



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CENTRANTHUS LONGIFLORUS STEV. SUBSP. *LONGIFLORUS*
STEV. (CAPRIFOLIACEAE) EKSTRAKTLARININ BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELİF AYAR

MAYIS 2019

***CENTRANTHUS LONGIFLORUS* STEV. SUBSP. *LONGIFLORUS* STEV.
(CAPRIFOLIACEAE) EKSTRAKTLARININ BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Elif AYAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2019

Elif AYAR tarafından hazırlanan “*Centranthus longiflorus* Stev. subsp. *longiflorus* Stev. (Caprifoliaceae) Ekstraktlarının Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Başkan: Prof. Dr. Vahit KONAR

Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Üye: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

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

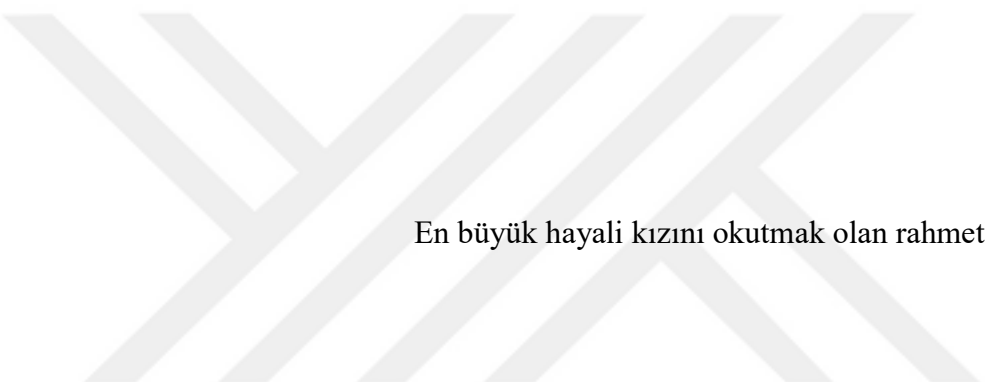
Tez Savunma Tarihi: 02/05/2019

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

.....

Doç. Dr. Meryem EVECEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



En büyük hayali kızını okutmak olan rahmetli babama

ETİK BEYAN

Amasya 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.

(İmza)

(Elif Ayar)

(02.05.2019)

CENTRANTHUS LONGIFLORUS STEV. SUBSP. *LONGIFLORUS* STEV.
(CAPRIFOLIACEAE) EKSTRAKTLARININ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Elif AYAR

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2019

ÖZET

Bu çalışmada, ülkemizde yaygın olarak bulunan *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus* türüne ait, farklı çözücülerle hazırlanmış topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bitki örnekleri türün doğal olarak yayılış gösterdikleri farklı lokalitelerden 2014 yılında çiçeklenme periyotlarında (Nisan-Haziran) toplanmış ve ayrı ayrı topraküstü ve toprakaltı hekzan, etanol ve metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların antimikrobiyal aktivite testleri 5 farklı standart suş (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida albicans* ATCC 10231) ile MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) metodu kullanılarak yapılmıştır. Antioksidan aktivite çalışmaları için DPPH, toplam fenolik madde miktarı hesaplama ve CUPRAC metotları uygulanmıştır. Ayrıca bitki ekstraktlarının DNA hasarı üzerine etkileri pBR322 plazmid DNA kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen verilere göre *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitkisinin toprakaltı kısımlarından hazırlanan ekstreler arasında özellikle hekzan ekstresinin diğer organik çözücülere oranla daha fazla antimikrobiyal etkinlik gösterdiği ve Gram negatif bakterilerde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında ise serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi ve toplam fenolik bileşik miktarı bakımından en yüksek aktiviteye topraküstü ve toprakaltı metanol ile hazırlanan ekstrelerde rastlanmıştır. Son olarak pBR322 plazmid DNA'sı üzerinde topraküstü hekzan ve metanol ekstraktlarının herhangi bir etkisinin olmadığı, ancak diğer ekstrelerin DNA'yı parçalayıcı ya da form değiştirici etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitki ekstraktlarının yüksek fenolik madde içeriği, antioksidan, antimikrobiyal ve plazmid DNA üzerine etkisinin varlığı belirlenmiş ve bu bitkiden elde edilen ekstraktların ilaç sektöründe kullanılabileceği ortaya çıkarılmıştır.

Sayfa Adedi : 65
Anahtar Kelimeler : *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*, Antimikrobiyal, Antioksidan, Plazmid DNA
Danışman : Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *CENTRANTHUS*
LONGIFLORUS STEV. SUBSP. *LONGIFLORUS* STEV. (CAPRIFOLIACEAE)

EXTRACTS
(M.Sc. Thesis)

Elif AYAR

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May 2019

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the biological activities of the below-ground and above-ground parts extract of *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*, which are widely used in our country. Plant samples were collected from different localities where the species spread naturally in flowering periods in 2014 (April-June) and separately below-ground and above-ground hexane, ethanol and methanol extracts were prepared. The antimicrobial activity tests of the extracts were performed using 5 different standard strains (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* ATCC 10231) and MIC (Minimum Inhibition Concentration) method. For the antioxidant activity studies, DPPH, total phenolic content calculation and CUPRAC methods were applied. In addition, the effects of plant extracts on DNA damage were investigated using pBR322 plasmid DNA. According to the data obtained from our study, extracts prepared from the below-ground of *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* plant, especially hexane extract showed more antimicrobial activity than other organic solvents and it was found to be more effective than Gram negative bacterias. When the results of the antioxidant activity of the extracts were examined, the highest activity in free radical (DPPH) removal activity and total phenolic compound amount was found in extracts prepared with above and below-ground methanol. Finally, on the pBR322 plasmid DNA, it was determined that the extracts of above-ground hexane and methanol had no effect, but the other extracts showed DNA degrading or form-modifying effects. As a result of this study *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* plant extracts have high phenolic content, antioxidant, antimicrobial and plasmid DNA effects have been determined and extracts obtained from this plant can be used in the pharmaceutical industry has been revealed.

Page Number : 65
Key Words : *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*, Antimicrobial, Antioxidant, Plasmid DNA
Supervisor : Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Öncelikle tez konumun belirlenmesi, gerçekleştirilmesi ve yazımı aşamasında benden bilgi ve birikimlerini eksik etmeyen danışman hocam Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarı'nın bütün imkânlarını kullanmama izin veren Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dekanlığı yönetici ve çalışanlarına, bu laboratuvarın kurucusu olan ve özellikle antimikrobiyal ve plasmid DNA çalışmalarında bana yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL hocama, laboratuvar çalışma ekibimiz Arş. Gör. Umut ÇELİKOĞLU, Arş. Gör. Emine ÇELİKOĞLU ve canım arkadaşım İkbâl MACİT'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmamın materyali olan bitkinin toplanması aşamasında emeği geçen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Şevket KANDEMİR'e şükranlarımı sunarım.

FMB-BAP 14-073 nolu projeye tez çalışmamı destekleyen Amasya Üniversitesi BAP Birim Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Tüm değerli hocalarımla yanısıra ise başta bizzat benimle laboratuvar çalışmalarına katılan biricik annem Emine SOMUN'a, tezimin her aşamasında maddi ve manevi yanımda olan, yardımını hiç esirgemeyen eşim Doç. Dr. Arif AYAR'a ve onların zamanlarından çalarak onlara borçlandığım canım oğlum Ahmet Eren ve güzel kızım Simre Selen'e en büyük minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. <i>Centranthus longiflorus</i> Stev. subsp. <i>longiflorus</i> Stev.'un sistematik durumu...	4
2.2. Caprifoliaceae Juss. (Hanımeligiller) familyasının genel özellikleri.....	4
2.3. <i>Centranthus</i> DC. cinsinin genel özellikleri.....	4
2.4. <i>Centranthus longiflorus</i> Stev. subsp. <i>longiflorus</i> Stev.....	5
2.5. Serbest Radikaller	6
2.6. Antioksidanlar	8
2.6.1. Antioksidan kapasite ölçüm metodları.....	9
2.7. Antimikrobiyal Maddeler.....	10
2.7.1. Antimikrobiyal etki tayin yöntemleri.....	11
2.8. Plazmid DNA	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Kullanılan bitki	16

	Sayfa
3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar	17
3.1.3. Kullanılan kimyasal madde ve ekipmanlar	17
3.2. Metod	20
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	20
3.2.2. DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi testi	21
3.2.3. Toplam fenolik madde miktarı tayini	21
3.2.4. CUPRAC metodu	22
3.2.5. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi	23
3.2.6. Bitki ekstraktlarının plazmid DNA üzerine etkisinin belirlenmesi	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Bulgular	25
4.1.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi bulguları	25
4.1.2. Toplam fenolik madde miktarı bulguları	26
4.1.3. CUPRAC bulguları	27
4.1.4. Antimikrobiyal etki bulguları	29
4.1.5. Plazmid DNA üzerine etki bulguları	30
4.2. Tartışma	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmalarımızda kullanılan cihazların marka ve modelleri	19
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktlarının IC ₅₀ değerleri	26
Çizelge 4.2. Bitki ekstraktlarının fenolik madde içeriği	27
Çizelge 4.3. Bitki ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan kapasiteleri	29
Çizelge 4.4. Bitki ekstraktlarının farklı organizmalar üzerindeki MİK değerleri	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Centranthus longiflorus</i> subsp. <i>longiflorus</i> Türkiye'deki yayılışı.....	5
Şekil 2.2. Elektron kaybetmiş serbest radikal formu	6
Şekil 2.3. Oksidatif denge.....	7
Şekil 2.4. Çeşitli antioksidan kaynaklar.....	8
Şekil 2.5. Disk difüzyon testi.....	11
Şekil 2.6. Epsilometre-test (E-test).....	12
Şekil 2.7. Tüp ve agar dilüsyon testleri.....	13
Şekil 2.8. Plazmid DNA'ya ait elektron mikroskobu görüntüleri	14
Şekil 2.9. Plazmid DNA formları ve agaroz jeldeki görüntüleri	15
Şekil 4.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi.....	25
Şekil 4.2. Gallik asit standart grafiği	26
Şekil 4.3. Troloks Cu^{2+} indirgeme gücü grafiği	28
Şekil 4.4. Bitki ekstraktlarının Cu^{2+} indirgeme gücü grafiği	28
Şekil 4.5. Agoroz Jel elektroforez görüntüsü.....	31

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Centranthus longiflorus</i> subsp. <i>longiflorus</i> 'un doğal habitatındaki görünümü.....	6
Resim 3.1. <i>Centranthus longiflorus</i> subsp. <i>longiflorus</i> yayılış alanı.....	16
Resim 3.2. Bitki örneklerinin kurutulma aşamaları	17
Resim 3.3. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarına ait görüntü	18
Resim 3.4. Bitki ekstraksiyonu için hazırlanmış Soxhlet düzeneği.....	20

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler	Açıklama
HO^{\cdot}	Hidroksil radikali
HO_2^{\cdot}	Hidroperoksi radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
LOO^{\cdot}	Lipit peroksit
O^{\cdot}	Singlet oksijen
O_2	Moleküler oksijen gazı
O_2^{\cdot}	Süperoksit radikali
RO^{\cdot}	Alkoksi radikali
ROO^{\cdot}	Peroksi radikali
HOCl	Hipokloröz Asit
ONOO^{\cdot}	Peroksinitrit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
NO_2	Azot dioksit
NO^{\cdot}	Nitrik oksit radikali
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklama
ALT	Alanin aminotransferaz
ALP	Alkalen fosfataz
AST	Aspartat aminotransferaz
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
°C	Celcius
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Redükte glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
HIV	AIDS virüsü
kDa	Kilo Dalton
MDA	Malondialdehit
pH	Asitlik derecesi
pI	İzoelektrik nokta
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
SOD	Süperoksitdismutaz
TBHQ	<i>tert</i> -Bütil Hidrokinon
U	Ünite

1. GİRİŞ

Türkiye İran-Turan, Akdeniz ve Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerin etkisinde bulunduğundan zengin bir bitki çeşitliliğine ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren 12 000'den fazla bitki taksonu bulunmaktadır [1]. Türkiye bitki türlerinin çok çeşitli olması bakımından kıta görünümünde olduğundan yabancı bilim adamları Türkiye için “Küçük Asya Kıtası” tabirini kullanmaktadır. Bu zengin flora içerisinde tıbbi bitkilerimiz önemli bir yer oluşturmaktadır. Türkiye tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından dünyanın önemli ülkelerden birisidir. Türkiye’de yaklaşık 1000 tıbbi ve aromatik bitki türünden 500 tür halk hekimliği veya geleneksel tıp yada alternatif tıp ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü tıbbi bitkilerin pek çoğunun antimikrobiyal etkilere sahip olduğu yapılan birçok araştırmada belirtilmiştir [2-7]. Bu durum günümüzde tıbbi bitkilerin tekrar yoğun olarak kullanılmasını gündeme getirmiştir [8, 9]. Tez konusunu oluşturan *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* yapısındaki bazı sekonder maddelerden dolayı tıbbi bitki özelliğine sahiptir.

Sekonder maddeler birçok bitkinin vejetatif ve generatif organlarında (özellikle rizom, yaprak, çiçek ve meyva) üretilmektedir. Bu maddeler bitkileri genel olarak herbivorlardan, patojenlerden, UV ışınları gibi birçok abiyotik ve biyotik streslerden korumaktadır. Ayrıca bitkiler içerdikleri bu sekonder maddelerin kimyasal yapılarına ve konsantrasyonuna bağlı olarak mantarlar, bakteriler ve virüsler üzerinde antimikrobiyal etki gösterirler. Bundan dolayı bitkiler özellikle tıbbi bitkiler mikroorganizma kaynaklı hastalıkların tedavisinde yıllarca kullanmışlardır. Draughon (2004) [10] bitkilerin antibakteriyal etkilerinin flavonoidler, tanenler ve alkaloitlerin varlığından dolayı olabileceğini bildirmiştir. Diğer taraftan Cowan (1999) [11] antimikrobiyal özellik gösteren sekonder maddeleri fitokimyasal alkaloitler, terpenoidler, uçucu yağlar, fenolikler, lektinler-polipeptitler ve poliasetilenler, Okunade ve Elvin-Levis (2004) [12] alkaloitler, flavonlar, polifenoller, steroidler, terpenoidler, kromonlar, peptitler, saponinler, fenoller, kumarinler ve kalkanlar olarak gruplandırmışlar. Bazı alkaloitlerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Bacillus subtilis* gibi bazı bakteriler üzerinde geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [13]. Sekonder maddeler antimikrobiyal mekanizmayı mikroorganizmaların dış membranda bulunan proteinleri ve iyon kanallarını etkileyerek göstermektedir. Taninler sitotoksik etkilerini hücreler üzerinde

oldukça güçlü bir şekilde göstermektedir. Fenoller bitki kaynaklı antimikrobiyal ajanların en kalabalık grubunu oluşturmaktadır [14]. Polifenollerin antibakteriyel aktivite özelliklerinin olduğu belirlenmiştir [15]. Flavonoidler Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde farklı mikrobakteriyel aktivitelere sahiptirler. Bu durum Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapılarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. İşte bu bitkiler sahip oldukları değişik kimyasal maddeler nedeniyle antioksidan, antimikrobiyal ve plazmid DNA üzerine etkilerinin araştırılması bu bitkilerin gelecekte birçok hastalığın tedavisinde drog olarak kullanılma potansiyellerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Bitkilerden izole edilen sekonder maddelerin antimikrobiyal aktiviteilerinin bilinmesi günümüzde yeni antimikrobiyal ilaçların yapılmasında büyük önem arz etmektedir.

Serbest radikaller son derece reaktif ve kararsız eşleşmemiş elektrona sahip atom veya moleküllerdir [16]. Canlılarda fizyolojik ve patolojik koşullarda oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) organizmadaki başlıca serbest radikallerdir [17]. En önemli reaktif oksijen türleri, süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), alkoksi (RO^-), peroksi (ROO^-), hidroksi (OH^-) radikalleri ve hipokloröz asittir ($HOCl$). Nitrik oksit (NO^-) ve peroksinitrit önemli biyoaktiviteye sahip reaktif nitrojen türleridir [16].

Oksidatif stres; organizma içindeki antioksidan savunma sistemi ile normal ya da dış etkenlerin etkisiyle oluşan serbest radikallerin arasındaki dengenin bozularak serbest radikal oranının daha fazla olması sonucu oluşmaktadır [18]. Böyle bir durum canlı hücrelerindeki oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasına ve oksidatif hasarın ortaya çıkmasına neden olur. Oksidatif stres özellikle hücrelerdeki DNA ve membran yapıları gibi hassas biyolojik yapıların hasara uğramasına neden olan radikalik denilen zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır. İşte tüm bu dengesizlikler, hücrelerdeki organellerde fonksiyonel kayıplara ve sonuçta hücre ölümlerine neden olabilen oksidatif olarak değişikliğe uğramış moleküllerin meydana gelmesiyle sonuçlanmaktadır [19, 20].

