

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYARBAKIR VE ÇEVRESİNDE YETİŞEN *Cynara
syriaca* METANOL EKSTRAKTININ
ANTİMİKROBİYAL ANTİOKSİDAN VE
MUTAJENİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Nurhüda KARAŞIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Diyarbakır

Haziran 2011

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım andan itibaren gerek ders dönemi gerekse tez dönemimde benden bilgi, deneyim ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve Sayın Danışman Hocam Doç. Dr. Veysel TOLAN' a,

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren laboratuvar çalışmalarında ve tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan, büyük yardımını ve desteğini gördüğüm, tez çalışmam boyunca, deneyimleri ve bilgisiyle her türlü konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Nesrin HAŞİMİ' ye,

Tez çalışmalarımında kullanılan bitkilerin toplanmasında ve teşhis edilmesinde değerli zamanını ayıran Sayın Prof. Dr. Selçuk ERTEKİN'e,

Aynı laboratuvarı paylaştığımız, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen başta değerli A.İsmail Özkan olmak üzere tüm yüksek lisans arkadaşlarıma,

10-FF-123 numaralı projemize vermiş olduğu destekten dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonuna,

Çalışmalarım boyunca desteğini gördüğüm tüm dostlarıma,

Son olarak da maddi manevi her zaman yanımda olan ve bana güvenen çok değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMA VE SİMGELER.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	9
3. MATERYAL VE METOT.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Bitkisel Materyaller.....	15
3.1.2. <i>Cynara syriaca</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	15
3.1.3. Kullanılan Test Suşları.....	17
3.1.4. Kullanılan Kimyasallar.....	17
3.1.5. Kullanılan Aletler.....	17
3.1.6. Antimikrobiyal Aktivite İçin Kullanılan Besiyerleri.....	18
3.1.7. Salmonella/Mikrozom Test Sisteminde Kullanılan Bakteri Besi Ortamları ve Stok Çözeltiler.....	18
3.1.8. Sterilizasyon.....	20
3.2. Metot.....	21
3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Ekstraktın Hazırlanması.....	21
3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	21
3.2.2.1. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	21
3.2.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi.....	21
3.2.3. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Test Sistemi.....	22
3.2.3.1. Ames Salmonella Test Suşları Kontrol Deneyleri.....	22
3.2.3.2. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Test Sistemi.....	23
3.2.4. Antioksidan Aktivite Tayini.....	24
3.2.4.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi.....	24
3.2.4.2. Bitki Ekstraktlarının ve Standart Antioksidan Maddelerin Serbest Radikal Giderme Aktivitelerinin Hesaplanması.....	25

3.2.5. Total Fenol İçeriğinin Belirlenmesi.....	25
3.2.6. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Antimikrobiyal Aktivite alıŐmaları.....	27
4.1.1. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	31
4.2. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Aktivite alıŐmaları.....	32
4.3. Antioksidan Aktivite alıŐmaları.....	34
4.3.1. Pozitif Kontrollerin Antioksidan Aktivite Değerleri.....	36
4.5. Total Fenol İçeriklerinin Belirlenmesi.....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
6. KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	51

ÖZET

DİYARBAKIR VE ÇEVRESİNDE YETİŞEN *Cynara syriaca* METANOL EKSTRAKTININ ANTIÖKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ve MUTAJENİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurhüda KARAŞIN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

2011

Bu çalışmada, *Cynara syriaca*'nın yaprak ve çiçeklerinden elde edilen metanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenik aktiviteleri belirlenmiştir.

C. syriaca yaprakları ve çiçeklerden elde edilen metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak patojenik 4 bakteri (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve maya (*Candida albicans*) üzerinde test edilmiştir. Hem çiçek hem de yaprak ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı yeterli antimikrobiyal etkisinin olmadığı görülmüştür.

Antioksidan kapasite, yaprak ve çiçeklerin metanol özütleri kullanılarak DPPH (2,2-difenilpikrilhidrazil) yöntemiyle test edilmiştir. Sonuçlara göre *C. syriaca*'nın yapraklarının metanolik özütü 5 mg/ml konsantrasyonda %9.7, 10 mg/ml de % 38.8 ve 20 mg/ml de % 88.9 inhibisyon göstermiştir. Bitkinin çiçek kısımlarının metanolik özütleri 5 mg/ml konsantrasyonda %38.0, 10 mg/ml de %92.2 ve 20 mg/ml de %92.5 inhibisyon göstermiştir. Serbest radikal giderme aktivitesinden elde edilen verilere göre yaprak ve çiçek özütlerinin standart maddelerle karşılaştırılabilir düzeyde DPPH giderme aktivitesi göstermiştir.

Ayrıca *C. syriaca* özütlerinin total Folin-ciocalteu yöntemiyle total fenol içeriği de belirlenmiştir. Total fenolik içerik belirlemede standart olarak Gallik asit kullanılmıştır. Standart grafik denkleminde hesaplanan sonuçların Gallik asit ekvivalenti olarak yaprak özütünün 10 mg/ml konsantrasyonda 4.08 ± 0.1 mg/ml, çiçek özütünün 4.89 ± 0.04 mg/ml olduğu, 20 mg/ml konsantrasyonda yaprak özütünün 5.37 ± 0.03 mg/ml, çiçek özütünün 7.150 ± 0.2 mg/ml total fenol içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir.

C. syriaca metanol özütlerinin mutajenik aktivitesi Ames/salmonella mikrozom test sistemi ile *Salmonella* TA98 ve TA100 suşları üzerinde belirlenmiştir. Yaprak özütlerinin *Salmonella* TA98 ve TA100 test suşları üzerinde mutajenik aktivitesi olmadığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: : Antioksidan Aktivite, Antimikrobiyal Aktivite, Mutajenik Aktivite, *Cynara syriaca*

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ANTIMICROBIAL AND MUTAGENIC ACTIVITY OF *Cynara syriaca* METHANOL EXTRACT GROWING IN AND AROUND DİYARBAKIR

MSc. THESIS

Nurhüda KARAŞIN

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2011

In this study, the methanol extracts' antimicrobial, antioxidant and mutagenic activities have been determined through an *Cynara syriaca*'s leaves and flowers.

The antimicrobial activities of *C. syriaca* methanol extracts that are acquired from leaves and flowers have been tested on pathogenic 4 bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) and a yeast (*Candida albicans*) through using disc diffusion method. It is determined that both leaf and flower extracts have not enough antimicrobial effect against test microorganisms.

Antioxidant capacity has been tested through using leaf and flowers' methanol essences and by DPPH(2,2-difenilpikrilhidrazil) method. According to the results, the methanolic essence of *C. syriaca*'s leaves has showed 9.7% inhibition in 5 mg/ml concentration, 38.8% in 10 mg/ml and 88.9% in 20 mg/ml. The methanolic essences of plants' flowers have showed 38.0% inhibition in 5mg/ml concentration, 92.2% in 10 mg/ml and 92.5 % in 20 mg/ml. According to the acquired results from free radical activity, it has been determined that leaf and flower essences show enough DPPH activity compared to the standard substances.

Also, the total Folin-ciocalteu method and the total phenol content of *C. syriaca* essences have been determined. When determining total phenolic content, Gallic acid has been used as a standard. The results of standard graphic equation as Gallic acid equivalent, it has been determined that there is 4.08 ± 0.1 mg/ml leaf essence and 4.89 ± 0.04 mg/ml flower essence in 10 mg/ml concentration, and also there is 5.37 ± 0.03 mg/ml leaf essence and 7.15 ± 0.2 mg/ml flower essence in 20 mg/ml concentration.

Mutagenic activities of *C. syriaca* methanol's extracts are determined both on the test system of Ames/salmonella mikrozom and on the strains of *Salmonella* TA98 and TA100. It's observed that leaf extracts haven't the mutagenic activities on test strains both *Salmonella* TA98 and TA100.

