

TC.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADİYAMAN AKDAĞ (TUT-ERKENEK) BÖLGESİNDEN
TOPLANAN BAZI BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ

Tezi Hazırlayan
Mustafa Gültekin

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Şahlan Öztürk

Moleküler Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Temmuz 2020
NEVŞEHİR

TC.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADİYAMAN AKDAĞ(TUT-ERKENEK) BÖLGESİNDEN
TOPLANAN BAZI BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ

Tezi Hazırlayan
Mustafa Gültekin

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Şahlan Öztürk

Moleküler Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Temmuz 2020
NEVŞEHİR

Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK danışmanlığında Mustafa GÜLTEKİN tarafından hazırlanan " Adıyaman Akdağ (Tut-Erkenek) Bölgesinden Toplanan Bazı Bitkilerin Antioksidan ve Antibakteriyel Aktiviteleri" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

14/07 /2020

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Serkan YILMAZ

Üye : Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Musa KAR

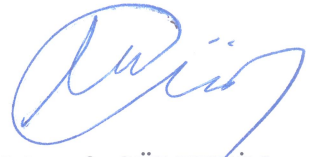
ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun. 16/07.2020.....tarih ve 2020.26.153 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

16/07/2020
Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Mustafa GÜLTEKİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda hiçbir yardımı esirgemeyen, zamanımı en verimli şekilde kullanmamı sağlayan değerli danışmanım Prof. Dr. Şahlan Öztürk hocama,

Çalışmamın en önemli kısmı olarak nitelendirdiğim bitkilerin temini kısmında en büyük destek kaynağım babam Zeki Gültekin ve kıymetli büyüğüm değerli Cuma Çakmak'a,

Bu zorlu süreçte psikolojik desteklerini hiç esirgemeyen ablam Tuğba İnce'ye, kardeşim Soner Gültekin ve annem Meryem Gültekin'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunmaktan onur duyuyorum...

**ADİYAMAN AKDAĞ (TUT-ERKENEK) BÖLGESİNDEN TOPLANAN
BAZI BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL
AKTİVELERİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

MUSTAFA GÜLTEKİN

**NEVŞEHİR HACİBEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

Temmuz 2020

ÖZET

Bu çalışmada, Adıyaman (Tut) ile Malatya (Erkenek kasabası) illeri arasında bulunan Akdağ'dan toplanan dokuz farklı bitki türüne (*Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Centranthus longiflorus* Steven, *Cynoglossum* sp., *Equisetum ramosissimum* Desf., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Micromeria fruticosa*, *Stachys lavandulifolia* Vahl. ve *Tanacetum densum* (Labill) Sch. Bip.) ait etanol ekstraktları üzerinde antioksidan ve antibakteriyel aktivite testleri uygulanmıştır. DPPH serbest radikali süpürme testi, metal iyonları şelatlama testi ve biyoaktif içeriklerin tayin testleri (total fenolik içerik tayini, β -karoten miktar tespiti ve likopen miktar testleri) ile bitkilerin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. DPPH serbest radikali süpürme aktivitesi en yüksek tür *Helichrysum arenarium* (IC₅₀: 43,29 μ g / mL) türü olmuştur, en düşük aktiviteyi ise *Equisetum ramosissimum* (IC₅₀: 191,25 μ g / mL) türü göstermiştir. Metal iyonları şelatlama aktivite testinde en iyi aktiviteyi *Achillea coarctata* (IC₅₀: 0,85 mg / mL) türü, en düşük aktiviteyi ise *Equisetum ramosissimum* (IC₅₀: 2,8 mg / mL) türü göstermiştir. Total fenolik içerik miktarı en yüksek tür *Micromeria fruticosa* (36,66 mg / g) iken, en düşük tür *Achillea coarctata* (18,98 mg / g) türüdür. β -karoten miktarı en yüksek tür *Achillea coarctata* (113,66 μ g / g) türü iken, en düşük β -karoten miktarına ise *Micromeria fruticosa* (48,1 μ g / g) türü sahiptir. Likopen miktarı en yüksek tür *Helichrysum arenarium* (69,59 μ g / g) türü iken, en düşük likopen miktarına ise *Micromeria fruticosa* (47,98 μ g / g) türü sahiptir. *Achillea clusiana*, *Achillea coarctata*, *Helichrysum arenarium* ve *Stachys lavandulifolia* türleri yüksek antibakteriyel etki göstermiştir. Bu türler arasında ise

Achillea coarctata ve *Helichrysum arenarium* türleri yüksek antioksidan ve yüksek antibakteriyel etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Antioksidan, Antibakteriyel, Achillea coarctata, Helichrysum arenarium*



**ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF SOME
PLANTS COLLECTED FROM ADIYAMAN AKDAĞ (TUT-ERKENEK)
REGION**

(M. Sc. Thesis)

Mustafa GÜLTEKİN

NEVSEHIR HACIBEKTAS VELI UNIVERSITY SCIENCE INSTITUTE

July 2020

ABSTRACT

In this study, antioxidant and antibacterial activities of nine different ethanolic extracts belonging to plant species (*Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Centranthus longiflorus* Steven, *Cynoglossum* sp., *Equisetum ramosissimum* Desf., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Micromeria fruticosa*, *Stachys lavandulifolia* Vahl. ve *Tanacetum densum* (Labill) Sch. Bip.) from the mountain Akdağ, which is located between Adıyaman (Tut) and Malatya (Erkenek town) provinces, were investigated. The antioxidant activities of plants were investigated by DPPH free radical scavenging test, metal ions chelation test and bioactive content determination tests (total phenolic content determination, β -carotene content determination and lycopene content tests). DPPH free radical scavenging activity of *Helichrysum arenarium* (IC₅₀: 43,29 μ g / mL) has the highest, and *Equisetum ramosissimum* (IC₅₀: 191,25 μ g / mL) has the lowest activity. In the metal ions chelating activity test, the best activity was detected at *Achillea coarctata* (IC₅₀: 0.85 mg / mL) and the lowest activity was detected at *Equisetum ramosissimum* (IC₅₀: 2.8 mg / mL). While *Micromeria fruticosa* (36,66 mg / g) has the highest amount of total phenolic content, *Achillea coarctata* (18.98 mg / g) has the lowest content. The highest amount of β -carotene was detected at *Achillea coarctata* (113,66 μ g / g), lowest β -carotene was detected at *Micromeria fruticosa* (48,1 μ g / g). While the highest amount of lycopene was detected at *Helichrysum arenarium* (69,59 μ g / g), *Micromeria fruticosa* (47,98 μ g / g) has the lowest lycopene amount. *Achillea clusiana*, *Achillea coarctata*, *Helichrysum arenarium* and *Stachys lavandulifolia* species showed high

antibacterial effects. As a result, among these species, *Achillea coarctata* and *Helichrysum arenarium* species showed high antioxidant and high antibacterial effects.

Keywords: *Antioxidant, Antimicrobial, Achillea coarctata, Helichrysum arenarium*



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	I
TEZ BİLDİRİM SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XII
RESİMLER LİSTESİ.....	XIII
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	XIV
1. BÖLÜM	
GİRİŞ.....	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Antioksidanlar.....	4
2.2. Eksojen Kaynaklı Doğal Antioksidanlar.....	5
2.2.1. Fenolik Maddeler.....	5
2.2.2. Flavanoidler.....	5
2.2.3. Askorbik Asit.....	6
2.2.4. Vitamin E.....	7
2.2.5. Karotenoidler.....	8
2.3. Sentetik Antioksidanlar.....	10
2.3.1. PG.....	10
2.3.2. BHA.....	11
2.3.3. BHT.....	11
2.3.4. TBHQ.....	12

2.4. Antibakteriyel Etki.....	13
2.4.1. Dilisyon Yöntemi.....	13
2.4.2. Difüzyon Yöntemi.....	14
2.5. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri.....	14
2.5.1. <i>Achillea clusiana</i> Tausch.....	15
2.5.2. <i>Achillea coarctata</i> Poir.....	16
2.5.3. <i>Centranthus longiflorus</i> Steven.....	17
2.5.4. <i>Cynoglossum</i> sp.	18
2.5.5. <i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	19
2.5.6. <i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench.....	20
2.5.7. <i>Micromeria fruticosa</i>	21
2.5.8. <i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.....	22
2.5.9. <i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.....	23
3. BÖLÜM	
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	24
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	24
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Mikroorganizmaları.....	24
3.2. Metot.....	25
3.2.1. Ekstraksiyon İşlemleri.....	25
3.2.2. DPPH Serbest Radikali Süpürme Testi.....	26
3.2.3. Metal İyonları Şelatlama Testi.....	28
3.2.4. Biyoaktif İçeriklerin Belirlenmesi.....	29
3.2.4.1. Total Fenolik Bileşiklerin Miktarının Tespiti.....	29
3.2.4.2. β -Karoten ve Likopen Bileşik Miktarının Tespiti.....	30
3.2.5. Antibakteriyel Aktivite Testleri.....	30
3.2.5.1. Mikroorganizmaların Kültür Ortamları.....	30
3.2.5.2. Antibakteriyel Etki.....	31

3.2.5.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	32
3.3. İstatiksel Veri.....	33
4.BÖLÜM	
Bulgular.....	34
4.1. Bitkilerin Toplandığı Bölgeler.....	34
4.2. DPPH Serbest Radikali Süpürme Aktivitesi.....	35
4.3. Metal İyonları Şelatlama Aktivitesi.....	36
4.4. Biyoaktif İçeriklerin Tayini.....	37
4.5. Antibakteriyel Etki.....	38
4.6. Test Bakterilerine Karşı Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	40
5.BÖLÜM	
TARTIŞMA.....	42
5.1. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi.....	42
5.2. Metal İyonları Şelatlama Aktivitesi.....	44
5.3. Biyoaktif İçeriklerin Tayini.....	45
5.4. Antibakteriyel Etki.....	47
SONUÇ.....	50
KAYNAKLAR.....	53

TABLÖLAR LİSTESİ

4.1 Bitkilerin Toplandığı Bölgeler.....	33
4.2 Bitki Ekstrelerinin DPPH Süpürme Yetenekleri ve IC ₅₀ Değerleri.....	34
4.3 Bitki Ekstrelerinin Metal İyonları Şelatlama Aktivitesi ve IC ₅₀ Değerleri.....	35
4.4 Biyoaktif İçerik Miktarları.....	36
4.5 Bitki Ekstrelerinin Antibakteriyel Aktiviteleri.....	38
4.6 Antibiyotik Disklere Karşı Direnç.....	40



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Flavonoidlerin genel moleküler yapısı.....	6
Şekil 2. Askorbik asidin moleküler yapısı.....	7
Şekil 3 α - tokoferolün moleküler yapısı.....	8
Şekil 4 β -Karoten bileşiğinin moleküler yapısı.....	9
Şekil 5 Likopen bileşiğinin moleküler yapısı.....	9
Şekil 6 PG moleküler yapısı.....	10
Şekil 7 BHA moleküler yapısı.....	11
Şekil 8 BHT moleküler yapısı.....	12
Şekil 9 TBHQ moleküler yapısı.....	12

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1 <i>Achillea clusiana</i> Tausch.....	15
Resim 2 <i>Achillea coarctata</i> Poir.....	16
Resim 3 <i>Centranthus longiflorus</i> Steven.....	17
Resim 4 <i>Cynoglossum</i> sp.....	18
Resim 5 <i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.....	19
Resim 6 <i>Micromeria fruticosa</i>	20
Resim 7 <i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench.....	21
Resim 8 <i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.....	22
Resim 9 <i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.....	23
Resim 10 Soxleth düzeneği.....	25
Resim 11 Evoperatör cihazında uçurma işlemi.....	26
Resim 12 <i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl. türü için DPPH uygulaması.....	27
Resim 13 <i>Achillea coarctata</i> Poir türü için metal iyonları şelatlama testi.....	28
Resim 14 <i>Achillea coarctata</i> Poir türü için total fenol testi.....	29
Resim 15 Çalışmada kullanılan patojenik test bakterileri (yatık agar).....	31
Resim 16 <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698 için bitki ekstresi uygulamaları.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

DNA: Deoksiribonükleik Asit

yy.: Yüzyıl

ATP: Adenozin Trifosfat

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

ROT: Reaktif Oksijen Türevleri

BHT: Bütillenmiş Hidroksi Toluen

BHA: Bütillenmiş Hidroksi Anisol

TBHQ: Tersiyer Bütihidroksikinon

PG: Propil Gallat

C₆ – C₃ – C₆ : Karbon - 6 - Karbon - 3 -Karbon 6

Fe⁺³: Demir artı 3

Fe⁺²: Demir artı 2

NaCl: Sodyum Klorür

Na₂CO₃: Sodyum Karbonat

ATCC: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu

g: Gram

mg: Miligram

µg: Mikrogram

mL: Mililitre

µL: Mikrolitre

ppm: Milyonda bir

mM: Milimolar

nm: Nanometre

%: Yüzde

mm: Milimetre

IC₅₀: Yüzde elliye inhibe eden konsantrasyon

UV: Ultraviole

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

δ : Delta

FDA: Amerikan gıda ve ilaç dairesi

°C: Santigrat derece

MİK: Minimal inhibisyon konsantrasyonu

sp. : Alttür

AMC10: Ampisilin

E15: Erythromcin

CN10: Gentamisin

CFM5: Cefiksim

OX1: Oksalisin

P10: Penisilin

CRO30: Ceftriakson

AMC30: Amoksilin

CXM30: Cefuroksim

FOX30: Cefoksitin

1.BÖLÜM

GİRİŞ

Geçmişten günümüze bitkiler hastalıkları tedavi etme amacıyla birçok kez tercih edilmiştir. Antik çağlarda hemen herkes pek çok otu çay olarak veya besin olarak tanıyor ve kullanıyordu. Bunun yanı sıra, baharat, kozmetik veya diğer amaçlarla da bitkiler insan yaşamının önemli bir parçasıydı[3]. Antik Mısır'da kendisinden ilaç yapılan maddeler arasında çeşitli bitkileri, çeşitli maden ve taşları ve hayvanların bazı uzuvlarını sayabiliriz[1]. O dönemlerde bitkilerin çeşitli kimyasal olmayan metotlarla yağlarını ve özlerini çıkararak kullanımı gerçekleştirilmiştir. Bazı bitkilerden merhemler yapılmıştır. Yara iyileşmesinde ve ameliyat çalışmalarında hayvansal ve bitkisel ürünler kullanılmıştır. Günümüze ulaşan verilere göre en çok tıbbi ilaç kullanımı ve yapımı Antik Mısır döneminde gerçekleşmiştir[1]. Antik Mısır'da mumyalama çalışmalarında çürümüş mür otu, çeşitli aromatikler, palmiye yağı ve bazı baharatlar kullanılmıştır[2].

Antik Yunanlılar da bazı bitkilerden ilaçlar üretmiş ve bu ilaçları da çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanmışlardır. Yunan hekimler, kök sökücüler tarafından yıllar boyu toplanan bitkisel drogları kullanmaktaydı. Bunlar, bitki ve kökleri tıpta olduğu kadar büyücülükte de kullanmak için toplamışlar ve bir müddet sonra bunların etkileri hakkında zengin bilgi sahibi olmuşlardır[3]. Mezopotamya uygarlıklarındaki hekimler göz hastalığını çok yakından incelemişler ve bu hastalıkları iyileştirmek için göz banyoları, merhemler ve çeşitli yağlar kullanmışlardır[4]. Göz hastalıklarına karşı birtakım otları kaynatarak yağ içerisinde bir merhem yaptıkları ya da bakır madenini arpa suyuna karıştırarak bununla hasta gözü yıkadıkları öğrenilmiştir[5].