Antioksidan maddeler, uygun miktarlarda bulduklarında, oksidasyon oluşumunu engelleyen veya oluşum zamanını geciktiren maddeler olarak bilinmektedir. Bu antioksidan maddelerden, neredeyse tüm bitki, mantar, mikroorganizma ve hayvansal organizmalarda doğal olarak bulunmakta olup çoğunlukla polifenolik yapıdadırlar. Bu

antioksidanların en önemlileri başta A, C ve E vitaminleri olmak üzere başlıca fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler; basit kimyasal bileşiklerden, kompleks polimerleşmiş kimyasal maddelere kadar değişiklik gösteren ve çoğunlukla bitkilerde bulunan maddelerdir [21].

Birçok bitkinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin olduğu bilinmektedir. İşte bu bitkilerin belirtilen antioksidan özelliklerinin polifenolik içeriklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir [22]. Bitkilerin yapısında bulunan bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, serbest radikal süpürme ya da temizleme, metal iyonlarıyla bileşik oluşturarak indirgeme ve singlet oksijen denen oksijen radikallerinin oluşumunu engelleme şeklinde olmaktadır [23]. Bitkilerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerden en fazla bulunanları flavanoidler, fenolik asitler ve fenolik terpenlerdir [24].

Bu tez kapsamında ülkemizde yaygın olarak bulunan *C. longiflorus* subsp. *longiflorus*'un değişik organik çözücülerdeki ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile DNA hasarı üzerine etkileri pBR322 plazmid DNA kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar standart verilerle kıyaslanarak bitkinin bu yönden değerli olup olmadığı incelenmiştir. Ayrıca bitki ekstraktlarının plazmid DNA üzerine etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Centranthus longiflorus* Stev. subsp. *longiflorus* Stev.'un sistematik durumu

Alem (Kingdom): Plantae

Bölüm (Division): Magnoliophyta

Sınıf (Class): Magnoliopsida

Takım (Order): Dipsacales

Familya (Family): Caprifoliaceae

Cins (Genus): *Centranthus*

Tür (Species): *Centranthus longiflorus*

Alttür (Subspecies): *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*

2.2. Caprifoliaceae Juss. (Hanımeliğiller) familyasının genel özellikleri

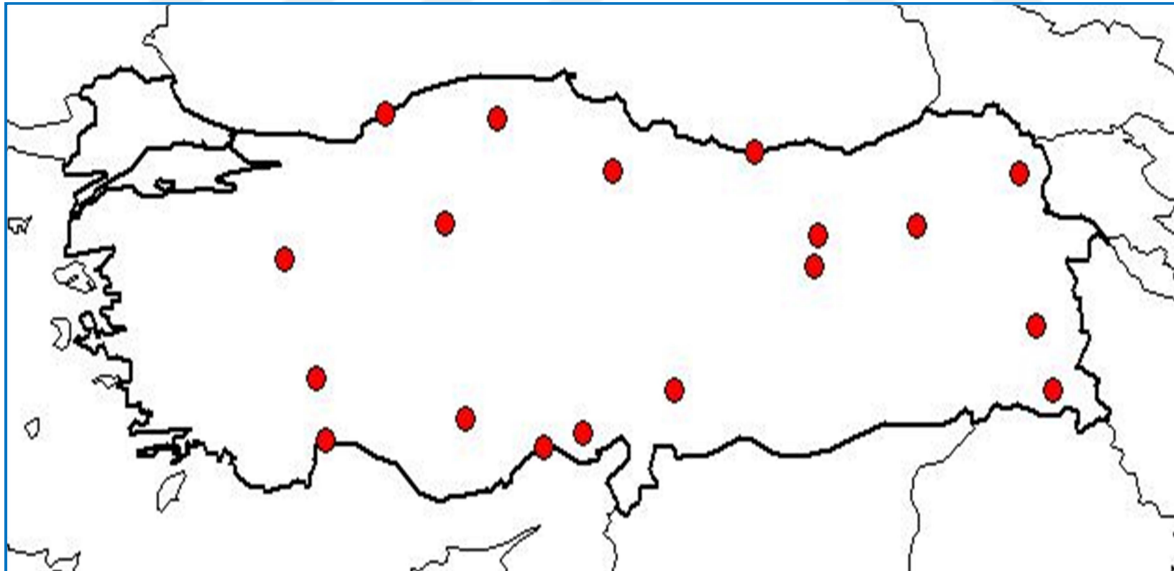
Caprifoliaceae familyasının Türkiye’de 11 cins ve 158 türü bulunmaktadır [25]. Kuzey Yarımküre de türlerin çoğu boreal ve ılıman bölgelerde yayılış göstermektedir. Türler odunsu çalılar ve nadiren otsu ve sarılıcı formundadır. Yapraklar basit ve opposit, stipulsuz; çiçek durumu kimoza, çiçekler aktinomorf nadiren zigomorf simetrik ve güzel kokulu; sepaller 4-5 adet, bileşik ve küçük; petaller 4-5 adet, tüp veya huni şekilli, bileşik; stamenler 4-5 adet, petallere bitişik; ovaryum 3-5 karpelli, alt durumlu, plesantalanma eksensel; stillus uzun; meyva drupa veya bakka ve çok tohumludur [26]. Familyanın pek çok türü bahçelerde süs bitkisi olarak ve bazı türlerinin meyvaları şarap yapımında kullanılmaktadır.

2.3. *Centranthus* DC. cinsinin genel özellikleri

Centranthus cinsi Caprifoliaceae familyasına ait otsu ve çalı formundaki bitkilerdir. Bu cinsin Türkiye’de *C. ruber* (L.) DC, *C. longiflorus* ve *C. calcitrapa* (L.) Dufur. olmak üzere 3 türü bulunmaktadır [25, 26].

2.4. *Centranthus longiflorus* Stev. subsp. *longiflorus* Stev.

Ülkemizde *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* çok yaygın olarak bulunmaktadır (Şekil 2.1). Tür, 70-200 cm boyunda, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Gövde sık dallı ve dik; yapraklar koyu yeşil, basit ve 4-10 cm ve 0,5-3 cm eninde, linear lanseolat, obtuse; korolla koyu pembe veya leylak, korolla tüpü 12-18 mm, mahmuz 8-10 mm [27]. Türkiye’de özellikle Kuzey, Güney ve İç Anadolu da yaygın yayılışa sahiptir. Taşlık yamaçlarda, çalılıklarda ve ağır topraklarda 0-2300 m yüksekliklerde yayılış gösterir. Nisan-Eylül aylarında açan koyu pembe çiçeklere sahiptir (Resim 2.1). Halk arasında “kırmızı mahmuz çiçeği” veya “kırmızı kantaron” olarak bilinir [28]. Bu bitkinin kök ve çiçekli dalları halk arasında sinir sistemi yatıştırıcı ve spazm giderici olarak kullanılır [29]. Bu taksonun sedatif özelliği Süleyman ve ark. (2007) [30] tarafından fareler üzerinde denenmiştir. Yapısında siklopentanlara, monoterenlere, valepotriatlara, antiokyanin pigmentlerine, iki çeşit steroide, flavonol glikozitlere ve gliserik asitlere rastlanmıştır [31-33]. Bazı araştırmacılar tarafından bu taksonun yağ asitleri kompozisyonu da yaygın olarak çalışılmıştır [34]. Bitki, ülkemizde yaygın bir şekilde geleneksel olarak kullanılmaktadır.



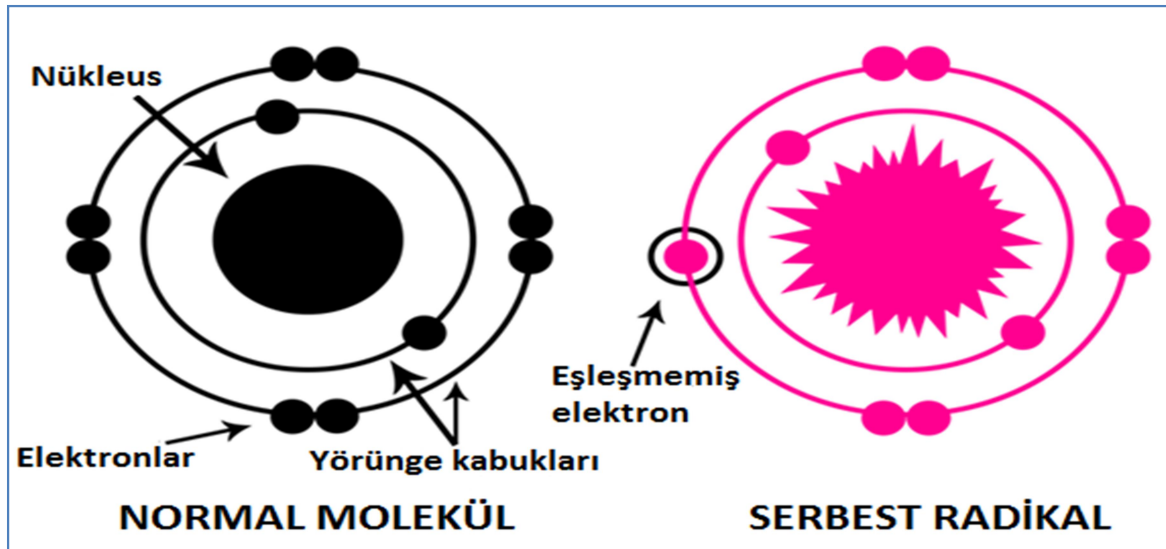
Şekil 2.1. *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*'un Türkiye'deki yayılışı



Resim 2.1. *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*'un doğal habitatındaki görünümü

2.5. Serbest Radikaller

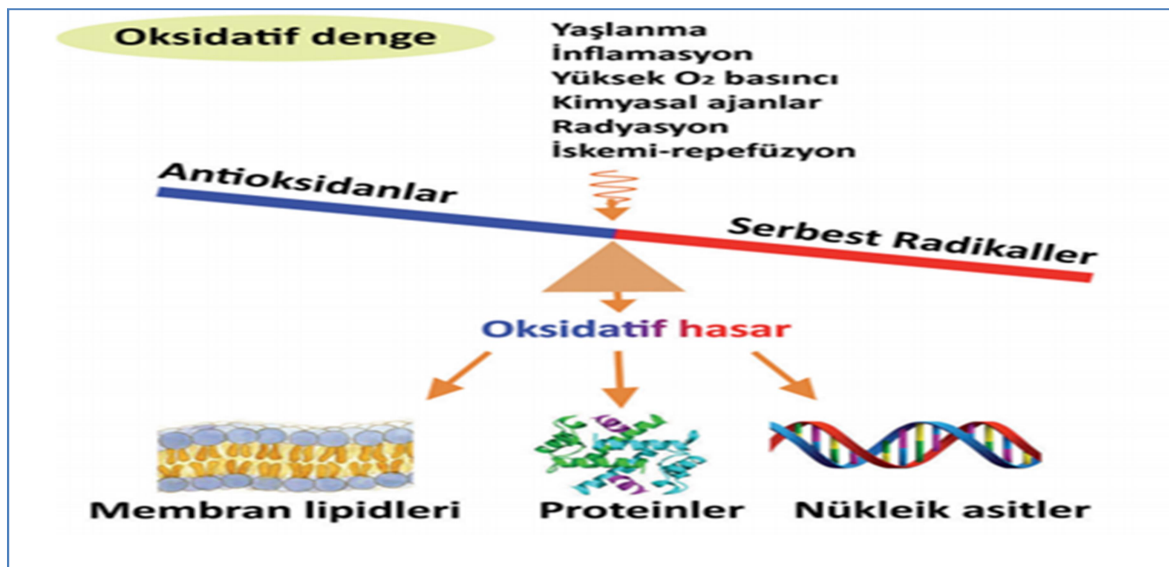
En dış orbitallerinde bir ya da daha fazla sayıda eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjiye sahip atom ya da moleküllere serbest radikaller denilmektedir [35-37]. Dış orbitallerinde bulundurdukları eşlenmemiş elektronlardan dolayı diğer maddelerle çok sık ve rahatlıkla birleşebilecek ya da reaksiyona girebilecek potansiyele sahiptirler (Şekil 2.2). Tüm elektronları eşlenmiş çiftler halinde bulunan atom veya moleküller ise kararlı bir yapıda olup, serbest radikaller kadar başka moleküller ile reaksiyonlara girme potansiyelleri yüksek değildir [38]. Bu yüzden bu tür moleküllere nonradikaller denilmektedir [39, 40].



Şekil 2.2. Elektron kaybetmiş serbest radikal formu [41]

Serbest radikalleri oksijen ve nitrojen kaynaklı olmalarına göre iki gruba ayırmak mümkündür. Bunlardan oksijen kaynaklı olanlara Reaktif Oksijen Türleri (Reactive oxygen species=ROS), nitrojen kaynaklı olanlar ise Reaktif Nitrojen Türleri (Reactive nitrogen species=RNS) denilmektedir [42]. Reaktif oksijen türlerine örnek olarak; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), peroksil (ROO^{\cdot}), hidroksil (OH^{\cdot}), alkoksil (RO^{\cdot}) ve lipit peroksil (LOO^{\cdot}) radikalleri verilebilir. Reaktif nitrojen türlerini ise nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) oluşturur. Bununla birlikte “oksidanlar” olarak adlandırılan hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), ozon (O_3), nitrik asit (HNO_2), hipokloröz asit ($HOCl$), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), lipit peroksit ($LOOH$) ve dinitrojen trioksit (N_2O_3) ise “serbest radikaller” arasında gösterilmemektedir. Bu oksidanlar fizyolojik ve patolojik durumlarda canlı organizmalar tarafından üretilip kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilmektedirler [43, 44].

Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklar tarafından sürekli olarak meydana getirilmekte ve hücrelerde sürekli olarak üretilmektedirler [45-47]. ROS ve RNS düşük yoğunluklarda organizma için yararlı etkiler gösterirken bunların birikimi arttıkça birçok zararlı etki ortaya çıkabilmektedir [48-50]. Bu olaya oksidatif denge denilmektedir (Şekil 2.3).

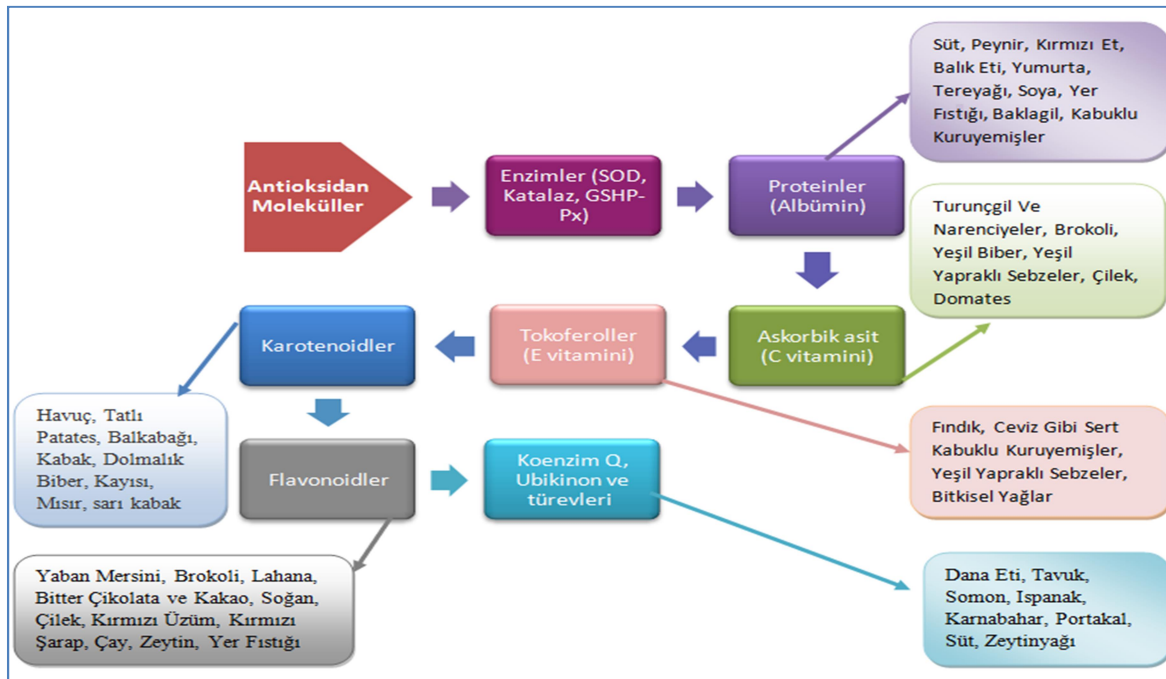


Şekil 2.3. Oksidatif denge [51]

2.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerle güvenli bir şekilde etkileşime girebilen ve hayati moleküller zarar görmeden oksidan maddelerin oluşturduğu zincirleme reaksiyonları sonlandırabilen veya oksidan maddelerin oluşumunu engelleyen bileşikler veya sistemlerdir [52]. Bu fonksiyonlarını birkaç reaksiyonla gerçekleştirebilirler. Bunlar; reaktif türevleri uzaklaştırıcı, oksijeni uzaklaştırıcı etki, oksijen konsantrasyonunu azaltıcı etki, bazı metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki, toplayıcı (scavenging) etki, bastırıcı (quencher) etki ve zincir kırıcı (chain breaking) etki şeklindedir [53].

