



***BUPLEURUM LYCAONICUM* SNOGERUP BİTKİ TÜRÜNÜN
BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

Sezen ERTAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2017

Sezen ERTAN tarafından hazırlanan “*BUPLEURUM LYCAONICUM* SNOGERUP BİTKİ TÜRÜNÜN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan : Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elif Burcu BALI

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 20/01/2017

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Hadi GÖKÇEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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.

Sezen ERTAN
20/01/2017

BUPLEURUM LYCAONICUM SNOGERUP BİTKİ TÜRÜNÜN BİYOLOJİK
AKTİVİTESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sezen ERTAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2017

ÖZET

Bu çalışmada *Bupleurum lycaonicum* bitki özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve DNA etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ilk olarak, bitkinin metanol ve etanol özütleri çıkarılmıştır. Özütlerin antimikrobiyal etkileri agar kuyucuk yöntemi ile hesaplanmıştır. Bu özütlerin *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *K. pneumoniae* ATCC 13883 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisi 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. Etanol, metanol özütleri ve antioksidan Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)'ün DPPH radikal süpürücü aktiviteleri sırasıyla %76,48±1,69; %83,57±1,12 ve %79,15±0,33 olarak bulunmuştur. Metanol ve etanol özütlerinin toplam fenolik içerikleri sırasıyla 109,57±5,67 µg GAE/mg ve 86,23±3,00 µg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. İlaveten, bitki metanol ve etanol özütlerinin plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemiyle incelenmiştir. Özütlerin konsantrasyona ve inkübasyon süresine bağlı olarak DNA'yı kesme aktivitesi belirlenmiştir. Sonuç olarak, *Bupleurum lycaonicum* bitkisinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve DNA üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar Kelimeler : *Bupleurum lycaonicum*, antimikrobiyal, antioksidan aktivite, DNA etkileşimi
Sayfa Adedi : 77
Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

BIOLOGICAL ACTIVITY OF *BUPLEURUM LYCAONICUM* SNOGERUP PLANT
SPECIES

(M.Sc. Thesis)

Sezen ERTAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2017

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the antimicrobial, antioxidant activities and DNA interactions of *Bupleurum lycaonicum* extracts. For this purpose, firstly methanol and ethanol extracts were obtained from this plant. The extracts were analysed for antimicrobial activity by agar well diffusion method. The extracts were shown antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *K. pneumoniae* ATCC 13883 and *P. aeruginosa* ATCC 27853, whereas the extracts had no antimicrobial activity against tested yeast 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. DPPH free radical scavenging effects of ethanol, methanol extracts and antioxidant Butylated hydroxytoluene (BHT) were determined $76,48 \pm 1,69\%$, $83,57 \pm 1,12\%$ and $79,15 \pm 0,33$ respectively. Total phenolic contents of the methanol and ethanol extracts were found to be $109,57 \pm 5,67 \mu\text{g GAE/mg}$ and $86,23 \pm 3,00 \mu\text{g GAE/mg}$ 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 *Bupleurum lycaonicum* has a high antioxidant activity and it has an impact on DNA.

Science Code : 20326

Key Words : *Bupleurum lycaonicum*, antimicrobial, antioxidant, DNA interaction

Page Number : 77

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bana yol gösteren, bilgilerini paylaşan, araştırmalarım boyunca her türlü destek, yardım ve ilgisini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a,

Tez savunma jürimde bulunarak tezin değerlendirilmesinde önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif Burcu BALI'ye,

Tezimin konusu olan bitkinin toplanmasında ve teşhis edilmesinde yardımcı olan Sayın Yard. Doç. Dr. Bilal ŞAHİN'e,

Tez sürecimde, laboratuvar çalışmalarımda, deneylerimin yapılışında benden yardımını ve zamanını esirgemeyen değerli arkadaşım Araş. Gör. Betül AYDIN'a,

Tüm zorluklara rağmen her zaman yanımda olan, bana sabır ve anlayış gösteren, akademik çalışmalarımı sürdürmem için beni destekleyen can yoldaşım Barış ARI'ya,

Tezin gerçekleşmesinde en önemli role sahip olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyip bu günlere gelmemi sağlayan annem Serap ERTAN, babam Recep ERTAN ve ikiz kardeşim Seren ERTAN'a,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

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	3
2.1. Tıbbi Bitkiler.....	3
2.2. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi	4
2.3. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler	12
2.3.1. Fenolik bileşikler.....	12
2.3.2. Uçucu yağlar	16
2.3.3. Alkaloidler.....	18
2.3.4. Terpenler ve terpenoidler	19
2.4. <i>Apiaceae</i> (<i>Umbelliferae</i>) Familyasının Genel Özellikleri.....	20
2.5. <i>Bupleurum</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	22
2.5. <i>Bupleurum</i> Cinsinin Sistematikteki Yeri	23
2.7. <i>Bupleurum lycaonicum</i> S. Türünün Genel Özellikleri.....	23
2.8. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi.....	24
2.8.1. Antioksidan aktivite	25
2.8.2. Antimikrobiyal aktivite	33

	Sayfa
2.8.3. Enfeksiyonlara neden olabilecek bazı mikroorganizmalar	34
2.9. İlaç-DNA Etkileşimi	38
3. MATERİYAL METOT	41
3.1. Materyaller	41
3.1.1. Bitkisel materyal	41
3.1.2. Mikroorganizmalar	41
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler	41
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	42
3.1.5. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması	42
3.2. Metotlar	43
3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması	43
3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi	43
3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi	44
3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi	46
3.2.5. Agaroz jel elektroforezi	46
4. DENEYSEL BULGULAR	47
4.1. Özütlerin Antioksidan Etkileri	47
4.1.1. DPPH radikalini süpürücü etki	47
4.1.2. Toplam fenolik içerik tayini	48
4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri	49
4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi	49
4.3. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	77

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Terpenlerin sınıflandırılması	19
Çizelge 2.2. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve özellikleri.....	26
Çizelge 4.1. <i>B. lycanonicum</i> etanol ve metanol özütlerinin GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (μg GAE/mg özüt)	49
Çizelge 4.2. <i>B. lycanonicum</i> metanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon çapları (mm)	50
Çizelge 4.3. <i>B. lycanonicum</i> etanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon çapları (mm)	51

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	13
Şekil 2.2. Flavonoidlerin Benzoil (A) ve Sinnaoil (B) halkası.....	14
Şekil 2.3. Flavonoidlerin alt sınıflarının iskelet yapıları.....	15
Şekil 2.4. Fenolik asitlerin genel yapısı	16
Şekil 2.5. <i>Apiaceae</i> familyasına ait çiçek ve meyve görünümü	21
Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin zararları.....	27
Şekil 2.7. Antioksidanların alt grupları.....	28
Şekil 2.8. İkincil antioksidanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması	31
Şekil 2.9. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)'in moleküler yapısı.....	33
Şekil 4.1. <i>B. lycanicum</i> etanol ve metanol özütünün DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri (Konsantrasyon : µg/mL).....	47
Şekil 4.2. Gallik asit eşdeğer eğrisi.....	48
Şekil 4.3. Bitki özütlerinin fenolik madde içerik miktarları (µg GAE/mg özüt).....	49

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>B. lycanicum</i> bitkisinin herbaryum örneği.....	24
Resim 4.1. Özütlemlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları ...	52
Resim 4.2. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> etanol özütü ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	53
Resim 4.3. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> metanol özütü ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	54
Resim 4.4. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> etanol özütü ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	54
Resim 4.5. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> metanol özütü ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	55
Resim 4.6. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> etanol özütü ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	55
Resim 4.7. Plazmit DNA'nın <i>B. lycanicum</i> metanol özütü ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü.....	56
Resim 4.8. <i>B. lycanicum</i> etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın <i>Bam</i> HI enzimi ile kesildikten sonraki jel elektroforez görüntüsü.....	56
Resim 4.9. <i>B. lycanicum</i> etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın <i>Hind</i> III enzimi ile kesildikten sonraki jel elektroforez görüntüsü.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

g	Gram
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

Açıklamalar

BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anizol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Tolüen
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	Difenilpikrilhidrazil
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TAE	Tris Asetat EDT
TBHQ	ter-Bütil hidrokinon
TE	Tris-EDTA

1. GİRİŞ

Bugün yeryüzünde doğal çevrenin belli bir bölümünü bitkiler oluşturmaktadır. İnsanlar ister kırsal ister kentsel yaşamda olsun çevresindeki bitkilere daima ihtiyaç duymuşlardır. İşte çevremizde bulunan bu bitkilerin, bitkiler âlemi içinde kendilerine özgü özellikleri vardır. Bunların bir kısmı tarım, ilaç, tekstil v.b. gibi sanayi dallarında kullanılırken, diğer bir kısmı da yalnızca süs bitkisi olarak yetiştirilir [1].

Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Binlerce yıl önce insanlar, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için bitkilerden yararlanmışlardır [2]. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan açıklamaya göre, dünya nüfusunun yaklaşık %80'i sağlık sorunlarını, bitkisel drogları (tıbbi bitkilerin ilaç olarak kullanılan ham kısmı) kullanarak gidermeye çalışmaktadır. Ayrıca, gelişmiş ülkelerde kullanılan reçeteli ilaçların yaklaşık %25'ini bitkiler ve bitkisel kökenli etken maddeler oluşturmaktadır [3].

Günümüzde başta kanser olmak üzere pek çok hastalığa kesin bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Bu nedenle, tedavi amaçlı yeni yöntemler bulabilmek için son zamanlarda bitki özütlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmaktadır. Birçok bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmekte ve kullanımı önerilmektedir [4, 5]. Antimikrobiyal maddeler, hastalık etkenlerinin kontrolü, mikroorganizmaların üremelerinin engellenmesi, durdurulması ya da öldürülmesini sağlayan kimyasal, biyolojik maddelerdir [6]. Doğada yetişen ve yenebilen tıbbi bitkiler, antimikrobiyal etkiye sahip olup yiyeceklerde bulunan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanılır [7]. Antioksidanlar ise vücutta bulunan özellikle serbest radikal gibi bazı toksik maddelerin oluşumunu engelleyen maddelerdir. Beta karoten, askorbik asit ve α -tokoferol gibi antioksidanların, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonu engellediği tespit edilmiştir [8]. Tıbbi bitkilerin ve bitki özütlerinin antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerine olan ilgi gittikçe artmaktadır. Antioksidanların ekzojen kaynağını sağlayan bitkiler, hücrelerin doğal savunma sistemlerine yardımcı olabilmektedir. Bu yüzden, kullanılan bitkilerin ve bitki özütlerinin antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerinin araştırılması gerekir [9].

Bu tez çalışmasında *Bupleurum lycaonicum* bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için bitkinin metanol ve etanol özütlerinin *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine ve *Candida albicans* ATCC 1021, *Candida krusei* ATCC 62586, *Candida tropicalis* NRRL Y-1296 mayalarına karşı, antimikrobiyal etkileri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Antioksidan etkileri ise 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali süpürücü aktivitesi ve Folin-Ciocalteu reaktifli fenolik içerik tayini yöntemleri ile araştırılmıştır. Özütlerin DNA üzerine etkisi de agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tıbbi Bitkiler

Yaprak, çiçek, kök, yumru, kabuk, tohum ve meyve gibi organlarda bulunan alkaloid, glikozid, heterozid, flavonoid, fenolik bileşikler ve birçok biyolojik aktif sekonder metabolitlerden dolayı ilaçların ham maddesi olarak kullanılan bitkilere tıbbi bitkiler denir [10].

Ülkemiz Avrupa–Sibirya, Akdeniz ve İran–Turan bölgesi olmak üzere üç büyük temel bitki coğrafyasının kesişim bölgesinde yer alır. Bu nedenle tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından zengin bir çeşitlilik göstermektedir [10].

Türkiye Florası'na göre; Türkiye, 174 familyaya ait 1251 cins ve 12 000'den fazla tür ve tür altı taksonu ile oldukça zengin bir floraya sahiptir [11, 12]. Bu taksonların 234'ü kültür bitkisi ve yabancı kaynaklıdır. Geriye kalan türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir [13, 14]. Tüm Avrupa kıtasının yaklaşık 12 000 kadar bitki taksonuna sahip olması yurdumuzun bitki örtüsü bakımından ne kadar zengin olduğu gösterir [15]. Yurdumuz endemik bitkiler bakımından da oldukça zengindir. Tüm Avrupa ülkelerindeki toplam endemik takson sayısı yaklaşık 2750 iken ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya, endemik olan 497 alt türü ve 390 varyeteyi eklediğimiz zaman toplam endemik takson sayısı 3750'den fazladır [12].

Ülkemizde ticari değeri olan tıbbi bitkiler *Asteraceae* (*Compositae*), *Lamiaceae* (*Labiatae*), *Apiaceae* (*Umbelliferae*), *Fabaceae* (*Leguminosae*), *Solanaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae* ve *Ranunculaceae* familyalarına aittir. Tıbbi ve aromatik bitkiler açısından en zengin olan familyalar ise; *Asteraceae* (*Compositae*), *Apiaceae* (*Umbelliferae*) ve *Lamiaceae* (*Labiatae*)'dir [16]. *Apiaceae* familyasına ait türlerin tıbbi kullanımına; *Ammi majus* L. (ağız ve diş eti ağrısı giderici), *Coriandrum sativum* L. (iştah açıcı, hazmettirici), *Eryngium* L. (öksürük kesici, diüretik uyarıcı, iştah açıcı, şeker kontrolü), *Foeniculum vulgare* Mili. (midevi, gaz söktürücü, süt artırıcı), *Ferula eleaocytris* Kor. (kısırlık) gibi türler örnek olarak verilebilir [17].

Türkiye’de tıbbi bitkiler, hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır [18]. Bu bitkiler yıllar boyunca aktif biyomoleküllerin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır. Bu bitkilerin drog olarak kullanılan kısımları (yaprak, çiçek, tohum, kök, kabuk vs.) içlerindeki etkili bileşiklerden dolayı hastalıkları tedavi etmektedir [19, 20]. Dünya üzerinde bulunan 750.000-1.000.000 arasındaki bitki türünden yaklaşık 20.000’i tıbbi amaçlarla kullanılmakta, bu sayının ise 100.000’e kadar çıkabileceği düşünülmektedir. Türkiye’de yetişmekte olan 9.000 kadar bitki türünden de 500’ü tedavide kullanılmaktadır [19].

2.2. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi

Tıbbi bitkilerin kullanımı insanlık tarihi kadar eskiye dayanır. Ancak, çok eski dönemlere ait kayıtlar ve belgeler yoktur. Bu nedenle arkeobotanik veya paleobotanik (etnobotanik) çalışmalar ve arkeolojik bulgularla, çağımızdaki ilkel toplulukların davranış ve uygulamaları doğrultusunda bitkilerin kullanımı ile ilgili tahminler yapılmaktadır [15].

Bitkiler, insanların hem temel besin kaynağı hem de ilaç kaynağıdır. İlk çağlardan beri insanlar; hangi bitkilerin yenilebileceğini, hangilerinin zehirli veya şifalı (tıbbi) olduğunu deneme yanılma yoluyla öğrenmişlerdir. İnsanlar bitkileri toplamamın yanı sıra kültüre de almışlardır. Toplama veya kültür yoluyla ürettikleri bu bitkilerin esas etkili maddesini elde etmişlerdir [10].

İnsan sağlığını etkileyen ve halk ilacı olarak kullanılan tıbbi bitkiler yetiştirilirken, toplanırken, satılırken ve tüketilirken bazı noktalara dikkat edilmesi gerekmektedir. Ülkemizde bu bitkiler genellikle özen gösterilmeden toplanmakta, satış ve kullanım bilgisine sahip olmayan kişilerce satılmakta ve bilinçsizce tüketilmektedir. Böylece sağlığa yararlı olan bitkiler bile insanlara zararlı olabilmektedir. İstenilen özelliğe sahip bitkisel ürünler için devamlı ve kaliteli tıbbi bitki elde edilmesi gerekir. Bu nedenle tıbbi bitkileri yetiştirme teknikleri, toplandığı yer ve toplama yöntemleri önemlidir [21].

Bitkilerin ilaç amaçlı kullanılması, tarihi dönemlerde değişkenlikler göstermiştir. Bitkisel kökenli droglar, kimyasal dönemin açılması ve ilerlemesiyle eski değerini kaybetmiştir. Fakat bu droglar farmakolojik tedavi ajanları için değerlidir. Son zamanlarda sentetik ilaçların yan etkileri artmış ve böylece insanlar tekrardan doğal veya kültürel ortamlarda yetişen bitkilerle tedaviye yönelmiştir. Yöresel halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin

incelenmesi ve bu bitkiler üzerinde daha ileri araştırmaların yapılması tedavide önemli rol oynamıştır. Bu nedenle değişik bölgelerde halk ilacı olarak birçok bitki araştırılmış ve bu bitkileri inceleyen etnofarmakognozi, etnobotanik, etnofarmakoloji gibi bilim dalları oluşturulmuş ve geliştirilmiştir. Bu alanlar, günümüzde popölerlik kazanmışlardır [22].

Tarih öncesi dönemden başlayarak Mezopotamya, Eski Mısır, Hitit, Yunan, Roma, Selçuklu ve Osmanlı dönemlerinde bitkisel ilaçlar kullanılmıştır. Bu uygarlık dönemleri açıklanmıştır [24].

Tarih öncesi dönem

Anadolu'da Yontma Taç Devri'nden beri (yaklaşık M.Ö. 50.000 yılları) insanlar yaşamış ve çeşitli amaçlarla bitkilerden yararlanmışlardır [19, 23]. Günümüze kadar keşfedilmiş en eski bulgular M.Ö. 50.000 yıllarına aittir. Bu bulgular, Anadolu ve Mezopotamya topraklarındaki Fianidar Mağarası'nda bulunan Neanderthal iskeletleri ve çeşitli bitkilere ait polenlerdir. Fransa Chauvet Mağarası'nda ve başka mağaralarda, yaklaşık M.Ö. 30.000 yıllarına dayanan, Paleolitik Çağ dönemi arkeolojik bulguları ve kalıntıları arasında günümüzde de kullanılan bazı tıbbi bitkilere ait fosil kalıntılar bulunmuştur. Yine arkeolojik çalışmalar sonucunda M.Ö. 10.000 yılında ilk tarımsal faaliyetlere dair arkeobotanik kanıtlar tespit edilmiştir [24].

Mezopotamya dönemi

Sümer, Akad ve Asur uygarlıklarını içerir. Bu uygarlık döneminde tedavi, rahip hekimler tarafından sihir ve ilaç yardımıyla yapılmıştır. İlaçların büyük bir kısmı bitkisel droglarla az bir kısmı ise hayvansal ve mineral kökenli droglarla hazırlanmıştır. Bitkisel drogların bir kısmı yerli kaynaklardan bir kısmı ise diğer ölkelerden karşılanmıştır. Drog elde edilmesi için bitkileri belli zamanlarda toplanmasına ve gölgede kurutulmasına önem verilmiştir. Mezopotamya'da bilinen bitkisel drogların miktarı yaklaşık 250 civarındadır. Bu döneme ait tabletlerdeki reçetelerde; adamotu, banotu, çöpleme, eğir kökü, hardal, haşaşaş, kekik, kitre, meşe mazısı, nane, nar kabuğu, rezene, safran, terementi, yarpuz gibi bitkisel droglar kullanılmıştır [19].

Mısır dönemi

Ondokuzuncu yüzyılın ortalarında Eski Mısır dönemine ait tıbbi papirüslerin bulunması Mısır tıbbi ve ilaçları hakkındaki bilgileri çok genişletmiştir. İlaçlar ve tedavi ile ilgili papirüslerin en önemlisi İ.Ö. 1550 yıllarında yazıldığı düşünülen Ebers papirüsüdür. Bu belge 1862 yılında Alman Epigtologu G. Ebers tarafından Teb'de El Assassaif'in mezarında bir mumyanın bacakları arasında bulunmuş ve 1875 yılında yayınlanmıştır. Bu belge 110 sayfa ve 2289 satırdan oluşmakta, 77 kadar bitkisel, hayvansal ve madensel drog ve 800'den fazla reçete taşımaktadır. Reçetelerde en çok ismi geçen bitkisel droglar; acı marul, adasoğanı, ardıç meyvesi, banotu, centiyane, çiğdem, hardal, hintyağı, incir, keten tohumu, kişniş, mürver, nar kabuğu, pelinotu, safran, sakız, sarısabır, soğan, tarçın, terementi, üzümdür [19].

Hitit dönemi

Hititler, İ.Ö. 1500 yıllarında Orta Anadolu'ya yerleşerek bir uygarlık kurmuşlardır. Hitit tıbbi ve ilaçları hakkındaki bilgiler, Hitit devletinin başşehri Boğazköy (Hattuşas) de bulunmuş olan tabletlere dayanmaktadır. Genel olarak Hitit tababetinin Mezopotamya tababeti ile aynı olduğu düşünülmektedir. Ancak Hititler bu tababete bazı katkılar sağlamışlardır.

Hititler hastalığı, tanrıların insanları cezalandırması olarak kabul ettiklerinden dolayı, tedavide sihir ve ilacı beraber kullanmışlardır. İlaçların çoğunu ise bitkisel droglar oluşturmuştur. Tabletlerde ismi geçen bitkilerin karşılıkları henüz tam olarak bilinmemektedir. Fakat Hititler döneminde kullanılan başlıca bitkisel drogların karşılığı tespit edilmiştir. Hitit tabletlerinde kayıtlı reçetelerde; adamotu, aksırıkotu, alıç, arpa, badem, buğday, banotu, defne, dişotu, hardal, haşhaş, kayısı, köknar, mazi, mersin, meyankökü, safran, sarımsak, sedir, selvi, soğan, üzüm, zeytin gibi Anadolu'da yetişen bitkiler yanında abanoz ağacı, myrrha, mekke pelesengi, şeytantsi gibi dış ülkelere getirilen droglar da bulunmuştur. Hititler bitkisel drogları yabancı bitkilerden elde ettikleri gibi, bazılarını elde etmek için ekim yapmışlar ve bunlardan bazılarını (safran, haşhaş, soğan, sarımsak vs.) da dış ülkelere satmışlardır [19].

