T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

JURINEA CONSANGUINEA'NIN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

BİYOLOG HÜLYA ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

I. Danışman: YRD. DOÇ. DR. ÇİLER MERİÇ
II. Danışman: DOÇ. DR. UFUK KOLAK

2009

EDİRNE

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

JURINEA CONSANGUINEA'NIN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Bu tez ..... tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.

Prof.Dr. Feruzan DANE	Doç.Dr. Ufuk KOLAK
(Üye)	(II. Danışman)
Doç.Dr. Hülya YAĞAR	Yrd.Doç.Dr. Çiler MERİÇ
(Üye)	(I. Danışman)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Hülya ÖZTÜRK

İTHAF

Canım Anneme ve Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrencisi olarak beni kabul eden ve tez konumun seçilmesinde beni yönlendiren, bana her konuda destek olan, ayrıca tez çalışmasında kullandığım bitkiyi toplayan ve teşhisini yapan hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Çiler Meriç'e teşekkür ederim.

Beni laboratuarına kabul eden, tez çalışmamda laboratuarın bütün imkanlarını kullanmamı sağlayan, tez çalışmam boyunca hoşgörüsünü eksik etmeden ilgilenen, bilgi ve deneyimiyle beni yönlendiren zamanını ve katkısını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Genel Kimya Bilim Dalı öğretim üyesi çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ufuk Kolak'a çok teşekkür ederim.

Antibakteriyel aktivite tayini deneyleri sırasında yol gösteren ve tez çalışmasında kullanılan bakterileri temin eden Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Müdür Yardımcısı Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan Kunduracılar'a teşekkür ederim.

Tezimle ilgili her konuda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Genel Kimya Bilim Dalı Araş. Gör. Mehmet Boğa'ya ve değerli arkadaşım doktora öğrencisi Işıl Hacıbekiroğlu'na candan teşekkürlerimi sunarım.

Güler yüzü ve sonsuz anlayışıyla beni motive eden, güvenini her zaman hissettiğim büyük desteğim, güzel insan Ayhan Demir'e teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren, emek veren, maddi ve manevi destek olan aileme, hayatımın her aşamasında yanımda olan beni destekleyen canım ablama en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI…….....İİ
BEYAN.....İİİ
TEŞEKKÜR.....V
İÇİNDEKİLER .....Vİ
TABLOLAR LİSTESİ.....Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ .....İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT..... Xİİİ
TEZ BİTKİSİNİN RESMİ……. XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ…….1
2. GENEL BİLGİLER……...5
2.1. Botanik Bilgiler……..5
2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası……5
2.1.2. *Jurinea* Cass. Cinsinin Genel Özellikleri……6
2.1.3. *Jurinea consanguinea* DC. ……7
2.1.4. *Jurinea* Cinsi İle Yapılan Çalışmalar……..9
2.2. Antioksidanlar……..10
2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri……...13
2.4. Alzheimer Hastalığı, Asetilkolin ve Kolinesterazlar ……...14
2.5. Antimikrobiyal Maddeler…….15
2.6. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri…….16
2.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri…….17
3. GEREÇ VE YÖNTEM……19
3.1. Bitkisel Materyal……..19
3.2. Test Bakterileri…….19
3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler, Çözeltiler ve Besiyeri……...22
3.3.1. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Besiyeri……..22
3.3.2. Çözeltilerin ve Besiyerinin Hazırlanması……..23
3.3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması…….23

3.3.2.1.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler……23
3.3.2.1.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler…….23
3.3.2.1.3. β-Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti……24
3.3.2.1.4. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti..24
3.3.2.1.5. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler…….24
3.3.2.2. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler……25
3.3.2.3. Antibakteriyel Aktivite Tayininde Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler……26
3.4. Aletler ve Diğer Gereçler…….26
3.5. Ekstrelerin Hazırlanması……..27
3.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarlarının Belirlenmesi……27
3.6.1. Toplam Fenolik Miktar Tayini……..27
3.6.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini……...28
3.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri……...29
3.7.1. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi……..29
3.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi……30
3.7.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi……..31
3.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi……31
3.9. Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemi……32
3.9.1. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması……...32
3.9.2. Disk Difüzyon Yöntemi…….32
4. BULGULAR……...33
4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayinleri Sonuçları……..33
4.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları……..34
4.2.1. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları……..34
4.2.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları……..35
4.2.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları……35
4.3. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları……..36
4.4. Ekstrelerin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları……..38
5. SONUÇ VE TARTIŞMA……43
KAYNAKLAR……45
ÖZGEÇMİŞ…….51

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.2. Kullanılan Bakteriler ve Kodlar…….19
Tablo 3.5. *J. consanguinea'*dan Elde Edilen Ekstrelerin İsimleri, Miktarları ve (%) Verimleri……..27
Tablo 4.1. *J. consanguinea*' dan Hazırlanan Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları…….33
Tablo 4.4. *J. consanguinea*' dan Hazırlanan Ekstrelerin Antibakteriyel Aktiviteleri…38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.3: *J. consanguinea*'nın Ülkemizdeki Dağılışı……8
Şekil 3.6.1: Pirokatekolün Ölçü Grafiği……..28
Şekil 3.6.2: Kesretinin Ölçü Grafiği……29
Şekil 4.2.1: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin β-Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktiviteleri…….34
Şekil 4.2.2: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri……35
Şekil 4.2.3: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri……36
Şekil 4.3.1: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Asetilkolinesteraz Aktiviteleri …….37
Şekil 4.3.2: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Butirilkolinesteraz Aktiviteleri …….37
Şekil 4.4.1: JC1'in *B. subtilis* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu …….39
Şekil 4.4.2: JC2'in *B. subtilis* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu …….40
Şekil 4.4.3: JC2'nin *P. aeruginosa* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu……..40
Şekil 4.4.4: JC3'nin *P. aeruginosa* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu……..41
Şekil 4.4.5: JC1'nin *S. aureus* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu…….41
Şekil 4.4.6: JC2'nin *S. aureus* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu…….42
Şekil 4.4.7: JC3'nin *S. aureus* Üzerinde Oluşturduğu İnhibisyon Zonu…….42

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer hastalığı
BChE	Butirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmişhidroksi toluen
cm	Santimetre
ºC	Santigrat derece
dk	Dakika
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
FCR	Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi
g	Gram
HNO_2	Nitröz asit
$HOO^{\cdot}$	Peroksi radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
JC1	J*urinea consanguinea* petrol eteri ekstresi
JC2	J*urinea consanguinea* kloroform ekstresi
JC3	J*urinea consanguinea* metanol ekstresi
ln	Doğal logaritma
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar

M	Molar
nm	Nanometre
NA	Nutrient agar
NADH	Nikotinamitadenindinükleotit
NBT	Nitroblutetrazolyum
$NO^{\cdot}$	Azot monoksit radikali
NO^{+}	Nitrozil katyonu
NO^{-}	Nitroksi anyonu
OFX	Ofloksasin
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit anyon radikali
$OH^{\cdot}$	Hidroksil radikali
O_3	Ozon
$^1O_2$	Singlet oksijen
PEs	Pirokatekole eşdeğer
PG	Propil gallat
PMS	Fenazinmetasülfat
ppm	Milyonda bir birim
QEs	Kersetine eşdeğer
RNS	Reaktif azot türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
$RO^{\cdot}$	Alkoksi radikali
$RS^{\cdot}$	Tiyol radikali
TBHQ	*tersiyer*-Bütilhidrokinon
TOC	α-Tokoferol
UV	Ultraviyole

ÖZET

Öztürk H. *Jurinea consanguinea*'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Hücre Biyolojisi Programı, Edirne. 2009.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, *Jurinea consanguinea* DC. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin toplam fenolik miktarları pirokatekole, toplam flavonoit miktarları kersetine eşdeğer olarak tayin edildikten sonra antioksidan aktiviteleri β-karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak saptandı. Ekstrelerin antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi, antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemi kullanılarak belirlendi.

Metanol ekstresinin toplam fenolik ve flavonoit miktarları açısından en zengin ekstre olduğu tespit edildi. Tüm ekstrelerin β-karoten renk açılım yönteminde 200 µg/mL konsantrasyonda % 50'nin üzerinde antioksidan aktivite gösterdiği; DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikal giderim yöntemlerinde petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin hiç aktivite göstermedikleri tespit edildi.

Petrol eteri ekstresinin AChE enzimini inhibe edici etkisi diğer ekstrelerden daha yüksek olmasına rağmen galantaminden daha düşük bulundu.

*J. consanguinea'*dan hazırlanan ekstreler arasında kloroform ekstresinin en yüksek antibakteriyel etkiyi gösterdiği ve en etkili olduğu bakterinin *S. aureus* olduğu tespit edildi.

Bu tez çalışması ile *Jurinea consanguinea*'dan hazırlanan tüm ekstrelerin antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktiviteleri ilk kez incelendi. Metanol ekstresinin özellikle β-karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim aktivitelerinin ve butirilkolinesteraz enzimini inhibe edici etkisinin diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: *Jurinea consanguinea***,** Asteraceae (Compositae), Antioksidan Aktivite, Antikolinesteraz Aktivite, Antibakteriyel Aktivite

ABSTRACT

Öztürk H. Determination of Antioxidant and Antibacterial Activity of *Jurinea consanquinea*. Thesis of Master, Trakya University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology , Cellular Biology Programme, Edirne .2009.

In this thesis, the aerial parts of *Jurinea consanguinea* DC. were extracted with petroleum ether, chloroform and methanol, successively. Total phenolic and total flavonoid contents of these extracts were determined as pyrocatechol and quercetin equivalents, respectively, and their antioxidant activity, was carried out by using three different methods, namely, β-carotene bleaching method, DPPH free radical scavenging and superoxide anion radical scavenging activity assays. The antibacterial activity of the extracts was determined by disc diffusion method, their anticholinesterase activity was performed by using Ellman method.

The methanol extract possessed high total phenolic and flavonoid contents. It showed over % 50 inhibition in the β-carotene bleaching method at 200 µg/mL, the petroleum ether and chloroform extracts were inactive in DPPH free radical and superoxide anion radical scavenging assays.

Although the AChE inhibitory effect of the petroleum ether extract was higher than the other tested extracts, it exhibited low activity than galantamine.

Among the extracts prepared from *J. consanguinea*, the chloroform extract showed the highest antibacterial effect, especially against *S. aurens*.

In this thesis, the antioxidant, antibacterial and anticholinesterase activities of all extracts of *J. consanguinea* were determined for the first time. The methanol extract possessed high antioxidant activity than the other tested extracts espacially in β-carotene bleaching and DPPH free radical scavenging methods, it exhibited also strong butyrlycholinesterase inhibitory effect.

Key words: *Jurinea consanguinea*, Asteraceae (Compositae), Antioxidant Activity, Anticholinesterase Activity, Antibacterial Activity



***Jurinea consanguinea* DC.** (URL-3)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlardan önce hastalık etmenlerinin yeryüzünde bulunduğu bilinmektedir. Bu düşünce çok eski devirlere ait bazı kemik ve fosil gibi kanıtlarla da desteklenmektedir. İlk insandan itibaren hastalık etmenlerine karşı korunma çareleri aranmaya başlanmıştır. Bu korunma başlangıçta içgüdüleri yardımı ile olsa da aradan geçen uzun süre içinde bilinçli bir çabaya dönüşmüş ve insanlar çevrelerinde bulunan hem abiyotik (hava, su vb.) hem de biyotik (mikroorganizmalar, bitkiler, hayvanlar vb. gibi) faktörleri kendi tedavilerinde yararlandıkları obje ve aracılar olarak kullanmaya başlamışlardır (Hacıoğlu 2005).

Modern ilaç endüstrisi hastalıklara karşı çeşitli ilaçları geliştirmeden önce, birçok bitki ilaç olarak kullanılmıştır. Dün olduğu gibi günümüz insanları da çeşitli hastalıkların tedavisinde ya bitkileri ya da onlardan elde edilen ilaçları kullanarak tedavi yoluna gitmektedir (Abay 2006). On dokuzuncu yüzyılda bitkilerle tedavi alanında hızlı ilerleme ve gelişmeler sağlanmıştır. Böylece şifalı bitkilerin kültürlerinin yapılması, toplanması, kurutulması ve ufalanması gibi işlemler geliştirilmiştir (Yıldırım 2006). Ayrıca bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri, 1926 yılından bu yana Türkiye'de olduğu gibi diğer ülkelerdeki çeşitli laboratuarlarda da araştırılmaya başlanmıştır (Abay 2006, Toroğlu ve Çenet 2006). Günümüzde 150.000'den fazla bitki türü bilimsel olarak çalışılmış ve bunların birçoğunun tedavi edici maddeler içerdiği saptanmıştır (Hacıoğlu 2005).