İslamiyet Öncesi Türklerde tıbbi ilimlerde dini sembollerden biri olan şamanlar uzmanlaşmıştı. Şamanlar psikolojik yöntemleri kullanarak tedavi etmişlerdir. İlaçla tedavi eden hekimlere ise otacı denmekteydi. Kaşgarlı Mahmud, ansiklopedik büyük lûgatında otacıyı şöyle açıklamıştır. Ot = bitki,

ilâç bundan dolayı hekime otacı denir. "Otamak" ise tedavi etmektir. Otacılar, Yusuf Has Hâcib'in Kutadgu Bilig eserinde şu şekilde ifade edilmiştir. *"Otacı'nın sözüne göre, ilâç alınırsa, hastalığa iyi gelir, afsuncu'nun sözüne göre muska taşırsan, cinler senden uzaklaşır"*. Otacılar için ilaç hazırlayanlara ise idişçi denmektedir. Günümüzde eczacılara karşılık gelmektedir. İdişçiler genel olarak içecek formda ilaçları hazır bulundururlardı. Her çeşit bitkiyi kendi bilgileriyle, hastalığa bağlı olarak karıştırıp ilaç hazırlamakla görevlilerdir[6].

İslamiyet'ten sonra ise İbn-i Sina, Buruni gibi büyük Türk tabipleri yetiştirilmiştir. Kullandıkları yöntemler ve bitkisel ilaçlar günümüz modern tıbbına ışık tutmuştur.

Yıllar içinde mikroskobun keşfi ve geliştirilmesi neticesinde hücreler ve hücre tipleri keşfedilmiştir. Keşfedilen hücrelerdeki; metabolik faaliyetler, hayatta kalma mücadelesi, üreme, boşaltım vs. gibi birçok konu araştırılıp biyoloji ve tıp biliminin hizmetine sunulmuştur. Zamanla birçok hastalığa sebep olan patojenler keşfedilmiştir. Zamanla mikroorganizmalar keşfedilip hücresel yapıları aydınlatılmıştır. Bitkilerde olduğu gibi mikroorganizmalarda tiplerine bağlı olarak sınıflandırılmıştır.

Elektron mikroskobunun icadı moleküler bilimin ortaya çıkışını sağlamıştır. DNA'nın keşfi ile birçok hastalığın DNA'ya bağımlı olduğu anlaşılma da başlanmıştır. DNA üzerindeki en küçük kusur dahi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. İnsan genom projesinin tamamlanması ile genetik organizasyon çok daha net anlaşılmıştır. Kanser gibi ölümcül hastalıkların keşfedilmesi ile birçok hücresel organizasyonun zarar gördüğü, normal de yapması gereken işin dışında bir iş ile uğraştığı, çevresindeki sağlıklı hücreleri rahatsız ederek onları da kanserleştirdiği gibi birçok yeni alan XXI. yy. başlarında keşfedilmiştir. Bu süreç içerisinde hücre ölüm mekanizmaları da incelendiğinde tüm bu olayların DNA, kanserojen (kansere sebep olan madde), hücre ölüm yolağı ve mitokondri ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur. Organizmada gerçekleşen birtakım reaksiyonlar sonucunda

eşlenmemiş elektronu bulunan birtakım moleküllerin varlığına ulaşılmıştır. Bu reaksiyonlar, normal olarak organizmada gerçekleşmesine rağmen popülasyonlar arası ifade yüzdesindeki artış yüzünden güncel hayatta kanser gibi hastalıklara yakalanmamıza sebep olmaktadır. Organizma belli bir düzeye kadar kontrol sağlayabilirken, bu miktarın üstüne çıkılması sonucunda kanser ortaya çıkmaktadır.

Kansere sebep olan bazı maddeler fiziksel, kimyasal, viral ve hormonal kaynaklı olabilmektedir. Organizmada normal olarak gerçekleşen metabolik reaksiyonlar neticesinde serbest radikallerin veya hormonsal bozukluklar neticesinde ortaya çıkan kanser tipleri günümüzde hala araştırılmaktadır. Genel olarak serbest radikaller DNA hasarlarına yol açtığı gibi gen ürünlerine de zarar vererek hücrel organizasyonun bozulmasında önemli bir faktör olarak nitelendirilmektedir. Serbest radikaller, son yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran ve bu açığı kapatabilmek için başka bileşiklerin elektronlarını almaya çalışan reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türevleri (ROT/RNT) gibi atom veya bileşiklerdir[9]. Oksijen türevli olan bu maddelere oksidan adı verilmiştir. Mitokondri ATP üretiminin yanı sıra oksidatif fosforilasyon ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretildiği ve bunun bir sonucu olarak oksidatif hasara en yoğun olarak maruz kalan organeldir[7]. Bu maddelerin etkilerini azaltabilen veya ortadan kaldırabilen maddelere ise antioksidan denmektedir.

Bitkiler; günümüz teknolojisi ile incelenince antioksidan aktivite gösterdiği ve çeşitli kanser hastalıklarında pozitif etkiye sahip oldukları bilinen bir gerçektir. Bu gibi maddeler, bitkisel ürünlerin içerisinde belirli miktarlarda bulunmaktadır. Farmakoloji(ilaç bilimi) alanında bu özellikleri sebebiyle de bitkiler, ilaç sanayiinin vazgeçilmez hammaddelerindendir.

Bitkilerin hayatsal fonksiyonlarını gerçekleştirmek için ürettiği moleküllere primer metabolitler denmektedir. Primer metabolitlerin dışında bitkilerin ürettiği aromatik içerikteki bileşenlere ise sekonder metabolitler denmektedir. Sekonder metabolitler içerisinde fenolik bileşikler, alkaloidler,

terpenoidler, glikozitler, ribozomal olmayan peptitler gibi özel bileşikler antioksidan özellik ve antibakteriyel özellik gösteren bazı bileşik çeşitleridir[8].

Antioksidanların bu özellikleri keşfedildikten sonra gıda sanayiinde kullanımı artmıştır. Birtakım yöntemlerle yapay antioksidanlar koruyucu özelliklerinden dolayı katkı maddeleri olarak gıda sanayiinde kullanılmaktadır. Bitkilerin doğal olarak ürettiği sekonder metabolit olarak bilinen, antioksidan özellik gösteren bileşenleri de vardır. Antioksidanların bitkiler tarafın üretilen türlerine doğal antioksidanlar, kimyasal yöntemlerle üretilenlerine ise sentetik antioksidanlar denmektedir.

Bitkilerin sekonder metabolitleri arasında mikroorganizmaların üremesi ve ortamda baskın tür olmasını engelleyen doğal antibiyotik özellik gösteren türlerin olduğu bilinmektedir. Bu tür özellik gösteren bitkiler farmakolojik açıdan oldukça değerlidirler.

Bu çalışmanın amacı; Adıyaman (Tut-Erkenek) Akdağ'dan temin edilen bitkilerin biyoaktif içeriklerin belirlenmesi, metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikal kirliliğinin azami sınıra indirilmesi, ilaç sanayiinde kullanılan kimyasal materyallerin doğal kaynaklı alternatiflerinin keşfedilmesi ve bitkisel alternatif tıbbın günümüz teknolojisi ile tedavi etme potansiyel gücünün ortaya konmasını amaçlamaktadır.

2.BÖLÜM

Genel Bilgiler

2.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar sentetik ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır. Doğal antioksidanlar kendi içinde enzimatik etki gösteren ve enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar olarak iki grupta ele alınmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise endojen ve eksojen olarak iki kısımdan oluşur[46]. Yapay yollarla elde edilen sentetik antioksidanlar ise; BHT, BHA, TBHQ, PG ve çeşitli şelat oluşturuıcı maddeler olarak sıralanabilir. Bu kısımda

çalışmamız açısından paha biçilmez olan eksojen kaynaklı antioksidanlar ve sentetik antioksidanlardan bahsedilmektedir.

2.2. Eksojen Kaynaklı Doğal Antioksidanlar

Eksojen kaynaklı doğal antioksidanlar; fenolik maddeler, flavanoidler, askorbik asit, vitamin E, Karotenoidler gruplarına dâhil edilen bileşikler sayılabilir. Bu bileşikler doğada genellikle bitkiler tarafından üretilirler. Birçoğunun memeliler tarafından üretimi gerçekleşmemektedir. Daha önce de bahsettiğimiz üzere bitkilerin hayatsal fonksiyonlarını idame ettirdikleri maddeler dışındaki maddelere sekonder metabolitler denir. Antioksidan özellik gösteren maddeler de sekonder metabolitler arasında gösterilmektedir.

2.2.1. Fenolik Maddeler

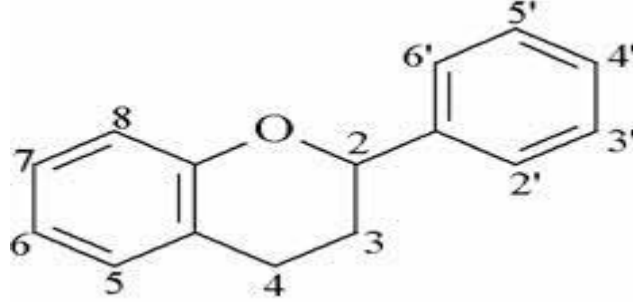
En az bir aromatik halkaya sahip ve buna bağlı bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren kimyasal bileşenlerdir. Bitkilerde yaygın olarak bulunan bu maddeler bitki metabolizmasında sekonder metabolit olarak üretilir. İnsanlar fenolik bileşikler üretmezler. Bu nedenle, bu bileşikler esas olarak günlük diyet yoluyla alınmalıdır[10].

Polifenolik bileşikler potansiyel antioksidan bileşiklerdir ve serbest radikalleri önleyerek, metal iyonlarıyla bağ kurarak ve lipid peroksidasyonunu önleyerek işlev görürler[11]. Bitki fenoller, redoks özelliğinden dolayı tepkimelerde indirgeyici ajan hidrojen verici, tekli oksijen önleyici ve metal şelatlayıcı olarak etkilerini gösterirler[12]. Bu özellikler fenolik maddelerin yüksek antioksidan kapasitelerinin olduğunu göstermektedir. Fenolik içerik tayini antioksidan testlerde bu sebeplerden oldukça önemlidir.

2.2.2 Flavonoidler

Bitki fenollerinin en yaygın grubunu oluşturlar. Flavonoidler, C6-C3-C6 konfigürasyonda düzenlenmiş 15 karbon atomunu kapsayan, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. 6 karbonlu A, B ve 3 C'lu C halkalarından oluşan

heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlayarak, B halkasındaki karbon atomları ise üssü (') rakamlarla numaralandırılır[13].



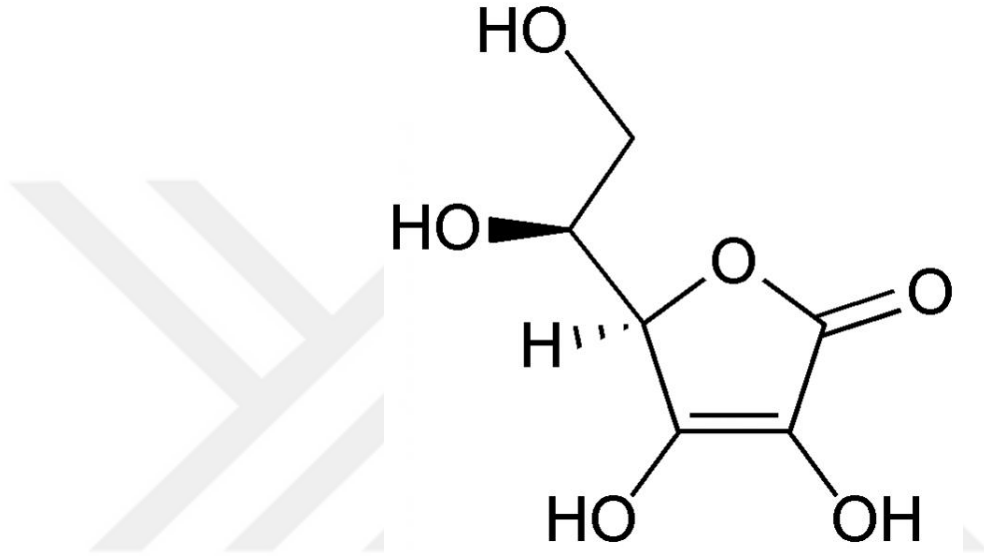
Şekil 1 Flavonoidlerin genel moleküler yapısı[77]

Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi vardır. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grubu içerirler[14]. Bağ yapabilme kapasiteleri oldukça yüksek olduğundan dolayı antioksidan kapasite testlerinde önemli bir yer tutmaktadır. Metal iyonları bağlama kapasiteleri oldukça yüksektir.

2.2.3 Askorbik Asit

C Vitamini; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalini nötralize eden, suda çözünür bir antioksidandır[15]. C vitamini bitkilerin kloroplastlarında fotosentez sonucu sentezlenirken birçok hayvanın karaciğer ve böbreklerinde glikoz monomerlerinden sentezlenmektedir[16]. İnsanlar vitamin C'yi vücutta sentezleyemezler[17]. Bunun nedeni insanlarda askorbik asit sentezi için esansiyel olan l-gulonolakton oksidaz enziminin olmayışındır. C vitamini suda çözündüğünden depo edilemez ve fazlası idrarla dışarı atılır. Bu yüzden günlük gereksinimlerini sebze ve meyve tüketerek karşılamaktadırlar[18]. C vitamini süper oksit, singlet oksijen ve ozon gibi reaktif oksijen türlerini; azot dioksit, peroksinitrit gibi reaktif azot türlerini ve hipoklorik asit gibi reaktif klor türlerini kolay bir şekilde süpürür ve

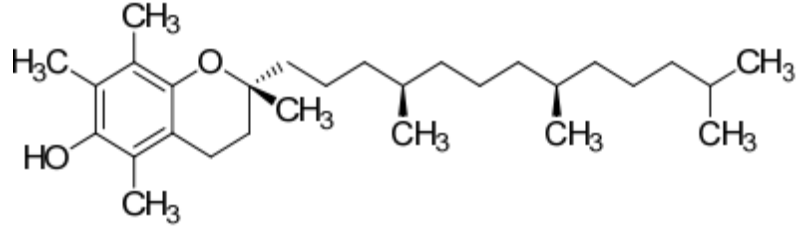
substratlarını oksidatif hasarlardan korurlar[19]. Vitamin C, fenton reaksiyonlarında Fe^{+3} , Fe^{+2} 'ye dönüştürerek antioksidan özellik de gösterir [20]. Ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanserler ve sinirsel rahatsızlıklar gibi dejeneratif hastalıkların riskini azaltmada, serbest radikallerin indüklediği DNA hasarlarını önlemede ve katarakt gelişimine neden olan oksidanları yok etmede önemli role sahiptir[21].



Şekil 2 Askorbik asidin moleküler yapısı[78]

2.2.4. Vitamin E

Vitamin E yüksek antioksidan kapasitesi olan ve yağda çözünmesi sebebiyle karaciğerde depo edilebilen bir moleküldür. Doğada tokoferol α , β , γ , δ olmak üzere dört farklı biçimde bulunmaktadır. En yaygın ve en etkin formu d- α -tokoferol şeklidir. Eşleşmemiş elektronlarla tepkimeye giren ve indirgeyebilen hidroksil grubunu içermektedir[22]. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubundaki aromatik halka moleküle antioksidan özelliği sağlar[24]. α -tokoferol gibi antioksidanlar, serbest radikalleri ve lipid peroksit radikallerini temizleyerek onların vücutta yaptıkları hasarı onarırlar[23].