Keywords: Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity, Mutagenic Activity, *Cynara syriaca*

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1.	Yaprak özütlerinin antimikrobiyal etkisine ilişkin ortalama değerleri	28
Çizelge 4.2.	Çiçek özütlerinin antimikrobiyal etkisine ilişkin ortalama değerleri	29
Çizelge 4.3.	Negatif kontrolün (metanol) antimikrobiyal etkisine ilişkin ortalama değerleri	30
Çizelge 4.4.	Antibiyotiklerin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisine ilişkin ortalama değerleri	31
Çizelge 4.5.	Yaprak özütlerin Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite aktivitesi değerleri	32
Çizelge 4.6.	Yaprak özütlerin Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite aktivitesi değerleri	33
Çizelge 4.6.	Yaprak ve çiçek özütlerinin antioksidan aktivite değerleri	35
Çizelge 4.7.	Pozitif kontrollerin antioksidan aktivite değerleri	36
Çizelge 4.8.	Yaprak ve çiçek özütlerinin total fenol içerik değerleri	38

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		Sayfa
Şekil 3.1.	<i>Cynara syriaca</i> bitkisinin genel görünüşü	15

KISALTMA VE SİMGELER

DPPH	:	2,2- difenilpikrilhidrazilin
BHT	:	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	:	Bütillenmiş hidroksianisol
NB	:	Nutrient broth
NA	:	Nutrient agar
MGA	:	Minimal Glikoz Agar
FCR	:	Folin-Ciocalteu Reaktifi
Na ₂ CO ₃	:	Sodyum karbonat
UV	:	Ultra Viyole
DMSO	:	Dimetil sülfoksit

1. GİRİŞ

İnsanoğlu ilk çağlardan bu yana bitkileri yiyecek, içecek, barınma, ilaç gibi yaşamının en önemli alanlarına dahil etmiştir. Yeryüzünde 750.000 ile 1.000.000 arasında bitki türünün olduğu (Baytop 1999) düşünüldüğünde bitkilerin insan hayatındaki önemini ve yerini anlamak kolaylaşacaktır. Bu bitki türlerinin yaklaşık %1 ila %10 kadarının insanlar ve diğer canlılar tarafından yiyecek olarak kullanıldığı, yiyecek olarak kullanılan orandan daha fazlasının ise tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Cowan 1999).

Baharat, ilaç, sanayi, meşrubat, parfüm, sabun, şekerleme, kozmetik, diş macunu, çiklet, şifalı ve dinlendirici çay imalatı, esans, aroma vb. gibi birçok alanda kullanılan tıbbi bitkilerin keşfi oldukça eskiye dayanmakta ve kullanılan tıbbi bitkilerin miktarı, antik çağlardan günümüze devamlı bir artış göstermiştir (Bayramoğlu ve ark. 2009).

Yaşamsal faaliyetler için gerekli olan primer metabolitlerden (aminoasitler, basit karakterli lipitler ve yağlar, basit şekerler) enzimatik yollarla sekonder metabolitler oluşur. Bitkilerin iyileştirici etkisi doğal yapılarında yer alan ve sekonder metabolit olarak adlandırılan kimyasalların ve bu kimyasalların farklı kombinasyonlarından kaynaklanır. Boyadan gıda endüstrisine kadar çeşitli alanlarda kullanılan bu aktif doğal ürünlerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesiyle ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu aşamada tıbbi bitkiler sahip oldukları sekonder metabolitlerden (antioksidan, vitamin, lif, mineral, pigment vs.) dolayı önemli birer araştırma kaynağı haline gelmişlerdir.

Antimikrobiyal aktivite için in vitro koşullarda araştırılmış bitki ekstraktlarının anti-enfeksiyon ajanlarının yeni kaynaklarını temsil edebileceği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Okeke ve ark. 2001; Rios ve Recio 2005; Canales ve ark. 2007).

Mikroorganizmaların canlılığı üzerindeki negatif etki genel olarak antimikrobiyal olarak adlandırılmakta ve bu etkiye sahip antimikrobiyal maddeleri 'hastalık ajanlarının kontrolünü sağlayan mikroorganizmaların çoğalmalarının

1. GİRİŞ

sınırlandırılması, durdurulması daha ziyade öldürülmelerini sağlayan kimyasal ya da biyolojik maddelerdir' şeklinde tanımlayabiliriz.

Son yıllarda ortaya çıkan en önemli sorunlardan biri patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençler olmuştur. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde antimikrobiyal maddelerin yaygın ve kontrolsüz kullanımı, dirençli suşların yararına bir seleksiyon oluşturmaktadır (Akalın 1994). Hem antibiyotiklerin istenmeyen yan etkileri hem de ciddi enfeksiyon vakalarının ortaya çıkması bilim adamlarını tıbbi bitkiler gibi antibiyotiklere kaynak olacak yeni antimikrobiyal madde arayışlarına yöneltmiştir.

Günümüzün en önemli konularından bir diğeri de besin güvenliğinin sağlanmasıdır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde gıda kaynaklı hastalıklar halen önemli bir problemdir. Dünya'daki hastalık olaylarının %7.4' ü gıda kaynaklı olup, sadece Amerika'da yılda 9000'den fazla sayıda insan gıda kaynaklı patojenlerden ölmektedir (Mead ve ark. 1999). *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Campylobacter jejuni* zehirlenme olaylarından sorumlu önemli patojenlerdendir (Mead ve ark. 1999). Bu nedenle gıdalarda, gıda katkı maddelerinden biri olarak kullanılan antimikrobiyal maddeler, gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle gıdada bulunabilen küf, maya, bakteri, patojen veya patojen olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdaki uzaklaştırmak, çoğalmalarını önlemek ve faaliyetlerini durdurmak amacıyla gıdalara katılmaktadır. Burada antimikrobiyal maddelerin kullanımı gıdaların mikrobiyolojik dengesini koruyacağından, raf ömrünü uzatmada doğrudan etkilidir.

Tüm bu nedenlerle, gıda kaynaklı hastalık olaylarının azaltılması için daha yeni ve daha etkili tekniklere artan bir şekilde ilgi vardır. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ortaya konmuştur (Alzoreky ve Nakahara 2003).

Bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi ve bu alanda araştırmaların artmasının yanı sıra antioksidan özellik gösteren bitkilerin üzerine de çok fazla deneysel ve teorik çalışmalar bulunmaktadır (Rasulev ve ark. 2005, Bors ve ark. 1990).

Uluslararası kabul edilmiş herhangi bir tanım ile sınırlanmamış "**antioksidan**" nın tanımını 'oksijen veya peroksit ile etkileşime girerek oksidasyon ve

inhibisyon reaksiyonlarını engelleyen maddeler' şeklinde yapabiliriz. Bu maddelerin birçoğu (tokoferoller gibi) çeşitli birçok üründe koruyucu olarak kullanılır. Örneğin; katı ve sıvı yağların, yiyeceklerin, sabunların bozulması ve ekşimesi, gaz ya da petrol ürünlerinin koyulaşıp yapışkan hale gelmesini ve lastiklerin eskimesi gibi diğer olumsuz değişimleri geciktirmek için kullanılmaktadır (Huang ve ark. 2005).

Biyolojik bir "antioksidan" tanımı ' ise havadaki oksijenin etkisi ile ürünlerde meydana gelen bozulmayı geciktirmek ya da ürünleri korumak için bu ürünlere ilave edilen sentetik ya da doğal maddelerdir.' şeklinde yapılabilir (Huang ve ark. 2005).

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS)'de denilmektedir (Çavdar 1997).

Aslında serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluştururlar. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olmaktadır. Günümüzde serbest radikallerin pek çok hücrede moleküler değişimlere ve gen mutasyonlarına yol açtığı iyi bilinmekte olup yaşlanma, hücre hasarı ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir (Storz ve Imlay 1999).

Serbest radikaller hücrelere saldırıp tahrip etmektedirler. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşmakta ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlamaktadır. Bu yüksek aktiviteye sahip bileşikler (serbest radikaller) kirli havalarda, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal metabolik süreçte bulunurlar. sonucunda serbest radikaller ile antioksidan sistemin aktivitesi arasında denge bozulmakta ve protein denatürasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonlarını içine alan oksidatif hasarlar meydana gelmektedir (Koç ve ark. 2003).

