T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İKİ ENDEMİK *RHAPONTICOIDES* TÜRÜNÜN (*R. MYKALEA* VE *R. HIERROI)* ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE TOPLAM FENOL BİLEŞİK MİKTARININ BELİRLENMESİ

Necla SEGGINGER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İKİ ENDEMİK RHAPONTICOIDES TÜRÜNÜN (R. MYKALEA Hub.-Mor. VE R. HIERROI Vaill.) ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE TOPLAM FENOL BİLEŞİK MİKTARININ BELİRLENMESİ

Necla SEGGINGER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

2018, 50 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Yavuz BAĞCI
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Prof. Dr. Muhittin DİNÇ

Türkiye'de yayılış gösteren *Rhaponticoides* cinsine dahil olan iki endemik *Rhaponticodes* türünün (*R. mykalea* ve *R. hierroi)* Antimikrobiyal, Antioksidan Etkisinin İncelenmesi ve Toplam Fenol Bileşik Miktarlarının Belirlenmesi için bu tez çalışması yapılmıştır.

Çalışmada *R. mykalea* ve *R. hierroi* cinslerinin yaprak ve gövde kısımlarının etanol ve metanol ekstreleri kullanılmıştır. Bitki ekstrelerinin on bir bakteri ve üç fungal test suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemi; antioksidan etki analizinde DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi, Demir(II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi, Likopen ve β-Karoten Miktar Tayini ve Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini yöntemleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada sonuç olarak *R. hierroi* ve *R. mykalea* bitkilerinden elde edilen özütlerinin en az bir veya daha fazla mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. *R. mykalea* metanol özütünün diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. En yüksek inhibisyon zon çapını *R. hierroi* metanol özütü *K. pneumaniae* ATCC 13883 suşuna karşı oluşturmuştur (13,33 ± 0,47 mm). Özütlerin DPPH serbest radikal süpürme aktivitesine bakıldığında tüm özütlerin antioksidan etkiye sahip olduğu IC50 değerlerinin sentetik bir antioksidan olan BHT'den yüksek olduğu tespit edilmiştir. *R. hierroi* metanol özütü en yüksek Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesini göstermiştir. Özütlerin Likopen ve β -karoten miktarları değerlendirildiğinde en etkili sonucu *R. hierroi* etonol özütü vermiştir. Total fenolik içerik mikarı en yüksek olan özütün R. mykalea metanol özütü (136, 02 ± 6,32 mg GAE/g özüt) olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal etki, Antioksidan, Endemik, Fenolik bileşikler, *Rhaponticoides,* Tıbbi bitki

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT EFFECT AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS OF TWO ENDEMIC *RHAPONTICOIDES* SPECIES (*R. MYKALEA* HUB.-MOR. AND *R. HIERROI* VAILL.)

Necla SEGGINGER

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

2018, 50 Pages

Jury
Prof. Dr. Yavuz BAĞCI
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Prof. Dr. Muhittin DİNÇ

This thesis study was carried out to determine the antimicrobial, antioxidant effect and total phenolic compound quantities of two endemic *Rhaponticodes* species (*R. mykalea and R. hierroi*) which are distributed in Turkey.

Ethanol and methanol extracts of leaf and stem parts of *R. mykalea* and *R. hierroi* were used in this study. The antimicrobial activity of plant extracts was analyzed against eleven bacteria and three fungal test strains by the agar well diffusion method; DPPH Radical Clearing Activity, Chelating Activity of Iron (II) Ions, Lycopene and β-Carotene Amount Determination and Total Phenolic Compound Amount Determination methods were used for the analysis of antioxidant effects.

In this study, it has been determined that the extracts obtained from *R. hierroi* and *R. mykalea* plants have antimicrobial activity on at least one or more microorganisms. The *R. mykalea* methanol extract was found to be more effective than the others. The highest inhibition zone diameter was determined against *R. hierroi* methanol extract *K. pneumoniae* ATCC 13883 strain (13,33 ± 0,47 mm). When the extracts were analyzed for DPPH free radical scavenging activity, it was determined that all extracts had higher IC_{50} antioxidant activity values than BHT, a synthetic antioxidant. The methanol extract of *R. hierroi* showed the highest activity of chelating iron (II) ions. When the quantities of lycopene and β - carotene were evaluated, the most effective result came from the ethanol extraction of *R. hierroi*. It was also determined that the *R. mykalea* methanol extract has the highest total phenolic content (136, 02 ± 6,32 mg GAE / g extract).

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Endemic, Herbal plant, *Rhaponticoides*, Total Phenolic content.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince sonsuz bilgisiyle çalışmalarıma titizlikle ışık tutan, desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Yavuz BAĞCI'ya bana güvendiği ve kendisiyle çalışma fırsatı verdiği için teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanmasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Süleyman Doğu'ya çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımın sonuçlanmasında deneysel çalışmalarım boyunca bana yol gösteren hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK' a destekleri için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi manevi her anlamda, her ihtiyaçta desteklerini her daim hissettiğim aileme, kız kardeşten öte can yoldaşım Şeyda SERGİ ve seçilmiş kardeşlerim Havva SEZER ve Duygu SÖNMEZ'e,

Karakterimin iki ucunu da benimle birlikte göğüsleyen, hayatıma girdiği andan itibaren her koşulda yanımda, arkamdaki varlığını şefkatle hissettiren, kişisel gelişimimin en büyük parçası olan hayat arkadaşım Florian SEGGINGER'e gerek maddi gerek manevi olarak; daha iyi bir insan olma yolundaki katkılarından dolayı sonsuz şükranlarımı sunarım.

Necla SEGGINGER
KONYA – 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **6**

2.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri 9

2.1.1. *Rhaponticoides mykalea* sistematiği ve genel özellikleri 9

2.1.2. *Rhaponticoides hierroi* sistematiği ve genel özellikleri 12

2.2. Tıbbi Bitkiler 15

2.3. Bitki Biyolojik Aktivite Bileşikleri 17

2.3.1. Fenolik bileşikler 18

2.3.2. Flavonoidler 19

2.3.3. Karotenoidler 19

2.3.4. Tanenler 20

2.4. Antioksidan Aktivite 20

2.4.1. DPPH radikal giderme aktivitesi 21

2.4.2. Demir (II) iyonlarının şelatlama etkisi 21

2.4.3. Likopen ve β - Karoten miktarı tayini 22

2.4.4. Toplam fenolik içerik tayini 22

2.5. Antimikrobiyal Aktivite 22

2.5.1. Agar Kuyucuk difüzyon yöntemi 23

2.5.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar 23

3. MATERYAL VE YÖNTEM **27**

3.1. Materyal 27
3.1.1. Bitkisel materyaller 27
3.1.2. Mikroorganizmalar 27
3.1.3. Kullanılan antibiyotikler 27
3.1.4. Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler 28
3.2. Yöntem 28
3.2.1. Bitki Ektrelerinin Hazırlanması 28
3.2.2. Antimikrobiyal Etki Araştırması 28
3.2.3. Antioksidan Etki Araştırması 29

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 31

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması 31
4.2. Antioksidan Aktivite Araştırması 32
4.2.1. DPPH serbest radikalini süpürücü aktivite 32
4.2.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi 32
4.2.3. Likopen ve β - Karoten miktar tayini 33
4.3.4. Toplam fenolik bileşik miktar tayini 34
4.3. DNA Etkileşimi 35

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 37

5.1. Sonuçlar 37
5.1.1. Antimikrobiyal aktivite araştırması 37
5.1.2. Antioksidan aktivite araştırması 39
5.1.3. DNA Etkileşimi 43
5.2. Öneriler 43

6. KAYNAKLAR 45

ÖZGEÇMİŞ 50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	:	Santigrat derece
A	:	Absorbans
α	:	Alfa
β	:	Beta
g	:	Gram
μg	:	Mikrogram
μL	:	Mikrolitre
mL	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
mg	:	Miligram
nm	:	Nanometre
μM	:	Mikromolar

Kısaltmalar

ATCC	:	American Type Cultur Collection
BHA	:	Bütillenmiş Hidroksianizol
BHT	:	Bütillenmiş Hikroksitoluen
CR	:	Critically Endangered – Çok Tehlikede
DMSO	:	Dimetil Sülfoksit
DNA	:	Deoksiriboz Nükleik Asit
DPHH	:	Difenilpikrilhidrazil
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
EMEA	:	Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı
GC – MS	:	Gas Chromatography Mass Specturum
IC_{50}	:	% 50 İnhibisyon Konsantrasyonu
LDL	:	Low Density Lipoprotein
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
UV	:	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Türkiye'nin jeolojik yapısı ve konumu, yüksek endemizm ve genetik çeşitliliğe sebep olmaktadır. Ayrıca, çeşitli ekolojik etmenler, makro ve mikroklimalar nedeniyle Türkiye çok sayıda cinsin gen merkezi durumunda olup, endemik taksonlar bakımından oldukça zengin bir ülkedir. Türkiye'de tespit edilmiş tür sayısı 9222 adeti bulmaktadır ve bu sayı Avrupa kıtasında yaklaşık 12000'dür ve bunların 2750 tanesi endemik olarak tespit edilmiştir. Türkiye'de tespit edilen tür sayısına alt türleri ve varyeteleri de dahil ettiğimizde toplam sayı 11014'ü bulmaktadır. Bu taksonlardan 3708 tanesi endemik taksondur ve endemizm oranı % 34.5 olarak belirtilmiştir (EMEK ve ERDAĞ 2010).

Kıtalar arası geçiş noktalarından birisi olması nedeniyle çok farklı iklim ve habitat özelliklerini içermesi türler arası farklılaşmanın ana bir sebebini oluşturmakta dolayısıyla çiçekli bitkilerde farklı taksonomik gruplarda türleşme eğilimine önemli bir katkı sağlamaktadır. Bu nedenle Türkiye Florası birçok cins için önemli farklılaşma veya gen merkezi olarak değerlendirilmektedir. Yapılan floristik araştırmalarla çalışılan alanın doğal floristik zenginlikleri tespit edilmektedir. Aynı zamanda bu tip çalışmalar yeni taksonların ve Türkiye için yeni kayıtların oluşturulmasına imkân tanımaktadır. Tüm dünyada bazı cinsler üzerinde revizyon çalışmaları yapılmakta yeni düzenlemeler getirilmektedir. Üzerinde çalışılan taksonomik kategorilere yeni veriler girilmekte veya değişiklikler yapılmaktadır. Ülkemizde sistematik alanda çalışan araştırmacılar tarafından oluşan 2015 Türkiye Florasının Yeniden Yazılması kabulüne göre üzerinde bilgi eksikliği hissedilen cinsler veya seksiyonlar üzerinde revizyon çalışmaları yapılmakta ve bilim dünyasına yeni bilgiler kazandırılmaktadır (AYTAÇ 1997) (Uysal 2016).

Centaurea cinsi için Türkiye, genetik farklılaşma merkezlerinden birisidir. Türkiye florasında üçüncü büyük cins olan *Centaurea*'nın toplam tür sayısı 187, toplam takson sayısı ise 247 olup 32 alt türü ve 28 varyetesi vardır. Endemik takson sayısı en yüksek cinslerden birisidir. Bu cinsin 187 türünden 109'u, 32 alt türünden 18'i, 28 varyeteden 16'sı endemiktir (Güner ve ark 2000).

Daha önceleri, sistemde *Centaurea* cinsi altında *Centaurea mykalea* Hub.-Mor. olarak sınıflandırılan *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter günümüzde *Centaurea* seksiyonundan ayrılmış bulunmaktadır (Hellwig 2004).

Rhaponticoides hierroi ilk kez bitki ekolojisti Jose Luis Hierro tarafından 2003 yılının Temmuz ayında teşhis edilmiştir (Eren 2007).

Rhaponticoides cinsi batıda Portekiz ve Monako, doğuda Moğolistan'a kadar uzanan 32 tür içermektedir (Hellwig 2004). Bu cinse ait türlerin çoğu ya nadir endemiktir ya da sıçramalı yayılış gösterir (Davis 1984). Sadece çok az sayıda tür (örneğin *Rhaponticoides ruthenica*) geniş yayılış göstermektedir. Ülkemizde *Rhaponticoides* cinsi 8 tür ile temsil edilmektedir. Bunlar;

1. *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter,
2. *Rhaponticoides iconiensis* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter,
3. *Rhaponticoides amplifolia* (Boiss. & Heldr.) M. V. Agab. & Greuter,
4. *Rhaponticoides phytiae* (Azn. & Bornmüller) M. V. Agab. & Greuter,
5. *Rhaponticoides amasiensis* (Wagenitz) M. V. Agab. & Greuter,
6. *Rhaponticoides hierroi* Ö. Eren (Eren 2007),
7. *Rhaponticoides aytachii* (Doğu ve ark 2009),
8. *Rhaponticoides gokceoglui* (Çinbilgel ve ark 2014)'dir.

R. amplifolia hariç diğer bütün türler Türkiye için endemiktirler. *R. gokceoglui* Antalya bölgesi için endemik, *R. amasiensis* Çatakça, Kocaeli bölgesinde endemik, *R. aytachii* Konya bölgesi için endemik, *R. hierroi* Antalya bölgesi için endemik, *R. iconiensis* Konya bölgesi için endemik, *R. mykalea* Ege Bölgesi için endemik ve *R. pythiae* Marmara Bölgesinde endemiktir. *R. iconiensis* ve *R. mykalea* CR (Critically Endangered - Çok Tehlikede) kategorisinde yer almaktadırlar. Türkiye'de tüm bu cinse ait türler 'peygamber çiçeği' olarak adlandırılmaktadır (Davis 1984) (Güner ve ark 2000) *R. mykalea* türü köylüler arasında "deli enginar" olarak da adlandırılmaktadır (EMEK ve ERDAĞ 2010).

Türkiye'de de bir çok ülke gibi geleneksel bitkisel ilaçların yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Türkiye'de bitkisel ilaç çalışmaları ile ilgili çeşitli kayıtlar mevcuttur. Bugüne kadar insan sağlığı için kullanılan bitkisel ilaçların sadece % 25'i 10 000 çiçekli bitki türünden elde edilmiştir (Ulukanlı 2005).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünya popülasyonunun yaklaşık %80'inin öncelikli sağlık ihtiyaçlarını geleneksel bitkisel ilaçlardan karşıladığını tahmin etmektedir (Kumar ve ark 2006). Dünya'daki çiçekli bitki türlerinin % 10'dan fazlası şifalı bitki olarak sınıflandırılmaktadır. Doğadan insanlar tarafından toplanan bu bitkiler dünyada sağlığın korunmasında temel bir faktördür (Cosge ve ark 2009). Ülkemizde çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Bunların çoğu geleneksel olarak kullanılan ilaç ve insektisitlerin ana kaynağını oluşturmaktadır (Baytop 1999). Özellikle bitkilerin yağları ile bu bitkilerden elde edilen özütler ham ve işlenmemiş gıda koruması, alternatif ilaç ve doğal tedaviler için kullanılmaktadır. Ayrıca bitki özütleri kozmetik ve parfümeri endüstrilerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Cetin ve ark 2006) (Benli ve ark 2007). Türkiye'de gıda, baharat veya ilaç olarak kullanılan yabani bitkilerin sayısı 500 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bu miktarın Avrupa ülkelerinde kullanılan tıbbi bitki miktarı ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir. Örneğin Fransa'da bilinen tıbbi bitki miktarı 1500 kadardır (Baytop 1999).

