Candida albicans* için 1,3 mg/ml bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda *Eryngium* L. türlerinin farklı antimikrobiyal ve antifungal etki göstermesinin barındırdıkları farklı sekonder metabolitlerden kaynaklandığını belirtmişlerdir [115]. Bazı *Eryngium* türlerinin geleneksel tıpta ilaç olarak kullanılmalarından yola çıkarak yapılan bu araştırma ile *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell metanol ve etanol özütlerinde *B. subtilis* için hesaplanan düşük MİK değeri dikkate alındığında alternatif bir ilaç olarak geliştirilebilme imkanı düşünülmektedir. *S.aureus* bakterisine karşı hesaplanan düşük MİK değeri ise etanol özütümüzde aynı bakteriye karşı hesaplanan MİK değerine yakınlık göstermektedir. Ayrıca bizim çalışmamızda özütlerimiz bu çalışmanın aksine *Candida albicans*'e karşı etki göstermemiştir.

Khaldun yaptığı çalışmada *Foeniculum vulgare* yağının *Candida albicans*'a karşı antifungal, *Salmonella typhimurium* ve *Salmonella dysenteriae*'a karşı bakterisidal etki gösterdiğini belirtmiştir [116]. *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell ise *C. albicans* ve *S. typhimurium*'e karşı antifungal ve antibakteriyel etki göstermemiştir

Ashour ve arkadaşları *Buplerum marginatum*'un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde ettikleri uçucu yağın bileşimini ve biyolojik aktivitesini araştırdıkları çalışmada, uçucu yağın analizi sonucu 72 bileşen belirlemişler ve ana bileşenlerin tridekan, undekan, pentadekan, β -karyofillen ve β -karyofillen oksit olduğunu belirtmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite çalışmasında disk difüzyon metodunu kullanmışlar ve Gram pozitif bakterilere karşı dikkate değer bir aktivite gözlerken, Gram Negatif bakteriler ve mayalara karşı daha düşük aktivitenin olduğu belirlemişlerdir. Çalışmada elde

ettikleri uçucu yağın, *Bacillus subtilis* ATCC 6051'e karşı daha zayıf inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir [117]. Bizim yaptığımız çalışmada da benzer şekilde Gram (+) bakterilere karşı daha yüksek etki gözlenirken Gram (-) bakterilere karşı ise zayıf etki gözlenmiştir.

Tosun ve arkadaşları tarafından Türkiye'de yetişen 4 *Seseli* L. türünün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen n-hekzanlı özütlerin ve toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların agar disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmada *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* (toprak üstü) *Candida albicans*' e karşı zayıf etki, *S. gummiferum* subsp. *gummiferum*; toprak üstü ve uçucu yağı *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*'e karşı zayıf etki, *S. resinatum* (toprak üstü, toprak altı ve uçucu yağı) *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*'e karşı zayıf etki, *S. hartvigii* (toprak üstü kısım); *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*'e karşı zayıf etki göstermiştir [118]. Bizim çalışmamızda da yine benzer şekilde *B. cereus*, *S. aureus*, *B. subtilis* bakterilerine karşı etki gözlenmiştir. Fakat kuyucuk agar difüzyon çaplarımız bu çalışmada ölçülen çap uzunluklarından daha yüksektir.

Yurtseven ve arkadaşları *Heracleum argaeum* Boiss. & Bal. 'dan elde metanol özütünün *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerini araştırılmıştır. Metanol özütünün denenen Gram (-) bakterilerden *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*' e karşı etkili olmadığı, Gram (+) bakterilerden ise *B. subtilis*'e karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Metanol özütü denenen konsantrasyonlarda *Candida albicans* karşı inhibitör etki göstermemiştir. Gram (-) bakteriler arasında metanol özütüne en hassas olan *Klebsiella pneumoniae* iken Gram (+) bakteriler arasında en hassas olan *Bacillus cereus*'dur. Uçucu yağ ise düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir [119]. Bizim çalışmamızda da aynı şekilde metanol özütümüz Gram (-) olan *E. coli* ve *S.typhimurium*'a karşı ve bir maya olan *C. albicans*'a karşı etki göstermemiştir. En hassas etki Gram (+) bakteriler arasında *B. subtilis*, Gram (-) bakteriler arasında ise *P. aeruginosa* tarafından gerçekleşmiştir. *Klebsiella pneumoniae*'e karşı ise etki göstermemiştir.