Antioksidanlar burada devreye girerek oksijen/nitrojen zincir reaksiyonlarını durdurmak için reaktif oksijen/nitrojen radikallerini (ROS/RNS) temizler veya ilk oluşan reaktif oksidant oluşumunu engeller.

Biyolojik antioksidanlar; oksidatif enzim (cycloooksijenaz) inhibitörleri, antioksidan enzim kofaktörleri, Reaktif Oksijen Türleri/ Reaktif Nitrojen Türleri

1. GİRİŞ

(ROS/RNS) süpürücüleri ve metal şelatörleri gibi nonenzimatik antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar (süperoksit, dismutase, katalaz ve glutasyon peroksidaz) içerir.

Antioksidanların çalışma ve etki alanlarına baktığımızda oldukça geniş ve birbirinden farklı olduğunu görmekteyiz. Örneğin; kimya endüstrisinde antioksidanlar sıklıkla lastik, plastik gibi kimyasal ürünlerin otooksidasyonunu geciktiren bileşenler olarak kullanılmaktadır. Otooksidasyon, oksijen ve substrat arasındaki reaksiyon zincirlemesi sonucu oluşur. Etkili antioksidanlar bu reaksiyon zincirini bozan esas süpürücü radikallerdir (Huang ve ark. 2005).

Antioksidanların bir diğer kullanım alanı da besin endüstrisi olup günümüzde besin endüstrisinde ticari olarak kullanılan çeşitli sentetik antioksidan maddeler mevcuttur.

Gıdaların hava ile teması sonucu oluşan oksidasyon olayı neticesinde gıdalarda kalite düşmesi, renk bozukluğu, acıma, bozulma, tat ve koku değişimi, besin ve vitamin değerlerinde kayıp, toksik bileşik oluşması gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkar. Bu durumları ortadan kaldırmak için gıdalarda antioksidan maddeler kullanılır. Özellikle katı ve sıvı yağlar ve yağ içeren besinlerin işlenmesi ve saklanmaları sırasında oksidasyonu ürünün tat ve kokusunun bozulmasına yol açtığı bilinen bir gerçektir. Tüm bunları önlemek amacı ile de sentetik antioksidan maddeler (bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu sentetik antioksidanların olumsuz sağlık sorunlarını tetikleyeceğine dair bilgiler bulunması (Koleva ve ark. 2002) ve özellikle de kansere neden olma riskinin ortaya çıkması ile kullanımlarına şüphe ile bakılmaktadır. Örneğin bu kimyasalların farelerde akciğer harabiyeti, karaciğerde nekroz ve kanamaya bağlı ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Candan ve Sökmen 2004).

Bu bulgular çerçevesinde ve özellikle besinlerde doğaya dönüş akımı ile birlikte sentetik antioksidanlara alternatif doğal antioksidan madde arayışları hız kazanmıştır. Bu doğrultuda da sentetik antioksidan ajanların yerini alabilecek doğal antioksidan madde araştırmalarında bitkiler çok önem kazanmıştır. Aynı zamanda doğal bileşikler sentetik olanlardan daha güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir (Falleh ve ark. 2008).

Günlük yiyeceklerimizde antioksidanlar, polifenol bileşimler, vitamin E ve C ve karetonoidlerin oksidan stresle ilgili rahatsızlıkların oluşumunu engellemede oldukça

etkili olunduğuna inanılmaktadır. Tüm bu bilgiler tükettiğimiz yiyeceklerdeki antioksidan kapasitesi ve bu yiyeceklerdeki antioksidan bileşenlerini öğrenmek için sağlık ve yiyecek ile ilgili araştırmaların artmasına yol açmıştır. Son 10 yıldan beri antioksidan ve oksidatif stres ile ilgili literatür araştırmalarında 4 kat artış gözlenmiştir (1993'de 1684; 2003'de 6510 adet).

Doğal antioksidanların en önemli gruplarını fenolik bileşikler oluştururlar (Evans ve ark. 1997).

Fenolik bileşikler altı üyeli aromatik halkaya direkt bağlı bir hidroksil grubu (-OH) içeren aromatik bileşiklerdir. Bu bileşikler zayıf asidiktirler: hidroksil grubundan bir hidrojen kaybetmeye meyilli olmalarından dolayı oluşan fenolat anyonunun ($C_6H_5O^-$) sudaki çözünürlüğü hayli yüksektir (URL-2, 2006).

Fenolik bileşikler ya da polifenoller bitkilerin temel bileşenlerindedir ve bitkilerin ve onlardan türetilen ürünlerinin besinsel ve organoleptik özelliklerinde önemli rol oynarlar (Fabre ve ark. 2001; Borbalán ve ark. 2003; Fang ve ark. 2007). Bu bileşiklerin bazıları terpenoidler gibi olup bitkiye koku ve tat verirken bazıları kinonlar ve tanenler gibi bitki pigmentlerini oluştururlar. Pek çok bileşik, bitkinin tadından sorumlu olup bunlardan bazıları gıda ve bazıları ise tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Bu bileşikler, anti-alerjik, anti-enflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, kardiyoprotektif, trombotik ve vazodilatör gibi geniş fizyolojik özellikleri bulunmaktadır (Balasundram ve ark. 2006).

Polifenoller antioksidan olarak insan vücudundaki çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri temizleme kabiliyetine sahiptirler. Ayrıca, ağır ve radyoaktif metalleri şelatlama konusunda polifenoller oldukça etkilidirler. Diğer bir deyişle polifenoller çeşitli reaktif oksijen türlerini hücrelerden uzaklaştırarak organizmayı zinde tutarlar (Çöllü 2007).

İnsanları tehdit eden etkenlerin en başında gelen mutajenlere maruz kalma, besinlerimizdeki doğal kimyasallardan, sentetik kimyasallardan (endüstriyel kimyasallar, pestisitler, saç boyaları, kozmetikler ve ilaçlar gibi), kompleks karışımlardan (sigara dumanı, kontamine olmuş su ve hava gibi) olmaktadır (Ames 1979).

Kansere neden olan kanserojen ve mutajenleri tanımlama, insanlarda kanserin başlaması 20-30 yıl gibi gizli bir periyot içerdiğinden dolayı oldukça zordur. Birçok

1. GİRİŞ

kimyasal insanlarda mutajen ve kanserojen olarak tanımlanmıştır. Populasyonun 1/40'ında kanser gelişmekte ve yeni doğan çocukların %10'u doğumsal bozukluklar ile dünyaya gelmektedir. Eşey hücrelerindeki DNA'da oluşan hasarlar ileriki jenerasyonlarda görülebilecek genetik defektlerle sonuçlanabilir. Vücut hücrelerindeki DNA'da oluşan somatik mutasyonlar, normal hücre çoğalmasını önleyen ve koruyan DNA kodlarını değiştirerek hücre mekanizmasını bozulmasına ve kanserli hücrelerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Her yıl on binlerce sentetik kimyasal üretilmekte ve kullanılmaktadır. Bunların ancak küçük bir bölümü kullanılmadan önce kanserojenite ve mutajenite açısından test edilmektedir. Çevresel kanserojenlerin bazıları insan vücudundaki yağlarda birikir, sürekli düşük, ama zarar verici, dozlarda kanserojenlere maruz kalındığı bildirilmiştir. Epidomolojik çalışmalar, kanser türlerinin, dünyanın farklı bölgelerinde farklı tekrar oranına sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin, Japonya'da meme ve kolon kanseri oranı düşük iken mide kanseri oranı oldukça yüksektir, bununla beraber Birleşik Devletler için durum tam tersidir (Ames 1979).

Çevresel mutajenler (hem doğal hem de insan yapımı) tarafından DNA'da meydana gelen hasarların kanser oluşumunun majör nedeni olduğu ve genetiksel doğum bozukluklarına, kalp hastalıklarına, yaşlanmaya, katarakta ve gelişimsel doğum bozukluklarına katkıda buldukları bilinmektedir (Ames 1979).