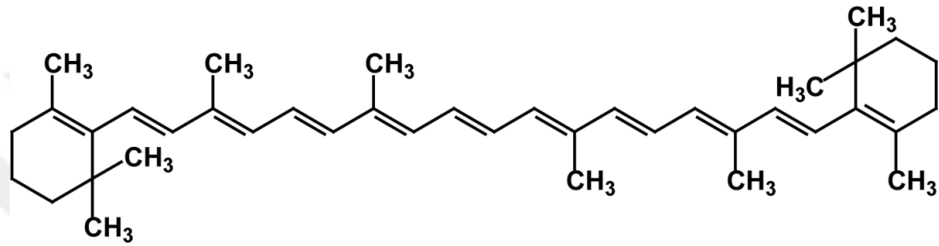
Şekil 3 α - tokoferolün moleküler yapısı[79]

Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Yaşlı kişilere Vitamin E ve C takviyesinin ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır[25]. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Buna bağlı olarak glutatyon peroksidaz, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller[13]. Ayrıca lipid peroksidasyonuna karşı savunma yaptığı ve hücre zarlarını da serbest radikal saldırısına karşı koruduğu düşünülmektedir[26].

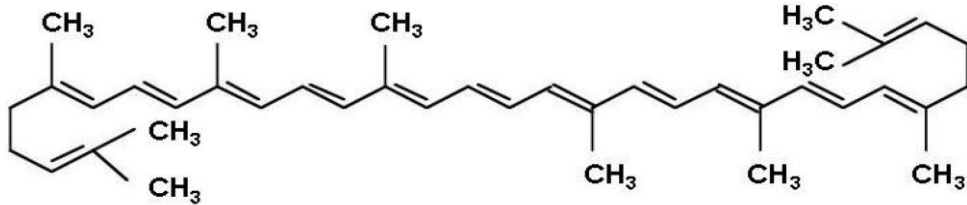
2.2.5 Karotenoidler

Bitkisel ve hayvansal dokularda rastlanan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Yağda çözünebilen bileşikler olduklarından dolayı depo edilebilirler. Karotenoidler özellikle sarı ve koyu yeşil renkli meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Gıdalarda bulunan karotenoidler, sekiz izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşmuş likopen türevi polienlerdir[27]. Karotenoidler, özellikle likopen, güçlü singlet oksijen süpürücü olarak rol oynarlar; hücre ve diğer vücut elemanlarını serbest radikallerin saldırılarından korurlar[11]. Karotenoidler, iki ana sınıftan oluşmaktadır. Bunlar; 40 karbon atomlu çoklu doymamış hidrokarbonlar (karotenler) sınıfında yer alan likopen, β -karoten, α -karoten olarak, doymamış hidrokarbonların oksijenli türevleri (ksantofiller) sınıfında yer alan β -kriptoksantin, lutein, zeaksantin olarak adlandırılırlar[14].

Karoten sınıfında yer alan β -karoten, provitamin olarak kabul edilen karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesidir, çünkü aktif vitamin A'ya dönüştürülebilirler. Karoten, karotendioksigenaz enziminin merkezdeki çift bağını koparmasıyla A vitaminine dönüşür[27]. β -Karoten, görme için gerekli olan retinole dönüştürülür. Karotenoidler yapılarındaki konjuge bağlar sayesinde oldukça güçlü antioksidanlardır ve singlet oksijenin yıkıcı etkilerini inhibe ederler[28].



Şekil 4 β -karoten bileşiğinin moleküler yapısı[80]



Şekil 5 Likopen bileşiğinin moleküler yapısı[81]

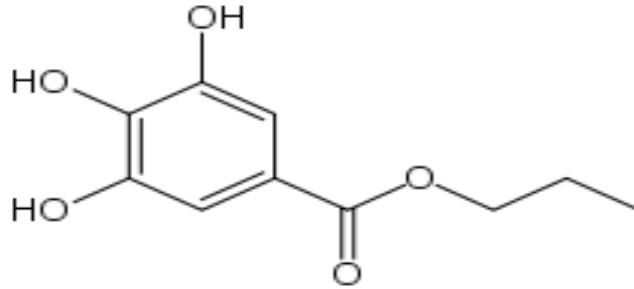
İnsan sağlığı için birçok açıdan önemli olan karotenoidlerin başlıca fonksiyonları A vitamininin ön maddesi olmasıdır. Buna ilaveten, epidemiyolojik çalışmalar karotenoidce zengin meyve ve sebzelerin fazlaca tüketilmesinin ve kandaki yüksek β -karoten düzeylerinin bazı kanser türlerinin, yaşa bağlı dejenerasyonların, katarakt ve kalp-damar hastalıklarının görülme sıklığını azalttığını bildirilmektedir[21]. Anti ülser özellikleri de ortaya konulan karotenoidlerin ayrıca ışığa karşı koruma ve bağışıklık sistemini güçlendirme gibi potansiyel etkileri de bulunmaktadır[29].

2.3. Sentetik Antioksidanlar

Doğal şartlar altında doğada bulunmayan, gıda ve ilaç sanayiinde kullanılmak için yapay olarak üretilmiş antioksidanlara sentetik antioksidanlar adı verilmektedir. PG (propil gallat), BHA (Bütillenmiş Hidroksianisol), BHT (Bütillenmiş Hidroksitoluen) ve TBHQ (Tersiyer Bütıl Hidrokinon) bu antioksidanlar gıda sanayinde en çok tercih edilen yapay antioksidanlardır. Günümüz toplumunda gelir düzeyi yükseldikçe ve beslenme ile ilgili bilinç arttıkça yapay ürünlere karşı duyulan endişe artmış ve doğal ürünlere yönelme başlamıştır. Fare, hamster ve sıçanlarla yapılan *in vivo* çalışmalarda, sentetik antioksidanlardan özellikle BHA'nın bu kemirgenlerde mide ve mesane tümörü oluşumuna yol açtığı ve karsinojen oldukları tespit edilmiştir[30-31]. FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) normalde vücuda alınan düşük BHA düzeyinin insanlar için risk oluşturmadığını belirtmektedir[32].

2.3.1 PG (Propil Gallat)

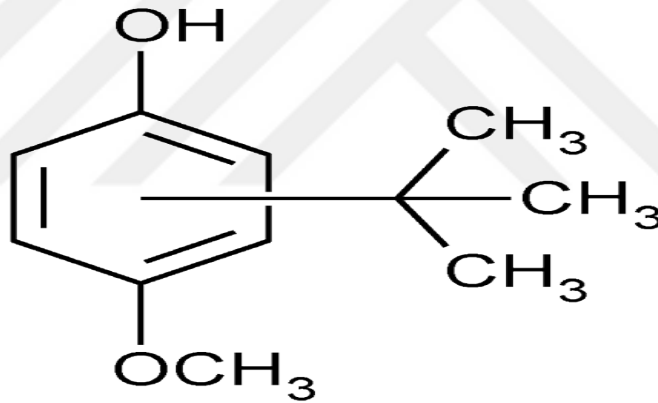
Bu antioksidanlar yaygın olarak kullanıldığı yiyeceklerin, yağların ve medikal preparatların tazeliğini, besin içeriğini, aromasını ve rengini korumakta ve dengelemektedir[33]. Etanolde yüksek oranda çözünmesine rağmen suda çok az çözünür. Sitrik asit, demir ve bakır iyonlarının katalizlediği prooksidatif tepkimelerini önleyebilmektedir. Daima sitrik asit ile beraber tercih edilmektedir. Propil gallat BHA ve BHT ile birlikte kullanıldığında iyi sinerjik etki göstermekte fakat TBHQ ile beraber kullanımı yasaklanmıştır[34].



Şekil 6 Propil gallatın moleküler yapısı[82]

2.3.2. BHA (Bütillenmiş Hidroksianisol)

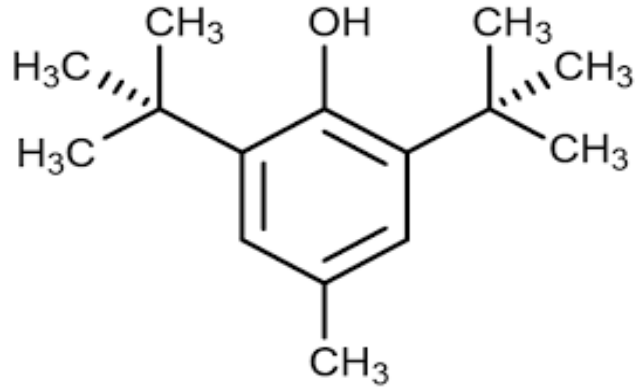
Bütillenmiş hidroksianisol, 3-tersiyer bütıl-4-hidroksianisol ve 2-tersiyer bütıl-4-hidroksianisol iki izomerin karışımı olup beyaz mumsu parçacıklar halindedir. BHT gibi yağda çözünür fakat suda çözünmez. BHA özellikle uçucu yağların renk, tat ve kokularının korunmasında kullanılmaktadır[35]. Bitkisel yağlardaki antioksidan etki özelliği, hayvansal yağlardaki etkisine göre daha azdır. Bu antioksidan birçok ülkede gıda ürünü olarak kullanılıp, katı ve sıvı yağlara ilave edilmektedir. Yapısında bulunan hidroksil grubuna karşı *orto* veya *meta* pozisyonunda yer alan tersiyer bütıl grubu olmasından dolayı BHA'ya “engelleyici fenol” de denmektedir[36]. Yağ asitlerinin oksidasyonunu kontrol etmenin yanı sıra tahıl ve şekerli ürünlerde kullanılır[35].



Şekil 7 BHA moleküler yapısı[83]

2.3.3. BHT (Bütillenmiş Hidroksitoluen)

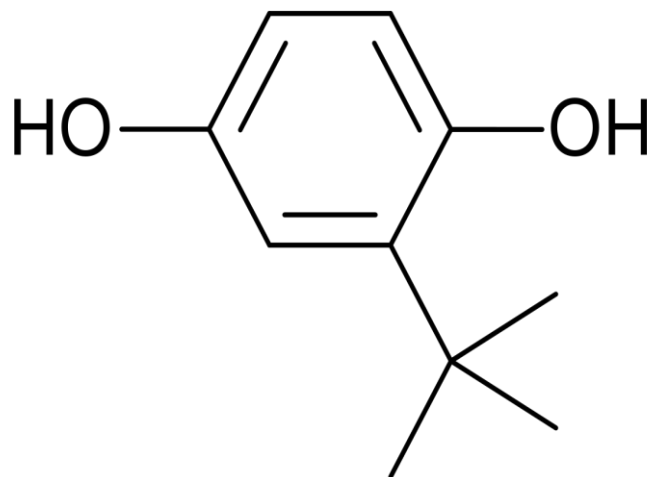
En fazla tercih edilen yapay antioksidandır. Soya yağının otoksidasyonunda bozunma maddelerinin tayin edilmesi esnasında BHT molekülü ilk defa fark edilmiştir. BHT; yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda oksitlenmiş olan lipitler ile tepkimesi sonucunda meydana gelen peroksit radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır[37]. Bu antioksidanın fazla tüketimi, vücutta aşırı hassasiyete ve alerjiye yol açabildiği bilinmektedir[35].



Şekil 8 BHT moleküler yapısı[84]

2.3.4. TBHQ (Tersiyer Bütilhidrokinon)

Bitkisel yağlar için çok etkili bir antioksidan özelliği taşımaktadır. Pek çok uygulamada diğer antioksidanlardan daha çok etkiye sahip olduğu bildirilmektedir[38,39,40]. TBHQ, kızartma yağlarını oksidasyona karşı savunmak için en iyi antioksidan olarak bilinmektedir[41]. BHA veya BHT ile beraber yahut kendi başına kullanımı daha uygun olduğu belirtilmektedir. PG ile TBHQ'nun beraber kullanımı ise aktiviteyi düşürdüğünden önerilmemektedir. TBHQ özellikle sitrik asit ile karışımı sonucu stabilize edici özelliğe sahip olmaktadır[34]. TBHQ'nun kullanımı Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmıştır[42]



Şekil 9 TBHQ moleküler yapısı[85]

2.4. Antibakteriyel Etki

Antibakteriyel madde, mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen veya öldüren, doğal veya sentetik yolla elde edilen bileşikler olarak tanımlanır. Bitkilerin mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyici ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1900'lü yıllarda araştırılmaya başlanmıştır[13]. Bitkiler yapılarında bulunan bazı kimyasal maddeler sayesinde antibakteriyel aktivite göstermektedirler. Antibakteriyel aktivite gösteren bazı biyoaktif bileşikler kimyasal yapılarına göre sınıflandırıldığında; fenolikler, basit fenoller, fenolik asitler, flavonoidler, terpenoidler, yağlar, alkaloidler, lektinler ve polipeptitler, poliasetilenler şeklinde sıralanabilir[43].

Birçok mikroorganizmanın duyarlı olduğu antibakteriyel madde belirlenmiştir. Organizmayı öldürecek en uygun antibakteriyel madde patojenik etkiyi ortadan kaldırarak; canlı için en ideal hayat standardını sağlamaktadır. Bunun için de, o hastalıkta etken mikroorganizmanın antibakteriyel maddeye karşı gösterdiği duyarlılık deneyi sonuçlarından faydalanılır. Mikroorganizmaların antibakteriyel madde duyarlılığı, temelde dilüsyon ve difüzyon olmak üzere iki farklı tayin yöntemi ile belirlenebilir[44,45].

2.4.1. Dilüsyon Yöntemi

Dilüsyon yöntemi; antibakteriyel maddenin sıvı veya katı besiyerlerinde (agarlarda) bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda eklenmesi esasına dayanır. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) inkübe edilir[44]. Antibakteriyel madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon oldukça bulanıktır[13]. Antibakteriyel madde konsantrasyonunun inhibitör düzeye eşit veya daha yüksek olduğu tüplerde ise berraktır[13]. Üremeyi engelleyen en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) olarak kabul edilir. Sıvı besiyerinde

sulandırma yöntemleri tüpte uygulanıyorsa, makro (tüp dilüsyon), mikrotitrasyon plaklarında küçük hacim kullanılarak uygulanıyorsa, mikrodilüsyon olarak adlandırılır[13].

2.4.2. Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yönteminde; belirli bir miktar antibakteriyel ajan içeren kâğıt diskler ya da açılan kuyular, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir[13]. Yerleştirilen antibakteriyel ajan etki ettiği alanda bakterilerin üremesini engelleyici bir faktör gösterir. Açılan kuyular veya yerleştirilen diskler etki ettikleri alanda bakterilerin üremesini engelleyerek dairemsi bir etki alanı gösterirler. Bu alana inhibisyon alanı (inhibisyon zonu) denir. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek her antibakteriyel madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir[45].

2.5. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri

Adıyaman'ın Tut ilçesi ile Malatya'nın Doğanşehir ilçesine bağlı Erkenek kasabası arasında bulunan Akdağ isimli dağdan toplanan, 9 farklı bitki türüne ait antioksidan ve antibakteriyel etki çalışması yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bitki türleri şunlardır; *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Centranthus longiflorus* Steven, *Cynoglossum* sp., *Equisetum ramosissimum* Desf., *Helichrysum arenarium* (L) Moench, *Micromeria fruticosa*, *Stachys lavandulifolia* Vahl., *Tanacetum densum* (Labill) Sch. Bip.. Bu çalışmada kullanılan 9 farklı bitki türlerinin genel özellikleri ise şunlardır;

2.5.1. *Achillea clusiana* Tausch

Compositae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında kandil çiçeği olarak bilinmektedir. Stres, yorgunluk giderici ve uyku düzenlemeye yardımcı olarak kullanılmaktadır. Vücuttaki kanı temizleyerek, kan dolaşımının iyi çalışmasını sağlamaktadır. Özellikle, burun kanamasını durdurucu etkiye sahiptir[70].