Yunan dönemi

Akdeniz'in doğu kıyıları ve Adalar'da oluşmuş bir uygarlıktır. Yunanlar, Mezopotamya ve Eski Mısır ile yakın ilişkileri bulunduğundan dolayı bu uygarlıklardan etkilenmiştir. Eski Yunan hekimleri, filozofları ve birçok bilim adamları bitkisel tedaviye önem vermiş hatta hekimler ameliyatlarda bitkisel drogları kullanmışlardır. Bu dönemde tedavi ve bitkisel droglar hakkında çok önemli eserler yazılmıştır. Yüzerce yıl bu eserler İslam ve Avrupa tababetini etkilemiştir [19]. Tıbbi bitkiler ile ilgili en önemli kişi ve eserler şunlardır:

Hippocrate (İ.Ö. 460-377)

İstanbul Adası'nda doğmuş ve yaşamış, Teselya'daki Larissa kasabasında ölmüş olan ünlü bir Yunan hekimidir. Hekimliğin babası olarak kabul edilir. Hekimlik ve sağlıkla ilgili birçok dillere çevrilmiş 150 kadar eseri bulunmaktadır. Hipokrat'ın eserlerinde bulunan drogların miktarı 400 kadardır. Bunların çoğunu ise bitkisel kökenli droglar oluşturmaktadır. Hipokrat, tedavide perhize çok önem vermiş, hafif ve kuvvetli müshilleri kullanmıştır. Kuvvetli müshil olarak; çöpleme, ebucehil karpuzu, hintyağı, mahmude; hafif müshil olarak ise; defne, kavun, lahana ve sütleğeni daha sık kullanmıştır. İdrar arttırıcı olarak karpuz, kavun, pırasa, rezene, salatalık, sarımsak, soğan; uyutucu olarak adamotu, afyon veya banotu tohumu, haşhaş; boğaz hastalıklarında ise kekik, kereviz, nane gibi bitkilerden hazırlanan gargaraları, çıbanları olgunlaştırarak ağrıyı dindirmek için merhemler veya kokulu bitkiler (akzambak çiçeği, gül çiçeği, mersin yaprağı) yumuşatılmıştır. Bunların yanında kusturucu droglardan da yararlanılmıştır [19].

Theophraste (Tyrtamos İ.Ö. 370-287)

Eğrelti otunun etkilerini bildiren ilk hekim olarak kabul edilir. Botaniğin babası olarak bilinen hekim; Midilli adasında doğmuş, Eresos kasabasında yaşamış ve Atina'da ölmüştür. Yaklaşık 240 kadar eser yazmış olmasına rağmen bunlardan bir kısmı günümüze kadar gelebilmiştir. Botanik ile ilgili iki eseri vardır. Bunlardan birincisi, 'Bitkiler Hakkında İncelemeler' isimli 9 kitaptan oluşmuş bir eserdir. Bu eserde birçok bitki türünün tarifini bulundurmıştır. İkincisi ise, 'Bitkilerin Sebepleri' isimli 6 kitaptan oluşan bir eserdir. Burada da özellikle cinsler arasındaki farklar incelenmiştir [19].

Roma ve Bizans dönemi

Roma ve Bizans uygarlıkları döneminde, ilaçlara ve hastalıkları iyileştirmeye pek önem verilmediği görülür. Bunun nedeni de kiliselerin kaderci iyileşmeyi kabul etmeleri ve Tanrının işine karışmamak felsefesinin olduğunu düşünmeleridir [25]. Hastalık ve ölüm genellikle Tanrı tarafından gelir, ‘Allah yapacağını bilir’ olarak kabul edilirdi. Allah istediği için ölüm gelmiş demektir. Kul, buna karşı gelme cesaretini gösteremezdi [19]. Buna göre Romalılar hastalığın Tanrı tarafından insanlara ceza olarak verildiğini düşünürler. Hıristiyan din görevlilerinin sağlık hizmetleri vermeye başlamasıyla, manastırlar tıbbi biginin merkezi haline gelmeye başlamışlardır. Böylece genel rahatsızlıkların basit tedavileri için gerekli malzemeleri sağlayarak halk tababeti köylerde ve kırsalda kendini geliştirmeye devam etmiştir. Bu dönemde Romalı bilgin Plinius (M.S. 24-79) ‘Tabiat Tarihi’ başlıklı birkaç ciltlik tıbbi bilgiler ansiklopedisini oluşturmuştur. Miladi birinci asırda Yunan asıllı Romalı bilgin Diocorides ‘Müdavi İlaçlar’ kitabında 600’den fazla tıbbi bitki hakkında etraflı bilgiler vermiştir. O dönemin meşhur doktor ve eczacısı Klavdi Galen (M.S. 131-201) bitkisel kökenli ilaç formülleri elde etmiş, bu formüller günümüze kadar ulaşmıştır. Galen; hastalığa neden olan vücut dengesizliklerini gidermek için karmaşık ilaç karışımlarının bitki, hayvan ve mineral bileşimlerini içeren dozlarıyla doğrudan müdahaleye inanmış ve çalışmalarını bu yönde yapmıştır. Diocorides, Neron ve Vespasian’in ordularında hekim olarak Anadolu ve Doğu ülkelerini gezmiş, tıbbi bitkilerle ilgilenmiş ve elde ettiği bilgileri ‘De Materia Medica’ (İlaçlar Bilgisi) adlı eserinde yayınlamıştır. Bu eserin M.S. 312’de Bizans İmparatoru Anicus’un kızı prenses Juliana için hazırlandığı bilinmektedir. Galen döneminden sonra Roma’da tababet gerilemeye başlamış ve tedaviye sihir ve şarlatanlığın hakim olduğu kabul edilir. Bundan dolayı bu zamandan İslam Uygarlığı’na kadar geçen süre tıp için karanlık bir çağ olarak bilinir. Bu dönemde bitkilerle tedavi manastırlara düşmüş ve rahipler tarafından elde edilen eserlerin nüshaları çoğaltılarak saklanmıştır [19, 25].

İslam dönemi

İslam uygarlığı döneminde, İslam hekimleri temelde Yunan ve Hint tıplarının bilgilerinden faydalanmış ve özellikle bitkilerle tedaviye çok önem vermişlerdir. Hem çeviriler yaparak eski bilgileri yenilemiş ve hem de kendi buluşlarıyla çağın tıbbına önemli hizmetler vermişlerdir. İslam bitki uzmanları tıbbi bitkilerden hangisinin zehirli ve hangisinin

zehirsiz olduğunu ayırt etmek için hayvanlardan istifade etmişlerdir. Onlar üzerinde deneyler yaparak ilk araştırmaların temelini atmışlardır. İslam ülkelerinde ikinci yüzyılda Tıp mektepleri açılmış, üçüncü yüzyılda ise İlimler Akademisi kurulmaya başlanmıştır. Biruni'den İbn-i Sina'ya, İbn-i Sina'dan İbn-i Baytar'a, Emir Çelebi'den Davudi'ye ve günümüze kadar hizmet veren hekimlere kadar, gelmiş geçmiş her bilge kişi kendilerinden önceki hekimlerin deneyimlerini daha da geliştirmiştir. Bilgin kişilerin kendi deneyimlerini de ekleyerek oluşturulan birikim, asırlar boyunca nesilden nesile aktararak büyük kültür mirasımızı oluşturmuştur [25]. İslam döneminde tıbbi bitkiler ile ilgili en önemli kişi ve eserler şunlardır:

Ebu Reyhan Biruni (973-1051)

Hive (Türkmenistan)'de doğup Gazne (Afganistan)'da ölmüş olan bir tıbbi ilimler bilginidir. Uzun süre Afganistan'da yaşamış ve Gazneli Mahmut'un Hindistan'ı ele geçirmesinden sonra Hindistan'a gitmiş ve Hint ilmi ile geleneklerini incelemiştir. 100'den fazla eseri bulunmaktadır. Konumuz ile ilgili olan 'Kitab al-Sayda'da fi al-Tıb' (Tıp müfredatı hakkında kitap) Biruni tarafından hayatının sonlarına doğru tamamlanmıştır. Biruni'nin bu kitabında; eczacılık, droglar ve drogların çeşitli dillerdeki isimleri hakkında bilgiler yer almaktadır. Ayrıca kitapta 1048 ilaç bitkisi hakkında bilgi verilmiş ve 200 kadar bitkisel drog kaydedilmiştir. Bunlar arasında karabiber, mahlep, meşe mazısı, oğulotu, sinameki, süsen kökü gibi bugün de Türkiye' de kullanılan droglar bulunmaktadır [19].

İbni Sina, Ebu Ali (980-1037)

Buharalı büyük bir âlim, filozof ve hekimdir. Türk dünyası âlimleri içerisinde önemli yeri vardır. Tıbbi bitkiler ile ilgili en önemli eserleri 'Şifa' ve 'Kanun Fit Tıb'dır. Şifa isimli eseri 18 kitaptan oluşmuş fakat dilimize çevrilmemiştir. Kanun Fit Tıp isimli eseri ise, her biri ayrı bölümlere ayrılmış olan beş kitaptan oluşur. İkinci kitap basit ilaçlar (droglar) ile ilgilidir. Tıbbi bitkiler bakımından önemli olan ikinci kitapta 785 kadar bitkisel, hayvansal ve madensel drogun tarifi tıbbi kullanışları verilmiştir. Bu kitapta yazılı drogların çoğunluğu Dioscorides ve Galenus'da bulunan droglardır. Bununla birlikte İbni Sina, Arap ve Hint kökenli drogları da alarak kitabındaki drog listesini zenginleştirmiştir. Bunlar, kuvvetli kokulu ve baharlı droglardır. Kanun Fit Tıp isimli eserde, ismi çok geçen droglar

şunlardır: Afyon, banotu, demirhindi, kâfur, karabiber, kargabüken, kebabiye, kenevir, kurtboğan, mahmude, ravent, sakız, sarısabır, sığlayağı, tarçın [19].

Selçuklu dönemi

Selçuklu döneminde (1071-1308) insan sağlığına büyük önem verilmiş, tam bir donanıma sahip sağlık tesisleri (bimaristan, maristan, darül'afiye veya darüşşifa) kurulmuştur. Kayseri'de kurulan 'Gevher Nesibe Sultan Şifaiyesi' ve Selçuklu ordularında kullanılan 'seyyar hastane sistemi' örnek olarak gösterilebilir. Bu dönemde bitkilerle ilgili yazılan en önemli eser, Yakup bin İshak El-Kindi tarafından yazılmış olan uçucu yağ taşıyan droglar ve uçucu yağlar hakkındaki kitaptır [19].

Osmanlı dönemi

Osmanlı dönemi tababeti, genellikle Selçuklu ve İslam tababetinin bir devamıdır. Bu dönemdeki en önemli kaynak, İbn-i Baytar'ın 'Kitap al-Cami al Müfradat al-Adviye el Agdiye' isimli eserin Türkçe çevirisidir. Osmanlılar, Anadolu'ya yerleştikten sonra Selçuklulardan kalma bütün tedavi kurumları ve vakıfları muhafaza etmiş, külliye kurarak hizmetlerin devamını sağlamıştır. Fatih döneminde yaptırılan medreseler ve ilme verilen önemden faydalı bitkilerde yararlanmışlardır. Ünlü hoca Akşemsettin'in tıbbi bilgilerle ilgilendiği kayıtlıdır. Bu dönemde, Geredeli İshak bin Murat'ın 792 (1389-90) tarihli 'Edviye-i Müfrede' adlı Türkçe kitabı ilgi çekmiştir. Bu kitap, sade bir Türkçeyle yazılmış ve alfabetik sıraya göre dizilmiştir. Bu kitapta her drogun özelliği, hangi hastalıklara iyi geldiği, zararları ve zararlarının giderilmesi yöntemleri hakkında bilgi verilmiştir. XV. yüzyılın ilk yarısında Amasya Darüşifası'nda başhekim olarak çalışmış olan Şerefeddin bin İlyas Sabuncuoğlu, Zaire-i Harzemşahi'den çevirdiği ve iki bölüm ilave ettiği 'Akredin' isimli eserinde Anadolu'da kullanılan droglar hakkında etraflı bilgi vermektedir. Yine bu dönemde Amasya'da yaşamış olan Amirdovlat'ın 1482 yılında tamamlanan 'Tıbbi Maddeler Sözlüğü' bu dönemde Anadolu'da kullanılan drogları Acemce, Arapça, Ermenice, Yunanca ve Türkçe isimlerini vermesi bakımından önemlidir. XVII. yüzyılda bitkilerle ilgili en önemli eser Sultan Murad IV başhekimi Emir Çelebi'nin 'Emmuzecüt-tıb' (Tıbbın örneği) adlı kitabıdır. Sultan Mehmet IV ve Süleyman II dönemlerinde başhekimlik yapmış olan Hayatizade Mustafa Fevzi Efendi'nin 'Haza Fihrist-i Risalei Fevziye fi Lugat-ı Mefredatı et Tıbbiye' isimli kitabı önemli eserlerdendir. Bu kitap,

günümüz Türkçesine çevrilmiştir. Şah Süleyman (1666-1694) adına Mehmet Mümün Hüseyini Tankubuni, Farsça ‘Tuhfet-ül Mümünin’ adlı eser yazmıştır. Değişik kaynaklardan derlenerek hazırlanan bu eser, Osmanlı hekimleri arasında çok büyük ilgi görmüştür. Mehmet bin Ali (1690-91) yıllarında tamamlanan ‘Terceme-i Cedide fil Havassül Müfrede’ (Nebati İlaçlarla Tedavi) adlı kitap, Salih bin Nasrullah bin Sallum’un hazırladığı “At tıbb al Cediid al-Kimya’ Alladi’htara-ahü Barakalsüs” (Paraselsüs tarafından bulunan tıbbi kimyaya dair kitap) eser bu dönemde kullanılmıştır. Bursalı hekim Ali Münşi (ölümü 1733) ‘Bidat al-Müptedi’, ‘Kruzat al Kimya’ ve ‘Karabadin tercümesi’ eserlerinde droglar hakkında bilgi vermektedir. Yine Şani Zade Mehmet Ataulah ‘Miyar al-Etibba’ adlı eseri ve Evliya Çelebi’nin (1611-1681) Seyahatname adlı eseri Anadolu’da kullanılan drogların kullanımını anlatmaktadır. Tıbbi bitkileri konu alan dersler, II. Mahmud’un öğrenime açtığı Galatasaray Askeri Tıp Okulu döneminden beri tıp ve eczacılık öğretim programlarında bulunmaktadır. 1909 yılında İstanbul Tıp Fakültesi’ne bağlı olarak kurulan Eczacı Mektebi öğretim programına ‘Farmakognozi’ dersi konmuştur. Orta Çağı takip eden yüzyıllarda faydalı bitkilerin önemi, on beşinci yüzyılda matbaanın icadıyla yüzlerce faydalı bitki kitabının basılmasıyla devam etmiştir. Theophrastus’un ‘Bitkilerin Tarihi’ adlı kitabını, Dioscorides’in ‘De Meteria Medica’ adlı eseri takip etmiştir. Avrupa tıp alanı, Amerika’nın keşfinden sonra, yeni birtakım bitkilerin ilavesiyle zenginleşmiştir. Bunlar; ginseng, kakao ağacı, kinin ağacı, koka v.b. gibi bitkilerdir. Bu dönemde yazılan İngilizce kitaplar çok ciddi bir okuyucu kitlesine ulaşmıştır. Grete Herbal’ın ‘Büyük Şifalı Bitkiler’, John Gerard’ın ‘Şifalı Bitkiler’ veya ‘Bitkilerin Genel Tarihi’ (The Herbal or Genaral Historie of Plantes) ve Nicholes Culpeper’in ‘Genişletilmiş İngiliz Hekimliği’ (The English Physicion Enlarge) adlı kitapları büyük ilgi görmüştür [25].

Bitkilerin kullanımları ile ilgili ilk yazılı metinler arasında M.Ö. 3.500-3.000 yılları civarında Sümerler’in çivi yazısıyla kil tabletlere işledikleri tarımsal ve tıbbi reçete bilgileri yer almıştır. Geleneksel Çin tıbbinin kökenlerinin dayandığı iddia edilen, M.Ö. 3.000-2.700 yıllarında yaşamış efsanevi Çin İmparatoru Shennong’a ait tıbbi bitki ve tarımı ile ilgili bilgiler daha sonraki yüz yıllarda yazılıp günümüze getirilmiştir. M.Ö. 1.700’lü yıllarda Babil kralı Hammurabi, içinde tıbbi ve aromatik bitkiler ve sağlıkla ilgili kanunların da (kodeks) bulunduğu bir yazıtı büyük bir anıt taşına işleterek sonsuzlaştırmıştır. Yaklaşık M.Ö. 1.500 yıllarında yazıldığı düşünülen ve en az 1.000-1.500 yıl öncesinin bilgilerini içerdiği düşünülen Ebers papirüsleri ise, günümüze ulaşan tıbbi ve aromatik

bitkiler ile ilgili en eski ve önemli yazılı kaynaklardandır. Aynı şekilde Hindistanda, binlerce yıllık tıbbi ve aromatik bitki kullanımlarıyla ilgili geleneklere dayalı ve Ayurveda öğretisini içeren CharakaSamhita ve SushrutaSamhita adlı eserlerin yaklaşık M.Ö. 100 yıllarında yazılmasına karşılık kökeninin M.Ö. 2.000 yılına dayandığı tahmin edilmektedir. Helenistik dönemde, hekimliğin de piri olarak kabul edilen Hipokrat (M.Ö. 460-377) tıbbi bitkiler ile ilgili bilgiler ve yazılı eserler bırakmıştır. Aristoteles (M.Ö. 384-322) ve öğrencisi Theophrastus (M.Ö. 370-287)'un günümüzdeki bitki sistematığına önemli katkıları olmuş, bitkilerin sınıflandırılması ile ilgili çok sayıda eser yazmışlardır [26].

Yazılı metinlerin oluşmasıyla 5.000 yıl önceden başlayan özellikle kekik, defne, kimyon gibi bitkiler ile ilgili bilgiler düzenlenmiştir. M.Ö. 2700 yıl önce, bilinen ilk şifalı bitkiler kitabıyla 356 şifalı bitki ve bu bitkilerin kullanımı belirtilmiştir. M.Ö. 1000 yıllarında Mısırlılar; sarımsak, afyon, hint yağı, nane, kişniş, çivit ve diğer şifalı bitkileri ilaç, besin ve boya maddesi olarak kullanmışlardır. Eski Yunanlılar ve Romalılar; bitkileri ilaç, besin katkısı, güzellik malzemesi, boya ve oda kokusu olarak değişik yöntemlerde kullanmışlardır. Bu dönemde yazılı kayıtların en önemlisini, Hipokrat ve Galen'in el yazmaları oluşturmuştur. Hipokrat, o zamanki kayıtlarında insanın hayat gücünün sağlanması için; taze hava, dinlenme ve sağlıklı beslenmenin yanında birkaç tür uygun şifalı bitki ilacını önermiştir. Galen ise, hastalığa neden olan vücut dengesizliklerini ortadan kaldırmak için; bitki, hayvan ve mineral bileşimlerinden oluşan bir karışımın büyük oranda uygulanmasını savunmuştur. Şifalı bitkiler ve botanikçiler tarafından M.Ö. 4. yüzyılda "Theophrastus'un Bitkilerin Tarihi" isimli Yunanca yazıtı, botanik biliminin kaynağı olarak kabul edilmiştir [27].

2.3. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler

Bitkilerde bulunan ve aktivite gösteren bazı bileşikler; fenolik bileşikler, uçucu yağlar, alkaloidler, terpenler ve terpenoidlerdir [28].

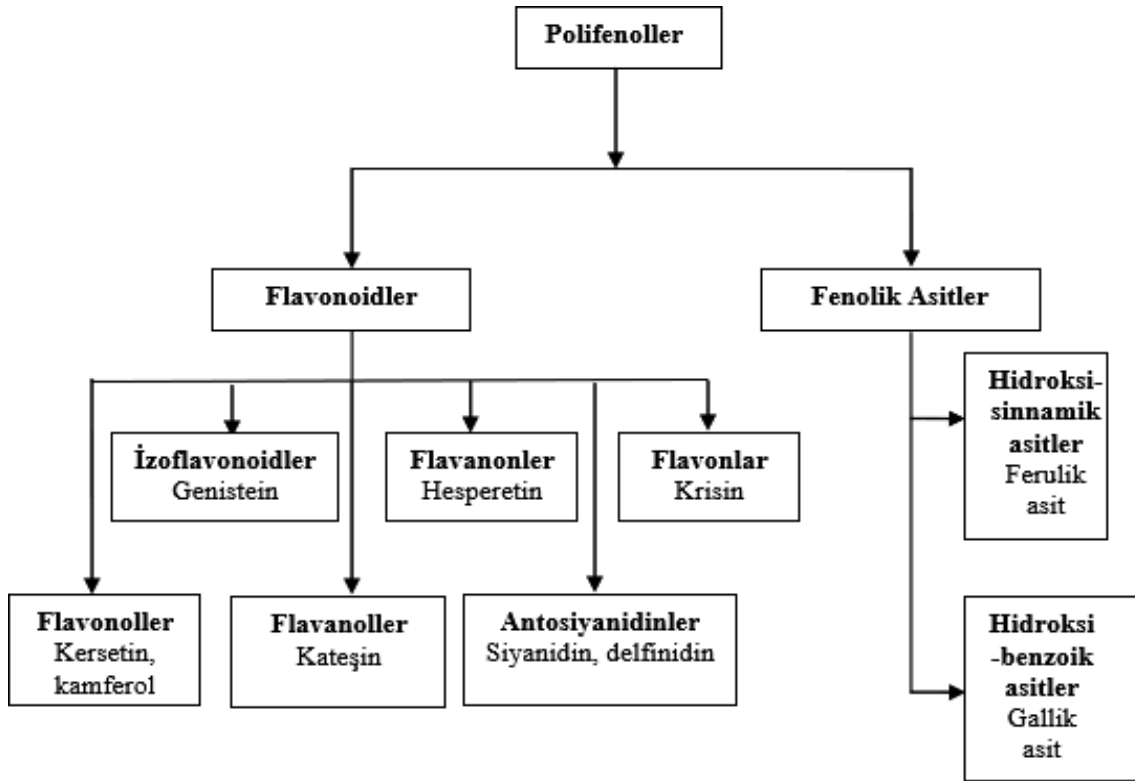
2.3.1. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar; flavonoidler, inanamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik

asitlerdir. Fenoliklerin yapısı bitkilere güneşten gelen ultraviyole ışınlarını emme özelliği gösterir. Bu bileşikler; bitkileri genetik hasardan, besinlerde bulunan kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri ise oksidasyondan korur. Bu nedenle uzun yıllardır besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini arttırmak için baharat ve aromatik bitkilerin kullanımı giderek önem kazanmaktadır [10, 29].