Tüm bunların yanı sıra tıp, eczacılık ve kozmetik alanlarında geliştirilen kimyasal maddelerin her hangi bir ilaç yapımında kullanılmadan önce mutlaka mutajenik özelliklerinin bilinmesi gerektiğini Dünya Sağlık Örgütü (WHO) zorunlu kılmıştır. Bu amaçla birçok kuruluş, çeşitli kimyasalları, farklı test yöntemleriyle test etmektedir.

1970'lerin başlarında, kısa zamanlı bakteriyal test sistemleri, özellikle Ames Salmonella/Mikrozom mutajenite test sistemi, mutajenik öncül maddelerin, antimutajenik, anti kanserojenik mekanizmalarını, insanların maruz kaldığı kimyasalların gen içi tehlikesini, ilaç, pestisit gibi canlı organizmaya yabancı maddelerin metabolizmasını ve mutajenlerin/kanserojenlerin endogen formasyonlarını belirleme gibi çok çeşitli amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır (Ames 1975, Mccan ve ark. 1975, Sugimura 1988).

Ames test sistemi (Salmonella/Mikrozom), insanların maruz kaldığı çevresel kanserojenleri ve mutajenleri önceden tespit etme özelliklerini taşımaktadır. Bu testler, hayvansal kanserojenite testlerinin yapılamadığı durumlarda da kullanılabilir.

Bitkilerin kullanım alanı bu kadar genişken ve önemini yüzyıllardır korurken ülkemizde mevcut bulunan bitki çeşitliliği konusunda oldukça şanslı konumdadır. Çünkü, ülkemiz coğrafik olarak Holoarktik alemde bulunmakta ve bu alemin 3 bitkisel (floristik) bölgesi de ülkemizde birleşmektedir. Bunlar Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan floristik bölgeleridir. Bu bölgelerin hepsinin kendisine has iklimsel özellikleri vardır. Tüm bu çeşitli iklim tiplerinin etkisinde bulunması ve sahip olduğu coğrafik konum, Anadolu'daki flora çeşitliliğinin oluşumunda en önemli etkenlerdir (Başar 2000).

Anadolu'nun sahip olduğu fitocoğrafik özelliğinin ve kültürel zenginliğinin bir sonucu olarak bu bölgede bitkilerin tedavi amacıyla kullanımı yüzyıllar öncesine, hatta Hitit uygarlığından da öncesine dayanmakta (Baser 2000) olup günümüzde de bu amaç için çalışmalar devam etmektedir. Bu hususta, Dülger ve ark. (1998) bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özelliklerinin, 1926 yılından bu yana Türkiye'de olduğu gibi diğer ülkelerdeki çeşitli laboratuvarlarda da araştırılmaya başlandığını bildirmişlerdir. (Vorderbank 1949. Holopainen ve ark. 1988). Yalnız ülkemizde yaklaşık 11000 doğal bitki türü yetişmesine rağmen, bunların kimyasal içerikleri üzerindeki çalışmalar çok yavaş yürümektedir.

Tüm bu nedenlerle çalışmamızda ülkemizdeki bitki türlerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemeye çalışarak ülkemizdeki bitkilerin potansiyelinin açığa çıkarmasına yardımcı olmaya çalıştık.

Yapılan kaynakça taramalarında, *Cynara syriaca* türünün farklı uygulamalar ile çözücü ekstraksiyonları, fenolik madde bileşimleri, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile ilgili yapılmış kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamış olması bu türü seçmemizde etkili olmuştur.

Bu çalışmada, *C. syriaca* 'dan elde edilen yaprak ve çiçek metanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal, mutajenik, aktiviteleri ve fenolik madde içerik değerleri gibi bazı biyolojik özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

1. GİRİŞ

Çalışmamız, araştırma sonucunda elde edilen bulgular ile bitkinin yaprak ve çiçek ekstraktlarının sentetik maddelere alternatif doğal antioksidan ve antimikrobiyal kaynaklar olarak kullanılabilmesi belirlenmesi açısından ve gerek sağlık gerekse endüstriyel alanlara katkı sağlayabilecek tıbbi bitkiler arasına girebileceği açısından önem taşımaktadır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Meriçli, H.A. (1989) *Cynara* türlerinin yapraklarının etken bileşiklerinin karaciğer ve safra rahatsızlıklarında kullanılması nedeniyle şimdiye kadar yapılan çalışmaların bir sonucu olarak *Cynara* bileşiklerinin kimyasal grupları ve farmakolojik etkileri üzerine yapılan çalışmaları özetlemiştir. *Cynara* yapraklarında sitotostik aktiviteli bileşiklerin varlığı rapor edilmiştir. Fenolik asitlerden en önemli bileşik olan fenolik asit, seskiterpen laktonlarından en fazla sinaropinler, flavonoidlerden luteolin ve glukozitlerin, ayrıca antoksiyonlar, seskiterpenler, streoidlerin *Cynara* yapraklarında bulunduğu rapor edilmiştir.

Llorach, R. ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada ham, sararmış enginar ve sararmış enginarın suyundan antioksidan aktivite ve fenolik bileşiklerin varlığını rapor etmişlerdir. Atılan yan malzemelerin bazı endüstriyel alanlarda çok büyük bir miktarı temsil ettiği bildirilmiştir. Metanol ve su ekstraktlarının fenolik bileşikleri (kafeik asit türevleri olarak ifade edilen) 15.4 ve 9.9, sararmış enginarlar için 10.3, sararmış enginarın suyu fenolikler/100 mL için 11.3 g olarak rapor edilmiştir. Metanol ekstraktlarının fenolik veriminin su ekstraktlarından daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra enginar ekstraktlarının lipid peroksidasyonunu engelleyecek kadar yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Wang, M. ve ark. (2003) Enginardan yedi aktif fenolik bileşik elde etmişlerdir. Ayrıca enginar başlarından apigenin-7-rutinoside ve narirutin elde etmişlerdir. Bu bileşiklerin bitkinin yenilebilir kısmından ilk kez rapor edildiğini belirtmişlerdir.

Zhu, X. ve ark. (2004) Enginar (*Cynara scolymus* L.) ın kloroform, etil asetat ve n-butanol yaprak ekstraktların fenolik bileşiklerini ve antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. *Cynara scolymus* L.'nin yaprak ekstraktlarının test edilen 4 küf, 4 maya ve 7 bakteri türüne karşı çok önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Enginarın n-butanol yaprak ekstraktından 8 fenolik bileşik izole etmişlerdir. İzole edilen 8 fenolik bileşik test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Meriçli, A.H.ve ark. (2006) *Cynara syriaca* bitkisinin içerdiği flavonoid, fenolik asit ve sesquiterpene laktonaz bileşenlerinin elde edilmesi amacıyla çalışmışlardır. Her bileşik grubunun elde edilmesi için uygulanan ayrı ayrı yöntemler sonucunda altı tane flavonoid (apigenin, chrysoeriol, luteolin, apigenin 7-O-glucoside, chrysoeriol 7-O-glucoside, luteolin 7-Oglucoside), dört tane fenolik asit (caffeic acid, chlorogenic acid, 1,5-dicaffeoylquinic acid, cynarin) ve üç tane de seskiterpen laktonlar (11,13-dihydroxy-8-desoxygrosheimin, 11,13-dihydrodeacylcynaropicrin, solstitialin) bileşikleri tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile ilk defa *Cynara* türlerinden chrysoeriol, chrysoeriol 7-O-glucoside ve 11,13-dihydrodeacylcynaropicrin bileşikleri elde edilmiştir. Aynı zamanda yine bu çalışma ile bir bitkiden ikinci kez Dihydroxy-8-desoxygrosheimin bileşiğini elde etmişlerdir.