Çalışmada kullandığımız bitkinin antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda metanol ve etanol özütlerinin standartımız BHT'ye oranla daha yüksek antioksidan etki gösterdiği su özütünün ise daha düşük antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Etanol özütünün toplam

fenolik madde içeriği ise metanol ve su özütüne göre daha fazla bulunmuştur. Etanol özütünün antimikrobiyal etkisinin daha fazla çıkmasının nedeni olarak yüksek fenolik içeriğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Gülçin ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada Apiaceae familyasından *Pimpinella anisum* L. (anason) tohumlarının sulu ve etanollü özütlerinin *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antimikrobiyal etkili olduğu görülmüştür. Anason (*Pimpinella anisum*) tohumlarının su özütü *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etki gösterirken, etanol özütü böyle bir etki göstermemiştir. Anason tohumlarının sulu ve etanollü özütlerinin güçlü antioksidan etki gösterdiği görülmüştür. Sulu ve etanollü anason tohumu özütleri, linoleik asit sisteminin peroksidasyonunu %99,1 ve %77,5 oranında inhibe etmiştir. α - tokoferol'ün inhibe edici etkisi ise %36,1 oranında gerçekleşmiştir. Anason tohumlarının sulu özütlerinin etanollü özütlerine nazaran daha güçlü antioksidan olduğu görülmüştür [120]. Bitkimizin etanol ve su özütlerinin antioksidan aktivitelerini *P. anisum* ile karşılaştırdığımız da ise etanollü özütlerin sulu özütlerine göre daha yüksek ve hatırı sayılabilecek bir antioksidan aktivite gösterdiği belirtilebilmektedir.

Yurtseven ve arkadaşları tarafından *Heracleum argaeum* Boiss. & Bal. 'dan elde edilen uçucu yağı ve metanol özütünün in vitro antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. *Heracleum argaeum*'un metanol özütünün toplam fenolik madde miktarı $17,74 \pm 0,4$ mg gallik asit/g özüt olarak bulunmuştur. Fosfomolibdenum yöntemi ile özütün toplam antioksidan aktivitesi $132,03 \pm 0,3$ askorbik asit/g özüt olarak tespit edilmiştir. Metanol özütü 2 mg/ml konsantrasyonunda DPPH radikalinde %41,69 inhibisyon göstermiştir [119]. *H. argaeum* ile *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell metanol özütleri fenolik madde miktarı açısından karşılaştırıldığında bitkimizin sonuçlarının çok daha yüksek olduğu metanol özütü 90 $\mu\text{g/mL}$ konsatrasyonda bile DPPH radikalinde %57,87 inhibisyona sahip olduğu gözlenmektedir.

Ahmed ve arkadaşları çalışmalarında ise, Konya çevresinden toplanan 4 *Prangos* Lindl türünün, kök, herba ve meyvelerinden su ve metanol ile hazırlanan özütlerinin total fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Örneklerin total fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu'nun fenol reaktifi kullanılarak tayin edilmiştir. Özütlerin