Dünya üzerinde 750.000 – 1.000.000 arasında bitki türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan 500.000 kadarı tanımlanıp isimlendirilmiştir (Erecevit 2007, Yıldırım 2006). Her yıl 2.000 kadar yeni tohumlu bitki türü tanımlanıp isimlendirilmektedir (Erecevit 2007). Gıda elde etmek için üretilen tür sayısı 3.000 civarındadır. Buna karşılık gıda olarak kullanılan yabani bitki türü 100.000'in üzerindedir (Yıldırım 2006, Yumrutaş 2007). Tedavi amacıyla kullanılan yabani bitkilerin miktarı antik çağdan beri devamlı bir artış göstermektedir (Yumrutaş 2007).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1979 yılında yapılan bir araştırmada, kayıtlı ülkelerde kullanılan ve ticareti yapılan bitkisel ilaçların miktarı 2.000 olarak tespit edilmiştir (Yıldırım 2006, Yumrutaş 2007). Aynı kuruluşun 91 ülkenin tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı yayınlarına dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarının 20.000 civarında olduğu saptanmıştır (Erecevit 2007, Yıldırım 2006, Yumrutaş 2007). Şüphesiz ki bu sayı gerçek miktarı göstermekten çok uzaktır. Çünkü yapılan bir araştırmada Türkiye için 140 kadar tıbbi bitki kaydedilmiştir. Buna rağmen Türkiye'de tedavi maksadıyla kullanılan tıbbi bitkilerin miktarı en az 500 civarındadır. Bu örneğin diğer ülkeler içinde geçerli olabileceği düşünülürse, gerçekte kullanılan tıbbi bitki miktarının 100.000 civarında olması gerekir (Erecevit 2007).

Türkiye 3 fitocoğrafik bölgenin buluştuğu bir alanda bulunması nedeniyle bitki türü bakımından oldukça zengindir (Toroğlu ve Çenet 2006).Tür sayısı yaklaşık olarak 10.000 civarında olup, bitki örtüsü bakımından 3 flora bölgesine ayrılır: 1. Kuzey Anadolu 2. Batı ve Güney Anadolu 3. Orta ve Doğu Anadolu Bölgesi. Türkiye florası konusunda gerek ulusal gerekse uluslararası çalışmalar bulunup önemli bilgiler aktarılmıştır. Anadolu birçok cins için gen merkezi konumundadır. Bu bilgiler ışığında Türkiye'nin biyolojik çeşitlilik yönünden önemi yadsınamaz. Bu önem kendisini sadece tür zenginliği olarak değil, biyolojik çeşitlilik olarak da göstermektedir (Abay 2006).

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve bu doğal ürünlere karşı olan ilgi; tedavi alanına sokulan yeni sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler, bitkisel drogların birkaç etkiye sahip olmaları, kolay ve ucuz tedavi imkanı elde etme isteği gibi başlıca sebeplerden dolayı artmıştır. Bu amaçla bitkilerden elde edilen birçok madde mikrobiyolojik ve farmakolojik yönlerden etraflıca araştırılmaktadır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de pek çok araştırmacı halk ilaçlarını değişik açıdan inceleyen çalışmalar yapmıştır ve oldukça önemli sonuçlar elde etmişlerdir (Erecevit 2007). Günümüzde bitkilerin tentürleri, çayları ya da standardize edilmiş ekstreleri pek çok hastalığın tedavisinde dahilen veya haricen kullanılmaktadır (Eroğlu 2007).

Bütün dünyada yüzlerce bitki, bakteriyel enfeksiyonlar için, tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Sıradan ilaçlar genellikle bakteriyel enfeksiyonlar için etkili antibiyotik tedavi sağlamaktadır (Doğuç 2007). Fakat antibiyotiklerin gelişi güzel kullanımı nedeniyle, insan patojeni bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazandığı tespit edilmiştir. Yine ilaçlara dirençli patojen fungus ve bakteriler nedeniyle özellikle immün sistemi zayıflamış AIDS, kanser gibi hastalıkların, infeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırdığı görülmüştür. Bu probleme ilave olarak antibiyotikler aşırı hassasiyet, bağışıklık sisteminin zayıflaması ve alerjik reaksiyonlar gibi yan etkilere de sahiptir (Ünal 2006). Bilinen tüm antibiyotiklere karşı bakteriler direnç geliştirmektedirler (Pişkin 2007). Bu durum bilim adamlarını değişik kaynaklardan yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması için teşvik etmiştir. Bitkiler de yeni antimikrobiyal etkili maddelerin elde edilebileceği, zengin bir kaynak olduğundan araştırmalar özellikle tıbbi bitkiler üzerinde yoğunlaşmıştır. Türkiye'de çok eski çağlardan beri tıbbi bitkiler birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ünal 2006).

Canlı organizmalarda yaşamsal faaliyetler sonucunda ortaya çıkan oksijen ve türevleri aynı zamanda toksik etkiye de sahiptir ve proteinler, lipidler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek fonksiyon azalmasına ya da yok olmasına neden olurlar. Bu etkilerinden dolayı bunlara "Reaktif Oksijen Türleri (ROS)" denmektedir. Antioksidanlar, ya reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyerek ya da mevcut olanları süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen moleküllerdir. Canlı vücudunda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşamsal bir ihtiyaçtır (Diri 2006). Son zamanlarda besin kimyası ve koruyucu tıbbın bitki kaynaklı doğal antioksidanlara karşı ilgisi artmaktadır. Bunun nedeni, sentetik antioksidanların (BHT ve BHA) toksik oldukları ve kansere yol açabilecekleri yönündeki bulgular nedeniyle, çalışmalar bitki kaynaklı doğal antioksidanlar üzerine yoğunlaşmış (Diri 2006) ve artan bu ilgi, tüm dünyada bitkisel tedavinin desteklenmesine de zemin oluşturmuştur (Bilaloğlu ve Harmandar 1999).

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, *Jurinea consanguinea* DC.'nın topraküstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarlarının belirlenerek β-karoten renk açılım, DPPH serbest

radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri ile antikolinesteraz ve antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası

Bazıları lateks içeren, tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu, bazen çalımsı ya da bodur ağaçlar. Yapraklar; alternat ya da dekusat dizilişli, genelde stipülsüz (nadiren stipüllü), tam kenarlı, dişli, loblu ya da değişik şekillerde parçalanmış (Hacıoğlu 2005).

Tek çiçekler genellikle çok sayıda (nadiren 1), sapsız ve bir ya da çok sıralı koruyucu fillariler ile çevrilmiş kapitulumlarda toplanmış. Çiçekler aktinomorf ya da zigomorf simetrili. Reseptakulum çıplak ya da palealı, uzun tüylü, ya da kılçıklı. Çiçekler epigin, ya hepsi hermofrodit ve protandrus ya da disi, erkek ya da verimsiz. Kaliks, ovaryumun ucunda kılçık ya da pullardan oluşan bir papus ya da korolla şeklinde; papus bazen tamamen yok. Korolla 4–5 birleşik petalli, tüpsü (alt kısımda daralmış yukarıya doğru çan şeklinde). Petaller filiform, ligulat ya da nadiren bilabiat, genellikle 3 veya 5 dişli, nadiren yok. Stamenler (4) 5 petallere bağlı, filamentler genellikle serbest, anterler stilus etrafında silindir şeklinde yanlardan birleşik (singenezis), nadiren serbest. Ovaryum alt durumlu, tek lokuslu, bir bazal anatrop ovullü; stilus genellikle yukarıda iki dala ayrılmış. Tüpsü çiçeklerin stilusları genellikle fırça şeklinde tüyler taşır. Meyve aken. Genellikle sapsız ya da bir gagadan çıkan kalıcı ya da düşücü papuslu (Hacıoğlu 2005).

Asteraceae Angiospermlerin en geniş familyalarından birisidir ve son yapılan sınıflandırmalara göre 3 alt familya ve 17 oymak altında toplanmış 1535 cins ve 26.000 civarında türden oluşmaktadır. Bu familya tüm dünyada geniş bir alana yayılmış olup Amerika Birleşik Devleti'nin güneybatısı, Meksika, Brezilya'nın güneyi, Güney Afrika, Orta ve Güneybatı Asya ve Avustralya'da yaygın olarak bulunur. Filogenetik açıdan Asteraceae familyasının coğrafik orjininin ise Güney Amerika olduğu kabul edilmektedir (Doğan 2007).

Asteraceae familyasına ait Türkiye florasında toplam 1209 tür kaydedilmiş olup tür sayısı bakımından ilk sırada yer alır. Bu türlerin 447'si endemik olup endemizm oranı % 37'dir. Bu familyanın 134 cinsi bulunmaktadır. Cins sayısı bakımından Türkiye florasının ikinci büyük familyasını teşkil etmektedir (Doğan 2007).

2.1.2. *Jurinea* Cass. Cinsinin Genel Özellikleri

Çok yıllık, otsu, nadiren yarı çalımsı veya gövdesiz, basit veya dallanmış. Yapraklar dikensiz, rozetli veya alternat, entire, pinnatilobat veya pinnatisekt. Kapitula homogam, diskoit, tek veya yalancı şemsiyemsi. İnvolukrum silindirikten küremsiye kadar değişik şekillerde. Fillariler (4-)5-6(-8) seri, kenarları kısa dikencikli, imbrikat, linear veya lanseolat, uç kısımları dikensiz veya kısa dikencikli, dik veya geri kıvrık, gevşekten adpressed'e kadar. Reseptakulum palealı. Çiçekler hermafrodit; korolla leylaktan morumsuya kadar, 5 loblu, stigma iki parçalı. Akenler dar obpiramidal, tetragonal, tepesi kesik, pappus tabanı etrafında taçlı, umbolu. Pappus tüyleri skabroz, barbellat veya plumoz, en içteki 2-4 tanesi daha uzun ve daha geniş. Kromozom sayısı 2n=34. Polenler prolat, subprolat ve prolat-küremsi tipte (Doğan 2007).

Jurinea cinsinin Uluslararası Botanik Adlandırma Koduna (2001) göre bitkiler alemindeki yeri aşağıdaki gibidir (Doğan 2007).

Alem (Regnum) Vegetabile (Bitkiler alemi)
Bölüm (Divisio) Spermatophyta (Tohumlu Bitkiler)
Sınıf (Classis) Dicotyledoneae (Çift Çenekliler)
Takım (Ordo) Asterales
Aile (Familia) Asteraceae
Cins (Genus) *Jurinea*

Türkiye *Jurinea* Cinsi Taksonlarının Listesi

Endemik türler

- *J. alpigena* C. Koch
- *J. cadmea* Boiss.
- *J. pontica* Hausskn. & Freyn ex Hausskn.
- *J. brevicaulis* Boiss.
- *J. cataonica* Boiss. & Hausskn.
- *J. ancyrensis* Bornm.

Endemik olmayan türler

- *J. consanguinea* DC.
- *J. tortumensis* A. Duran & B. Dogan *sp.nov.*
- *J. mollis* (L.) Rchb.
- *J. macrocalathia* C. Koch.
- *J. turcica* B.Dogan & A.Duran *sp.nov.*
- *J. pulchella* DC.
- *J. kilaea* Azn.
- *J. stoechadifolia* DC.
- *J. cypria* Boiss.
- *J. macrocephala* DC.
- *J. aucheriana* DC.
- *J. ramulosa* Boiss. & Hausskn.

2.1.3. *Jurinea consanguinea* DC.

Çok yıllık, otsu, gövde 30-50 cm, dik, tabanda 1-3 mm çapında, seyrek araknoit tüylü, basit veya nadiren dallanmış, tabanı yünsü tüylü. Taban yaprakları genellikle pinnatisekt veya nadiren tam, 4-14 x 3-5 cm, uç kısımları genellikle mukronulat, kenarları geriye kıvrık, yaprak üstü yeşil, sapsız salgı tüylü ve seyrek araknoit tüylü, altı

beyaz yünsü araknoit tüylü, orta damar belirgin; gövde yaprakları daha küçük, linear-lanseolat, 2-5 x 1-2 cm. Kapitula uzun gövdeler üzerinde tek, 2-3 x 1.8-2.5 cm. İnvolukrum yarı-küremsi, 1.5-3 x 1.6-1.8 cm; fillariler 5 seri, lanseolat, patentten adpresed'e kadar, uçları geri kıvrık değil, kenarları küçük dişli, dış fillariler 4-7 x 1- 1.8 mm, sırtı araknoit tüylü; iç fillariler 13-15 x 1.5-2 mm, tüysüz; palealar sarımsı, linear, 3-5 mm, bazıları iki-üç dişli. Korolla leylak, morumsu-kırmızımsı, 5 loblu, loblar 3.5-4 mm, dışı salgı tüylü, tüp uzunluğu 11-13 mm. Stamen 11-17 mm; anter 6-10 mm. Stilus 17-19 mm. Stigma stamenden 1.5-2 mm daha uzun, iki parçalı. Aken düz, boyuna çizgili, 3-5 mm, kirli beyaz, taçlı, umbolu; pappus barbellat, kirli beyaz, 6-8 mm (Doğan 2007).

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Ağustos

Kromozom sayısı: 2n=34

Yetişme ortamı: Step, ormanlıklar, kayalıklar

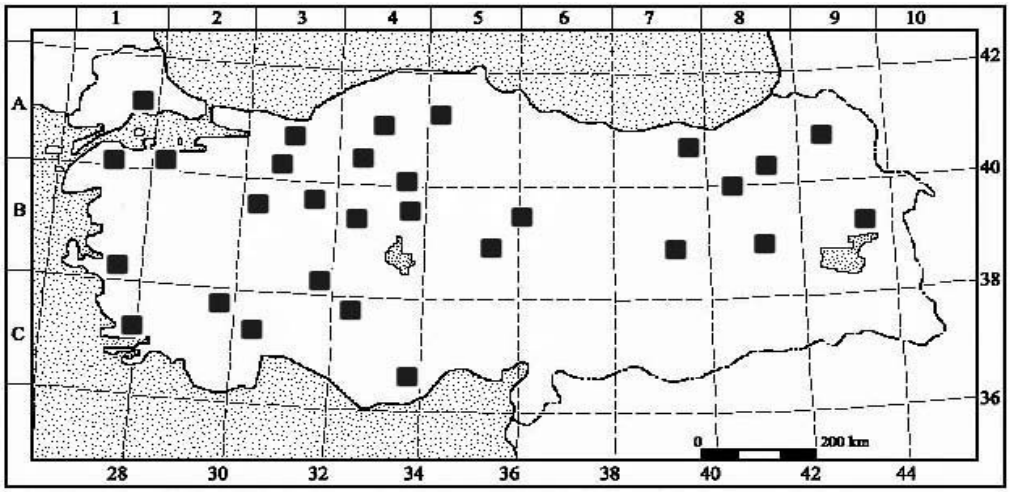
Hayat formu: Hemikriptofit

Yetişme yükseltisi: 1-1950 m.