Resim 1: *Achillea clusiana* Tausch türü[61]

2.5.2. *Achillea coarctata* Poir.

Compositae familyasına bağlı bir bitkidir. Halk arasında çekik civanperçemi olarak bilinmektedir. Mide ülseri ve hemoroit tedavisinde kullanılmaktadır[71]. Bölge halkı bitkinin çayını yaparak ve toz hale getirip salatalarına ekleyerek tüketmiştir. Güzel kokusu sebebiyle bir dönemler oda kokusu olarak tercih etmiştir.



Resim 2: *Achillea coarctata* Poir türü[62]

2.5.3. *Centranthus longiflorus* Steven

Caprifoliaceae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında şahtere otu olarak bilinse de bu türe benzeyen *Fumaria officinalis* türüyle karıştırılmaktadır. Farklı bölgelerde kedi otu, kırmızı kantaron ve mahmuz çiçeği olarak bilinmektedir. Uyku bozukluklarının tedavisinde kullanılmaktadır[72].



Resim 3: *Centranthus longiflorus* Steven türü[63]

2.5.4. *Cynoglossum* sp.

Boraginaceae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında öküz otu olarak bilinmektedir. Yükseltiye bağlı olarak temmuz ayının sonunda kadar görülmektedir. Halk arasında birebir kullanımı olmamasına karşın mera hayvancılığı ile hayvanlar tarafından sevilen bir bitkidir. Özellikle büyükbaş hayvanlar daha fazla tükettiği için ismine kzdili denmiştir. Kuraklık dönemi yapraklarının ve gövdesinin kuruması sebebiyle böyle halkı öküz pıtrağı da demektedir.



Resim 4: *Cynoglossum* sp. türü [64]

2.5.5. *Equisetum ramosissimum* Desf.

Equisetaceae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında atkuyruğu olarak bilinmektedir. Oldukça sulak alanlarda yetişmesi sebebiyle yöre halkının otlattığı hayvanları beslemesinde tercih edilmektedir. Köklerinin suyu diş ağrılarını hafifletmek için kullanılır. Karaciğeri temizlediği ve görmeyi düzenlediği söylenir[73].



Resim 5: *Equisetum ramosissimum* Desf. türü [65]

2.5.6. *Helichrysum arenarium* (L.) Moench

Compositae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında altın otu olarak bilinmektedir. Sindirime destek verir, basur ve eklem ağrılarına iyi gelmektedir[74]. Farklı bölgelerde farklı isimlere sahip olsa da genel olarak Erzincan otu olarak bilinmektedir.



Resim 6: *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü[66]

2.5.7. *Micromeria fruticosa*

Lamiaceae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında diş otu, yabani nane veya taş nanesi olarak bilinir. Karın ağrıları, ishal, göz enfeksiyonları, kalp rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, yorgunluk, bitkinlik, soğuk algınlığı ve açık yaraların tedavisi gibi rahatsızlıklarda kullanılmıştır[75].



Resim 7: *Micromeria fruticosa* türü [67]

2.5.8. *Stachys lavandulifolia* Vahl

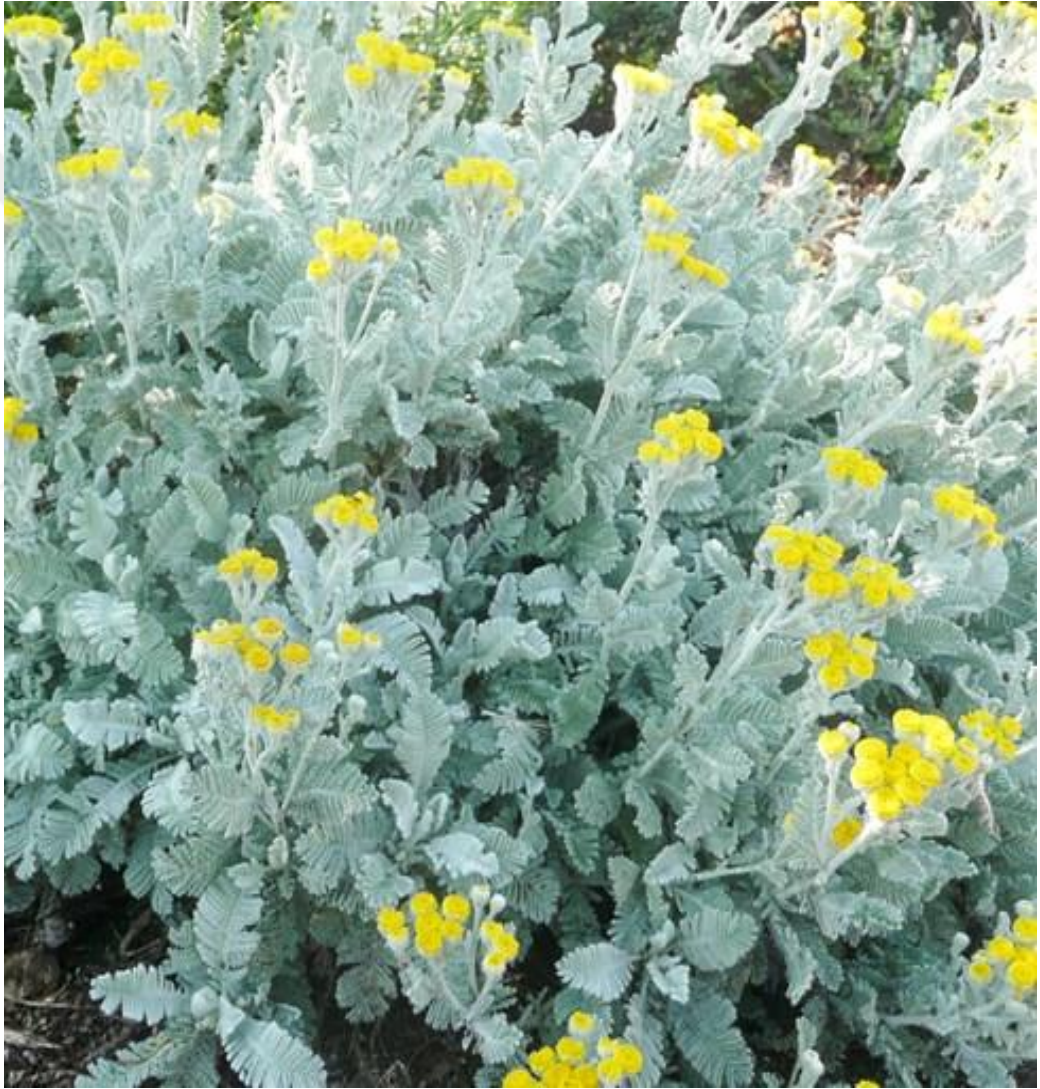
Lamiaceae familyasına bağlı bir türdür. Küçük boylu bodur yapısı ve renkli çiçekleri bitkiyi ayrıcalıklı kılmaktadır. Bölge halkı ismine pamuklu çay demektedir. Daha farklı yörelerde ise tüylü çay olarak bilinir. Yöre halkı bitkiyi kurutup çayını yaparak tüketmektedir. Anti-depresan idrar söktürücü ve böbrek temizleyicidir[76]. Ses kısılmasını giderir ve balgam sktrcdr[76].



Resim 8: *Stachys lavandulifolia* Vahl. türü[68]

2.5.9. *Tanacetum densum* (Labill.) Sch. Bip.

Asteraceae familyasına bağlı bir türdür. Halk arasında solucan otu ve keklik tüyü olarak bilinir. Yöre halkı saplarından bağlayarak evlerine asmıştır. Bir inanışa göre araknitlerin ve böceklerin bu bitkinin olduğu yere gelmediğine inanılır.



Resim 9: *Tanacetum densum* (Labill) Sch. Bip. türü[69]

3. BÖLÜM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışmada: Sinbo Scm-2934 marka kahve ve baharat öğütücü, ISOLAB laborgerate GmbH marka soxhlet ekstraktörü, Bandelin HD 2070 marka sonikasyon cihazı, SELECTA 2001244 00-E 53034 marka etüv, Tetra T60 marka spektrofotometre, Tetra MED 20 marka otoklav, BUCHI marka rotary evaporatör cihazı, ISOLAB LWD-3004 marka saf su cihazı, KERN & Sohn GmbH marka hassas terazi, VESTEL marka buzdolabı ve SOIF OPTIKAL INSTRUMENTS marka ışık mikroskobu kullanılmıştır.

Ek olarak ISOLAB marka plastik petriler, ISOLAB marka 2.5 mL plastik mikro küvetler, ISOLAB marka plastik öze, ofis zımba makinası, ameliyat bonesi, ISOLAB marka 100-1000 mL erlen mayerler, ipek marka hidrofilik pamuk, alüminyum folyo, saf su, ISOLAB marka 10 µL – 50 µL – 200 µL – 1000 µL pipet uçları ve uygun mikro pipetler de elektronik cihazlar dışında kullanılan diğer materyallerdir.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde Merck marka Nutrient broth, sodyum klorür (NaCl), Nutrient Agar, Alkomed marka Etil alkol (% 96), Merck marka Metanol, Aldrich marka DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), SIGMA- Aldrich marka FeCl₂, SIGMA-Aldrich marka 3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid sodium salt, sodyum corbanate (Na₂CO₃), folin-Ciocalteu's phenol reagent, Merck marka Aseton ve Merck marka Hekzan kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Bakterileri

Listeria monocytogenes ATCC 7644, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Bacillus subtilis* ATCC 6051 suşları kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1 Ekstraksiyon İşlemleri

Bitkilerin hayat döngülerini belirleyerek toplama koşullarının uygunluğu kesinleştirilmiştir. Rakıma bağlı olarak bitkilerin toplanma zamanı 20 Haziran- 15 Temmuz aralığında belirlenmiştir. Her toplanan bitki köklü bir şekilde alınmıştır. Toplama işlemi sonunda bitkiler güneş almayan bir yerde oda koşullarında yaklaşık bir hafta kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra paketlenip çalışma laboratuvarına ulaştırılmıştır. Tüm bitkilerden yaklaşık olarak 150 g – 250 g kuru ağırlık elde edilmiştir. Her ekstraksiyon işlemi için yaklaşık 50-70 g aralığında kuru madde tartılıp 350 mL etanol varlığında ekstrakte edilmiştir. Elde edilen etanol + bitki ekstresi +4°C de buzdolabında saklanmıştır. Bu aşamadan sonra bitki ekstreleri evaporatör cihazında çözücünden uzaklaştırılmıştır.



Resim 10: Soxleth düzeneği

Evaporatör cihazında çözücü madde uzaklaştırılmış ve kalan katı madde + etanol karışımı petrilere dökülmüştür. Çözücü madde; bir gün + 60°C de etüv vasıtasıyla tamamen uçurulmuştur.



Resim 11: Evaporatör cihazında uçurma işlemi

3.2.2. DPPH Serbest Radikal Süpürme Testi

Bitki ekstralarının serbest radikal süpürme aktiviteleri 2,2-difenil-1-pikrilhidazil (DPPH) kullanılarak belirlenmiştir[58]. Elde edilen bitki ekstralarından 1 g / 10 mL bitki ekstresi + metanol karışımı ana stok olarak belirlenmiştir. Uygulanan dozlar ise 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm ve 200 ppm olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlardaki bitki ekstresi + metanol karışımı % 0,004 DPPH çözeltisiyle muamele edilmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında karanlık ortam koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. Bekleme süresi sonunda

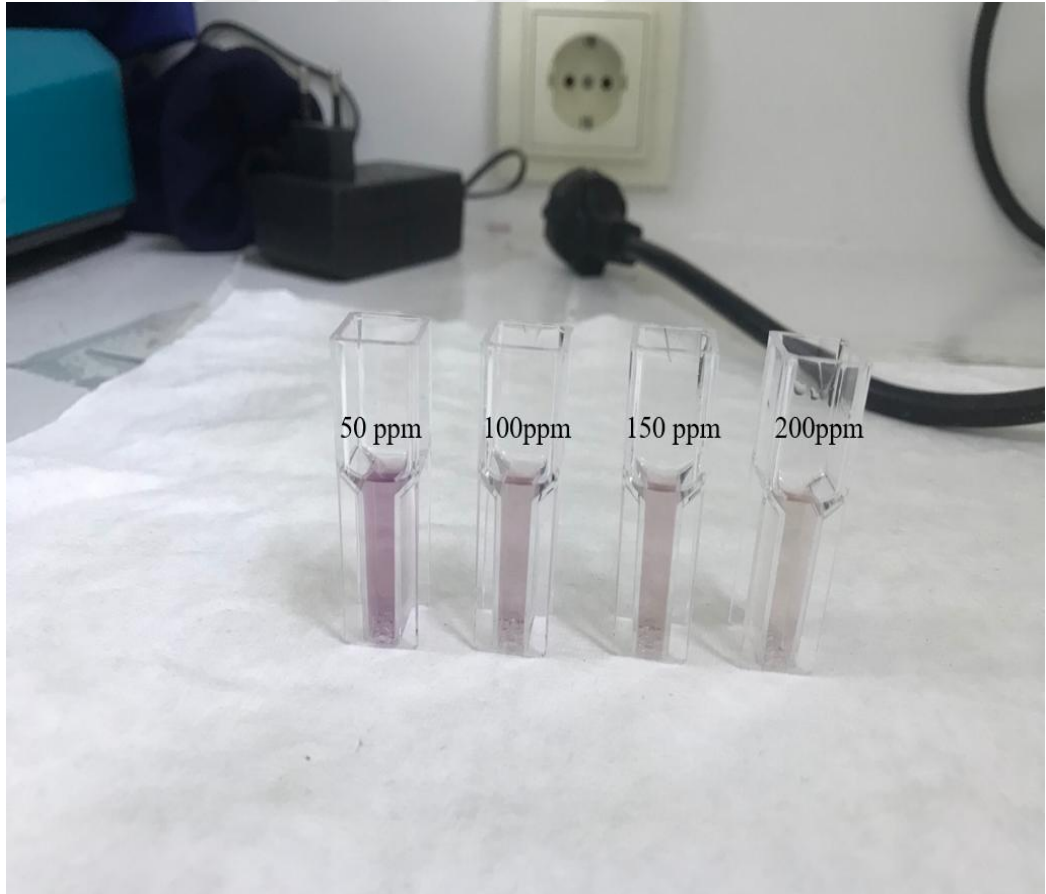
spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Negatif kontrol karışımında 1 mL metanol + 1 mL DPPH çözeltisi, örnek karışımında ise bitki ekstresi + metanol (1 mL) ve 1 mL DPPH çözeltisi bulunmaktadır. Pozitif kontrol karışımında ise aynı dozlarda bitki ekstresi + metanol (2 mL) karışımı bulunmaktadır. Serbest radikalleri süpürme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Süpürme} = \{ [A - (B - C) / A] * 100 \}$$