Antioksidanları kendi içerisinde endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak ayırmak mümkündür. Endojen kaynaklı antioksidanlardan enzim yapısındaki olanlara örnek olarak; Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Redüktaz (GR), Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz (MSO), Glutasyon-S-Transferaz (GST) verilebilirken [54], enzim yapısında olmayanlara örnek olarak; Melatonin, Ferritin, Albümin, Sistein, Bilirubin, Transferrin ve Laktoferrin, Ürat, Seruloplazmin, Mannitol ve Oksipürinol verilebilir [55] (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Çeşitli antioksidan kaynakları [56]

Bunlarla birlikte literatüre girmiş birçok bitkisel doğal antioksidan maddeler de vardır. Ayrıca bu doğal maddelerin çok önemli antioksidan aktivite gösterdikleri ve çoğu zaman yapay antioksidanlardan daha etkili oldukları bilinmektedir. Yağlı tohumlular, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlar ve çay gibi birçok bitki; peptitler, aminoasitler ve karotenoidler gibi hayvansal ürünler; glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleri ve bazı mikroorganizmalar önemli doğal antioksidan kaynakları olarak bilinmektedir [57].

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar bitkilerdeki antioksidanların kardiyovasküler hastalıklar, çeşitli kanser tipleri, Parkinson ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar ile kronik, dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu ve anti inflamatuvar etkileri olduğunu göstermiştir [58].

2.6.1. Antioksidan kapasite ölçüm metodları

Günümüze kadar maddelerin ya da bileşiklerin antioksidan kapasitelerini ölçmeye yarayan birçok yöntem geliştirilmiştir [59, 60]. Bu yöntemler birçok kaynaktan, enzimatik ve enzimatik olmayan, canlı içi ve dışı veya direkt ve indirekt olmak üzere farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Tüm bu sınıflandırma gruplarına ilaveten en çok kabul gören sınıflandırma şekli ise hidrojen atomu transfer (HAT) ve elektron transfer (ET) temelli analiz yöntemleri olarak bilinmektedir [61]. Azo bileşiklerin bozulmasıyla ortaya çıkan peroksil radikallerine karşı antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yarışmacı reaksiyonlar HAT temelli yöntemler, antioksidan maddenin oksidan maddeyi indirgeme yeteneğini renk farklılaşması şeklinde ölçen yöntemler ise ET temelli yöntemler olarak tanımlanmaktadır [59]. HAT temelli reaksiyonlar; çözücü-pH etkisinden bağımsız ve çok kısa bir sürede gerçekleşirken ET temelli reaksiyonlar ise çözücü-pH etkisine bağlı olarak ve yavaş bir şekilde gerçekleşmektedirler [62].

Antioksidan kapasiteyi ölçmek için geliştirilmiş bazı yöntemler aşağıdaki gibidir;

- MDA Oluşumunun İnhibisyonu Yöntemi
- Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Kuvvet (FRAP) Yöntemi
- Tiyosiyanat Yöntemi
- Floresans Sönme Zamanı Yöntemi

- Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi
- Toplam Antioksidan Cevap (TAR) Tayin Yöntemi
- Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi
- DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi
- Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi
- Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

Bu çalışmada bitki ekstraktının antioksidan kapasitesi DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi, Toplam fenolik madde miktarı tayini ve CUPRAC metodu yöntemleri ile araştırılmıştır. Yöntemlerle ilgili ayrıntılı bilgi materyal ve metod bölümünde verilmiştir.

2.7. Antimikrobiyal Maddeler

Çok eser miktarlarda olduklarında bile mikroorganizmaların gelişimlerini engelleyebilen biyolojik kökenli ikincil metabolitlere “Antimikrobiyal Maddeler” denir. Bu maddelerden mikroorganizmayı öldürenlere “bakterisit” veya “fungisit”, mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyenlere “bakteriostatik” veya “fungustatik” denilmektedir [63-65].

Antimikrobiyal maddelerden bitki kökenli olanlar bitkinin yaprak, tohum, çiçek, kök veya meyve kısımlarından elde edilmektedir [66, 67].

Günümüz antimikrobiyal maddelerine karşı mikroorganizmaların geliştirdikleri ciddi direnç mekanizmaları insan sağlığını giderek daha da tehdit etmektedir. Bundan dolayı ilaç üreticileri her geçen yıl farklı antibiyotikler üretmek için yarışmaktadırlar. Bununla birlikte antimikrobiyal ilaçların da içinde yer aldığı maddelerin yaklaşık %80'i bitki kökenli maddelerdir [68]. Bu anlamda bitkilerin içerdikleri antimikrobiyal yeni maddeleri bulmak ve aktivitelerini tespit etmek her geçen gün daha da önem kazanmaktadır [69]. Kaldı ki bu bitkilerin birçoğu kırsal kesimlerde geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır.

Antimikrobiyal ya da antibiyotik olarak kullanılacak bir maddede aranan en önemli özellik “seçici toksisite”dir. Tedavide kullanılan antimikrobiyallerin düşük konsantrasyonlar da bile çok az toksik olması ve memeli hücrelerinden çok mikroorganizmaları hedef alması gerekmektedir. Bu anlamda, virüsler konak hücre içine

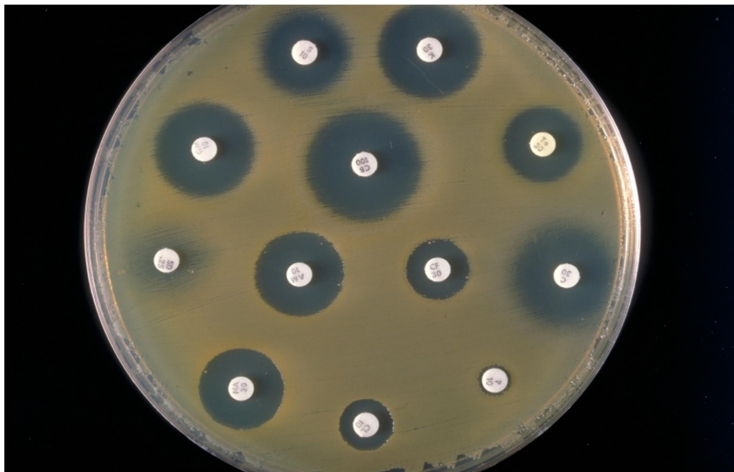
yerleştiklerinden konağa zarar vermeden virüsü etkilemek olanaksız olduğundan seçici toksitesinden söz etmek mümkün değildir. Mantarlar ise ökaryotik hücre yapısında olduklarından gene onlara karşı da tam bir selektif toksik etki gösteren antimikrobiyal madde bulmak oldukça zordur [70].

2.7.1. Antimikrobiyal etki tayin yöntemleri

Antibiyotik duyarlılık ya da antimikrobiyal etki deneylerinde "difüzyon" ve "dilüsyon" olmak üzere iki farklı test yöntemi uygulanmaktadır [71].

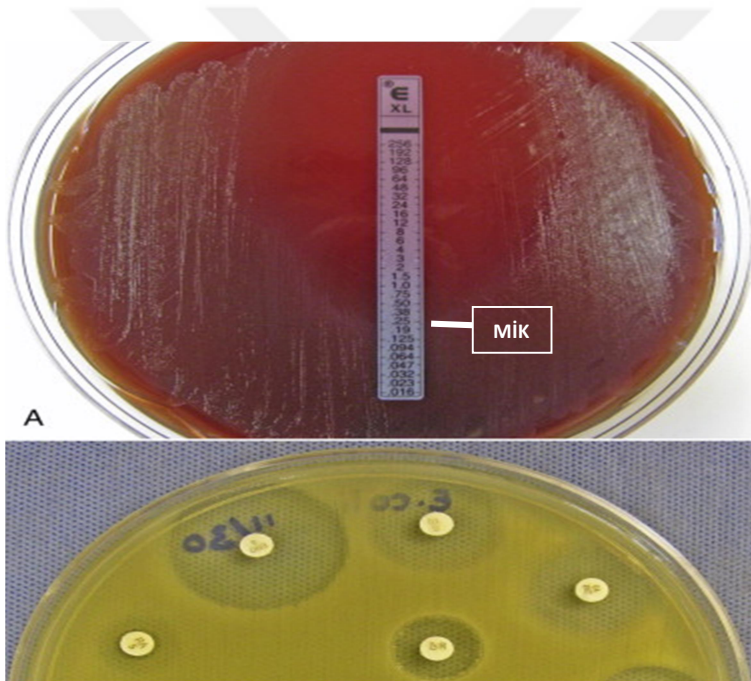
A. Difüzyon testleri

1. *Disk difüzyon testi*: Laboratuarlarda antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesinde en sık kullanılan yöntemlerden biri disk difüzyon testidir. Kirby-Bauer tarafından geliştirilen bu ucuz ve uygulaması kolay olan yöntem aynı zamanda bu bilim adamlarının isimleriyle de anılmaktadır (Şekil 2.5). Bu testte, öncelikle kimyasal madde emdirilen kâğıt diskler antibiyotik duyarlılığı araştırılan mikroorganizmanın ekildiği besiyerine yerleştirilir. Kâğıt diskler belirli bir zaman geçtikten sonra çözünerek besi yerindeki agara doğru difüze olurken, ekilmiş olan mikroorganizmalar da çoğalmaya başlamıştır. Kısa bir inkübasyon sürecinden sonra mikroorganizma maddeye ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu da o kadar geniş olacaktır. Oluşan inhibisyon zonunun çapı mm cinsinden ölçülerek, standart zon tablolarıyla karşılaştırılarak, mikroorganizmanın kullanılan antimikrobiyal maddeye karşı duyarlılık dercesi belirlenmiş olur [72].



Şekil 2.5. Disk difüzyon testi [73]

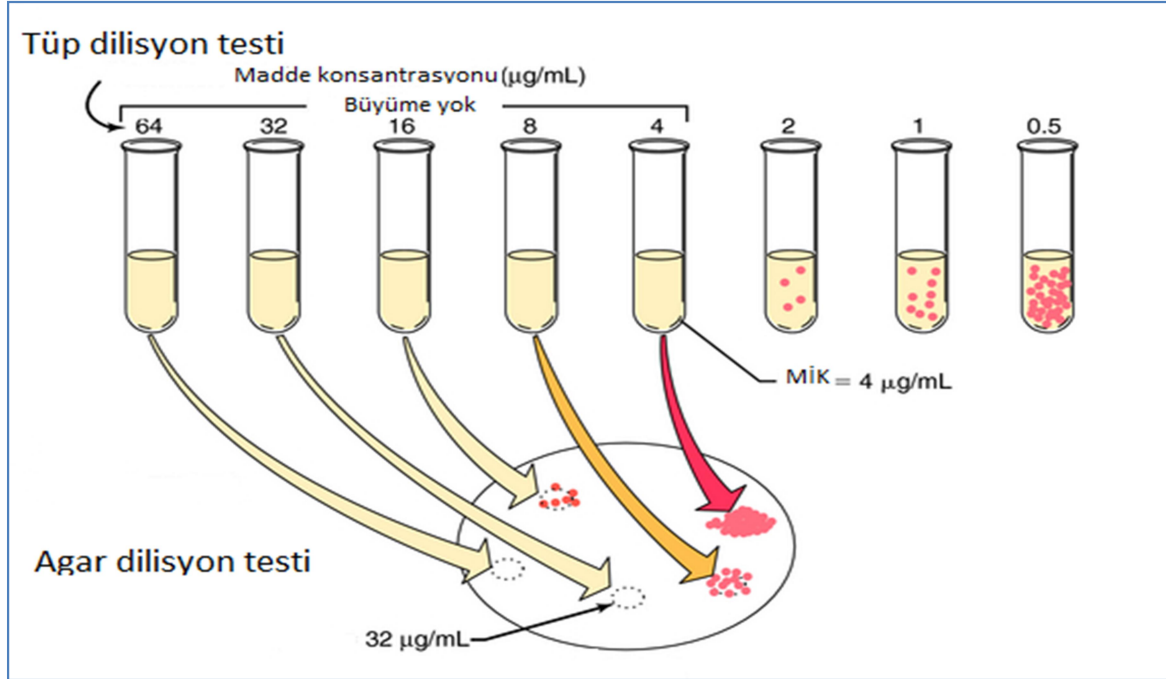
2. *E-test*: Epsilometer-test, katı besiyerinde difüzyon yoluyla Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerlerinin saptanması prensibine dayanan bir test yöntemidir. Herhangi bir mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak bilinmektedir. Bu test yönteminde test edilecek mikroorganizma 0,5 McFarland yoğunluğa getirilip Müller-Hinton agar yüzeyine steril bir eküvyonla yayılır. Daha sonra agar yüzeyine, belli bir antibiyotik gradienti içeren E-test şeritleri denen ölçekler yerleştirilir (Şekil 2.6). Petriler 18 ila 24 saatlik sürelerde 35°C'de inkübasyona bırakılıp MİK değerleri ölçülür. Buradaki MİK değeri şekil 2.6'da da görüldüğü gibi şerit etrafında oluşan inhibisyon hattının şerit üzerindeki milimetrik ölçekle kesiştiği noktadadır [74].



Şekil 2.6. Epsilometre-test (E-test) [74]

B. Dilüsyon testleri

Herhangi bir antimikrobiyal maddenin herhangi bir mikroorganizmanın üremesini inhibe ettiği veya onu öldürdüğü minimum konsantrasyonunun belirlenmesi için yapılan test yöntemleridir. Dilüsyon testleri yapıma şekline bağlı olarak "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" şeklinde başlıca iki şekildedir [75] (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Tüp ve agar dilüsyon testleri [75]

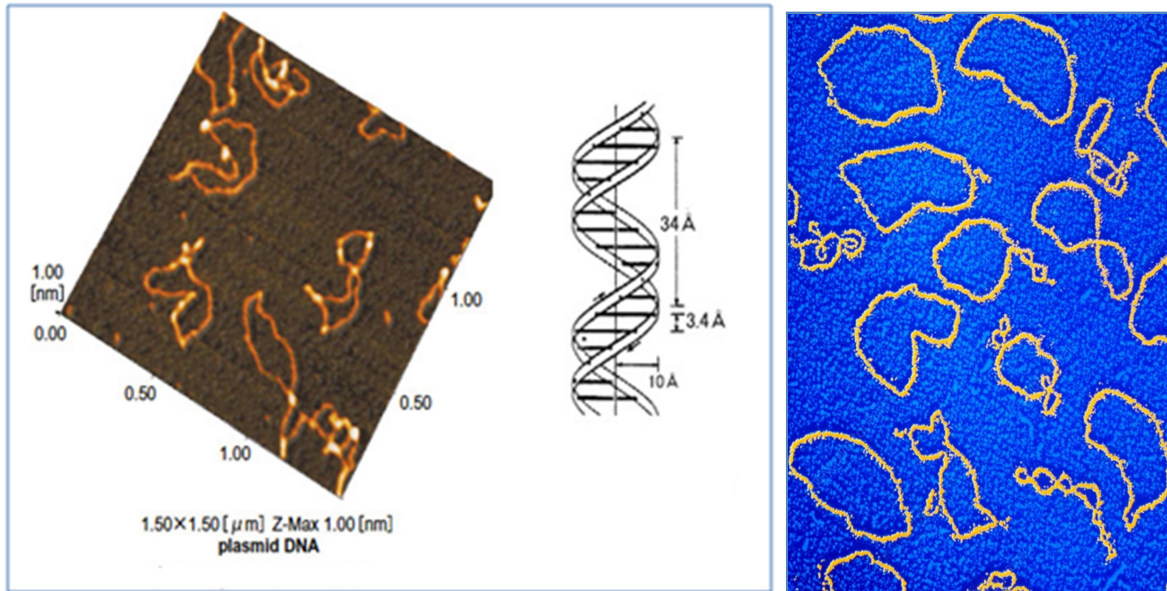
1. *Tüp dilüsyon testi*: Tüp dilüsyon yöntemi kendi içerisinde makro ve mikro olmak üzere iki şekilde uygulanabilmektedir. İki yöntemin prensibi de aynı olup makrodilüsyonda test tüplerinin, mikrodilüsyonda ise U ya da V tabanlı mikropatlerin kullanılması tek farktır. Tüp dilüsyon testinde kalsiyum ve magnezyum eklenmiş Mueller-Hinton Buyyon besiyeri olarak kullanılmaktadır. Özel çözücülerinde hazırlanan test edilecek antibiyotiklerin sıvı besiyerinde dilüsyonları yapılır. Mikroorganizmaların standart bir miktarı (1×10^6 CFU/ml) hazırlanıp, antimikrobiyal maddenin çeşitli dilüsyonlarını içeren tüplere eşit miktarlarda koyulur. Bununla birlikte hiç antibiyotik içermeyen, üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de aynı miktarda mikroorganizma koyulur. Mikroorganizma koyulmamış, sadece besiyeri konmuş bir tüp de besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Bir gecelik inkübasyondan sonra besiyerleri mikroorganizma üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Mikroorganizmanın üreyemediği, tüplerde bulanıklığın görülmediği en düşük madde konsantrasyonu, “Minimum İnhibitör Konsantrasyon” (MİK) olarak ölçülür [75].