antioksidan aktiviteleri; serbest radikal süpürücü aktivite kalitatif DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal) yöntemi ile, lipozom lipid peroksidasyonu ise tiobarbitürik asit (TBA) yöntemi ile çalışılmıştır. Total fenolik madde miktarları kuru ağırlık üzerinden gallik asit eş değeri olarak (GAE) metanol özütlerinde 77,99-140,29 mg/g arasında; sulu özütlerde ise 37,53-97,29 mg/g arasında hesaplanmıştır. Bütün özütler DPPH testinde zayıf bir antioksidan aktivite göstermiştir. TBA testinde metanol özütlerinde su özütlerine oranla daha yüksek aktivite gözlenmiştir [121]. Toplam fenolik madde miktarı olarak metanol özütümüz ile benzerlik gösterirken su özütümüzün fenolik madde miktarı daha düşük bulunmuştur. DPPH testinde ise metanol özütümüz denenen *Prangos* türlerine göre yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Literatürlerde *Scandix* cinsine ait çok az çalışma bulunmaktadır. Halk arasında Apiaceae familyasının tıbbi olarak yaygın kullanımı göz önünde bulundurulup farklı çözümler kullanarak diğer *Scandix* türlerinin de antimikrobiyal etkilerinin araştırılması gerektiği düşünülmektedir. *Scandix* cinsiyle yapılan çalışmalara örnek olarak; Tümen ve Başer *S. australis* L. ssp. *grandiflora* (L.) Thell. bitkisinin uçucu yağ bileşenleri ise GC/MS analizi ile belirlenmiştir. Yapılan çalışmada uçucu yağ ana bileşenleri metil kavikol (östragol) %95,91 ve (E)-anetol %2,49 olarak bulunmuştur [122]. Kaya ve arkadaşları *S. iberica* çiçek ve meyve yaprakları uçucu yağ oranı mikrodilüsyon, uçucu yağ bileşenleri ise GC ve GC/MS analizi ile belirlenmiştir. Yapılan çalışmada uçucu yağ ana bileşeni ise metil kavikol %85,8-90,5 olarak belirlenmiştir. Bir fenil propanoid olan metil kavikol sedatif ve antikonvülzan etkiye sahiptir. Bu etkisi nörotropik özellikleri ile ilişkilendirilir. Ayrıca metil kavikol anetol ile izomerdur [123]. Velasco-Neguerulo ve arkadaşları *S. australis* L. bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini ise GC/MS analizi ile belirlenmiştir. Çalışmalarında ana bileşen (E)-anetole %86 ve metil kavikol %8,47 olarak bulunmuştur [124]. Böylelikle bizim bitkimizde de diğer iki çalışmaya paralel olarak aynı bileşikler elde edilmiştir. Bu maddelerin tıbbi önemi dikkate alınarak metil kavikol ve anetolün biyolojik aktivitesinin araştırılması önerilmektedir.

DNA, antibakteriyel ve antitümör ilaçlar için en önemli hücresel hedeftir. Kuinolin ise çoğunlukla ilaç yapımında kullanılan bileşiklerdendir. Öztürk ve arkadaşları çalışmalarında 3-hetarilazokuinolin-2,4-diol bileşiklerinin DNA etkileşimi ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Bu bileşiklerin bakteriler üzerinde hafif ve orta derceli etkileri gözlenirken mayalar bu bileşiklere karşı direnç göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada DNA kesim

aktiviteleri plazmit DNA kullanılarak agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. 3-(5-metiltiazol-2-ylazo)kuinolin-2,4-diol ve 3-(6-metoksbenzotiazol-2-ylazo)kuinolin-2,4-diol bileşikleri etkisiyle Form I ve Form II DNA görülmektedir. Form I yoğunluğu ve hareketliliği ise kademeli olarak azalmıştır. 3-(6-nitrobenzotiazol-2-ylazo)kuinolin-2,4-diol ve 3-(1H-benzimidazol-2-ylazo)kuinolin-2,4-diol bileşiklerinin artan konsantrasyonları Form I hareketliliğini azaltmıştır. 3-(1H-1,2,4-triazol-3-ylazo)kuinolin -2,4-diol ve 3-(5-metiltiyol-1H-1,2,4-triazol-3-ylazo)kuinolin-2,4-diol bileşikleri Form I süper sarmalının gevşemesine artan konsantrasyonlarda kesimlerin gerçekleşmesine neden olmuştur. 3-(5-metilisoksazol-3-ylazo)kuinolin-2,4-diol ve 3-(6-klorobenzotiazol-2-ylazo)kuinolin -2,4-diol bileşikleride benzer şekilde yüksek konsantrasyonlarda Form I den Form II DNA oluşumunu sağlamıştır. Ayrıca hetarilazokuinolin-2,4-diol bileşiklerinden bazılarının kemoterapötik ajan ve kimyasal nükleaz olarak kullanımları konusunda çalışmalarının umut verici olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde artan konsantrasyon etkisi ile Form I hareketliğinde ve yoğunluğunda azalmalar gerçekleşmiştir. [15].