Fenolik bileşikler, besinsel ve antioksidan özelliklere sahiptir. Lezzet, burukluk, renk gibi birden fazla duyuşal gıda özelliklerini etkilerler. Bitki kökenli birçok gıda ürününün tadına ve aromasına katkıda bulunurlar. Bu tür bileşiklerin aromaya olan katkısı, başlıca uçucu fenollerin varlığıyla anlaşılır [30]. Fenolikler reaktif oksijen türlerinin elektron verme özelliklerine göre süpürücü etki gösterir. Bu bileşiklerin antioksidan etkinlikleri; hidroksil gruplarının sayısına, bulunduğu yere ve farklı sistemlerdeki kararlılıklarına bağlıdır. Birçok *in vitro* çalışmaya göre; fenolik bileşiklerin vitaminler ve karotenoidlerden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [31].

Bitkisel materyallerde bulunan polifenolik bileşenler, flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Şekil 2.1) [32]:

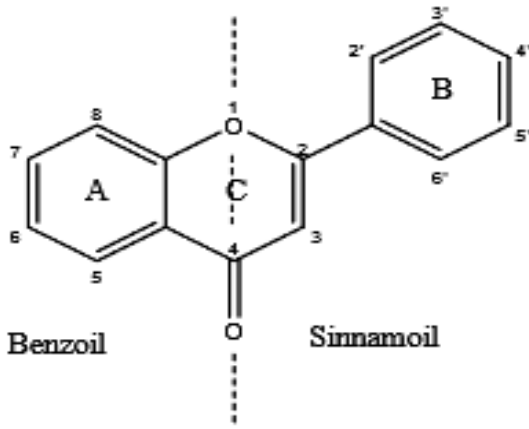


Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [33]

Flavonoidler

Fenolik bileşikler arasında yer alan flavonoidler, doğal gıda pigmentleridir. Bu flavonoidler, sebze ürünlerinin rengini etkilerler [30]. Polifenollerin çeşitlilik gösteren ve en yaygın olan grubu karbon (C) iskeletinin ($C_6-C_3-C_6$) üzerine kurulmuşlardır [31]. Özellikle *Compositae*, *Umbelliferae*, *Polygonaceae*, *Rutaceae*, *Fabaceae* gibi familyalarda; sarı, kırmızı, mavi renkli pigmentler olarak yaygındır. Genellikle yaprak, çiçek ve tomurcuklarda bulunur. Ayrıca flavonoidler bitkide oksidasyon-redüksiyon olaylarına katılır ve büyümede görev alır [34, 35].

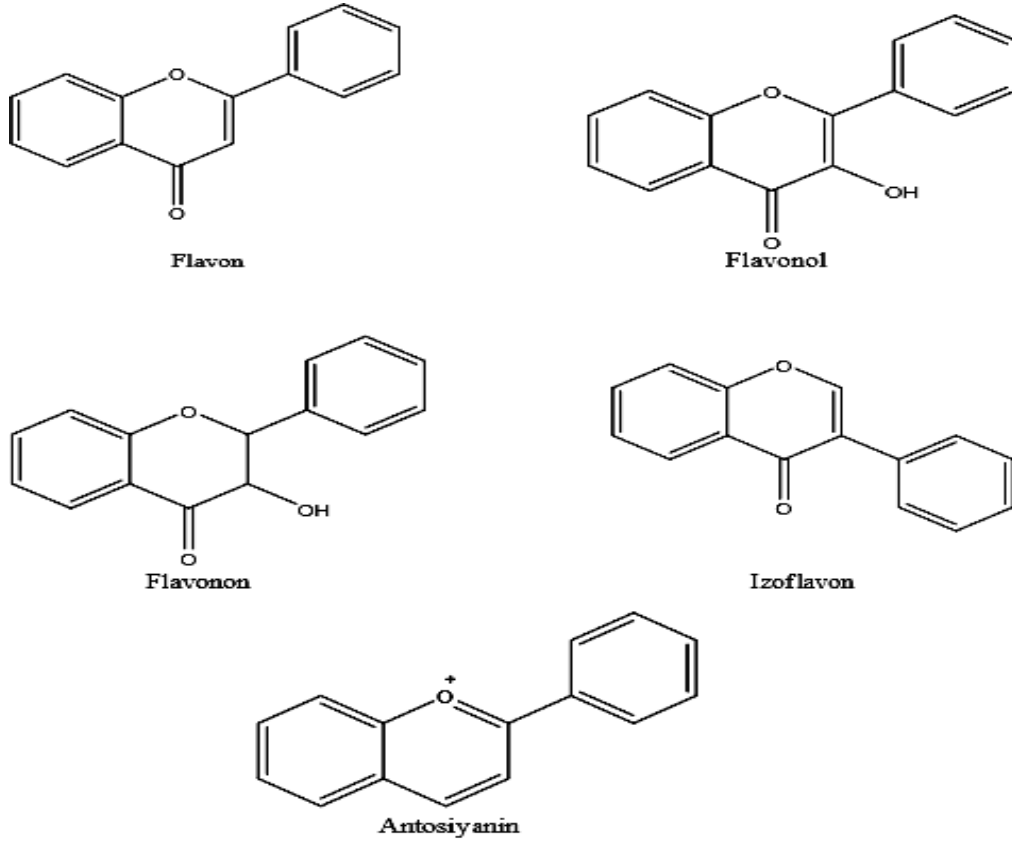
Karbon iskeleti $C_6-C_3-C_6$ şeklinde olan flavonoidlerin ana iskeletinde 15 karbon bulunur ve 2-fenil benzopiran yapısındadırlar. Flavon yapılarındaki aromatik halkalar A ve B, heterohalka ise C harfi ile gösterilir. A ve C halkalarındaki (benzopiran çekirdeğinde) karbon atomları, oksijen atomundan başlayarak, B halkasındaki atomlar ise (') rakamlarla numaralandırılır (Şekil 2.2) [36].



Şekil 2.2. Flavonoidlerin Benzoil (A) ve Sinnamoil (B) halkası [36]

Flavonoidler, hidroksillenmiş fenil bileşenleri içermelerinden ve C_6-C_3 ünitelerine bağlı olarak aromatik halka şeklinde olmalarından dolayı bitkilerde oluşan mikrobiyal aktiviteye cevap verirler. Ayrıca bu bileşiklerin *in vitro* şartlarda mikroorganizmalara karşı etki gösterdiği, çok sayıda virüs türüne karşı da etkili olduğu tespit edilmiştir [37].

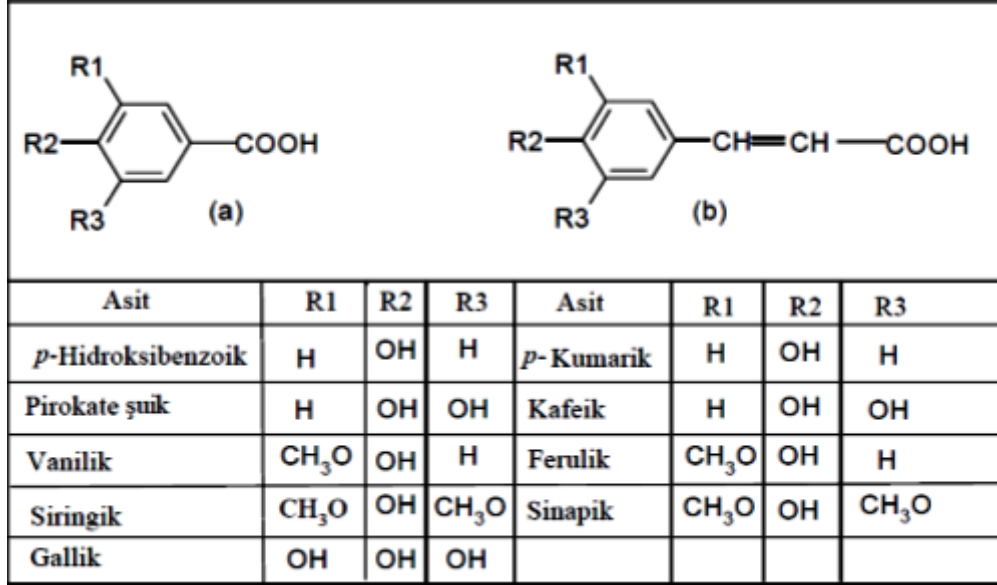
Bilinen 5000'in üzerinde flavonoid vardır. Bunlar genellikle flavonlar, flavonoller, flavononlar, izoflavonlar ve antosiyanidin olmak üzere alt sınıflara ayrılmaktadır [31, 38]. Flavonoidlerin bu alt sınıflarının iskelet yapıları Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Flavonoidlerin alt sınıflarının iskelet yapıları [39]

Fenolik asitler

Fenolik asitler, kimyasal açıdan C_6-C_1 fenilmetan yapısında olan hidroksibenzoik asitler ve C_6-C_3 fenilpropan yapısında olan hidroksisinamik asitler olmak üzere iki şekilde gruplandırılır. Hidroksibenzoik asit türevlerine; p-hidroksibenzoik asit, pirokate şükik asit, vanilik asit, şiringik asit ve gallik asit örnek olarak verilebilir. Hidroksisinamik asit türevlerine ise; p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit örnek olarak verilebilir (Şekil 2.4) [40, 41].



Şekil 2.4. Fenolik asitlerin genel yapısı: a) Benzoik asit türevleri b) Sinamik asit türevleri [42]

İnsanların günlük diyetinde yer alan fenolik bileşiklerin ana kaynağını meyveler, sebzeler ve çay gibi içecekler oluşturur [43]. Başlıca fenolik asit bulunduran meyve ve sebzelere; kiraz, vişne, elma, çilek, frambuaz, portakal, domates, havuç, brokoli, kepekli tahıllar ve fındık, ceviz gibi kabuklu yemişler örnek olarak verilebilir [44].

Flavonoidler ile fenolik asitler, askorbat (C vitamini) ve tokoferol (E vitamini) gibi antioksidanlarla da birlikte çalışabilirler. Bu bileşikler, bu vitaminler üzerinde az da olsa etkilidir [45].

2.3.2. Uçucu yağlar

Uçucu yağlar, su ile karışmayan maddelerdir. Bu maddeler; oda sıcaklığında sıvı halde olan kokulu ve yağmsı karışımlardır. Su buharı ile sürüklenebilen uçucu özellikleri vardır. Eter, etanol, petrol eteri, benzen gibi organik çözücülerde çözünebilirler [46]. Bu nedenle uçucu yağ elde edilirken su buharı distilasyonu veya organik çözücüler ile ayırıştırma yöntemleri kullanılır. Bazı bitkilerin karakteristik kokuları, uçucu yağlara sahip olmalarından gelir. Uçucu yağlar açıkta bırakılırsa, oda sıcaklığında bile olsa buharlaşabildiği için bu maddelere uçucu yağ ya da eterik yağ; uçucu yağların çok az bir kısmı hariç, hepsi güzel kokulu oldukları için bu maddelere esans adı da verilir [47].

Uçucu yağlar genel olarak renksiz veya açık sarı rengindedir. Fakat yeşilden maviye (papatya yağı) ya da sarıdan kahverengiye (karanfil yağı) kadar değişik renge sahip olanlar da vardır. Açık renkli olan uçucu yağlar, uzun süre açıkta bırakıldıkları zaman renkleri koyulaşır [48].

Uçucu yağlar görünüş olarak sabit yağlara benzerler. Fakat önemli farklılıkları vardır. Sabit yağların yapılarında yağ asitleri ve gliserol varken, uçucu yağların yapılarında yağ asitleri ve gliserol yoktur. Bundan dolayı acılaşmazlar. Ancak, ışık ve havayla uzun süre temas ettikleri zaman, zamanla oksitlenip reçineleştikleri için; rengi koyu kaplarda, karanlık ve serin ortamlarda saklanmaları gerekir. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenirken, sabit yağlar su buharı ile sürüklenmezler [10]. Sulu etanolde çözünebilme özelliği, bu yağları sabit yağlardan ayıran bir diğer özelliktir [47]. Uçucu yağları sabit yağlardan ayıran diğer bir özelliği de, açıkta bırakılan uçucu yağlar buharlaşırlar ve buharlaştıktan sonra da leke bırakmazlar [10].

Uçucu yağlar bitkilerde çok yaygındır. Bitkilerin bir organının belirli dokularında bulunabildiği gibi tüm organlarında da (çiçek ve meyve, yaprak, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi kısımlarında) bulunabilir. Doğada yetişen bitki familyalarının yaklaşık 1/3'ü uçucu yağ içerir. Uçucu yağlar, bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre de; salgı kanallarında, salgı tüyünde, salgı hücrelerinde veya salgı ceplerinde bulunabilir [47, 49]. Uçucu yağ içeren bu bitki familyaları *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Rosaceae*, *Rutaceae*, *Iridaceae* ve *Asteraceae*'dir. *Apiaceae* familyasının ise meyvelerinde sadece perikarpta uçucu yağların olduğu tespit edilmiştir [50]. *Gymnospermae*'deki bazı familyalara (*Pinaceae* ve *Cupressaceae* gibi) ait bitkilerde uçucu yağ, reçineyle birlikte bulunur. Bitkiden elde edilen reçine-uçucu yağ karışımı, su buharı distilasyonu ile karışımdan ayrılır [51].

Son yıllarda antibiyotik dirençli enfeksiyonlarda artış görülmektedir. Bu nedenle bu enfeksiyonlarla mücadelede yeni ilaçların araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu açıdan, bitki uçucu yağları çok önemlidir ve birçok araştırmacı tarafından antimikrobiyal ajanlar olarak adlandırılır. Böylece uçucu yağlar; çiğ ve işlenmiş gıdaların korunmasında, modern ilaçlarda katkı maddesi ve doğal tedavilerde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır [52]. Uçucu yağların en önemli belirtilen özelliği, antimikrobiyal olmalarıdır. Bunun yanında uçuculuk, hidrofobik ve solunum sisteminde

etki gösteren özel kokulara sahip olma özellikleri, onların biyolojik olarak aktif olduğunu gösterir. Bu özelliklerin ortaya çıkarıldığı testlerin belli bir standartı olmadığı için, bu testler uygun laboratuvar ortamında yapılır. En çok kullanılan teknikler, agar difüzyon ve broth-dilüsyon yöntemleridir [53]. Bu metotlar dışında son yıllarda kullanılan diğer bir yöntem de, disk difüzyon metodudur. Bu metotla da, uçucu yağların inhibisyon zon çapları belirlenir [54].

2.3.3. Alkaloidler

Alkaloidler; yapılarında bir ya da birden fazla nitrojen atomu bulunduran, bazik özellikli, genellikle renksiz, kokusuz, normal ısıda sıvı olan koniinin ile nikotin dışında, kristalize bileşiklerdir [55, 56]. Alkaloid molekülleri genellikle halka benzeri zincirler oluştururlar [57]. Düşük dozlarda bile çok kuvvetli etki gösterdiklerinden dolayı tedavi alanında birçok alkaloid (morphin, kodein, kafein, atropin, kokain vb.) kullanılmaktadır [58]. Alkaloidler; bitkinin kök, kabuk, meyve, yaprak gibi kısımlarında birikmiştir. 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 [37].

Yüksek bitki familyalarının % 20'sini alkaloidlerin oluşturduğu düşünülmektedir [57]. Alkaloid içeriği açısından zengin bitki türleri *Compositae*, *Leguminose*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Berberidaceae*, *Apocynaceae*, *Solanaceae*, *Amaryllidaceae* ve *Fumariaceae* familyalarında bulunur [10, 55]. Ayrıca *Buxaceae*, *Gramineae*, *Liliaceae* familyalarına ait türlerde bazı alkaloidler bulundurmaktadır [59]. Avrupa'da geleneksel ilaç olarak *Compositae* familyasına ait *Anthemis tinctoria*, *Solidago virga-aurea*, *Tripleurospermum inodorum* ve *Matricaria chamomilla* bitki türlerini kanser ve kanserli ülser tedavisinde kullanmaktadırlar [60]. Alkaloidlerin *Giardia* ve *Entamoeba* gibi protozoa türlerine karşı aktif olduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir [37]. 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 [61]. Berberin ve harman alkaloid aktivitesi ise mikroorganizmanın DNA molekülüne interkalasyonu ile ilgili olduğu anlaşılmıştır [37].

2.3.4. Terpenler ve terpenoidler

Terpenler doğal ürünlerin en büyük sınıfını oluşturur [62]. Bu bileşikler genellikle uzun bitkilerin her bölgesinde (kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum gibi), yosunlarda, yabani otlarda, alglerde ve likenlerde, hatta mikrobiyal orjinli bazı böceklerde bile bulunur. İlk çağlardan beri, sınıfın uçucu yağ veya ekstre gibi bileşikleri; aroma içeriği, koruyucu, parfüm, ilaç, sabun ve uyuşturucu ilaç olarak kullanılmaktadır [63].

Sadece hidrokarbon içeren terpenler olduğu gibi, oksijen içeren yani alkol, keton, aldehit ve asit grubu taşıyan terpenler de çok yaygındır. Oksijen ihtiva eden terpenler, terpenoidler olarak da adlandırılırlar. Günümüzde hem açık zincirli hem de halkalı yapıda olan çeşitli fonksiyonel gruplara sahip 20.000'den fazla terpen yapısı bilinmektedir. Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak, bazıları glikozidleri ya da organik asit esterleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar [64].

Terpenoidler izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar (Çizelge 2.1). Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan İzopren Kuralı'na göre, bütün terpenik bileşiklerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur [65].

Çizelge 2.1. Terpenlerin sınıflandırılması [65]

Karbon sayısı	İzopren sayısı	İsim	Bitkilerde bulunduğu yer
5	1	Hemiterpenler	Dış kısım; uçucu yağ
10	2	Monoterpenler	Taç yaprak; uçucu yağ
15	3	Seskiterpenler	Taç yaprak; reçine, uçucu yağ
20	4	Diterpenler	Gövde; reçine, uçucu yağ
25	5	Sesterterpenler	Gövde; reçine, uçucu yağ
30	6	Triterpenler	Gövde, yaprak üstü; reçine
40	7	Tetraterpenler (Karotenler)	Bütün yeşil bölümler, kök, yaprak
45-...	Poli	Poliizopren	Lateks, yaprak üstü

2.4. *Apiaceae* (*Umbelliferae*) Familyasının Genel Özellikleri

Apiaceae familyası, 16. yy. sonlarına doğru botanikçiler tarafından tanınan ilk çiçekli bitki ailesidir. Bu familya karakteristik çiçek durumları, meyveleri ve bazı üyelerinin toksisitesi nedeniyle en çok bilinen familyalardan biridir [66]. Familya *Umbelliferae* ismini, tüm cinslerinde tipik olan çiçeklerinin şemsiyeyi andıran görünümünden almaktadır. ICBN (International Code of Botanical Nomenclature) 'ye göre familya isimlendirmelerine uygun olması için *Apiaceae* olarak düzeltilmiştir [67].

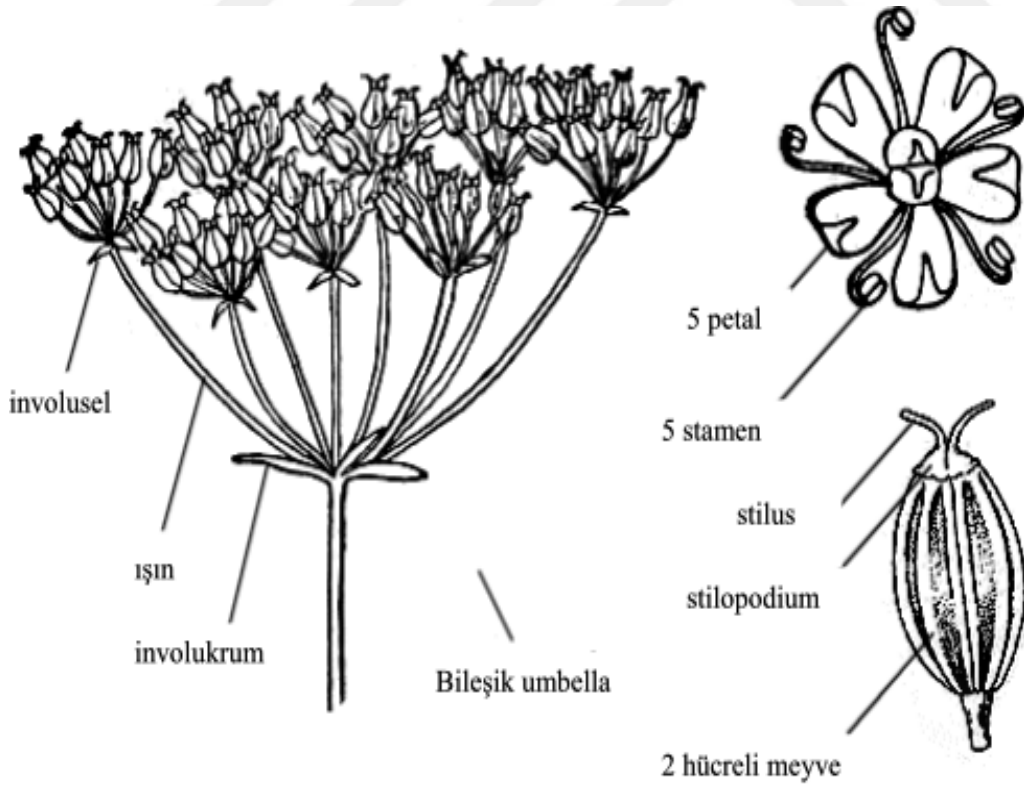
Apiaceae familyası dünyada 464 cins ve 3100 tür ile temsil edilir. Dünyada en fazla türe sahip *Apiaceae* cinsleri *Bupleurum* L. (185-195 tür), *Eryngium* L. (250-260 tür), *Ferula* L. (180-185 tür), *Pimpinella* L. (170-180 tür), *Heracleum* L. (170-180 tür), *Seseli* L. (125-140 tür)'dir [68, 69].