Araştırmacılar bakteri, fungi, virüs ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarına karşı geniş spektrumlu yeni antibiyotikleri geliştirmek için uzun yıllardır çalışmaktadırlar. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ilaç direncinin oluşumuna neden olmaktadır (Karaalp ve ark 2009). İnsana yönelik patojen mikroorganizmalardaki çoklu ilaç direnci enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel alınmasına bağlı olarak gelişmektedir. Bu nedenle bilim adamları çoklu direnç geliştiren bakterilere karşı yeni antimikrobiyal maddeler geliştirmeye çalışmaktadır (Doğan ve ark 2010). Benzoin ve emetin gibi mikroorganizmaların üremesini engelleyen yeni bileşikler bitkilerden izole edilmektedir. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal bileşikler şu an kullanılan antibiyotiklerden farklı bir mekanizmayla bakterilerin üremesini engellemektedir (Eloff 1998) (Talib ve Mahasneh 2010). Bu nedenle son yıllarda bitkiler ile ilgili araştırmalarda önemli bir artış vardır (Eloff 1998).

Bitkiler hastalıkları tedavi etme potansiyeline sahip olan birçok biyoaktif sekonder metabolitin zengin kaynaklarıdır. Bu metabolitlere örnek olarak flavonoidler, fenoller, fenolik glikozitler, doymamış laktonlar, sülfür bileşikleri, saponinler, glukozinolatlar ve siyanogenik glikozitler verilebilir (Talib ve Mahasneh 2010). Fenolik bileşikler, bitki aleminde geniş oranda bulunan ve gıda, kozmetik ve farmosötikal endüstrilerde çoklu uygulamalara sahip olan sekonder bitki metabolitlerinin geniş bir heterojen grubunu oluşturmaktadır (Banerjee ve Bonde 2011). Antioksidan aktiviteye sahip tipik fenolik bileşikler büyük oranda fenolik asitler ve flavonoidlerdir. Kafeik asit, ferulik asit ve vanilik asidi içeren fenolik asitler, bitki aleminde yaygındır (Spiridon ve ark 2011). Fenolik bileşikler tarafından sahip olunan antioksidan kapasite esas olarak, bunların indirgeyici ajanlar olarak rol oynamalarına izin veren redoks özelliklerine, hidrojen verilerine, singlet oksijen bastırıcılarına veya metal şelatörlerine bağlıdır.

Antioksidanlar olarak rol oynamalarının yanısıra, bu bileşikler antialerjik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antitrombotik, kardioprotektif ve vazodilatör etkiler gibi geniş çaplı tıbbi özellikler sergilemektedir (Banerjee ve Bonde 2011).

Tıbbi bitkilerin ve özütlerinin antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerine olan ilgi de büyük bir oranda artmaktadır. Antioksidanların ekzojen kaynağını sağlayan bitkiler, hücrelerin doğal savunma sistemlerine yardımcı olabilmektedir. Bu yüzden, geleneksel olarak geniş çapta kullanılan bitkilerin ve bitki özütlerinin antioksidan ve radikal süpürücü özelliklerinin değerlendirilmesi gerekir (Giorgi ve ark 2009). Ayrıca işlenmiş gıdalarda yaygın olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianizol (BHA) gibi bazı sentetik antioksidan bileşiklerin yan etkilere sahip olabileceği rapor edilmiştir (Mavi ve ark 2004).

Antioksidanca zengin besinlerin diyetle alımı ile insanlarda görülen birçok hastalığın meydana gelme sıklığı arasında zıt bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir. Bu yüzden, doğal antioksidan kaynaklarının belirlenmesi ile ilgili araştırmalar önem taşımaktadır (Mavi ve ark 2004).

Doğal ürünler, ilaç hammaddelerinin zengin kaynaklarıdır. Çeşitli yapıdaki birçok yeni doğal bileşik bitkilerden izole edilmektedir. Şu an kullanılabilir ilaçların % 50'den fazlası doğal bileşiklerdir ve kanser durumunda ise bu oran % 60'dan daha fazladır. Bu durum ilaç firmaları ve yeni ilaç araştırmalarına kendini adamış enstitülerin artan ilgilerinden kaynaklanmaktadır (Mavi ve ark 2004).

Son 15 yılda hızla artış gösteren doğaya dönüş trendi bitkisel ilaç pazarında da etkin bir büyümeye neden olmuştur (Raskin ve ark 2002). Günümüzde bitkiler ve bitkisel etken maddelerin tedavi amaçlı kullanımında belirgin bir artış gözlenmiştir (Dağcı ve ark 2002). Türkiye'de de bitkisel tedavilere olan ilgi hızlı bir şekilde artmaktadır. Bitkisel karışımlar geleneksel Türk ilacının çok önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 550 sağlıklı yetişkinde şifalı bitki kullanımının yaygınlığı % 72,5 olarak tespit edilmiştir (Gözüm ve Ünsal 2004).

Son yıllarda tıbbi bitkiler içermiş oldukları aktif maddelerden dolayı dünyada olduğu gibi ülkemizde de birçok bilim adamının ilgisini çekmektedir.

Tıbbi bitkilerden olan *Centaurea* türleri halk tababetinde tek başına veya diğer bitkilerle birlikte antidiyabetik, antidiyaretik, antiromatizmal, antiinflamatuvar, kolagog, koleretik, dijestif, stomaşik, diüretik, adet söktürücü, astrenjan, hipotansif, antipiretik, sitotoksik, antibakteriyel amaçla kullanılmaktadır (Barrero ve ark 1997) (Orallo ve ark 1998).

Türkiye'de yayılış gösteren *Rhaponticoides* cinsine dahil olan iki endemik *Rhaponticodes* türünün (*R. mykalea* ve *R. hierroi)* antimikrobiyal, antioksidan etkisinin incelenmesi ve toplam fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesi için bu tez çalışması yapılmıştır. Çalışma için kullanılacak iki endemik *Rhaponticoides* türü *(R. mykalea, R. hierroi)* Türkiye'nin farklı bölgelerinden (Konya, Isparta) toplanmıştır. Bu bitkilere ait örnekler, 2017 yılının Mayıs-Ağustos, Eylül aylarında yayılış gösterdiği yerlerden taze olarak toplanıp, morfolojik çalışma yapılmış, bitki örnekleri herbaryum örneği olabilecek şekilde hazırlanıp arazide gözlenebilen özellikleri deftere kaydedilmiştir. Araştırmada materyal olarak kullanılan *Rhaponticoides* türlerinin bitki teşhisleri konunun uzmanı Prof. Dr. Yavuz Bağcı tarafından yapılmıştır.

Bitkilerin yaprak ve gövde kısımlarının etanol ve metanol ekstreleri elde edilerek; *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumaniae* ATCC 13883, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* Y-12968 mayalarına karşı antimikrobiyal etkileri agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

Ayrıca bitkinin yaprak ve gövde kısımlarının etanol ve metanol ekstraktları üzerinde antioksidan etki belirlenmesi için DPHH serbest radikal süpürücü aktivite, toplam fenolik içerik miktar tayini, demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi ve likopen ve beta karoten miktar tayini belirlenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Asteraceae familyasına ait *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter türü, önceleri, sistemde Centaurea cinsi altında *Centaurea mykalea* Hub.-Mor. olarak sınıflandırılırken, günümüzde Centaurea seksiyonundan ayrılmış bulunmaktadır (Hellwig 2004).

Rhaponticoides cinsi batıda Portekiz ve Monako, doğuda Moğolistan'a kadar uzanan 32 tür içermektedir (Hellwig 2004). Bu cinse ait türlerin çoğu ya nadir endemiktir ya da sıçramalı yayılış gösterir (Davis 1984). Sadece çok az sayıda tür (örneğin *Rhaponticoides ruthenica*) geniş yayılış göstermektedir. Ülkemizde *Rhaponticoides* cinsi 8 tür ile temsil edilmektedir. Bunlar;

1. *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter,
2. *Rhaponticoides iconiensis* (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter,
3. *Rhaponticoides amplifolia* (Boiss. & Heldr.) M. V. Agab. & Greuter,
4. *Rhaponticoides phytia* (Azn. & Bornmüller) M. V. Agab. & Greuter,
5. *Rhaponticoides amasiensis* (Wagenitz) M. V. Agab. & Greuter,
6. *Rhaponticoides hierroi* Ö. Eren (Eren 2007),
7. *Rhaponticoides aytachii* (Doğu ve ark 2009),
8. *Rhaponticoides gokceoglui* (Çinbilgel ve ark 2014)'dir.

R. amplifolia hariç diğer bütün türler Türkiye için endemiktirler. *R. gokceoglui* Antalya Bölgesi için endemik, *R. amasiensis* Çatakça, Kocaeli bölgesinde endemik, *R. aytachii* Konya bölgesi için endemik, *R. hierroi* Antalya bölgesi için endemik, *R. iconiensis* Konya bölgesi için endemik, *R. mykalea* Ege Bölgesi için endemik ve *R. pythiae* Marmara Bölgesinde endemiktir. *R. iconiensis* ve *R. mykalea* CR (Critically Endangered, Çok Tehlikede) kategorisinde yer almaktadırlar. Türkiye'de tüm bu cinse ait türler 'peygamber çiçeği' olarak adlandırılmaktadır (Davis 1984) (Güner ve ark 2000). *R. mykalea* türü köylüler arasında "deli enginar" olarak da adlandırılmaktadır (EMEK ve ERDAĞ 2010).

Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'na (Güner ve ark 2000) göre *R. mykalea*, CR (Critically Endangered, Çok Tehlikede) kategorisinde bulunmaktadır. Çok Tehlikede kategorisi şartları değerlendirildiğinde *R. mykalea*, Aydın- Isparta ve Muğla yörelerindeki çok dar alanlı yayılışı nedeniyle yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. (EMEK ve ERDAĞ 2010).

Tıbbi bitkilerden biri olan *Centaurea L. Asteraceae* familyasına ait bir cinstir ve Türkiye'de 168 türü vardır. Bitki, peygamber çiçeği, zerdali dikeni, çoban kaldıran, Timur dikeni gibi Türkçe isimlerle bilinmektedir (Baytop 1999).

Arif (2002), çalışmasında *Centaurea solstitialis* ve *C. depressa* türlerine ait ekstre ve fraksiyonların antibakteriyel etkilerini Gram (+) (*Bacillus subtilis*) ve Gram (-) (*Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa*) bakteriler üzerinde ve antifungal etkilerini *Candida tropicalis* suşları üzerinde mikrodilüsyon metodu ile tespit etmiştir. Her iki türe ait ana ekstre ve fraksiyonların *E. coli* 'ye karşı kontrole yakın bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Türlerin kloroformlu fraksiyonları ile toprak altı kısımlarının etanollü ekstrelerinin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı anlamlı bir etkiye sahip olduğu ve her iki türün de antifungal etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

Karioti ve ark (2002), *Centaurea deusta*'nın toprak üstü kısımlarından bilinen birçok bileşiğe ek olarak başlıca seskiterpen laktonlar, eudesmolid ve elemane türevlerini izole etmişler ve bu yeni bileşiklerin yapılarını spektroskopik yöntemlerle açıklamışlardır. İzole edilen bileşiklerin antifungal ve antibakteriyel etkisi in vitro olarak mikrodilüsyon metodu ile test edilmiştir. Tüm bileşiklerin antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Kumarasamy ve ark (2002), *Centaurea moschata*'nın tohum ekstrelerinden elde edilen moschamindol'ün antioksidan ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Bu bileşiğin DPPH metodu ile serbest radikal süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Moschamindol'ün 0.001, 0.01, 0.001 mg/mL minimum inhibisyon konsantrasyonlarında *Proteus mirabilis, Streptococcus epidermis* ve *Lactobacillus plantarum*'un gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Yayli ve ark (2005), *Centaurea sessilis* ve *C. armena*'dan hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağları GC-MS ile analiz etmişler ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Uçucu yağın ana bileşeni beta – eudesmol olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803'e karşı çukur – agar difüzyon metodu kullanılarak araştırılmış ve Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı orta derecede aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Özçelik ve ark (2009), *Centaura solstitialis* subsp. *solstitialis'*in toprak üstü kısımlarından izole ettikleri üç seskiterpen laktonunun (centaurepensin =

klorohissopifolin A, klorojanerin ve 13 – asetil solstitialin A) antimikrobiyal ve antiviral aktivitesini araştırmışlardır.

Eren (2007), çalışmasında Türkiye'de yetişen *Rhaponticoides Vaill*, cinsine ait yeni bir tür tanımlamış ve *Rhaponticoides* türlerinin anahtarını vermiştir.

Djeddi ve ark (2008), *Centaurea pullata*'nın toprak üstü kısımlarından yeni bir seskiterpen lakton bileşiği α-metil-γ-lakton, 8α-o-(4-hidroksi-2-metilenbutanoloksi) ve melitensin'e ek olarak aynı lakton halkalarıyla bağlanmış, bilinen dört seskiterpen lakton melitensin, 11β,13 dihidrosalonitenolid, 8α-hidroksi- 11β,13-dihidro-4-epi-sanchucarpolide ve 8α-hidroksi-11β,13-dihidro-onopordaldehit izole etmişlerdir. İzole edilen seskiterpen laktonların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in vitro olarak altı adet bakteri ve sekiz adet mantar türüne karşı mikrodilüsyon metodu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen tüm bileşiklerin kuvvetli antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Kilic (2013), Türkiye'den üç *Centaurea* taksonunun uçucu yağını çalışmış olup, sonuç olarak, yüzde olarak sırasıyla 90.8, 91.6 ve % 92.5 oranlarında uçucu yağ bulunmuştur. Ayrıca etken madde olarak, Germakren D (% 20.3), kariyofilen oksit (% 10.7), β- kariyofilen (% 10.5), β – eudesmol (% 15.5), bicyclogermacrene (% 14.2), spathulenol (% 11.3) ve germakren D (% 21.4), β - caryophyllene (% 16.5), kariyofilen oksit (% 9.5) ana bileşenleri tespit edilmiştir.

Çinbilgel ve ark (2014), *Rhaponticoides gokceoglui* türünü, yeni bir tür olarak dünyaya tanıtmıştır. Bu tür, *R. wagenitziana* ve *R. aytachii* ilişkilidir.