DNA'da bulunan fosfodiester bağların kararlılığı yaşamın devamlılığı için gereklidir. Fosfodiester omurga deoksiribozun nükleofilik oksijen atomu ve dNTP'nin negatif yüklü fosfor atomu arasındaki itme sayesinde kararlı bir hal alır. İmidazoller de hücre içinde bulunan nükleofilik maddelerdir. *p*-xylyl halkasının ise dimerik ve trimerik Zn II bileşiklerinde önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Bu verilerden yola çıkarak Li ve arkadaşları ilk defa sentezledikleri *m*- ve *p*-xylyl halkası ve imdazolyum içeren makrosiklik poliyamin monometalik bileşiklerinin (Zn II, Cu II, Co II) DNA kesim aktivitesini plazmit DNA kullanılarak agaroz jel elektroforezi ile belirlemiştir. Bu sentezlenen 4,7,10-Tetraazasiklododekan bileşiklerinin bir kimyasal nükleazlar olarak DNA tanıma bölgelerindeki katyon ve bileşiklerine karşı güçlü bağlanma (nükleofilik olma) eğilimi gösterdiği bilinmektedir. Buna dayanarak yapılan çalışma da DNA kesim sonuçları, monometalik bileşiklerin kimyasal nükleaz aktivitesi ile plazmit DNA dan çentikli Form II DNA oluşumunu dikkate değer biçimde hızlandırdığını göstermektedir. Co(II) bileşikleri ise askorbat varlığında daha kısa süre içinde plazmit DNA'yı kesip düz zincirli Form III DNA'nın oluşabileceğini ortaya koymuştur [125]. Bizim çalışmamızda aynı şekilde özütlerin etkisiyle Form II ve Form III DNA gözlenmiştir. DNA'nın kesilme aktivitesi yine çalışmamıza paralellik göstererek konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir.

S. australis L. subs. *grandiflora* (L.) Thell ile yapılacak olan sonraki çalışmalarda bitkide bulunan sekonder metabolitlerin tespit edilmesi ve biyolojik etkilerinin araştırılması tavsiye edilmektedir. *S. australis* L. subs. *grandiflora* (L.) Thell bitkisine ait metanol ve etanol özütlerinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması ve DNA ile etkileşime girme yeteneği bu bitkinin potansiyel bir antikanser ajan olabileceğini göstermektedir. Bu sebeple bu bitkinin çeşitli kanser hücre hatlarında sitotoksik etkisinin yapılacak çalışmalarla ortaya konulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Koçyiğit, M. (2005). *Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 1-80.
2. Çalışkan, D., Sarışen, Ö. (2005). Fitoterapi: Bitkilerle Tedaviye Dikkat. *Sted.* 14,(8) 186.
3. Boydağ, İ. (1996). *Üç Origanum Türü; Origanum majorana L., Origanum minutiflorum O. Schwarz and P.H. Davis ve Origanum onites L. uçucu yağlarının fraksiyonlu distilasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 133, Eskişehir.
4. 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.
5. Erdoğan, S.F., Özkara, A., Korcan, S.E., Bağcı, Y. ve Dural H. (2012). *Sartoria hedyaroides* Boiss. & Heldr. ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. *Afyon Kocatepe University Journal of Science*, 12.
6. Davis, P.H. (1965-1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press. 1-9.
7. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K. H.C. (2000). *Flora of the Turkey and the East Aegean Islands*, Edingurgh Universtiy Press, Edinburgh, 11 .
8. Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S. ve İlarlan, R. (1989). *Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları, 246.
9. Erik, S. ve Tarıkahya, B. (2004). Türkiye florası üzerine, *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi*, Alp Matbaası, Ankara, 17, 139-163.
10. Keskin, H. (1981). *Besin Kimyası*, 1, 544-550, Fatih Yayınevi Matbaası, İstanbul.
11. Lauterwein, M., Oethinger, M., Belsner, K., Peters, T., Marre, R. (1995). *In vitro* activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+) usnic acid, and (-) usnic acid against aerobic and anaerobic microorganisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (11): 2541-2543.
12. Tanker, M., Tanker, N., (1990). Farmakognozi, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını*, Ankara, 65, 269.
13. Baser, K.H.C., Özek, T., Akgül, A., Tumen, G. (1993). Composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. *J.Essent.Oil.Res.*, 5(2): 215-217.
14. Davidson, GP., Decker, TR. (2009). Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer. *Nutr Clin Pract*, 24: 250–60.