Ülkemizde *Apiaceae* familyası 109 cins ile *Poaceae* ve *Asteraceae*'den sonra üçüncü sırada gelmektedir. Yurdumuzda *Apiaceae* familyasında en fazla tür içeren cinsler: *Bupleurum* L. (21'i endemik, 47 tür), *Ferulago* W.Koch (17'si endemik, 31 tür), *Eryngium* L. (10'u endemik, 23 tür), *Pimpinella* L. (3'ü endemik, 23 tür), *Ferula* L. (8'i endemik, 17 tür), *Tordylium* L. (9'u endemik, 17 tür), *Heracleum* L. (7'si endemik, 17 tür), *Chaerophyllum* L. (5'i endemik, 16 tür), *Peucedanum* L. (3'endemik, 14 tür), *Prangos* Lindl. (5'i endemik, 13 tür)'dur [12, 68, 70].

Apiaceae familyası üyeleri dünyada ekonomik öneme sahip bitki gruplarındandır. Özellikle besin kaynağı olarak, sebze ve hayvan yemi olarak kullanılırlar. Park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan türleri de vardır. İçerdikleri alkaloidler ve reçineler sayesinde tıpta (özellikle barsak rahatsızlıkları) ve kozmetikte yaygın kullanım alanlarına sahiptirler [68].

Apiaceae familyası basit veya bileşik umbella çiçek durumu ve şizokarp meyveleriyle çiçekli bitkiler içinde en iyi tanınan, zengin familyalardan birisidir. Bir, iki veya çok yıllık, nadiren de yarı çalı veya çalılardır. Bu familya üyelerinin çoğu, uçucu yağ bulundurur. Geniş yaprak kınının gövdeyi sarması (okrea) familya için tipik özelliktir. Bileşik umbella durumunun çiçekleri taşıyıcı yaprakları involukrum, kısmi çiçek durumu umbellulaların taşıyıcı yaprakları involusel adı verilen yeşil örtüler oluşturur. Yaprakları almaşlı, palmat veya pinnat, parçalı ya da basit şekillidir. Gösterişsiz ve küçük, beyaz, sarı veya yeşil

renklerde çiçekleri vardır. Çiçekler basit veya bileşik umbellalarda veya başçıklarda bulunur. Çiçekler erdişi veya tek eşeyli (bazı cinsler tek evcikli) ve ışınsal simetridir. Kaliks küçük ve 5 diş şeklinde, birleşiktir. Bazen de yoktur. Korolla serbest, uçları kıvrık 5 petallidir. Andrekeum tek dairesel olup, uzun filamentli 5 stamenden ibarettir. Ovaryum alt durumlu, 2 karpelli, sinkarp, 2 gözlüdür ve her gözde sarkık tek tohum taslağı bulunur. Stiluslar tabanda ovaryumun üst kısmını çevreleyen diskus (Nektaryum) adı verilen bir organ meydana getirmiştir. Meyve tipi, olgunlukta her biri tek tohum taşıyan 2 merikarpa ayrılan şizokarptır. Merikarplar birbirine ince bir sap ile (karpofor) bağlıdır ve her birinin sırt kısmında kosta denilen 5 çıkıntı bulunur. Bu çıkıntıların arasında kalan girintilerde birer reçine kanalı uzanmaktadır. Cinslere göre farklı olmak üzere merikarp çıkıntılarının arasında sekonder çıkıntılar da vardır. Bu sekonder çıkıntılar, reçine kanallarının üzerinde bulunur. Çıkıntı sayısı ve çıkıntılarının üzerinde küçük çıkıntıların şekilleri değişiktir (Şekil 2.5). *Apiaceae* familyasının birçok türlerinin meyvelerinde, yeşil kısım veya köklerinde uçucu yağlar bulunduğundan gıda maddesi ve baharat olarak veya tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır [71, 72, 73].



Şekil 2.5. *Apiaceae* familyasına ait çiçek ve meyve görünümü [28]

Apiaceae familyasında ayırt edici olarak kullanılan taksonomik karakterler; gövdenin alt kısmında kalan fibrilli kalıntılar, yaprak boyutları, yaprak tabanındaki okrea, yaprakların parçalanmış şekilleri, umbellerin sayı ve uzunluğu, brakte ve brakteollerin bulunup bulunmadıkları ve şekilleri, çiçek rengi, meyve şekli, üzerindeki çıkıntı (kosta) ve girintiler (valekulum) ve salgı kanallarıdır [74].

2.5. *Bupleurum* Cinsinin Genel Özellikleri

Tek yıllık veya çok yıllık (nadiren çalimsı) bitkiler olup, her zaman tüsüzdür ve kök ile gövdenin birleşme kısmı fibroz bir karaktere sahip değildir. Yapraklar daima bölünmemiş, tek parça halinde, bütün, bazen ince dişli serrulat özellik gösterir. Brakteler mevcuttur ya da bazı geniş yapraklı türlerde olduğu gibi bulunmayabilir. Brakteoelleri mevcuttur. Petaller; sarı, beyaz ya da morumsu renkte olup, iyi gelişmiş içe kıvrık apikal lop, petal gövdesinin orta hattına yapışıktır. Meyve silindirik, çok değişken, üzerindeki sırt halindeki 5 adet kabarık hat doğrusal kanadı andıran bir yapı sergilemekte veya nadiren de belirsiz olabilmektedir. Meyve yüzeyi düz ya da çeşitli özellikte süslere sahiptir. Sırttaki salgı kanalları 1-5 adet arasındadır. Merikarpların birleşme bölgesinde de sayıları 2-10 arasında olabilen salgı kanallarına rastlanabilir. Olgun meyvelerde nadiren de olsa salgı kanalları belirgin değildir [74].

Bupleurum türlerinin teşhisinde kullanılan taksonomik özellikler şunlardır [75]:

- Tek veya çok yıllık oluşları
- Yaprakların perfoliat ya da linear oluşu
- Brakteole ait özellikler
- Gövdenin şekli ve dallanma özelliği
- Umbelladaki ışın adedi
- Umbellüldeki çiçek adedi
- Petalin yapısı
- Meyve boyutları
- Meyve yüzey özellikleri

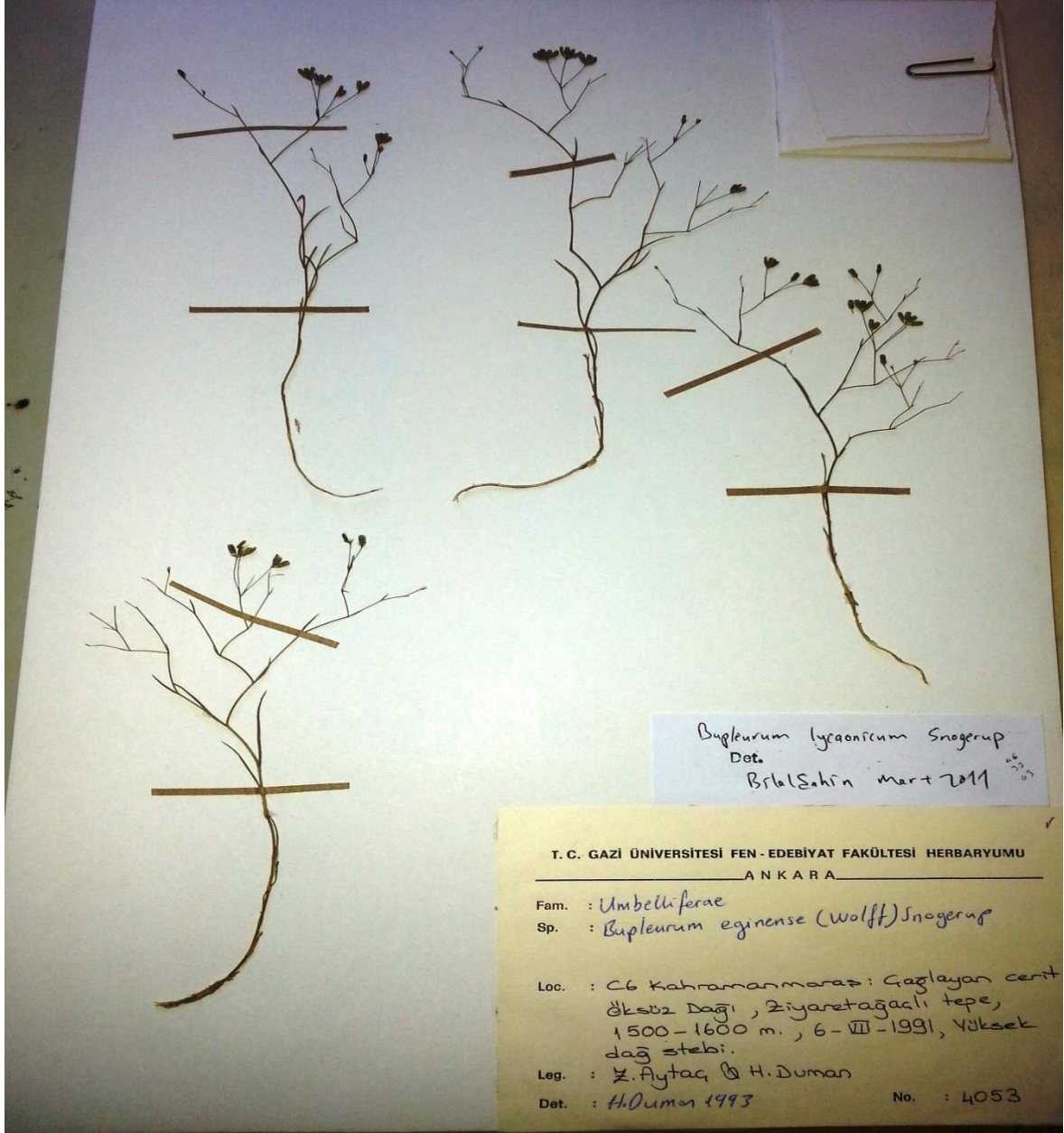
2.6. *Bupleurum* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Bupleurum cinsinin botanik sınıflandırması şu şekildedir [72, 74]:

Alem : *Plantae*
 Bölüm : *Spermatophyta*
 Altbölüm : *Angiospermae*
 Sınıf : *Magnoliopsida*
 Altsınıf : *Rosidae*
 Takım : *Apiales*
 Familya : *Apiaceae (Umbelliferae)*
 Cins : *Bupleurum*

2.7. *Bupleurum lycaonicum* S. Türünün Genel Özellikleri

Üst kısmında tam dikotomik olmayan dallanma gösterip, ana umbellaya yakın dalların iyi geliştiği, 15-35 cm boyunda olan tek yıllık bitkilerdir. Yapraklar 2-7 cm uzunluğunda ve 1-1,5 mm genişliğindedir. Raylar 4-8 adet, 10-20 mm uzunluğunda fakat uzunlukları birbirine eşit değildir. Brakteler 5 adet, dar ovat, kısa ve sivri uçlu, 2,5-6 mm uzunluğunda; brakteoller de 2-4 mm uzunluğunda, 5 adet olup braktelere benzerler. Umbellüller 5-7 çiçekli, pedisel 1-3 mm uzunluğundadır. Petaller 0,4-0,5 mm, eflatun renkli, petal boyunun 3/4'üne kadar içe kıvrık loblu, geniş ve bifiddir. Anterler 0,2-0,25 mm, stilopodium 0,7 mm genişlikte, stilus 0,2-0,3 mm uzunluğundadır. Meyve yaklaşık 3 mm uzunlukta, yuvarlağımsı prizmatik, çok ince granüler papilli, çıkıntılar filiformdur. Bitki endemik bir türdür ve çiçeklenme zamanı Haziran ayıdır. Orman, maki ve taşlı yamaçlarda yetişir. 1100-1500 m yüksekliklerde bulunur. Bitki, Türkiye'de Konya ve Mersin'de yetişmektedir [74]. Bu tür Mersin yöresindeki halk tarafından "tavşan kulağı" ismiyle bilinmektedir [75]. Bitkinin herbaryum örneği Resim 2.1'de gösterilmektedir.



Resim 2.1. *B. lycaonicum* bitkisinin herbarium örneği (Foto: Sezen ERTAN)

2.8. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi

Bitkilerin biyolojik aktivitesi sahip oldukları metabolitlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde belirlenir [28].

2.8.1. Antioksidan aktivite

Antioksidanlar

Antioksidanlar ortamdaki bulunan oksijeni alıkoyarak oksidasyon reaksiyonlarının başlamasını veya ilerlemesini engelleyen bileşiklerdir [76]. Antioksidan bileşiklerin potansiyel kaynaklarını sebzeler, meyveler, tohum yağları, hububat ürünleri, kabuklar, kökler, baharatlar, şifalı bitkiler, ham bitki ilaçları gibi çeşitli tipte bitki materyalleri oluşturmaktadır [77].

Antioksidanlar sentetik ve doğal olmak üzere iki temel kategoriye ayrılırlar [78]:

Sentetik antioksidanlar, 20. yüzyılın başından beri gıdalarda antioksidan olarak kullanılmaktadırlar. Sentetik antioksidanlara Bütilenmiş hidroksi toluen (BHT), bütilenmiş hidroksi anisol (BHA) ve ter-Bütil hirokinon (TBHQ) gibi antioksidanlar örnek olarak verilebilir. Fakat bu bileşikler birçok toksik etkiye sahip olduklarından dolayı, doğal antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır. Örneğin; BHT toksik olmamakla beraber, karaciğerde sitokrom P-450 sistemine hasar verdiğine dair bazı çalışmalar mevcuttur. Farelere yüksek dozlarda verildiğinde ise karaciğerde hasara sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan bazı araştırmalar, BHT gibi bazı sentetik antioksidanların fazla alınması durumunda vücuttan atılamadığı adipoz dokuda depolandığını göstermiştir [79, 80]. Binlerce sayıda bitkinin antioksidan aktivitesi denenmiştir ve bunlardan gelen ana ekstraktlar ve bazı izole edilen saf maddeler sentetik antioksidanlardan (BHT ve vitamini) bile daha aktif çıkmıştır [81].

Doğal antioksidanlar, bitkilerin bütün kısımlarında vardır. Bunlar karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitleri içerir. Laboratuvar ortamında yapılan çalışmalar belirgin bir şekilde fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu göstermiştir. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütil grupların süstitüsüyonu, antioksidan aktiviteyi arttırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlardaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının

sübstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar [82].

Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal ürünlerdir [83].

Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkımın daha fazla olduğu gözlenmektedir [84, 85]. Biyolojik sistemlerde sıklıkla kullanılan serbest oksijen radikalleri Çizelge 2.2’de verilmektedir.

Çizelge 2.2. En sık karşılaşılan serbest radikaller ve özellikleri [86]

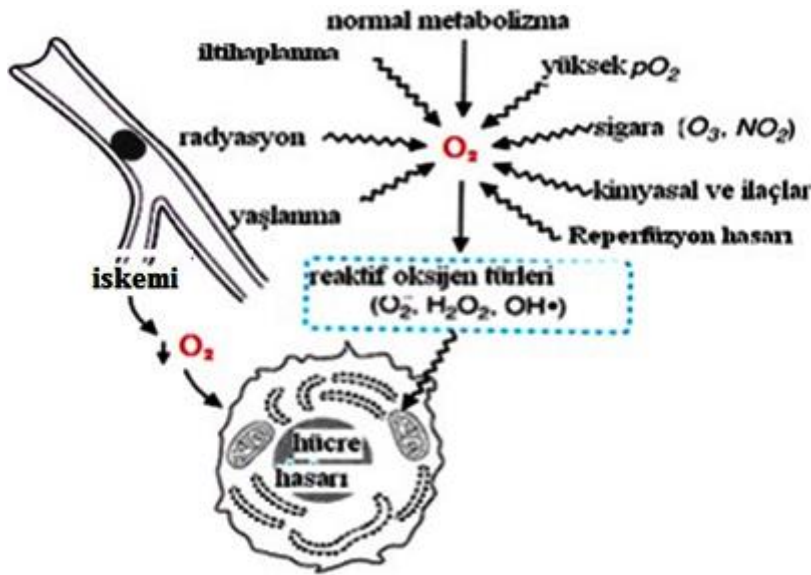
Adı	Simge	Etkisi
Hidrojen radikali	H [·]	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	O ₂ ^{·-}	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	OH [·]	En toksik oksijen metabolit radikali
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	¹ O ₂	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksi radikali	HO ₂ [·]	Lipidlerle hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali	ROO [·]	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlerle lokalize olur
Triklorometil radikali	CCL ₃ [·]	CCL ₄ metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	RS [·]	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	RO [·]	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	NO [·]	L argininden <i>in vivo</i> üretilir
Azot dioksit	NO ₂ [·]	NO [·] ’in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki gösterirler:

- Temizleyici etki: Serbest radikalleri etkileyerek onları tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme.
- Bastırıcı etki: Serbest radikallerle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini artırma.
- Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması.
- Zincir kırıcı etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleme [87].

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için çok büyük öneme sahip bir elementtir. Canlılarda solunum ile alınan oksijen mitokondrilerdeki elektron taşıma sisteminde aşamalı bir indirgenme işlemine girer ve suya metabolize olur [88]. Ancak bazı durumlarda oksijenin reaksiyonunu tamamlamadan vücuttan ayrıldığı ve geride reaktif ara ürünler bıraktığı gözlemlenmektedir. Bu reaktif ara ürünler genel olarak Reaktif Oksijen Türleri (ROS) olarak isimlendirilir [89].

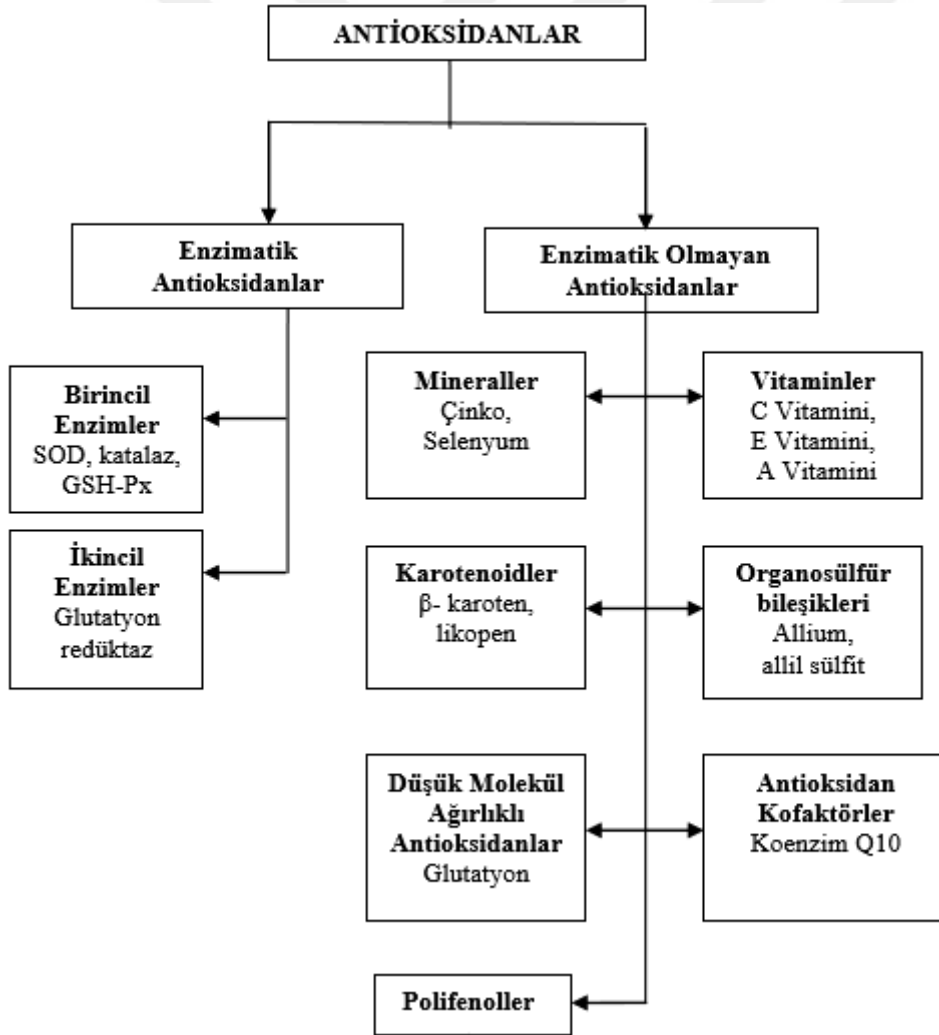
Reaktif oksijen türleri havayla solunum yapan bütün organizmalarda bulunur ve bunlar süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit radikali içerirler [90]. Reaktif oksijen türlerinin zararları Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin zararları [28]

Antioksidan savunma sistemleri oksidan giderme ve hücre zararını engelleme işine yarayan enzim (süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz vs.) ve enzim olmayan (glutasyon, C ve E vitamini vs.) maddeler içerirler [33]. Bu antioksidanların alt grupları Şekil 2.7’de gösterilmiştir.

İnsanlarda ve diğer organizmalarda antioksidan savunma sistemleri (enzimler gibi) ve oksidatif tahribatı onarıcı sistemler olmasına rağmen tüm zararı önlemeye yetmemektedir [91]. Antioksidanlar oksidasyon sürecini serbest radikallerle reaksiyona girerek, katalitik metallerle kompleks oluşturarak ve oksidan giderici gibi davranarak engellerler. Yıllardır birçok araştırmacı özellikle bitkisel olmak üzere doğal kaynaklardan en güçlü ve aynı zamanda toksik olmayan antioksidanlar aramaktadır [92].



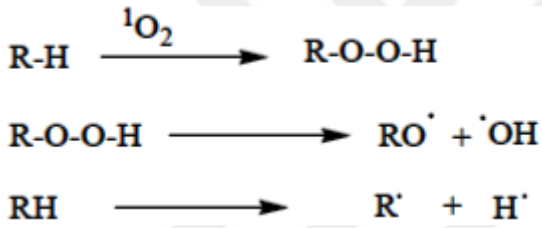
Şekil 2.7. Antioksidanların alt grupları [33]

Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Bazı antioksidanlar birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır [93].

Birincil antioksidanlar

Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali (R.) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar [94].



Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali (ROO.) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer [94].



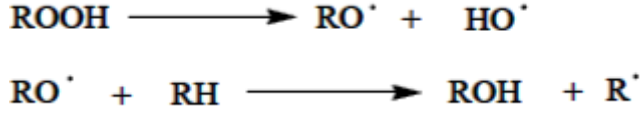
Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar [94].