Polatoğlu ve ark (2014), *Centaurea kilauea* çiçek, gövde ve *C. Cuneifolia* çiçeklerinde, uçucu yağ bileşimi GC, GC / MS ile araştırıldı. *C. Kilaea*. Çiçek ve gövdelerinden çok düşük uçucu yağ verimi < % 0.01 (a/h) elde edildi. *C. Kilaea* çiçek ve gövdede on dokuz, yirmi yağ bileşikleri tespit edildi ve bunlarda sırasıyla % 59.5 çiçekte ve % 77.6 gövdede. *C. kilaea* çiçek yağı bileşimleri heksadekanoik asit % 26.2, tetradekanoik asit % 18.1, β-Eudesmol % 3.3 ve dekanoikasit % 3.1 idi. Gövde yağı heksadekanoik asit % 55.5 içerir ve β-Eudesmol % 3.2. *C. cuneifolia* çiçeklerinden çok düşük uçucu yağ verimi < % 0.01 (a/h) elde edildi. *C. cuneifolia* çiçek yağında 25 bileşik yağı tespit edildi bunlarda heksadekanoik asit % 32.9, tetradekanoik asit % 14.4, % 6.1 oranında heptacosane ve nonacosane % 4.3 arasındadır. Her iki türden elde edilen uçucu yağlar ana bileşenler olarak yağ asitleri ve alkanlar, doymuş, ama her iki yağlar seskiterpenlerden küçük miktarlarını ihtiva etmektedir.

Yaglioglu ve Demirtas (2015), yapmış olduğu çalışmada *C. polypodiifolia* türünün yaprağındaki ana bileşen olan Germacrene D miktarını % 28.8 olarak tespit etmiştir.

2.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri

2.1.1. *Rhaponticoides mykalea* sistematiği ve genel özellikleri

Alem: Plantae
Şube: Magnoliophyta (Kapalı Tohumlular)
Sınıf: Magnoliopsida (Dikotiledonlar)
Alt Sınıf: Asteridae
Takım: Asterales
Familya: Asteraceae
Alt Familya: Carduoideae
Oymak: Cynareae (Cardueae)
Alt Oymak: Centaureinae
Cins: *Rhaponticoides*

Rhaponticoides mykalea (Hub.-Mor.) M. V. Agab. & Greuter, Willdenowia 33 (1): 60 (2003). Aydin Gaşağı.
Sin: *Centaurea mykalea* Hub.-Mor., Bauhinia 6 (3): 370 (1979).

1.2 m'ye kadar uzayabilen çok yıllık tabanda odunsu bitkiler. Gövde dik, tüysüz, boyuna çizgili, genellikle üstte birkaç korimboz dallı. Yapraklar derimsi, kısa skabritsi tüylü, marjin tüysüz, taban yaprakları 5-40 x 3-12 cm, yoğun, pinnatisekt, petiollü, darca ovoid-oblong, marjin seyrek düzensiz testere dişli, 3-7 asimetrik lanseolat lateral segmentli, lateral segmentler düzensiz dişsi loblu, terminal segment lateral segmentlere benzer fakat genellikle daha büyük, yapraklar üste doğru kademeli olarak küçülmüş, fakat benzer. İnvolukrum 4-4.5 x 2.5-3 cm, genişce ovoid, glabrous, tabanda hafifçe umblikeyt. Fillariler 6-7 seri, derimsi, soluk yeşil, boyuna belirgin 6-7 koyu yeşil çizgili; dış fillariler genişce ovat, 0.75-1 x 0.65-.75 cm, orta fillariler ovoid oblong1.5-2 x 0.9-1 cm, iç fillariler linear-oblong, 3, 3.6 x 0.4-0.7 cm, apendaj kıkırdaksı marjinlere indirgenmiş, (1-1,5 mm). Çiçekler 30-35 mm, altın sarı, marjinal haffiçe radiant, çiçek tübü 28-30 mm, çiçek lobu 8-10 mm, linear parçalı, staminodlu, stilus subeksert. Aken, silindirik, tüysüz,

7-8 x 2.5 mm. Pappus skabroz, dış seri çok sıra 14-17 mm, iç seri 1.5 mm. Çiçeklenme 6-7. Meyve 7-8. Aylar. Kültür alanları, taşlık yamaçlar, yol kenarları,

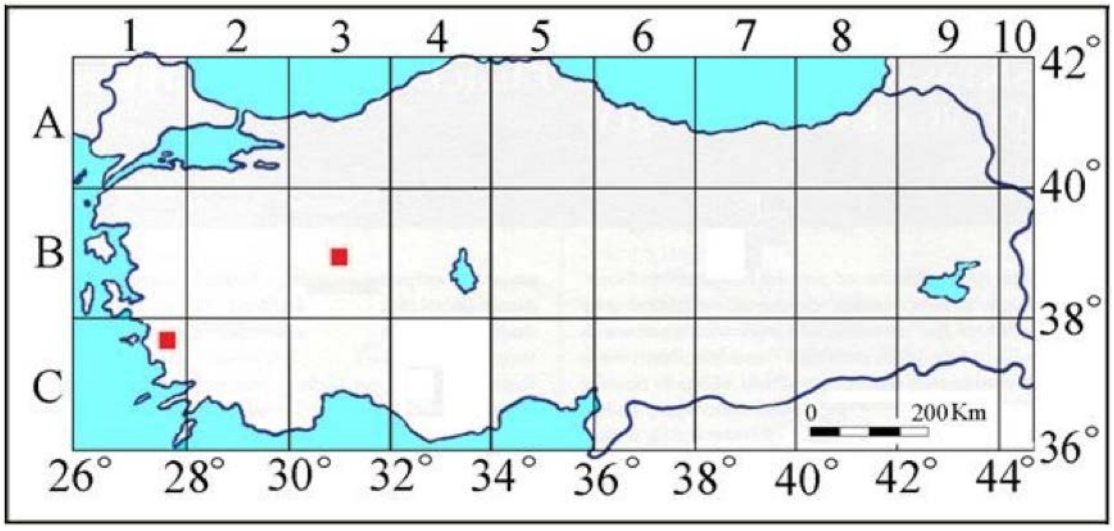
Tip: Türkiye; C1 Aydın: Selçuk-Davutlar, 7 km nördlich von Davutlar, Strassrand, 30 m, 4 vii 1978, M. ; B3 Isparta, Uluborlu Barajı çevresi, orman açıklıkları, 1200 m, 15.07.2017, Bağcı 3555 ve Doğu. Endemik. Doğu Akdeniz elementi.



Şekil 2.1. *R. mykalea* türünün Kapitula görünümü



Şekil 2.2. *R. mykalea* türünün habit görünümü



Şekil 2.3. *R. mykalea* türünün coğrafik yayılış alanı

2.1.2. *Rhaponticoides hierroi* sistematiği ve genel özellikleri

Alem: Plantae

Şube: Magnoliophyta (Kapalı Tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (Dikotiledonlar)

Alt Sınıf: Asteridae

Takım: Asterales

Familya: Asteraceae

Alt Familya: Carduoideae

Oymak: Cynareae (Cardueae)

Alt Oymak: Centaureinae

Cins: *Rhaponticoides*

Rhaponticoides hierroi Ö. Eren, Pl. Syst. Evo. 267: 13-23 (2007). Antalya Tülüşahi

2.2 m'ye kadar boylanabilen rizomlu çok yıllık bitkiler. Basit veya birkaç güçlü gövdeli, dik, oluklu, tüysüz, tabanda yaklaşık 6-10 mm çapında. Yapraklar derimsi rozet, tüysüz, marjin ve damarlar kısaca scabridsi. Taban yaprakları basit, eliptik- ovat, saplı, 28-32 x 5-6 cm (sap dahil), yaprak sapı 12 cm'e kadar uzar ya da çoğunlukla pinnatiseckt, saplı, birincil segmentler 5-7 çift, 35-60 x 14-20 cm (sap dahil); tüm segmentlerin sonunda belirgin mukrolu, ikincil segmentler linear- lanseolat, 6-11 x 2.5-4 cm; pinnatifid, uç segmentler lanseolat 7.5-10 x 5-7 cm, pinnatisekt ya da pinnatiloblu. Alt ve

orta saplı yapraklar bipinnatisekt tabanda olan yapraklara benzer fakat daha küçük. Yukarıdaki gövde yaprakları pinnatisekt, sapsız, gövdenin uç kısmına doğru daha küçük, segmentler tam, belirgin bir mukro ile uç kısım akût. Involukrum tüysüz, geniş bir şekilde ovoid, hemen hemen hemisferik 4-5 x 3.5-5 cm, tabanda kamburumsu. Fillariler çokserili, derimsi, soluk yeşil, bağlanma noktasına yakın beyaz ve kıkırdaksı, dar membransı marjinli(1-1.5 mm uzunluğunda); margin tam, yüzey düzden dalgalıya değişir, olgunluğa doğru kahverengileşir, tüm fillariler siyahımsı-yeşil boyuna damarlı, dışta olanlar kaşık şekilli, kukullat, 10-25 x 8-18 mm, içteki oblong ya da linear-lanseolat, kukullat, 25- 40 x 4-12 mm; belirgin patent refleksit apendajlı, apendajlar fillarileri tabanda kısmen örter, ovoid-orbicular, kremsi yeşil, dış apendajlar 2-2.5x 2.0-2.5 cm, orta apendajlar 2.5-3.0 x 2.0-2.5 cm, iç fillariler 2.5-3.5 x 1.0-1.5 cm, çiçek solgun sarı, yaklaşık 5 cm, belirgin olarak 5 damarlı, kenarda olanlar hemen hemen radiant, steril, liguller (dilcikler) filiform yukarı doğru 10 mm uzunluğunda, anter tüpü solgun sarı, subexserted- exserted, Akenler silindirik, 9.0-11 x 3-5 mm, kremsi kahverengi, sarımsı ve tabandaki kısımlar parlak, yana doğru baskılanmış, boyuna çok sayıda ince siyah çizgili. Pappus çift sıra, dış sıra çok serili, skabroz, kirli beyazdan kahverengimsi ye, 16-18 mm, iç pappus tek sıra, 2.5–3 mm. Çiçeklenme Haziran sonları, Ağustos ayı başları.

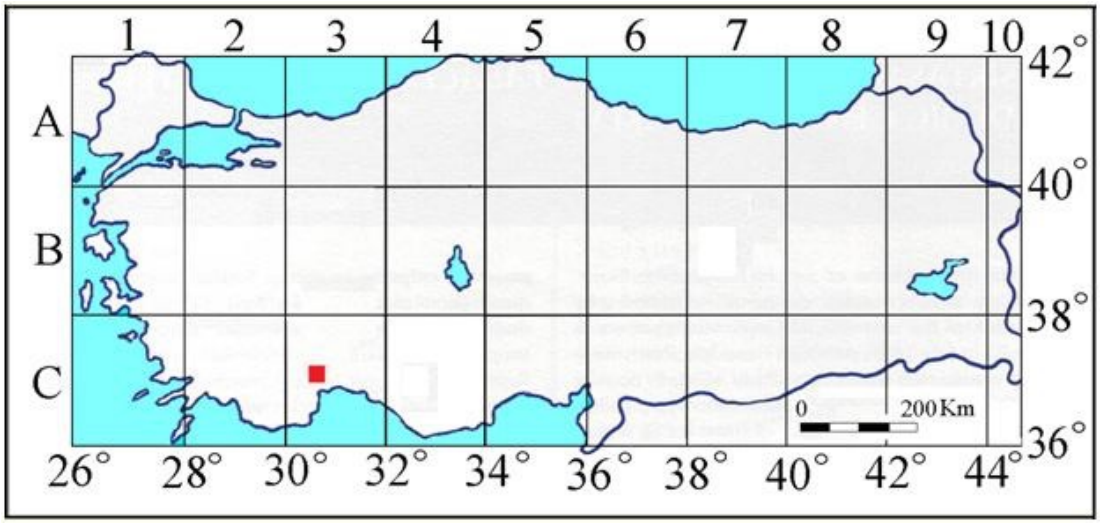
Holotip: Türkiye, C3 Antalya; Antalya ve Saklıkent yolu arası, Bakacak geçidi aşağısında, Boyunduruk battı, 1100 m, eğimli kayalık, *Pinus brutia* Ten. orman açıklıkları, kalker taşı, limestone, 17.7.2017, Bağcı 3556 ve Doğu. Antalya Bölümü. Endemik. Akdeniz elementi.



Şekil 2.4. *R. hierroi* türünün Kapitula görünümü



Şekil 2.5. *R. hierroi* türünün Habitat görünümü



Şekil 2.6. *R. hierroi* türünün coğrafik yayılış alanı

2.2. Tıbbi Bitkiler

Yaprak, çiçek, kök, yumru, kabuk, tohum ve meyve gibi organlardan birisinde veya tümünde bulunan alkaloit, glikozit, heterozit, flavanoit, fenolik ve daha pek çok biyolojik aktif sekonder metabolitlerden dolayı ilaçların hammaddesi olarak kullanılan bitkilere tıbbi bitkiler denir (Baydar 2005).

Tıbbi aromatik bitkiler çok eski dçnemlerden bu yana değişik amaçlarla kullanımıştır. Tıbbi aromatik bitkiler ve bu bitkilerden hazırlanan bitki kökenli ilaçlar günümüzde dünyada birçok ülkede; bitkisel ilaçlar, bitkiseller, fitoterapötikler, fitofarmasötikler ve geleneksel ilaçlar gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Günümüzde Avrupa Birliği ülkelerinde Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı (EMEA) tarafından ortak bir terim kullanması amacıyla bu tür bitkisel ürünlere "Herbal Medicinal Products" (Tıbbi Bitkisel Ürünler) ismi kullanımı uygun bulunmuştur (Kartal 2004).

Tıbbi bitkilerden sadece beslenme amacıyla değil aynı zamanda tat ve koku verici, ilaç, barınak yapımı, yakacak ve silah gibi farklı alanlarda da faydalanılmıştır. Özellikle şifalı olarak bilinen bitkilerden elde edilen özütler birçok hastalığın iyileştirilmesinde kullanılmış ve bunun sonucunda şifacılık olarak bir meslek ortaya çıkmıştır. Fakat 19. yüzyılın başından itibaren bitkilerdeki etken maddelerden ilaç üretilmeye başlanmış ve bu sayede ilaç endüstrisi doğmuştur. İlaç endüstrisinin başlaması geleneksel yöntemlerin büyük ölçüde atıl kalmasına neden olmuştur (Baytop 1999). Bitki esktraktlarından elde edilen doğal ilaçların, yan etkilerin yok denecek kadar az olması ve bunun yanı sıra

iyileştirici birçok etkiyi barındırmaları bitkisel kökenli ilaç etken maddelerine olan ilginin artmasına destek olmuştur (Baytop 1999).

Yapılan araştırmaların artması ile birlikte ülkemizde tıbbi bitkilerin kullanımı ve diğer ülkelere ihracatı da artış göstermiştir. Buna rağmen, yararlı etkileri kanıtlanmış bitkisel kaynakların ilaç etken maddesi olarak kullanımının tam verimle sağlandığını söylemek pek de mümkün değildir (Koçyiğit 2005).

Avrupa'da bitkisel ürünlere olan ilginin artışı sonucunda Avrupa Birliği'ndeki ülkelerin de standartlarının bu bitkisel ürünlerle uyumlaştırılması konusunu gündeme getirmiştir. Bu konu hakkında Avrupa Parlamentosu ve Avrupa Komisyonu; 1997 yılı Mayıs ayından başlayarak; EMEA bünyesinde Tıbbi Bitkisel Ürünler Çalışma Grubunu kurarak uyum çalışmalarının başlamasını sağlamışlardır (Kartal 2004). Amerika'da bitkisel ilaç satışları ve vitamin destek tabletleri son yıllarda % 60 oranında artış göstermiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nden elde edilen bilgiler ışığında toplumun % 80'nini oluşturan insanların doğal tedaviyi tercih ettikleri açıklanmıştır. Türkiye için de aynı durumdan söz edilmektedir. Ülkemizde sağlıklı yaşam için mineral, vitamin ve antioksidan madde satışları gittikçe artış gösteren bir sektör haline gelmiştir (Diken 2009).