15. Öztürk, F., Açık L., Şener, E., Karıcı, F., Kılıç, E. (2012). Antimicrobial properties and DNA interactions studies of 3-hetarylazoquinoline-2,4-diol compounds, *Turk J Chem.*, 36, 293 – 302.
16. Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişten Bugüne*, Nobel Tıp Basımevi, İstanbul-Türkiye, 480.
17. Essawi, T., Srour, M. (2000). Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J.Ethnopharmacol*, 70: 343-349.
18. Özer, Z., Tursun, N., Önen, H. (2001). *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam* (Gıda ve Tedavi), Ankara. 4Renk Yayınları. 133.
19. Khalil, A., Hassawi, DS., Kharma, A. (2005). Genetic relationship among *Salvia* species and antimicrobial activity of their crude extract against pathogenic bacteria. *Asian J Plant Sci*, 4 (5): 544-549.
20. Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., And Katan, M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food. Chem.*, 57: 43-46.
21. Sökmen, A. ve Gürel, E., (2001). Bitki Biyoteknolojisi, Bölüm 7, *Sekonder Metabolit Üretimi*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 211-261.
22. Çelik, E. ve Çelik, G.Y. (2007). Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2): 1-6.
23. Davis, P. H. (1984). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Işık, K., Edinburg University Press, 4: 130-402.
24. Ayanoğlu, F., Mert A., Kaya A. (1999). *Hatay yöresinde halk arasında kullanılan bazı önemli tıbbi ve kokulu bitkilerin tesbiti ve toplanması*, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Antakya-Hatay, 4(1-2):101.
25. Baydar, H. (2005). *Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Basımevi, Yayın No; 51, Isparta, 1-90.
26. Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564–582.
27. Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin, C.Y. and Tsay, H.S. (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture. *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 45: 1–22.
28. Ramachandra, Rao R.S., Ravishankar, G.A. (2002). Plant Cell Cultures: Chemical factories of secondary metbolites. *Biotechnology Advance*, 20, 101-153.
29. Gül, F. (2011). *Mentha villosa nervata bitkisindeki uçucu yağ ve fenolik bileşiklerin izolasyonu, saflaştırılması ve karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 60-65.

30. Galeano, M., Torre V., Deodato B. (2001). Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery*, 129:467-77.
31. Jensen, J.D., Wing, G.J., Dellavalle, R.P. (2010). Nutrition and melanoma prevention. *Clin Dermatol*, 28:644-9.
32. Balasundram, N., Sundram, K., Saman, S. (2006). Phenolic compounds in plants agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
33. Geisman, T.A. (1963). Flavonoid compounds, tanins, lignins and related compounds., in pyroel pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents, M.F.A.E. Stotz, *Elsevier*: New York., 265.
34. Eryılmaz, F. (2007). *Bakır (Cu) uygulanmış mısır (Zea mays L.) fidelerindeki antioksidan aktivitelerin fizyolojik ve anatomik yönden incelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 35-38.
35. Yücel, U, Ötles, S. (2001). Şarabın bileşimi ve beslenmedeki önemi. *Dünya Gıda*, 6-5, 79-82.
36. Nizamlioğlu, M.N., Nas, S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 20-35.
37. Şener, B. ve Toker, G. (1986). Flavonoidlerin eczacılık yönünden önemi, *Marmara Üniversitesi Eczacılar Dergisi*, 2(2):169 183.
38. Taylor, L.P., Grotewold, E. (2005). Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:317-323.
39. Dillard, C.J., German, J.B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health, *J Sci Food Agric.*, 80: 1744-1756.
40. Ross, J.A., Kasum, C.M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr.*, 22:19-34
41. Yılmaz, S. (2012). *Echinops orientalis trauty. bitkisindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, yapı tayini, antioksidan aktivitelerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 45-50.
42. Baytop, T. ve Başer, K. H. C. (1995). *On essential oils and aromatic waters used as medicine in istanbul between 17 th. and 19 th. centuries*-Başer, K. H. C., Ed, flavours fragrances and essential oils-proceedings of the 13 th. International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, İstanbul.
43. Ceylan, A. (1987). *Tıbbi Bitkiler 2 (Uçucu Yağ İçerenler)*, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 481, İzmir, 188.