2. *Agar dilüsyon testi*: Bu yöntemin uygulanışı ile tüp dilüsyon testi neredeyse birbirinin aynısıdır. Tek fark, sulandırılmış antibiyotik dilüelerinin tüp yerine agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Bu şekilde her petri plağında antibiyotik maddenini farklı konsantrasyonları bulunmuş olur. Bu yöntemde de besiyeri olarak Mueller-Hinton agar kullanılmaktadır. Öncelikle test edilecek mikroorganizmanın yoğunluğu 0,5 McFarland

bulanıklığına ayarlanır ve bunu takiben 1:10 oranında sulandırmayla 10^7 CFU/ml elde edilmiş olur. Bu bakteri süspansiyonundan alınan 1-2 ml'lik örnek petrilere ekilir ve plaklar $35C^\circ$ 'de 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakılır. Üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenir [75].

2.8. Plazmid DNA

Plazmid, kromozomal DNA'dan fiziksel olarak ayrılan ve bağımsız olarak çoğalabilen bir hücre içindeki küçük DNA molekülüdür. Yaygın olarak bakterilerde küçük dairesel veya çift sarmallı DNA molekülleri halinde bulunurlar (Şekil 2.8). Bununla birlikte, plazmidler bazen archaea ve ökaryotik organizmalarda da bulunurlar. Doğada, plazmidler sıklıkla antibiyotik direnci gibi organizmanın hayatta kalmasına fayda sağlayabilecek genleri taşırlar [76]. Kromozomal DNA oldukça büyük olup normal koşullar altında yaşamak için gerekli tüm genetik bilgileri içerirken, plazmidler genellikle çok küçüktür ve sadece belirli durumlar veya belirli koşullar altında organizmaya faydalı olabilecek ilave genleri içerir [76]. Örneğin, buldukları bakterilere antibiyotik direncini, virülansını ve bakterinin metabolik kapasitesini değiştirebilecek fonksiyonlar kazandırabilmektedirler [77].



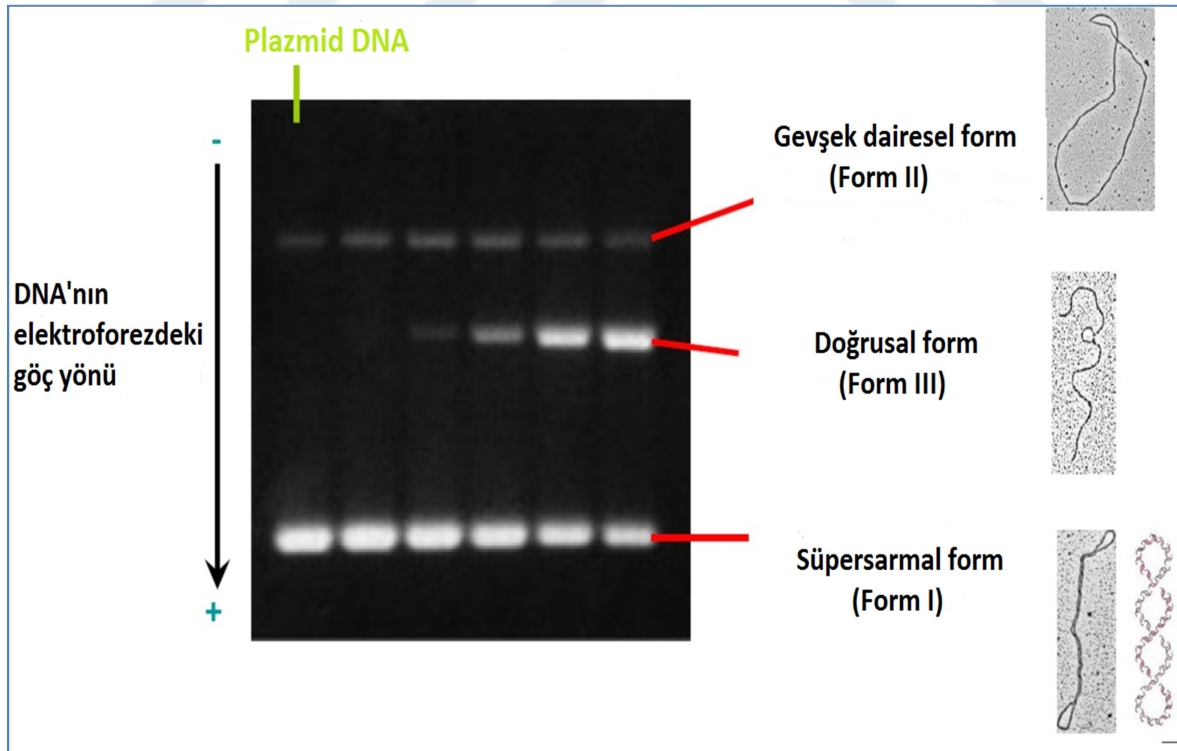
Şekil 2.8. Plazmid DNA'ya ait elektron mikroskobu görüntüleri [78]

Plazmidin büyüklüğü 1 ila 200 kbp arasında değişmektedir ve tek bir hücrede aynı plazmidlerin sayısı, bazı koşullar altında bir ila binlerce arasında değişebilir [79]. Plazmidler, çoğunlukla konjugasyon yoluyla bir bakteriden diğerine iletilir. Virüslerin

aksine (genetik materyallerini bir kapsid adı verilen koruyucu bir protein kap içinde tutan), plazmitler "çıplak" DNA'dır ve genetik materyali yeni bir konakçıya transfer etmek için gereken genleri kodlamazlar [79].

Rekombinant DNA teknolojisinde bakterilerde doğal olarak bulunan plazmidlerden ziyade, *in vitro* koşullarda ve amaca uygun olarak kendilerine istenilen özel özellikler katılarak hazırlanan suni plazmidler (pBR322, pUC8/9 ve diğerleri) tercih edilmektedir [80].

Plazmid DNA, elektroforezde 3 farklı formda gözlemlenebilirler. Molekül ağırlıkları aynı olmasına karşın bu üç formun jeldeki göçleri farklıdır. Bu farklılık agaroz konsantrasyonuna bağlı olmakla beraber uygulanan akıma, tamponun iyonik kuvvetine ve Form I'in yoğunluğuna da bağlıdır. Bozulmamış olan süpersarmal formda (Form I), yük yoğunluğu fazla hacmi de düşük olduğu için jelde en hızlı hareket eder. Eğer DNA'nın bir zincirinde bir kesim meydana gelirse gevşek sarmal form (Form II) oluşur ve yoğunluğu daha az olduğu için daha yavaş hareket eder. Eğer iki zincirde kesilirse Form I ve Form II arasında hareket eden bir doğrusal form (Form III) oluşacaktır [76] (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Plazmid DNA formları ve agaroz jeldeki görüntüleri [76]

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bitki

Araştırma materyali olarak seçilen *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* örnekleri türün doğal olarak yayılış gösterdiği Tortum Gölü çevresindeki açık ve kayalık alanlardan 2014 yılında çiçeklenme periyotlarında (Nisan-Haziran) toplanmıştır (Resim 3.1). Türün taksonomik tanımlaması Davis (1972) [25], ve Richardson (1975)'e [81] göre yapılmıştır. Taze bitki örnekleri küçük parçalara bölünerek gölgede kapalı bir ortamda kurutulmuştur (Resim 3.2). Kurutulmuş bitki örnekleri analiz edilinceye kadar bez torbalarda saklanmıştır. Sonra bu kurutulmuş örnekler toprakaltı ve topraküstü olmak üzere ayrılarak öğütülmüş ve kimyasal analizlerde kullanılmıştır. Bitki örneklerinin bir kısmı da herbaryum örneği haline getirilmiştir.



Resim 3.1. *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus*'un yayılış alanı



Resim 3.2. Bitki örneklerinin kurutulma aşaması

3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında; standart bakteri türleri olarak Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* ATCC 7064) Gram negatif (*Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve bir maya (*Candida albicans* ATCC 10231) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal madde ve ekipmanlar

Deneylemimizin tamamı Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarına ait ekipmanlarla yapılmıştır (Resim 3.3). Ekipmanlar ve markalarına ait bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Ayrıca araştırmamızda kullanılan tüm kimyasal

maddeler istenilen analitik saflıkta olup, Sigma, Aldrich, Merck ve Oxoid gibi firmalardan temin edilmiştir.

Tabloda verilen ekipmanların dışında; çeşitli ölçeklerde balon jöjeler, pensler, farklı tip ve büyüklükte petriler, eküvyon çubukları, cam tüpler, erlenler, enjektörler, membran filtreler, filtre kağıtları, çeşitli antibiyotik diskleri, NH_4SCN , FeCl_2 , C Vitamini, AlCl_3 , Linoleik asit, Hekzan, Etanol, Metanol, Na_2CO_3 , Gallik asit, HCl, BHT, BHA, DPPH gibi birçok ekipman ve kimyasallar aynı laboratuvardan temin edilerek kullanılmıştır.



Resim 3.3. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarı

Çizelge 3.1. Çalışmalarımızda kullanılan cihazların marka ve modelleri

NO	CİHAZ ADI	MARKA ve MODEL
1	Soxhelet Ekstraktörü	ISOLAB
2	Rotary Evaporatör	IKA HB10 DIGITAL
3	Soğutmalı Sirkülasyonlu Su Banyosu	POLYSCIENCE
4	Spektrofotometre	THERMO SCIENTEFIC 10S
5	Orbitlal Çalkalayıcı	STUART SSL1
6	Elektroforez Sistemleri	PEQLAB
7	Santrifüj	SIGMA 3-30K
8	Isıtıcı Manto	MTOPS MS-E
9	Sonikatör	QSONICA
10	Otoklav	NÜVE STEAMART NC 40M
11	Kuru Hava Sterilizatörü	NÜVE FN500
12	Jel Görüntüleme Sistemi	UVP PHOTODOC-IT 60
13	Vorteks	IKA 4 BASIC
14	İnkübatör	NÜVE EN400
15	Mikropipet Seti	BRAND
16	Derin Dondurucu (-80°C)	NUAIRE NU-9483E
17	Hassas Terazi	PRECİSA 205A
18	Manyetik Karıştırıcı	IKA RCT BASIC
19	Saf Su Cihazı	GFL 2004
20	Transillüminatör (UV)	CLEAVER VIEW UV

3.2. Metod

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Toprakaltı ve topraküstü olmak üzere iki grupta kurutularak hazırlanan ve bitki değirmeninde öğütülerek toz haline getirilen bitkiden 100 g tartılıp soxhlet kartuşu içerisine koyulmuştur. Soxhlet kartuşu soxhlet ekstraktoru içerisine yerleştirildikten sonra düzenek kurulmuştur (Resim 3.4). İlk olarak 8 saat süre ile hekzan ekstraksiyonu yapılmış ve yağimsı maddeler uzaklaştırılmıştır. Bu işlemden sonra kartuş içerisindeki materyal açık havada tüm hekzan uçana kadar bekletilmiştir. Daha sonra materyal tekrar kartuş içerisine koyulmuş ve 8 saat süre ile saf etanol ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon işleminden sonra saf etanolün büyük bir kısmı düşük basınç altında 40°C sıcaklıkta uzaklaştırılmıştır. Tüm etanolün uzaklaşması beklendikten sonra aynı işlemler metanol ile yapılmıştır. Tüm organik çözücülerden elde edilen toprakaltı ve topraküstü ekstraktları deneylerde kullanılmak üzere +4°C’de saklanmıştır.



Resim 3.4. Bitki ekstraksiyonu için hazırlanmış Soxhlet düzeneği

Çalışmamızda *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitkisinin değişik organik çözücülerle hazırlanmış topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi, toplam fenolik madde miktarı hesaplama ve CUPRAC metotları kullanılarak araştırılmıştır.

3.2.2. DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi testi

Bu metodun prensibi antioksidan aktivitesini araştırdığımız herhangi bir bitki ekstraktının DPPH radikale bağlanarak mor renginin açılması ve renk açılmasının 517 nm’de spektrofotometrik ölçülmesine dayanmaktadır [82]. Bu amaçla öncelikle değişik konsantrasyonlar da *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitki ekstreleri (50-400 µg/ml) hazırlanmış ve 500 µl her konsantrasyon için deney tüplerine konulmuştur. Deney tüplerinin üzerine 3000 µl DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım vorteksle kuvvetlice karıştırıldıktan sonra 30 dk. oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda her bir karışımın absorbansları spektrofotometrede 517 nm’de okutulmuştur. Bu değerlerden yararlanarak bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikalinin yarısının süpürüldüğü andaki konsantrasyonu (IC₅₀) değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar sentetik antioksidan olan gallik asit ile kıyaslanarak % inhibisyon-konsantrasyon grafikleri çizilmiştir [83].

% DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanarak belirlenmiştir;

$$\%DPPH \text{ Radikali Giderme Aktivitesi} = \frac{\text{Kontrol Grubunun Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100$$

3.2.3. Toplam fenolik madde miktarı tayini

C. longiflorus subsp. *longiflorus* bitkisinin değişik organik çözücülerle hazırlanmış toprakaltı ve topraküstü ekstraktlarında bulunan fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile total olarak belirlenmiştir. Bu metot fenolik bileşikler ile FCR mavi yeşil renklerinde bileşik oluşturmaktadır. Oluşan bu renkli bileşik polifenolik madde miktarıyla doğru orantılıdır ve 760 nm’de maksimum absorbans gösterir.

Çalışmamızda standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldığından öncelikle gallik asit standart grafiği hazırlanmıştır. Bu amaçla 1 mg gallik asit 1 ml organik çözücüde

(metanol) çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden sırasıyla 10, 20, 30, 40 ve 50 µl alınarak deney tüplerine aktarılmış ve son hacim saf etanol ile 2300 µl'ye tamamlanmıştır. Daha sonra deney tüplerine 50 µl FCR ve 3 dk bekledikten sonra da 150 µl % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Son karışım yaklaşık 2 saat oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edilmiştir. Süre sonunda 760 nm'de numunelerin absorbansı okunmuştur. Bitkiden elde edilen farklı organik çözücü ekstraktındaki toplam fenolik bileşik miktarlarını ölçmek için önce stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlanırken 1 mg bitki ekstraktı 1 ml ilgili organik çözücüde çözülmüş ve stok çözeltilerden 100 µl alınarak deney tüplerine konulmuştur. Gallik asit için yapılan işlemlerin aynıysa tekrarlanarak elde edilen sonuçlar oluşturulan gallik asit standart grafiğinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak bitki ekstraktlarının fenolik madde miktarları tayin edilmiştir [84].

3.2.4. CUPRAC metodu

Bu metot; Cu (II) klorür çözeltisi, neocuproin çözeltisi ve amonyum asetat (pH=7 tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine tayin edilecek herhangi bir antioksidan çözeltisi ilave edilmesi ve bunu takip eden 30 dakika sonunda absorbansın 450 nm'de reaktif körne karşı ölçülmesine dayanmaktadır [85].