Yaşamakta olduğumuz dönemde, bitkiler ile hastalıkların tedavi edilmeye çalışıldığı toplumsal bilinç, bitkilerin etkisinin ve araştırmalarının zaman geçtikçe artış göstermesi ve önem kazanmasıyla oluşmaya başlamıştır. Bu bilinçle aynı doğrultu da olarak Sağlık Bakanlığı tarafından Resmi Gazetede 27 Ekim 2014 tarihinde "Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği'' ve 6 Ekim 2010 tarihinde "Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği'' yayınlanmıştır. Bu yönetmeliklerin amacı; insan sağlığını tedavi edici veya koruyucu olan etkileri ve geleneksel yönden kullanıma sahip tıbbi bitkilerden hazırlanan bitkisel özütlerin ve bitkisel tıbbi ürünlerin kullanım ruhsatlarını vermek, güvenlilik, etkililik ve kalitesi ile ilgili uyulması gereken yöntem ve esasları belirlemek içindir. Ayrıca yönetmelikler, tedavi ve koruyucu etkileri olduğu kanıtlanmış geleneksel bitkisel tıbbi ürünlerin endüstriyel olarak üretilebilmesi ya da ithal edilebilmesi ile alakalı başvuruların değerlendirilmesi hakkında, ihtiyaç duyulan ruhsatların verilebilmesi ve bunlar için ruhsat başvurusunda bulunan ya da daha önceden ruhsat verilmiş olan tüzel ve gerçek kişileri kapsamaktadır. Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliğinin amacı, insan sağlığına yönelik tamamlayıcı tıp ve geleneksel uygulama metotlarını belirlemek, bu metotları uygulayacak olan kişilerin yetkilendirilmesi ve eğitimi ile bu metotların uygulanacağı sağlık kuruluşlarının çalışma

yöntem ve esaslarını düzenlemektir. Yönetmelik kapsamında yapılabilecek uygulamalar; fitoterapi, homeopati, mezoterapi, osteopati, apiterapi, proloterapi, akupunktur, kayropraktik, ozon uygulaması, sülük uygulaması, larva uygulaması, kupa uygulaması, hipnoz, müzikterapi ve refleksoloji'dir (Gur ve ark 2017).

Bugün dünyada 270 000 çiçekli ya da tohumlu bitki türünün kayıtlı olduğu, bunlardan yaklaşık 20 000'in tıbbı amaçlar için kullanıma elverişli olduğu, 4 000 civarında bitkisel drogun yoğun olarak kullanıldığı ve özellikler 500'e yakınının ekonomik amaçlı olarak ticaret yapıldığı belirtilmektedir (Baydar 2005).

Ülkemiz Avrupa – Sibirya, Akdeniz ve İran – Turan bölgesi olmak üzere üç büyük temel bitki coğrafyasının kesişim bölgesinde yer alması nedeniyle, tıbbı ve aromatik bitkiler bakımından zengin bir çeşitlilik göstermektedir (Baydar 2005). İklim, yer şekilleri ve toprak özellikleri bakımından birçok bitkinin yetişmesi için uygun şartlara sahip olan Türkiye birçok bitkinin vatanıdır. Ülkemiz florasında yaklaşık olarak 10 000 kadar tür yetişmekte olup, bunların 1/3'ünün aromatik bitkilerden oluştuğu ve 650 kadarının halk hekimliğinde tedavi amaçlı olarak kullanıldığı rapor edilmişti (Baytop 1984).

Ülkemizde ticari değeri olan aromatik bitkiler *Asteraceae (Compositae), Apiaceae (Umbelliferae), Lamiaceae (Labiatae), Solanaceae, Lauraceae, Fabaceae (Leguminosae), Rutaceae* ve *Ranunculaceae* familyalarına aittir. *Asteraceae (Compositae), Apiaceae (Umbelliferae)* ve *Lamiaceae (Labiatae),* tıbbi, aromatik bitkiler açısından zengin familyalar arasında ilk sıralarda yer alır (Davis 1984).

2.3. Bitki Biyolojik Aktivite Bileşikleri

Bitkiler primer ve sekonder metabolit olarak adlandırılan çok çeşitli organik bileşikler sentezlemektedirler. Primer metabolitler; amino asitler, fitosteroller, lipitler, karbonhidratlar, nükleotidler ve proteinler olup büyüme, gelişme, fotosentez ve solunum gibi birçok süreçte önemli rol oynamaktadırlar. Sekonder metabolitler ise temel büyüme ve gelişme için gerekli olmayan fakat biyotik ve abiyotik streslere karşı çevresel uyumda görev alan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Fett-Neto 2010).

Sekonder metabolitler, bitkinin ekosistemle olan ilişkisinde, çevresel koşullara uyumunda, savunma, korunma, hayatta kalma, nesillerini sürdürme gibi önemli olaylarda çeşitli avantajlar sağlayan kimyasal maddelerdir. Bunlar arasında; bitkiyi patojenlere karşı koruyan anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-viral; diğer bitkilere karşı doğal yaşamda rekabet gücünü arttıran anti-germinatif ve toksik maddeler; UV ışınları, tuzluluk, kuraklık

gibi zararlı çevresel etmenlerin neden olduğu stres koşullarında direnç arttırıcı metabolitler; zararlı hayvanlar ve otlara karşı korunmayı sağlayan insektisit, pestisit, molluskusit ve herbisidler; polinasyon ve tohum dağılımını sağlamak üzere hayvanları cezbedecek renkli ve güzel kokulu metabolitler bulunmaktadır (Oskay ve OSKAY 2009).

Günümüzde bitkisel sekonder metabolitler gıda sektöründe tatlandırıcı, kıvam arttırıcı, renk ve koku verici; kozmetik endüstrisinde parfüm ve kozmetik ürün (krem, tonik, maske); tarım alanında insektisit; tekstilde kumaş boyamada kullanılan doğal boyaların ede edilmesi gibi alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca, Dünya Sağlık Örgütü tarafından temel ilaçlar kapsamında ilan edilen 252 ilacın % 11'i bitkisel sekonder metabolitlerden üretilmektedir (Oskay ve OSKAY 2009).

Bitkiler, fenolik asitler ve flavonoidler, tokoferoller (E Vitamini), karotenoidler, askorbik asit (C Vitamini), tanenler, lignanlar ve ligninler gibi temel antioksidanları içermektedir. Bunlar özellikle bitkilerin yaprakları, çiçeklenen dokuları, gövde ve kabuk gibi odunsu kısımlarında bulunurlar (Kähkönen ve ark 1999).

2.3.1. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bitki alemindeki yaygın sekonder metabolitlerin büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Bunlar bitkinin büyümesi ve hayatta kalması için temel olan birçok işlevi gerçekleştiren bitki metabolizmasının ürünleridir. Bir veya daha fazla hidroksil grup taşıyan bir veya birden fazla aromatik halkadan meydana gelmişlerdir. Bunlar bu yapılarına bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Her bir sınıf hidroksil gruplarının sayı ve pozisyonuna ve bileşiminde bulunan diğer atomlarına göre alt kategoriye ayrılmaktadır (Hannum 2004) (Podsędek 2007).

Fenolikler reaktif oksijen türlerinin elektron verme özelliklerine bağlı olarak bunları süpürücü etki göstermektedir. Bunların antioksidan etkinlikleri hidroksil gruplarının sayısı ve bulunduğu yerin yanı sıra farklı sistemlerdeki kararlılıklarına bağlıdır. Birçok *in vitro* çalışmaya göre, fenolik bileşikler vitaminler ve karotenoidlerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Podsędek 2007). Bunlar ayrıca bitkilerin patojen, parazit ve predatörlere karşı dirençli olmalarını sağlayarak doğal pestisitler olarak rol oynarlar (Drewnowski ve Gomez-Carneros 2000).

Fenolik bileşikler gıdalarda basit moleküllerden çok geniş oligomerlere kadar büyük bir aralıkta bulunmaktadır. Bunlar birçok gıda ve içeceğin sertlik ve acılığından sorumludurlar. Gıdalardaki fenolik bileşikler sıklıkla glikozitler olarak mevcuttur. Bağlı

şekerler bu bileşikleri daha fazla suda çözünebilir kılmaktadır. Buna rağmen, çok yüksek moleküler ağırlıklı oligomerler genellikle suda çözünmez. Bunlara ilaveten, benzoik asit veya sinnamik asit türevleri gibi diğer fenolik bileşikler meyve ve sebzelerde tanımlanmıştır. Bitkisel gıdalarda yüzlerce farklı fenolik bileşik mevcut olmasına rağmen bunların yaklaşık üçte ikisi flavonoid, dörtte biri fenolik asit olarak yaygın bir şekilde tüketilmektedir (Drewnowski ve Gomez-Carneros 2000) (Hannum 2004) (Podsędek 2007).

2.3.2. Flavonoidler

Polifenollerin en yaygın olan ve çeşitlilik gösteren grubu karbon (C) iskeletinin (C6–C3–C6) üzerine kurulu olan flavonoidlerdir (Podsędek 2007). Flavonoidler potansiyel antioksidanlar olarak bilinmektedir (Hannum 2004). 5000'in üzerinde flavonoid mevcuttur. Bunlar genellikle flavonoller, flavonlar, izoflavonlar, flavinler ve antosiyanidin alt sınıfları içinde gruplandırılmaktadır. Kateşinler ve kuersetin gibi özgün bileşikler bu alt sınıfların içerisinde yer almaktadır Flavonoidler geniş çeşitlilikte biyolojik etkiye sahiptir. Bunların en önemlisini antioksidan aktivite, kılcal damarları koruyucu etki, çeşitli safhadaki tümörlere karşı inhibitör etki oluşturmaktadır. Bunların kanseri önlemesiyle olan ilişkisi, antimutajenik ve antiproliferatif yeteneklerinden, güçlü antioksidan kapasitelerinden, hücresel sinyal, hücre döngüsünün düzenlenmesi ve anjiyogenezde yer almalarından kaynaklanmaktadır (Neuhouser 2004) (Podsędek 2007).

Hem flavonoidler hem de fenolik asitler sinerjik olarak askorbat ve tokoferol gibi diğer antioksidanlarla birlikte çalışabilirler. Bunların bu vitaminler üzerinde az da olsa etkili oldukları bilinmektedir (Hannum 2004).

2.3.3. Karotenoidler

Karotenoidler (karotenler ve ksantofiller) birçok meyve ve sebzede bulunan sarı, turuncu ve kırmızı pigmentlerdir. Bunların çeşitleri A vitamininin öncülleridir (örneğin β-karoten, γ-karoten, ve β-kriptoksantin) ve konjuge çift bağlarından dolayı hem radikal süpürücü hem de singlet oksijen bastırıcı özelliktedir. Serumda daha düşük β-karoten seviyelerinin mevcudiyeti, daha yüksek oranda kanser ve kardiyovasküler hastalıklarla bağlantı göstermektedir (Podsędek 2007).

2.3.4. Tanenler

Yüksek moleküler ağırlıklı polifenoller bitki tanenleri olarak bilinmektedir. Bunlar darı ve arpa, nohut, keçiboynuzu, kuru fasülye ve baklagiller, meyve, çay, şarap ve hayvan yemi olan çeşitli bitkilerde yayılış göstermektedir (Drewnowski ve Gomez-Carneros 2000). Tanenler, proantosiyanidinler olarak bilinen yoğunlaştırılmış hidrolize edilemeyen tanenler ve gallik asit, elajik asitin esterleri gibi hidrolize edilebilen tanenlerden oluşmaktadır. Bunlar meyve ve meyve ürünlerinin özelliklerinin şekillenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Meyve ve meyve sularının rengindeki değişiklikler ve tart tadından sorumludurlar. Antosiyaninlerce zengin meyvelerde, tanenler kopolimerler oluşturmak için antosiyaninlere bağlanarak onları sağlamlaştırır. Birçok meyve yoğunlaştırılmış tanenleri içermektedir. Hidrolize edilebilen tanenlerle (gallik ve elajik asidin türevleri) daha az sıklıkla karşılaşılmaktadır. Bunlar çilek, ahududu ve böğürtlende bulunmaktadır (Szajdek ve Borowska 2008).

2.4. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar ortamdaki bulunan oksijeni alıkoyarak oksidasyon reaksiyonlarının başlamasını veya ilerlemesini engelleyen bileşiklerdir (Okcu ve Keleş, 2009). Antioksidan bileşiklerin potansiyel kaynaklarını sebzeler, meyveler, tohum yağları, hububat ürünleri, kabuklar, kökler, baharatlar, şifalı bitkiler, ham bitki ilaçları gibi çeşitli tipte bitki materyalleri oluşturmaktadır (Kähkönen ve ark 1999).

Normal oksidatif metabolizma, potansiyel olarak tehlikeli oksidanları yani serbest radikalleri fazla miktarda üretmektedir. Serbest radikaller atomik yörüngede eşleşmemiş elektron taşıyan, kararsız, hücrelerin duyarlı kısımlarına saldırarak hasara yol açan moleküllerdir (Okcu ve Keleş 2010). Hücrelere ve dokulara birçok yoldan zarar verebilirler. Antioksidanlar, serbest radikallerle uyarılan doku hasarını radikallerin oluşumunu önleyerek, onları ortamdan süpürerek veya ayrışmalarını sağlayarak önlemektedir (Stanner ve ark 2004).

Sağlıklı bireylerde, serbest radikallerin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge mevcuttur. Denge, antioksidan seviyelerinin azalması veya serbest radikallerin üretiminin artması lehine olduğunda oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres reaktif oksijen türleri (ROT) gibi genelde yüksek reaktif moleküllerinin aşırı oluşumu ve/veya tamamen kaldırılamaması olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stresin,

özellikle yaşlanmaya bağlı olarak Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif bozukluklarda neden olabileceği yaygın bir şekilde bilinmektedir. Dahası oksidatif hasar kanser, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, katarakt ve inflamasyon gibi birçok kronik hastalığı başlatabilmekte ve ilerletebilmektedir (Parejo ve ark 2002).

Antioksidanlar radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasar molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterirler (Gürdöl 2005).

Serbest fenolik asitler hidrojen veya elektron vermelerine göre antioksidan moleküller olarak görev yaparlar. Kanser tedavisinde flavonoidlerin yararlı etkileri reaktif oksijen türlerini (ROS) indirgeme ve süpürücü özelliğini içeren antioksidant olarak davranabilme kapasiteleriyle bağlantılıdır (Viswanath ve ark 2009).

2.4.1. DPPH radikal giderme aktivitesi

Braca ve ark. tarafından ortaya konan metoda göre DPPH•radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir serbest radikal olup bu radikal 517 nm'de maksimum absorbans oluşturmaktadır. Antioksidanlarla muamele, DPPH•'tan kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorbansın düşüşüne sebep olacaktır. Farklı numune konsantrasyonuyla muamele edilen DPPH•'ın absorbansındaki değişim ölçülerek aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır (Braca ve ark 2001).