Kukic, J. ve ark. (2007) *Cynara cardunculus* L. (*Compositae*) etanol ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Antioksidan potansiyel FRAP (ferrik azaltan antioksidan gücü) yöntemi ve 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikal süpürücü yöntemler kullanılarak değerlendirmişlerdir. Sonuçların, tüm ekstraktların konsantrasyona bağlı antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteyi gıda kaynaklı, mikotoksin üreticileri ve insan patojen bakteri ve micromycetese karşı mikrodilüsyon tekniği kullanılarak değerlendirmişlerdir. Tüm biyolojik deneyler, *Cynara cardunculus* ekstraktının standart antibiyotikler ile karşılaştırılabilir olduğunu rapor etmişlerdir.

Mogha, A ve ark. (2008) enginar (*Cynara cardunculus* L. ve *Cynara scolymus*) yaprak özlerinin hepatoprotektant ve koleretik ajanlar olarak tıpta kullanıldığını bildirmişlerdir. Enginar da en çok bulunan moleküller olarak biyosentetik habercisi klorojenik asit (5-caffeoylquinic asit) ile birlikte cynarin (1,3-dicaffeoylquinic asit) gibi dikafeoylquinik asitler gibi fenolik asitlerin doğal kaynakların temsili olduğu belirtmişlerdir. Enginar yapraklarından dikafeoylquinik asidin dört izomeri, kafeoliquinik asidin üç izomeri ve flavone luteolin 7-glucoside gibi major fenolik bileşikler belirlenmiştir.

Falleh, H ve ark. (2008) *Cynara cardunculus* L. bitkisi parçalarının metanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal ve fenolik bileşiklerinin içeriği belirlenmiştir. Analiz edilen bitki organlarının toplam polifenol içeriği - 14.8 mg GAEg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Yaprak ve tohumun fenolik içerikleri çiçeğin içeriğine oranla iki kat daha fazla benzerlik göstermiştir. En yüksek DPPH süpürücü aktiviteyi tohum (23 mg/ml) daha sonra sırasıyla yaprak ve çiçek (50 µg/ml üzerinde) göstermiştir. Yaprak ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Tolan, V. ve ark. (2009) *Hypericum Iysimachioides* Boiss. var *Lysimachioides* bitkisinin metanol, etil asetat, hekzan, petroleum eter ekstraktlarının genotoksik etkilerini Ames Salmonella/mikrozom test ve SOS kromotest sistemi ile belirlenmiştir. *Hypericum Iysimachioides* Boiss. var *Lysimachioides* ekstraktlarının mutajenik aktivitesi *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile ve SOS kromotest *Escherichia coli* PQ37 suşu kullanılarak S9 (sıçan karaciğer özütü)'lu ve S9'suz olmak üzere iki deney grubu üzerinde incelenmiştir. SOS kromotestte S9'lu ve S9'suz karışımlarda bitkinin mutajenik etkisinin görülmediği belirtilmiştir. Bitkinin metanol, etil asetat, hekzan, petroleum eter ekstraktlarının S9'lu ve S9'suz karışımlarında *Salmonella*'nın her iki suşu üzerinde önemli mutajenik aktivitenin görüldüğü rapor edilmiştir.

Tolan, V. ve ark. (2009) *Thymbra spicata* L. var *spicata*'nın uçucu yağının mutajenik potansiyelini *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile ve SOS kromotest *Escherichia coli* PQ37 suşu kullanılarak S9 (sıçan karaciğer özütü)'lu ve S9'suz olmak üzere iki deney grubu üzerinde araştırmışlardır. *T. spicata* L. var *spicata* uçucu yağının SOS kromotestte S9'lu ve S9'suz karışımların her ikisinde de mutajenitenin görülmediği belirlenmiştir. *T. spicata* L. var *spicata* uçucu yağının S9'lu ve S9'suz karışımlarında *Salmonella*'nın her iki suşu üzerinde zayıf mutajenik aktivitenin görüldüğü rapor edilmiştir.

Yaltırak, T. ve ark (2009) Bir makrofungus olan ve Türkiye'de gıda olarak kullanılan *Russula delica* Fr. nin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırmışlardır. Etanolik ekstraktlar gıda kaynaklı ve bozulmaya neden olan test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. DPPH radikallerinde

süpürücü etki 10 mg/ml konsantrasyonda %26 ve demir iyonlarını bağlama etkisi 5 mg/ml de %58 bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *Russula delica* etanol ekstresi doğal antioksidan ve antimikrobiyal yeni bir potansiyel kaynağı olarak düşünülebileceğini rapor etmişlerdir.

Wissem, A.W. ve ark. (2010) *Myrtus communis* var. *italica* L. bitkisinin yaprak, gövde ve çiçeklerinin metanol ve esansiyel yağlarının antioksidan aktiviteleri DPPH radikal temizleme, β -karoten-linoleik asit ağartma, indirgeme gücü ve metal şelat etkinlik testlerini kullanarak değerlendirmişlerdir. Tüm testler, farklı Mersin parçalarının metanolik ekstraktlarının esansiyel yağlardan daha iyi antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Blazevic, I. ve ark. (2010) *Aurinia Sinvata* bitki türünden elde edilen metanol ekstraktlarının disk difüzyon metodunda mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite sonuçlarının değerlerine göre her bir bakteri örneğine karşın değişken antimikrobial aktivite değerleri elde etmişlerdir. Aynı zamanda 0.100 mg konsantrasyondaki diskler mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterirken 0.250 ve 0.500 mg konsantrasyondaki disklerin daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Kızıl, S. (2010) *Mentha piperita* (L.) ve *M. spicata* (L.) (Lamiaceae) türlerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi, uçucu yağ bileşenleri ve mineral içeriklerini belirlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivite *E. Coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853, *S. aureus* 25923, *S. pyogenes* ATCC19615 ve *C. albicans* ATCC10231 suşları üzerinde ve antioksidan aktivite DPPH-serbest radikal giderme metodu ile belirlenmiştir. *P. aeruginosa* hariç *S.pyogenes*, *S. aureus* and *C. albicans* ve *E. coli* uçucu yağın 5, 10, 15 ve 20 μ l konsantrasyonlarında güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve uçucu yağın DPPH aktivitesinin askorbik asite kıyasla düşük olduğunu ama kabul edilebilir derecede antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Kızıl, S. ve ark. (2011) *Hyssopus officinalis* (L.) (Lamiaceae) türünün uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivite *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853,

Staphylococcus aureus 25923, *Staphylococcus pyogenes* ATCC19615 and *Candida albicans* ATCC10231 test suşlarına karşı disk difüzyon metodu ile ve antioksidan aktivite dipikilhidrazil (DPPH) radikal temizleme metodu ile belirlenmiştir. Uçucu yağın 5 ve 10 µl konsantrasyonlarda ki deneylerinde *S. pyogenes*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *E. coli*' e karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği, *P. aeruginosa*' a karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini belirlemişlerdir. *H. officinalis* uçucu yağının antioksidan aktivitesi butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve askorbik asite karşı kıyaslanmıştır. Sonuçlara göre hyssop uçucu yağının düşük antioksidan aktivite ve bazı test mikroorganizmalarına karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Selçuk, S. S. ve ark. (2011) Türkiye'de yetişen ve endemik bir tür olan *Helichrysum chasmolyticum* bitki türünün antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. *H. chasmolyticum* metanol ekstraktının DPPH metodu ile antioksidan aktivite (IC₅₀ değeri 0.92 mg/ml) gösterdiğini rapor etmişleridir. *H. chasmolyticum*'un major flavonoid bileşiklerinin (3,5-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone ve kaempferol 3-O-glucoside) ve B (petroleum ether-%60 ethanol-kloroform), D (kloroform), E (ethanol-etilasetat) ekstraktlarının mikrobroth dilüsyon tekniği ile antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Ekstrakt E, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite, ekstrakt B ve 3,5-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone bileşiği *Candida albicans*' a karşı antifungal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Mothana, A.A.R. ve ark. (2011) Yemen'de yetişen üç endemik *Soqotraen Boswellia* türün (*Boswellia dioscorides*, *Boswellia elongata* ve *Boswellia socotrana*) uçucu yağlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Tüm uçucu yağların, 1.8 ve 17.2 mg/ml arasındaki MIC değerleri ile özellikle gram pozitif test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. DPPH-radikal süpürücü aktivite deneyinde, uçucu yağların sadece 1.0 mg/ml konsantrasyonda düşük bir antioksidan aktivite (%28) gösterdiği rapor edilmiştir.