A= Negatif kontrolden okunan absorbans değeri

B= Örnekten okunan absorbans değeri

C= Pozitif kontrolden okunan absorbans değeri



Resim 12: *Stachys lavandulifolia* Vahl. türü için DPPH uygulaması

3.2.3. Metal İyonları Şelatlama Testi

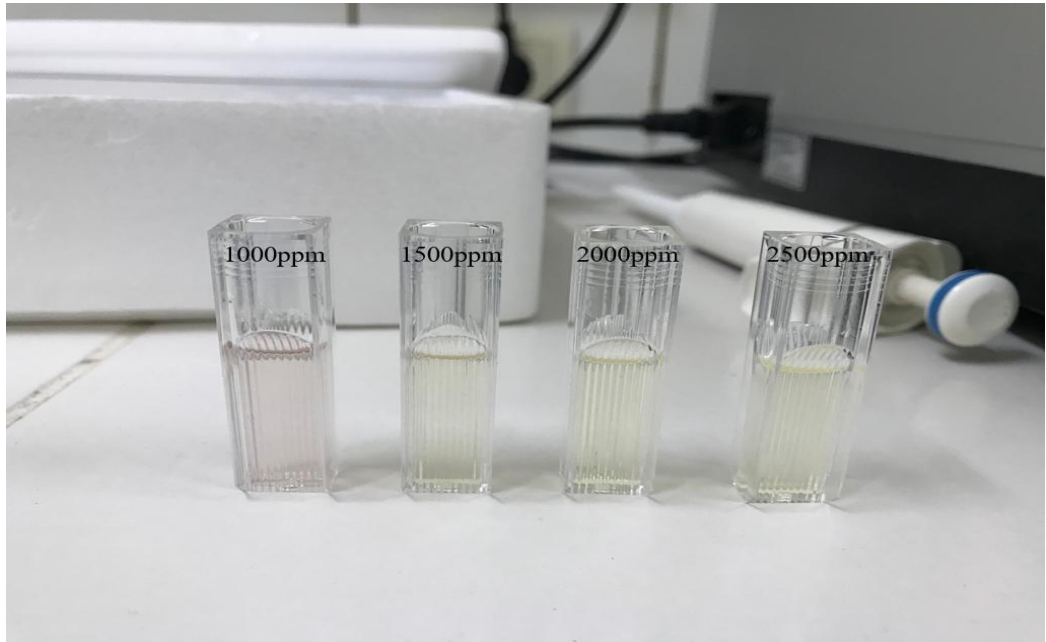
Metal iyonları şelatlama aktivitesi testleri serbest halde bulunan ağır metallerin yıkıcı etkilerini inhibe etmek amacıyla kullanılan bir test yöntemidir. Bu çalışmada Decker ve arkadaşının[59] belirlediği yöntemde bazı değişiklikler yapılarak çalışılmıştır. Ana stok üzerinden alınan konsantrasyonlar 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlarda hazırlanan metanol bitki ekstresi karışımlarına 2 mM FeCl₂ ve 5mM ferrozin çözeltisi sırasıyla eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika karanlık ortamda bırakılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra tüm örnekler 562 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Tüm işlemler sonunda % şelatlama değerleri hesaplanmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Şelatlama} = \{ [A - (B - C) / A] * 100 \}$$

A= Negatif kontrolden okunan absorbans değeri

B= Örnekten okunan absorbans değeri

C= Pozitif kontrolden okunan absorbans değeri



Resim 13: *Achillea coarctata* Poir türü için metal iyonları şelatlama testi

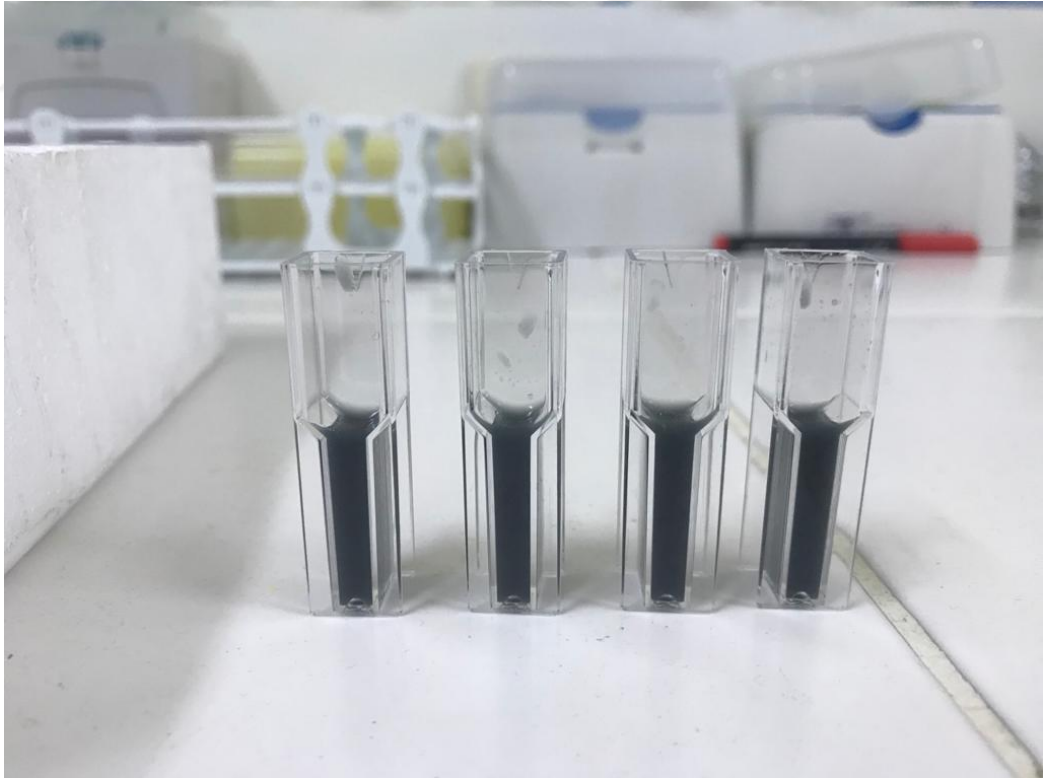
3.2.4. Biyoaktif İçerik Miktarlarının Belirlenmesi

3.2.4.1. Total Fenolik Bileşik Miktarının Tespiti

Toplam fenolik bileşik miktarları, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak, gallik asit eşdeğeri olarak belirlenmiştir[57]. Bu işlem için; 0,1 mL metanol + bitki ekstresi karışımı 0,2 mL % 50 folin ile vortex yardımıyla karıştırılıp 3 dakika beklemeye bırakılmıştır. Daha sonra 1 mL % 2'lik Na₂CO₃ eklenerek oda sıcaklığında 45 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Bekleme süresi sonunda tüm çözeltiler 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülüp aşağıdaki hesaplama metoduna bağlı olarak bitki ekstresinde bulunan total fenolik içerik belirlenmiştir.

$$\text{Total fenol: } y = 0,0063x - 0,0101 \quad x = (y+0,0101) / 0,0063$$

y: okunan ABS değeri x: µg cinsinden fenol miktarı



Resim 14: *Achillea coarctata* Poir türü için total fenol testi

3.2.4.2. β -karoten ve Likopen Bileşik Miktarlarının Tespiti

Çeşitli bitki ekstralarının içerdikleri β -karoten ve likopen miktarının tespiti için 0,1 g kuru bitki ekstresi örneği tartılıp aseton: hekzan (4 mL: 6 mL) karışımında çözündürülmüştür. Daha sonra tüm örnekler 453 nm, 505 nm ve 663 nm dalga boylarında absorban değerleri ölçülmüş aşağıdaki formüllere bağlı olarak β -karoten ve likopen miktarları belirlenmiştir.

β -karoten:

$$[(0,216 \times a(663) \text{ nm}) - (0,304 \times a(505) \text{ nm}) + (0,452 \times a(453) \text{ nm})]$$

Likopen:

$$[(-0,0458 \times a(663) \text{ nm}) + (0,372 \times a(505) \text{ nm}) + (0,0806 \times a(453) \text{ nm})]$$

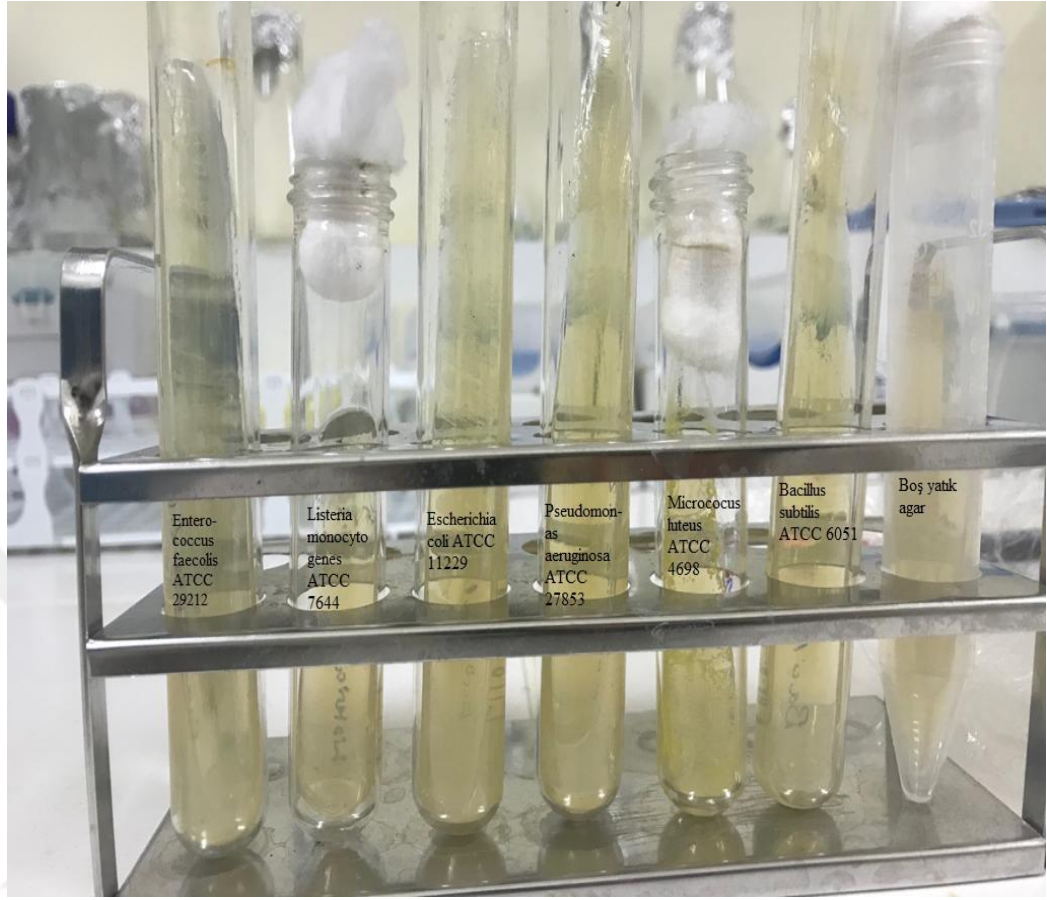
Bulunan değer 100 mL'deki mg (mg / 100 mL'deki) cinsinden β -karoten ve likopen miktarını ifade eder.

3.2.5. Antibakteriyel Aktivite Testleri

3.2.5.1. Mikroorganizmaların Kültür Ortamları

Çalışmanın bu aşamasında kullanılan bitki ekstraları metanolde çözündürülmüştür. Stok halde bulunan saf deney bakterileri nutrient sıvı besiyerine steril pipet yardımıyla 100 μ L eklenmiştir. Deney bakterileri için aktifleştirme süresi 24 saat olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan deney bakterileri nutrient sıvı besiyerinde iki kez aktifleştirilmiştir. Aktifleştirme için 37°C sıcaklık sabit tutulmuştur.

Sıvı kültürde üretilen deney bakterileri nutrient agar besiyerine yayma preparat yöntemi kullanılarak 100 μ L eklenmiştir.

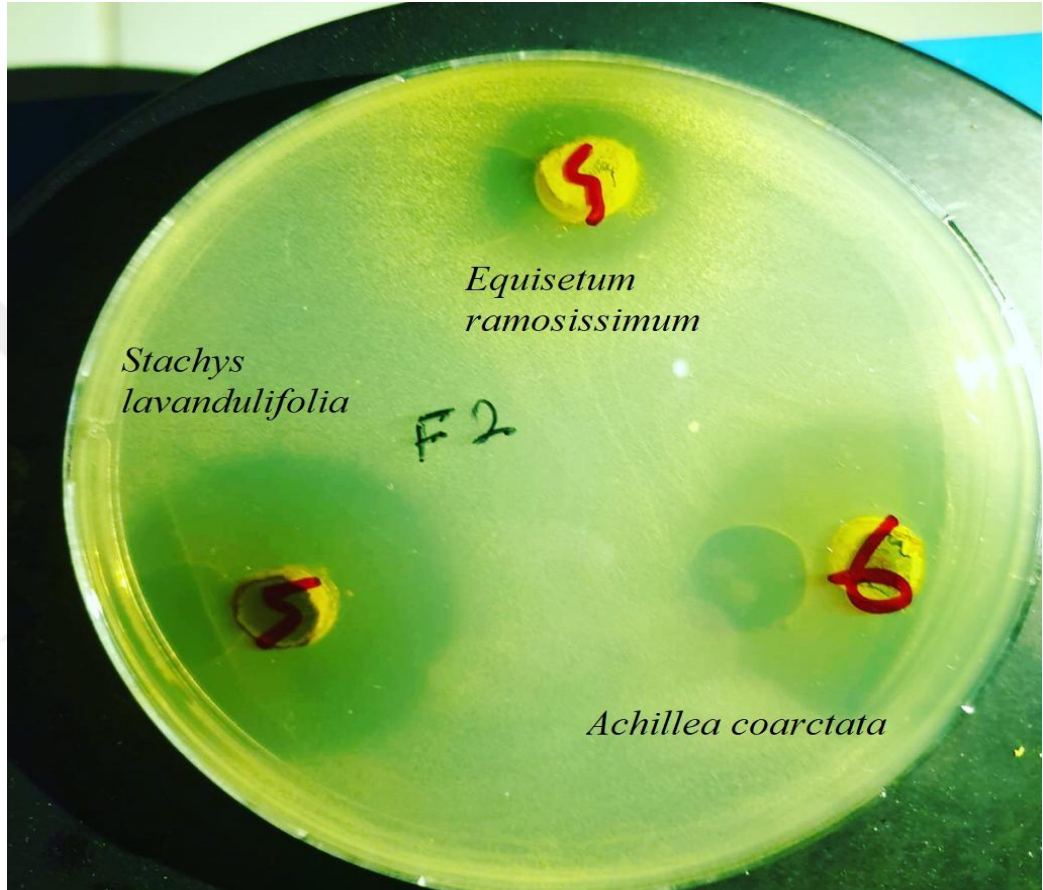


Resim 15: Çalışmada kullanılan patojenik test bakterileri (yatık agar)

3.2.5.2 Antibakteriyel Etki

Çalışmada kullanılan 9 farklı bitki türü üçerli gruplar halinde ayrılmıştır. Her ayrılan grup için 1 petri hazırlanmıştır. Çalışmada 6 farklı deney bakterisi kullanılmıştır. Her grup tüm deney bakterileri ile muamele edilmiştir. Toplamda her tekrar için 18 petri kullanılmıştır. Aktifleştirme sonrasında her petri eklenen deney bakterisinin ismi ile kodlanmıştır. Kodlama işlemi sonrasında her petriye sıvı kültürden alınan 100 µL deney bakterisi aktarılmıştır. Hazırlanan nutrient agar besiyeri yaklaşık 35°C ile 40°C arasındaki bir sıcaklıkta petrilere aktarılmıştır. Eklenen nutrient agar sonrası petriler taşmayacak ve kapağa yapışmayacak şekilde hafifçe çalkalanmıştır. Bu işlem deney bakterilerinin dağılması tamamen dağılması için yapılmaktadır. Tüm petriler ekildikten yaklaşık 30 - 40 dakika sonra tamamen donduklarından emin olunmuştur. Petrilerin her birine 3 farklı kuyu (8 mm çapında) açılmıştır. Açılan

kuyulara bitki ekstraları eklenmiştir. Bu işlemler sonunda petriler 37°C ye sabitlenen etüvde 24 saat beklemeye alınmıştır. 24 saatlik bekleme süresi sonunda bitki ekstralarının deney bakterileri üzerinde oluşturdıkları inhibisyon zonları ölçülmüştür.