Bu metod için; içerisine sırasıyla 1 mL 10⁻² M CuCl₂, 1 mL 7,5x10⁻³ M Neocuproin ve 1 mL 1 M NH₄Ac konulan tüplere bitki ekstraktından 0-3 g/ml konsantrasyon aralığında olacak şekilde eklenmiş ve son hacim 4,1 mL olacak şekilde üzerleri su ile tamamlanmıştır. Tüpler 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra 450 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitki ekstraktının grafikte lineer olduğu aralık tespit edildikten sonra molar absorplama katsayısı (ε) hesaplanmıştır. Aynı işlemler troloks için de uygulanmış ve sonuçlar troloks eş değeri antioksidan kapasite (TEAC) değeri şeklinde aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$TEAC = \epsilon (\text{Bitki Ekstraktı}) / \epsilon (\text{Troloks})$$

3.2.5. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

Sıvı besiyerinde (Nutrient broth- NB) sulandırma yöntemiyle yapılan çalışmada, kültürler 5ml NB'de 37°C'de 18 saat, 175 rpm çalkamalı inkübatörlerde çoğaltılmıştır. Büyütülen bakteri ve maya hücreleri 1 ml'de yaklaşık 10⁶ hücre olacak şekilde 50 ml NB'ye 0,5 McFarland bulanıklık standartlarına uygun olacak şekilde ilave edilmiştir. Mikroorganizma bulunan NB'den test tüplerine 1'er ml ilave edilmiştir. Üzerine uygun konsantrasyonlarda bileşikler eklenip tüm tüpler yarı yarıya seri sulandırma yapılmıştır. Seri sulandırma yapılan tüpler 37°C'de 24 saat inkübatörde inkübasyona bırakılıp, bakteri büyümesinin olmadığı son tüp MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değeri olarak tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen MİK değerleri µg/ml olarak gösterilmiştir.

Çalışmamızın antimikrobiyal etki kısımları MİK metodu uygulanarak yapılmıştır. Standart bakteri türleri olarak Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* ATCC 7064) Gram negatif (*Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve bir maya olan (*Candida albicans* ATCC 10231) suşları kullanılmıştır. Kullanılan komplekslerin stok solüsyonları uygun konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

Bakterilerin üretilmesi ve MİK değerlerinin belirlenmesinde kullanılan sıvı besiyeri; 8 gr Nutrient Broth (MERC) ve 1 L distile su ile karıştırılarak hazırlanmış ve otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanmıştır. Daha sonra stok kültürlerden öze ile alınan bakteri örneği nutrient broth besiyerine ekimi yapılmıştır.

3.2.6. Bitki ekstraktlarının plazmid DNA üzerine etkisinin belirlenmesi

C. longiflorus subsp. *longiflorus* bitki ekstraktlarının plazmid DNA üzerine etkisinin belirlenmesi Babu ve ark. (2007)'na [86] göre agaroz jel elektroforezi metodu ile yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle hassas olarak tartılan 1 gram agaroz 100 mL TBE (1X) tamponu bulunan bir beher içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 5 dk ısıtılarak tüm agarozun tampon çözelti içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Çözeltinin sıcaklığı 55°C'ye kadar düştükten sonra içerisinde tarak bulunan tanka dökülmüş ve tankın içerisindeki jelin iyice soğuması beklenmiştir. Jel soğuduktan sonra taraklar çıkarılmış ve jel hazır hale getirilmiştir.

DNA üzerindeki etkisine bakılacak bitki ekstraları uygun miktarlarda karıştırıldıktan sonra 14 000 rpm'de 3 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. Daha sonra yapılan 37°C sıcaklıkta 2 saat süreyle inkübasyon işleminden sonra hazırlanan örnek karışımdan mikropipet yardımıyla alınarak jel çukurlarına (kuyucuk) yükleme yapılmıştır. Yükleme işleminden sonra 100V 80 dk yürütme işlemi yapılmış ve daha sonra jel EtBr (Etidyum Bromür) ile boyanarak görüntüleme sistemi yardımıyla bantlar görüntülenmiştir. Sonuçlar DNA formlarının parçalanma yüzdesi olarak ifade edilmiş ve yorumlanmıştır.



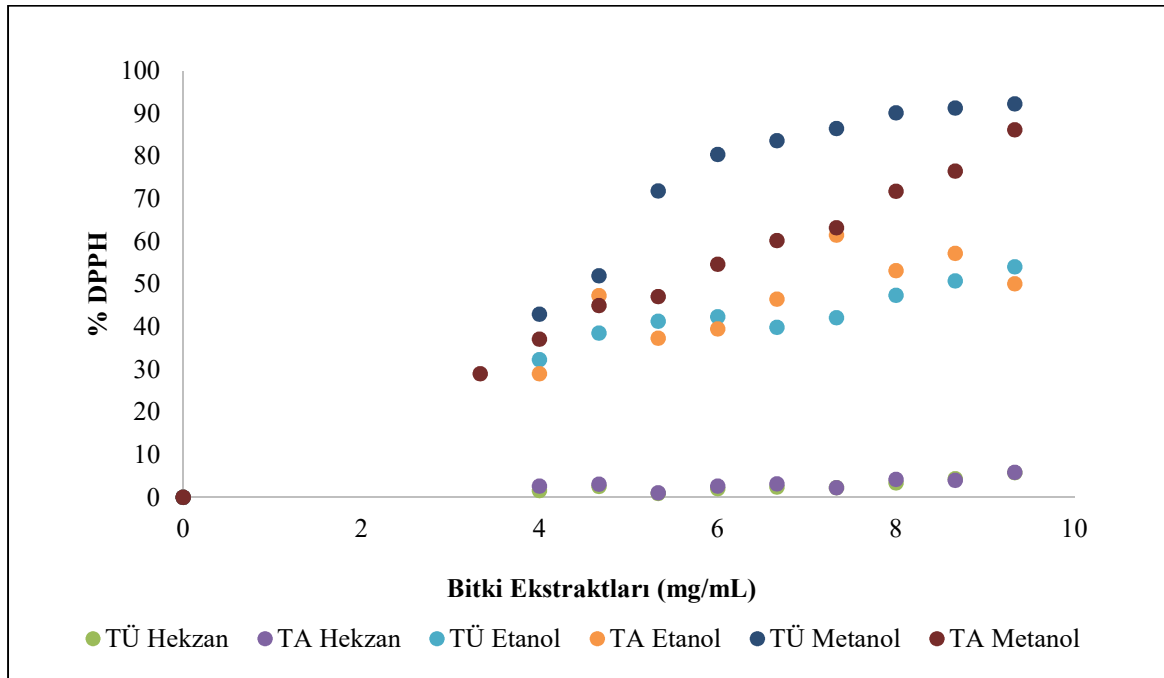
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı organik çözücülerle (hekzan, etanol ve metanol) hazırlanmış *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitkisine ait topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının antioksidan kapasitesi DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı tayini ve CUPRAC metodu yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Bununla birlikte bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği ile plazmid DNA üzerine etkisine de bakılmıştır.

4.1. Bulgular

4.1.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi

C. longiflorus subsp. *longiflorus* bitkisine ait topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının DPPH radikali yakalama ya da söndürmesine ilişkin sonuçlar Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’deki sonuçlara göre, farklı organik çözücülerle hazırlanan bitki ekstraktların DPPH radikal giderme aktivitelerinin aynı olmadığı görülmüştür. Topraküstü ve toprakaltı hekzan ekstraktlarının IC₅₀ değerleri radikali söndürme yetenekleri olmadığından hesaplanamamıştır.



Şekil 4.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi (TÜ: Topraküstü, TA: Toprakaltı)

Hem topraküstü hemde toprakaltı metanol ekstraktlarının daha düşük konsantrasyonlarda DPPH radikalini daha fazla söndürdüğü için antioksidan yeteneklerinin hekzan ve etanol ekstraktlarına göre daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Özellikle topraküstü metanol ekstraktının IC₅₀ değeri 4,5 mg/mL olup en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Toprakaltı metanol ekstraktının IC₅₀ değeri 5,7 mg/mL olarak belirlenmiştir. Topraküstü ve toprakaltı etanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri 8,6 mg/mL ve 7,3 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Hem topraküstü hem de toprakaltı etanol bitki ekstraktlarının antioksidan özellikleri vardır. Ancak toprakaltı ve topraküstü metanol ekstraktları kadar güçlü değildir.

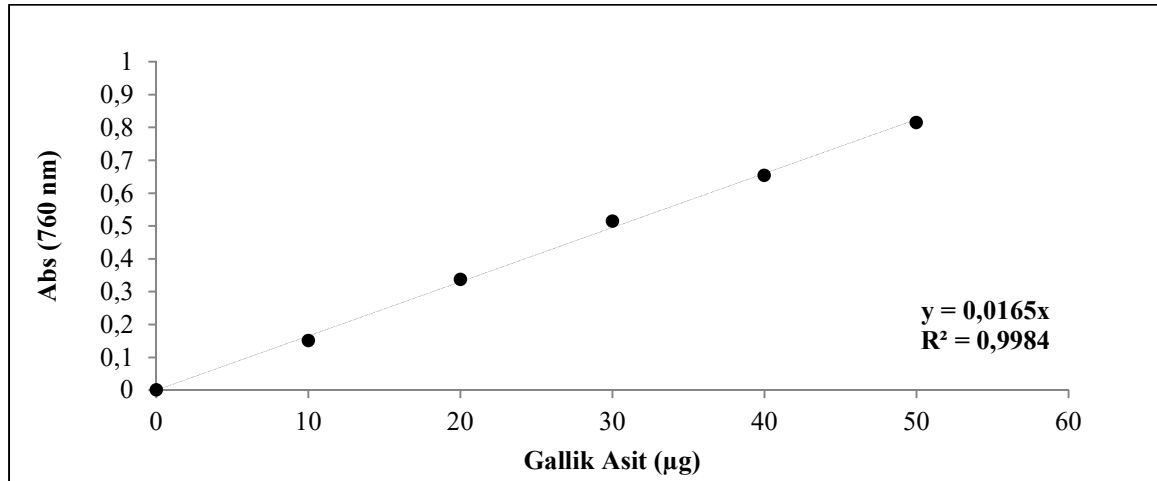
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktlarının IC₅₀ değerleri

Bitki Ekstraktı	IC ₅₀ (mg/mL)
Topraküstü hekzan	---*
Topraküstü etanol	8,6
Topraküstü metanol	4,5
Toprakaltı hekzan	---*
Toprakaltı etanol	7,3
Toprakaltı metanol	5,7

*Hekzan ekstraktlarının IC₅₀ değerleri radikali söndürme yetenekleri olmadığından hesaplanamamıştır.

4.1.2. Toplam fenolik madde miktarı bulguları

Toplam fenolik madde içeriğini hesaplamak amacıyla Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafiği Şekil 4.2’de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Gallik asit standart grafiği

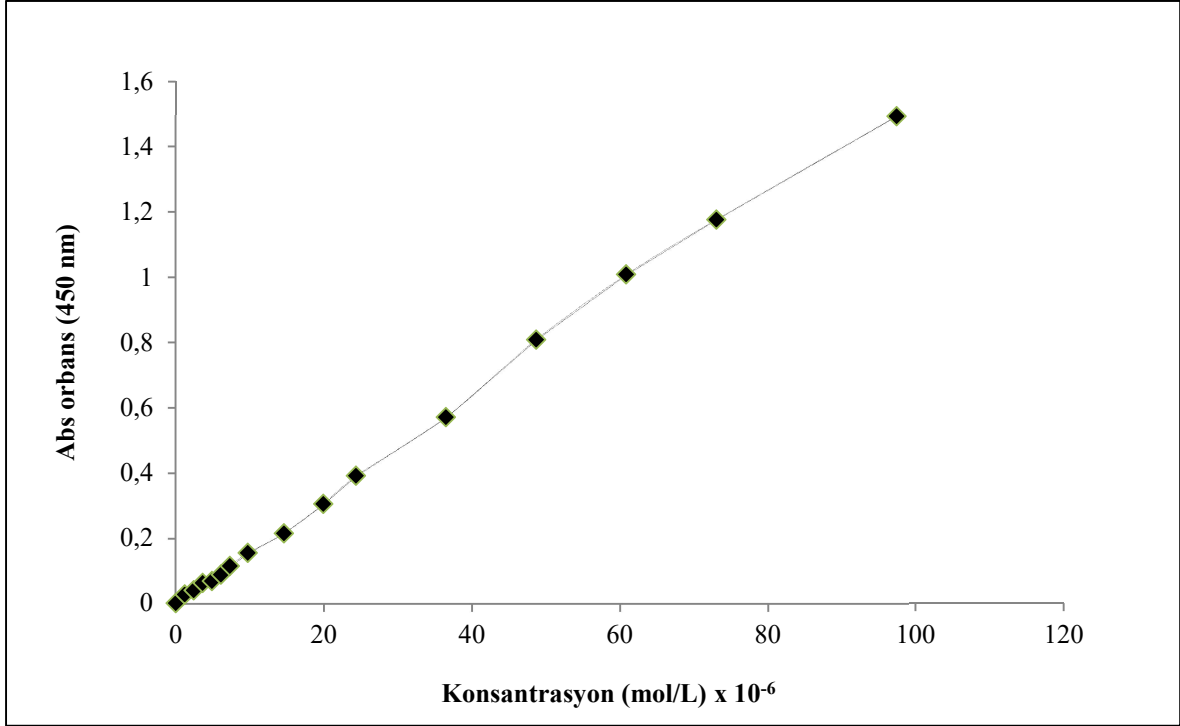
Bitki ekstraktlarının fenolik madde içeriği Çizelge 4.2’de gösterilmektedir. Çizelge 4.2’deki sonuçlara göre, topraküstü ve toprakaltı metanol ve etanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği hekzan ekstraktlarına oranla daha yüksek bulunmuştur. Özellikle de topraküstü (93,9 µg/mL) ve toprakaltı (96,9 µg/mL) metanol ekstraktlarının fenolik madde içeriği diğer bitki ekstraktlarına göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Topraküstü etanol (24,2 µg/mL) ve toprakaltı (38,8 µg/mL) etanol ekstraktlarının fenolik madde içeriği orta seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Topraküstü hekzan (21,8 µg/mL) ve toprakaltı hekzan (18,2 µg/mL) ekstraktlarının fenolik madde içeriği ise oldukça düşüktür.

Çizelge 4.2. Bitki ekstraktlarının fenolik madde içeriği

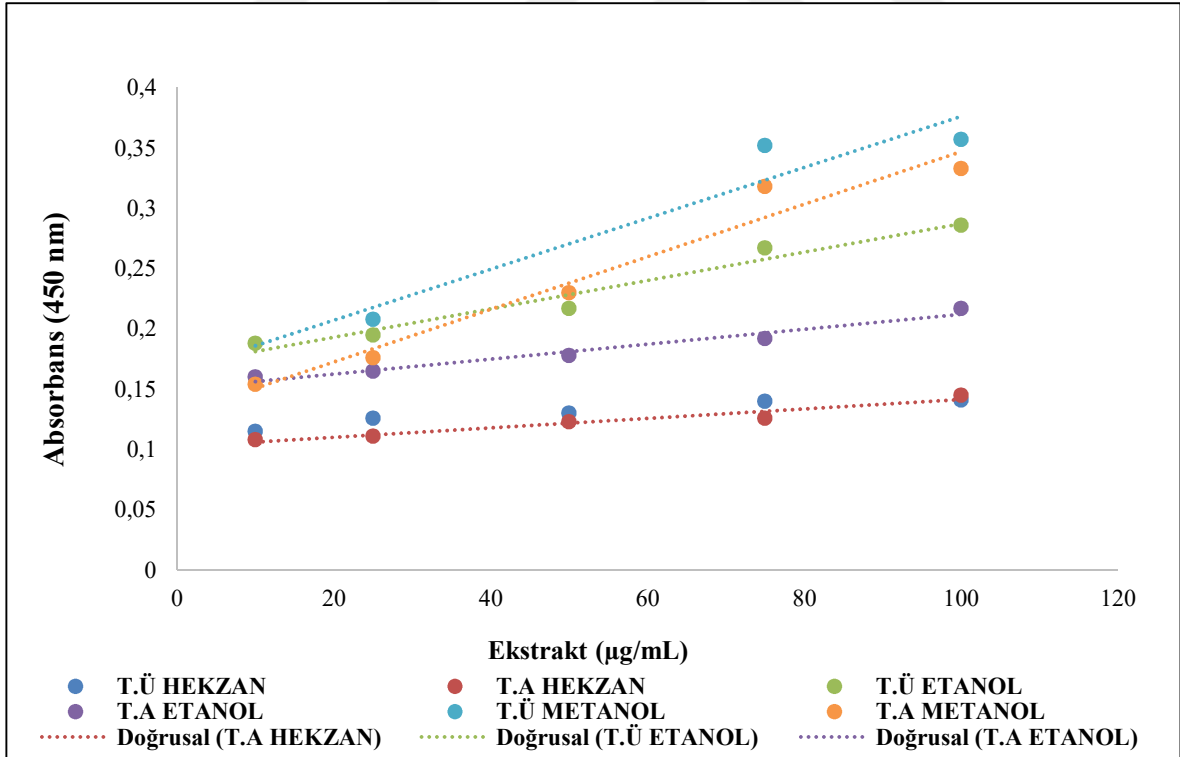
Bitki Ekstraktı	Fenolik madde içeriği (µg/mL)
Topraküstü hekzan	21,8
Topraküstü etanol	24,2
Topraküstü metanol	93,9
Toprakaltı hekzan	18,2
Toprakaltı etanol	38,8
Toprakaltı metanol	96,9

4.1.3. CUPRAC bulguları

Bitki ekstraktların Bakır (II) indirgeme gücü troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Troloks’a ait standart grafik Şekil 4.3 ve 4.4’de verilmiş olup antioksidan özellik gösteren ekstraktların troloks eşdeğeri Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Troloks’a ait ϵ_T değeri $1,66 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Troloks eşdeğerlerine göre, en yüksek antioksidan özellik topraküstü (126 µmol/mg) ve toprakaltı (132 µmol/mg) metanol ekstraktlarında gözlenmiş olup diğer antioksidan yöntemlerde bulunan sonuçlarla paralellik göstermektedir. Topraküstü etanol ekstraktlarının troloks eşdeğeri 72 µmol/mg olup orta düzeylerde antioksidan özelliği vardır. Toprakaltı (24 µmol/mg)ve topraküstü (18 µmol/mg) hekzan ekstraktlarının troloks eşdeğerleri oldukça düşüktür.