Tehlike kategorisi: VU (Vulnerable): Zarar görebilir

Endemizm durumu ve yayılışı: Türkiye, Bulgaristan, Yunanistan. Endemik değil.

Fitocoğrafik bölgesi: Çok bölgeli, Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Doğu Akdeniz (Doğan 2007)



Şekil 2.1.3: *J. consanguinea*'nın Ülkemizdeki Dağılışı

2.1.4. *Jurinea* Cinsi İle Yapılan Çalışmalar

Safranova (1993), Mangyshlak florasıyla ilgili yaptığı çalışmada *Jurinea tenuiloba*'nın da içinde bulunduğu 9 endemik türün ekolojik özelliklerini açıklamıştır.

Sekar ve Srivastava (2005), Himachal Pradesh Pin Vadisi Milli Parkı'nda yaptıkları çalışmada *Jurinea dolomiaea* gibi afrodizyak olarak kullanılan bitkilerin hazırlanma tarzları ve dozajları ile ilgili bilgiler vermişlerdir.

Dobriyal ve arkadaşları (1997), Kuzeybatı Himalaya'daki tıbbı bitki kaynakları ile ilgili yaptıkları çalışmada bu bitkilerin geleneksel kullanımlarını, ekonomik değerlerini ve yararlarını saptamışlardır. *J. macrocephala* türünün ekonomik öneme sahip olduğu ve ilaç sanayinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Kashin ve arkadaşları (2007), antropogenetik faktörlerin etkisi altında Asteraceae familyasına ait türlerin populasyonunda tohum çoğaltma özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada Saratov bölgesindeki doğal populasyondaki türlerin bir kısmı üç çiçek rejimi altında analiz edilmiştir. Çalışılan bitkiler içerisinden *J. cyanoides* türünde apomiktik tohum oluşumu görülmüştür. Ayrıca gametofitik apomiksis ilk kez *J. cyanoides*'inde içinde bulunduğu birkaç türde görüldüğü kaydedilmiştir.

Everest ve Rauss (2004), Mersin Kozlar yaylası florasını araştırmıştır. Bu çalışmada *J. cypria* gibi bazı yeni tür kayıtları bildirilmiştir.

Saday (2005), *J. kilaea* Azn., *J. consanguinea* DC. ve *J. mollis* (L.) Reichb. türlerinin morfolojik, palinolojik ve anatomik özelliklerini araştırmıştır.

Doğan (2007), yaptığı çalışmada ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren *Jurinea* Cass. cinsine ait türlerin morfolojik, karyolojik, palinolojik ve moleküler özelliklerini araştırmıştır. Ayrıca tür teşhis anahtarı ve betimleri yapılarak habitat özellikleri, IUCN kategorileri ve coğrafik yayılışları verilmiştir.

Literatür çalışmalarında *Jurinea* cinsiyle ilgili az sayıda fitokimyasal çalışmanın yapıldığı (Adekenov vd. 1991, Rustaiyan vd. 1991, Sakirov vd. 1982), biyolojik araştırmaların ise yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında *Jurinea consanguinea*'nın antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktiviteleri ilk kez incelenmiştir.

2.2. Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve böylece canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir. Bu durum "Oksidatif Stres" şeklinde ifade edilmektedir (Boğa 2007).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller ve oksidatif stresin baş sorumluları, reaktif oksijen ve azot türleridir (Boğa 2007). Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) normal hücre metabolizması yan ürünleridir ve düşük konsantrasyonlarda patojenlere karşı savunmada hücresel sinyal iletiminde çeşitli fizyolojik rollere sahip oldukları bilinmektedir (Dastmalchi vd. 2008).

Reaktif oksijen ve azot türleri radikalik ve radikalik olmayan türleri içermektedir. Radikalik oksijen türlerine, süperoksit anyon ($O^{\cdot}{}_2^{-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksit ($HOO^{\cdot}$) ve alkoksi ($RO^{\cdot}$) radikalleri; azot türlerine, azot monoksit ($NO^{\cdot}$) radikalleri örnek verilebilir. Radikalik olmayan oksijen türlerine ise, hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) ve singlet oksijen ($^1O_2$); azot türlerine ise, nitröz asit (HNO_2), nitrozil katyonu (NO^+) ve nitroksi anyonu (NO^-) örnek olarak verilebilir. Ayrıca bu radikallerin yanı sıra tiyol radikalleri ($RS^{\cdot}$) ve karbon merkezli radikaller de mevcuttur (Boğa 2007). Bunlarında en etkin olanları süperoksit ($O_2^{\bullet -}$) ve hidroksil ($HO^{\bullet}$) radikalleridir. Bu radikallerin kaynaklarını endojen (iç faktörler) ve eksojen (dış, çevre faktörleri) kaynaklar olarak iki gurupta toplayabiliriz (Temür 2006).

1. Endojen kaynaklar:

- Mitokondrial elektron transport zinciri
- Otooksidasyon reaksiyonları
- Enzim reaksiyonları
- Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelyal hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar (Temür 2006).

2. Eksojen Kaynaklar:

- Diyet faktörleri
- İlaçlar
- Sigara dumanı
- İyonize radyasyon
- UV Işık
- Kimyasal karsinojenler (Temür 2006).

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan, başka moleküller ile çok kolay elektron alışverişine girebilen moleküllerdir (Çavdar vd. 1997). Serbest radikaller, kronik ve dejeneratif hastalıklar, yaşlılığa bağlı, koroner kalp hastalıkları, felç, diyabet, enflamasyon ve kanser gibi çeşitli hastalıkların nedeni olarak bilinmektedir. Süperoksit anyonu ($^{\cdot}O_2^-$), hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen ($^1O_2$) gibi serbest radikalleri içeren serbest oksijen türleri (ROS), biyolojik membranlardaki doymamış yağ asitlerinin perokdisasyonunu başlatabilir ve hücresel hasara neden olabilirler. Doku hasarına neden olan ROS insan vücudunda DNA hasarı, protein hasarı ve önemli enzimlerin oksidasyonuna neden olabilirler. Bu olaylar serbest radikallerle alakalı çeşitli hastalıkların oluşmasıyla sonuçlanabilmektedir (Wu ve Ng 2008).

Canlı organizmanın, serbest radikallerin etkisinden korunması için, antioksidatif koruma sistemine sahip olduğu bilinmektedir (Bilaloğlu ve Harmandar 1999). Antioksidanlar, oksidasyonu başlangıç ve/veya gelişme basamağında önleyen veya geciktiren maddelerdir. Canlı organizmalarda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik, yaşlanmayı

geciktirici gibi birçok etki canlılardaki antioksidan özellikteki maddelerden kaynaklanır. Antioksidan maddelerin eksikliğinde reaktif oksijen ve azot türleri kanser, diyabet, kireçlenme, Parkinson, AIDS, beyin ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olurlar (Öztürk 2008).

Antioksidanların insan sağlığındaki başlıca etkisi serbest radikal süpürücü ve zincir kırıcı mekanizmalarla ortaya çıkar. Antioksidanlar hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesiyle stabilize olur. Bu nedenle antioksidan moleküller yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşırlar (Diri 2006).

Antioksidanlar doğrudan metabolizmada etkin olabildiği gibi beslenme yoluyla da alınabilirler. Bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Meyve ve sebzeler, baharatlar, bitkisel çaylar ve yağlı tohumların içermiş oldukları antioksidan bileşikleri pek çok çalışmaya konu olmuş ve antioksidan etkilerinin fenolik bileşiklerden ve özellikle de flavonoit yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir (Diri 2006).

Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoitler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoitlerdir. Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin proteini de antioksidan özellik gösterirler (Öztürk 2008).

Çok sayıda klinik ve epidemiyolojik çalışma bol meyve sebze tüketiminin kalp-damar bozuklukları, kanser, diyabet gibi kronik hastalıkların gelişme riskini azalttığı (Dastmalchi vd. 2008), Parkinson, Alzheimer ve iltihaplı hastalıkların yanısıra yaşlanma ile oluşan tüm hücresel sorunların önlenmesinde etkin rol oynadığını ortaya koymuştur (Diri 2006, Öztürk 2008).

Diğer taraftan sentetik antioksidanlar gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır. Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır (Öztürk 2008).

2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

- Folin Ciocalteu Fenol Reaktifiyle Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi
- β-Karoten Renk Açılım Yöntemi
- DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- ABTS Yöntemi
- CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)
- FRAP Yöntemi (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü)
- Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi
- TRAP Yöntemi (Toplam Radikal Tutma Parametresi)
- Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)
- Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi
- ORAC Yöntemi (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi)
- Siklik Voltametri Yöntemi

2.4. Alzheimer Hastalığı, Asetilkolin ve Kolinesterazlar

İnsan yaşamı uzadıkça, yaşlılığa ait sorunlar önem kazanmakta ve bu durum toplumları hem sosyal, hem de ekonomik yönden olumsuz etkilemektedir. Demans (halk arasındaki adı ile bunama), günlük yaşam işlevlerinin sürdürülmesini engelleyen ilerleyici bir beyin hastalığı olup, bellek kaybı, günlük yaşamın gereksinimlerini yerine getirmede zorlanma; algılamada, toplumsal davranışların düzenlenmesinde ve duygusal tepkilerin kontrolünde bozulma gibi sık karşılaşılan belirtilerle tanımlanmaktadır. Kesin bir tedavisi olmayan demansın birçok tipi olmasına rağmen, Alzheimer hastalığı en sık görülen tipidir (Orhan vd. 2002). Bugün dünyada 20 milyona yakın insanın Alzheimer hastalığına yakalandığı tahmin edilmektedir (Orhan 2002). Alzheimer hastalığı, demans durumundaki 65 yaş üzeri kişilerde % 50-60 oranında görüldüğü tahmin edilen, öncelikle yaşlı nüfusu etkileyen ve halk sağlığı açısından çok önemli bir hastalıktır (Howes vd. 2003).

İlk kez 1907 yılında Alman doktor Alois Alzheimer tarafından tanımlanan Alzheimer hastalığı (AD) (Orhan 2002); ilerleyen hafıza kaybı ve bilişsel bozulma ile karakterize edilen nörodejeneratif bir hastalıktır.

Alzheimer hastalığı'nın sebebi tam olarak anlaşılamamıştır, fakat beynin bazı bölgelerinde ciddi bir kolinerjik nöron kaybı söz konusudur. Güncel klinik strateji, antikolinesteraz inhibitörleri kullanarak AD hastalarının kötüye gidişini yavaşlatmak şeklindedir (Lin vd. 2008). Hastalığın oluşma mekanizmalarından birisinin, beyin ve korteksteki sinir uçlarından salınan asetilkolin adlı nöromediyatörün yetersizliğinden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Orhan vd. 2002). AChE'nin başlıca rolü kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh)'in hızlı hidroliziyle sinir impulsunu sonlandırmaktadır (Mukherjee vd. 2007). Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri bu nöromediyatörü salındığı sinir ucunda hidroliz yoluyla parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmek suretiyle, asetilkolin miktarının azalmasını engelleyen ilaçlardır (Orhan vd. 2002). AChE inhibisyonu Alzheimer hastalığı, bunama, ataksi, myastenia gravis ve Parkinson hastalığının tedavisinde bir strateji olarak hizmet etmektedir (Mukherjee vd. 2007).

İnsan beyninde iki kolinesteraz yer almaktadır; 7. kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanan asetilkolinesteraz (AChE) ve diğeri 3. kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanan butirilkolinesteraz (BChE). Enzimler aminoasit dizilimleri % 65 oranında birbirlerine benzemesine rağmen farklı genler üzerinde kodlanırlar (Savelev vd. 2004, Şahin 2002). AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince anlaşılmış değildir. Normal beyinde sinaptik asetilkolin hidrolizinin esas olarak AChE tarafından yapıldığı, BChE'nin buna çok az katkısının olduğu kabul edilmektedir. Beyindeki kolinesteraz aktivitesinin % 80'inden AChE, geriye kalan % 20'inden BChE'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Şahin 2002).

Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde en yararlı sonuçların alındığı tek ilaç grubu olarak, asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri belirtilmektedir. Ancak bu grup ilaçların sadece hafif ve orta şiddetteki Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılabilmeleri ve yan etkileri, hastalığın tedavisi için yeni anti-Alzheimer ilaçların bulunmasını gerekli hale getirmektedir (Orhan vd. 2002).