Resim 16 Bitkilerin *M. luteus* ATCC 4698 suşuna antibakteriyel etkileri

3.2.5.3. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Çalışmanın bu kısmında 10 farklı antibiyotik çeşidi kullanılmıştır. Sıvı besiyerinden alınan 100 µL'lik deney bakterisi örnekleri yayma preperat yöntemi ile steril petrilere aktarılmıştır. Nutrient agar besiyeri 35°C-40°C sıcaklıkta dökülmüştür. Dökülen besiyeri hafifçe test bakterilerinin dağılması için çalkalanmıştır. Yaklaşık 30-40 dakika içinde katı besiyerlerinin donduğundan emin olunduktan sonra antibiyotik diskler besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. 24 saat 37°C sıcaklıkta etüvde bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür.

3.3. İstatiksel veri

Çalışmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Windows 27.0.0.0 sürümü kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistikler en uygun tanımlayıcıyla (sayı, yüzde) sunulmuştur. Çalışmada uygulanan tüm test yöntemleri 3 tekrarlı yapılmıştır. Verilen tüm sonuçlar ortalama değerlerdir.



4. BÖLÜM

BULGULAR

Çalışmada kullanılan bitkilerin tür tanımlamaları Peter Hadland Davis'in Türkiye florası yayınlarından elde edilmiştir. Tür teşhisi yapılan bitkilerin ise www.theplantlist.org internet sayfasından doğruluğu netleştirilmiştir. Çalışmada kullandığımız bitkiler Tablo 4.1'de verildiği gibidir. Çalışmada kullanılan tüm bitkiler Adıyaman (Tut) Akdağ'ın Malatya sınırlarından toplanmıştır.

4.1. Bitkilerin Toplandığı Bölgeler

Tablo 4.1 Bitkilerin toplandığı bölgeler ve koordinatları

Bitkiler	Toplanan bölgeler ve koordinatlar
<i>Achillea clusiana</i> Tausch	Akdağ Tut Adıyaman (37°50'52.1"N 37°55'18.5"E)
<i>Achillea coarctata</i> Poir.	Akdağ Tut Adıyaman (37°50'53.9"N 37°55'14.8"E)
<i>Centranthus longiflorus</i> Steven	Akdağ Tut Adıyaman (37°50'26.6"N 37°55'29.1"E)
<i>Cynoglossum</i> sp.	Akdağ Tut Adıyaman (37°52'01.2"N 37°56'14.5"E)
<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	Meryemüşağı köyü Tut Adıyaman (37°48'05.6"N 37°52'51.1"E)
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	Akdağ Tut Adıyaman (37°51'18.9"N 37°55'17.3"E)
<i>Micromeria fruticosa</i>	Fethiye Tut Adıyaman (37°49'05.3"N 37°55'25.9"E)
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	Akdağ Erkenek Malatya (37°52'50.4"N 37°54'53.2"E)
<i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.	Akdağ Tut Adıyaman (37°51'45.1"N 37°56'06.6"E)

4.2. DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi

Çalışmalarda kullanılan bitki ekstralarını standart olarak 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm ve 200 ppm konsantrasyonlarında serbest radikal bağlama aktiviteleri incelenmiştir. Konsantrasyon oranları arttıkça aktivite oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Çalışılan dokuz bitki türünün DPPH süpürme aktiviteleri kıyaslandığında dokuz tür arasından *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü 200 µg / mL konsantrasyonunda en yüksek oranı vermiştir. Bitki ekstralarının DPPH süpürme oranları hesaba katılarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

Elde edilen verilere göre etanol ekstraları için en yüksek tür olan *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü en iyi süpürme aktivitesine sahiptir. (IC₅₀: 43,29 µg / mL yüzde aralığı % 52– % 82) En düşük aktiviteyi ise *Equisetum ramosissimum* Desf. (IC₅₀: 191,25 µg / mL yüzde aralığı % 22- % 52) türü göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2 Bitki ekstralarının DPPH serbest radikali süpürme oranları ve IC₅₀ değerleri

Bitkiler	IC ₅₀ Değerleri (µg / mL)	DPPH süpürme yeteneği
<i>Achillea clusiana</i> Tausch	59,29	%41-%95
<i>Achillea coarctata</i> Poir	62,16	%48-%86
<i>Centranthus longiflorus</i> Steven	67,27	%44-%87
<i>Cynoglossum</i> sp.	104,64	%29-%78
<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	191,25	%22-%52
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	43,29	%52-%82
<i>Micromeria fruticosa</i>	69,55	%45-%74
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	47,31	%50-%88
<i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.	57,66	%44-%89

4.3. Metal İyonları Şelatlama Aktivitesi

Çalışmada kullanılan tüm bitki ekstralarının konsantrasyon miktarı arttıkça metal iyonlarını şelatlama aktivitesinde yükselme olduğu görülmüştür. Uygulanan konsantrasyonlar: 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm ve 2500 ppm. İşleme tabii tutulan dokuz bitkinin % şelatlama oranları hesaplanmış ve IC₅₀ değerleri bu elde edilen verilere göre belirlenmiştir. Metal iyonları şelatlama aktivitesi en yüksek olan tür; *Achillea coarctata* Poir (IC₅₀: 0,85 mg / mL) türüdür, IC₅₀ değerlerine göre en düşük aktiviteyi ise *Equisetum ramosissimum* Desf. (IC₅₀: 2,80 mg / mL) türü göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3 Bitki ekstralarının metal iyonları şelatlama aktivitesi ve IC₅₀ değerleri

Bitkiler	IC ₅₀ değerleri (mg / mL)	Yüzde aralıkları
<i>Achillea clusiana</i> Tausch	1,47	%36 - %90
<i>Achillea coarctata</i> Poir	0,85	%51 - %86
<i>Centranthus longiflorus</i> Steven	1,75	%14 - %74
<i>Cynoglossum</i> sp.	1,14	%43 - %81
<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	2,80	%17 - %47
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	1,85	%32 - %60
<i>Micromeria fruticosa</i>	1,68	%14 - %77
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	1,53	%40 - %72
<i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.	1,73	%25 - %76

4.4. Biyoaktif İçeriklerin Tayini

Bir maddenin antioksidan özellik gösterdiğini belirlemek için biyoaktif içerik tayini yapılmalıdır. Çalışılan bitki türlerinin; total fenol, likopen ve β -karoten içerikleri belirlenmiştir. Total fenolik içerik bakımından en yüksek tür (36,66 mg / g) *Micromeria fruticosa*'dır. En düşük tür ise (18,989 mg / g) *Achillea clusiana* Tausch'dır.

Likopen miktarı açısından en yüksek tür (69,59 mg / g) *Helichrysum arenarium* (L) Moench'dir. En düşük tür ise (47,98 mg / g) *Micromeria fruticosa*'dır.

β -karoten miktarı açısından en yüksek tür (113,66 mg / g) *Achillea coarctata* Poir'dir. En düşük tür ise (81,54 mg / g) *Stachys lavandulifolia* Vahl.'dır. Çalışılan bitkilerin biyoaktif içerik açısından en zengin türler; *Cynoglossum* sp., *Helichrysum arenarium* (L) Moench, *Achillea clusiana* Tausch ve *Achillea coarctata* Poir olduğu görülmektedir.

Çalışılan dokuz farklı bitki türündeki; total fenol, likopen ve β -karoten miktarları Tablo 4.4'te olduğu gibidir.

Tablo 4.4 Biyoaktif içerik miktarları

Bitkiler	Biyoaktif içerik		
	Total fenol (mg / g)	Likopen (μ g / g)	β -karoten (μ g / g)
<i>Achillea clusiana</i> Tausch	18,98	69,58	110,67
<i>Achillea coarctata</i> Poir	33,56	59,35	113,66
<i>Centranthus longiflorus</i> Steven	31,56	56,07	88,51
<i>Cynoglossum</i> sp.	33,10	64,22	109,02
<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	28,30	66,59	92,72
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	26,16	69,59	110,29
<i>Micromeria fruticosa</i>	36,66	47,98	48,10
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	30,82	55,10	81,54
<i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.	24,00	55,10	96,99

4.5. Antibakteriyel Etki

Kullanıma hazır hale getirilen katı besiyerlerine kuyular açılmıştır. Steril ortamdaki kuyulara metanolde çözdürülmüş bitki ekstraları eklenmiştir. Bir gün boyunca bakterilerin üremesi için 37°C sıcaklıktaki etüvde beklemeye alınmıştır. 24 saat sonunda bitki ekstralarının bakteriler üzerinde oluşturdıkları direnç çapları ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları Tablo 4.5 te olduğu gibidir.

Bu çalışmada; *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench ve *Stachys lavandulifolia* Vahl. türleri tüm deney bakterileri üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir. Bu çalışmada en düşük etkiyi ise *Cynoglossum* sp. ve *Micromeria fruticosa* türleri göstermiştir.

Tablo 4.5 Bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri (mm)

Bitkiler	Bakteriler					
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Achillea clusiana</i> Tausch	17 ± 1	16 ± 1	18 ± 1	13 ± 0	11 ± 0	37 ± 2
<i>Achillea coarctata</i> Poir	17 ± 1	28 ± 1	36 ± 1	12 ± 1	23 ± 1	27 ± 1
<i>Centranthus longiflorus</i> Steven	12 ± 0	20 ± 1	23 ± 0	-	21 ± 1	17 ± 1
<i>Cynoglossum</i> sp.	-	14 ± 0	-	13 ± 1	-	-
<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	21 ± 1	-	11 ± 0	11 ± 0	-	11 ± 0
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	24 ± 0,5	13 ± 0,5	24 ± 1	24 ± 1	20 ± 1	34 ± 0,5
<i>Micromeria fruticosa</i>	-	-	18 ± 0	14 ± 1	-	-
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	13 ± 1	33 ± 1	15 ± 0,5	12 ± 1	16 ± 1	26 ± 1
<i>Tanacetum densum</i> (Labill) Sch. Bip.	-	22 ± 0	23 ± 1	12 ± 1	-	-

(-) antibakteriyel etki yok

4.6. Test Bakterilerine Karşı Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibakteriyel etki çalışmalarında kullanılan bakterilerin üzerinde herhangi bir değişiklik yapmadan, antibiyotik disklere karşı direnç oluşturup oluşturmadıkları incelenmiştir. Nutrient agar besiyerleri hazırlanıp diskler yerleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.6 da olduğu gibidir.

Bu çalışmada aynı markaya ait 10 farklı antibiyotik disk kullanılmıştır. Bu çalışmada; Cefuroksim (CXM30) ve Ceftriakson (CRO30) isimli antibiyotikler 5 farklı deney bakterisi üzerinde antibakteriyel etki gösterirken; oksalisin (OX1) antibiyotiği sadece *Micrococcus luteus* adlı deney bakterisi üzerinde etki göstermiştir.

Tablo 4.6 Antibiyotik disklere karşı direnç (mm)

Antibiyotikler	Bakteriler					
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
Ampisilin AM10	21 ± 1	-	23 ± 1	17 ± 1	-	-
Erythromcin E15	13 ± 1	-	17 ± 0	18 ± 0	-	46 ± 1
Gentamisin CN10	14 ± 1	17 ± 1	15 ± 0	-	-	10 ± 1
Cefiksim CFM5	-	-	-	11 ± 1	24 ± 1	19 ± 0
Oksalisin OX1	-	-	-	-	-	35 ± 0
Penisilin P10	17 ± 1	-	25 ± 1	15 ± 1	-	-
Ceftriakson CRO30	13 ± 0	11 ± 0	11 ± 0	13 ± 0	21 ± 0	-
Amoksisilin AMC30	15 ± 1	-	32 ± 1	29 ± 1	11 ± 0	-
Cefuroksim CXM30	13 ± 0	-	19 ± 1	17 ± 1	19 ± 1	27 ± 1
Cefoksitin FOX30	-	-	-	-	21 ± 1	33 ± 1

(-) antibiyotik etki yok

5. BÖLÜM

TARTIŞMA

Bitkiler birçok alanda kullanılmaktadır. Besin, ilaç ve çevre düzenlemesi amacıyla çokça tercih edilmektedir. Bitkilerin tıbbi alanlarda inkâr edilemez bir ilaç potansiyeli vardır. En basit ağrı kesiciler bile bitkilerden elde edilmiştir. Çeşitli aromatik bitkilerin birbirine benzer ya da birbirinden farklı kimyasal etki mekanizmaları vardır.

Çalışmalarda kullandığımız; *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Centranthus longiflorus* Steven, *Cynoglossum* sp., *Equisetum ramosissimum* Desf., *Helichrysum arenarium* (L) Moench, *Micromeria fruticosa*, *Stachys lavandulifolia* Vahl., *Tanacetum densum* (Labill) Sch. Bip. türleri üzerinde DPPH radikali süpürme aktivitesi, metal iyonları şelatlama aktivitesi, total fenolik içerik tayini, β -karoten ve likopen miktar tayini, antibakteriyel aktiviteleri tespit edilmiştir. Ek olarak antibakteriyel etki çalışmalarında kullanılan deney bakterileri üzerinde antibiyotik disklerle karşı direnç testleri uygulanmıştır.

5.1. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

Bir maddenin antioksidan özellik gösterip göstermediğini tayin etmede kullanılan yöntemlerden biri de DPPH radikali yakalama aktivitesidir. Uygulanan bitki ekstralarının dozları arttırıldıkça süpürme aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan bitkilerin etanol ekstraları içerisinde; en iyi süpürme aktivitesi gösteren bitki *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü olmuştur. Tüm türler için 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm konsantrasyonlarında uygulanan dozlar arasında IC₅₀ değeri en iyi olan tür *Helichrysum arenarium* (L.) Moench iken, IC₅₀ değeri bakımından en düşük aktiviteyi gösteren ise *Equisetum ramosissimum* Desf. türü olmuştur.

Çalışmada bitkilerin yanı sıra sentetik antioksidanlardan biri olan BHT molekülü de kullanılmıştır. BHT molekülünün IC₅₀ değeri 43 µg / mL olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü için IC₅₀ değeri 43,3 µg / mL, *Equisetum ramosissimum* Desf. türü için IC₅₀ değeri 191.24 µg / mL olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre; *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türünün sentetik antioksidan olan BHT molekülünden DPPH radikali süpürme noktasında daha iyi olduğu görülmektedir.

Tepe ve arkadaşları[47] Sivas bölgesinden temin ettikleri *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türünün metanol ekstreleri için yaptıkları DPPH serbest radikali süpürme testinde; bu tür için IC₅₀ değerini 47,6 µg / mL olarak belirlemiştir. % süpürme oranını ise; maksimum % 57– 58 oranında belirlemiştir. Bu çalışmada kullanılan ekstrenin daha etkili olduğu görülmektedir.

Özgen ve arkadaşları[86] Kars Karakale bölgesinden temin ettikleri *Helichrysum arenarium* türünün metanol ekstresi için yaptıkları DPPH serbest radikali süpürme testinde; bu tür için IC₅₀ değerini 183 µg / mL olarak belirlemiştir. 250 ppmlik konsantrasyonda %58,6 oranında süpürme oranı belirlemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan ekstrenin daha etkili olduğu görülmektedir.