Şekil 4.3. Troloks Cu^{2+} indirgeme gücü grafiği



Şekil 4.4. Bitki ekstraktlarının Cu^{2+} indirgeme gücü grafiği (T.Ü: Topraküstü, T.A: Toprakaltı)

Çizelge 4.3. Bitki ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan kapasiteleri

Bitki Ekstraktı	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi $\mu\text{mol (troloks)/mg (ekstrakt)}$
Topraküstü hekzan	18
Topraküstü etanol	72
Topraküstü metanol	126
Toprakaltı hekzan	24
Toprakaltı etanol	36
Toprakaltı metanol	132

4.1.4. Antimikrobiyal etki bulguları

Toprakaltı hekzan ekstraktlarının MİK değerleri Gram negatif bakterilerde (*Escherichia coli* W3110, *Pseudomonas aeruginosa*) 375 $\mu\text{g/ml}$, Gram pozitif bakterilerde (*Bacillus cereus* ATCC 7064, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P) 750 $\mu\text{g/ml}$, maya mantarında (*Candida albicans* ATCC 10231) 1500 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, toprakaltı hekzan ekstraktlarının incelememizde kullandığımız Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde en güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Bunun yanında toprakaltı hekzan ekstraktlarının maya mantarı (*Candida albicans* MİK değeri 1500 $\mu\text{g/ml}$) üzerindeki etkisinin bakterilere oranla daha az olduğu görülmektedir.

Topraküstü hekzan ekstraktlarının MİK değerleri Gram negatif bakteriler ve maya mantarında 1500 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Bu verilere göre, topraküstü hekzan ekstraktlarında Negatif bakteriler (*Escherichia coli* (W3110), *Pseudomonas aeruginosa*) ve maya mantarı (*Candida albicans*) üzerinde antimikrobiyal bir etkiye sahiptir. Topraküstü hekzan ekstraktlarının MİK değerleri Gram pozitif bakterilerde (*Bacillus cereus* ATCC 7064 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P) 3000 $\mu\text{g/ml}$ olduğundan bu bakteriler üzerinde herhangi bir etki gösterememiştir.

Topraküstü ve toprakaltı metanol ekstraktlarının MİK değerleri Gram pozitif, Gram negatif ve maya mantarında 3000 $\mu\text{g/ml}$ olduğundan hem bakteriler hem de mantar üzerinde antimikrobiyal etkisi görülmemiştir.

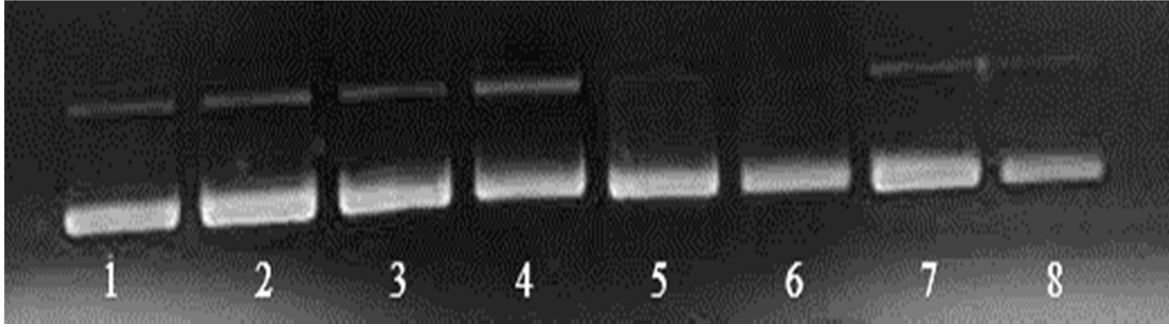
Topraküstü etanol ekstraktlarının MİK değerleri Gram pozitif ve negatif bakteriler ve mantar için 3000 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, topraküstü etanol ekstraktlarının hem Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler hemde maya mantarı üzerinde antimikrobiyal etki gösteremediği belirlenmiştir. Sadece toprakaltı etanol ekstraktlarının *Bacillus cereus* için MİK değeri 1500 µg/ml olup antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Çizelge 4.4. Bitki ekstraktlarının farklı organizmalar üzerindeki MİK değerleri (µg/ml)

Uygulamalar	<i>Escherichia coli</i> (W3110)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 7064)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538P)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)
Topraküstü hekzan	1500	1500	3000	3000	1500
Toprakaltı hekzan	375	375	750	750	1500
Topraküstü etanol	3000	3000	3000	3000	3000
Toprakaltı etanol	3000	3000	1500	3000	3000
Topraküstü metanol	3000	3000	3000	3000	3000
Toprakaltı metanol	3000	3000	3000	3000	3000
DMSO	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000

4.1.5. Plazmid DNA üzerine etki bulguları

Agaroz jel elektroforezinde süpersarmal DNA açık halkasal ve lineer formdan daha hızlı göç etmektedir. Eğer bir bağ kırılırsa süper sarmal form agaroz jelde daha yavaş göç eden açık halkasal forma dönüşmektedir. Çift bağ kırılması durumunda ise lineer form oluşur. 1 ve 2 numaralı hatta bulunanlar kontrol grubuna aittir (Şekil 4.5). Topraküstü hekzan (Hat 3) ve topraküstü metanol (Hat 7) ekstraktlarının pBR322 üzerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir. Topraküstü etanol (Hat 5) ve toprakaltı etanol (Hat 6) ekstraktları açık halkasal formu tamamen ortadan kaldırıcı yönde etki etmiştir. Toprakaltı metanol ekstraktı (Hat 8) ise açık halkasal yapı üzerinde parçalayıcı yönde etki göstermiştir. Toprakaltı hekzan ekstraktının da (Hat 4) açık halkasal formun konsantrasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Agoroz Jel elektroferez görüntüsü

4.2. Tartışma

Bitkiler veya bitkiden elde edilen ürünler, çok eski zamanlardan beri gıda takviyesi olarak kullanılmıştır. Günümüzde hala bazı ülkelerde bazı hastalıkların (kronik hastalıkları) önlenmesi ya da iyileştirilmesi için modern diyet programlarında önerilmektedirler [87, 88]. Birçok çalışma, bazı bitkilerin veya bitki türevli ürünlerin, dejeneratif ve kronik hastalıklarla bağlantılı olan antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antikanserojen aktiviteler gibi ilginç biyolojik aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur [89-93]. Bu bilgi, insan sağlığını iyileştirmek için kullanılacak alternatif gıda katkı maddeleri veya ilaçların gelişimini başlatmak için bir model oluşturabilecek yeni bitkilerin veya bitki türevli ürünlerin araştırmalarındaki artışı teşvik etmiştir [94].

Tıbbi bitkilerin total ekstraktlarının veya toprakaltı ve topraküstü gibi çeşitli kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktları ve bunların tek tek bileşenlerinin farmakolojik ve biyolojik aktivite özellikleri sayısız çalışmalarda araştırılmıştır [95-98].

İnsan dietinde flavonoidler polifenolik bileşiklerin en yaygın grubudur ve bunlar bitkilerde bol miktarda bulunurlar. Flavonoidler antioksidan, antiviral ve antimutagenik etki gösterir. Örneğin, quercetin, anti-enflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olabilen bitki kökenli flavonoiddir [99]. Zengin flavonoid içeriği olan bitkiler, bir organizmanın genel antioksidan kapasitesini arttırmaya ve onu lipid peroksidasyonuna karşı korumaya yardımcı olacak değerli bir antioksidan kaynağı olabilir [100].

Türkiye farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip olduğundan bitki çeşitliliği açısından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir [94]. *Caprifoliaceae* (Hanımeliğiller) familyasına ait olan *C. longiflorus* subsp *longiflorus* Türkiye'de "kırmızı kantaron" olarak bilinen bitki

Kuzey, Güney ve Orta Anadolu Bölgeleri'nde yaygın olarak yayılış göstermektedir [100]. Bitkinin topraküstü ve kök kısımlarının geleneksel Türk tıbbında yatıştırıcı, antispazmodik, antiolitik, ailesel hiperkolesterolemi, koroner arter hastalığı ve kolon kanseri gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [101, 30]. Bu bitki ile yapılan fitokimyasal çalışmalar, içeriğinde birçok iridoid, monoteren ve gliseridik asidin olduğunu ortaya koymuştur [32].

Yapılan birçok araştırmada, *Centranthus* türlerinin antioksidan ve enzim inhibitör özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir. Örneğin; *C. longiflorus* dahil 6 farklı türden elde edilen etanol ekstraktları konsantrasyona bağlı olarak süperoksit anyon radikal temizleme aktivitesi göstermiştir [102]. Türkiye kökenli iki bitki ile (*C. longiflorus* ve *Cerintho minor* L.) yapılan enzim inhibitör aktivitesi, total fenol ve flavonoid içeriği ve antioksidan aktivite çalışması sonucunda; ekstraktlarının en yüksek antikolinesteraz aktivitesi sergilediği ve her iki bitkinin de yüksek derecede radikal temizleme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir [94]. Başka bir çalışmada ise *C. longiflorus*'un farklı bitki kısımlarının etanol ve su ile hazırlanan ekstraktlarının *Staphylococcus epidermis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği ve etanol ekstraktlarının su ekstraktlarından daha etkili olduğu belirlenmiştir [101].

Oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok akut ve kronik hastalıkta görülmektedir. Antioksidan ve oksidasyon arasındaki dengeyi korumak, sağlıklı bir biyolojik sistemin korunmasında esastır [103, 104]. Tıbbi bitkiler özellikle fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler gibi zengin antioksidan aktivitesi olan doğal antioksidan kaynaklarıdır [98, 105]. Çalışmamızın bir bölümünde; *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitkisinin çeşitli kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanmış ekstraktlarının antioksidan kapasitesine bakılmıştır. Sonuçta topraküstü ve toprakaltı metanol ekstraktlarının oldukça yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Benzer bir çalışmada *C. longiflorus* L. ekstraktlarının antioksidan kapasitesine Ters faz-yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ve ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ile bakılmış ve sonuçta bitkinin güçlü antioksidan aktivite sergilediği ve yüksek düzeyde antioksidan bileşikler içerdiği tespit edilmiştir [94]. Çalışma sonucunda bizim sonuçlarımıza benzer olarak, bu bitkinin eczacılıkta ve gıda endüstrilerinde hammadde olarak kullanım potansiyeli olan zengin

fenolik kompozisyonlara sahip olduğu, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği vurgulanmıştır.

Fenolikler veya polifenoller, bitki sekonder metabolitleridir ve redoks aktif metal iyonlarını şelatlayarak, lipit serbest radikal zincirlerini etkisiz hale getirerek ve reaktif oksidanlara hidroperoksit dönüşümünü önleyerek antioksidan aktiviteleri nedeniyle çok önemlidir. Çalışmamızda özellikle metanolla hazırlanan topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının önemli antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu anlamda bizim çalışmamızın sonuçlarına paralel olarak Hassan ve ark. (2013) [106], Yen ve ark. (1996) [107] ve Hertog ve ark. (1993)'nın [108] da yaptıkları çalışmaları sonucunda metanolün, antioksidanların ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılan ve etkili bir çözücü olduğunu belirtmişlerdir.

Makki ve ark. (2015)'nin [101] *Eryngium creticum* Lam. ve *C. longiflorus* L. bitkilerinin sulu ve etanolik ekstraktlarının beş farklı bakteri suşu (*Staphylococcus epidermidis* CIP 444, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) üzerinde antibakteriyel aktivitesini değerlendirdikleri çalışma sonucunda su ekstraktının her iki bitkide etanol ekstraktına göre daha güçlü bir antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [103]. Bizim çalışmamızın antibakteriyel kısmında ise en güçlü antimikrobiyal etkinin, bitkinin toprakaltı hekzan ekstraktlarında olduğu belirlenmiştir. Bu etkinin Gram negatif bakterilerde Gram pozitif bakterilere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapılarının birbirinden farklı olmasından kaynaklanabilir. Dolayısı ile inceleme bitkimizden hazırlanacak bir antimikrobiyal ilacın Gram pozitif bakterilerden daha çok Gram negatif bakteriler üzerine hazırlanması daha uygun olacaktır.

Bir başka çalışmada, Lübnan *C. longiflorus* bitkisinde büyüme periyodunun kimyasal bileşim üzerindeki etkisi ile *in vitro* antioksidan ve anti-proliferatif özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Antioksidan etki için DPPH ve H₂O₂ radikal temizleme testleri, anti-proliferatif etki için ise rahim ağzı kanseri hücre hattında (HeLa) üzerinde nötral kırmızı sitotoksisite testi kullanılmıştır. Sonuçta, iki farklı *C. longiflorus* hasadının farklı kısımlarından hazırlanan su ve etanol ekstraktlarının, alkali, kumarin, saponin, flavonoid, polifenoller, uçucu yağlar ve farklı konsantrasyonlarda indirgen şekerler içerdiği ve HeLa

hücre hattının yaşayabilirliğini zamana ve doza bağımlı (0-250 μ M) bir şekilde inhibe ettiği gözlemlenmiştir [109].

Çeşitli çalışmalar saponinler, flavonoidler, fenoller ve tanenlerin antikanser ve antioksidan aktivitelerinde önemli rol oynadığını göstermiştir [110-113]. Bizim çalışmamızda da elde ettiğimiz antioksidan etkilerin kullandığımız ekstraktlarının tanenler, flavonoidler, fenoller ve saponinler varlığından ileri geldiğini düşünmekteyiz.

Zengin ve ark. (2016)'nın [94] *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* ve *Cerithe minor* subsp. *auriculata* (Ten.) Domac bitkilerinin ekstraktları ile yaptıkları çalışmada; antioksidan aktivite için fosformolibden, serbest radikal temizleme aktivitesi ve demir iyonlarındaki metal şelatlama aktivite testleri yapılmıştır. Ayrıca ekstraktların enzim inhibitör aktivite etkilerini test etmek için kolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukosidaz gibi enzimler üzerinde çalışılmıştır. Sonuç olarak organik çözücülerle hazırlanan ekstraktların en yüksek anti-kolinesteraz (AChE ve BChE) aktivitesi gösterirken, sulu ekstraktların önemli bir Tirozinaz inhibe edici aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle metanol ile hazırlanan ekstraktların daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir [94]. Bu sonuçlar da bizim bulgularımızla uyum içerisindedir.

Antioksidan bileşiklerin indirgeme gücünü belirlemek için yaptığımız DPPH ve CUPRAC testleri sonucu elde ettiğimiz sonuçları; *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* ekstraktlarının elektron verici olarak işlev görebileceği ve dolayısıyla serbest radikallerle reaksiyona girebileceği, onları daha kararlı ürünlere dönüştürdüğü ve serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırdığı şeklinde yorumlanabilir [114, 115]. DPPH ve CUPRAC testlerinden elde ettiğimiz bulgulara göre, topraküstü ve toprakaltı metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin diğer ekstraktlardan daha güçlü olduğu bulunmuştur.