2.5. Antimikrobiyal Maddeler

20. yüzyılın başlarına kadar insan organizmasına zarar vermeden mikroorganizmaları etkilemenin imkansız olduğu düşünülüyordu. M.Ö 2500 yıllarında bilincinde olmadan antimikrobik tedavi yöntemleri kullanılmış ve bu devirde enfeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanılan bitki kökleri, şarap ve küf gibi maddeler olumlu sonuçlar vermiştir (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

1600'lü yıllarda Güney Amerika'da, insanlar *Cinchora* bitkisinin kabuğunu yiyerek sıtmadan korunmuşlar, ipeka bitkisinin kök ekstresini kullanarak amipli dizanteri hastalığını tedavi etmişlerdir. *Cinchora* bitkisinin kabuğunda kinin, ipeka bitkisinin köklerinde ise emetin bulunduğu belirlenmiştir. 20. yüzyıldan itibaren patojen mikroorganizmalar hakkında bilgiler arttıkça enfeksiyon hastalıkları ile savaş da bilinçli olarak sürdürülmüştür (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

1854-1915 yılları arasında Paul Ehrlich, bir arsenik bileşiği olan arsfenamin ile sifilizi, tripan kırmızısı boyası ile Afrika uyku hastalığını tedavi etmeyi başarmıştır. 1927 yıllarında Almanya'da kimya endüstrisi alanında çalışan Gerhard Domagk ve ekibi, çeşitli boyaların patojen bakterilere etkinliğini ve hayvanlardaki toksik etkisini araştırmaları sırasında, deri boyamada kullanılan prontosil kırmızısı adlı boyanın hayvanlara toksik olmadığını, stafilokok ve streptokoklara etkili olduğunu saptamışlardır ve bu bulgunun 1935 yılında yayınlanmasından bir yıl sonra prontosil kırmızısının vücutta sülfanilamide dönüştüğü ve antibakteriyel aktiviteyi bu maddenin sağladığı anlaşılmıştır (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

1929 yılında S. Alexander Fleming tarafından bulunan ve bu yıllarda toksik etkileri nedeniyle kullanım alanına giremeyen penisilin 1940 yılında kullanılır hale Ernest Chain ve Howard Florey tarafından getirilmiştir. Penisilin 2. Dünya Savaşı'nda yara enfeksiyonlu birçok askerin hayatını kurtarmıştır. Son yıllarda antibakteriyel etki alanı daha genişlemiş ve toksik etkisi az olan, mikroorganizmaları öldürücü ya da mikroorganizmaların üremesini durdurucu etki gösteren birçok antibiyotik ve antibiyotiklerle benzer özelliklere sahip olup tümüyle sentetik olan (kimyasal yolla sentez edilen) kemoterapötik maddeler üretilmiştir (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

2.6. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri

Antimikrobiyal maddeler etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısının az ya da çok oluşuna bağlı olarak, dar ya da geniş spektrumlu şeklinde tanımlanır. En dar spektrumlu maddeler enfeksiyona neden olan mikroorganizma üzerine etkili ve tedavide ideal antimikrobiyal maddeler olarak kabul edilir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler konağın doğal bağışıklığında önemli rol oynayan ve ekolojik dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozar. Fakat birçok patojenin birlikte etken olduğu enfeksiyonlarda ya da mikrobiyoloji laboratuarı sonuçlarının beklenemeyeceği

acil durumlarda geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler (karbapenemler, kinolonlar, vb.) kullanılır (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

Bazı bakteri ve mantar türleri tarafından oluşturulan, mikrobisit veya mikrobiyostatik etki gösteren maddelere antibiyotik denir. Mikrobisit maddeler mikroorganizmaları öldürücü, mikrobiyostatik maddeler ise mikroorganizmaların üremesini durdurucu etki gösterirler (Akyüz 2007, Burnaz 2007).

2.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Bunun için de, o hastalıkta etken mikroorganizmanın antimikrobiyal maddeye karşı gösterdiği duyarlılık deneyi sonuçlarından faydalanılır. Antimikrobiyal aktivite, mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitenin varlığının ve derecesinin belirlenmesiyle tayin edilir (Hacıoğlu 2005). Mikroorganizmaların antimikrobiyal madde duyarlılığı, temelde iki farklı tayin yöntemi ile belirlenebilir (Akyuz 2007, Burnaz 2007).

- Dilüsyon Yöntemi
- Difüzyon Yöntemi

Dilüsyon yöntemi; antimikrobiyal maddenin sıvı veya katı besiyerlerinde (agarlarda) bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesidir. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) inkübe edilir (Burnaz 2007). Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon bulanıktır. Antimikrobiyal madde konsantrasyonun inhibitör düzeye eşit veya daha yüksek olduğu tüplerde ise buyyon berraktır. Üremeyi baskılayan en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) olarak kabul edilir. Sıvı

besiyerinde sulandırma yöntemleri tüpte uygulanıyorsa, makro (tüp dilüsyon), mikrotitrasyon plaklarında küçük hacim kullanılarak uygulanıyorsa, mikrodilüsyon olarak adlandırılır (Hacıoğlu 2005).

Difüzyon yönteminin prensibi, test materyalinin agarda difüze olmasına ve difüze olduğu mesafe kadar test mikroorganizmalarını inhibe etme esasına dayanır. Bu yöntemin birbirinin yerine geçebilir tarzda kullanılan, disk difüzyon ve çukur agar difüzyon yöntemleri olarak adlandırılan iki alt grubu vardır (Çakır ve Yıldırım 2008).

Çalışma prensipleri arasında belirgin bir fark olmayan bu iki yöntemde sadece test edilecek olan materyallerin agar üzerine yerleştirilmeleri farklıdır. Çukur agar testinde değerlendirilecek olan madde agar üzerinde açılan standart çukurlara yerleştirilirken, disk difüzyon testinde emdirildikleri kağıt diskle birlikte agar yüzeyine yerleştirilirler (Çakır ve Yıldırım 2008).

Antibiyotikler genellikle kağıt disklere belli konsantrasyonlarda emdirilir ve bunlar antibiyotik kaynağı olarak kullanılır. Bu yöntem “disk-difüzyon” (Kirby-Bauer) yöntemi olarak adlandırılır (Akyuz 2007, Burnaz 2007).

Disk difüzyon yönteminde; belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Böylece, diskteki antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı (inhibisyon zonu) oluşur. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli seklinde duyarlılık kategorisi belirlenir (URL-2).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Jurinea consanguinea DC. 10.05.2008 tarihinde Edirne'den (Meriç, Subaşı Beldesi merası) toplandı ve Yrd. Doç. Dr. Çiler MERİÇ tarafından teşhis edildi. Bitki örneği Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryumu'nda EDTU 9651 kodu ile saklanmaktadır.

3.2. Test Bakterileri

Bu araştırmada 5 standart bakteri suşu kullanıldı. Kullanılan standart bakteri suşları Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bakteriyoloji Laboratuvarından temin edildi. Kullanılan bakteriler ve kodları Tablo 3.2'de verildi. Test edilen her bir bakteri türünün hassasiyetini belirlemek ve kullanılan yöntemin kontrolü için ofloksasin standart antibiyotik diskleri kullanıldı.

Tablo 3.2. Kullanılan Bakteriler ve kodları

Bakteri	**Bakteri Kodu**
Bacillus subtilis	ATCC6633
Klebsiella pneumoniae	ATCC33495
Proteus vulgaris	ATCC13315
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853
Staphylococcus aureus	ATCC25923

Bacillus subtilis: *B. subtilis* sporları doğada yaygındır. Yaklaşık 1,5-3 μm boy ve 0,5-0,8 μm eninde (Bilgehan 1992), kirpikli bir basil olduğu için hareketli, sporları oval ve subterminaldir. Kapsülsüz, gram pozitif (+), aerop, oda sıcaklığı (Bilgehan 1992, URL-1) ve zenginleştirilmiş besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilen, R tipi koloniler yapan saprofit bir bakteridir. Toprak, su ve çeşitli gıdalarda bulunur. *B. subtilis*' den elde edilen subtilin adı verilen maddenin bazı bakterilere karsı inhibitor etki gösterdiği belirlenmiştir. Bakteri doğrudan doğruya doku ve özellikle göz içerisine (URL-1) girmesi sonucunda panoftalmi, iridoksilit gibi göz yangıları meydana getirebilir. *B. subtilis*'in besin zehirlenmesi yaptığından da şüphelenilmektedir (Bilgehan 1992). Sütlü içeceklerin, ekmeğin, sebze ve meyvelerin bozulmasında da etken olmaktadır (URL-1).

Klebsiella pneumoniae: Bu bakteriler polisakkarit (Erecevit 2007) yapısında kapsüllü, hareketsiz, sporsuz (Bilgehan 1992), kısa ve uçları yuvarlak 1,2 μm boyunda ve 0,5-0,8 μm eninde gram negatif (-) basillerdir (Erecevit 2007). *K. pneumoniae* aerob ve fakültatif anaerob özellik gösterebilen, 37 ºC ve pH 7' de iyi üreyen bakterilerdir. Doğada yaygın olarak bulunan bu bakteri; kuruluğa dirençli, sıcaklığa dayanıksızdır. *Klebsiella pneumoniae* bakterileri, oda sıcaklığında haftalarca ve 4 ºC de aylarca canlı kalabilirler. İnsanların % 5 inin bağırsak florasında ve üst solunum yolu florasında (Bilgehan 1992) bulunan bir bakteri olduğu için patojenliği, uygunsuz koşullarda fırsatçı patojen olarak açığa çıkar. *Klebsiella* özellikle 2 yaş altı ve 40 yaş üstü kişilerde vücut direncinin kırılması, virutik üst solunum yolu enfeksiyonları sırasında pnömonilere neden olur (Erecevit 2007).

***Proteus vulgaris*:** Bu gruptaki bakteriler değişik büyüklükte bol kirpikli (Bilgehan 1992), sporsuz, kapsülsüz, çok hareketli gram negatif (-) basillerdir (Bilgehan 1992, Hacıoğlu 2005). Bağırsak bakterilerinin genel karakterini gösteren bakterilerdir. En önemli özelliği katı besiyerinde yayılarak üremesidir. Hastane ortamında gelişen çeşitli enfeksiyonlar meydana getirir. Ağır ve parçalanmış yaralarda bulunmaları hem

enfeksiyonu ağırlaştırır hem de tetanos ve gazlı kangren etkenlerinin üremesini kolaylaştırarak bunların enfeksiyonlarının gelişmesine yol açar (Hacıoğlu 2005). Özellikle yeni doğan çocuklarda göbek kordonu enfeksiyonlarından kaynak bulan sepsis ve menenjit bazen epidemiler halinde görülebilir (Bilgehan 1992, Hacıoğlu 2005). Proteus cinsi üyeleri genellikle üreaz enzimi üreten bakterilerdir. Genellikle insanlarda idrar yolları enfeksiyonlarına bazen de enteritise neden olurlar. Aktif şekilde üreyi parçaladıkları için böbrek enfeksiyonlarına da sebep olabilmektedirler (Hacıoğlu 2005).

***Pseudomonas aeruginosa*:** 0,6–2 μm uzunluğunda (Hacıoğlu 2005), gram negatif (-) basillerdir. Polar konumlu flagelları ile hareketlidirler. Tek tek, çift veya kısa zincirler halinde bulunabilirler (Bilgehan 1992, Hacıoğlu 2005). Bakterinin çevresinde ekstrasellüler polisakkarit yapıda bir tabaka bulunur. Fermantasyon yapamaz, glikozu okside edebilir. Çok az miktarda besin maddesi içeren nemli ortamlarda aerop üreyebilen bir bakteridir. Üreme sıcaklığı optimum 37 ºC' dir. Doğada oldukça yaygındır. İnsan ve hayvan bağırsağında bulunmaktadır (Hacıoğlu 2005). *P. aeruginosa* karakteristik olarak mavi-yeşil bir pigment oluşturur ve mavi cerahat yaparlar. Fırsatçı patojen bir bakteri olduğundan uygun şartlar altında özellikle direnci kırılmış konakçılarda yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, göz enfeksiyonları, septisemi, bronşit ve bronkopnömoni gibi çeşitli hastalıklara yol açar. Ayrıca *P. aeruginosa*, önemli bir denitrifiye edici bakteri olarak doğadaki azot devrinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu mikroorganizma yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençlidir. Bu direnç bakterilerin hücrelerinde bulunan R plazmitleri üzerindeki genlerle sağlamaktadır. Hastane çevrelerinde yaygın olarak bulunan bu organizma tedavi gören hastaları da enfekte etmektedir (Bilgehan 1992, Hacıoğlu 2005).

***Staphylococcus aureus*:** Küçük, yuvarlak, oval şekilli gram pozitif (+) koklardır. Bilinen basit besiyerlerinde ve optimum 37 ºC'de üreyebilirler. Fakültatif anaerop türlerdendir. Doğada oldukça yaygındır; tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan deri, burun mukozası, ağız ve nazofarink florasında bulunur. Gıdalarda geliştiğinde

insan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda geniş çapta besin zehirlenmesine neden olmaktadırlar. *S. aureus* çok sayıda endotoksin oluşturur. Bunlardan biri koagülaz olup fibrinleri koagüle eder ve pıhtılaşmasına neden olur. Endotoksinler merkezi sinir sisteminde etkili olarak yoğun kusmalarla birlikte gastrointestinal hastalıklara neden olurlar. *S. aureus* sarı pigmentlidir. Çıban, sivilce gibi deri-mukoza lokalizasyonları ve zatürree, osteomiyelit, menenjit, artritis gibi çok sayıda sistem ve organ enfeksiyonlarına neden olur (Bilgehan 1992, Hacıoğlu 2005). *S. aureus* bakterilerinin, günümüz için en önemli yönleri, kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır (Hacıoğlu 2005).