Albayrak ve arkadaşları[48] *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türü üzerinde yapmış oldukları HPLC testleri sonucunda bu bitkinin fenolik içeriğini; 99 µg / g apigenin-7-glukozid, 89,9 µg / g klorojenik asit, 27,5 µg / g apigenin, 9,16 µg / g naringenin 4,54 µg / g luteolin ve küçük miktarlarda kumarik asit, resveratrol, kafeik asit olarak belirlemişlerdir. Pirgün ve arkadaşı[54] zeytin meyvesinin ekstresinin antioksidan kapasitesini ölçerken, flavonoidleri arasında apigenin-7-glukozid bileşiğinden söz etmişlerdir. Bu bileşiğin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sato ve arkadaşları[49] yaptıkları çalışmada klorojenik asidin yüksek antioksidan kapasitesinin

olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle *Helichrysum arenarium* türünün zengin içeriğinin yüksek oranda DPPH radikalini süpürmesine neden olduğu düşünülmektedir

Bu çalışmada kullanılan bitkiler arasındaki en değerli türlerden birinin *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türünün olması oldukça doğaldır. Kimyasal içerik analizinde oldukça kompleks sekonder metabolitlere sahip olduğu görülmektedir. Bu bitki ilaç sanayisi için alternatif bir kaynak oluşturabilir. Uygulanan yöntem bakımından kullanılan dozlarda göz önüne alınınca IC₅₀ değerinin oldukça düşük olması ve kullanılan doz açısından oldukça önemlidir. Yamagata ve arkadaşları[53] A549 kodlu insan akciğer kanseri hücrelerinde klorojenik asidin apoptoz ve gen ekspresyonunu düzenlediğini belirtmişlerdir.

5.2. Metal İyonları Şelatlama Aktiviteleri

Bu yöntemde bir maddenin demir iyonlarına bağlanarak indirgemesi prensibi esas alınarak bitki ekstraktlarının metal iyonlarını bağlayabilme aktiviteleri kıyaslanmıştır. Fe⁺³ iyonun Fe⁺² iyonu haline gelmesi demek demir atomuna bir elektron bağlanması ya da başka bir madde ile bileşik oluşturması demektir. Bu yöntemde sarı renkte olan çözelti karışımı, reaksiyonun gerçekleşmesi ile Prusya mavisine dönüşür[52]. Demir atomlarının organizmadaki yıkıcı etkileri göz önüne alınırsa uygulanan materyalin yine kanserojen etkileri indirgeyeceği düşünülür.

Yapılan çalışmalarda kullanılan ekstraktların farklı konsantrasyonlarda; konsantrasyon arttıkça aktivite oranlarının da yükseldiği gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere göre tüm bitki ekstraktlarının IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler göre en iyi aktiviteyi *Achillea coarctata* Poir (IC₅₀: 0,85 mg / mL) türü göstermiştir. En düşük aktiviteyi ise *Equisetum ramosissimum* Desf. (IC₅₀: 2,81 mg / mL) türü göstermiştir.

Bu çalışmada öne çıkan tür ise *Achillea coarctata* Poir türü olmuştur. Albayrak ve arkadaşları[50] *Achillea coarctata* Poir türü için yaptıkları GC – MS testinde elde ettikleri sonuçlara göre % 29,44 oranında bir terpenoid olan kâfur, birçok alkoloid, flavonoid çeşidi keşfetmişlerdir. Fawzia ve arkadaşları[55] 40 farklı albino fare üzerinde yaptıkları deneyde kâfur bileşimini çözelti olarak farelere vermiş ve süperoksit anyonlarını tek başına inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Ancak toksin etkileri azaltmadığı sadece antioksidan etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Tzakou ve arkadaşlarının[51] *Achillea coarctata* Poir türüne ait esansiyel yağ içeriğini belirlediği çalışmada; çiçek altı yapraklardan elde ettikleri yağın % 29,1 i 1-8 sineol içermektedir. Bu bileşik bir monoterpendir. Yüksek antioksidan etki göstermektedir. Santos ve arkadaşının[56] fareler üzerinde yaptığı çalışmada 1-8 sineol' ün etanol kaynaklı gastrik hasarı önlediği ve mide mukozasının aldığı hasarı önemli ölçüde azalttığı sonuçlarına varmışlardır.

Albayrak ve arkadaşının[50] *Achillea coarctata* üzerinde yaptığı metal iyonları şelatlama testinde IC₅₀ değerini 1,74 mg / mL olarak belirlemiştir. Bu çalışmada kullanılan bitki ekstresi, Albayrak ve arkadaşının kullandığı ekstreden daha iyi sonuçlar vermiştir.

Bu çalışmada *Achillea coarctata* Poir türü 1 mg / mL oranının altında bir IC₅₀ değerine sahip olarak düşük konsantrasyonlarda, insan sağlığını kötü etkiyebilecek metallere karşı savunmada oldukça önem arz etmektedir.

5.3. Biyoaktif İçeriklerin Tayini

Bu test yöntemlerinde ise bitki ekstrelerinin biyoaktif içeriklerinin tayini yapılmıştır. Dokuz farklı bitki ekstresinin β-karoten, likopen ve total fenolik içerik miktarları belirlenmiştir.

β -karoten vitamin A'nın hammaddesi olarak bilinmektedir. Bu madde tıpkı vitamin A gibi yağda çözünmektedir. Oksidasyon ile birlikte oluşan serbest radikalleri scavenging etki ile süpürerek yıkıcı etkilerini inhibe etmektedir. Bu çalışmaya göre dokuz farklı bitki ekstresinin içerisinde en yüksek β -karoten miktarına sahip *Achillea coarctata* Poir (113,66 $\mu\text{g} / \text{g}$) iken en düşük β -karoten miktarına sahip *Micromeria fruticosa* (48,1 $\mu\text{g} / \text{g}$) türü olmuştur.

Albayrak ve arkadaşı[50] *Achillea coarctata* üzerinde yaptıkları biyolojik aktivite belirleme testinde *Achillea coarctata* Poir türündeki β -karoten miktarını 83,67 $\mu\text{g} / \text{g}$ olarak belirlemişlerdir. Albayrak temin ettiği bitkiyi şehir merkezinden toplamıştır. Bu çalışmada kullandığımız *Achillea coarctata* türü ise 2240 mt. rakımda toplumdan izole bir bölgeden temin edilmiştir. Bu gibi çevresel etmenler bitkilerin ürettiği biyolojik materyaller üzerinde etkiye sahiptir. Bu sebeplerden dolayı çalışmada kullanılan bitki ekstresi daha iyi sonuç verdiği düşünülmektedir.

Likopen ise koyu kırmızı renkte olan bir pigmenttir. Kırmızı renkli birçok yiyecekte de bolca bulunmaktadır. Karotenoidler ailesi bilinen en güçlü antioksidanları barındırmaktadır. Bu bileşik kirlilik ve UV ışınlardan kaynaklanan serbest radikaller ile mücadele etmede birebirdir. Bu özelliklerden dolayı bir maddenin antioksidan etkilerinin ortaya koyulabilmesi için likopen miktarını tayin etmek şarttır. Yapılan çalışmaya göre likopen miktarı en yüksek olan bitki ekstresi *Helichrysum arenarium* (L) Moench (69,6 $\mu\text{g} / \text{g}$) türüdür. En düşük likopen miktarına ise *Micromeria fruticosa* (47,98 $\mu\text{g} / \text{g}$) türünde tespit edilmiştir.

Total fenolik miktar tayininde gallik asit denklik yöntemine uygun olan Folin-Ciocalteu reaktifiyle gerçekleştirilmiştir. Fenoller ve flavanoidler antioksidan etki çalışmalarında ölçülmesi gereken materyallerdir. Her türlü serbest radikal ile etkileşim kurabilirler. Yapılan çalışmada kullanılan dokuz farklı bitki ekstresi içerisinde *Micromeria fruticosa* (36,6 mg / g) türü en fazla

fenolik madde miktarına sahipken *Achillea clusiana* Tausch (19 mg / g) türü en az fenolik madde miktarına sahiptir.

Gharbieh ve arkadaşları[52] *Micromeria fruticosa* türünün total fenolik içerik miktarını 39,2 mg /g olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuca göre Gharbieh ve arkadaşlarının kullandığı ekstrede, bu çalışmada kullanılan ekstreye göre daha fazla fenolik içerik bulunmaktadır. Gharbieh ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlar çalışmada elde ettiğimiz sonucu desteklemektedir.

Bu çalışmalar bütününde β -karoten miktarı ile metal iyonları şelatlama yöntemi arasında bir bağlantı olduğunu söyleyebiliriz. Buna ek olarak likopen miktarı ile DPPH serbest radikali süpürme testi arasında da nispeten bir korelasyon bulunmaktadır.

5.4. Antibakteriyel Etki

Yapılan çalışmanın bu kısmında dokuz farklı bitkinin metanol de çözdürülmüş bitki ekstralarının patojenik test bakterilerine karşı oluşturdukları dirençler ölçülmüştür. *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Helichrysum arenarium* (L) Moench ve *Stachys lavandulifolia* Vahl. türleri yüksek etki göstermiştir. Dört farklı bitki ekstresi tüm test bakterileri üzerinde zonlar oluşturmuştur. Bu türler arasında en kıymetli olanı ise *Helichrysum arenarium* (L) Moench türü olmuştur. Dört farklı ekstrenin sonuçları birbirine oldukça yakındır. En düşük etkiyi ise *Micromeria fruticosa* ve *Cynoglossum* sp. türleri göstermiştir.

Bu çalışmaya ek olarak çalışmada kullanılan patojenik test bakterileri üzerinde antibiyotik disk çalışmaları da yapılmıştır. Yapılan antibiyotik disk çalışmasında Cefuroksim (CXM30) antibiyotiği *B. subtilis* hariç tüm patojenik test bakterine karşı zon oluşturmuştur. Ancak Cefuroksim antibiyotiği en iyi etki gösteren dört farklı türle kıyaslanınca daha az bir etki göstermiştir. Bu çalışmadan da anlaşılacağı üzere metanolde çözdürülmüş bitki ekstraları çok

daha verimli bir seçenektir. Bunun sebebi kullanılan antibiyotiklerin içeriğinin sabit kalması ve bu sebepten organizmaların zamanla kullanılan antibiyotiğe karşı direnç kazanması olarak açıklanabilir. Kullanılan bitki ekstreleri içerdiği organik maddelerin kimyasal yapılarından dolayı deney bakterileri üzerinde etki göstermektedir.

Tzakoa ve arkadaşlarının[51] *Achillea coarctata* türü üzerinde yaptıkları deneyde ortak kullanılan test bakterileri şunlardır; *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* ortak kullanılmıştır. Tzakoa ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlara göre *P. aeruginosa* için yüksek konsantrasyon varlığında sonuç alabilmişlerdir. Aynı şartlar altında yapılan laboratuvar çalışmasında ise düşük konsantrasyonlarda sonuç elde edilmiştir. *E. faecalis* deney bakterisinde Tzakoa ve arkadaşları oldukça düşük bir konsantrasyondan sonuç almışlardır. Yapılan laboratuvar çalışmasında ise bir miktar konsantrasyon farkı ile sonuç elde edilmiştir. Tzakoa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma, aldığımız sonuçları desteklemektedir.

Rančić ve arkadaşlarının[60] *Helichrysum arenarium* türüne ait esansiyel yağın; antibakteriyel etkisini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada 1, 2,5 ve 5 µL / mL konsantrasyonlar kullanmışlardır. Her iki çalışmada da *M. luteus* ve *E. coli* patojenleri ortak kullanılmıştır. Rančić ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadaki elde edilen sonuçlar; yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir. Rančić ve arkadaşlarının aldığı sonuçların daha etkili olmasının sebebi ise; yaptıkları çalışmada esansiyel yağ kullanmalarından kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada ise bitkinin tüm uzuvlarından elde edilen ekstre kullanılmıştır.

Shahnama ve arkadaşlarının [61] *Stachys lavandulifolia* türüne ait esansiyel yağın; antibakteriyel etkisini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada *B. subtilis*, *E.coli*, *L. monocytogenes* ve *P. aeruginosa* deney bakterileri ortak kullanılmıştır. Bu türün esansiyel yağının *B. subtilis* ve *E. coli* patojenleri üzerinde etkili olduğunu belirlemişlerdir. Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada ise *B. subtilis* ve *M. luteus* patojenlerinde yüksek etki

gözlemlenmiştir. Shahnama ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadaki sonuçlar gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmadaki verileri desteklemektedir.

Bu çalışmalar bütününde *Achillea clusiana* Tausch türü daha önce çalışılmış bir bitki olmadığından, hakkında kıyas amaçlı deneysel veri bulunmamaktadır. Elde edilen verilere göre *Achillea coarctata* Poir ve *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türlerinin yüksek antioksidan ve yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu ortadadır. Ekstrelerin içeriğinde bulunan likopen ve total fenolik içerik miktarı antibakteriyel etki üzerinde etkilidir. Elde edilen veriler göre bu sonuca varılmıştır. *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench ve *Stachys lavandulifolia* Vahl. türleri yüksek antibakteriyel etki göstermişlerdir. Ticari antibiyotiklere karşı alternatif doğal antibiyotik olarak kullanılması tavsiye edilmektedir. *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türleri için gelecekte yapılacak in vivo ve in vitro çalışmalardan elde edilecek sonuçlar bilim dünyasına kazandırılmalıdır.

SONUÇ

Bu çalışmada Adıyaman'ın Tut ilçesi ile Malatya'nın Doğanşehir ilçesine bağlı Erkenek kasabası arasında bulunan Akdağ isimli dağdan toplanan *Achillea clusiana* Tausch, *Achillea coarctata* Poir, *Centranthus longiflorus* Steven, *Cynoglossum* sp., *Equisetum ramosissimum* Desf., *Helichrysum arenarium* (L) Moench, *Micromeria fruticosa*, *Stachys lavandulifolia* Vahl. ve *Tanasetum densum* (Labill) Sch. Bip. türlerinin antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki türlerine ait etanol ekstralarının farklı konsantrasyon aralığında DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesi, metal iyonları şelatlama aktivitesi, total fenolik içerik miktar tayini, likopen miktarı ve β -karoten miktarları ve patojenik test bakterilerine karşı oluşturdıkları direnç çapları belirlenmiştir.

Bitki ekstralarına ait farklı konsantrasyonlarda; konsantrasyon miktarı arttıkça, DPPH serbest radikalini süpürme oranı da her bitki ekstresi için yüksek konsantrasyon uygulandıkça arttığı gözlemlenmiştir. IC₅₀ ve yüzde inhibisyon değerine bağlı olarak kullanılan etanol ekstraları arasında *Helichrysum arenarium* (L) Moench türü en iyi aktiviteyi göstermiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstralarının metal şelatlama aktivitesine bakıldığında; uygulanan konsantrasyon miktarı arttıkça aktivite oranının arttığı gözlemlenmiştir. Metal şelatlama aktivitesi IC₅₀ ve yüzde inhibisyon faktörü göz önüne alındığında uygulanan standart konsantrasyonlarda en yüksek etkiyi *Achillea coarctata* Poir türü göstermiştir.

Bu çalışmaya göre en yüksek total fenolik içerik miktarını *Micromeria fruticosa* türü göstermiştir. β -karoten miktarı en yüksek olan tür ise; *Achillea coarctata* Poir türüdür. Likopen miktarı en yüksek olan ise; *Helichrysum arenarium* (L) Moench türüdür.

Bu testler neticesinde her bitkinin farklı kimyasallar üzerinde farklı etkileri bulunmaktadır. Uygulanan test yöntemlerine bağlı standart bir korelasyon bulunmamaktadır. Her test yönteminin kendine has bir reaksiyon kinetiği mevcuttur. Sonuçlar uygulanan her test yöntemine ve bitkinin toplandığı bölgesel farklılıklara bağlı olarak değişmektedir. Bitkinin maruz kaldığı koşullar dahi uygulanan test yöntemlerindeki farklılıkların kaynağı olabilmektedir.