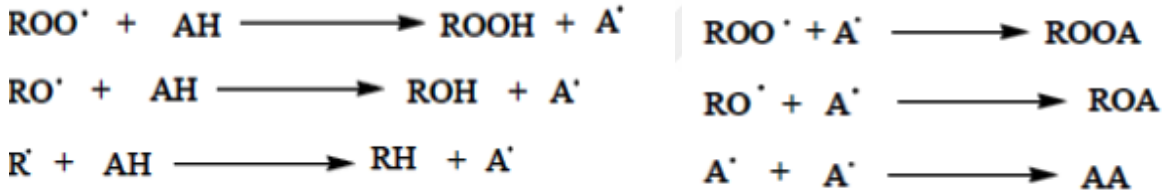
Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder [94].



Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur [94].



Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali (R.) ve peroksi radikallerle (ROO.) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler (A.). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi (ROO.) ve oksid (RO.) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler [94].



Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipitlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipitlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksid ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler [94].

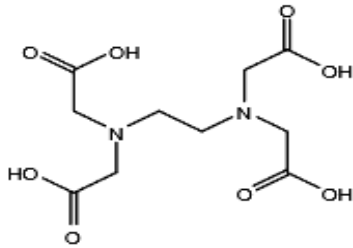
Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidan, radikal olmayan şekilde ne kadar uzun süre kalırsa antioksidan dimerler otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar [94].

İkincil antioksidanlar

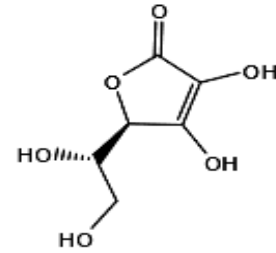
İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar. Fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanların diğer görevleri; prooksidan metallere şelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler. Hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler. Singlet oksijeni deaktive edebilirler. Ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar sıklıkla birincil antioksidanların antioksidan aktivitesini arttırlar. İkincil antioksidanlara sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β -karoten örnek olarak verilebilir [94].

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılır (Şekil 2.8) [94]:

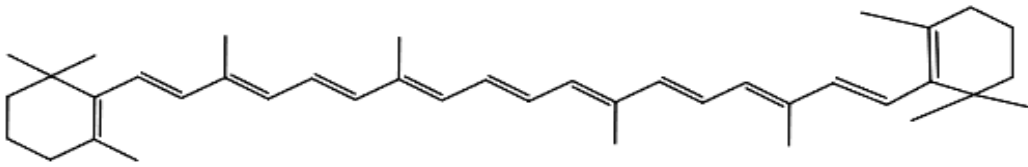
- Şelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit
- Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları: Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfidler.
- Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein) [94].



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



Askorbik asit (C Vitamini)



β -Karoten (A Vitamini)

Şekil 2.8. İkincil antioksidanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması [94]

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri elektron ve hidrojen transferine göre dayalı olmak üzere ikiye ayrılır: Elektron transfer metodunda antioksidan maddenin ölçümü, oksidan maddenin indirgenmesi sonucu oluşan rengin değişiminin ölçülmesi ile yapılır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan madde konsantrasyonuna bağlıdır [87]. Bunlar;

- Antioksidan kapasite ölçme metodu
- Demir iyonu indirgeme gücü metodu
- Bakır iyonu indirgeme kapasitesi metodu
- Total fenolik madde miktarı ölçme metodu
- DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi [87].

H atomu transferine dayalı tekniklerin çoğunda antioksidan ve substrat arasında rekabete dayalı reaksiyonlar gözlenir ve bu metoda dayalı ölçümler genelde azotlu grup taşıyan maddelerin bozulup peroksil radikalleri oluşumuna dayanır [87]. Bunlar;

- Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC)
- Toplam radikal yakalama parametresi (TRAP)
- Toplam oksiradikal (TOSC) yöntemi
- Luminol yöntemi
- Krosin yöntemi
- Diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) yöntemi
- Fikoeritrin esaslı yöntemler
- Düşük dansiteli lipoprotein otooksidasyonunun neden olduğu inhibisyon [87].

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemler

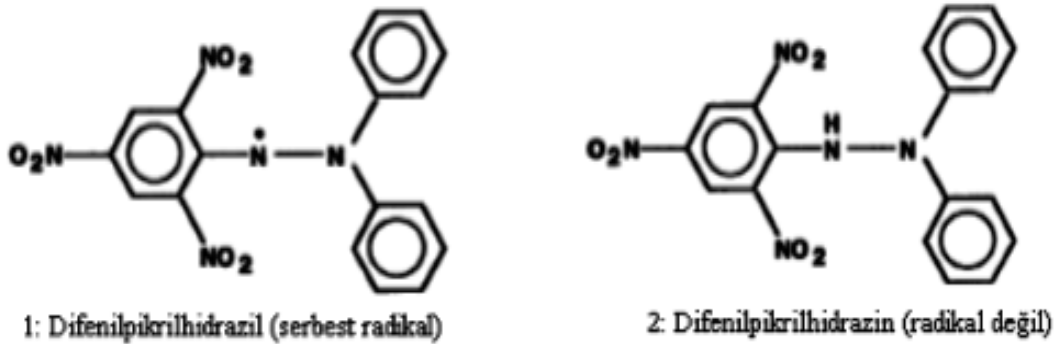
Toplam fenolik içerik madde tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından ortaya konan yöntemde, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturur. Oluşan sarıdan yeşile doğru renkli kompleks 760 nm'de maksimum absorbans oluşturur.

DPPH radikali temizleme aktivitesi

Blois (1958) tarafından ortaya konan yöntemle göre, DPPH radikali bir serbest radikaldir ve bu radikal 517 nm’de maksimum absorbans oluşturmaktadır. DPPH’ın serbest radikal olan ve radikal olmayan yapıları Şekil 2.9’da görülmektedir. Bu radikalın antioksidan maddelerle muamele edilmesi, DPPH’tan kaynaklanan mor rengin şiddetinin azalarak absorbansın düşüşüne neden olur. Farklı numune derişimleriyle muamele edilen DPPH’ın absorbansındaki değişim ölçülür ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak süpürücü aktivite % inhibisyon değeri olarak hesaplanır.

Serbest radikalın % inhibisyon değeri : $(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}} / A_{\text{Kontrol}}) \times 100$



Şekil 2.9. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)’in moleküler yapısı [95]

2.8.2. Antimikrobiyal aktivite

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları etken mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçlarına göre enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir [83]. Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Antibiyotikler ise bazı bakteri ve mantarlarca üretilen, diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyen (bakteriyostatik) veya onları öldüren (bakterisidal) doğal maddelerdir [28].

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemler

Mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılığı difüzyon yöntemi ile belirlenebilir [96].

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Perez ve diğerlerinin (1990) çalışmalarında kullanılan bu yöntemde, belirli derişimlerdeki antimikrobiyal madde katı besiyerine difüze olup yayılır. Test edilecek bakteriden uygun katı besiyerine ekim yapılır. Kullanılacak antimikrobiyal maddenin ilave edilmesi için katı agar besiyeri üzerinde belli çaplarda kuyucuklar açılır. Daha sonra açılan kuyucuklara belirlenen derişimlerdeki antimikrobiyal madde ilave edilir. Optimum inkübasyon sıcaklığında yeterince bekletildikten sonra zon oluşup oluşmadığına bakılır.

2.8.3. Enfeksiyonlara neden olabilecek bazı mikroorganizmalar

Escherichia coli

Gram negatif, hareketli, kapsüllü, laktozu asit ve gaz oluşturarak fermente eden, üreaz enzimi negatif, hidrojen sülfür oluşturmayan, triptofandan indol oluşumu pozitif basillerdir. Doğada toprakta, sulara, insan ve hayvan gastrointestinal sistem florasında bol miktarda bulunur [96, 97].

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 canlılığın savunma gücünün azaldığı durumlarda doku ve kana yayılarak enfeksiyon özelliği göstermektedir [98]. En sık idrar yolu enfeksiyonları, yeni doğan menenjit, sepsit ve turist diyaresi gibi hastalıklara yol açabilirler [96, 97].

Enterococcus faecalis

Gram pozitif, katalazı negatif bakterilerdir. Yuvarlak, oval, çiftler ve zincir şeklinde dizilim gösterirler. Alfa hemoliz veya hemolizsiz olabilirler. Enterokoklar insan ve hayvanların normal florasında bulunabilirler. Hastane patojenidir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon oluştururlar. Konak direncinin zayıfladığı durumlarda; idrar yolu enfeksiyonları, sepsisemi, intraabdominal abseler, yara enfeksiyonları ve endokardit gibi hastalıklara yol açabilir [96, 97]. Safra kanalı enfeksiyonlarında ise safra tuzlarına dayanıklılık açısından incelendiğinde *E. coli* türünden sonra gelir [99].

Bacillus subtilis

Gram pozitif, endospor oluşturan bakteriler olup zorunlu veya fakültatif aeropturlar. Doğada yaygın olarak toz, toprak, bitki, gübre, hayvanlar, süt ve sularda yaşayan bakterilerdir. Subterminal peritrik kirpikleri ile hareketli, bazen suşlar kapsüllü ve uzun zincirler yapabilen türlerdir [96, 100]. 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 [101]. En sık besin zehirlenmesi, doku veya göz içerisinde girerek göz yangılarına, septisemiye gibi hastalıklara yol açabilir [96, 100].

Bacillus cereus

Gram pozitif, düz veya çok az kıvrılmış, 3-12 µm uzunluğunda olan bakteri, 30-40°C'de gelişim gösterir [102]. Yaygın olarak toprak, su, süt gibi ortamlarda yaşarlar. Hareketli, kapsülsüz, santral veya subterminal yerleşimli sporlu, aerop ve fakültatif anaerop basillerdir. Sporlar pastörizasyon sırasında sağlam kaldığı için özellikle süt ve süt ürünlerinde önemlidir. İnsanlar ve hayvanlar için patojendirler. Genelde laboratuarlarda hava kaynaklı kontaminantlar olarak görülürler. Göz enfeksiyonları, sepsis, menenjit, beyin kanaması, akciğer absesi, pnömoni, karaciğer absesi ve idrar yolu enfeksiyonları gibi hastalıklara da yol açabilir [96, 100]. Ayrıca *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 [103].

Klebsiella pneumoniae

Gram negatif, büyük, hareketsiz, 1-2 µm boyunda, 0,5-0,8 µm eninde, etrafında polisakkarit yapıda geniş bir kapsül bulunduran basillerdir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Polisakkarit kapsüllerinden dolayı gram boyamada geniş görünürler. Laktozu fermente ederler. 30-35°C'de optimum üreme gösterir. Alkolizm, diyabet veya kronik akciğer hastalığı olan bireylerde pnömoni etkenidir. Özellikle hastanede yatan hastalarda olmak üzere, idrar yolları enfeksiyonlarına ve solunum yolu enfeksiyonlarına yol açar [100, 104].

Staphylococcus aureus

Gram pozitif, yaklaşık 1 µm eninde ve boyunda, pigmentli, fakültatif anaerop çoğunlukla aerop üreyen koklardır. Doğada her yerde yaygın olarak bulunurlar. Mikrofağları ve makrofağları degranüle eder. Epidermolizden sorumludur. 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. Serolojik olarak farklı beş enterotoksini vardır. Genellikle iltihap oluşumuyla seyreden lokal enfeksiyonlara ve besin zehirlenmelerine sebep olurlar. Septisemi, endokardit ve grip sonrası pnömoni etkenidirler. *S. aureus* enfeksiyonları sonrasında güçlü veya uzun süreli bir bağışıklık oluşmaz; bunun en belirgin göstergesi bireylerin yaşamları boyunca *S. aureus* enfeksiyonlarına duyarlı olmalarıdır [105, 106]. Stafilokok türleri basit besiyerlerinde üremelerine rağmen kanlı besiyerinde daha iyi çoğalır ve kolonilerinin etrafında tam hemoliz meydana getirebilirler. En iyi 37°C sıcaklıkta, pH 7,4'te ve jeloz besiyerinde ürerler. Yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler yapar. Ayrıca altın sarısı renginde pigment oluşturur [105].

Salmonella typhimurium

Gram negatif basillerdir. İnsan, hayvan ve tavukların gastrointestinal sisteminde bulunur. Kontamine olmuş besinler ile oral veya fekal yoldan bulaşır. Çiğ süt ve kaplumbağalardan da bulaşan bu bakterinin en önemli bulaşma yolu, yumurta ve kümes hayvanlarıdır. Hem ince hem kalın barsakta enfeksiyon oluşturur ve diyareye sebep olur. Ayrıca asemptomatik kolonizasyondan, menenjit, osteomyelit ve özellikle bebeklerde sepsis gibi önemli hastalıklara da neden olmaktadır. Ayrıca bu tür, salmonellalar içinde farklı konaklarda hastalık oluşturması ve çoklu antibiyotik dirençliği nedeniyle önemlidir [100, 107].

Proteus vulgaris

Gram negatif, hareketli, üreaz enzimi ve hidrojen sülfür üreten, laktoz negatif, kapsülsüz ve sporsuz bakterilerdir. İdrar yolu enfeksiyonlarının ve diğer barsak dışı enfeksiyonların etkenidir. Yara enfeksiyonları, pnömoni, septisemi gibi enfeksiyonlara da neden olabilir [83, 108].

Pseudomonas aeruginosa

Gram negatif, insan ve hayvanlarda fırsatçı patojen olan, doğada çok yaygın bulunan basillerdir. Oksidaz pozitif, polar kamçılı, hareketli, kapsüllü, zorunlu aerop bakterilerdir [83, 108]. Genellikle 0,5-0,8 µm eninde ve 1,5-3 µm boyunda olan, tüm suşları glikozu okside eden ve 42°C'de üreyebilen bakterilerdir [109].

P. aeruginosa'nın içerdiği ekzotoksinler, proteolitik enzimler ve enteretoksinler ile hastalık yaparlar. En önemli etkenleri; yara-yanık enfeksiyonları, göz ve kulak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, menejitler, bronşit, damar içi ilaç kullanıcılarında endokardit veya osteomyelite ve septisemi gibi hastalıklardır [96, 97].

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 nedenlerle vücut direnci zayıflamış hastalarda görülür. Deri, ağız, vajina ve bağırsakların normal florasında bulunur. Antibiyotik kullanımı sonrasında flora ortamında çoğalarak enfeksiyon oluşturur [110, 111]

Candida krusei

Bir antifungal olan flukonazole doğal direnç oluşturduğu için önemli bir türdür. Yalancı hifler ve uzun 'ağaca benzer' dizilim gösteren blastokonidyumlar oluşturur. *C. krusei*, özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan merkezlerde soruna yol açmaktadır.

İlk kez 1991 yılında flukonazol profilaksisi alan nütropenik ve kemik iliği transplantasyonu geçiren hastalarda gözlenmiştir En sık ise nütropenik (periferik kanda mutlak nütrofil sayısının azaldığı) kanser hastalarında görülmektedir. Bunlar içinde ise lösemiler ilk sırayı almaktadır [112, 113].

Candida tropicalis

Yalancı hif boyunca tek tek veya küçük kümeler oluşturmuş blastokonidyumlar, bazen yalancı hif uçlarında klamidyospora benzer ancak ince duvarlı yuvarlak veya armut görümlü hücreler şeklindedir [112]. *C. tropicalis* özellikle kanser hastalarında ve kemik iliği alıcılarında kandidemi ve invaziv kandidiyazise neden olan türdür [114]. En yüksek risk faktörü olarak nötropeni tespit edilmiştir [115].

2.9. İlaç-DNA Etkileşimi

İlaç-DNA etkileşmesi; DNA hedefli antikanser ve antibiyotik ilaç tasarımında, DNA'yı algılama yöntemlerinin geliştirilmesinde ve çevreye zararlı maddelerin algılanmasında çok önemlidir [116, 117]. Antikanser ilaçların DNA ile etkileşimi ve ilaç-DNA etkileşim mekanizmaları elektrokimyasal sensör teknolojisi kullanarak açıklanmaktadır. Bu sensörlerin yapılarına DNA, hücre, doku, antikor, enzim vb. biyolojik maddeler eklenince, bu sensörler "biyo" (biyolojik kökenli) ve "sensör" (algılayıcı) kelimelerinden oluşan "biyosensör" adını alır. Biyosensörler, birbiri içine geçmiş biri biyokimyasal, diğeri elektrokimyasal özelliklere sahip iki çeviriciden oluşan algılayıcı cihazlardır. Bu cihazlar nitel ve nicel analiz yaparlar. Biyokimyasal çevirici, analiz edilecek madde ile etkileşerek onu tanıır. Bu etkileşme sonucunda oluşan madde ise, elektrokimyasal çevirici tarafından ölçülebilir bir sayısal değere çevrilir [118].

Nükleik asitlerden oluşan tanıma yüzeylerine olan ilgi her geçen gün daha da artmaktadır. Bu tür tanıma yüzeyleri, elektrokimyasal biyosensörlere yeni özellikler eklemektedir. Elektrokimyasal yöntemlerle birlikte DNA'nın nitel ve nicel analizini yapma amacına yönelik tasarlanan biyosensörlerde, tanıma yüzeyi olarak DNA kullanılır. DNA'nın kullanıldığı bu biyosensörlere DNA biyosensörleri adı verilir. DNA biyosensörleri, dizisi belli hibridizasyon olaylarının izlenmesinde veya yüzey ile etkileşime giren analizlenecek maddelerin (karsinogen maddeler, ilaçlar vb.) tayininde kullanılır. Böylece elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin doktor gözetimindeki yapılacak analizlerinde önemli olduğu düşünülmektedir. [119, 120]. Ayrıca çeşitli kronik ve metabolik hastalıkların da tedavisinde kullanılan ilaçların DNA ile etkileşiminin incelenmesi kişiye özgü ilaç geliştirilmesini sağlamıştır [121].

Antikanser özellik taşıyan ilaç molekülleriyle DNA' nın etkileşmesi ve bu etkileşmenin geliştirilen yeni yöntemlerle tayin edilmesi yeni ilaç geliştirilmesi için çok önemlidir. Bazı maddelerin (çevresel kirlilik ajanları, toksik molekül, vb.) çift sarmal DNA ile interkalasyon (düzlemsel yapıdaki maddenin DNA çift sarmalı arasına girerek yerleşmesi), baza seçimli bağlanma vb. yollarla etkileşimi sonucu bir ürünün oluşması, bu ürüne duyarlı elektrokimyasal DNA biyosensör tasarımını getirmiştir. Bir kimyasal maddenin veya metabolitin DNA ile etkileşimi sonrasında DNA'da oluşabilecek yan ürünlerin kısa sürede tespit edilmesi kanser araştırmaları için oldukça önemlidir [122].

Antikanser ilaçların büyük bir kısmı DNA'ya bağlanır ve antitümör etkisi gösterirler. Böylece kanserli hücrede DNA eşlenmesini ve tümör hücrelerinin büyümesini engeller. DNA bağlanma ve kesme mekanizması, etkili antitümör ilaç tasarlanmasında önemlidir. Bu tür ilaçların başarısı, DNA'ya olan ilgilerine ve bağlanma şekillerine göre belirlenir. Bu da DNA'ya farklı fiziksel şartlar altında bağlanabilen maddelerin antitümör etki mekanizmasındaki yapı ve aktivite ilişkisi için gereklidir [123].

Nükleik asitlerin çeşitli yöntemlerle nanomalzemelerin yüzeyine tutturularak elektrokimyasal sensör teknolojisinde kullanılması ve bu sensörlerin ilaç-DNA etkileşimi ve DNA hibridizasyonu analizlerine yönelik uygulamaları giderek yaygınlık kazanmaktadır [124].



3. MATERYAL METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Bitkisel materyal

Çalışmada kullanılan ve bozkır alanlarda yetişmekte olan 5358 kodlu *Bupleurum lycaonicum* bitkisi, Yrd. Doç. Dr. Bilal Şahin tarafından 28.06.2011 tarihinde, Malatya Darende Yeniköy-Horhor köyleri arasında, 1800-2000 m yükseklikten toplanmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Bu araştırmada *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Proteus vulgaris* RSKK 96029, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 1021, *Candida krusei* ATCC 62586, *Candida tropicalis* NRRL Y-1296 mayaları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bu mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler; Nutrient agar (Merck), Nutrient broth (Merck), Saboroud dekstroz agar (Merck), Sodyum klorür (NaCl) (Merck), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma), Gallik asit (Sigma), Bütilenmiş 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). Çalışmada kullanılan besiyerlerinin tümü 121°C'de 1,5 atm/Hg basınçta 20 dk otoklavda steril edilmiştir.

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar; 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).

3.1.5. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

BHT: 0,01 gram BHT 10 mL metanol içinde çözülerek hazırlandı.

DPPH: 0,004 gram DPPH tartıldı ve 100 mL metanol içinde çözüldü. Karanlıkta muhafaza edilip +4 °C'de bir hafta saklandı. Bir hafta sonunda çözelti tekrar hazırlandı.

Gallik Asit Çözeltisi: 0,001 gram gallik asit 1 mL metanol içinde çözülerek hazırlandı.

Stok Tris Çözeltisi: 500 mM Tris (pH: 8,0)

Stok EDTA Tamponu: 500 mM EDTA (Etilendiamin-tetra asetik disodyum tuzu), 5M NaOH (pH: 8,0) ile hazırlandı.

TE Tamponu: 10 mM Tris (pH:8), 1 mM EDTA (pH:8) ile hazırlandı.

Agaroz: % 1 (w/v) agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlandı.

Tris Asetat (TAE) Tamponu: 242 gram Tris bazı, 57,1 mL Glasial asetik asit, 100 mL 0,5 M EDTA (pH:8), saf su ile hazırlandı.

Yükleme tamponu: % 40 sükröz, % 0,025 bromfenol mavisi, % 0,25 ksilen siyanol ile hazırlandı.

Etidyum Bromür: 10 mg/ml derişimde hazırlandı ve koyu renkli şişelerde muhafaza edildi.

Mc Farland No: 0,5 bulanıklık standardı: BaCl₂ (% 1,175) 0,5 mL, H₂SO₄ 99,5 mL, BaCl₂ ve H₂SO₄ karıştırılıp 15 mL'lik kapaklı tüplere dağıtıldı. Sonra karanlıkta oda sıcaklığında saklandı.

Mueller-Hinton Agar: 34 gram alınıp 1000 mL saf su içinde karıştırılıp çözüldü.

Sabouraud Dektroz Agar: 65 gram alınıp 1000 mL saf su içinde karıştırılıp çözüldü.