44. Başer, K.H.C., Kırimer, N., Koşar, M., Tunalier, Z. (2005). *Bitkisel Drogların Kimyasal İncelenmesi, Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı*.Eskişehir, 13-15.
45. Anssen, A.M., Scheffer, J.J., Baerheim, S.A. (1987). Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. aspects of the test methods, *Planta Med.*, 53, 395-398.
46. Evans, W. C. (1996). *Trease and Evans Pharmacognosy*. 14th Edition, WB. Sanders Company, Nottingham, UK., 290.
47. Cheesman, L., Nair J.J., Van Staden, J. (2012). Antibacterial activity of crinane alkaloids from *Boophone disticha* (Amaryllidaceae), *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2):405.
48. Sağıroğlu, M. (2005). *Türkiye Ferula L. (Umbelliferae) cinsinin revizyonu*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1- 85.
49. Heywood, V.H. (1971). *The Biology and chemistry of the Umbelliferae*, Academic Press, New York.
50. Pimenov, M. G., And Leonov, M. V. (2004). The asian Umbelliferae biodiversity database (Asium) with particular reference to south-west Asian taxa, *Turk J. Bot.*, 28:139-145.
51. Özhatay, N., Akalın, E., Özhatay, E., Ünlü, S. (2008). Rare and endemic taxa of Apiaceae in Turkey and their conservation significance. *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, 40.
52. Davis, P. H. (1972). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, 135.
53. Heywood V.H. (1978). Flowering plants of the world, *Oxford Univ. Press* Londra, 239.
54. Güner, E.D. (2006). *Türkiye'deki Seseli L. (Umbelliferae) cinsinin revizyonu*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 52-56.
55. İnternet URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmontana.plant-life.org%2Ffamilies%2FApiaceae.htm&date=2015-08-29>, Son Erişim Tarihi: 29.08.2015.
56. Güner, A. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi*. Damarlı Bitkiler Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ANG Vakfı, İstanbul, 78.
57. Akçoşkun, Ö. (2010). *Eskişehir ili Apiaceae (Umbelliferae) familyası üzerine sistematik ve korolojik bir çalışma*, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Eskişehir.
58. Arasimowicz, M., Floryszak-Wieczorek, J, Milczarek., G, Jelonek T. (2009). Nitric oxide, induced by wounding, mediates redox regulation in *Pelargonium* leaves. *Plant Biol*, 11: 650-663.

59. Çaylak, E., (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1) : 73-83.
60. Aktürk, E. (2010). *Mührüsüleyman (Polygonatum Orientale) bitkisinin in vitro antioksidan kapasitesinin incelenmesi ve bazı vitamin içerikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 30-32.
61. Di Mascio, P., Murphy, M.E., Sies, H., (1991). Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53; 194-200.
62. Yılmaz, S. (2012). *Echinops orientalis trautv. bitkisindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, yapı tayini, antioksidan aktivitelerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 46-48.
63. Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
64. Prior, R. L. and Cao, G. H. (2000). Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity. *Journal of AOAC International*, 83 (4): 950-956.
65. Boyraz, N., Sürel, B. (2004). Bitki hastalıklarına dayanıklılıkta fenoliklerin rolleri. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(34), 56–69.
66. Akdeniz, F., Gökçe, G., Güneş F., Akgöl, S., Yucayurt, G. (2008). *Rhododendron ponticum ve Laurocerasus officinalis bitkilerinin çeşitli kısımlarından elde edilen süperkritik ve akışkan ekstraktlarının fenolik bileşikler açısından analiz ve antioksidan aktivitelerinin tayini*, 6. Akdeniz Analitik Kimya Semineri, Denizli.
67. Hilmi, Ş. (1994). Oksidanlar ve antioksidanlar. *Türk Hastane Tıp Dergisi*. 48 (1-2): 44-9.
68. Avsian-Kretchmer, O., Eshdat, Y., Gueta-Dahan, Y., Ben-Hayyim, G. (1999). Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. *Planta* 209: 469-477.
69. Larson, R.A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27(4); 969-978.
70. Dündar, Y., Aslan, R. (1999). Bir antioksidan olarak vitamin E. *Genel Tıp Dergisi*, 9(3),109–16.
71. Keser, G. (2005) *Nasturtium officinale R. Br.'de kurşunun strese bağlı enzimlerin aktivitelerine, gelişmeye, mineral ve klorofil içeriğine etkileri*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
72. Tousoulis, D., Zisimos, K., Antoniadis, C. (2009). Oxidative stress and inflammatory process in patients with atrial fibrillation: the role of left atrium distension. *Int J Cardiol.*, 136: 258–62.