Edziri, H.L. (2011) *Lactuca sativa* var *longifolia* yapraklarının su ve metanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal ve antiviral etkilerini araştırmışlardır. Antioksidan aktivite DPPH serbest radikal giderme metodu ile ve antimikrobiyal aktivite 5 Gram-pozitif ve 6 Gram-negatif bakteriye karşı test edilmiştir. En yüksek total

2. KAYNAK ÖZETLERİ

fenol içeriği metanol ekstraktında belirlenmiştir (235.31 mg CE/g ekstrakt). Metanol ekstraktının su ekstraktından daha yüksek radikal süpürme aktivitesi gösterdiğini belirlemişlerdir ($IC_{50}=3.5$ mg/ml). Tüm Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde en iyi antimikrobiyal etkiyi gösteren metanol ekstraktının olduğu belirlenmiştir (en düşük MIC değeri 2.5 mg/ml).

3. MATERYAL METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyaller

Araştırmamızda Türkiye’de Diyarbakır ve çevresinde yayılış gösteren *Asteraceae* familyasının *Cynara* cinsine ait *Cynara syriaca* türü kullanılmıştır. Bitki örnekleri Diyarbakır-Ergani yolu üzerinde 2010 yılı Haziran ayında toplanmıştır. Bitki teşhisleri Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Selçuk ERTEKİN tarafından yapılmıştır. Çalışmada, toplanan *C. syriaca* bitkisinin yaprak ve çiçek kısımları kullanılmıştır.

3.1.2. *Cynara syriaca* Hakkında Genel Bilgiler



Şekil 3.1. *C. syriaca* bitkisinin genel görünüşü

Sistemantik:

Alem: Plantae

Bölüm: Kapalı Tohumlu

Sınıf: Çift Çenekli

Takım: *Asterales*

Familya: *Asteraceae*

Cins: *Cynara*

Tür: *Cynara syriaca* Boiis

Ülkemizdeki bitki çeşitleri arasında çok sık rastlanan *Asteraceae* veya *Compositae* familyası, yıldız çiçeği, papatya veya ayçiçeği familyası olarak da bilinen, iki çenekli çiçekli bitkilerin taksonlarından birisidir (Simpson 2006).

Asteraceae 447 türü ile Türkiye’de endemik türler açısından en zengin familyadır. Türkiye’de 133 cins ve bunlara ait 1156’dan fazla türü bulunmaktadır (Simpson 2006).

Asteraceae familyasına ait *C. syriaca*, çok yıllık otsu bir bitki 650-1200 metre yükseklikte step, tarla ya da boş alanlarda yetişmektedir.

Çiçeklenme dönemleri 7. ve 8. aylarda gerçekleşmektedir. Çiçeklilik süresi geçici olup birkaç aydır.

Bitki 1 metreye kadar uzamaktadır.

Dikenli yapraklar sapta olup az ve geniştir.

Bitkinin genel dağılımı Filistin, Lübnan, Kuzey Irak ve Suriye’de olup, Türkiye’de ki yayılış alanları ise Doğu Anadolu’da Bingöl ve çevresinde, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde Elazığ, Diyarbakır ve Adana çevresindedir (Davis 1975).

Çalışmamızı yürüttüğümüz bitki *C. syriaca*, yalnızca Türkiye’ de doğal alanda yetişmektedir (Kupicha 1975).

3.1.3. Kullanılan Test Suşları

Antimikrobiyal aktivite belirlemede kullanılacak olan *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Candida albicans* ATCC 10231 suşları ve Salmonella/mikrozom test sisteminde kullanılan *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden temin edilmiştir.

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz serbest radikal 2,2- difenilpikrilhidrazilin (DPPH), metanol, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), sodyum karbonat (Na_2CO_3), Gallik asid, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) Sigma'dan, D-biyotin, L-histidin-HCL monohidrat, Bacto Agar Difco'dan, Oxoid nutrient broth No:2 Oxoid'den temin edilmiştir.

3.1.5. Kullanılan Aletler

Steril Kabin	(Telstar AV-100)
Spektrofotometre	(UV mini 1240 SHIMADZU)
Etüv	(Heraus)
Magnetik Karıştırıcı	(Stuart)
Deep-Freeze	(Harris, -95 °C)
Vorteks	(VWR INTERNATIONAL)
Çalkalayıcı	(P SELECTA UNITRONIC OR)
İnkübatör	(Sanyo)
Hassas Terazî	(GEG, AVERY)
Otoklav	(HICLAVE HV-50L)
Sterilizatör	(Heraus)

3.1.6. Antimikrobiyal Aktivite İçin Kullanılan Besiyerleri

Nutrient Broth (NB) ve Nutrient Agar (NA) Besiyerleri Merck'ten temin edilmiştir. Sıvı besiyerleri hazırlamak için 25 gr NB saf su ile 1000 ml'ye tamamlanırken, katı besiyerleri hazırlamak için 20 gr Nutrient Agar saf su ile 1000 ml'ye tamamlanıp 121°C basınçta 20 dakika otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.1.7. Salmonella/Mikrozom Test Sisteminde Kullanılan Bakteri Besi Ortamları ve Stok Çözeltiler

Vogel-Bonner-E Ortamı (50×VB tuzları): Minimal agarda kullanılmak üzere hazırlandı.

	<u>1000 ml için</u>
Distile su (45°C)	670 ml
Magnezyum sülfat (MgSO ₄ . 7H ₂ O)	10 g
Sitrik asit monohidrat	100 g
Potasyum fosfat (K ₂ HPO ₄)	500 g
Sodyum amonyum fosfat (NaH ₂ NH ₄ PO ₄ .4 H ₂ O)	175 g

Tuzlar distile suya sırasıyla ilave edildi. Toplam hacim 1000 ml' ye tamamlanıp 121°C'de otoklavlandı.

0.5mM Histidin/biyotin Çözeltisi: Mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı. 100 ml'lik yumuşak agara 10 ml eklendi.

	<u>250 ml için</u>
D-biyotin(MA: 247.3)	30.9 mg
L-histidin-HCL(MA:191.7)	24.0 mg
Distile su	250 ml

Yumuşak (üst) Agar:

	<u>100 ml için</u>
Bacto agar	0.6 g
Sodyum klorür	0.5 g

Distile su 100 ml

Çözelti 20 dakika 121°C'de otoklavlandı.

Ampisilin Çözeltisi (8mg/ml): Suşların ampisiline dirençlilik özelliğinin kontrolünde, R faktör plazmidi taşıyan suşların master plaklarının hazırlanmasında kullanıldı.

100 ml için

Ampisilin trihidrat 0.8 g
Sodyum hidroksit 100 ml

Kristal Viyole Çözeltisi: Suşların rfa mutasyonu markerlerini kontrol amacıyla kullanıldı.

100 ml için

Kristal viyole 0.1 g
Distile su 100 ml

Minimal Glukoz Agarlı Ortam (MGA): Mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

1000 ml için

Agar 15 g
Distile su 880 ml
50×VB çözeltisi 20 ml
Glukoz (%20'lik) 100 ml

15 g agar erlene konduktan sonra 880 ml distile su ilave edildi, karıştırıldı ve 20 dk 12⁰ C' de otoklavlandı. Daha önce otoklavlanmış steril tuz çözeltisi 50×VB 20 ml ve %20'lik glukoz çözeltisi 100 ml sırasıyla agara ilave edildi, karıştırılıp petrilere döküldü.