3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler, Çözeltiler ve Besiyeri

3.3.1. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Besiyeri

β-karoten, Tween-40 (polioksietilensorbitan monopalmitat), lineloik asit, kersetin, pirokatekol, Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi (FCR), 1,1-difenil-pikrilhidrazil (DPPH), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), α-tokoferol (TOC), sodyum karbonat, alüminyum nitrat, potasyum asetat, asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, galantamin, 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)(DTNB), asetilkolin iyodür ve butirilkolin iyodür Sigma'dan, nikotinamit adenindinükleotit (NADH), nitrobluetetrazolyum (NBT), fenazinmeta-sülfat (PMS) ve tris(hidroksimetil) aminometan hidroklorür (Tris) Fluka'dan, petrol eteri, kloroform, etanol, metanol Riedel'den, hidroklorik asit, sülfürik asit, dimetilsülfoksit, baryum klorür ve sodyum fosfat Merck'ten temin edildi. Nutrient agar Acumedia'dan, sodyum klorür J. T. Baker'den temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.3.2. Çözeltilerin ve Besiyerinin Hazırlanması

3.3.2.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.2.1.1. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- %2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 0,2 g Na_2CO_3 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi: (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + $CuSO_4$) satın alındığı şekilde kullanıldı.
- Pirokatekol çözeltisinin hazırlanması: 10 mg pirokatekol 100 mL'lik balon joje içinde tartıldı ve sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

3.3.2.1.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- %10'luk Alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 1,76 g $Al(NO_3)_3.9H_2O$ 10 mL'lik bir balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- 1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0,9815 g potasyum asetat 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.
- Kersetin çözeltisinin hazırlanması: 25 mg kersetin tartıldı ve 25 mL deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

3.3.2.1.3. β-Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

- β-Karoten reaktifinin hazırlanması: 0,2 mg β-karoten 1 mL kloroformda çözüldü. Daha sonra bu karışım bir balon jojeye aktarıldı. Üzerine 200 µL Tween-40 ve 20 µL lineloik asit ilave edip karıştırıldı. Vakum altında kloroform uçurulduktan sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

3.3.2.1.4. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

- 0,1mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 mL etil alkolde çözüldü.

3.3.2.1.5. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

- 16 mM pH: 8 Tris-HCl tamponunun hazırlanması: 0,1938 g Tris bir miktar suda çözüldükten sonra 0.1 M'lık HCl ile pH metre kullanılarak pH'ı 8'e getirildi. Son hacmi 100 mL'ye deiyonize su ile tamamlandı.
- 78 µM NADH çözeltisinin hazırlanması: 2,8 mg NADH tartılarak 50 mL Tris-HCl tamponu (pH 8) ile çözüldü.
- 10 µM PMS çözeltisinin hazırlanması: 6,1 mg PMS tartılarak 10 mL Tris-HCl tamponu (pH 8) ile çözüldü. Daha sonra bu çözeltiden 50 µL alınarak Tris-HCl tamponu ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

- 50 µM NBT çözeltisinin hazırlanması: 4,1 mg NBT tartılarak 100 mL Tris-HCl tamponu (pH 8) ile çözüldü.

3.3.2.2. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- 0,1 M $Na_2HPO_4.2H_2O$ ve 0,1 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ çözeltilerinin hazırlanması: 8,890 g Na_2HPO_4 tartıldı ve 500 mL deiyonize su ile çözüldü. 1,56 g NaH_2PO_4 tartıldı ve 100 mL deiyonize su ile çözündü.

  pH 7 Tamponu: Hazırlanan 0,1 M $Na_2HPO_4.H_2O$ çözeltisinden 6,1 mL ve hazırlanan 0,1 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ çözeltisinden 3,9 mL alınarak karıştırıldı ve deiyonize su ile 20 mL'ye tamamlandı. pH metre ile pH 7 kontrol edildi.

  pH 8 Tamponu: Hazırlanan 0,1 M $Na_2HPO_4.H_2O$ çözeltisinden 94,7 mL ve hazırlanan 0,1 M $NaH_2PO_4.2H_2O$ çözeltisinden 5,3 mL alınarak karıştırıldı ve deiyonize su ile 200 mL'ye tamamlandı. pH metre ile pH 8 kontrol edildi.
- DTNB reaktifinin hazırlanması: 16 mg DTNB 1 mL pH 7 tamponunda çözüldü. 7.5 mg $NaHCO_3$ 1 mL pH 7 tamponunda çözüldü. Her iki çözelti karıştırılarak hacim pH 7 tamponuyla 4 mL'ye tamamlandı. Kullanılmadan önce pH 8 tamponuyla hacmi 8 mL'ye tamamlandı.
- Enzim çözeltisinin hazırlanması: 0,2 mg enzim (asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz ayrı yerlerde olmak üzere) 1 mL fosfat tamponunda (pH 8) çözüldü.
- Asetilkolin iyodür çözeltisinin hazırlanması: 16.4 mg asetilkolin iyodür 8 mL deiyonize suda çözülerek pH 8 tamponuyla hacmi 16 mL'ye tamamlandı.
- Butirilkolin iyodür çözeltisinin hazırlanması: 4 mg butirilkolin iyodür 8 mL deiyonize suda çözülerek pH 8 tamponuyla hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

3.3.2.3. Antibakteriyel Aktivite Tayininde Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler

- Besiyerinin hazırlanması: 11,5 g Nutrient agar tartıldı ve 500 mL distile su ilave edildi ve benmari yöntemiyle eritilerek hazırlandı. Otoklavda 121 ^{o}C 'da 15 dk steril edildi.
- 0,5 McFarland standart çözeltisinin hazırlanması: % 1'lik 99,5 mL H_2SO_4 ile % 1,18'lik 0,5 mL $BaCl_2$ karıştırılarak hazırlandı.
- Serum fizyolojik hazırlanması: 9 g NaCl tartıldı ve 1000 mL distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Otoklavda 121 ^{o}C 'da 15 dk steril edildi.

3.4. Aletler ve Diğer Gereçler

Döner Buharlaştırıcı (Rotaevaporatör) (BUCHI R-200)
Ultraviyole Spektrofometresi (UV-Vis), (Shimadzu UV–1601)
Elisa okuyucu (Moleculer Devices Spectra max 340PC)
Otomatik pipetler (2–20µL, 100–1000µL, 500–5000µL) (Eppendorf, Almanya)
Hassas terazi (Scaltec SBA 31)
Manyetik Karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)
pH-metre (Thermo, Orion three star, Amerika Birleşik Devletleri)
Hesap makinesi (CASIO fx-3950P)
Vortex (HARMONY Mixer uzusioVTX 3000L)
Ultrasonik su banyosu (Fisher Scientific FB 15051)
Su banyosu (Nüve BM 302)
Otoklav (Nüve OT 4060)
Steril kabin (Bilser)
Etüv (Thermo Heraeus B 12)
96 Kuyucuklu mikroplaklar
1cm'lik kuvetler
Balon jojeler, armudi cam balonlar, magnetler, pensler, dispozıbıl petriler, ekuvyon çubukları, cam tüpler, erlenler, şırıngalar, membran filtreler, boş antibiyotik duyarlılık diski, Ofloxacin antibiyotik diski.

3.5. Ekstrelerin Hazırlanması

*J. consanguinea'*nın toprak üstü kısımları (180 g) gölgede kurutulup toz haline getirildi. Daha sonra 50 g toz bitki petrol eteri (850 mL) ile masere (24 saat×3) edildi. 66,46 g bitki kloroform (1400 mL) ile ve 64,98 g bitki ise metanol (1750 mL) ile masere (24 saat×5) edildi. Elde edilen ekstrelerin isimleri, miktarları ve % verimleri Tablo 3.5.'de verilmektedir:

Petrol eteri ekstresi 1,1990 g, kloroform ekstresi 3,5835 g ve metanol ekstresi de 9,0083 g olarak elde edildi.

Tablo 3.5. *J. consanguinea'*dan Elde Edilen Ekstrelerin İsimleri, Miktarları ve (%) Verimleri

Bitki Materyali	Kullanılan Çözücüler	Ekstrelerin Adları	Ekstrelerin Kısaltmaları	Verimleri (%)
Jurinea consanguinea	Petrol eteri	Petrol eteri ekstresi	JC1	2,39
	Kloroform	Kloroform ekstresi	JC2	5,39
	Metanol	Metanol ekstresi	JC3	13,86

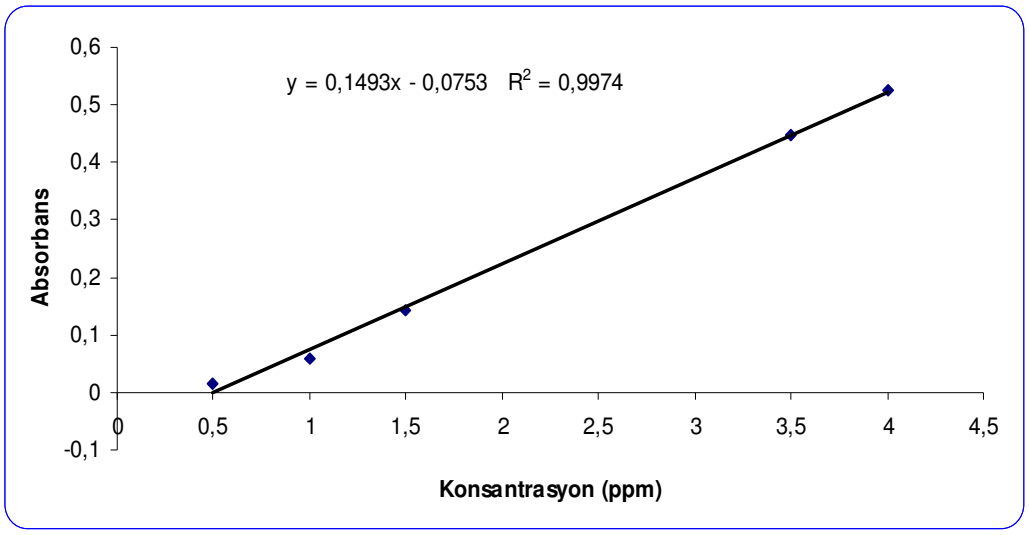
3.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarlarının Belirlenmesi

3.6.1. Toplam Fenolik Miktar Tayini

Toplam fenolik miktar FCR kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton 1977, Singleton vd. 1999). Tüplere 0-200 µL arasında değişen miktarlarda pirokatekol konuldu ve bunlar etanol ile 200 µL'ye tamamlandı. Bunun dışında farklı tüplere üçer paralel seri halinde 100 µL JC1, JC2, JC3 örneklerinden

konuldu. Daha sonra tüm örneklerin üzerine 100 µL etanol ilave edildi ve bu çözeltiler deiyonize su ile 4,6 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 100 µL FCR ve 3 dk sonra 300 µL % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden ilave edildi. Karşım 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik miktarları standart pirokatekol grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

Absorbans = 0,1493 pirokatekol (µg) – 0,0753 (R^2 : 0,9974)



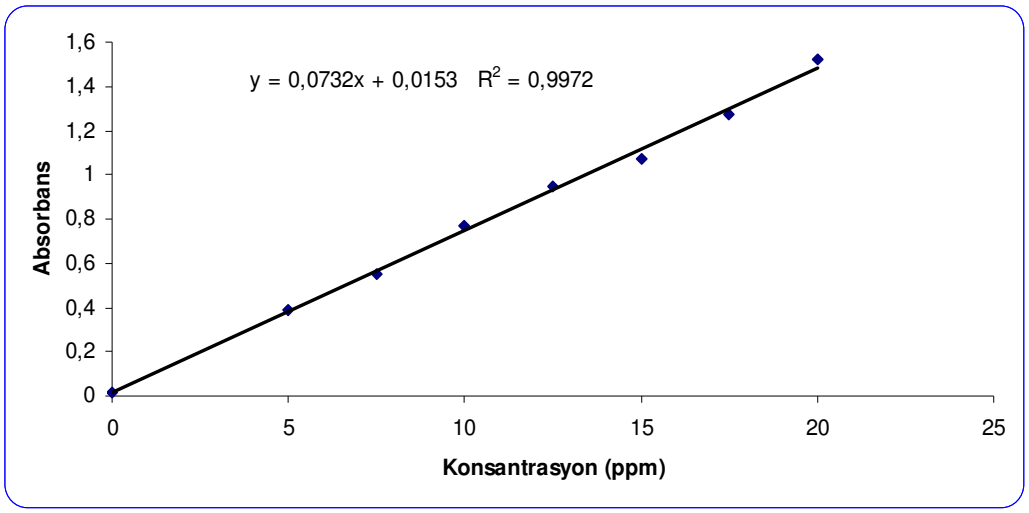
Şekil 3.6.1: Pirokatekolün Ölçü Grafiği

3.6.2. Toplam Flavonoit Miktar Tayini

Bitki ekstrelerinin toplam flavonoit miktarları kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat yöntemi ile belirlendi (Miller 1971). Tüplere 0-200 µL arasında değişen miktarlarda kersetin konuldu. Ayrıca farklı tüplere üçer paralel seri halinde 200 µL JC1, JC2, JC3 örneklerinden konuldu. Daha sonra tüm örnekler etanol ile 4,8 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 100 µL 1 M potasyum asetat eklendikten 1 dk sonra 100 µL % 10'luk alüminyum nitrat çözeltisinden ilave edildi. Karışımlar 40 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415 nm'de absorbansları okundu. Ekstrelerin toplam flavonoit

miktarları standart kersetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

Absorbans = 0,0732 kersetin (µg) + 0,0153 (R^2 : 0,9972)



Şekil 3.6.2: Kesretinin Ölçü Grafiği

3.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

3.7.1. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β-karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlendi (Miller 1971). Bu yöntem, β-karotenin renginin açılmasına dayanan bir yöntemdir. Son konsantrasyonlar 25, 50, 100, 200 µg/mL olacak şekilde örnek çözeltilerinin (her biri 10 µL) üzerine etanol (30 µL) ilave edilerek toplam hacmin 40 µL olması sağlandı, bunların üzerine 160 µL β-karoten karışımı ilave edildi. Karışımların 490 nm'de başlangıç absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak etanol kullanıldı. Tüpler 50 °C'de inkübasyona bırakıldı ve kontroldeki β-karotenin rengi

kaybolunca kadar (yaklaşık 120 dk) inkübasyona devam edildi. β-karoten renk açılım oranı (*R*), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t}$$

ln: doğal logaritma, *a*: başlangıç absorbansı, *b*: inkübasyondan sonraki absorbans, t: inkübasyon süresi (dk).