Nutrient Broth: 8 gram alınıp 1000 mL saf su içinde karıştırılıp çözüldü. Sonra kapaklı tüplere 10'ar mL ilave edildi.

Sabouraud Dekstroz Broth: 30 gram alınıp 1000 mL saf su içinde karıştırılıp çözüldü. Sonra kapaklı tüplere 10'ar mL ilave edildi.

3.2. Metotlar

3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması

Araştırmada kullanılan *Bupleurum lycaonicum* bitkisi gölgeli ve rutubetsiz bir ortamda 1 hafta süreyle kurutulmuştur. Kurutulan bitki materyali küçük parçalara ayrılıp 50'şer gram bitki, blender yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki materyali üzerine ayrı ayrı iki erlenmayerde birine 500 mL metanol diğerine de 500 mL etanol ilave edilerek oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 1 hafta boyunca iki günde bir çözücü yenilenmek suretiyle bekletilmiştir. Elde edilen sıvı metanol ve etanol özütü, kurutma kağıdı ile süzildükten sonra 45°C'de 70 mbar basınç aralığında rotary evaporatörde çözücüsünden ayrılmış ve katı metanol ve etanol özütü elde edilmiştir.

3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

Besiyerlerinin hazırlanması

Bu çalışmada besiyerleri hazırlanırken bakterilerin gelişmesi için Nutrient broth ve Nutrient agar kullanılmıştır. Nutrient broth'dan 8 gram alınıp 1000 mL saf su içinde çözülmüş ve kapaklı tüplere 5 mL konularak steril edilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır. Nutrient agar'dan ise 28 gram alınıp 1000 mL saf su içinde çözülmüştür. Besiyerleri hazırlandıktan sonra 121°C'de, 1,5 atm basınçta, 15 dk steril edilmiştir. Agar besi yeri steril petri kaplarına yaklaşık 25 mL olana kadar dökülmüş ve oda sıcaklığında katılaştıktan sonra buzdolabında saklanmıştır.

Bitki özütlerinin konsantrasyonlarının hesaplanması

Antimikrobiyal aktivite tayini için metanol ve etanol özütlerinin her biri 250 mg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde %50 dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Özütler antimikrobiyal aktivite deneylerinde kullanılmadan önce 0,45 µm çapındaki filtrelerden geçirilerek steril edilmiştir. DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır. DMSO içinde çözümlenerek hazırlanan özütler koyu renkli ve kapaklı şişelerin içerisinde antimikrobiyal aktivite deneyleri yapılmaya kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Elde edilen bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivitelere, Perez ve diğerlerinin (1990) çalışmalarında kullanılan agar kuyucuk yöntemi çalışılmıştır. Çalışmamızda kullanılan bakteriler ve mayalar stok kültürlerin aktifleştirilmesiyle elde edilmiştir. Bu yöntemde kullanılan bakteri kültürlerini aktif hale getirmek için Nutrient Broth (NB), maya kültürlerini aktifleştirmek için ise Saboroud Dekstroz Broth kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine Nutrient Broth ve Saboroud Dekstroz Broth ekilerek etüvde bakteriler 37°C'de 24 saat, mayalar 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda izotonik sodyum klorür (%0,9'luk NaCl) çözeltisi hazırlanarak besiyerlerinde tek koloni düşen mikroorganizmalar öze yardımıyla çözeltiliye alınmıştır.

Agar kuyucuk yönteminde kültürlerin süspansiyonu 0,5'lik McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Bu standarta göre, kültür süspansiyonlarından 100 µL alınarak besiyerine drigalski özesi ile petrilere yayılmıştır. 6 mm çapındaki delgeç ile petride uygun aralıklarla kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara bitki özütlerinden 50 µL konulmuştur. Özüt eklenen petrilere, iki saat buzdolabında bekletilerek bakteriler 37°C'lik etüve, mayalar 30°C'lik etüve konulmuş ve inkübasyondan sonra oluşan zonların çapları (mm) ölçülmüştür. Bu çalışma her bir özüt için üç tekrarlı olacak şekilde yapılmış, elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Negatif kontrol olarak çözücü DMSO; pozitif kontrol olarak bakteriler için kloramfenikol ve ampisilin; mayalar için ketokonazol kullanılmıştır. Ayrıca çözücü olarak kullanılan DMSO'da kuyucuklara konulmuş ve DMSO'nun mikroorganizmalar üzerinde etkisinin olup olmadığı denenmiştir.

3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi

Bitki özütlerinin hazırlanması

Bitki özütleri 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde kullanılmak üzere 100-500 µg/mL konsantrasyonları arası çalışılmıştır. Fenolik içerik tayini için özütler 1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Antioksidan aktivite deneyleri için bitkiler, özütleri hazırlanırken kullanılan çözücülerine (metanol veya etanol) hazırlanmıştır. Bu özütler koyu renkli şişelerde +4°C'de çalışma yapılana kadar saklanmıştır.

DPPH yöntemi

Bitki özütlerinin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri Blois (1958)'in yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntem kararlı serbest radikal DPPH'nin elektron veya hidrojen atomları veren bir antioksidan varlığında bu kimyasal tarafından süpürülmesi ile karakteristik mor rengin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Buna göre antioksidan madde ne kadar güçlü etkiye sahipse, DPPH'nin mor renginin o kadar açılması beklenir. Deneyde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan özütlerden 1 mL alınarak, 1 mL %0,004'lük metanolik DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi ile karıştırılmıştır. Daha sonra karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örneklerin absorbansı 517 nm'de UV spektrofotometresinde ölçülerek boş kontrole (1 mL metanol+1 mL DPPH) karşı değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır. Özütlerin boş kontrol testleri ve pozitif kontrollerin absorbans değerleri kullanılarak DPPH'nin % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

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

Toplam fenolik içerik miktar tayini

Özütlerin toplam fenolik içerik miktarları, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gallik asite eşdeğer olarak Singleton ve Rossi (1965) tarafından modifiye edilen Folin Ciocalteu metoduna göre belirlenmiştir. Çalışmada gallik asit, etanol ve metanol özütlerinin çözeltileri 1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Deneyde 100 µL özüt üzerine 200 µL %50'lik Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildikten 3 dakika bekletilmiştir. Sonra 1 mL %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda numunelerin absorbansları 760 nm'de Shimadzu-1700 UV spektrofotometresinde ölçülmüştür. Özütlerin toplam fenolik bileşik miktarları, standart gallik asit grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak µg gallik asite eşdeğer mg özüt miktarı olacak şekilde belirlenmiştir.

$$A = 0,0047 \text{ gallik asit } (\mu\text{g}) - 0,0017 \quad (R^2: 0,999)$$

3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi

Bitki etanol ve metanol özütleri, DMSO içerisinde 100 mg/mL konsantrasyonda çözülerek hazırlanmış ve pBR322 plazmit DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona seyreltilerek hazırlanan özütler, pBR322 plazmit DNA ile 37°C'de inkübe edilmiştir. 24, 48 ve 72 saat sonunda agaroz jel elektroforezi yapılarak bant oluşumu gözlenmiştir. Kontrol olarak ise, özütler ile muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA'sı jeldeki birinci kuyucuğa konularak karşılaştırma yapılmıştır.

3.2.5. Agaroz jel elektroforezi

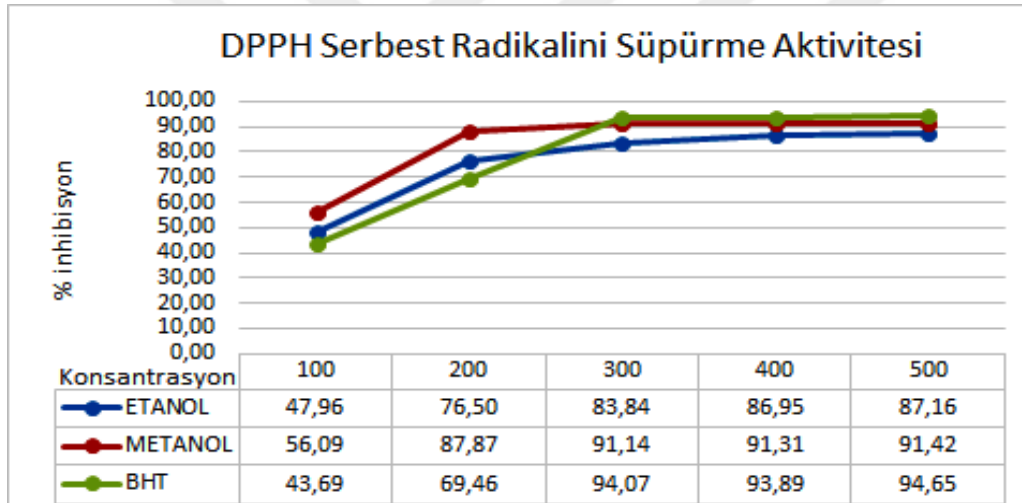
%1 (w/v) agaroz, TAE tamponu içinde kaynatılarak çözülmüş ve sonra tabağa dökülmüştür. Oluşan jel polimerleştikten sonra inkübasyon sonrası özüt-DNA çözeltisi ile yükleme tamponu karıştırılmış ve jelde oluşan kuyucuklara yüklenmiştir. TAE tamponu içinde 40-90 V uygulanarak 3-4 saat süre ile doğru akımda yürütülmüştür. Sonra Etidium bromür içinde birkaç dakika boyama yapılmıştır. Daha sonra jeller BioDoc Analyze (Biometra) görüntüleme cihazında görüntülenmiş ve bilgisayar ortamında fotoğrafları alınmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Özütlerin Antioksidan Etkileri

4.1.1. DPPH radikalini süpürücü etki

Özütlerin antioksidan aktiviteleri süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada *B. lycanonicum* etanol ve metanol özütlerinden 100-500 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Özütlerin ve BHT'nin 517 nm'de okunan absorpsiyon değerleri, % İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$ formülü ile hesaplanan DPPH süpürücü etkileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *B. lycanonicum* etanol ve metanol özütlerinin DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri (Konsantrasyon : µg/mL)

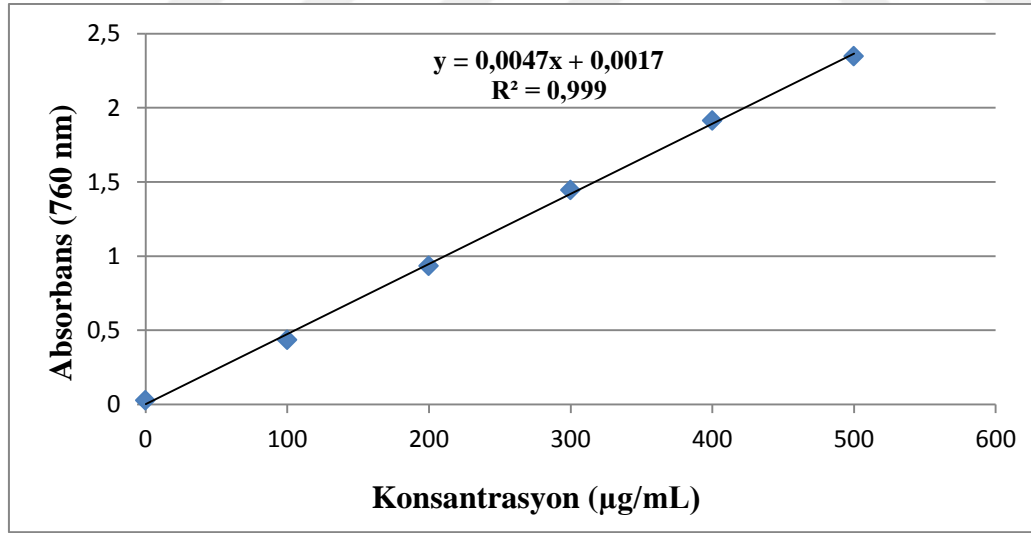
Şekil 4.1'e göre; DPPH serbest radikali süpürücü etkileri 100 µg/mL konsantrasyondaki etanol, metanol özütleri ve BHT için sırasıyla %47,96; %56,09 ve %43,69; 200 µg/mL konsantrasyondaki etanol, metanol özütleri ve BHT için sırasıyla %76,50; %87,87 ve %69,46; 300 µg/mL konsantrasyondaki etanol, metanol özütleri ve BHT için sırasıyla %83,84; %91,14 ve %94,07, 400 µg/mL konsantrasyondaki etanol, metanol özütleri ve BHT için sırasıyla %86,95; %91,31 ve %93,89; son olarak 500 µg/mL konsantrasyondaki etanol, metanol özütleri ve BHT için sırasıyla %87,16; %91,42 ve %94,65 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyondaki etanol ve metanol özütlerinin DPPH serbest radikalini süpürücü etkilerinin antioksidan BHT'den daha

yüksek olduğu tespit edilmiştir. 300, 400 ve 500 µg/mL konsantrasyonlardaki metanol özütünün ise BHT'ye yakın güçlü bir radikal süpürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı dozlarda (300-500 µg/mL) etanol özütünün radikal süpürücü etkisinin, metanol özütü ve BHT'den düşük olduğu saptanmış olsa da etanol özütünün yüksek bir radikal süpürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 100-500 µg/mL konsantrasyonlarda uygulanan beş dozdaki ortalamalar alındığında etanol, metanol ve BHT için ortalama DPPH serbest radikalini süpürücü etki değerleri ise sırasıyla %76,48±1,69; %83,57±1,12 ve %79,15±0,33 olarak bulunmuştur.

4.1.2. Toplam fenolik içerik tayini

Toplam fenolik içerik tayininde, kontrol olarak gallik asit kullanılmış ve gallik asit eğrisi elde edilmiştir (Şekil 4.2). Özütlerin toplam fenolik içerik miktarları, µg gallik asite eşdeğer mg ekstre olacak şekilde gallik asit eğrisine göre, aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$A = 0,0047 \text{ gallik asit } (\mu\text{g}) - 0,0017 \quad (R^2: 0,999)$$

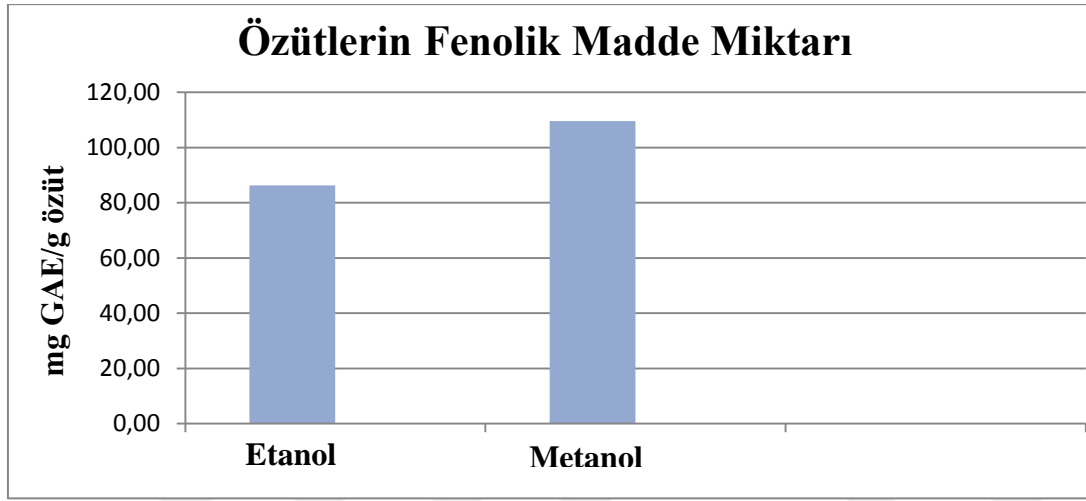


Şekil 4.2. Gallik asit eşdeğer eğrisi

Gallik asit eğrisine göre, hesaplanan metanol ve etanol özütlerinin fenolik içerik miktarları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3'te görülmektedir. *B. lycanonicum* fenolik madde miktarı etanol özütünde 86,23±3,00 µg GAE/mg ve metanol özütünde 109,57±5,67 µg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Buna göre, etanol ve metanol özütlerinden en fazla fenolik içeriğin metanol özütüne ait olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1. *B. lycanonicum* etanol ve metanol özütlerinin GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (μg GAE/mg özüt)

Özütler	Etanol	Metanol
<i>B. lycanonicum</i> 'un toplam fenolik madde değerleri (μg GAE/mg özüt)	86,23 \pm 3,00	109,57 \pm 5,67



Şekil 4.3. Bitki özütlerinin fenolik madde içerik miktarları (μg GAE/mg özüt)

4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri

4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmada kullanılan *B. lycanonicum* bitkisinden elde edilen metanol ve etanol özütlerinin antimikrobiyal etkilerine agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile bakılmıştır. Bunun için her bir özütten 25, 50 ve 100 mg/mL olacak şekilde 3 farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Negatif kontrol olarak %50'lik DMSO; pozitif kontrol olarak ise bakteriler için 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ampisilin ve 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kloramfenikol, mayalar için 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ketokonazol kullanılmıştır. Metanol ve etanol özütlerinin bakteri ve mayalara karşı oluşturdukları zon çapları Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te; özütlerin antimikrobiyal etkilerini belirten zon çapları ise Resim 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *B. lycaonicum* metanol özütünün (250 mg/mL) agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon çapları (mm)

Mikroorganizma	<i>Bupleurum lycaonicum</i> metanol özütü	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	14±1	-	18±0	25±0	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	-	-	-	8±0	-
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	27±0	20±0	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	13±0	-	23±1	21±0	-
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	12±0	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	13±1	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	44±1	24±1	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14±1	-	60±0	34±0	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	11±1
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	-	-	-	-	33±0
<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968	-	-	-	-	18±1

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

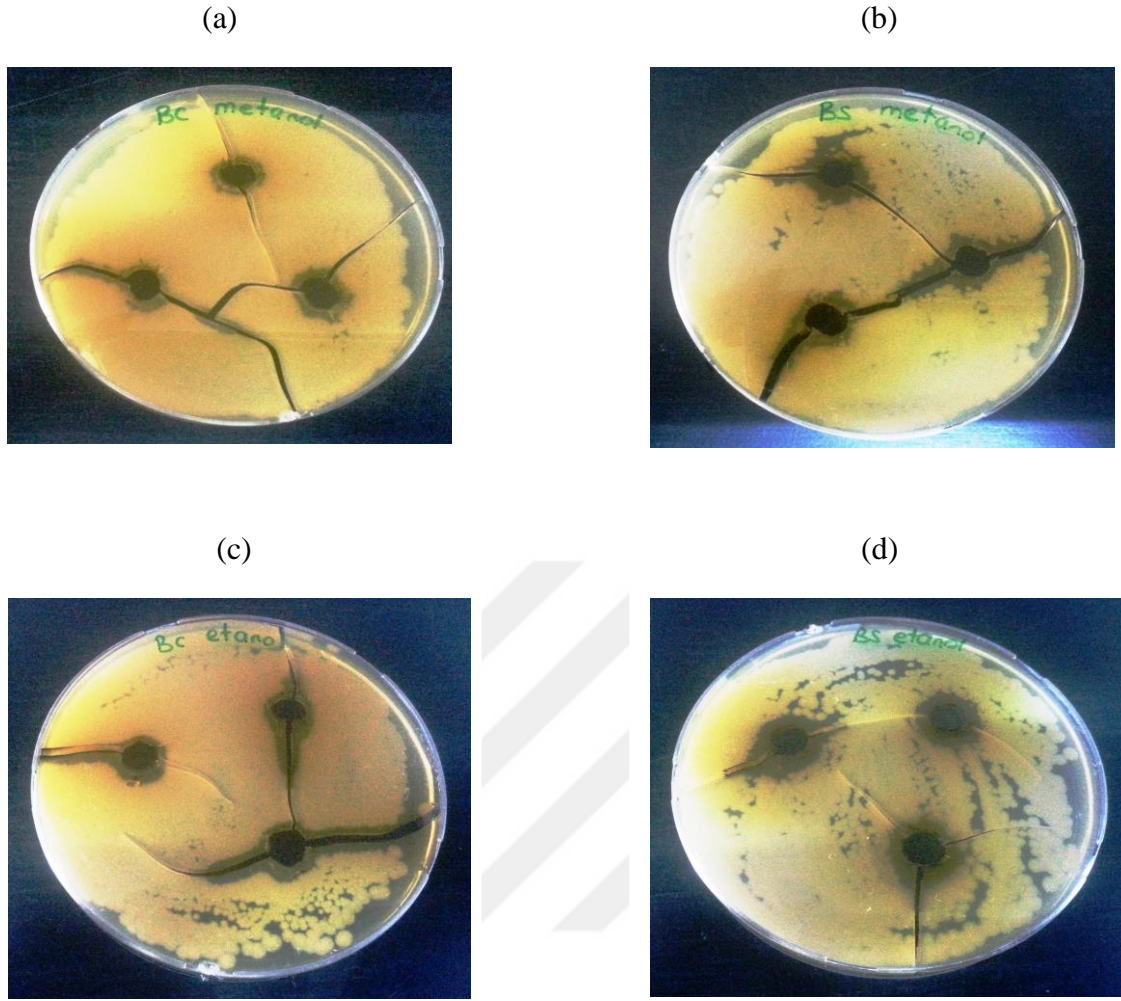
Çizelge 4.2'ye bakıldığında *B. lycaonicum* bitkisinin metanol özütünün *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *K. pneumoniae* ATCC 13883 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüş ve zon çapları ölçülmüştür. Bitkinin metanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir. Ancak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı orta derecede etki (zon çapı 14±1 mm) gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *B. lycaonicum* etanol özütünün (250 mg/mL) agar kuyu difüzyon yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon çapları (mm)

Mikroorganizma	<i>Bupleurum lycaonicum</i> etanol özütü	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	18±0	25±0	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	-	-	-	8±0	-
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	27±0	20±0	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	14±0	-	23±1	21±0	-
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	12±0	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	14±0	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	44±1	24±1	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> RSKK 96029	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	14±0	-	60±0	34±0	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	11±1
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	-	-	-	-	33±0
<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968	-	-	-	-	18±1

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

Çizelge 4.3'e bakıldığında *B. lycaonicum* bitkisinin etanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *K. pneumoniae* ATCC 13883 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüş ve zon çapları ölçülmüştür. Bitkinin etanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir. Ancak *B. subtilis* ATCC 6633, *K. pneumoniae* ATCC 13883 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı orta derecede etki (zon çapı 14±0 mm) gösterdiği belirlenmiştir.