Serbest radikalin % inhibisyon değeri: $(A_{kontrol} - A_{örnek} / A_{kontrol}) \times 100$ (2.1)

2.4.2. Demir (II) iyonlarının şelatlama etkisi

Ekstraktlar ve standart olarak kullanılan antioksidan maddelerin mutlak etanol ile hazırlanan çözeltilerinin metal–şelat aktivitesi Dinis metoduna göre çalışılır (Dinis ve ark 1994). Bu metodun esası Fe^{+2}–ferrozin kompleksinin spektrofotometrik olarak 562 nm'de ölçülmesidir. Bu kompleks ortamda şelatlaştırıcı bir bileşik olması durumunda bozunarak Fe^{+2}–ferrozin kompleksinin renginin azalmasına neden olur. % inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

% şelatlama aktivitesi = $[(A_{kontrol} - A_{örnek} / A_{kontrol})] \times 100$ (2.2)

2.4.3. Likopen ve β - Karoten miktarı tayini

Likopen ve β-Karoten mikar tayini yapılırken bitki özütleri belli oranda aseton:hekzan karışımı ile belirli sürelerle karıştırılır ve süzülür. Süzüntünün absorbans değerleri 453 nm, 505 nm ve 663 nm dalga boylarında spektrofotometre ile ölçülür. Değerler aşağıdaki formüllere göre hesaplanır:

Likopen Miktarı (mg/100 mL) = $-0{,}0458.A_{663} + 0{,}372.A_{505} - 0{,}0806.A_{453}$ (2.3)

β-Karoten Miktarı (mg/100 mL) = $0{,}216.A_{663} - 0{,}304.A_{505} + 0{,}452.\ A_{453.}$ (2.4)

2.4.4. Toplam fenolik içerik tayini

Siddhuraji ve Becker tarafından ortaya konan metoda göre; suda ve diğer organik çözücülerde çözünmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan sarıdan yeşile doğru renkli kompleks 760 nm'de maksimum absorbans oluşturur (Siddhuraju ve Becker 2003).

2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların hızlı direnç oluşturmaları, doğal bitkisel kaynakların önemini daha da çok arttırmıştır (Dağcı ve ark 2002). Bitkisel materyaller eski medeniyetlerden beri enfeksiyon hastalıklarını içeren hastalıklarla savaşmak için önemli bir kaynak olarak değişmeden kalmaktadır (Doğan ve ark 2010). Klasik klinik uygulamalar bitki yağlarının sistit, intestinal enfeksiyonlarını iyileştirmek ve çocukların kulak enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanımını içermektedir. Yaygın şekilde gıda olarak kullanılan bazı bitkilerin de antimikrobiyal etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Örneğin, *Allium sativum* (sarımsak) standart antibiyotiklerle kıyaslanabilen bir antimikrobiyal etki göstermektedir (Abascal ve Yarnell 2002).

Araştırmacılar bakteri, fungi, virüs ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarına karşı geniş spektrumlu yeni antibiyotikleri geliştirmek için uzun yıllardır çalışmaktadırlar. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı ilaç direncinin oluşumuna neden olmaktadır (Karaalp ve ark 2009). İnsana yönelik patojen mikroorganizmalardaki çoklu ilaç direnci enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın

olarak kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel alınmasına bağlı olarak gelişmektedir. Bu nedenle bilim adamları çoklu direnç geliştiren bakterilere karşı yeni antimikrobiyal maddeler geliştirmeye çalışmaktadır (Doğan ve ark 2010). Benzoin ve emetin gibi mikroorganizmaların üremesini engelleyen yeni bileşikler bitkilerden izole edilmektedir. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal bileşikler şu an kullanılan antibiyotiklerden farklı bir mekanizmayla bakterilerin üremesini engellemektedir (Eloff 1998) (Talib ve Mahasneh 2010). Bu nedenle son yıllarda bitkiler ile ilgili araştırmalarda önemli bir artış vardır (Eloff 1998). Birçok çalışma ile bitkilerin *in vitro* mikrobiyal direnci gidermekte olduğu ve antibiyotiklerle sinerjik olarak etkileştiği gösterilmiştir (Abascal ve Yarnell 2002).

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları etken mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçlarına göre enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılığı temelde iki farklı yöntem ile belirlenebilir (Murray 2009).

2.5.1. Agar Kuyucuk difüzyon yöntemi

Yöntemin esası belirli konsantrasyondaki antimikrobiyal maddenin katı besiyerine difüze olması yani yayılmasıdır. Genel olarak test edilecek bakteri populasyonundan uygun katı besiyerine ekim yapılır. Antimikrobiyal maddenin konulması için agar üzerinde belli çaplarda kuyular açılır. Antimikrobiyal madde belli konsantrasyonda kuyulara konulur. Optimum sıcaklıkta yeterince inkübe edildikten sonra zon oluşup oluşmadığına bakılır (Ilhan ve ark 2006).

2.5.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

2.5.2.1. *Bacillus cereus*

Toprak, su, süt gibi ortamlarda çok yaygındır. İnsanlar ve hayvanlar için patojendirler. Hareketli, kapsülsüz, santral veya subterminal yerleşimli sporlu, gram pozitif, aerop ve fakültatif anaerop basillerdir. Sporlar pastörilizasyon sırasında sağlam kaldığı için özellikle süt ve süt ürünlerinde önemlidir. Besin zehirlenmesi, göz enfeksiyonları, sepsis, menenjit, beyin kanaması, akciğer apsesi, pnömoni, karaciğer apsesi ve idrar yolu enfeksiyonlara gibi hastalıklara yol açabilir (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.2. *Bacillus subtilis*

Doğada yaygın olarak toz, toprak, bitki, gübre, hayvanlar, süt ve sularda bakterilerdir. Subterminal peritrik kirpikleri ile hareketli, gram pozitif, bazen suşlar kapsüllü, aerop ve uzun zincirler yapabilen türlerdir. En sık besin zehirlenmesi, doku veya göz içerisinde girerek göz yangılarına, septisemiye gibi hastalıklara yol açabilir (Murray 2009).

2.5.2.3. *Staphylococcus aureus*

İnsan ve sıcakkanlı hayvanlarda patojenitesi olan doğada yaygın olarak bulunan bakterilerdir. Sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz, koagülazı pozitif ve gram pozitif olan stafilokok türüdür. *S. aureus'*un içerdiği ekzotoksinler eritrositlere, lökositlere, makrofaj ve trombosit gibi çok sayıda hücreyi etkiler. *S. aureus* yumuşak doku enfeksiyonları, toksik şok sendromu, solunum sistemi enfeksiyonları, endokardit, tromboflebit, besin zehirlenmesi, septik artrit, osteomyelit, pnömoni, menenjit, sepsis ve bakteriyemi gibi hastalıklara yol açabilirler (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.4. *Enterecoccus fecalis*

Enterokoklar insan ve hayvanların normal floralarında bulunabilirler. Gram pozitif, katalazı negatif bakterilerdir. Hastane patojeni olarak saptanmıştır, idrar yolu enfeksiyonları, intraabdominal abseler, yara enfeksiyonları ve endokardit gibi hastalıklara yol açabilir (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.5. *Enterecoccus hirae*

Enterecoccus hirae klinik olarak teşhis edilmesi oldukça zor bir patojen Gram posizitif bakteridir. Çok sık rastlanmaz. Morfolojik olarak streptokoklarla benzerlik gösterirler. Anaerob bakterilerdir. Kanlı agarda gri renkli, parlak, buğulu görünümdedir. (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.6. *Escherichia coli*

Doğada toprakta, sularda, insan ve hayvan gastrointestinal sistem floralarında bol miktarda bulunur. *E. coli* gram negatif, hareketli, kapsüllü, laktozu asit ve gaz oluşturarak fermente eden, üreaz enzimi negatif, hidrojen sülfür oluşturmayan, triptofandan indol

oluşumu pozitif basillerdir. En sık idrar yolu enfeksiyonları, yeni doğan menenjiti, sepsit ve turist diyaresi gibi hastalıklara yol açabilirler (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.7. *Pseudomonas aeruginosa*

İnsan ve hayvanlarda fırsatçı patojen olan doğada çok yaygın bulunan bakterilerdir. Oksidaz pozitif, nonfermantatif, hareketli, aerop gram negatif basillerdir. *P. aeruginosa'*nın içerdiği ekzotoksinler, proteolitik enzimler ve enteretoksinler ile hastalık yaparlar. En önemli enfeksiyonları yara-yanık enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menejitler, göz enfeksiyonları, bronsit, damar içi ilaç kulanıcılarında endokardit veya osteomyelite ve septisemi gibi hastalıklara yol açabilirler (Murray 2009) (Tünger 2003).

2.5.2.8. *Klebsiella pneumaniae*

Klebsiella pneumaniae genellikle flora olarak, ağız, deri ve bağırsakta olmasına rağmen, solunması halinde, akciğerde yıkıcı hasarlara neden olmaktadır. *K. pneumoniae* normal olarak toprakta bulunur ve % 30'u azot fiksasyonu ile aneorob olarak yaşamlarını sürdürürler. Diazotrof olarak serbest olarak yaşayan, *K. pneumoniae* azot fiksasyonu için çok önemli olduğu ve tarım ürünlerinin verimliğinde çok önemli rol üstlenir (Ryan 2004).

2.5.2.9. *Salmonella typhimurium*

Salmonella Gram (-) patogen bir bakteridir. Toksisitesi dış membranında çokça bulunan lipoproteinlerden kaynaklanmaktadır. İnsan ve hayvanların sindirim sistemimi florasında bulunur. Yaklaşık 2300 tipi vardır. Bazı tipleri tamamen zararsız olduğu gibi bazı tipleri de gıdalarda yüksek oranda bulunduklarında hastalık yapabilir, zehirlenmeye yol açabilir. Salmonella bakterisi normal pişirme şartlarında etkisiz hale gelir, ölür (Murray 2009).

2.5.2.10. *Candida albicans*

C. albicans, insan ağzı, sindirim sistemi ve vajinada yaşayan, en sık gözlemlenen organizmadan biridir. Varlığıyla *C. albicans,* sindirim sistemindeki varlığıyla başka patojen bakterilerin çoğalmasını engeller. Bağışıklık sistemi normal çalışan bireylerde Candida kontrol altında tutulur (Murray 2009).

2.5.2.11. *Candida krusei*

İnsanda hastalık yapan Candida türlerinden biridir. *Candida krusei*'ye bağlı kandidemiler daha çok hematolojik malignitesi olanlarda ve/veya kemik iliği ve kan alıcılarında özellikle flukonazol profilaksisi uygulanan hastalarda görülür (Murray 2009).

2.5.2.12. *Candida tropicalis*

İnsanda hastalık yapan Candida türlerinden biridir. *Candida tropicalis* endokardiyal kandidaz (kalp zarı iltihabı) sebebi candidadır (Murray 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyaller

Bu tez çalışmasında çalışılan bitkiler, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan (Konya, Isparta) iki endemik *Rhaponticoides* türünden *(R. mykalea, R. hierroi)* oluşmaktadır.

Bu bitkilere ait örnekler, 2017 yılının Mayıs – Ağustos, Eylül aylarında yayılış gösterdiği yerlerden taze olarak toplanıp, morfolojik çalışma yapılacak bitki örnekleri herbaryum örneği olabilecek şekilde hazırlanmış ve arazide gözlenebilen özellikleri deftere kaydedilmiştir. Ayrıca bitkinin arazide digital fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekilmiştir.

Araştırmada materyal olarak kullanılacak *Rhaponticoides* türlerinin bitki teşhisleri konunun uzmanı saygıdeğer Prof. Dr. Yavuz Bağcı tarafından yapılmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Tez çalışmasında *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumaniae* ATCC 13883, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* Y-12968 mayaları kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan antibiyotikler

Karşılaştırma için ampisilin, kloramfenikol (antibakteriyal) ve ketokonazol (antifungal) standart antibiyotik olarak kullanılmıştır.

3.1.4. Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler

3.1.4.1. Bitki ekstraksiyonu için kullanılacak kimyasal madde ve çözücüler

Bu tez çalışmasında çalışılan, iki endemik *Rhaponticoides* türünden *R. mykalea ve R. hierroi* türlerinin çiçek ve gövde kısımlarından etanol ve metanol ektsraktları hazırlanmıştır.

3.1.4.2. Antimikrobiyal etki için kullanılacak kimyasal madde ve çözücüler

Muller Hilton Agar, Nutrient Broth, Malt Ekstrakt Agar, % 0.9 Serum fizyolojik, Distile su, DMSO (Dimetil sülfoksit), Etanol ve Metanol kullanılmıştır.

3.1.4.3. Antioksidan etki için kullanılacak kimyasal madde ve çözücüler

Etanol, Metanol, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Folin-Ciocalteu Reaktifi, Sodyum karbonat (Na2CO3) % 2'lik, 2 nM Demir II Klorür ($FeCl_2$), 5 mM Ferrozin Çözeltisi, Aseton, Hekzan, Distile su, Bütinlenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ve Gallik asit kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Ektrelerinin Hazırlanması

Tez çalışmasında kullanılacak *Rhaponticoides* türünden *R. mykalea ve R. hierroi* çiçek ve gövdeleri serin ve rutubetsiz bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulmuş bitkilerin çiçek ve gövdeleri öğütülmüştür. Bitki numunesinin 10 katı kadar çözücü eklenip karanlıkta oda sıcaklığında 7 gün bekletilecek Wathman no 1 kağıdıyla süzülüp evaporatörde 50 °C'de ve düşük basınçta uzaklaştırılarak kuru ekstreler elde edilmiştir.

3.2.2. Antimikrobiyal Etki Araştırması

3.2.2.1. Kullanılacak besiyerlerinin hazırlanması

Bu çalışmada bakterilerinin gelişmesi için genel amaçlı besiyerleri olan Müeller-Hinton agar ve Nutrient broth, maya suşları içinse Malt ekstrakt agar kullanılmıştır. Besiyerleri hazırlandıktan sonra kapaklı tüplere konularak 121 °C basınçta 20 dakika

steril edilir. Agar besiyeri 90 mm'lik petri kaplarına dökülüp oda sıcaklığında katılaştıktan sonra buzdolabında kullanılacağı zamana kadar saklanır. Sıvı besiyeride kullanılacağı zamana kadar buzdolabında saklanır.

3.2.2.2. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Agar kuyucuk yönteminde bakteri suşları Nutrient Agar besi yerinde 37 °C'de 24 saat, maya suşları ise Malt Ekstrakt Agar besi yerinde 30 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası mikroorganizmalar 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır. Müeller- Hinton Agar (bakteri suşları için) ve Malt Ekstrakt Agar (maya suşları için) üzerine % 1'lik mikroorganizma süspansiyonu besiyerine dirigaski özesiyle petrilere yayılmıştır. Delgeç ile 6 mm çapında besiyerlerinin belirli noktalarına kuyucuklar açılır. Açılan kuyulara 100 mg/mL derişimindeki bitki ekstrelerinden 50 µL olacak şekilde konulmuş ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan inhibisyon zonların çapları mm olarak ölçülmüştür.