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$\text{AA}(\%\text{İnhibisyon}) = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \times 100$$

$R_{Kontrol}$ kontrolün renginin açılma hızı ve $R_{Örnek}$ örneğin renginin açılma hızıdır.

3.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bitki ekstrelerinin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois 1958). Son konsantrasyonlar 25, 50, 100, 200 µg/mL olacak şekilde örnek çözeltilerinin (her biri 10 µL) üzerine etanol (30 µL) ilave edilerek toplam hacmin 40 µL olması sağlandı, bunların üzerine DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Kontrol olarak etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{Kontrol} - A_{Örnek}}{A_{Kontrol}} \times 100$$

$A_{Kontrol}$ kontrolün absorbansı, $A_{Örnek}$ örneğin absorbansıdır.

3.7.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bitki ekstrelerinin süperoksit anyon radikali giderim aktiviteleri NADH-PMS-NBT sistemine göre belirlendi (Liu vd. 1997). Son konsantrasyonlar 25, 50, 100, 200 µg/mL olacak şekilde örnek çözeltiler (her biri 10 µL) hazırlandı. Bunların üzerine 70 µL Tris tamponundan, 40 µL NADH ve 40 µL NBT çözeltilerinden koyuldu. Reaksiyon 40 µL PMS'nin ilavesi ile başlatıldı. Kontrol olarak etanol kullanıldı. 5 dk sonra karışımın 560 nm'de absorbansı ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$O_2^{\bullet -} \text{ Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{Kontrol} - A_{Örnek}}{A_{Kontrol}} \times 100$$

$A_{Kontrol}$ kontrolün absorbansı ve $A_{Örnek}$ örneğin absorbansıdır.

3.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Mikroplakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH 8) konuldu. Daha sonra son konsantrasyonlar 25, 50, 100, 200 µg/mL olacak şekilde örnek çözeltilerinden 10 µL ve enzim çözeltisinden (AChE/BChE) 20 µL konuldu. Bu karışım 25 C°'de 15 dk süre ile inkübe edildi. Bu süre sonunda 20 µL DTNB reaktifi ve 20 µL substrat (asetilkolin iyodür/butirilkolin iyodür) her bir kuyucuğa ilave edildi. Mikroplaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda 10 dk sonunda absorbansları okundu. Standart olarak galantamin kullanıldı ve örneklerin absorbansları kontrol olarak kullanılan etanole karşı değerlendirildi (Ellman vd. 1961).

3.9. Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemi

3.9.1. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması

Bakteri kültürleri için besiyeri olarak Nutrient agar kullanıldı. Besiyeri steril olarak hazırlandı ve hazırlanan besiyeri 90 mm çaplı steril petri kaplarına 15 mL'lik miktarlarda döküldü.

3.9.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için disk difüzyon yöntemi kullanıldı (Ünal 2006). Daha önce hazırlanan bitki ekstreleri DMSO içerisinde çözünerek 20 mg/mL lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı (Erecevit 2007) ve bu çözeltiler membran filitreden (0,2 μm) geçirilerek steril edildi. Çözeltilerin 50μl lik miktarları 6 mm çaplı boş steril disklere (Oxoid) emdirildi (1 mg/disk) (Dülger vd. 1999, Dülger vd. 2002). Diskler 37 °C da kurutuldu ve kullanıldı. Pozitif kontrol olarak OFX=Ofloxacin (5 μg/disk) standart antibiyotik diskleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak da sadece çözücü maddenin emdirildiği diskler kullanıldı. Bakterilerin katı besiyerlerinde (plak kültür) üretilmiş, 18-24 saatlik taze kültürlerinden öze ile alınan koloniler serum fizyolojik içerisinde süspanse edildi ve McFarland 0,5 bulanıklık tüpleriyle kıyaslanarak 10^8 bakteri/mL lik dilusyon hazırlandı ve inokulum olarak da bu sulandırım kullanıldı. Nutrient agar içeren petrilerin yüzeyine ekuvyon çubuğu kullanılarak ekim yapıldı. Daha sonra diskler petrilere uygun şekilde yerleştirildi. Bakteriler 37 °C da 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvelle ölçüldü (Ünal 2006). Çalışma iki paralel yürütüldü ve sonuçların aritmetik ortalamaları alındı.

4. BULGULAR

Jurinea consanguinea'dan hazırlanan (JC1, JC2, JC3) ekstrelerinin antioksidan aktivite tayinleri, β-karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleriyle yapıldı. Ayrıca tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları da sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi.

*J. consanguinea'*dan hazırlanan (JC1, JC2, JC3) ekstrelerin antikolinesteraz aktivitesi Ellman yöntemine göre, antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemiyle belirlendi.

4.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktar Tayinleri Sonuçları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. *J. consanguinea'*nın metanol ekstresinin (JC3) toplam fenolik ve flavonoit miktarları açısından en zengin ekstre olduğu tespit edildi. JC1 ve JC2'nin fenolik madde içeriklerinin hemen hemen aynı olduğu belirlendi. Ayrıca tüm ekstrelerin (JC1, JC2, JC3) fenolik madde içeriğinin flavonoit madde içeriğine oranla daha fazla olduğu tespit edildi. (Tablo 4.1.)

Tablo 4.1. *Jurinea consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları [a]

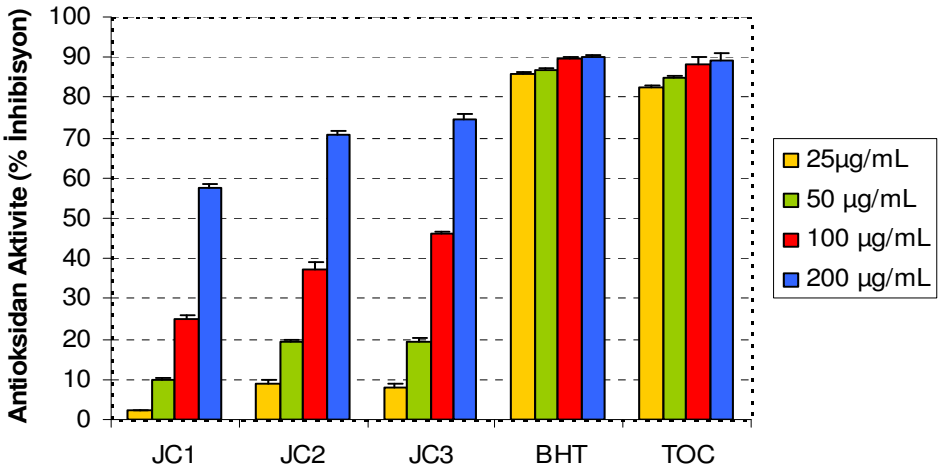
Ekstreler	Fenolik içerik[b] (µg Pes/mg ekstre)	Flavonoit içerik[c] (µg Qes/mg ekstre)
JC1	35,77 ± 0,74	6,07 ± 1,22
JC2	38,13 ± 1,98	15,53 ± 1,52
JC3	47,95 ± 1,18	31,76 ± 0,76

[a] Sonuçlar üç parallel testin ortalamasıdır, (p<0,05)
[b] PEs, Pirokatekole eşdeğer
[c] QEs, kersetine eşdeğer

4.2. Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.2.1. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi Sonuçları

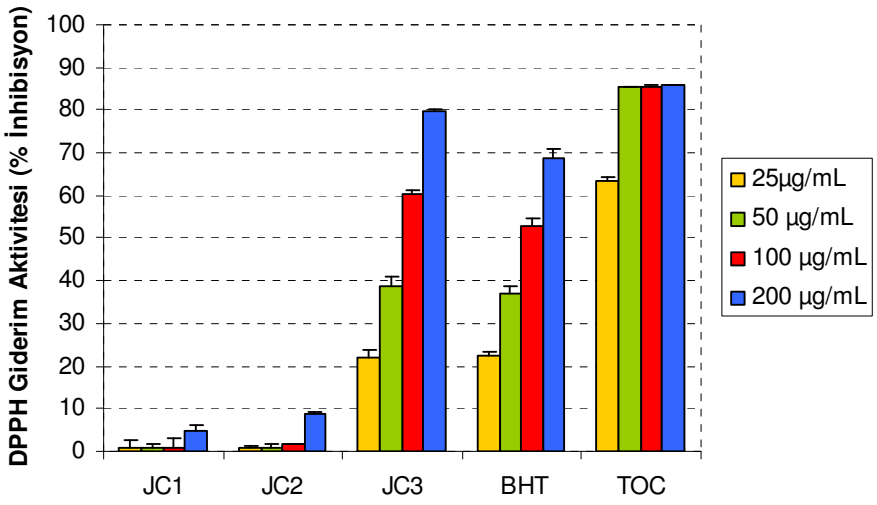
J. consanguinea bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan JC1, JC2 ve JC3'ün toplam antioksidan aktiviteleri β-karoten renk açılım yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 µg/mL) yapıldı. Bu yöntemde standart olarak BHT ve α-tokoferol kullanıldı. β-karoten renk açılım yönteminde JC1, JC2, JC3'ün 200 µg/mL konsantrasyonda % 50'nin üzerinde antioksidan aktivite gösterdiği fakat BHT ve α-tokoferolden daha düşük etkiye sahip oldukları belirlendi. Tüm konsantrasyonlarda en iyi aktiviteyi metanol ekstresinin gösterdiği tespit edildi. (Şekil 4.2.1.)



Şekil 4.2.1: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin β-Karoten Renk Açılım Yöntemi ile Toplam Antioksidan Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.2.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

J. consanguinea'dan hazırlanan 3 ekstrenin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 µg/mL) tayin edildi. Standart olarak kullanılan BHT ve α-tokoferole göre aktivite karşılaştırmaları yapıldı. Bu yöntemde, JC1 ve JC2'nin hiç aktivite göstermediği, ancak JC3'ün 25 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda BHT kadar, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda BHT'den daha yüksek etkiye sahip olduğu tespit edildi. (Şekil 4.2.2)

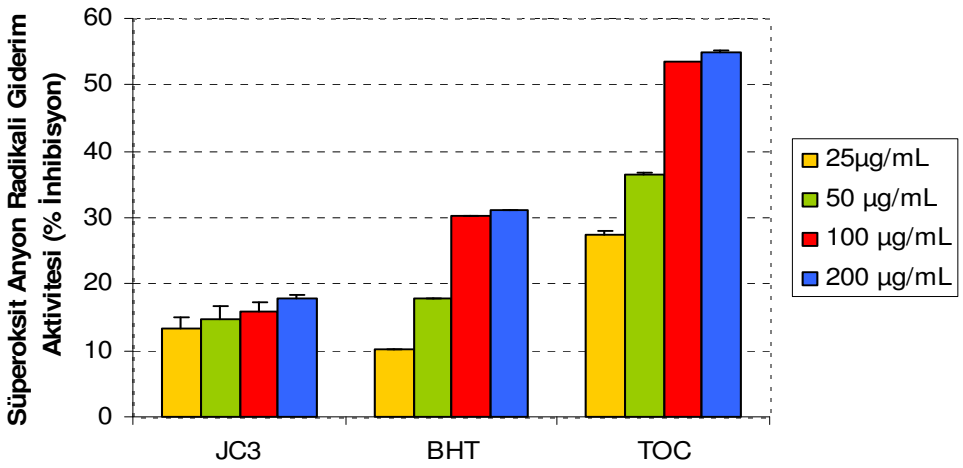


Şekil 4.2.2: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin DPPH Serbest Radikali Giderim Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.2.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

J. consanguinea'dan hazırlanan ekstrelerin süperoksit anyon radikal giderim aktiviteleri, NADH-PMS-NBT yöntemine göre dört farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 µg/mL) belirlendi. Standart olarak BHT ve α-tokoferol kullanıldı. Bu yöntemde, JC1 ve

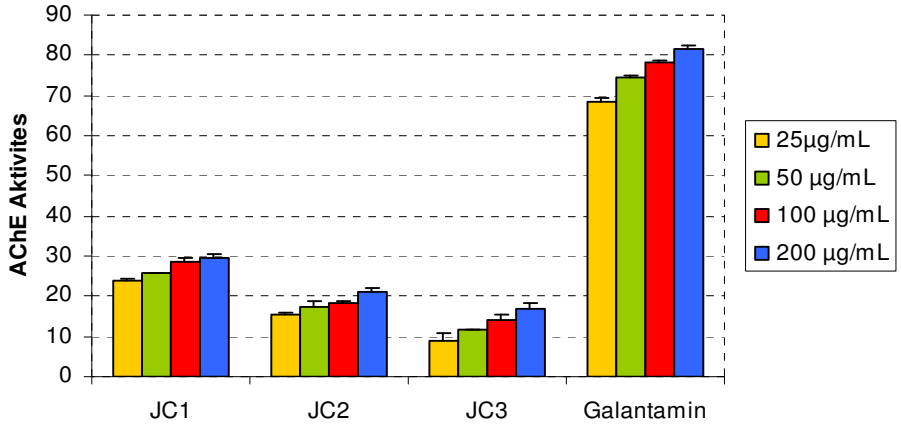
JC2 hiç aktivite göstermediği için grafikte gösterilmedi. JC3'ün, BHT ve TOC'dan daha düşük aktivite gösterdiği belirlendi. (Şekil 4.2.3.)