Lübnan'da yetişen *C. longiflorus* bitkisinin primer fitokimyasal taramasının yapıldığı bir çalışmada bitkinin su ve metanol ile hazırlanan total ekstrelerine, üç farklı *in vitro* test (DPPH, H_2O_2 ve demir şelatlama) uygulanmıştır. Fitokimyasal taramadan elde edilen sonuçlar; flavonoidler, fenoller, uçucu yağlar, alkaloitler ve terpenoidlerin varlığını göstermiştir. Diğer yandan, *C. longiflorus*'un DPPH testi % 80'e ulaşan yüksek bir antioksidan potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, H_2O_2 testinde bu maksimum antioksidan aktivitenin %70 olduğunu görülmüştür. Demir şelatlama testi

sonucu ise % 50'ye ulaşan bir antioksidan aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, bu testlerin hepsinden elde edilen sonuçlar, bu bitkinin oksidatif stres ile ilgili farklı hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir [98].

C. longiflorus subsp. *longiflorus*'un içerik analizi ile yapılan bir araştırma sonucunda; bitkinin topraküstü kısımlarından spektroskopik verilerin analizi ile aydınlatılan ve longiflorone olarak adlandırılan yeni bir iridolakton izole edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda tarif edilen valtrate hidrin B8'in yapısı ilk kez 2D NMR analizi ile bu çalışmayla açıklanmıştır. Ayrıca tüm bunlara ilaveten patrinosid, kanokosit A, oleanolik asit, sitosterol ve kersetin 3-O-rutinosit gibi 5 farklı bileşik daha elde edilmiştir [32].

C. longiflorus subsp. *longiflorus*'un içeriği ile yapılan başka bir çalışmada ise metanolik kök ekstraktından 4'-deoksidakosid A ve 4' deoksidakosid C şeklinde iki yeni iridoid glikozit izole edilmiştir. Bununla birlikte üç iridoid glikozit (kanokosit A, kanokosit C ve valerosidatum) ve bilinen iki fenilpropanoid glikozit (koniferin ve izokoniferinosid) spektroskopik yöntemlerle tespit edilmiştir [33]. Bu farklı iridoid türleri, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz yüksek orandaki toprakaltı antimikrobiyal etkileri açıklar niteliktedir.

Centranthus longiflorus L. bitkisinin içeriği ve *in vitro* biyolojik aktivitesi üzerine yapılan benzer bir çalışmada ise; ters faz-yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (RP-HPLC) 16 fenolik bileşenin olduğu ortaya çıkartılmıştır. Ayrıca *C. longiflorus* L. bitkisinin su ve metanol ekstraktlarının yüksek düzeyde antioksidan bileşikler içerdiği ve güçlü antioksidan aktivite sergilediği, *Mycobacterium smegmatis* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Tüm bu verilerden bitkinin oksidatif strese bağlı çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde eczacılıkta ve gıda endüstrilerinde hammadde olarak kullanım potansiyeli olan zengin fenolik kompozisyonlara, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu vurgulanmıştır [116]. Bizim çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz veriler de tüm bu sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Büyükokuroğlu ve ark. (2002)'nin [117] *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* ile yaptıkları çalışma ile tiopental uyku, kafein kaynaklı konvülsiyon ve zorla yüzme depresyon testleri kullanılarak sedatif, antikonvülsan ve davranış değiştirme aktivitesi açısından araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; su ile hazırlanan bitki ekstraktının (100 mg/kg) etkileri

diazepam ile karşılaştırıldığında, diazepam (5 mg/kg) tarafından üretilenlere benzer sedatif ve antikonvülsan etkiler gösterdiği tespit edilmiştir [117]. Yine aynı çalışma ekibi başka bir çalışmada, *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* sulu ekstraktının sıçan serebellar granüler hücre kültürlerinde glutamat kaynaklı toksisitede nöroprotektif etkisini araştırmışlar ve en etkili 500 ug/ml'lik uygulama grubu olmak üzere tüm dozlarda glutamatın neden olduğu nörotoksisiteyi önemli ölçüde bloke ettiği sonucuna ulaşmıştır [118].

C. longiflorus subsp. *longiflorus* 'un sağlam ve adrenalectomize edilmiş sıçanlar üzerindeki sedatif etkisinin tiyopental uyku testi kullanılarak özellikle glukokortikoidler gibi adrenal bez hormonları üzerindeki ilişkisini araştırıldığı çalışma sonucunda; adrenal bez hormonlarının, araştırılan ilaçların yatıştırıcı etkisini inhibe etmede önemli bir rol oynadığı bulunmuştur [30].

Ayrıca çalışmamızda *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* bitkisinin farklı kısımlarının farklı organik çözeltilerle hazırlanmış ekstraktlarının plazmid DNA üzerine etkisi ilk defa çalışılmıştır. Literatürde çeşitli bitkilerin bu şekilde yapılmış birçok biyolojik aktivite çalışması mevcuttur. Örneğin; Türkiye'de, Orta ve Doğu Anadolu'da yayılış gösteren endemik türlerden biri olan Kaba navruz (*Iris galatica* Siehe.) bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen hekzan, diklorometan, metanol ve su özütlerinin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktivitelerin araştırıldığı çalışma sonucunda; bitki kök, çiçek ve yaprak özütlerinin konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri ayrıca özütlerin tümünün DNA'yı UV ve H₂O₂'nin zararlı etkilerine karşı koruduğu saptanmıştır [119]. Bizim çalışmamızda ise özellikle hekzan ile hazırlanan ekstraktların antimikrobiyal etki gösterdiği diğer ekstraktların bu kadar etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada; yine Türkiye' de yayılış gösteren endemik türlerden biri olan *Iris kirkwoodiae* Chaudhary bitkisinin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktivitelerini içeren biyolojik aktivitesi araştırılmıştır. Antioksidan aktivitesini belirlemek için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH testleri, antibakteriyel aktivite testi için MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi ve DNA koruyucu aktivite için pBR322 plazmid DNA'sından yararlanılmıştır. Çalışmaların sonucunda; özellikle su ve metanol ekstrelerinin oldukça yüksek antioksidan aktivite, kök hekzan ekstresi dışındaki tüm ekstrelerin geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite ve kök diklorometan ile su

ekstreleri dışındaki tüm ekstrelerin UV ve H₂O₂ ile oluşturulan plazmid DNA hasarına karşı koruyucu özellik gösterdiği gözlenmiştir [120].

İnci ve Kırbağ (2018)'ın [121] *Terfezia claveryi* Chatin (Keme mantarı)'nin içeriğinin ve biyolojik aktivitelerinin tespitinin amaçlandığı çalışma ile mantarın oldukça zengin besin içeriğine sahip olduğu, toksik etkili element taşımadıkları, antimikrobiyal etkilerinin oldukça yüksek olduğu ve DNA üzerine koruyucu potansiyelinin olmadığı belirlenmiştir [121]. Bitkinin DNA'nın koruyuculuğu üzerine yapılan başka bir çalışmada ise *Capsicum annuum* L. türü yeşil biberden saflaştırılan kapsaisinin antioksidan, antiradikal ve DNA üzerine koruyucu potansiyeli üzerine etkileri araştırılmıştır. Saflaştırılan kapsaisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için "Rel Assay Diagnostics" kitleri (TAS, TOS) ve antiradikalik aktivitesinin belirlenmesi için de DPPH, DNA üzerine koruyucu etkisinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'sı ve UV-C yöntemleri kullanılmıştır. Sonuç olarak yeşil biberlerdeki kapsaisinin antioksidan, antiradikalik ve DNA üzerine koruyucu aktivitesinin olduğu ortaya konulmuştur [122].

Endemik bir bitki türü olan *Linaria corifolia* Desf. (Plantaginaceae) ile yapılan benzer bir çalışma sonucunda bitkinin topraküstü ve toprakaltı kısımlarının etanol, etil asetat ve diklorometan ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal ve plazmid DNA üzerine koruyucu etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [123].

Bitkilerle yapılan başka bir çalışmada *Corylus avellana* L. türü Karadeniz bölgesinde yetişen fındığın yeşil yaprak ve kabuklarından elde edilen ekstraktların antiradikalik aktivite ve antibakteriyel özellik gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca yeşil kabuk ekstraktının UV-C ve H₂O₂ ile oluşturulan hasara karşı DNA'yı koruyucu etkisinin olduğu fakat yeşil yaprak ekstraktının DNA üzerinde önemli bir koruyucu potansiyelinin olmadığı belirlenmiştir [124].

Bizim yaptığımız çalışmada ise, topraküstü hekzan ve topraküstü metanol ekstraktlarının pBR322 plazmid DNA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Fakat bunun yanında, topraküstü etanol, toprakaltı etanol, toprakaltı metanol, toprakaltı hekzan ekstraktlarının pBR322 plazmid DNA'nın yapısını bozması yönünde etkili olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, topraküstü ve toprakaltı metanol ekstraktlarının daha düşük konsantrasyonlar da DPPH radikalini daha fazla söndürdüğü için antioksidan yeteneklerinin hekzan ve etanol ekstraktlarına göre daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bunun sebebinin bitkinin yapısında bulunan değişik sekonder maddelerden ya da ekstraksiyon işlemi tercih ettiğimiz metanolden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca en yüksek troloks eşdeğerine ve fenolik madde içeriğine toprakaltı ve topraküstü metanol ekstraktlarında rastlanmıştır. İncelememizde elde ettiğimiz antioksidan bulgular birbirleriyle paralellik göstermektedir. Antioksidan yöntemlerden elde ettiğimiz sonuçlarımıza göre, bitkimizin hem topraküstü hem de toprakaltı metanol ekstraktlarının pek çok alanda antioksidan kaynağı olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir.

Doğal antioksidanlar bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hatta hayvanlarda bulunmaktadır. Antioksidanlar vücudumuzda kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan veya dışarıdan alınan zararlı maddeleri özellikle serbest radikalleri nötralize eden maddelerdir. Bitkilerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarıyla bileşik oluşturma ve singlet oksijen oluşumunu engelleme yeteneğine dayanmaktadır. Bu bitkinin antioksidan özellik göstermesi yapısında fenolik bileşikler olduğunu göstermektedir. Antioksidan özelliğinden dolayı bu bitki canlılarda meydana gelen serbest radikalleri temizleme, metal iyonları ile bileşik oluşturma ve singlet oksijen oluşumunu engelleme özelliğine sahiptir.

Antimikrobiyal bulgularımıza göre, bu bitkinin toprakaltı ve topraküstü hekzan ekstraktları bakteriler ve maya mantarı üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. Özellikle toprakaltı hekzan ekstraktlarının hem Gram pozitif ve Gram negatif hem de maya mantarında güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Toprakaltı hekzan ve metanol ekstraktları pBR322 plazmid DNA üzerinde açık halkasal formu parçalayıcı, toprakaltı ve topraküstü etanol ekstraktları pBR322 plazmid DNA üzerinde açık halkasal formu kaldırıcı yönde etki yapmıştır. Antimikrobiyal sonuçlara göre, bu bitkinin toprakaltı hekzan ekstraktlarının Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve maya mantarı kaynaklı hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların içeriğinde kullanılabilmesi sonucuna

ulaşmıştır. Ayrıca topraküstü hekzan ekstraktlarının da Gram negatif ve maya mantarının sebep olduğu hastalıkların tedavisindeki ilaçların yapısına girebilirler. Kısacası, inceleme bitkisinin özellikle toprakaltı hekzan etanol ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri güçlü olduğundan bu bitkinin toprakaltı kısımları pek çok alanda değişik amaçlarla kullanılabilir.

Bu çalışma sonucunda bitki ekstraktlarının yüksek fenolik madde içeriği, antioksidan, antimikrobiyal ve plazmid DNA üzerine etkisinin varlığı belirlenmiş ve bu bitkiden elde edilen ekstraktların ilaç sektöründe kullanılabileceği ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma sayesinde Türkiye Cumhuriyeti'nin bilimsel ve teknolojik ilerlemesi için yol gösterici olan Vizyon 2023 ana hedeflerinden toplumun refahını göz önüne alan sağlık alanı çalışmalarında yeni terapötik ilaç üretimi için muhtemel bir biyolojik madde belirlenmiştir. Biyolojik aktivitesinin yüksek çıkması bu bitkinin daha ileri seviye çalışmalarının yapılması için bir kaynak oluşturmuştur. Aynı zamanda *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* türüne ait yapılan bazı çalışmalar olmasına rağmen, bu çalışma yeni bir literatür kaynağı olarak bu alanda yapılacak olan diğer çalışmalara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M. T. (Editörler). (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, s. 1290.
2. Benli, M. ve Yiğit, N. (2005). Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(8), 1-8.
3. Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. and Aydın, H. (2010). Antimicrobial Activities of Commercial Thyme and Mint Essential Oils. *Cumhuriyet Medical Journal*, 32, 281-286.
4. Gaffari, M. A., Bano, S. and Hayat, K. (2013). Antimicrobial and Phytotoxic Effects of The Plant *Heliotropium dasycarpum* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4 (4), 339-345.
5. Roy, A. (2015). Pharmacological Activities of Indian Heliotrope (*Heliotropium indicum* L.): A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(3), 101-104.
6. Sağlam, G., Kandemir, N., Kandemir, Ş ve İdil Ö. (2018, 7-10 Kasım). Endemik *Heliotropium samoliflorum* Bunge subsp. *erzurumicum* Dönmez'un Topraküstü ve Toprakaltı Kısımlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin Karşılaştırılması. V. Ulusal Botanik Kongresi, Bodrum.
7. Hundur, Ö. D., İdil, Ö., Kandemir, N., Gül, M. and Konar, V. (2018). Phytochemical Screening and In vitro Antioxidant, Antimicrobial Activity and DNA Interaction of *Leucojum aestivum*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(10), 6704-6710.
8. Baydar, H. (2009). *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi* (Genişletilmiş 3. Baskı). Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, (51), 1-347.
9. Ersöz, T. (2012). Bitkisel İlaçlar ve Gıda Takviyeleri ile İlgili Genel Yaklaşım ve Sorunlar. *Missed Türk Eczacıları Birliği Yayını/Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, (27-28), 11-21.
10. Draughon, F. A. (2004). Use of Botanicals as Biopreservatives in Foods. *Food technology*. 58(2), 20-28.
11. Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agent. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
12. Okunade, A. L. and Elvin-Lewis, M. P. F. (2004). Natural Antimycobacterial Metabolites: Current Status. *Phytochemistry*, 65, 1017-1032.
13. Cheesman, L., Nair, J. J. and Van Staden, J. (2012). Antibacterial Activity of Crinane Alkaloids From *Boophone disticha* (Amaryllidaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 140 (2), 405-408.

14. Taguri, T., Tanaka, T. and Kouno, I. (2004). Antimicrobial Activity of 10 Different Plant Polyphenol Against Bacteria Causing Food-Borne Disease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(12), 1965-1969.
15. Karou, D., Nadembega, W. M. C., Ouattara, L., Ilboudo, D. P., Canini, A., Nikiema, J. B., Simpore, J., Colizzi, V. and Traore, A. S. (2007). African Ethnopharmacology and New Drug Discovery. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(1), 61-69.
16. Jakus, V. (2000). The Role of Free Radicals, Oxidative Stres and Antioxidant Systems in Diabetic Vascular Disease. *Bratislava Medical Journal*, 101(10), 541-551.
17. Çaylak, E. (2011). Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
18. Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, M. (2001). *Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi*. Türkiye: Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi, 38-53.
19. Reiter, R. J. (1998). Oxidative Damage in the Central Nervous System: Protection by Melatonin. *Progress in Neurobiology*, 56, 359-384.
20. Lescey, K. M. W., Lisa, G. W. and Manohar, L. G. (2006). Methodology for the Determination of Biological Antioxidant Capacity In Vitro: A Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2046-2056.
21. Keskin, H. ve Erkmén, G. (1987). *Besin Kimyası* (Beşinci Baskı). Türkiye: Güray Matbaacılık, 25-35.
22. Baravalia, Y., Kaneria, M., Vaghasiya, Y., Parekh J. and Chanda, S. (2009). Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity of *Diospyros ebenum* Roxb. Leaf (*Ebenaceae*). *Turkish Journal of Biology*, 33, 159-164.
23. Çoban, Ö. ve Patır, B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2), 7-19.
24. Soycan Ö. S. ve Açıkgöz, Z. (2005). Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri, *Hayvansal Üretim*, 46 (1), 50-55.
25. Davis P. H., Chamberlain D. F., Phil D. and Matthews A. V., (1975). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Fifth Edition). Edinburgh: Edinburgh University Press, 541-550.
26. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M. T. (Editörler). (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, 314-325.
27. Davis, H. P., Chamberlain, D.F., Phil D. and Matthews, A. V. (1972). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* (Fourth Eition), Edinburgh: Edinburgh University Press, 558-559.