Antimikrobiyal aktivite için kontrol olarak anbitiyotik disklerden kloramfenikol, ampisilin ve ketokanozol kullanılmıştır.

3.2.3. Antioksidan Etki Araştırması

3.2.3.1. DPPH radikal giderme aktivitesi

Bitki ekstrelerinin serbest radikal giderim aktivitelerini tespit etmek için % 0.004 DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) çözeltisi kullanılır. Tüplere 1 mL istenilen konsantrasyondaki ekstreler konulmuştur. Daha sonra 1 mL DPPH çözeltisi eklenmiştir. 30 dk karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. 517 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Karşılaştırma için standart olarak aynı konsantrasyonlarda hazırlanan sentetik bir antioksidan madde olan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanılmıştır. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

Serbest radikalin % inhibisyon değeri: $(A_{kontrol} - A_{örnek} / A_{kontrol}) \times 100.$ (3.1)

DPPH serbest radikalinin % 50'sini (IC_{50}) inhibe eden konsantrasyon (µg/mL) hesaplanmış ve IC_{50} değeri olarak verilmiştir.

3.2.3.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Farklı konsantrasyonlardaki (0,625 – 10 mg/mL) bitki özütleri hazırlanmıştır. 1350 µL çözücü ve 500 µL bitki özütü karışımı üzerine 2 mM $FeCI_2$ çözeltisi eklenmiştir. Karışım 5 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra karışımın üzerine 5 mM ferrozin çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Bu süre sonunda spektrofotometrede 562 nm dalga boyunda absorbanslar ölçülmüştür. Aşağıdaki formüle göre % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır:

% şelatlama aktivitesi: $[(A_{kontrol} - A_{örnek} / A_{kontrol})] \times 100.$ (3.2)

3.2.3.3. Likopen ve β - Karoten miktar tayini

100 mg bitki özütü üzerine aseton:heksan (4:6) karışımı eklenmiş ve 10 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışım whatman kağıdı yardımı ile süzülmüş ve absorbans değerleri 453 nm, 505 nm ve 663 nm dalga boylarında spektrometre ile ölçülmüştür. Aşağıdaki formüllere göre likopen ve β-karoten miktarı değerleri hesaplanmıştır;

Likopen miktarı (mg/100 mL): $-0,0458.A_{663} + 0,372.A_{505} - 0,0806.A_{453}$ (3.3)

β-karoten miktarı (mg/100 mL): $0,216.A_{663} - 0,304.A_{505} + 0,452. A_{453}$ (3.4)

3.2.3.4. Toplam fenolik içerik miktar tayini

Toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekol eşdeğer olarak belirlenir. Ekstrelerden 1 mg/mL tüplere dağıtılır. Üzerine Folin-Ciocalteu reaktifi eklenir. 3 dk bekletilir, 1 mL % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisi konulur ve iyice çalkalanır. Karışım oda sıcaklığında 1 saat bekletilir. 760 nm'de absorbans değerleri okunur. Sonuçlar standart gallik asit grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak µg gallik asite eşdeğer mg özüt miktarı olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması

Rhaponticoides hierroi ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin yaprak ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin on bir bakteri ve üç fungal test suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Karşılaştırma için standart antibiyotik olarak kloramfenikol, ampisilin (antibakteriyal) ve ketokanozol (antifungal) kullanılmıştır.

Özütlerin antimikrobiyal aktivitesi Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

R. hierroi metanol ekstraktı; *E. coli* ATCC 35218 bakterisine karşı 10.67 ± 0.47 mm; *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı 12 ± 0.82 mm ve *K. pneumaniae* ATCC 13883 bakterisine karşı 13.33 ± 0.47 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur.

R. hierroi etanol ekstraktı; *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı 12.67 ± 0.94 mm; *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı 10.33 ± 0.47 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur.

R. mykalea metanol ektraktı; *P. vulgaris* RSKK 96029 bakterisine karşı 13 ± 1.41 mm; *K. pneumaniae* ATCC 13883 bakterisine karşı 12.33 ± 0.47 mm; *B. cereus* NRRL B – 3711 bakterisine karşı 11.67 ± 0.47 mm ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı 12 ± 0 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur.

R. mykalea etanol ektraktı; *E. hirae* ATCC 9790 bakterisine karşı 11.67 ± 0.47 mm; *K. pneumaniae* ATCC 13883 bakterisine karşı 11.33 ± 0.47 mm ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı 12 ± 0 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur.

Çizelge 4.1. *R. hierroi* ve *R. mykalea* bitki özütlerinin (100 mg/mL) inhibisyon zon çapları (mm)

Bitki / Mikroorganizma	*R. hierroi* Metanol	*R. hierroi* Etanol	*R. mykalea* Metanol	*R. mykalea* Etanol
E. coli ATCC 35218	10,67 ± 0,47	-	-	-
E. coli ATCC 25922	-	-	-	-
S. aureus ATCC 25923	12 ± 0,82	12,67 ± 0,94	-	-
S. typhimurium ATCC 14028	-	-	-	-
P. vulgaris RSKK 96029	-	-	13 ± 1,41	-
E. hirae ATCC 9790	-	-	-	11,67 ± 0,47
E. faecalis ATCC 29212	-	-	-	-
K. pneumaniae ATCC 13883	13,33 ± 0,47	-	12,33 ± 0,47	11,33 ± 0,47
B. subtilis ATCC 6633	-	10,33 ± 0,47	-	-
B. cereus NRRL B-3711	-	-	11,67 ± 0,47	-
P. aeruginosa ATCC 27853	-	-	12 ± 0	12 ± 0
C. albicans ATCC 14028	-	-	-	-
C. krusei ATCC 6258	-	-	-	-
C. tropicalis Y-12968	-	-	-	-

4.2. Antioksidan Aktivite Araştırması

4.2.1. DPPH serbest radikalini süpürücü aktivite

Rhaponticoides hierroi ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin yaprak ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin serbest radikal süpürücü aktiviteleri DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi metodu kullanılarak bakılmıştır. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Özütlerin DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesi Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

R. hierroi metanol ekstraktı 108.50 ± 1.36 μg/mL IC_{50} değeri ile antioksidan etki göstermiştir.

R. hierroi etanol ekstraktı 347.04 ± 5.41 μg/mL IC_{50} değeri ile antioksidan etki göstermiştir.

R. mykalea metanol ekstraktı 125.78 ± 9.73 μg/mL IC_{50} değeri ile antioksidan etki göstermiştir.

R. mykalea etanol ekstraktı 130.85 ± 3.81 μg/mL IC_{50} değeri ile antioksidan etki göstermiştir.

Çizelge 4.2. DPPH Serbest radikalini süpürücü etki

Bitki	Çözücü	IC50 (μg/mL)
R. hierroi	Metanol	108,50 ± 1,36
R. hierroi	Etanol	347,04 ± 5,41
R. mykalea	Metanol	125,78 ± 9,73
R. mykalea	Etanol	130,85 ± 3,81

4.2.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Rhaponticoides hierroi ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin yaprak ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının (1994) önerdiği metoda göre çalışılmıştır.

Özütlerin Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

R. hierroi metanol ekstraktı 0.46 ± 0.35 μg/mL IC_{50} değeri ile şelatlama aktivitesi göstermiştir.

R. hierroi etanol ekstraktı 5.63 ± 0.21 μg/mL IC_{50} değeri ile şelatlama aktivitesi göstermiştir.

R. mykalea metanol ekstraktı 1.10 ± 0.11 μg/mL IC_{50} değeri ile şelatlama aktivitesi göstermiştir.

R. mykalea etanol ekstraktı 1.26 ± 0.02 μg/mL IC_{50} değeri ile şelatlama aktivitesi göstermiştir.

Çizelge 4.3. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Bitki	Çözücü	IC50 (mg/mL)
R. hierroi	Metanol	0,46 ± 0,35
R. hierroi	Etanol	5,63 ± 0,21
R. mykalea	Metanol	1,10 ± 0,11
R. mykalea	Etanol	1,26 ± 0,02

4.2.3. Likopen ve β - Karoten miktar tayini

Özütlerin Likopen ve β - Karoten miktarları Çizelge 4.4. ve 4.5.'de verilmiştir.

R. hierroi metanol ekstraktı 0.427 μg/mL Likopen; 0.577 μg/mL β - Karoten değeri göstermiştir.

R. hierroi etanol ekstraktı 0.513 μg/mL Likopen; 1.091 μg/mL β - Karoten değeri göstermiştir.

R. mykalea metanol ekstraktı 0.265 μg/mL Likopen; 0.343 μg/mL β - Karoten değeri göstermiştir.

R. mykalea etanol ekstraktı 0.338 μg/mL Likopen; 0.574 μg/mL β - Karoten değeri göstermiştir.

Çizelge 4.4. Likopen miktarı

Bitki	Çözücü	Likopen
R. hierroi	Metanol	0,427
R. hierroi	Etanol	0,513
R. mykalea	Metanol	0,265
R. mykalea	Etanol	0,338

Çizelge 4.5. β - Karoten miktarı

Bitki	Çözücü	β - Karoten
R. hierroi	Metanol	0,577
R. hierroi	Etanol	1,091
R. mykalea	Metanol	0,343
R. mykalea	Etanol	0,574

4.3.4. Toplam fenolik bileşik miktar tayini

Bitki ekstrelerinin toplam fenolik bileşik içeriği miktarını belirlemek için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Ekstrelerden 1 mg/mL alınarak 760 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Kontrol olarak gallik asit standart olarak kullanılmıştır ve toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Özütlerin toplam fenolik bileşik miktarları Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

R. hierroi metanol ekstraktı 121.98 ± 3.83 mg GAE/g özüt değeri ile toplam fenolik içerik göstermiştir.

R. hierroi etanol ekstraktı 124.96 ± 7.32 μg/mL mg GAE/g özüt değeri ile toplam fenolik içerik göstermiştir.

R. mykalea metanol ekstraktı 136.02 ± 6.32 mg GAE/g özüt değeri ile toplam fenolik içerik göstermiştir.

R. mykalea etanol ekstraktı 103.94 ± 4.99 mg GAE/g özüt değeri ile toplam fenolik içerik göstermiştir.

Çizelge 4.6. Toplam fenolik bileşik miktarı

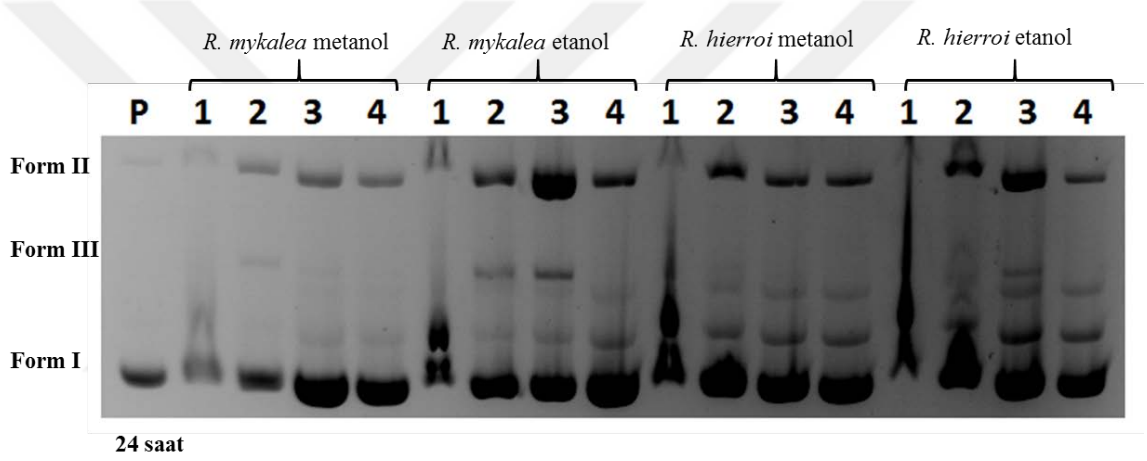
Bitki	Çözücü	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g özüt)
R. hierroi	Metanol	121,98 ± 3,83
R. hierroi	Etanol	124,96 ± 7,32
R. mykalea	Metanol	136,02 ± 6,32
R. mykalea	Etanol	103,94 ± 4,99

4.3. DNA Etkileşimi

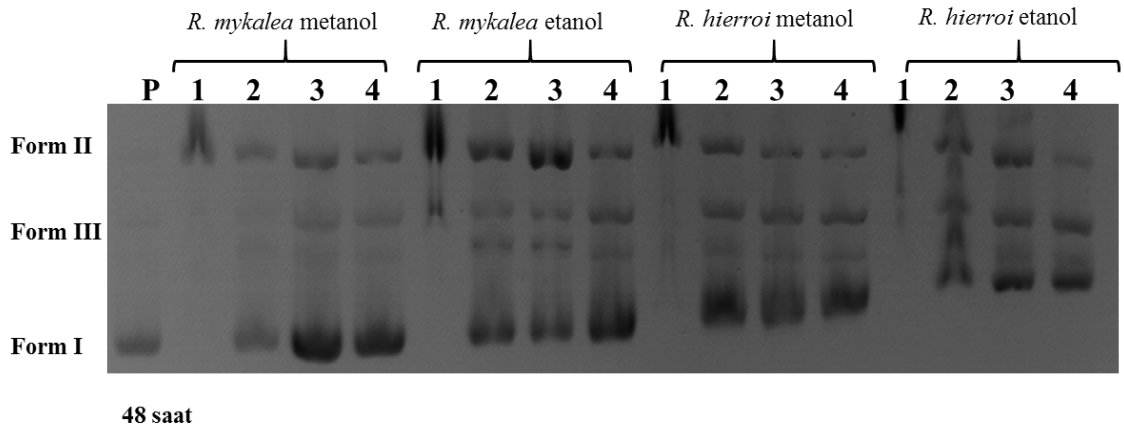
Tez çalışmasına ek olarak *Rhaponticoides hierroi* ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin DNA üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

Özütlerin DNA üzerine etkisi 24 saat ve 48 saatte ölçülmüştür (Şekil 4.1. A ve B). Özütlerin DNA da kırıklara neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca maddelerin hangi nükleotite bağlandığı da restriksiyon enzim kesim denemesi ile araştırılmış (Şekil 4.2.) ve hem A/A hem de G/G nüklotitlerine bağlandığı gözlenmiştir.

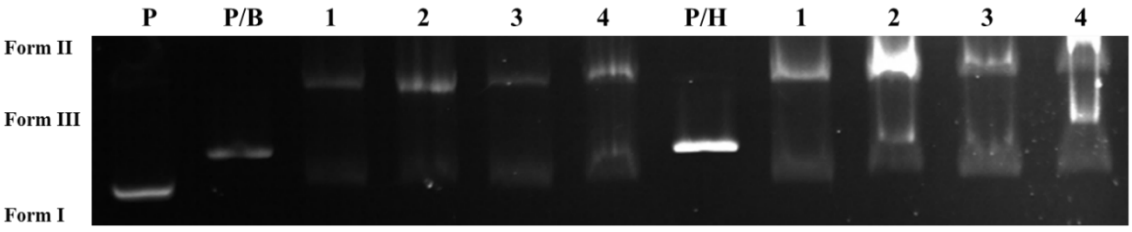
Şekil 4.1. A Özütlerin DNA üzerine etkisi (24 saat)



Şekil 4.1. B Özütlerin DNA üzerine etkisi (48 saat)



Şekil 4.2. Özütlerin restrüksiyon enzim kesimi



1: *R. mykalea* metanol; 2: *R. mykalea* etanol; 3: *R. hierroi* metanol; 4: *R. hierroi* etanol

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

5.1.1. Antimikrobiyal aktivite araştırması

Rhaponticoides hierroi ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin yaprak ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin on bir bakteri ve üç fungal test suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Özütlerin antimikrobiyal aktivitesi Çizelge 5.1.'de gösterilmiştir.