Şekil 4.2.3: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktiviteleri (Antioksidan aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

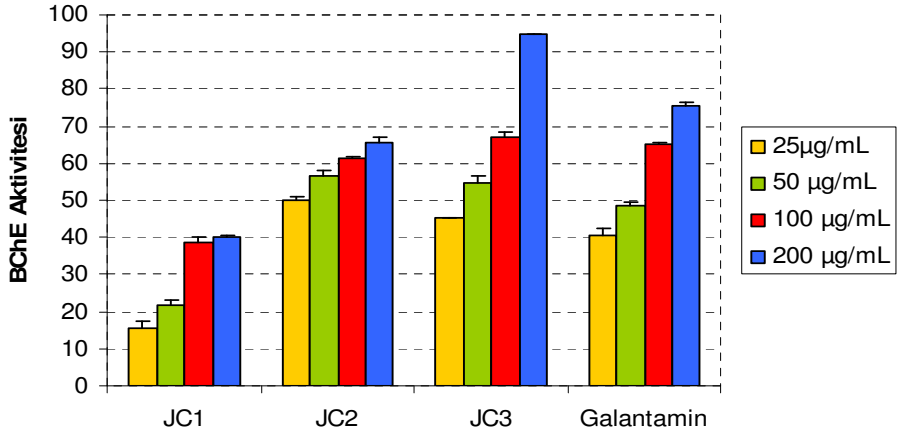
4.3. Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

J. consanguinea'dan hazırlanan ekstrelerin AChE inhibisyon aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 µg/mL) belirlendi. Ekstrelerin tümünün düşük aktiviteye sahip olduğu görüldü. JC3'ün en düşük aktiviteye sahip olduğu, JC1'in ise JC2 ve JC3'den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu ve tüm ekstrelerin galantaminden daha az etkiye sahip olduğu tespit edildi. (Şekil 4.3.1.)



Şekil 4.3.1: *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Asetilkolinesteraz Aktiviteleri (Asetilkolinesteraz aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

J. consanguinea'dan hazırlanan ekstrelerin BChE inhibisyon aktiviteleri dört farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 µg/mL) belirlendi. JC2 ve JC3'ün JC1'den ve galantaminden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. JC3'ün 200 µg/mL konsantrasyonda galantaminden çok daha yüksek etki gösterdiği saptandı. (Şekil 4.3.2.)



Şekil 4.3.2: *J. consanguinea*' dan Hazırlanan Ekstrelerin Butirilkolinesteraz Aktiviteleri (Butirilkolinesteraz aktivite sonuçları 3 paralel testin ortalamasıdır. Sonuçlar Student-*t* testine göre % 95 güven sınırları içinde bulundu).

4.4. Ekstrelerin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

J. consanguinea'dan hazırlanan (JC1, JC2, JC3) ekstrelerin 5 bakteri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemiyle belirlendi.

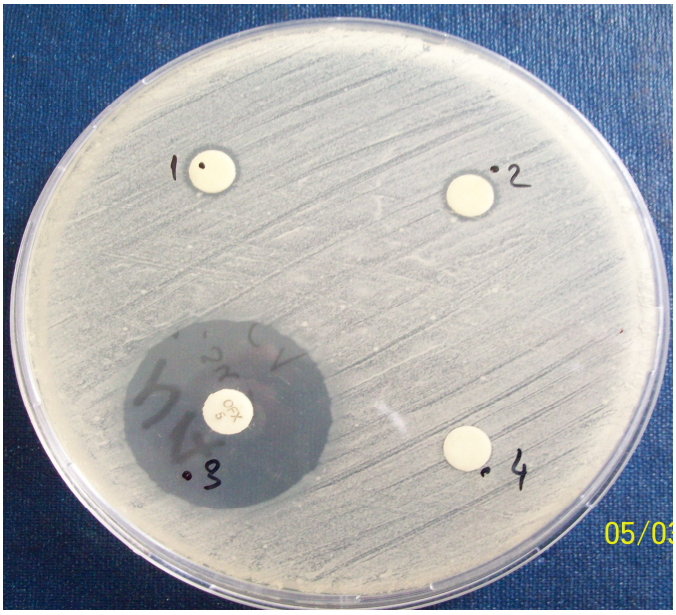
JC1, JC2 ve JC3'e karşı en duyarlı bakterinin *S. aureus* olduğu, JC1, JC2 ve JC3'ün *K. pneumoniae* ve *P. vulgaris*, JC1'in *P. aeruginosa* ve ayrıca JC3'ün *B. subtilis* bakterileri üzerinde ise etkisiz olduğu, hiçbir inhibisyon zonu oluşturmadıkları belirlendi. JC2'nin *S. aureus* bakterisi üzerinde oluşturduğu 15 mm zon çapı ile en yüksek antibakteriyal aktiviteyi gösterdiği tespit edildi (Tablo 4.4). Sadece DMSO emdirilmesiyle hazırlanan negatif kontrol diskler, test bakterilerinin hiçbiri üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı görüldü.

Tablo 4.4. *J. consanguinea*'dan Hazırlanan Ekstrelerin Test Bakterileri Üzerindeki Antibakteriyel Aktiviteleri

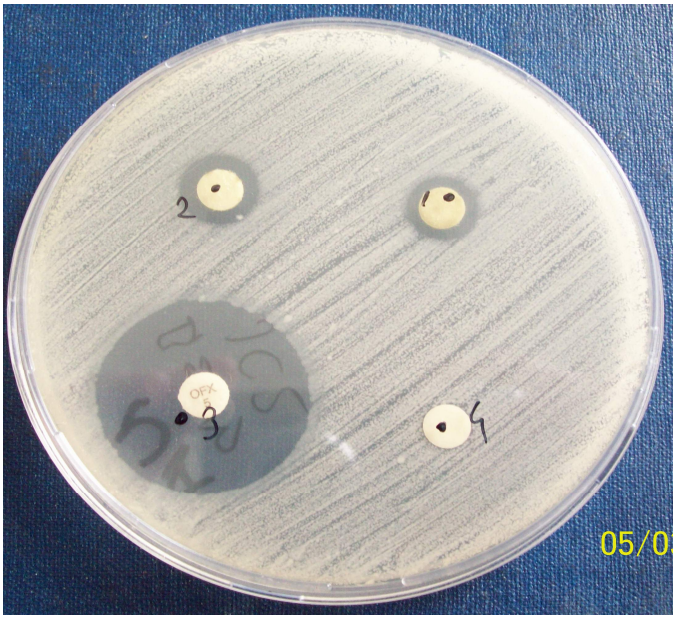
	İnhibisyon zon çapları (mm)[a]				
Bakteriler	**JC1**	**JC2**	**JC3**	**Negatif Kontrol**	**Pozitif Kontrol**
B. subtilis	8	11	–	–	28
K. pneumoniae	–	–	–	–	30
P. vulgaris	–	–	–	–	37
P. aeruginosa	–	8	9	–	16
S. aureus	9	15	10	–	28

Pozitif kontrol olarak standart antibyotik diski (OFX=Ofloksasin (5µg/disk)) kullanılmıştır.
(-): inhibisyon zonu çapının olmadığını göstermektedir
[a] Disk çapı (6 mm). Bu ölçümler 2 çalışmanın ortalamasıdır.

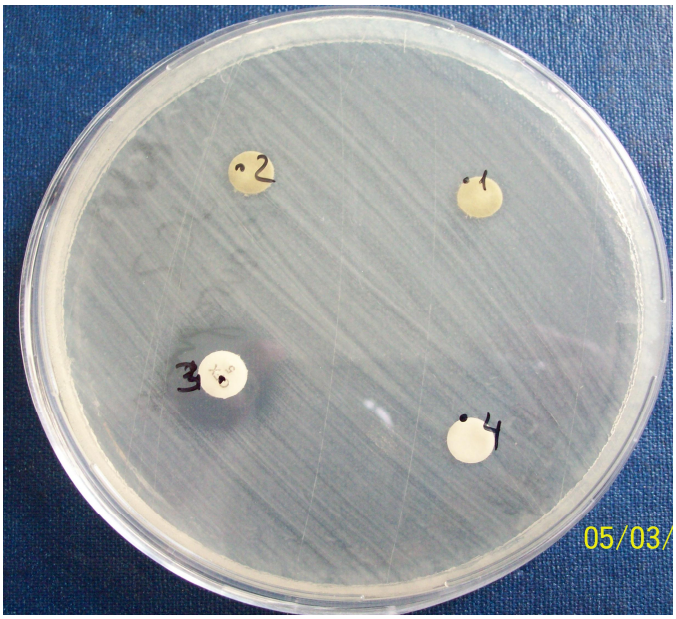
Aşağıda JC1, JC2 ve JC3'ün etkili oldukları bakteriler üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonlarını gösteren şekiller verilmiştir (Şekil 4.4.1., Şekil 4.4.2., Şekil 4.4.3., Şekil 4.4.4., Şekil 4.4.5., Şekil 4.4.6., Şekil 4.4.7.).



Şekil 4.4.1: JC1'in *B. subtilis* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC1 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



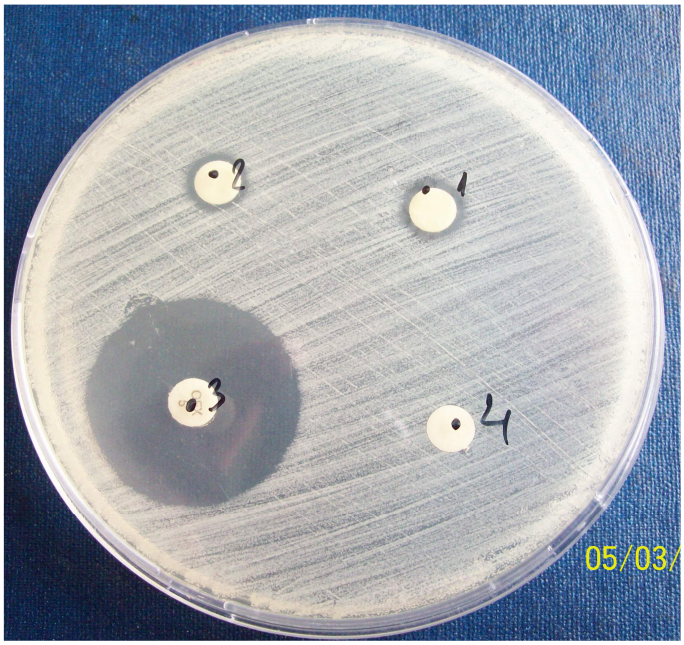
Şekil 4.4.2: JC2'in *B. subtilis* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC2 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



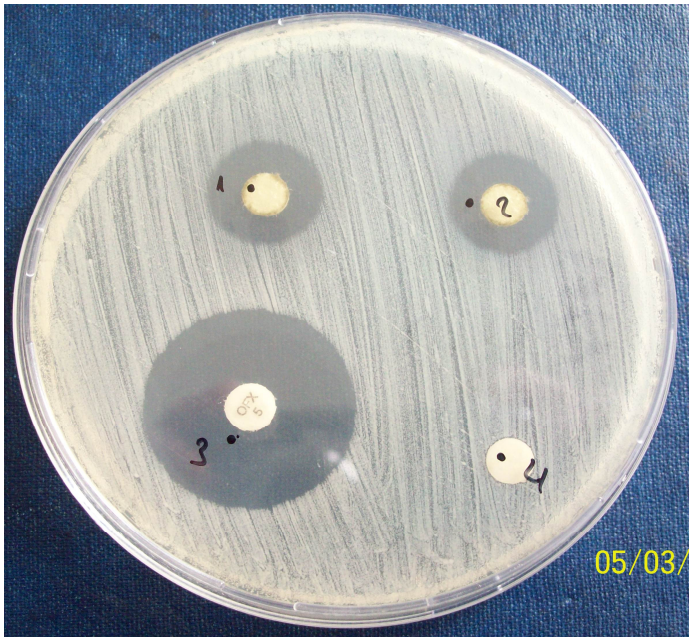
Şekil 4.4.3: JC2'nin *P. aeruginosa* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC2 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



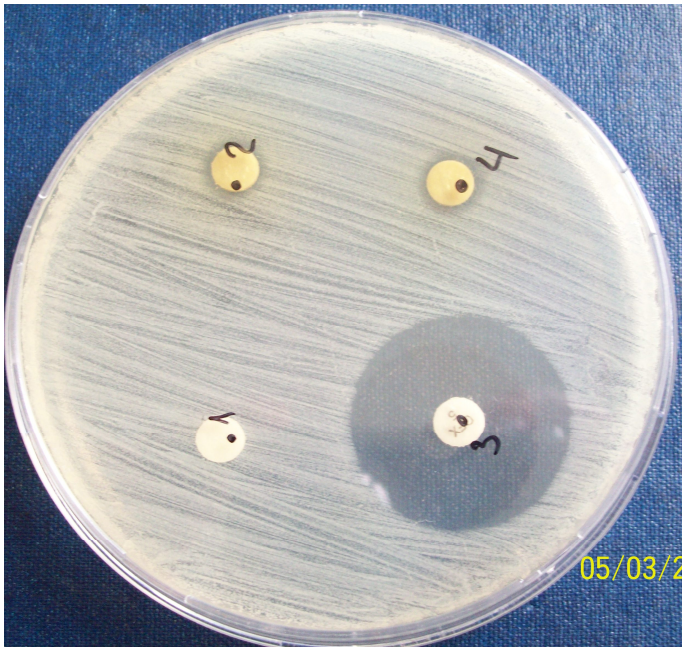
Şekil 4.4.4: JC3'nin *P. aeruginosa* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC3 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



Şekil 4.4.5: JC1'nin *S. aureus* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC1 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



Şekil 4.4.6: JC2'nin *S. aureus* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1.ve 2. JC2 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk 4. Negatif kontrol diski)



Şekil 4.4.7: JC3'nin *S. aureus* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu (1. Negatif kontrol diski 2. ve 4. JC3 içeren diskler 3. Antibiyotik (OFX) içeren disk)

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, Asteraceae (Compositae) familyası üyesi olan *Jurinea consanguinea* DC.'nin topraküstü kısımları sırasıyla petrol eteri, kloroform ve metanol ile ekstre edildi. Daha sonra bu ekstrelerin toplam fenolik miktarları pirokatekole, toplam flavonoit miktarları kersetine eşdeğer olarak tayin edildi. Her bir ekstrenin β-karoten renk açılım, DPPH serbest radikali giderim ve süperoksit anyon radikali giderim yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitesi belirlendi. Ayrıca her bir ekstrenin antikolinesteraz aktivitesi Ellman yöntemi kullanılarak, antibakteriyel aktiviteleri ise disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi.