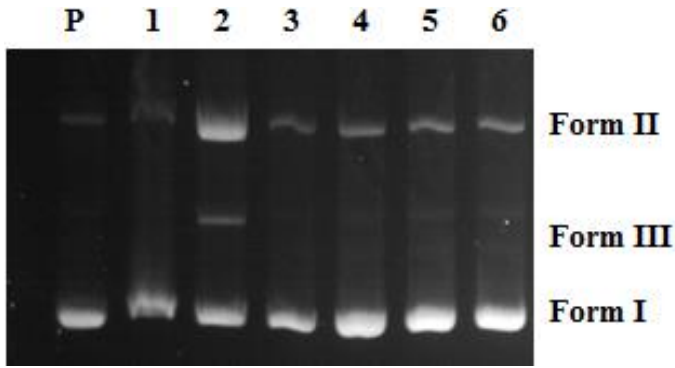
Resim 4.1. Özütlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları: (a) Metanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi, (b) Metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi, (c) Etanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi, (d) Etanol özütünün *B. subtilis* ATCC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

Sonuç olarak; *B. lycanicum* bitkisinin metanol ve etanol özütlerinin bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve etanol özütündeki antimikrobiyal etkinin metanol özütüne göre daha iyi olduğu görülmüştür. Çalışmada kullanılan özütlerin hiçbiri patojen mayalar üzerinde etkili olmamıştır.

4.3. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi

DMSO'da çözümlenerek 100 mg/mL olarak hazırlanan *B. lycanicum* metanol ve etanol özütlerinin pBR322 plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelenmiştir. Bileşiklerin DMSO içerisindeki çözeltileri 100 mg/mL'den başlayıp, seyreltme yapılarak farklı konsantrasyonlarda hazırlandıktan sonra plazmid DNA ile 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra DNA-özüt karışımı %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek UV ışık altında fotoğrafları çekilmiştir. Elektroforez sonucu genellikle plazmit DNA'nın üç farklı biçimi gözlenir: form I (süper sarmal form), form II (açık dairesel form) ve form III (doğrusal form). Molekül ağırlıkları aynı olmasına karşın bu üç formun jeldeki göç sırası, agaroz derişimine, DNA'nın büyüklüğüne, uygulanan akıma ve tamponun iyonik kuvvetine bağlıdır. Optimize olmuş koşullarda genellikle form I diğerlerine göre daha hızlı hareket eder [128]. Plazmit DNA üzerindeki bir iplikçikte kesim oluyorsa, süper sarmal form gevşeyerek daha yavaş hareket eden açık dairesel olan form II oluşur. Her iki iplikçik de kesilirse, I ve II formları arasında göç eden doğrusal bir form yani form III meydana gelir [129].

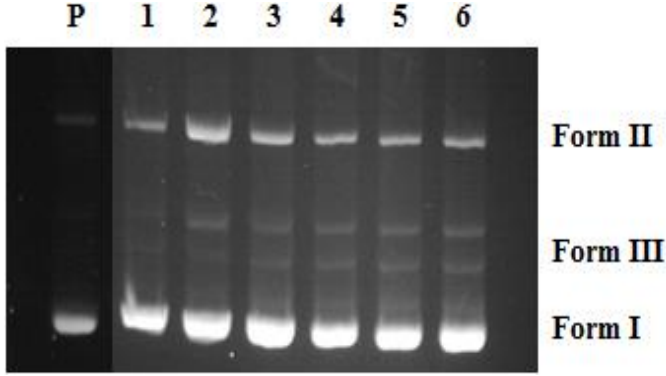
Bitki etanol özütünün 24 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.2'de verilmiştir.



Resim 4.2. Plazmit DNA'nın *B. lycanicum* etanol özütü ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

Resim 4.2' de görüldüğü gibi, en yüksek konsantrasyonda Form I'in hem yoğunluğu hem de hareketliliği azalmıştır. Daha sonraki azalan konsantrasyonlarda Form I'in hareketliliği ve yoğunluğu artmıştır. Ayrıca Form III gözlenmiştir.

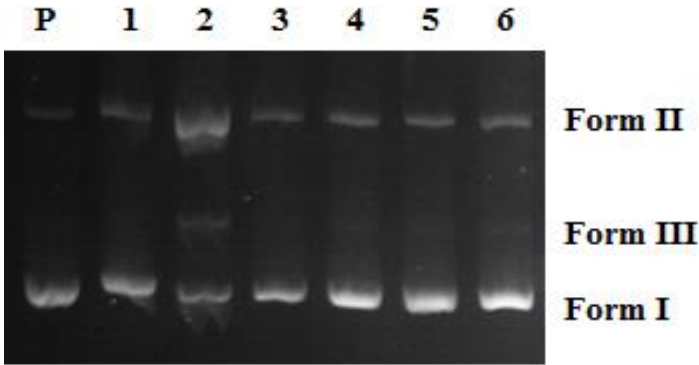
Bitki metanol özütünün 24 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.3'te verilmiştir.



Resim 4.3. Plazmit DNA'nın *B. lycanicum* metanol özütü ile 24 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

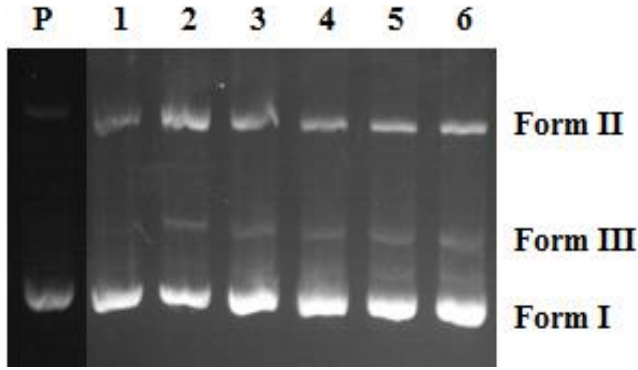
Resim 4.3'te görüldüğü gibi, metanol özütünde de benzer durum gözlenmiştir. Ancak birden fazla doğrusal DNA görülmüştür. Buna göre bitki metanol özütü, etanolden daha etkili bulunmuştur.

Bitki etanol özütünün 48 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.4'te verilmiştir.



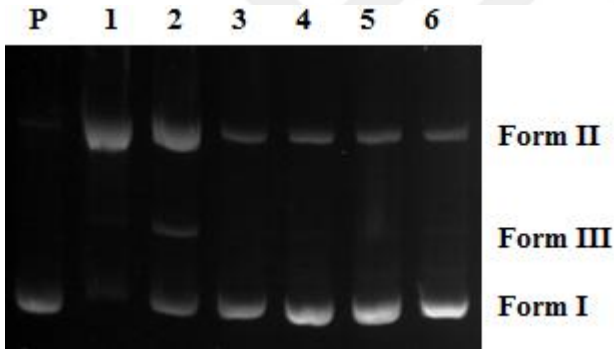
Resim 4.4. Plazmit DNA'nın *B. lycanicum* etanol özütü ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

Bitki metanol özütünün 48 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.5'te verilmiştir.



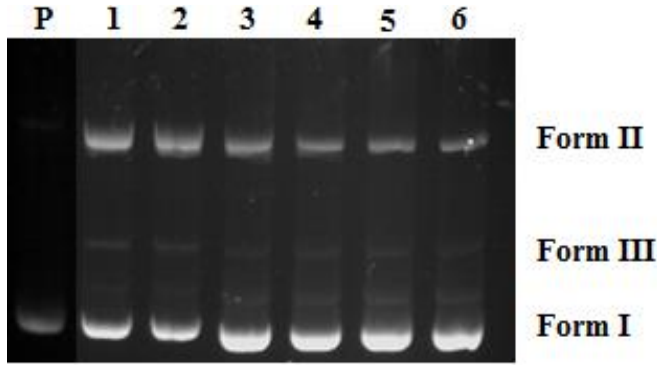
Resim 4.5. Plazmit DNA'nın *B. lycaonicum* metanol özütü ile 48 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

Bitki etanol özütünün 72 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.6'da verilmiştir.



Resim 4.6. Plazmit DNA'nın *B. lycaonicum* etanol özütü ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

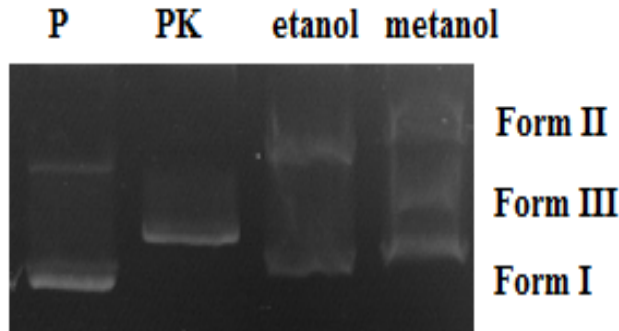
Bitki metanol özütünün 72 saat süreyle plazmit DNA üzerine etkisini gösteren elektrofotogram Resim 4.7'de verilmiştir.



Resim 4.7. Plazmit DNA'nın *B. lycaonicum* metanol özütü ile 72 saat inkübasyonu sonrası jel elektroforez görüntüsü P: özüt ile muamele edilmemiş plazmit DNA; 1: 100 mg/mL; 2: 50 mg/mL; 3: 25 mg/mL; 4: 12,5 mg/mL; 5: 6,25 mg/mL; 6: 3,125 mg/mL

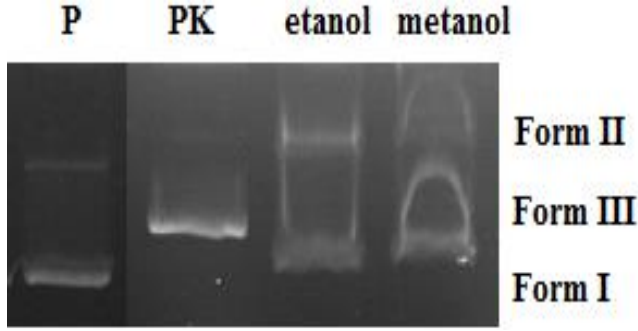
Bitki metanol ve etanolün 48 saatteki etkilerinin, 24 saatteki etkileriyle benzer durumda olduğu gözlenmiştir. Ancak 72 saatteki etkilerinde Form I'in yoğunluğunda azalmalar görülmüştür.

Bitki etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI enzimi ile kesildikten sonraki elektrofotogram Resim 4.8'de verilmiştir.



Resim 4.8. *B. lycaonicum* etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI enzimi ile kesildikten sonraki jel elektroforez görüntüsü P: Özüt ve enzim ile muamele edilmemiş plazmit DNA; PK: Özüt ile muamele edilmemiş *Bam*HI enzimi ile kesilmiş plazmit DNA; etanol: *B. lycaonicum* etanol özütü ile muamele edilmiş ve *Bam*HI enzimi ile kesilmiş plazmit DNA; metanol: *B. lycaonicum* metanol özütü ile muamele edilmiş ve *Bam*HI enzimi ile kesilmiş plazmit DNA

Bitki etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Hind*III enzimi ile kesildikten sonraki elektrofotogram Resim 4.9'da verilmiştir.



Resim 4.9. *B. lycanicum* etanol ve metanol özütü ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *HindIII* enzimi ile kesildikten sonraki jel elektroforez görüntüsü P: Özüt ve enzim ile muamele edilmemiş plazmit DNA; PK: Özüt ile muamele edilmemiş *HindIII* enzimi ile kesilmiş plazmit DNA; etanol: *B. lycanicum* etanol özütü ile muamele edilmiş ve *HindIII* enzimi ile kesilmiş plazmit DNA; metanol: *B. lycanicum* metanol özütü ile muamele edilmiş ve *HindIII* enzimi ile kesilmiş plazmit DNA

Bitki etanol ve metanol özütüyle etkileşime girmiş DNA'nın *BamHI* ve *HindIII* enzimleriyle inkübasyona bırakılmış ve enzimlerin DNA'yı kesmediği gözlenmiştir. Bu da bize bitki metanol ve etanol özütünün DNA'da Adenin/Adenin'in ve Guanin/Guanin'e bağlandığını gösterir. Bu bağlanma olduğu için de enzimler DNA'yı kesememiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Apiaceae familyası üyesi olan *B. lycanonicum* bitkisine ait mevcut antimikrobiyal ve antioksidan aktivite çalışması bulunmamaktadır. Familyada tıbbi olarak kullanılan bitki türleri bulunduğu ve daha önce bu bitki türü ile yapılmış antimikrobiyal ve antioksidan aktivite çalışması olmadığı için, çalışmamızda *B. lycanonicum* bitkisi tercih edilmiş ve bitkinin antimikrobiyal, antioksidan etkileri, DNA ile etkileşimi araştırılmıştır.

B. lycanonicum bitkisinin metanol ve etanol özütlerinin 250 mg/mL konsantrasyonlardaki antimikrobiyal etkisine agar kuyucuk yöntemiyle bakılmıştır. Bitkinin metanol özütünün *Escherichia coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *Escherichia coli* ATCC 25922'nin 14±1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün 13±0 mm, *B. cereus* NRRL B-3711'in 12±0 mm, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883'ün 13±1 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 14±1 mm olarak ölçülmüştür. Bu inhibisyon zonları bize bitki metanol özütünün bakterilere karşı orta derecede antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu göstermiştir. Bitki metanol özütünün mayalar üzerine etkisi görülmemiştir.

Bitkinin etanol özütünün ise *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri suşları üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları sırasıyla *B. subtilis* ATCC 6633'ün 14±0 mm, *B. cereus* NRRL B-3711'in 12±0 mm, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883'ün 14±0 mm, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün 14±0 mm olarak ölçülmüştür. Bu inhibisyon zonları bize bitki etanol özütünün bakterilere karşı orta derecede antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu göstermiştir. Bitkinin etanol özütünün mayalar üzerine etkileri görülmemiştir. Bu verilere göre, bitkinin metanol ve etanol özütleri bakterilere karşı orta derecede antimikrobiyal etki göstermiştir. Etanol özütünün, metanol özütü ile karşılaştırıldığında daha geniş çapta inhibisyon zonuna sahip olduğu saptanmıştır.

Apiaceae familyasında kullanılan pek çok türün hem tıbbi hem de halk arasında kullanımı bu familyaya ait bitki türlerini araştırmaya yöneltmektedir. Halk arasında kullanılan bazı *Apiaceae* türlerine örnek; *Foeniculum vulgare* (rezene); yaprakları yara iyileştirici, kökü idrar söktürücü olarak, *Pimpinelle 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 kullanılabilir [130].

Uğuz'un yaptığı 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. Araştırma sonucunda bakterilerin zon çapları *Staphylococcus aureus*'da 18 mm, *Bacillus cereus*'da 7 mm, *Micrococcus luteus*'da 7 mm, *Pseudomonas aeruginosa*'da 7 mm olarak ölçülmüştür. Diğer bakterilerde ise etki gözlenmemiştir [131]. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile karşılaştırdığımızda bitki metanol özütümüz *B. cereus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı daha yüksek etki göstermiştir.

Tosun ve diğerleri 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 antimikrobiyal aktiviteleri agar disk difüzyon metodu ile araştırılmıştır. 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. resinosum* (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 tespit edilmiştir [132]. Bizim çalışmamızda da metanol ve etanol özütlerinin *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı etki gözlenirken *S. aureus* bakterisine karşı etki gözlenmemiştir. *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı agar kuyucuk difüzyon çaplarımız da bu çalışmada ölçülen çap uzunluklarından daha yüksektir.

Yurtseven ve diğerleri tarafından *Heracleum argaeum* Boiss. & Bal. bitkisinden elde edilen uçucu yağı ve metanol özütünün *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Metanol özütünün Gram (-) bakterilerden *E. coli*, *S. typhimurium*'e karşı etkili olmadığı, Gram (+) bakterilerden ise *B. subtilis*'e karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Metanol özütü denenen konsantrasyonlarda *C. 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 [133]. Bizim çalışmamızda da bitki metanol özütü Gram (-) bakteriler olan *E. coli*'ye ve *K. pneumoniae*'e karşı etki gözlenirken, *S. typhimurium* ve bir maya olan *C. albicans*'a karşı etki gözlenmemiştir. En hassas etki Gram (+) bakteriler arasında *B. subtilis*, Gram (-) bakteriler arasında ise *P. aeruginosa* bakterisine karşı görülmüştür.

Literatürlerde *Bupleurum* cinsine ait çok az çalışma bulunmaktadır. Halk arasında *Apiaceae* familyasının tıbbi olarak yaygın kullanımı göz önünde bulundurulup farklı çözücüler kullanarak diğer *Bupleurum* türlerinin de antimikrobiyal etkilerinin araştırılması gerektiği düşünülmektedir. *Bupleurum* cinsiyle yapılan çalışmalara örnek olarak; Sökmen ve diğerlerinin yaptıkları bir çalışmada Türkiye Florası'ndaki 35 bitkiden elde ettikleri 76 özütü; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Branhamella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı incelemiştir. Bu bitkilerden biri olan *Bupleurum sulphureum* Boiss.'un toprak üstü kısımlarından elde edilen özütün de çalışmada kullandıkları test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir [134]. Bizim çalışmamızda ise *B. cereus* ve *E. coli* bakterilerine karşı etki gözlenirken *S. aureus* bakterisine ve *C. albicans* mantarına karşı etki gözlenmemiştir.

Başka bir çalışmada ise *B. fruticosum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın 13 gram pozitif ve gram negatif bakteri türüne, ayrıca 2 fungus türüne karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Uçucu yağın *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı güçlü aktivitenin olduğu, ancak gram negatif bakterilere ve funguslara karşı aktivitenin olmadığı tespit edilmiştir [108]. Bizim yaptığımız antimikrobiyal aktivite çalışmasında ise gram negatif bakterilere karşı yüksek derecede bir antibakteriyel aktivite gözlenirken *S. aureus* bakterisine karşı etki gözlenmemiştir.

Bupleurum cinsine ait başka bir türe örnek olarak; Ashour ve diğerlerinin *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 bildirmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite çalışmasında disk difüzyon metodunu kullanmışlar ve Gram pozitif bakterilere karşı bir aktivite gözlerken

Gram negatif bakteriler ve mayalara karşı daha düşük aktivitenin olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde ettikleri uçucu yağın, *Bacillus subtilis* ATCC 6051'e karşı daha zayıf inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir [135]. Bizim yaptığımız çalışmada da Gram (-) bakterilere karşı daha yüksek etki gözlenirken Gram (+) bakterilere karşı zayıf etki gözlenmiştir. Mayalara ise etki gözlenmemiştir.

Başka bir çalışmada ise *Bupleurum lancifolium* Hornem. bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, etil asetat, aseton, etanol ve metanol özütlerinin antibakteriyel etkileri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus salivarius*, *Enterobacter sakazakii* bakterileri suşlarına karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Araştırma sonuçlarında özütlerin test bakterilerine karşı antibakteriyel bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir [136].

Çalışmamızda kullandığımız *Bupleurum lycaonicum* bitkisinin metanol ve etanol özütlerinin antioksidan etkisine DPPH radikal süpürücü aktivite ve fenolik içerik tayini yöntemleri ile bakılmıştır. Çalışmada DPPH süpürücü aktivite deneyinde standart antioksidan olarak BHT kullanılmıştır. Bu antioksidan aktivite çalışmalarımız sonucunda; bitki metanol ve etanol özütlerinin 100 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda standartımız BHT'ye oranla yüksek antioksidan etki gösterdiği; 300 µg/mL, 400 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda ise standartımız BHT'ye oranla düşük antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Özütlerin fenolik madde miktarlarına bakıldığında ise etanol özütünde 86,23±3,00 µg GAE/mg ve metanol özütünde 109,57±5,67 µg GAE/mg olarak bulunmuştur. Bu verilere göre en fazla fenolik madde içeriğinin metanol özütüne ait olduğu görülmüştür.

Yurtseven ve diğerleri tarafından *Heracleum argaeum* Boiss. & Bal. (*Apiaceae*) bitkisinden elde edilen uçucu yağı ve metanol özütünün *in vitro* antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. *Heracleum argaeum*'un metanol özütünün toplam fenolik madde miktarı 17,74±0,4 µg GAE/mg olarak bulunmuştur. Metanol özütü 2 mg/mL konsantrasyonunda DPPH radikalinde %41,69 inhibisyon göstermiştir [133]. Çalışmamızda elde ettiğimiz verileri fenolik madde miktarı açısından karşılaştırdığımızda bitki metanol özütümüzün fenolik madde miktarı 109,57±5,67 µg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Buna göre,

antioksidan sonuçlarının çok yüksek olduğu metanol özütü 100 µg/mL konsantrasyonda bile DPPH radikalinde %56,09 inhibisyona sahip olduğu gözlenmektedir.

Başak ve Candan tarafından *Apium graveolens* Linn. (*Apiaceae*) tohumu uçucu yağının kimyasal bileşimi ve *in vitro* antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. *Apium* tohumundan elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi GC-MS analiziyle saptanmış ve uçucu yağın % 96.54'üne karşılık gelen 19 bileşen belirlenmiştir. Uçucu yağın ilk dört ana bileşeni d-limonen (87.10%), α -terpinolen (2.87%), 2- α -pinen (1.55%) ve p-simen (1.19%) olarak gözlenmiştir. Uçucu yağın antioksidan özelliği, reaktif oksijen türlerinden (ROT) olan hidroksil (-OH) ve süperoksit (O_2) radikalleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve kararlı serbest radikal olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)'i inhibisyon özellikleri çalışılarak incelenmiştir. Elde edilen veriler, uçucu yağın antioksidan özelliğiyle bağlantılı olan toplam flavonoid, toplam fenol ve toplam antioksidan çalışmalarıyla desteklenmiştir. Deneyle standart olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), kurkumin ve askorbik asit kullanılmıştır. *Apium* tohumundan elde edilen uçucu yağın, Fe⁺³-askorbat-EDTA- H_2O_2 sistemi ile oluşturulan hidroksil radikalini (-OH), ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit radikalini (O_2) ve kararlı bir radikal olan DPPH'ı süpürme aktivitesinin pozitif kontrollerden daha iyi olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağın, hidrojen peroksidi süpürme aktivitesi göz ününe alındığında ise; uçucu yağın, kurkumin ve BHT'den daha düşük, askorbik asitle benzer süpürme aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen verilere dayanılarak, *Apium* tohumu uçucu yağının radikalleri temizleyerek *in vitro* antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve doğal bir antioksidan kaynak olabileceği tespit edilmiştir [137]. Bizim çalışmamızda standart olarak sadece BHT kullanılmış ve bitki etanol, metanol özütlerinin BHT'ye oranla farklı konsantrasyonlarda farklı antioksidan etki gösterdiği DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriğinin ise en fazla metanol özütünde olduğu görülmüştür.