73. Akkuş, İ., (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri* 62-75.
74. Krinsky, N, I. (1998). The antioxidant and biological properties of the carotenoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 854: 443-47.
75. Giovannuci, E., Asherio, A., Rimm, EB. (1995). Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J. Natl .Can. Inst.*, 87:1767-76.
76. Saran, B., Karahan Z.C. (2010). Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1: 216-20.
77. Shinji, M. (1993). Research on antibiotic screening in japan over the last decade : a producing microorganism approach. *Actinomycetol*, 7:100-106.
78. Lambert, R.J.W., Pearson, J. (2000). Susceptibility testing, accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 784-790.
79. Tassaou, C.C, Nycas, J.E., Scandamis, P.N. (2004). *Herbs and Spices, in and Book of Herbs and Spices*. ch 3, Eds. Peter KV. Woodhead Publishing Ltd. England.
80. Mann, C.M., Markham, J.L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84: 538-544.
81. Eloff, J. N. (1988). Which extractand should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 1-8.
82. Kim, H.O., Park S.W., Park, H.D. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, 21: 105-110.
83. Todar, K. (2008). *Pathogenic E. coli*, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
84. Unat, E. (1982). *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*, Dergah Tıp Yayınları, İstanbul, 1182.
85. Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları)*, 10. Baskı . Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, İstanbul, 63.
86. Tunalı, Y. (2009). *Farmasötik Mikrobiyoloji Uygulamaları*, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, 65.
87. Kayser, H.F., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernagel, R.M. (2002). *Tıbbi Mikrobiyoloji*, Nobel Kitabevi, Genişletilmiş ve gözden geçirilmiş 9. Baskı, 96-98.
88. Virella, G. (1997). *Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları*, Üçüncü Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 97-110, 122-124,

89. Harvey, R. A., Champe, P. C., Fisher, B.D. (2006). *Lippincott's Illustrated Reviews: Mikrobiyoloji*, Nobel Tıp Kitapevleri, 161-418.
90. Cohen, M.J., Tauxe, R.V. (1986). Drug resistant *Salmonella* in the United States :an Epidemiologic Perspective, *Science*, 234 : 964-969.
91. Erdem, B. (1999). “*Pseudomonaslar*”, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 551-559.
92. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E. (2006). *The Prokaryotes* 3rd Ed., Springer Press, 1182.
93. Khamaneh, A.M., (2001). *Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (esml) üreten ve üretmeyen klepsiella pneumoniae kökenlerinde plazmid profillerinin saptanması ve antibiyotik duyarlılık sonuçları ile ilişkisinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1-55.
94. Granum, P. E., Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters*, 157: 223-228.
95. Brooks, F., Butel, J., ve Morse, S., (1998). Medical microbiology, appleton & lange. *Connecticut*, 740.
96. Tatçı, Ç. (1999). *Bazı Bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 35.
97. Naglik, J., R., Moyes, D., L., Wactler, B., Hube, B. (2011). *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes and Infection*, 13: 963-976.
98. Tümbay, E. (1999). *Candida Türleri*. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi, 1081- 1086.
99. Wingard, J.R., Merz, W.G., Rinaldi, M.G., Johnson, T.R., Karp, J.E., Saral, R. (1991). Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *N Engl J Med.*, 325: 1274-1277.
100. Pfaller, M.A., Diekema, D.J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol.*, 20(1): 133-163.
101. Abi-Said, D., Anaissie, E., Uzun, O., Raad, I., Pinzcowski, H., Vartivarian S. (1997). The epidemiology of hematogenous Candidiasis caused by different *Candida* species. *CID.*, 24: 1122-1128.
102. Niemeyer, C. M. (2001). Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie International Education*, 40, 4129.
103. Waud, W.R. (1995). Cancer chemotherapeutic agents. Washington. Am. *Chem. Soc.* 121– 33.