28. Tatlı, A. (1988). *Erzurum bölgesinde yaygın çayır ve mera bitkileri. Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü*, Ankara: Gözde Repro Ofset, 53.
29. Baytop, T. (1984). *Türkiye’de Bitkiler ile tedavi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, 282.
30. Suleyman, H., Guvenalp, Z., Kızılkaya, M. and Demirezer, L. O. (2007). Sedative Effect of *Centranthus longiflorus* ssp. *longiflorus* in Rats and the Influence of Adrenalectomy on Its Effect. *Yakugaku Zasshi*, 127(8), 1263-1265.
31. Sener, B., Mutlugil, A. and Bingöl, F. (1987). Analysis of Valepotriates in *Centranthus longiflorus*. *Pharmaceutical Biology*, 25(3), 133-136.
32. Demirezer, L. Ö., Güvenalp, Z., Schiewe, H. J., Strietzel I., Harmandar, M. and Zeeck, A. (1999). Iridoids from *Centranthus longiflorus* ssp. *Longiflorus*. *Phytochemistry*, 51(7), 909-912.
33. Kuruüzüm-Uz, A., Güvenalp, Z., Demirezer, L. Ö., Bergere, I., Ströch, K. and Zeeck, A. (2002). 4'-Deoxy Iridoid Glycoides From *Centranthus longiflorus*. *Phytochemistry*. 61(8), 937-941.
34. Güvenalp, Z., Demirezer, L. O. and Harmandar, M. (1999). Fatty Acid Composition of *Centranthus longiflorus* ssp. *longiflorus*. *Hacettepe University Journal of Faculty of Pharmacy*, 19(22), 63-66.
35. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals In Biology and Medicine* (Fifth edition). Oxford: Oxford University Press.
36. Bast, A., Haenen, G. and Goelmen J. A. (1991). Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *American Journal of Medicine*. 91(3), 2-13.
37. Nawar W. W. (1996). *Lipids. In "Food Chemistry"*. (Third edition). USA: Marcel Dekker, 225-319.
38. Karabulut, H. and Gülay, M. Ş. (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59.
39. Halliwell, B. (1999). Antioxidant Defence Mechanisms: From The Beginning to The End (of The Beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
40. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
41. İnternet: URL: <https://blondevibe.com/freeradicals/>
42. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1985). The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, 8(2), 89-193.

43. Fang, Y. Z., Yang S. and Wu, G. (2002). Free radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
44. Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89.
45. Nagendrappa, G. (2005). An Appreciation of Free Radical Chemistry 3. Free Radicals in Diseases and Health. *Resonance*, 10(4), 65-74.
46. Sarma, A. D, Mallick, A. R. and Ghosh, A. K. (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3), 185-192.
47. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R. and De, B. (2010). Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
48. Droge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.
49. Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. and Lele, R. D. (2004). Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *The Journal of The Association Physicians India*, 52, 794-804.
50. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. and Telser, J. (2004). Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 266 (1-2), 37-56.
51. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z. (2015). Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
52. Oroian, M. and Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, Natural Sources, Extraction and Analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.
53. Miser, E. (2011). *Çeşitli bitkisel halk ilaçlarının antioksidan aktivite yönünden değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
54. Yalçın M. S. (2007). *Hepatitli hastalarda antioksidan enzimlerinin süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) ve Katalaz (CAT) aktivite düzeylerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
55. Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri* (1. Baskı). Konya: Mimoza Yayınları.
56. İnternet: URL: <http://fatmakyak.blogspot.com/>

57. Pokorny, J., Yanishlieva N. and Gordon M. (eds). (2001). *Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources, Antioxidants in Food. Practical Applications*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 169-219.
58. Gerber, M., Boutron-Ruault, M. C., Hercberg, S., Riboli, E., Scalbert, A. and Siess, M. H. (2002). Food and Cancer: State of the Art About the Protective Effect of Fruits and Vegetables. *Bulletin du Cancer*, 89(3), 293-312.
59. Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A. (2010). Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 401-409.
60. Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z. ve Deniz, İ. (2013). Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13(1), 48-59.
61. Özyürek, M., Güçlü, K. and Apak, R. (2011). The Main and Modified CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652-664.
62. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index For Dietary Polyphenols and Vitamins C And E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in The Presence of Neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
63. Güdücü, F. (2014). *Pyrus Elaeagrifolia Bitkisi Ekstrelerinin Fenolik Madde İçerikleri, DPPH Radikali Giderme Aktiviteleri ve In Vitro Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
64. Schlegel, H. (1992). *Produktion sekundärer metabolite. Allgemeine Mikrobiologie* (siebte Ausgabe). Germany: Georg-Thieme Verlag, 362-371.
65. Demain, A. L. (1999). Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52(4), 455-463.
66. Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Ehlke, R. G. F. N. J., Biesboer, D. D. and Bey, R. F. (2008). Antimicrobial Activity of Native and Naturalized Plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(5), 098-110.
67. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. and Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Various Extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90(3), 333-340.
68. Perumal Samy, R. and Gopalakrishnakone, P. (2010). Therapeutic Potential of Plants As Anti-Microbials for Drug Discovery. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 7(3), 283-294.

69. Kan, A., Özçelik, B. and Kartal, M. (2009). In vitro Antiviral Activities Under Cytotoxic Doses Against Herpes Simples Type-1 And Parainfluenza-3 Viruses of *Cicer arietinum* L. (Chickpea). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(12), 627-631.
70. Burnaz, N.A. (2007). *Viburnum Opulus ve V. Orientale Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri*, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
71. Günay, Z. (2002). Antibiyotik Duyarlılık Testi Yorumları. *Türk Toraks Dergisi*, 3(1), 75-88.
72. Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta ssp. Carneum Bitki Ekstraktlarının Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri*, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
73. İnternet: URL: <https://tahlil.com/blog/antibiyogram-antibiyotik-duyarlilik-testi-450>
74. Brown-Elliott, B. A. and Wallace Jr, R. J. (2015). *Infections Caused by Nontuberculous Mycobacteria Other Than Mycobacterium avium Complex*. In Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 2844-2852.
75. Hacıoğlu, Ö. (2005). *Achillea (Anthemideae) Cinsi Filipendulinae ve Santolinoidea Seksiyonlarına Ait Yedi Türün Uçucu Yağ Kompozisyonları ve Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
76. İnternet:URL:<http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/IntroductionToPracticalBiochemistry/ch10s06.html>.
77. Doğan, P., (2009). *Pediococcus Acidilactici PBF Suşunda Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genin Aktarımı*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
78. İnternet:URL:<https://www.shimadzu.com/an/industry/pharmaceuticallifescience/genome0102015.html>
79. Thomas, C. M. and Summers, D. (2008). "Bacterial Plasmids," in *eLS* (Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.).
80. Yazıcı, S. Ö. (2012). *Gypsophila Pilulifera Boiss. Türünden Elde Edilen Ekstrelerin Saflaştırılmış Alkalen Proteaz ve DNA Hasarı Üzerine Etkileri ile Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
81. Richardson, I. B. K. (1975). A Revision of the Genus *Centranthus* DC. (Valerianaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 71(3), 211-234.

82. Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. (2005). The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
83. Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T. and Okuda, T. (1989). Effects of The Interaction of Tannins With Co-Existing Substances. VI.: Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2016-2021.
84. Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
85. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in The Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
86. Babu, J., Pramod, W.R., George, T., Nitisha, S. (2007). Standard Review Cold-active microbial Lipases: a versatile tool for industrial applications. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 2(2), 39-48.
87. Nicoli, M. C., Anese, M. and Parpinel, M. (1999). Influence of Processing on The Antioxidant Properties of Fruit and Vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 10(3), 94-100.
88. Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P. and Romano, A. (2013). The Phenolic Content and Antioxidant Activity of Infusions from Mediterranean Medicinal Plants. *Industrial Crops and Products*, 43, 465-471.
89. Rates, S. M. K. (2001). Plants as Source of Drugs. *Toxicon*, 39(5), 603-613.
90. Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M. and Sharma, P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 25-41.
91. Jiménez, N., Carrillo-Hormaza, L., Pujol, A., Álzate, F., Osorio, E. and Lara-Guzman, O. (2015). Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Commonly Used Anti-Inflammatory Medicinal Plants in Colombia. *Industrial Crops and Products*, 70, 272-279.
92. Roleira, F. M., Tavares-da-Silva, E. J., Varela, C. L., Costa, S. C., Silva, T., Garrido, J. and Borges, F. (2015). Plant Derived and Dietary Phenolic Antioxidants: Anticancer Properties. *Food Chemistry*, 183, 235-258.
93. De Monte, C., Carradori, S., Chimenti, P., Secci, D., Mannina, L., Alcaro, F. and Alcaro, S. (2014). New Insights into the Biological Properties of *Crocus sativus* L.: Chemical Modifications, Human Monoamine Oxidases Inhibition and Molecular Modeling Studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 82, 164-171.

94. Zengin, G., Nithiyantham, S., Locatelli, M., Ceylan, R., Uysal, S., Aktumsek, A. and Maskovic, P. (2016). Screening of In vitro Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of Different Extracts From Two Uninvestigated Wild Plants: *Centranthus longiflorus subsp. longiflorus* and *Cerinth minor subsp. auriculata*. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(3), 286-292.
95. Askin, H., Yilmaz, B., Bakirci, S. and Ayar, A. (2018). Simultaneous Determination of α -Amyrin and β -Sitosterol in *Centranthus longiflorus Stev. Subsp. longiflorus Stev* and *Iris taochia Woronowex* Grossh by GC-MS Method. *Progress in Nutrition*, 20(1), 209-217.
96. Renda, G., Özel, A., Barut, B., Korkmaz, B. and Yayli, N. (2018). In vitro Protection by *Crataegus microphylla* Extracts Against Oxidative Damage and Enzyme Inhibition Effects. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 77-84.
97. Aliyazicioglu, R., Eyupoglu, O. E., Sahin, H., Yildiz, O. and Baltas, N. (2013). Phenolic Components, Antioxidant Activity, and Mineral Analysis of *Capparis spinosa* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(47), 6643-6649.
98. Rammal, H., Farhan, H., Hijazi, A., Bassal, A., Kobeissv, A. and Badrtan, B. (2013). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Centranthus longiflorus* L. *Journal of Natural Product and Plant Resource*, 3(3), 29-36.
99. Davis, J. M., Murphy, E. A. and Carmichael, M. D. (2009). Effects of the Dietary Flavonoid Quercetin upon Performance and Health. *Current Sports Medicine Reports*, 8(4), 206-213.
100. Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G. and Mirtajaldini, M. (2009). Major Flavonoids with Antioxidant Activity from *Teucrium polium* L. *Food chemistry*, 112(4), 885-888.
101. Makki, R., Dirani, Z. E., Rammal, H., Sweidan, A., Al Bazzal, A. and Chokr, A. (2015). Antibacterial Activity of Two Lebanese Plants: *Eryngium creticum* and *Centranthus longiflorus*. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6(5), 315-320.
102. Çoban, T., Çitoğlu, G. S., Sever, B. and İşcan, M. (2003). Antioxidant Activities of Plants used in Traditional Medicine in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 41(8), 608-613.
103. Katalinic, V., M. Milos, T. Kulisic and Jukic, M. (2006). Screening of 70 Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenols. *Food Chemistry*, 94, 550-557.
104. Hong, H. and Liu, G. Q. (2004). Protection Against Hydrogen Peroxide-Induced Cytotoxicity in PC12 Cells by Scutellarin. *Life Sciences*, 74(24), 2959-2973.
105. Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W. and Chen, F. (2006). A Systematic Survey of Antioxidant Activity of 30 Chinese Medicinal Plants Using The Ferric Reducing Antioxidant Power Assay. *Food Chemistry*, 97, 705-711.

106. Hassan, R., Hussein, F., Akram, H., Ali, B., Ahmed, K. and Bassam, B. (2013). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Centranthus longiflorus* L. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 3, 29-36.
107. Yen, G. C., Wu, S. C. and Duh, P. D. (1996). Extraction and Identification of Antioxidant Components from The Leaves of Mulberry (*Morus alba* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1687-1690.
108. Hertog, M. G., Hollman, P. C. and Van de Putte, B. (1993). Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of Tea Infusions, Wines, and Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(8), 1242-1246.
109. Makki, R., Rammal, H., Farhan, H., Nasser, M., El Dirani, Z., Hijazi, A. and Badranet, B. (2015). The Antioxidant and Anti-Tumor Activities of the Lebanese *Centranthus longiflorus* L. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3, 158-367.
110. Wink, M. (2012). Secondary Metabolites from Plants Inhibiting ABC Transporters and Reversing Resistance of Cancer Cells and Microbes to Cytotoxic and Antimicrobial Agents. *Frontiers In Microbiology*, 3, 130.
111. Law, P. C., Auyeung, K. K., Chan, L. Y. and Ko, J. K. (2012). Astragalus Saponins Downregulate Vascular Endothelial Growth Factor Under Cobalt Chloride-Stimulated Hypoxia in Colon Cancer Cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 160.
112. Zamora-Ros, R., Agudo, A., Luján-Barroso, L., Romieu, I., Ferrari, P., Knaze, V. and Sánchez-Cantalejo, E. (2012). Dietary Flavonoid and Lignan Intake and Gastric Adenocarcinoma Risk in The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(6), 1398-1408.
113. Prasad, R., Vaid, M., Katiyar and S. K. (2012). Grape Proanthocyanidin Inhibit Pancreatic Cancer Cell Growth *in vitro* and *in vivo* Through Induction of Apoptosis and by Targeting The PI3K/Akt Pathway. *PloS One*, 7(8).
114. Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J. A. (2004). Free-Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Selected Plant Species from The Canadian Prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551-562.
115. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols And Vitamins C And E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in The Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
116. Aliyazicioglu, R., Korkmaz, N., Akkaya, S., Sener S. O., Badem, M., Karaoglu, S. A. and Eyüpoglu O. E. (2016). Phenolic components, antioxidant and antimicrobial activities of *Centranthus longiflorus* L. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 3(10), 80-87.

117. Büyükokuroğlu, M. E., Demirezer, L. O. and Güvenalp, Z. (2002). Sedative, Anticonvulsant and Behaviour Modifying Effects of *Centranthus longiflorus* Ssp. *longiflorus*: A Study of Comparison to Diazepam. *Die Pharmazie*, 57(8), 559-561.
118. Büyükokuroğlu, M. E., Gepdiremen, A., Halici, Z., Duzenli, S. and Guvenalp, Z. (2010). Protective Effect of *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus* in Glutamate Induced Neurotoxicity. *Indian Veterinary Journal*, 87(3), 244-246.
119. Orhan, E. (2015). *Endemik Iris galatica'nın Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
120. Emaduldeen, A. (2014). *Iris kirkwoodii'nin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
121. İnci, Ş. ve Kırbağ, S. (2018). *Terfezia claveryi* Chatin'in Besinsel İçeriği, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 19(2), 138-143.
122. Oğuzkan, S. B., Merve, C. A. N., Kılıç, H. İ., İbrahim Uğraş, H. ve Özaslan, M. (2018). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetişen Yeşil Acı Biberlerdeki Kapsaisinin DNA Koruyuculuğu Üzerine Etkisi. *Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(1), 26.
123. Gul, M., Ozturk Cali, I., Cansaran, A., Idil, O., Kulu, I. and Celikoglu, U. (2017). Evaluation of Phytochemical Content, Antioxidant, Antimicrobial Activity and DNA Cleavage Effect of Endemic *Linaria corifolia* Desf. (Plantaginaceae). *Cogent Chemistry*, 3(1), 1-14.
124. Oğuzkan, S. B., Uğraş, S., Can, M., Uzun, A., Ülger, S., Üzmez, Ş. ve Uğraş, H. İ. (2016). Fındık (*Corylus avellana* L.) Yeşil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarında Biyolojik Aktivite Tayini. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(4), 373-378.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Elif AYAR
 Uyuğu : Türkiye Cumhuriyeti
 Doğum tarihi ve yeri : 29.09.1983- Karabük
 Medeni hali : Evli
 e-posta : elifayar61@hotmail.com



Eğitim Derecesi

Okul/Program

Mezuniyet Yılı

Lisans

Atatürk Üniversitesi

2007

Yüksek Lisans

Amasya Üniversitesi

2019

İş Deneyimi/Yıl

Çalıştığı Yer

Görevi

2007-2008

Türk Ekonomi Bankası

Şube İşlem Yetkilisi

Yabancı Dili

İngilizce

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1. Ayar, E., Kandemir, N. ve İdil, Ö., 2015. Farklı Çözücülerle Hazırlanan *Centranthus longiflorus* ssp. *longiflorus* Bitki Ekstraktlarının Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması. 12. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 14-17 Eylül, Muğla.