Kullanılmak istenen biyolojik materyalin antioksidan aktivitesi belirlenirken, birbirinden farklı metotlar kullanılarak canlı sistemlerdeki biyokimyasal olayları göz önünde bulundurmak, ayrıca kesinliği ve uygulanabilirliği yüksek yöntemler kullanmak doğruluk oranı yüksek sonuçlar elde etmek için daha iyi olacaktır.

Antibakteriyel aktivite testlerinde alınan sonuçlara göre; *Achillea clusiana* Tausch, *Helichrysum arenarium* (L) Moench, *Stachys lavandulifolia* Vahl, *Achillea coarctata* Poir türleri tüm patojenik test bakterileri üzerinde yüksek sonuçlar vermiştir. Nispeten likopen miktarına ve DPPH radikalini süpürme miktarlarına bağımlı olarak antibakteriyel aktivite üzerinde pozitif korelasyon olduğunu söyleyebiliriz.

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre özellikle *Achillea coarctata* Poir, *Achillea clusiana* Tausch, *Stachys lavandulifolia* Vahl. ve *Helichrysum arenarium* (L) Moench türlerine ait ekstrelerin sentetik antioksidan olan BHT'den daha yüksek antioksidan etki gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda insan sağlığını olumsuz olarak etkileyen oksidan maddelere ve zararlı mikroorganizmalara karşı doğal antioksidan ve antibakteriyel ajan olarak kullanılabilir. Sonuç olarak yapılan çalışma ile kullandığımız bitki türlerinin sentetik antioksidanlardan daha iyi sonuçlar verdiği, insan vücudunda çeşitli metabolik faaliyetler sonucu meydana gelen oksidatif stresi azaltabilecekleri ve zararlı mikroorganizmaları inhibe edebilecekleri varsayılmaktadır.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar bu alanda bundan sonra yapılacak yeni çalışmalara, projelere kaynak teşkil edecek ve konuyu daha ileri düzeye taşımada önemli rol oynayacaktır. Diğer taraftan çalışmamızda ön plana çıkan *Achillea coarctata* Poir, *Achillea clusiana* Tausch, *Stachys lavandulifolia* Vahl. ve *Helichrysum arenarium* (L) Moench türlerinin yüksek antibakteriyel ve antioksidan özelliği; ileride yapılacak in vivo ve in vitro çalışmalara kaynak teşkil edecek, sentetik antioksidanlara ve ticari antibiyotiklere alternatif doğal bir ürün adayı olma açısından ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

1. Ceran, B., “Antik Mısır Ve Anadolu Uygarlıklarında Tıp”, *Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, :38, Konya 2008.
2. Akbaş, G., “Mumya Bilimi”, *PiVOLKA*, 21(7): 12, 2013.
3. Arıhan, S.K., “Antik Dönemde Bitkisel Tıp Ve Tedavi”, *Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, : 199, Ankara, 2003.
4. Uncu, M.E., “Eski Mezopotamya’da Tıp” *History Studies International Journal Of History* ,5(5): 110, 2013.
5. Gündüz, A., “Mezopotamya ve Eski Mısır”, *Büke Yayınları*, : 303, İstanbul, 2002.
6. Altıntaş, A., “Eski Türk Tıbbına Bir Bakış”, *Tıp Tarihi Araştırmaları*, 1, : 84-87, İstanbul 1986.
7. Aral, C., “Mitokondriyal DNA Değişimlerinin Kansere İle İlişkisinin Araştırılması”, *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, : 23, İstanbul, 2007.
8. İnternet: Wikipedia Özgür Ansiklopedi “İkincil metabolit”
https://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0kincil_metabolit#:~:text=%C4%B0kincil%20metabolit%20canl%C4%B1n%C4%B1n%20normal%20b%C3%BCy%C3%BCme,metabolit%20eksikli%C4%9Finde%20ani%20%C3%B6l%C3%BCm%20gerekle%C5%9Fmez.

9. Astley, S. B., “Dietary antioxidants-past, present and future?”, *Trends in Food Science & Technology*, 14 (3): 93–98, (2003).
10. Materska, M., Perucka, I., “Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.).” *J Agr Food Chem* 53: 1750-1756, 2005.
11. Durmaz, G., “Kayısı meyvesinin ve kavrulmuş kayısı çekirdeğinin antioksidan özellikleri.” *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, : 95 Malatya, 2002.
12. Can, A., Özçelik, B., ve Güneş, G., Meyve sebzelerin antioksidan kapasiteleri, *GAP IV. Tarım Kongresi*, Şanlıurfa, 2005.
13. Gül, Ç., “Mersin Bölgesinde Yetişen *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica*, *Lavandula officinalis* Bitkilerinden Süper Kritik Ekstraksiyon Yöntemiyle Elde Edilen Özütlerin Antioksidan Ve Antibakteriyel Aktivitelerinin İncelenmesi”, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, : 33, Mersin, 2019.
14. Karaman, Ş., “Türkiye’de Yetişen Bazı Elma Çeşitlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin ve Antioksidan özellik Gösteren Başlıca Bileşenlerin Karşılaştırılması”, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul, 2008.
15. Podsedek, A., “Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review”, *LWT*, 40: 1-11, 2007.
16. Wheeler, G.L., Jones, M.A., Smirnoff, N., “The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants”, *Nature*, 393: 365-369, 1998.

17. Woodall, A.A., Ames, B. N., “Diet and oxidative damage to DNA: The importance of ascorbate as an antioxidant. Vitamin C in Health and Disease, Markel Dekker”, :193-203, New York, 1997
18. Bendich, A., “Vitamin C safety in humans, Vitamin C in Health and Disease, Markel Dekker”, :367-379, New York, 1997.
19. Halliwell, B., “Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo, Free Radical Research,” 25: 439-454, 1996.
20. Carr, A.C., Frei, B. “Toward A New Recommended Dietary Allowance For Vitamin C Based On Antioxidant And Health Effects In Humans.”, *Am J Clin Nutr*, 69: 1086-1107, 1999.
21. Kalt, W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L., “Antioxidant capacity, vitamin C, Phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits.”, *J. Agric. Food Chem.*47(11): 4638-4644, 1999.
22. Antmen, E., “Beta Talasemide Oksidatif Stres.”, *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 2005.
23. Tüzün, Y., ve Garip, F., “E vitaminin dermatolojideki yeri”, *Dermatose* 2005, 4: 96-98, 2005.
24. Yalçın, B., “Isırgan otundaki (*Urtica dioica*) bazı fenolik bileşiklerin incelenmesi”, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, İzmir 2011.
25. Suleiman, S.A., Ali, M.E., Zaki, M.S., El-Malik, E.M.A., Nasr, M.A., “Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E”, *Journal of Andrology*, 17 (5): 530-537, 1996.

26. Horwitt, M. K., “Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B6”, *American Journal of Clinical Nutrition*, 44: 973-985, 1986.

27. Eren, M.F., “Kilis bölgesinde üretilen yöresel biber (*Capsicum annum*) kurutmalığının antibakteriyel aktivitesi ve fitokimyasal, antioksidan özelliklerinin yanıt yüzey metodu ile optimizasyonu”, *Kilis Yedi Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, :21 Kilis 2019.

28. Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C.,” Free radicals, antioxidants in disease and health”, *International Journal of Biomedical Science* 4 (2): 89-96, 2008.

29. Kurilich, AC., Tsau GJ., Brown, A., Howard, L., Klein, BP., Jeffery, EH., Kushad, M., Wallig, MA., Juvik, JA., “Tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of *Brassica Oleracea*”, *J. Agric. Food Chem.*, 47(4) :1576-1581, 1999.

30. Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T. and Tatematsu M., “Studies on Antioxidants: Their Carcinogenic and Modifying Effects on Chemical Carcinogenesis”, *Food and Chemical Toxicology*, 24(10/11): 1071-1082, 1986.

31. Ito, N., Fukushima, S., and Tsuda H., “Carcinogenicity and Modification of the Carcinogenic Response by BHA, BHT and Other Antioxidants.”, *Critical Reviews in Toxicology*, 15(2): 109-150, 1985.

32. Blumenthal, H., Daniel, J., Elisa, P.S, Scheuplein, R. J., Silano, V., Turturro, A. ve Vettorazi, G., “Risk Assessment Associated with the use of Phenolic Antioxidants in Foods”, *Food and Chemical Toxicology*, 24(10-11): 1243-1253, 1986.

33. Ergen, B., “Rosa pimpinellifolia l. (koyungözü) meyvesinin bazı fizikokimyasal özellikleri ile antioksidan aktivite ve fenolik profilinin belirlenmesi”, *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi* :40, Bayburt, 2019.
34. Özyürek, M., “Bazı İçeceklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayininde Yeni Bir Yöntem Geliştirilmesi”, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi* ,:3-4, İstanbul, 2005.
35. Yavaşer, R., “Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması”, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi* :41, Aydın, 2011.
36. Eken, S., “Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri”, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul, 2007.
37. Çöllü, Z., “*Urtica pilulifera* l. bitkisinin antioksidant aktivitesinin araştırılması”, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Samsun, 2007.
38. Yanishlieva, N., Gordon, M. *Antioxidants in Food*, CRC Pres, USA. 2001.
39. Altuğ, T., “Gıda Katkı Maddeleri”, *Meta Basım* Bornova, İzmir, 2001.
40. Uğuzlar, H., “Antalya’da yetişen *Araceae arum*’un antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini”, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, : 70-73, Konya, 2009.
41. Keskin, H., Erkmen G., “Besin Kimyası” *Güryay Matbaacılık*, Beşinci basım, İstanbul, 1987.

42. Çakmakçı, S., Çelik, I., “Gıda Katkı Maddeleri”, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ders Notu* 249 Erzurum 2000.
43. Altuner, E.M., “Bazı karayosunu türlerinin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.”, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, Ankara, 2008.
44. Burnaz, N.A., “*Viburnum opulus* ve *Viburnum Orientale* bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri.”, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Trabzon, 2007.
45. Öztürk, H., “*Jurinea consanguinea*’nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.”, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Edirne, 2009.
46. Akyüz, E., “*Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antibakteriyel Aktiviteleri”, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Trabzon, 2007.
47. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen A., “In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey”, *Food Chemistry* 90: 686-688 2004.
48. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Hamzaoglu, G., “ Türkiye’den toplanan *Helichrysum* (Asteraceae) türlerinin bileşimleri, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri”, *Food Chemistry*, 119(1): 114-122, 2010
49. Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K., “In vitro and In vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid”, *International Journal of Pharmaceutics*, 403(1-2): 136-138, 2011

50. Albayrak, S., Silahtarlioğlu, N., “Determination of biological activities of essential oil and extract obtained from *Achillea coarctata* Poir” *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 20(77): 88, 2020.
51. Tzakou, O., Couladis, M., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Kovacevic, N., “Composition and Antimicrobial Activity of *Achillea coarctata* Essential Oils from Greece”, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12 (5): 541-545, 2009.
52. Stamets, P., “Mycelium running”, *Ten speed press*, 399 Berkeley, 2005.
53. Yamagata, K., Izawa, Y., Onodera, D., Tagami, M., “Clorogenic acid regulates apoptosis and stem cell marker-related gene expression in A549 human lung cancer cells”, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 9(19): 441, 2018
54. Pirgün, Y., Keçeli, T., “Hatay’da yetiştirilen Gemlik ve Halhalı zeytinlerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi”, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü dergisi*, 18(1): 22, 2008.
55. Fawzia, Y.H., Shata, H.A.A., Eldebaky ve Amal R. Abd El Hameed, “Effects of Camphor on Hepatic Enzymes, Steroids and Antioxidant Capacity of Male Rats Intoxicated with Atrazine”, *Middle-East Journal of Scientific Research*, 22(4): 553, 2014.
56. Santos, F.A., Rao, V.S.N., “1-8 cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in Rats”, *Digestive Diseases and Sciences*, 46: 331-337, 2001.
57. Singleton, V.L., Rossi, J.A., “Clorimetry of total phenolics with phosphomolybdcid-phosphotungstic acid reagents”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158, 1995.

58. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologien*, 28: 25-30, 1995.
59. Decker, E.A., Welch, B., "Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 674-677, 1990.
60. Rančić, A., Soković, M., Vukojević, J., Simić, A., Marin, P., Duletić-Laušević, S., Djoković, D., "Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils of *Myrrhis odorata* (L.) Scop *Hypericum perforatum* L and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench", *Journal of Essential Oil Research*, 17: 341-345, 2005.
61. https://www.wikiwand.com/fr/Achillea_clusiana
62. <https://www.biolib.cz/en/image/id109177/>
63. <http://dogalhayat.org/property/centranthus-longiflorus/>
64. <https://www.projectnoah.org/spottings/7761851>
65. http://www.sardegnafiora.it/linkerbe%20a-l/equisetum_amosissimum.html
66. <https://www.biolib.cz/en/image/id41598/?elang=CZ>
67. <https://evi-gampl.de/produkt/bergkraut-arabisches-micromeria-fruticosa/>
68. http://www.srgc.org.uk/logs/logdir/2011May291306678779Log_5_of_2011.pdf
69. <https://dansmonjardintuviendras.blogspot.com/2018/02/plantes-adaptees-au-climat-mediteraneen.html>
70. <https://www.cicekal.net/blog/tag/kandil-cicegi-nedir/>

71. Toker, Z., Özen H.Ç., Clery, R.A., Owen, N.E., “Essential oil of two *Achillea* species from Turkey” *Journal of Essential Oil Research*, 15: 100, 2003
72. Zengin, G., Nithiyanantham, S., Locatelli, M., Ceylan, R., Uysal, Ş., Aktümsek, A., Selvi, P.K., Maskovic, P., “Screening of in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of different extracts from two uninvestigated wild plants: *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus* and *Cerithe minor* subsp. *Auriculata*”, *European Journal of Integrative Medicine*, 8: 286-292, 2016.
73. <http://tropical.ferns.info/viewtropical.php?id=Equisetum+ramosissimum>
74. <https://www.1faydalari.com/helichrysum-arenarium-altin-otu-faydalari/>
75. https://en.wikipedia.org/wiki/Micromeria_fruticosa
76. <https://iranianuk.com/20180113235335038/%DA%A7%DB%8C-%DA%A9%D9%88%D9%87%DB%8C-%D8%A7%D8%B2-%D8%B6%D8%AF%D8%A7%D9%81%D8%B3%D8%B1%D8%AF%DA%AF%DB%8C-%D8%AA%D8%A7-%D9%BE%D8%A7%DA%A9%D8%B3%D8%A7%D8%B2%DB%8C-%DA%A9%D9%84%DB%8C%D9%87-%D9%87%D8%A7>
77. <http://tudr.thapar.edu:8080/jspui/bitstream/10266/916/3/916.pdf>
78. <http://www.drdobbin.co.uk/vitamin-c-do-we-need-supplement>
79. <https://www.nkfu.com/tum-vitaminlerin-kimyasal-yapisi-ve-formulleri/>
80. <https://xn--b1advjcbct.xn--p1ai/%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5/%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%BD>
81. <http://azkurs.org/likopenin-gokkusag-alabalg-oncorhynchus-mykiss-w-nda-oksidatif.html>

82. https://sr.wikipedia.org/wiki/Propil_galat

83. <https://www.indiamart.com/proddetail/butylated-hydroxyanisole-bha-13304460162.html>

84. <https://korean.alibaba.com/product-detail/butylated-hydroxy-toluene-bht-for-food-cas-no-128-37-0--50027845865.html>

85. <https://es.wikipedia.org/wiki/TerButilHidroquinona>

86. Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coşkun, M., Yıldırım, A., “Antioxidant Activites and Total Phenolic Compounds Amount of Some Asteraceae Species”, *Turkisch Journal Pharmacology Science*, 1(3): 209, 2004.