Ahmed ve diğerlerinin 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 araştırılmıştır. 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 [138]. Toplam fenolik madde miktarı olarak bitki metanol özütümüz 109,57±5,67 µg GAE/mg olarak hesaplandığı için benzerlik göstermektedir. Fakat bitki su özütümüz ile ilgili antioksidan çalışma yapılmamıştır. DPPH testinde ise metanol özütümüz denenen *Prangos* türlerine göre yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir.

Gülçin ve diğerleri tarafından yapılan 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 tespit edilmiştir. Anason (*Pimpinella anisum*) tohumlarının su özütü *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etki gözlenirken, etanol özütünde böyle bir etki gözlenmemiştir. 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 bildirilmiştir [89]. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile karşılaştırdığımızda; bitki etanol özütümüz *Staphylococcus aureus* bakterisine ve *Candida albicans* mayasına karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir. Antioksidan etkileri ise DPPH testinde standart BHT'ye oranla farklı konsantrasyonlarda farklı etki göstermiştir. Toplam fenolik içerik tayininde de etanol özütümüzün değeri 86,23±3,00 µg GAE/mg olarak bulunmuştur. Fakat bitki su özütümüz ile ilgili antimikrobiyal ve antioksidan çalışma yapılmamıştır.

Bu tez çalışmasında *Bupleurum lycaonicum* bitkisinden elde edilen metanol ve etanol özütlerinin DNA ile etkileşimlerine plazmit DNA'sı ile bakılmıştır. DMSO çözücüsünde çözülerek 100 mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derişimlerde seyreltilen metanol ve etanol özütlerinin plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelenmiştir.

Madde-DNA etkileşimleriyle ilgili olarak İlter ve diğerleri, sentezledikleri yeni spirosiklik monoferrosenilsiklotrifosfazenlerin, antifungal, antibakteriyel aktiviteleri ve bileşiklerin DNA üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu maddelerin bazılarının, patojen bakteriler üzerine, tüberküloz referans suşuna ve klinik suşlara da etkili olduğunu bulmuşlardır. Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimleri sonucu DNA hareketliliği ve yoğunluğunda etkili olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, yapılan restriksiyon analizinde tüm bileşiklerce *Bam*HI kesiminin gözlenmediğini, ancak *Hind*III kesiminin gözlendiğini tespit etmişlerdir [139].

Okumuş ve diğerleri, sentezledikleri yeni mono ve bis (4florobenzil) spirosiklofosfazen'lerin biyolojik aktiviteleri ve DNA etkileşimlerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda bileşiklerden sadece ikisinin bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Bileşiklerin DNA ile etkileşimlerini pBR322 plazmit DNA'sı ile çalışmışlar ve sentezlenen tüm bileşiklerin DNA'nın hareketliliği üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir [140].

Bupleurum lycaonicum bitkisine ait metanol ve etanol özütlerinin düşük konsantrasyonlarda (100-200 µg/mL) bile 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. *Bupleurum lycaonicum* bitkisi ile yapılacak olan sonraki çalışmalarda bitkide bulunan sekonder metabolitlerin tespit edilmesi, biyolojik etkilerinin araştırılması ve bitkinin metanol, etanol özütleri ile çalışma yapıldığı için su özütüyle de çalışma yapılması tavsiye edilmektedir.



KAYNAKLAR

1. Seçmen, Ö., Leblebici, E. (1987). *Yurdumuzun Zehirli Bitkileri*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Botanik Anabilim Dalı Yayınları, 103.
2. Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
3. Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., and Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *The bulletin of World Health Organization*, 63(6), 9865-9871.
4. Del Campo, P. J., Amiot, M. J. and Nguyen-The, C. (2000). Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*, 63(10), 1359-1368.
5. Frankel, E. N., Huans, S. W., Aeschbach, R., and Prior, E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extracts and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmaritic acid in bulk oil and oil- inwanter emulsio. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 131-135.
6. Karaşin, N. (2011). *Diyarbakır ve Çevresinde Yetişen Cynara Syriaca Metanol Ekstraktının Antimikrobiyal Antioksidan ve Mutajenik Aktivitesinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 1-2.
7. Deans, S. G., Ritchie, G. A. (1987). Antimicrobial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5(2), 165-180.
8. Serteser, A., Kargioğlu, M., Gök, V., Bağcı, Y., Özcan, M. M., and Arslan, D. (2009). Antioxidant properties of some plants growing wild in Turkey. *Grasas Aceites*, 60(2), 147-154.
9. Giorgi, A., Bombelli, R., Luini, A., Speranza, G., Cosentino, M., Lecchini, S., and Cocucci, M. (2009). Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rechb. *Phytotherapy Research*, 23(4), 540-545.
10. Baydar, H. (2005). *Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri (Bilimi ve Teknolojisi)*, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, 1-21.
11. Davis, P. H. (1965-1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1-9.
12. Güner, E. D. (2006). *Türkiye'deki Seseli L. (Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-4.
13. Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S., İlarıslan, R. (1989). *Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri*. Ankara: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları.
14. Erik, S., Tarıkahya, B. (2004). Türkiye florası üzerine. *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 17, 139-163.

15. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler)*. Ankara: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Yayınları, 246.
16. Davis, P. H., Işık, K. (1984). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, 4, 130-402.
17. Ayanoglu, 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 Dergisi*, 4(1-2), 101.
18. Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
19. Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (İkinci Baskı)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
20. Dulger, B., Gonuz, A. (2004). Antimicrobial activity of some endemic Verbascum, Salvia, and Stachys species. *Pharmaceutical Biology*, 42(4-5), 301-304.
21. Tulukcu E., Sağdıç, O. (2011). Konya’da aktarlarda satılan tıbbi bitkiler ve kullanılan kısımları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(4), 304-308.
22. Yücel, E., Tülükoğlu, A. (2000). Gediz (Kütahya) çevresinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 9(6), 12-14.
23. Çubukçu, B., Meriçli, A. H., Mat, A., Sarıyar, G., Sütlüpnar, N., Meriçli, F. (2002). *Fitoterapi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 79.
24. Yangın, M. (2014). *Doğal ilaç hammadde kaynakları ve doğal kaynakların (bitkilerin) ülkemizde kullanılmasına ilişkin yasal düzenlemeler*, Bitirme Tezi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri.
25. Baydar, S. N. (2006). *Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi*. Ankara: Palme Yayıncılık, 7-12.
26. Kendir, G., Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30(1), 49-80.
27. Şenşafak, G. (2009). *Şifalı Bitkiler Tedavi Yöntemleri Doktor Bitkiler*. İstanbul: Akis Kitap Yayıncılık, 15-16.
28. Üstündağ, M. (2015). *Scandix australis L. Bitkisinin Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 13.
29. Graham, E. L., Graham, M. J., Wilcox, W. L. (2004). *Bitki Biyolojisi*. Ankara: Palme Yayıncılık, 24-28.

30. Rodriguez, H., Curiel J. A., Landete, J. M., Rivas, B., Felipe, F. L., Cordoves, C. G., Mancheno, J. M., and Munoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2-3), 79-90.
31. Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.
32. Cemeroğlu, B. (2004). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 35, 77-88.
33. Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 57, 253-265.
34. Şener, B., Toker, G. (1986). Flavonoidlerin eczacılık yönünden önemi. *Marmara Üniversitesi Eczacılar Dergisi*, 2(2), 169-183.
35. Taylor, L. P., Grotewold, E. (2005). Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology*, 8, 317-323.
36. Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and The East Eagen Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, 7, 335-346.
37. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
38. Neuhouser, M. L. (2004). Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. *Nutrition Cancer*, 50(1), 1-7.
39. Hatipoğlu, S. (2010). *Salvia adenophylla ve Salvia verticillata subsp. amasiaca Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu ve Yarı Sentetik Türevlerinin Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 5-6.
40. Yücel, U., Ötleş, S. (2001). Şarabın bileşimi ve beslenmedeki önemi. *Dünya Gıda Dergisi*, 6(5), 79-82.
41. Nizamlioğlu, M. N., Nas, S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 20-35.
42. Shahidi, F., Naczsk, M. (1995). *Food Phenolics*. Lanchester: Technomic Publishing Company Book, 199-225.
43. Reguant, C., Bordons, A., Arola, L., Rozés, N. (2000). Influence of phenolic compounds on the physiology of oenococcus oeni from wine. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 1065-1071.
44. Dağcı, E. K., İzmirli, M., Dığrak, M. (2002). Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5, 38-46.
45. Hannum, S. M. (2004) Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science*, 44(1), 1-17.

46. Berk, A. (1953). *Esanslar (Eterik Yağlar)*. İstanbul: Hüsni Tabiat Matbaası.
47. Ceylan, A. (1997). *Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri)*. İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 481, 1-44.
48. Koç, H. (2004). *Bitkilerle Sağlıklı Yaşam*. Ankara: Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, 90-91.
49. Özyurt, M. S. (1992). *Ekonomik Botanik*. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Yayınları, 47, 8-13.
50. Evans, W. C. (1996). *Trease and Evans Pharmacognosy* (14th Edition). Nottingham: WB Sanders Company, 290.
51. Tanker, M., Tanker, N. (1990). *Farmakognozi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 65, 269-297.
52. Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985-990.
53. Janssen, 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 Medica*, 53(5), 395-398.
54. Kiehlbauch, J. A., Hannett, G. E., Salfinger, M., Archinal, W., Monserrat, C., and Carlyn, C. (2000). Use of the national committee for clinical laboratory standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(9), 3341-3348.
55. Bakirel, T. (1998). *Veteriner Toksikoloji Yönünden Trakya Bölgesi'nin Zehirli Bitkileri Üzerine Çalışmalar*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
56. Yılmaz, O. (1990). *Bursa Yöresinde Yetişen Önemli Zehirli Bitkilerin Toksikolojik Özellikleri*, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
57. Yılmaz, H., Akpınar, E., Yılmaz, H. (2006). Peyzaj mimarlığı çalışmalarında kullanılan bazı süs bitkilerinin toksikolojik özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 1, 82-95.
58. Özyurt, S. M. (1986). *Ekonomik Botanik*. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, 299.
59. Cakıcı, V. A., Kocak, A. (2015). Composition of the volatile of two *Achillea L.* (Asteraceae) taxa from Turkey. *Bitlis Eren University Science and Technology*, 5(2), 68-70.
60. Hartwell, J. L. (1968). Plant used against cancer. *Journal of Natural Products*, 31, 71-170.

61. Cheesman, L., Nair J. J., and Van Staden, J. (2012). Antibacterial activity of crinane alkaloids from *Boophone disticha* (Amaryllidaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2), 405.
62. Thomson, R. H. (1993). *The Chemistry of Natural Products* (Second Edition). Suffolk: Cahpman and Hall, 106.
63. Mann, J., Davidson R. S., Hobbs J. B., Banthorpe, D. V., and Harborne, J. B. (1994). *Natural Products* (First Edition). London: Pearson Education, 289.
64. Topçu, G., Bodige, S. G., Gören, A. C., Kılıç, T., Yıldız, Y. K., and Watson, W. H., (2001). *Private Communication*. Cambridge: Cambridge Crystallographic Data Centre, 1078.
65. Boiteau, P., Pasich, B., Ratsimamanga, R. (1964). *Les triterpenoides en physiologie vegetale et animale*. Paris: Gauthier-Villars, 304.
66. Heywood, V. H. (1978). *Flowering Plants of The World*. Oxford: Oxford University Press, 219-221.
67. Menemen, Y., Dönmez, A. (2006). *Uluslararası Botanik Adlandırma Yasası (Viyanası)*. Ankara: Doğan Matbaacılık, 573.
68. Güner, E. D. (2006). *Türkiye'deki Seseli L. (Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-4.
69. Pimenov, M. G., Leonov, M. V. (2004). The asian *Umbelliferae* biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west asian taxa. *Turkish Journal of Botany*, 28, 139-145.
70. Davis, P. H., Mill, R. R., Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 10.
71. Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekât, L., Leblebici, E. (2004). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi* (Genişletilmiş 7. Baskı). İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 116, 262.
72. Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (2007). *Farmasötik Botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 93, 13-283.
73. Zeybek, U., Zeybek, N. (2002). *Farmasötik Botanik, Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematigi ve Önemli Maddeleri*. İzmir: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 3, 260-262.
74. Davis, P. H. (1972). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 4, 393-418.
75. Saraçoğlu, H. (2011). *İç Anadolu Bölgesi'nde Yetişen Bazı Bupleurum L. (Apiaceae) Taksonlarının, Uçucu Yağ Bileşimleri ve Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 7.
76. Okcu, Z., Keleş, F. (2009). Kalp-damar hastalıkları ve antioksidanlar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1), 153-160.

77. Kahkonen, 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.
78. Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coşkun, M., Yıldırım, A. (2004). Antioxidant activities and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. *Turkish Journal of Pharmaceutical Science*, 1(3), 203-216.
79. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press, 543.
80. Ito, N., Fukushima, S., Hasegawa, A., Shibata, M., and Ogiso, T. (1983). Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 70, 343-347.
81. Cosquni, M., Torsoni, M. A., Stoppa, G. R., and Ogo, S. H. (2003). T-BOOH induced oxidative damage in sickle red blood cells and the role of flavonoids. *Biomedicine and Pharmacoter*, 57, 124-129.
82. Krinsky, N. I. (1989). Antioxidant function of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7, 617-635.
83. Akyüz, E. (2010). *Bazı Anthemis Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 15-18.
84. Seven, A., Candan, G. (1995). Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. *Klinik Gelişim Dergisi*, 8, 3906-3911.
85. Slater, T. F. (1987). Free radicals in tissue injury. *British Journal of Cancer*, 55, 5-10.
86. Yılmaz, S. (2012). *Echinops orientalis trautv. Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Yapı Tayini, Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 46-48.
87. Çulhaoğlu, B. (2011). *Salvia chrysophylla ve Salvia trichoclada Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Yarı Sentetik Türevlerinin Eldesi, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
88. Cadenas, E., Davies, K. J. A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29, 222-230.
89. 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.
90. Halliwell, B. (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutrition Reviews*, 57, 104-113.

91. Simic, M. G. (1998). Mechanisims of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*, 202, 377-386.
92. Shahidi, K., Wanasundara, P. K. J. P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews Food Science Nutrition*, 32, 67-103.
93. Ulubelen, A., Topcu, G., Sönmez, U., Choudhary, M. I., Atta-ur-Rahman. (1995). Abietane diterpenes from *Salvia napifolia*. *The International Journal of Phytochemistry*, 40(3), 861-864.
94. Reische, D. W., Lillard, D. A., Eitenmiller, R. R., Akoh, C. C., and Min, D. B. (2002). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. New York: Marcel Dekker Incorporated, 489-516.
95. Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401-409.
96. Murray, R. P., Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M., Pfaller, A. M. (2009). *Manual of Clinical Microbiology*. Ankara: Atlas Kitapçılık, 1, 455-737.
97. Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M. (2003). *Bakteriyoloji, Mikrobiyoloji*. İzmir: Asra Tıp Yayınları, 41-131.
98. Unat, E. (1982). *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*. İstanbul: Dergah Tıp Yayınları, 1182.
99. Brooks, F., Butel, J., Morse, S. (1998). *Medical microbiology* (26th Edition). Connecticut: Appleton and Lange, 740.
100. Harvey, R. A., Champe, P. C., Fisher, B. D. (2006). *Lippincott's Illustrated Reviews: Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 161-418.
101. Virella, G. (1997). *Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları* (Üçüncü Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 97-110, 122-124.
102. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt, E. (2006). *The Prokaryotes* (3rd Edition). New York: Springer Press, 1182.
103. Granum, P. E., Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters*, 157, 223-228.
104. Tunalı, Y. (2009). *Farmasötik Mikrobiyoloji Uygulamaları*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Yayınları, 65.
105. Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları)* (10. Baskı). İstanbul: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 63.
106. Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., Zinkernagel, R. M. (2002). *Tıbbi Mikrobiyoloji* (9. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 219-369.

107. Cohen, M. J., Tauxe, R. V. (1986). Drug resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiologic perspective. *Science*, 234, 964-969.
108. Manunta, A., Morelli, I. and Picci, V. (1987). L'huile essentielle du *Bupleurum fruticosum* L., *Planta Medica Phytotherapy*, 21(1), 20-25.
109. Erdem, B. (1999). *Pseudomonaslar, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 551-559.
110. Naglik, J., R., Moyes, D. L., Wactler, B., and Hube, B. (2011). *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes and Infection*, 13(12), 963-976.
111. Tatçı, Ç. (1999). *Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 35.
112. Tümbay, E. (1999). *Candida Türleri, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1081-1086.
113. Wingard, J. R., Merz, W. G., Rinaldi, M. G., Johnson, T. R., Karp, J. E., and Saral, R. (1991). Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. *The New England Journal of Medicine*, 325, 1274-1277.
114. Pfaller, M.A., Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Journal of Clinical Microbiology*, 20(1), 133-163.
115. Abi-Said, D., Anaissie, E., Uzun, O., Raad, I., Pinzcowski, H., and Vartivarian S. (1997). The epidemiology of hematogenous Candidiasis caused by different *Candida* species. *Clinical Infectious Diseases*, 24, 1122-1128.
116. Querioz, M. R. P., Castanheira, E. M. S., Carvalho, M. S. D., Abreu, A. S., Ferreira, P. M. T., Karadeniz, H., Erdem, A. (2008). New tetracyclic heteroaromatic compounds based on dehydroamino acids: photophysical and electrochemical studies of interaction with DNA. *Tetrahedron*, 64(2), 382-391.
117. Wang, J., Kawde, A. N., Erdem, A., Salazar M. A. (2001). Magnetic bead-based label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Analyst*, 126(11), 2020.
118. Coulet, P. R. (1991). What is a *Biosensor*? *Chapter 1; Biosensor principles and applications*. New York: Marcel Dekker Incorporated, 1-6.
119. Wang, J., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., Farias, P. A. M., Dontha, N. (1996). DNA electrochemical biosensor for the detection of short DNA sequences related to the human immunodeficiency virus. *Analytical Chemistry*, 15, 2629-2634.
120. Wilson, E. K. (1998). News. *Chemical Engineering*, 76, 21.
121. Niemeyer, C. M. (2001). Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie International Education*, 40, 4129.

122. Kılınç, E., Karagöz, E. (2009). *DNA Hedefli İlacın Elektrokimyasal Sensörle Tayini*, Özel Ege Lisesi, 3-11.
123. Tullius, T. D., Greenbaum, J. A. (2005). Mapping nucleic acid structure by hydroxyl radical cleavage. *Current Opinion in Chemical Biology*, 9, 127-134.
124. Erdem, M. (2010). *Elektrokimyasal DNA Sensörü İçin Nanomalzemelere Dayalı Elektrot Materyallerinin Geliştirilmesi ve Uygulamaları*, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
125. Perez, C., Pauli, M., Bazerque, P. (1990). An antibiotic assay by the agar-well diffusion method. *Acta Biologicae et Medicine Experimentalis*, 15, 113-115.
126. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
127. Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
128. Akerman, B., Cole, K. D. (2002). Electrophoretic capture of circular DNA in gels. *Electrophoresis*, 23, 2549-2561.
129. Navarro, M., Cisneros-Fajardo, E. J., Fernandez-Mestre, M., Arrieche, D., and Marchan, E. (2003). Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)₂]BF₄. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97(4), 364-369.
130. Essawi, T., Srour, M. (2000). Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70, 343-349.
131. Uğuz, M. T. (2011). Bazı aromatik bitki türlerinin metanol ekstratlarının antibakteriyel aktiviteleri. *Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(2).
132. Tosun, A., Özkal, N., (2003). *Seseli L. (Umbelliferae)* türlerinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(4), 269-284.
133. 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.
134. Sökmen, A., Jones, B. M., Ertürk, M. (1999). The *in vitro* antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 79-86.
135. Ashour, M. L., El-Readi, M., Youns, M., Mulyaningsih, S., Sporer, F., Efferth, T., and 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.
136. Alataş, Z. (2011). *Bupleurum lancifolium* Hornem. Türünün Antibakteriyel Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

137. Başak, S., Candan, F. (2008). *Apium graveolens* Linn. (*Apiaceae*) tohumu uçucu yağının kimyasal bileşimi ve *in vitro* antioksidan aktivitesi. *İstanbul Teknik Üniversitesi Dergisi*, 6(1), 3-13.
138. Ahmed, J., Güvenç, A., Küçükboyacı, N., Baldemir, A., and Coşkun, M. (2011). Total phenolic contents and antioxidant activities of Prangos Lindl. (*Umbelliferae*) species growing in Konya province (Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 35, 353-360.
139. İltter, E. E., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Açık, L., Yavuz, M., Bali, E. B., Solak, A. O., Büyükkaya, F., Dal, H., and Hökelek, T. (2010). Phosphorus–nitrogen compounds: Part 19. Syntheses, structural and electrochemical investigations, biological activities, and DNA interactions of new spirocyclic monoferrocenylcyclotriphosphazenes. *Polyhedron*, 29, 2933-2944.
140. Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Dal, H., Açık, L., Öner, Y., Koç, L. Y. (2011). Phosphorus–nitrogen compounds part 22. Syntheses, structural investigations, biological activities and DNA interactions of new mono and bis (4-fluorobenzyl) spirocyclophosphazenes. *Polyhedron*, 30(17), 2896-2907.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ERTAN, Sezen
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1990, Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (542) 3994757
 E-mail : m-sezen05@hotmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lise	Dr. Şerafettin Tombuloğlu Y.D.A. Lisesi	2007
Lisans	Necmettin Erbakan Üniversitesi / A.K.E.F.	2013
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü	2017
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Eğitim Bilimleri Enstitüsü	Devam Ediyor

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-2015	Sınav Dergisi Dersaneleri	Biyoloji Öğretmeni
2016-2017	Özel Gelişim Temel Lisesi	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Ertan, S. (2016, 23-24 Şubat). *Bupleurum lycaonicum* S. türünün antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. Abdullah Gül Üniversitesi I. Yaşam Bilimleri Sempozyumunda sunuldu, Kayseri.

Hobiler

Bulmaca çözmek, zeka oyunları ve voleybol oynamak



GAZİ GELECEKTİR..