Özütlerin hiçbiri *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Ayrıca özütlerin herhangi bir antifungal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen özütlerin en az bir veya daha fazla mikroorganizma üzerinde antimirobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etki gösteren özütlerin standart antibiyotikler olan ampisilin ve kloramfenikol ile karşılaştırıldığında düşük düzeyde aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Tüm özütler birbiri ile kıyaslandığında ise *R. mykalea* metanol özütünün diğerlerine göre daha etkili olduğu görülmüştür. En yüksek inhibisyon zon çapını *R. hierroi* metanol özütü *K. pneumaniae* ATCC 13883 suşuna karşı oluşturmuştur (13,33 ± 0,47 mm).

Çizelge 5.1. *R. hierroi* ve *R. mykalea* bitki özütlerinin (100 mg/mL) antimikrobiyal aktivitesi inhibisyon zon çapları (mm)

Bitki / Mikroorganizma	*R. hierroi* Metanol	*R. hierroi* Etanol	*R. mykalea* Metanol	*R. mykalea* Etanol	Amp[a]	C[b]	Keto[c]
E. coli ATCC 35218	10,67 ± 0,47	-	-	-	-	8 ±0	Ç
E. coli ATCC 25922	-	-	-	-	18 ± 0	25 ± 0	Ç
S. aureus ATCC 25923	12 ± 0,82	12,67 ± 0,94	-	-	44 ± 1	24 ± 1	Ç
S. typhimurium ATCC 14028	-	-	-	-	19 ± 1	38 ±1	Ç
P. vulgaris RSKK 96029	-	-	13 ± 1,41	-	-	32 ± 1	Ç
E. hirae ATCC 9790	-	-	-	11,67 ± 0,47	9 ± 1	22 ± 1	Ç
E. faecalis ATCC 29212	-	-	-	-	27 ± 0	20 ± 0	Ç
K. pneumaniae ATCC 13883	13,33 ± 0,47	-	12,33 ± 0,47	11,33 ± 0,47	-	31 ± 1	Ç
B. subtilis ATCC 6633	-	10,33 ± 0,47	-	-	23 ± 1	21 ± 0	Ç
B. cereus NRRL B-3711	-	-	11,67 ± 0,47	-	-	-	Ç
P. aeruginosa ATCC 27853	-	-	12 ± 0	12 ± 0	60 ± 0	34 ± 0	Ç
C. albicans ATCC 14028	-	-	-	-	Ç	Ç	11 ± 1
C. krusei ATCC 6258	-	-	-	-	Ç	Ç	18 ± 1
C. tropicalis Y-12968	-	-	-	-	Ç	Ç	34 ± 2

Amp[a]: Ampisilin, C[b]: Kloramfenikol, Keto[c]: Ketokanozol, Ç: Çalışılmadı

5.1.2. Antioksidan aktivite araştırması

5.1.2.1. DPPH serbest radikalini süpürücü aktivite

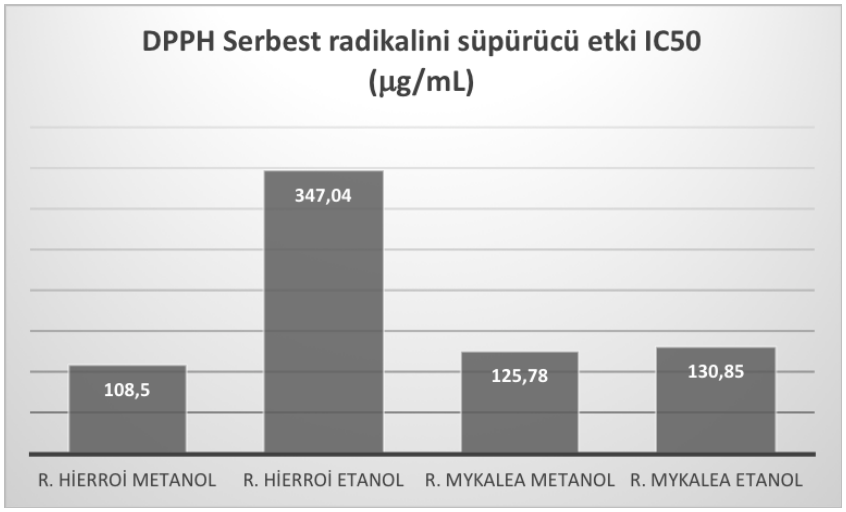
Özütlerin DPPH serbest radikal süpürme aktivitesine bakıldığında tüm özütlerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Bkz Çizelge 5.2.). Tüm özütlerin IC_{50} değerlerinin sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha yüksek olduğu görülmüştür. Özütler içerisinden en yüksek antioksidan aktiviteye 108,50 ± 1,36 µg/ml'lik IC_{50} değeri ile *R. hierroi* metanol özütünün sahip olduğu tespit edilmiştir. Özütlerin DPPH radikalini süpürme aktivitesinin büyükten küçüğe doğru sırasıyla *R. hierroi* metanol > *R. mykalea* metanol > *R. mykalea* etanol > *R. hierroi* etanol şeklinde olduğu ve metanol özütlerinin etanol özütlerine göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 5.2. DPPH Serbest radikalini süpürücü etki

Bitki	Çözücü	IC50 (µg/mL)
R. hierroi	Metanol	108,50 ± 1,36
R. hierroi	Etanol	347,04 ± 5,41
R. mykalea	Metanol	125,78 ± 9,73
R. mykalea	Etanol	130,85 ± 3,81
BHT∗		96,47 ± 0,32

BHT∗: Bütillenmiş hidroksitoluen

Şekil 5.1. DPPH Serbest radikalini süpürücü etki



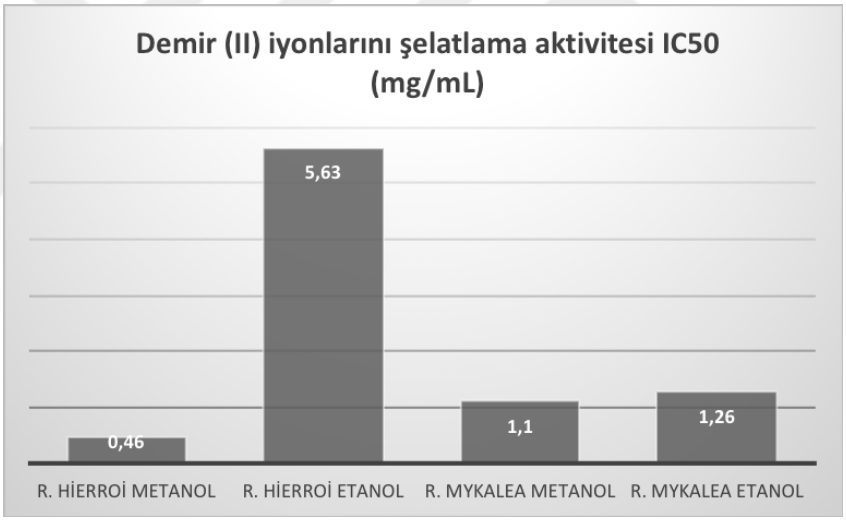
5.1.2.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Özütlerin demir şelatlama aktivitesine bakıldığında en yüksek aktiviteye 0,46 mg/ml'lik IC_{50} değeri ile *R. hierroi* metanol özütünün sahip olduğu belirlenmiştir. Özütlerin bu aktiviteyi büyükten küçüğe doğru sırasıyla *R. hierroi* metanol > *R. mykalea* metanol > *R. mykalea* etanol > *R. hierroi* etanol şeklinde gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar DPPH serbest radikalini süpürücü aktivite ile paralellik göstermektedir.

Çizelge 5.3. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Bitki	Çözücü	IC50 (mg/mL)
R. hierroi	Metanol	0,46 ± 0,35
R. hierroi	Etanol	5,63 ± 0,21
R. mykalea	Metanol	1,10 ± 0,11
R. mykalea	Etanol	1,26 ± 0,02

Şekil 5.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi



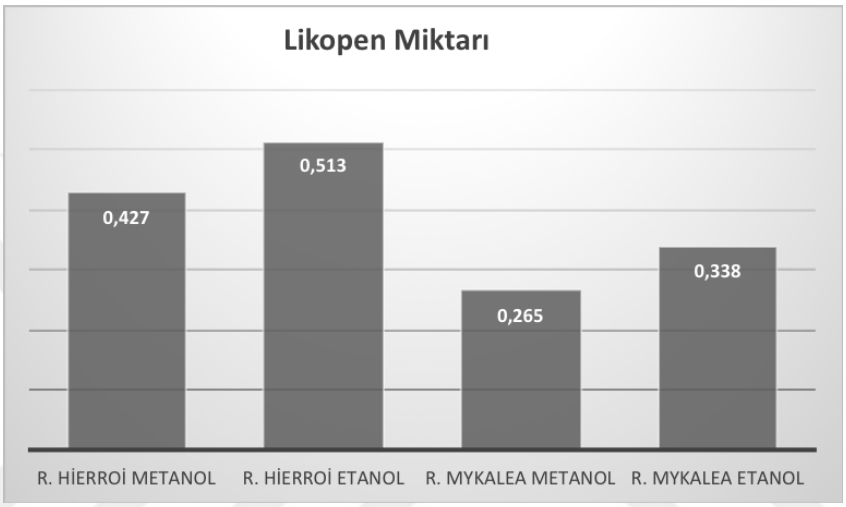
5.1.2.3. Likopen ve β - Karoten miktar tayini

Özütlerin β-karoten ve likopen miktarları değerlendirildiğinde her ikisinde de en etkili sonucu çözücüsü etanol olan *R. hierroi* özütü vermiştir. Bu özütün DPPH serbest radikalini süpürme ve demir şelatlama aktivitesinin diğer özütlerden düşük çıkması bu aktivitelere özütler içerisindeki diğer etken maddelerin sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 5.4. Likopen miktarı

Bitki	Çözücü	Likopen
R. hierroi	Metanol	0,427
R. hierroi	Etanol	0,513
R. mykalea	Metanol	0,265
R. mykalea	Etanol	0,338

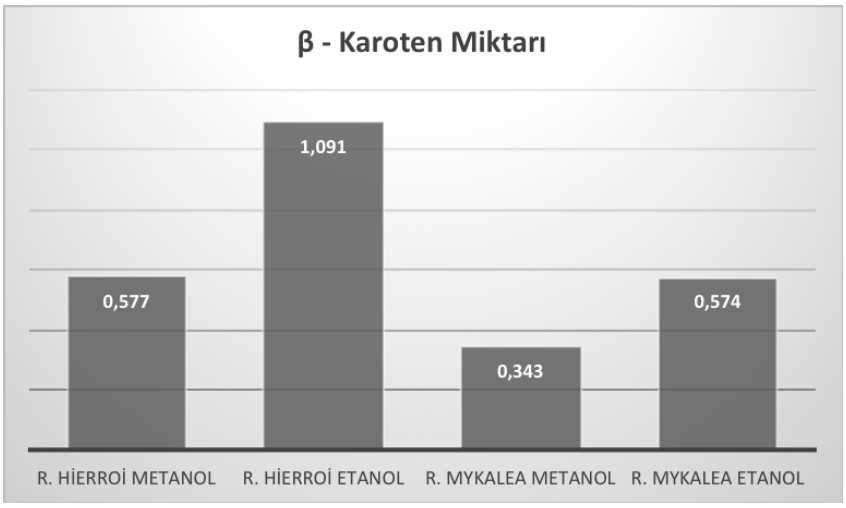
Şekil 5.3. Likopen miktarı



Çizelge 5.5. β - Karoten miktarı

Bitki	Çözücü	β - Karoten
R. hierroi	Metanol	0,577
R. hierroi	Etanol	1,091
R. mykalea	Metanol	0,343
R. mykalea	Etanol	0,574

Şekil 5.4. β - Karoten miktarı



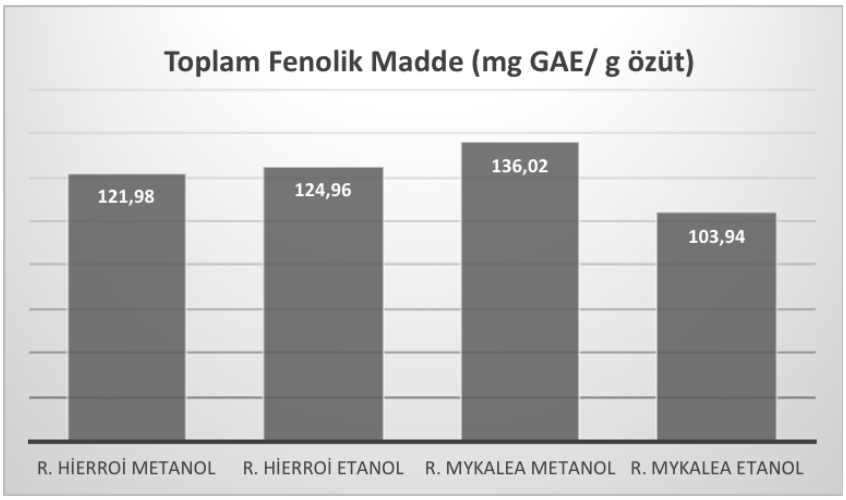
5.1.2.4. Toplam fenolik bileşik miktar tayini

Total fenolik içeriğe bakıldığında total fenolik miktarı en yüksek olan özütün *R. mykalea* metanol özütü (136,02 ± 6,32 mg GAE/g özüt) olduğu tespit edilmiştir. Bu özütün DPPH süpürücü etkisi ve demir şelatlama aktivitesi de yüksek çıkmıştır. Bunun sebebi içerdiği yüksek orandaki fenolik maddeden olabilir. Özütlerin fenolik madde içeriği sırasıyla *R. mykalea* metanol > *R. hierroi* etanol > *R. hierroi* metanol > *R. mykalea* etanol şeklindedir.

Çizelge 5.6. Toplam fenolik bileşik miktarı

Bitki	Çözücü	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g özüt)
R. hierroi	Metanol	121,98 ± 3,83
R. hierroi	Etanol	124,96 ± 7,32
R. mykalea	Metanol	136,02 ± 6,32
R. mykalea	Etanol	103,94 ± 4,99

Şekil 5.5. Toplam fenolik bileşik miktarı



5.1.3. DNA Etkileşimi

Tez çalışmasına ek olarak *Rhaponticoides hierroi* ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin DNA üzerine konsantrasyona ve zamana bağlı etkisi olduğu bu etkinin de DNA kesim aktivitesi şeklinde olduğu agaroz jel elektroforez sonucu tespit edilmiştir.