3. MATERYAL VE METOT

Histidin/Biyotin/Ampisilin İçeren Katı Besiyerleri: R faktörü taşıyan suşların ampisiline dirençlilik genlerinin kontrolünde kullanılmak amacıyla hazırlandı.

1000 ml için

Agar	15 g
Distile su	860 g
50×VB tuz çözeltisi	20 ml
%20'lik glukoz	100 ml
Steril Histidin-HCL(%0.5)	10 ml
Steril Biyotin (0.5mM)	6 ml
Steril Ampisilin Çözeltisi	6 ml

Sıvı Besiyeri (Nutrient Broth): Bakterileri üretmek amacıyla kullanıldı.

1000 ml için

Oxoid nutrient broth No:2	25 g
Distile su	100 ml

Karışım 20 dakika 121°C'de otoklavlandı.

Nutrient Agarlı Besiyeri: Test suşlarının kristal viyole ve UV'ye duyarlılık özelliklerinin test edilmesi ve sitotostik etkinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

1000ml için

Oxoid broth No:2	25 g
Difco bacto agar	15 g
Distile su	1000 ml

Karışım 20 dakika 121°C'de otoklavlandı.

3.1.8. Sterilizasyon

Steril kullanılması gereken tüm çözeltiler ve materyaller 121°C basınçta 20 dakika otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.2. Metot

3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Ekstraktın Hazırlanması

C. syriaca yaprak ve çiçek kısımlarına ayrılarak Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi herbaryumunda gölgelik ve kuru bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkisel materyalin yaprak ve çiçek kısımları küçük parçalara ayrıldıktan sonra bir öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir.

Toz haline getirilen bitki yaprakları 180 gr, çiçekleri de 270 gr olarak tartılmıştır. Toz halindeki yaprak ve çiçek kısımları ağırlıklarınca eşit miktarlara bölünerek ayrı ayrı erlenlere alınmıştır. Üzerlerine 1/10 (w/v) oranında metanol eklenerek 2 gün süreyle 37°C' de sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Ardından Whatman kurutma kağıtları ile filtre edilmiştir. Elde edilen süzütüden evaporatör yardımıyla çözücünün kaynama noktasının altında ve yüksek vakum uygulanarak metanolün uzaklaşması sağlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar analiz çalışmalarına kadar +4 °C'de dondurucuda ağızları kapalı bir şekilde saklanmıştır.

3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

3.2.2.1 Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite belirlemede kullanılacak olan bakteri suşları Nutrient Broth sıvı besiyerine ekilerek çalkalamalı su banyosunda 37±0.1 °C de 120 rpm çalkalama hızıyla 16 saat, *Candida albicans* ise 30±0.1 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sıvı kültürde çoğaltılan mikroorganizmalar Nutrient Agar katı besiyerine ekilerek çalışmalarda kullanılmak üzere stok kültürler hazırlanmış ve +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon metodu uygulanmıştır (Wayne 1999).

Bu yönteme göre; mikroorganizmaların NB sıvı besiyeriyle hazırlanan gecelik kültürlerinden 100 µl alınarak Nutrient Agar katı besiyeri içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır (Sandri ve ark. 2007). Önceden metanolde hazırlanmış 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 µg/ml, 1, 2, 4, 5 ve 10 mg/ml konsantrasyonlardaki yaprak ve çiçek

ekstraktlarından 10 ar µl ve 20 er µl alınarak steril boş disklerle (6 mm) emdirilip petrilere yerleştirilmiştir.

Kontrol olarak petrilere sadece 20 µl metanol emdirilmiş steril diskler yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak İmipenem (10 µg), Eritromycin (15 µg), Vancomycin (30 µg) kullanılmıştır. Petriler 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Yalnız *Candida albicans* suşunun bulunduğu petri 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra petrillerdeki disklerin etrafında oluşan zonların çapı mm cinsinden ölçülmüştür.

3.2.3. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Testi

3.2.3.1. Ames Salmonella Test Suşları Kontrol Deneyleri

Ames/Salmonella testinde kullanılan bakteri suşlarının (*S.typhimurium* TA 98 ve TA 100) genetik yapılarının kontrolü deneyde çalışmalar öncesinde aşağıdaki şekilde Maron ve Ames (1983)'e göre yapılmıştır.

-Histidin Amino Asidi Gereksinimi Kontrolü

His⁻ karakterdeki test suşları seçici agar ortamında, MGA (Minimal Glikoz Agar) plaklarına ekilmeleri ile kontrol edilmiştir. Tüm test suşları uvrB delesyonunun biyotin geninde de delesyon oluşturduğundan histidine ek olarak biyotine de gereksinim duyarlar. Kontrol plakları histidin içermez fakat biyotin içerirler. Plaklar 37⁰ C' de bir gece inkübe edilmiştir.

-uvr B Mutasyonu Kontrolü

uvrB mutasyonu, UV (ultra viyole) ışınlarına duyarlılık testleri ile kontrol edilmiştir. tets suşlarının gecelik kültürlerinden alınan örnekler nutrient agarlı plaklara tek koloni şeklinde ekildi ve 37⁰ C' de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi sabah üreyen tek koloniler steril kürdanlarla alınarak nutrient agarlı plaklara çizgi metoduyla ekildi. Ekim sonunda plağın kapağı açılarak 15 watt'lık germisidal UV lambasına 33 cm uzaklıkta 8 saniye süreyle ışlandıktan sonra 37⁰ C' de bir gece inkübasyona bırakılmıştır (Ames ve ark. 1973).

-rfa Mutasyonu Kontrolü

rfa mutasyonuna sahip suşları, kristal viyole duyarlılıkları ile test edilebilirler. Bunun için, test edilecek suşa ait gecelik kültürden alınan örnekler nutrient agarlı plaklara ekilmiştir. 1 mg/ml'lik kristal viyole çözeltisi steril disklerle emdirilerek plağın ortasına yerleştirilmiştir. 37 °C' de bir gece inkübe edilmiştir (McCaan ve ark. 1975).

-R-Direnç Faktörü (RF) Kontrolü

R-faktörü taşıyan suşların (TA 98 ve TA 100) plazmitlerinin stabil olmaması ve bakterinin bu plazmitleri kaybedebilme olasılığından dolayı ampisiline dirençlilikleri rutin olarak test edilmiştir. Ampisilin dirençlilik testi için, histidin/biyotin/ampisilin içeren minimal glukoz agarlı plaklar hazırlanarak R-faktörü test edilecek suşların ekimi yapılmıştır. Ampisilin aktivitesini kontrol etmek üzere aynı plakta plazmit içermeyen suşlarda test edilmiştir. Plaklar bir gecelik 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır.

-Kendiliğinden Geriye Dönüş Sıklığının Kontrolü

Test suşlarının histidine bağımlı olmayan kendiliğinden geri dönüşü, mutajenite deneylerinde rutin olarak ölçüldü ve her plakta kendiliğinden geri dönen bakteri sayısı olarak ifade edilmiştir. Kendiliğinden geri dönüş frekanslarını saptayabilmek için MGA'lar hazırlanmıştır. Yumuşak agar 45 °C' de eritilerek üzerine steril 0.5 ml L-histidin – HCL/biyotin çözeltisinden 10 ml eklendi ve 2'şer ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılmıştır. Bu tüplere her suşun gecelik kültüründen 0.1 ml eklendi ve MGA'lı plaklara dökülüp yayılmıştır (Maron ve Ames 1983). 48 saat 37 °C' de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası geri dönen koloni sayımı yapılmıştır.

Ayrıca

-Negatif kontrolleri yapılmıştır.

-Pozitif kontroller olarak TA 98 için 2-AF 10 µg/petri ve TA 100 için 1.5 µg/petri NaNO₃ kullanılmıştır.

3.2.3.2. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Test Sistemi

Deneyler S9 (sıçan karaciğer özütü)' lu ve S9' suz olarak 2 grup halinde çalışılmıştır. Test bileşiği, bakteri test suşu ve S9 fraksiyonu karışımı yumuşak agar ile

karıştırılarak minimal glukoz agarlı plaklara dökülecek ve yüzeye yayılması sağlanmıştır. 37 °C’de 48 saat inkübasyondan sonra koloni sayımı yapılmıştır.