104. Barton, J.K. (1986). *Science*, 233 727-734.
105. Tullius, T.D., Greenbaum, J.A. (2005). Mapping nucleic acid structure by hydroxyl radical cleavage. *Curr. Opin.Chem. Biol.*, 9, 127-134.
106. Palchaudhuri, R.,Hergenrother, P.J. (2007). DNA as a target for anticancercompounds : methods to determine the mode of binding. 18(6):497-503.
107. Sirajuddin, M., Ali S., Badshah, A. (2013). Drug-DNA interactions and their study by UV-visible fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
108. Ellis, P.A., Simith, I.E., Mc Carthy, Detre, S., Salter, J., Dowsett, M. (1997). Preoperative chemotherapy induces apoptosis in early breast cancer. *Lancet*, 349 (9055): 849.
109. D'Andrea, G. M. (2005). Use of antioxidants during chemotherapy and radiotherapy should be avoided. *CA Cancer Jornal for Clinicians*, 55(5), 319-321.
110. Blumenthal, R. D., Lew, W., Reising, A., Soyne, D., Osorio, L., Ying, Z., Goldenberg, D.M. (2000). Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *International Jurnal of Cancer*, 86(2), 276-280.
111. Mills, E. E., (1988). The modifying effect of beta-carotene on radiation and chemotherapy induced oral mucositis. *British Journal of Cancer*, 57(4):416-417.
112. Abu, J., Batuwangala, M., Herbert, K., Symonds, P. (2005). Retinoic acid and retinoidreceptors: potential chemopreventive and therapeutic role in cervical cancer. *Lancet Oncology*, 6(9), 712-720.
113. Radulović, N. S., Mladenović M.Z., Stojanović-Radić Z.Z Synthesis of small libraries of natural products: New esters of long-chain alcohols from the essential oil of *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae) , 29(4), 255-266.
114. Uğuz, M.T. (2011). Bazı aromatik bitki türlerinin metanol ekstralarının antibakteriyal aktiviteleri. *Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(2).
115. Thiem, B., Goślińska, O., Kikowska, M., Budzianowski, J. (2010). Antimicrobial activity of three *Eryngium* L. species (Apiaceae). *Herba polonica* No. 4.
116. Khaldun, A. (2006) Antibacterial action of ether oils of some plants. *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.*, (3):92-3.
117. Ashour, M. L., El-Readi, M., Youns, M., Mulyaningsih, S., Sporer, F, Efferth, T., Wink, M. (2009). Chemical composition and biological activity of the essential oil obtained from *Bupleurum marginatum* (Apiaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61,1079-1087.
118. Tosun, A., Özkal, N. (2003). *Seseli* L. (Umbelliferae) türlerinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 32(4), 269-284.

119. Yurtseven, L., Albayrak S., Yaşar, A., Aksoy, A. (2012). *Heracleum argaeum*'un *in vitro* antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi Ege Üniversitesi, İzmir.
120. Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*. 83: 371-382.
121. Ahmed, J., Güvenç, A., Küçükboyacı, N., Baldemir, A., Coşkun, M. (2011). Total phenolic contents and antioxidant activities of *Prangos* Lindl. (Umbelliferae) species growing in Konya province (Turkey). *Turk J Biol* 35 353-360.
122. Tümen, G., Başer, K.H.C. (1997). Composition of the essential oil of *Scandix australis* L. subsp. *grandiflora* (L.) Thell. *J. Essent. Oil Res.* 9, 335-336.
123. Kaya, A., Demirci, B., Başer, K.H.C. (2007). Study of the essential oils from the flowers and fruits of *Scandix iberica* Bieb. growing in Turkey. *Essent. Oil Res.* 19, 155–156.
124. Velasco-Negueruela, A., Perez-Alonso, M.J., Burzaco, A. (1991). Chemical constituents of the volatile oil of *Scandix australis*. *J. Essent. Oil Res.* 3, 469-470.
125. Li Q.L., Huang J., Wang Q., Jiang N., Xia C.Q., Lin H.H., Wu J., Yu X.Q. (2006). Monometallic complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane containing an imidazolium side: synthesis, characterization and their interaction with plasmid DNA. *Bioorganic And Medicinal Chemistry*. 14(12), 4151-4157.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÜSTÜNDAĞ, Merve
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 06.12.1983, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (554) 718 20 85
 e-mail : merveustundag2@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /F.B.E	Devam Ediyor
Lisans	Balıkesir Üniversitesi / N.E.F	2008
Lise	Ankara Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2008-Halen	M.E.B	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Yayımlar

-

Hobiler

Kitap okumak, Sinema, Yemek yapmak.



GAZİ GELECEKTİR..