En kuvvetli etki yüksek konsantrasyonda gözlenirken, diğer konsantrasyonlarda da çift zincir kırığı sonucu oluşan form III DNA gözlenmiştir. Özütlerin 48 saatte daha etkili olduğu da gözlenmiştir. 48 saat sonunda en etkili özüt ise *R. hirroi* etanol ve metanol özütü olmuştur.

Ayrıca maddelerin hangi nükleotite bağlandığı da restriksiyon enzim kesim denemesi ile araştırılmış (Şekil 4.2.), enzim kesim inhibisyonu bize özütlerin hem A/A hem de G/G nüklotitlerine bağlandığını göstemiştir.

5.2. Öneriler

Bu çalışmada sonuç olarak *Rhaponticoides hierroi* ve *Rhaponticoides mykalea* bitkilerinin yaprak ve gövde kısımlarından elde edilen etanol ve metanol özütlerinin en az bir veya daha fazla mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve bununla birlikte; DPPH radikal süpürücü aktivite, Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi, Likopen ve β - Karoten miktarları ve toplam fenolik bileşik miktar tayini metotlarıyla antioksidan etkili olduğu bulunmuştur.

Bu endemik bitkilerle yapılacak olan daha sonraki çalışmalarda bitki kısımlarının ayrı ayrı ekstraktlarının çalışılması ve bu sayede her bir organın ayrı ayrı antimikrobiyal, antioksidan özelliklerinin incelenmesi sağlanabilir. Bir sonraki aşamada ise bitki özelliklerinin incelenmesi bitki özütlerinin içeriğindeki maddeler araştırılarak, etken maddenin tespit edilmesi ve biyolojik etkilerinin araştırılması çalışılmalıdır. Ayrıca bu tez çalışmasında kullanılmayan antimikrobiyal etki araştırması yöntemlerinden Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) yöntemi ve bitkilerin uçucu yağ içerikleri ve miktarlanın tespit edilmesi için uçucu yağ yöntemlerinin çalışılması gerekmektedir.

Rhaponticoides hierroi ve *Rhaponticoides mykalea* ilgili DNA üzerine etki incelenmesi çalışmalarının daha ayrıntılandırılması ve kanserli hücrelerde sitotoksik etkisinin incelenmesi tavsiye edilmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abascal K, Yarnell E, 2002. Herbs and drug resistance: Part 1—Herbs and microbial resistance to antibiotics. Alternative & Complementary Therapies, 8, 4, 237-41.

Arif R, 2002. Centaurea Türlerinin Biyolojik Aktivite Yönünden Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı.

AYTAÇ Z, 1997. The revision of the section Dasyphyllium Bunge of the genus Astragalus L. of Turkey. Turkish Journal of Botany, 21, 1, 31-57.

Banerjee SK, Bonde C, 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of Bridelia Retusa Spreng Bark: Impact of dielectric constant and geographical location. Journal of Medicinal Plants Research, 5, 5, 817-22.

Barrero A, Herrador M, Arteaga P, 1997. et, al.. 1997 Cytotoxic activity of flavonoids from Carthamus arborescens, Ononis natrix ssp. ramosissima and Centaurea malacitana. Fitoterapia, 68, 281-3.

Başer H, 1990. Tıbbi Bitkiler ve Baharatların Dünyada ve Türkiye'deki Ticareti ve Talep Durumu. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi, 53, 18-21.

Baydar H, 2005. Tıbbi, aromatik ve keyf bitkileri: bilimi ve teknolojisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, p.

Baytop T, 1984. Türkiyede bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). 40, İstanbul Üniversitesi, p.

Baytop T, 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İstanbul, Nobel Kitabevi, p.

Benli M, Güney K, Bingöl Ü, Geven F, 2007. Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. African journal of biotechnology, 6, 15.

Braca A, De Tommasi N, Di Bari L, Pizza C, Politi M, Morelli I, 2001. Antioxidant principles from bauhinia t arapotensis. Journal of natural products, 64, 7, 892-5.

Cetin H, Cinbilgel I, Yanikoglu A, Gokceoglu M, 2006. Larvicidal activity of some Labiatae (Lamiaceae) plant extracts from Turkey. Phytotherapy Research, 20, 12, 1088-90.

Çinbilgel İ, Eren Ö, Duman H, 2014. Rhaponticoides gokceoglui (Asteraceae), a striking new species from Turkey. Phytotaxa, 170, 2, 125-32.

Cosge B, Turker A, Ipek A, Gurbuz B, 2009. Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of Origanum acutidens (Hand.-Mazz.) Ietswaart, an endemic species to Turkey. Molecules, 14, 5, 1702-12.

Dağcı E, İzmirli M, Dığrak M, 2002. Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. KSU Fen ve Mühendislik Dergisi, 5, 1, 38-46.

Davis DH, 1984. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburg University Press, p. 130-402.

Diken ME, 2009. Bazı şifalı bitkilerin antioksidan içerikleri.

Dinis TC, Madeira VM, Almeida LM, 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Archives of biochemistry and biophysics, 315, 1, 161-9.

Djeddi S, Karioti A, Sokovic M, Koukoulitsa C, Skaltsa H, 2008. A novel sesquiterpene lactone from Centaurea pullata: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. Bioorganic & medicinal chemistry, 16, 7, 3725-31.

Doğan NM, Cansaran A, Acar G, Öztekin M, 2010. Antimicrobial activity of extracts of some plants from Amasya (Turkey). Advances in Bio Research, 1, 1, 87-91.

Doğu S, Bağcı Y, Dinç M, 2009. Rhaponticoidesaytachii sp. nov.(Asteraceae) from south Anatolia, Turkey. nordic Journal of Botany, 27, 6, 479-82.

Drewnowski A, Gomez-Carneros C, 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review–. The American journal of clinical nutrition, 72, 6, 1424-35.

Eloff J, 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? Journal of ethnopharmacology, 60, 1, 1-8.

Emek Y, Erdağ B, 2012. Kritik Tehlike Altındaki Endemik Bitki Rhaponticoides mykalea (Hub.-Mor.)'nın In vitro Tohum Çimlenmesi Üzerine Araştırmalar. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 1, 2.

EMEK YÇ, ERDAĞ BB, 2010. Rhaponticoides mykalea'nın Kuşadası Populasyonu Üzerine Gözlemler. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 2, 169-74.

Eren Ö, 2007. The genus Rhaponticoides Vaill.(Asteraceae) in Turkey: a new species and first key. Plant Systematics and evolution, 267, 1-4, 13-23.

Fett-Neto AG, 2010. Plant Secondary Metabolism Engineering, Springer, p.

Giorgi A, Bombelli R, Luini A, Speranza G, Cosentino M, Lecchini S, Cocucci M, 2009. Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of Achillea collina Becker ex Rchb. Phytotherapy Research, 23, 4, 540-5.

Gözüm S, Ünsal A, 2004. Use of herbal therapies by older, community-dwelling women. Journal of advanced nursing, 46, 2, 171-8.

Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer K, 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 11. Second Supplement, Edinburgh.

Gur M, Verep D, Guney K, Guder A, Altuner EM, 2017. Determination of Some Flavonoids and Antimicrobial Behaviour of Some Plants' Extracts. INDIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL EDUCATION AND RESEARCH, 51, 3, S225-S9.

Gürdöl F, Ademoğlu, E., 2005. "Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres", "Biyokimya", Istanbul, Nobel Tıp Kitapevi, p. 832.

Hannum SM, 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. Critical reviews in food science and nutrition, 44, 1, 1-17.

Hellwig F, 2004. Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean–history of ecogeographical radiation. Plant Systematics and Evolution, 246, 3-4, 137-62.

Ilhan S, Savaroğlu F, ÇOLAK F, İŞÇEN CF, Erdemgil FZ, 2006. Antimicrobial activity of palustriella commutata (Hedw.) ochyra extracts (Bryophyta). Turkish Journal of Biology, 30, 3, 149-52.

Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J-P, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M, 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of agricultural and food chemistry, 47, 10, 3954-62.

Karaalp C, Yurtman AN, Karabay Yavasoglu NU, 2009. Evaluation of antimicrobial properties of Achillea L. flower head extracts. Pharmaceutical biology, 47, 1, 86-91.

Karioti A, Skaltsa H, Lazari D, Sokovic M, Garcia B, Harvala C, 2002. Secondary metabolites from Centaurea deusta with antimicrobial activity. Zeitschrift für Naturforschung C, 57, 1-2, 75-80.

Kartal M, (2004). Avrupa birliği ülkelerinde tıbbi bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilimdalı.

Kilic O, 2013. Essential oil compounds of three Centaurea L. taxa from Turkey and their chemotaxonomy. Journal of Medicinal Plants Research, 7, 19, 1344-50.

Koçyiğit M, 2005. Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Kumar S, Suresh P, Vijayababu M, Arunkumar A, Arunakaran J, 2006. Anticancer effects of ethanolic neem leaf extract on prostate cancer cell line (PC-3). Journal of ethnopharmacology, 105, 1-2, 246-50.

Kumarasamy Y, Fergusson ME, Nahar L, Sarker SD, 2002. Bioactivity of moschamindole from Centaurea moschata. Pharmaceutical Biology, 40, 4, 307-10.

Mavi A, Terzi Z, Özgen U, Yildirim A, Coşkun M, 2004. Antioxidant properties of some medicinal plants: Prangos ferulacea (Apiaceae), Sedum sempervivoides

(Crassulaceae), malva neglecta (malvaceae), Cruciata taurica (Rubiaceae), Rosa pimpinellifolia (Rosaceae), Galium verum subsp. verum (Rubiaceae), urtica dioica (urticaceae). Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27, 5, 702-5.

Murray RP, Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M., Pfaller, A. M.,, 2009. "Klinik Mikrobiyoloji", Atlas Kitapçılık, p.

Neuhouser ML, 2004. Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. Nutrition and cancer, 50, 1, 1-7.

Okcu Z, Keleş F, 2010. Kalp-damar hastalıkları ve antioksidanlar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40, 1, 153-60.

Orallo F, Lamela M, Camina M, Uriate E, Calleja J, 1998. Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of centaurein and centaureidin, two flavonoids from Centaurea corcubionensis. Planta medica, 64, 02, 116-9.

Oskay D, OSKAY M, 2009. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi. Ecological Life Sciences, 4, 2, 31-41.

Özbek H, 2005. Cinsel ve jinekolojik sorunların tedavisinde bitkilerin kullanımı. Van Tıp Dergisi, 12, 2, 170-4.

Özçelik B, Gürbüz I, Karaoglu T, Yeşilada E, 2009. Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from Centaurea solstitialis L. ssp. solstitialis. Microbiological Research, 164, 5, 545-52.

Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Flerlage N, Burillo J, Codina C, 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 23, 6882-90.

Podsędek A, 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT-Food Science and Technology, 40, 1, 1-11.

Polatoğlu K, Şen A, Bulut G, Bitiş L, Gören N, 2014. Essential oil composition of Centaurea kilaea Boiss. and C. cuneifolia Sm. from Turkey. Natural Volatiles & Essential Oils, 1, 55-9.

Raskin I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, Brinker A, Moreno DA, Ripoll C, Yakoby N, 2002. Plants and human health in the twenty-first century. TRENDS in Biotechnology, 20, 12, 522-31.

Ryan KR, CG, haz. , 2004. Sherris Medical Microbiology (4th bas.). , McGraw Hill, p.

Sherwin E, (1990). Antioxidants, Marcel Dekker, New York. **139**.

Siddhuraju P, Becker K, 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.) leaves. Journal of agricultural and food chemistry, 51, 8, 2144-55.

Spiridon I, Bodirlau R, Teaca C-A, 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. Central European Journal of Biology, 6, 3, 388-96.

Stanner S, Hughes J, Kelly C, Buttriss J, 2004. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. Public health nutrition, 7, 3, 407-22.

Szajdek A, Borowska E, 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. Plant Foods for Human Nutrition, 63, 4, 147-56.

Talib WH, Mahasneh AM, 2010. Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. Molecules, 15, 3, 1811-24.

Tünger A, Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M, 2003. "Bakteriyoloji", "Mikrobiyoloji", İzmir, Asra Tıp Yayınları, p. 41-131.

Ulukanlı Z, Ulukanlı, S., Ozbay, H., Ilcim, A., Tuzcu, M., 2005. Antimicrobial activities of some plants from the eastern Anatolia region of Turkey. Pharm. Biol, 4.

Uysal T, 2016. Türkiye Rhaponticoides Vaill. (Compositae) Cinsinin Revizyonu, Selçuk Üniversitesi.

Viswanath V, Urooj A, Malleshi N, 2009. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (Eleusine coracana). Food Chemistry, 114, 1, 340-6.

Yaglioglu AS, Demirtas I, 2015. Comparative essential oil composition of flowers, leaves, and stems of Centaurea polypodiifolia var. polypodiifolia. Chemistry of Natural Compounds, 51, 5, 982-4.

Yayli N, Yaşar A, Güleç C, Usta A, Kolaylı S, Coşkunçelebi K, Karaoğlu Ş, 2005. Composition and antimicrobial activity of essential oils from Centaurea sessilis and Centaurea armena. Phytochemistry, 66, 14, 1741-5.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Necla SEGGINGER
Uyruğu	**:**	TC
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	KONYA 1987
Telefon	**:**	0041792264541
Faks	**:**	-
e-mail	**:**	neclasergi@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Meram Konya Lisesi (YDA)	2005
Üniversite	:	Anadolu Üniversitesi, Biyoloji	2011
Yüksek Lisans	:	Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü	---

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
Şubat 2018	Straumann Group AG	Change Management Specialist
Ocak 2017 – Haziran 2017	İstem Medikal Tıbbi Cihaz ve San. Ltd. Şti.	Kalite Kontrol Müdürü
2016 – 2017	Yenişehir Laboratuvarı Ltd. Şti.	Kalite Güvence Müdürü
2012 – 2016	Helvacızade Gıda, İlaç, Kimya Sanayi Tic. A.Ş.	Kalite Operasyonlar Müdürü

UZMANLIK ALANI

Kanser Biyolojisi
Farmasötik Teknolojiler, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik

YABANCI DİLLER

İngilizce: Güçlü yazma, konuşma C1 seviyesi
Fransızca: Okuma ve yazma A2 seviyesi, konuşma A1 seviyesi

YAYINLAR

- Challenges in Soft Gel Capsullation of Plant Oils (Poster), BAU İlaç Tasarım Kongresi, Ekim 2015
- Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürün Olarak Koenzim Q10 ve Selenyum ile Zenginleştirilmiş Rüşeym Yağı Farmasötik Dozaj Şekli Tasarımı (Poster), 2. Uluslararası İlaç ve Eczacılık (İVEK) Kongresi, Kasım 2015.
- Determination of Antioxidant Effect and Total Phenolic Contents of Two Endemic *Rhaponticoides* Species (*R. mykalea* and *R. hierroi)* (Poster), MESMAP 4, Nisan 2018.
- Determination of Antimicrobial Effect and Dna Interaction of Two Endemic *Rhapontıcoides* Species (*R. mykalea* and *R. hierroi)* (Poster), MESMAP 4, Nisan 2018.