J. consanguinea'dan hazırlanan (JC1, JC2, JC3) ekstrelerin fenolik madde içeriklerinin flavonoit madde içeriğine oranla daha fazla olduğu tespit edildi. JC1 ve JC2'nin fenolik madde içeriklerinin hemen hemen aynı olduğu, JC3'ün ise toplam fenolik ve flavonoit miktarları açısından en zengin ekstre olduğu tespit edildi. Tüm ekstrelerin β-karoten renk açılım yönteminde 200 μg/mL konsantrasyonda % 50'nin üzerinde antioksidan aktivite gösterdiği; DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde JC1 ve JC2'nin hiç aktivite göstermediği, JC3'ün ise BHT'den daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi. Ayrıca yine JC1 ve JC2'nin süperoksit anyon radikal giderim aktivitesi yönteminde hiç aktivite göstermediği, JC3'ün ise standartlardan çok daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi.

JC1'in AChE enzimini inhibe edici etkisi diğer ekstrelerden daha yüksek olmasına rağmen galantaminden daha düşük bulundu. JC3'ün BChE enzimi inhibe edici etkisi 200 μg/mL konsantrasyonda galantaminden daha yüksek olarak saptandı.

*J. consanguinea'*dan hazırlanan ekstreler (JC1, JC2, JC3) arasında JC2'nin en yüksek antibakteriyel etkiyi gösterdiği ve en etkili olduğu bakterinin *S. aureus* olduğu tespit edildi.

Bu tez çalışması ile *J. consanguinea*'nın antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktiviteleri ilk kez incelendi. Sonuç olarak *J. consanguinea*'dan hazırlanan ekstrelerden JC3'ün antioksidan ve antikolinesteraz aktivite, JC2'nin ise antibakteriyel etki bakımından diğer ekstrelerden daha yüksek etkiye sahip oldukları belirlendi.

Jurinea cinsine filogenetik açıdan en yakın cins olan *Centaurea* türleri ile yapılan antioksidan ve antimikrobiyal çalışmalarda da polar ekstrelerin apolar olanlara göre daha yüksek etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (Karamenderes vd. 2007, Uğur vd. 2009). *Centaurea* türlerinin antikolinesteraz aktivitesinin ise incelenmediği literatür çalışmaları sonucunda belirlendi.

Asteraceae familyasının bir üyesi olan *Jurinea* cinsi ile yapılan kimyasal çalışmalar sonucunda familyanın da kemotaksonomik markerı olan seskiterpen laktonları içerdikleri belirlenmiştir. *J. consanguinea*'nın antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktiviteleri içerdikleri seskiterpen laktonlardan ileri gelmiş olabilir. Bu nedenle, *J. consanguinea* ve diğer *Jurinea* türlerinin hem kimyasal hem de biyolojik aktivite bakımından incelenmeleri bilim dünyasına önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Abay E., 2006, Bazı Bitki Ekstraklarının Antibakteriyal etkilerinin Disk Difüzyon Yöntemiyle Araştırılması, Fen Bil. Enst. 38 s. KARS.

Adekenov S. M., Turdybekov K. M., Kadirberlina G. M., Lindeman S. V., Struchkov Y. T., 1991, Molecular and Crystal-Structure of Jurineolide as Germacrane Lactone from *Jurinea multiflora*, *Khim Prir Soed*, 4: 490-494.

Akyüz E., 2007, *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki Ekstraklarının Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 94 s. TRABZON.

Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., 1999, Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti. p.336-343, İstanbul.

Bilgehan H., 1992, Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınevi, Fakülteler Kitabevi, İzmir.

Blois M. S., 1958, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181: 1199–1200.

Boğa M., 2007, Türkiye'de Yetişen *Vinca* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bil. Enst., 65 s. İSTANBUL.

Burnaz N. A., 2007, *Viburnum opulus* ve *V. orientale* Bitki Ekstraklarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 105 s. TRABZON.

Çakır A., Yıldırım S., 2008, Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Antibakteriyel Özelliklerinin Değerlendirilmesi İçin Kullanılan in vitro Yöntemler, SÜ Dişhek Fak Der, 17:141-145

Çavdar C., Sifil A., Çamsarı T., 1997, Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 3-4: 92-95.

Dastmalchi K., Dorman H. J. D., Oinonen P. P., Darwisd Y, I. Laaksoa, Hiltunen R., 2008, Chemical Composition and in vitro Antioxidative Activity of a Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Extract, *LWT* 41: 391–400.

Diri M., 2006, *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. Uçucu Yağının Analizi, Su ve Etanol Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi, Muğla Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 101 s. MUĞLA.

Dobriyal, R. M., Singh, G. S., Rao, K. S.; Saxena, K. G., 1997, Medicinal Plant Resources in Chhakinal Watershed in the Northwestern Himalaya, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 5:15-27.

Doğan B., 2007, Türkiye *Jurinea* Cass. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu, Selçuk Üniversitesi, Fen Bil. Enst. 242 s. KONYA.

Doğuç S., 2007, *Allium sativum* L.'nin Antibakteriyal Aktivitesi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 31 s. KONYA.

Dülger B, Uğurlu E, Gücin F, 2002, *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) 'un Antimikrobiyal Aktivitesi, Ekoloji Çevre Dergisi, Cilt:11 Sayı:45, 1-5

Dülger B, Yılmaz F, Gücin F, 1999, *Tricholoma terreum* (Fr.) Kummer ' Cinlice' Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi, Ekoloji Çevre Dergisi, Cilt:8 Sayı:30, 13-17

Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Featherston R. M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholine esterase activity. *Biochem. Pharmacol. 7*: 88–95.

Erecevit P., 2007, Tibbi Amaçlar İçin Kullanılan Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Fırat Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 39 s. ELAZIĞ

Eroğlu E., 2007, *Hypericum pamphyllicum* Rabson Et Davis Türünün Hiperisin Miktarı ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi**,** İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bil. Enst., 99 s. İSTANBUL.

Everest A., Rauss T., **2004**, Investigations Flora in Mersin: Kozlar Highplateau of South Turkey, *Pakistan J Bio Sci*, 7:802-811.

Hacıoğlu Ö., 2005, *Achillea* (Anthemideae) Cinsi Filipendulinae ve Santolinoidea Seksiyonunlarına Ait Yedi Türün Uçucu Yağ Kompozisyonları ve Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bil. Enst. 80 s. BALIKESİR.

Howes M. J. R., Perry N. S. L., Houghton P. J., 2003, Plants with Traditional Uses Activities, Relevant to the Management of Alzheimer's Disease and Cognitive Disorders, *Phytother Res*, 17:1-18.

Lin H.Q., Ho M. T., Lau L. S., Wong K. K., Shaw P.C., Wan D. C.C., 2008, Anti-acetylcholinesterase Activities of Traditional Chinese Medicine for Treating Alzheimer's Disease*, Chemico-Biological Interactions*,175: 352–354

Karamenderes C., Konyalıoğlu S., Khan S., Khan I. A., 2007, Total Phenolic Contents, Free Radical Scavenging Activities and Inhibitory Effects on the Activation of NF-kappa B of eight *Centaurea* L. Species, *Phytother Res*, 21: 488-491.

Kashin A. S., Berezutsky, M. A., Kochanova I. S., Dobrynicheva N. V., Poljanskaja M. V., 2007, Peculiarities of Seed Reproduction in Populations of Asteraceae Species Under İmpact of Anthropogenic Factors, *Botanicheskii Zhurnal*, 92:1408-1427.

Liu F, Ooi VEC, Chang ST., 1997, Free Radical Scavenging Activity of Mushroom Polysaccharide Extracts. *Life Sci* 60: 763–771.

Miller H. M., 1971, A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 48: 91.

Mukherjee P. K., Kumar V., Mal M., Houghton P.J., 2007, Acetylcholinesterase Inhibitors from Plants, Phytomedicine, 14: 289-300.

Orhan İ., 2002, Türkiye'de Yetişen Bazı Bitkilerin Asetilkolinestereaz İnhibitörü Aktiviteleri Yönünden İncelenmesi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bil. Enst., 165 s. ANKARA.

Orhan İ., Eroğlu Y., Terzioğlu S., Şener B., Türkiye'de Yetişen *Lycopodium* Türlerinde Huperzin A Alkaloitinin LC-MS İle Analizi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, ESKİŞEHİR

Öztürk M., 2008, *Micromeria cilicica* ve *M. juliana* Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin HPLC ile Analizi ve Yapılarının Aydınlatılması, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bil. Enst., 221 s. İSTANBUL.

Pişkin Ç., 2007, Lamiaceae Familyasına Ait Bazı Baharat Bitkilerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 54 s. KONYA.

Rustaiyan A., Saberi M., Habibi Z., Jakupovic J., 1991, Melampolides and Other Constituent from *Jurinea leptoloba*, *Phythocemistry*, 30:1929-1932.

Saday S., 2005, *Jurinea* Cass. (Compositae) Üzerinde Morfolojik, Palinolojik ve Anatomik Araştırmalar, Marmara Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 63 s. İSTANBUL.

Safronova, I. N., 1993, The Flora of Mangyshlak, *Botanicheskii Zhurnal*, 78: 60-67.

Sakirov C. H., Kasımov S. S., Sidakin C. P., 1982, The Sesquiterpene Lactones of *Jurinea suffruticosa*, *Khim Prir Soed*, 3: 399-399.

Savelev S. U., Okello E. J., Perry E. K., 2004, Butyryl- and Acetyl-cholinesterase Inhibitory Activities in Essential Oils of *Salvia* Species and Their Constituents, *Phytother Res*, 18: 315-324.

Sekar K. C., Srivastava S. K., **2005,** New Reports on Aphrodisiac Plants from Pin Valley National Park, Himachal Pradesh, *Ethnobotany*, 17:189-190.

Singleton VL., Orthofer R., Lamuela-Raventos RM., 1999, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzimol*, 299: 152–178.

Slinkard K., Singleton VL., 1977, Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. *Am J Enol Viticult,* 28: 49–55.

Şahin H. A., 2002 Asetilkolin, Kolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı, Demans Dergisi, 2: 69-73.

Temür N., 2006, Çam, Kavak, Söğüt ve Armut Ağaçları Üzerinde Yetişen Ökse Otu (*Viscum album* L.) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 58 s. TOKAT.

Toroğlu S., Çenet M., 2006, Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2).

Uğur A., Duru M. E., Ceylan Ö., Saraç N., Varol Ö., Kıvrak I., 2009, Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Centaurea ensiformis*, a species endemic to Muğla (Turkey), Natural Product Research, 23: 149-167.

Ünal L. E., 2006. Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 106 s. ERZURUM

Wu S. J., Ng L. T., **2008,** Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Wild Bitter Melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan, LWT 41; 323–330.

Yıldırım S., 2006, *Heracleum* L. (Umbelliferae) Taksonlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi, Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bil. Enst. 90 s. KIRIKLALE.

Yumrutaş Ö., 2007, *Salvia verticillata* (subsp. *amasiaca* ve subsp. v*erticillata*) ve *S. euphratica* var. *euphratica* ve var. *leiocalycina*)'dan Elde Edilen Özütlerin ve Uçucu Yağların Antioksidan Aktivitelerinin Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bil. Enst., 55 s. SİVAS.

URL-1: http://www.mikrobiyoloji.org/

URL-2: http://www.mistav.com.tr/Custom/OdesisMc/antibiyotik_duyarlilik_testi.pdf

URL-3: http://www.agaclar.net/galeri/showimage.php?i=18516&c=

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Bulgaristan'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2002 yılında Süleyman Nazif Yabancı Dil Ağırlıklı Lise'den mezun oldu. 2003 yılında Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdi. 2007 yılında bu bölümden mezun oldu ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yabancı dili İngilizce'dir.