Mutajenite deneylerinde, 13×100 mm’lik tüplere üst agarları 2 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Histidin ve biyotin ilave edilmiş 45°C’deki 2 ml’lik yumuşak agara, test suşu kültüründen 0.1 ml, test edilecek bileşikten 0.1 ml ve S9 karışımından da 0.5 ml ilave edilip 3 sn vortekslendikten sonra oda sıcaklığındaki minimal glukoz agarlı plaklara yayılmıştır. Üst agarın donmadan, plağın tüm yüzeyine yayılmasını sağlamak için karıştırma-dökme-yayma işlemi 20 saniyeyi geçmeyecek şekilde yapılmıştır. Test edilecek bileşik S9 varlığında ve yokluğunda, pozitif ve negatif kontroller aynı deneyde gerçekleştirilmiştir. Bileşik her doz için iki petriye ekim yapılmıştır.

Her doz paralel üç plak halinde denenmiş ve farklı zamanlarda üç bağımsız deney yapılmıştır.

3.2.4. Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktiviteyi belirlemede DPPH metodu kullanılmıştır (Cuendet ve ark. 1997, Burits ve ark. 2000).

Bu test yöntemi kararlı serbest radikal 2,2- difenilpikrilhidrazilin (DPPH) elektron veya hidrojen atomları veren bir antioksidan varlığında bu kimyasal tarafından süpürülmesi ile karakteristik mor rengin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır. Dolayısıyla antioksidan madde ne kadar güçlü etki gösterirse, DPPH’ nin mor renginin o derece açılması beklenir. DPPH’ın rengi açıldığı için absorpsiyonda azalma olur. Reaksiyon karışımının düşük absorpsiyon göstermesi serbest radikal giderim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtir.

3.2.4.1. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH yönteminde; 2,2’-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ayıraç olarak kullanılmıştır. 5 ml %0.004 metanol DPPH çözeltisine yaprak ve çiçek ekstraktlarından metanolde hazırladığımız 5mg/ml, 10 mg/ml ve 20 mg/ml konsantrasyonlardan 50’şer µl eklenmiştir. Vorteks yardımıyla 30 sn karıştırıldıktan sonra karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Ardından 517 nm’de spektrofotometrik ölçüm alınmıştır.

Kontrol olarak DPPH/metanol çözeltisi kullanılırken pozitif kontrol olarak da BHT, BHA ve Askorbik Asit kullanılmıştır. BHT ve BHA örnekleri %0.02 konsantrasyonda hazırlanırken, askorbik asit 4.45 mM konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bunun için 0,0039 gr askorbik asit tartılıp 5 ml metanolde çözülmüştür. Aynı şekilde 0,001 gr BHT ve BHA tartılıp 5 er ml metanolde çözülmüştür. 5 ml %0.004 metanol DPPH çözeltisine pozitif kontrollerden 50'şer µl eklenmiştir. Vorteks ile 30 sn karıştırıldıktan sonra karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 517 nm' de absorbans değerleri belirlenmiştir.

3.2.4.2.Bitki Özütlerinin ve Standart Antioksidan Maddelerin Serbest Radikal Giderme Aktivitelerinin Hesaplanması

Serbest radikal giderme aktivite yüzdesi (%I) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%I = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] \times 100$$

Burada, Abs₀ kontrolün absorbans değerini, Abs₁ ise farklı konsantrasyonlardaki test bileşiklerinin absorbans değerlerini ifade etmektedir.

DPPH' nin % inhibisyonu bu formüle göre değerlendirilerek sonuçlar grafiğe alınmıştır.

3.2.5. Total Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraktların total fenol içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) metodu ile belirlenmiştir (Singleton ve Rossi 1965).

Metot, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. FC reaktifi fosfotungstik (H₃PW₁₂O₄₀) ve fosfomolibdik H₃(PMO₁₂O₄₀) asitlerin karışımı olup fenol oksidasyonu sırasında bu oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir (Çöllü 2007). Oluşan mormenekşe renkli kompleks 760 nm'de maksimum absorbans oluşturur.

Bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarının ekstraktlarından metanol ile 10 mg/ml ve 20 mg/ml konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle total fenolik miktar tayininde kullanılan çözeltiler hazırlanmıştır. % 2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması için 0.02 g Na₂CO₃ 1 mL saf su ile çözülmüştür.

Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (Fosfotungistik-fosfomolibdik asit + CuSO₄): Satın alındığı şekilde % 50 konsantrasyonda su ile hazırlanmıştır.

10 mg/ml ve 20 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan yaprak ve çiçek özütlerinden 0.1ml alınıp üzerlerine 0.2 ml %50 lik Folin-Ciocalteu (FCR) reaktif eklenmiştir. 3 dakika sonra 1 ml %2 lik Na₂CO₃ eklenip vortekste 2-3 sn karıştırılıp oda sıcaklığında 45 dakikalık inkübasyondan sonra 760 nm'de spektrofotometrik ölçüm alınmıştır. Kontrol için 0.2 ml %50 lik FCR' ye bitki ekstraktı yerine 100 µl su eklenmiştir.

Total fenolik içerik belirlemede standart olarak Gallik asit kullanılmıştır (Singleton 1965).

Öncelikle 1 mg/ml stok Gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun içinde 0,01 gr Gallik asite 10 ml saf su ekleyip vorteksle iyice karıştırılıp çözünmüştür. Daha sonra bu stok çözelti üzerinden 0.05, 0.1, 0.15, 0.25, 1, 5 ve 10 mg/ml konsantrasyonlarda Gallik asit/saf su çözeltileri hazırlanıp Folin-Ciocalteu reaktif metodundaki aynı işleme tabi tutulmuştur. 760 nm'deki spektrofotometrik ölçüm alınmıştır.

Çıkan absorbans sonuçlarına göre 10 mg/ml konsantrasyonundan başlayarak giderek azalan konsantrasyonlarda hazırlanan Gallik asit için kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Test bileşiklerinin absorbansları çizilen kalibrasyon eğrisinden alınarak eş değer Gallik asit (GAE) miktarı mg/ml olarak hesaplanmıştır.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada yapılan tüm deneyler 3 tekrarlamalı olarak yapılmış ve elde edilen ortalamalar Microsoft Excel programı kullanılarak hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *C.syriaca* bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen metanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon, antioksidan aktivitesi de DPPH serbest radikal yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca özütlerin total fenol içerikleri de belirlenmeye çalışılmıştır.

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

C.syriaca bitkisinin yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen metanol özütünün disk difüzyon yöntemine göre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Candida albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite sonuçları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yaprak özütlerinin antimikrobiyal etkisine (zon çapı¹, mm) ilişkin ortalama değerleri

Konsantrasyon Değerleri	Mikroorganizmalar / inhibisyon zonu (mm)				
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
25 µg/ml	9±1.4	8.5±0.7	7±0.0	4±5.6	8±0.0
50 µg/ml	11.5±0.7	8±0.0	8±1.4	9±0.0	8.5±0.7
100 µg/ml	10±0.0	7±0.0	8.5±0.7	9±0.0	9.5±0.7
200 µg/ml	10±0.0	8±0.0	8.5±0.7	10±0.0	12.5±0.7
400 µg/ml	9±0.0	8±0.0	8.5±0.7	10.5±0.7	8±0.0
500 µg/ml	7.6±0.5	8.3±0.5	7.6±0.5	7.6±0.5	10±1.0
600 µg/ml	8.5±0.7	8.5±0.7	7.5±0.7	9±0.0	11.5±0.7
800 µg/ml	10±0.0	8.5±0.7	9±0.0	9±0.0	9.5±0.7
1 mg/ml	8.3±0.5	7.3±0.5	7.3±0.5	8.6±0.5	9.3±0.5
2 mg/ml	8.5±0.7	6.5±0.7	8.5±0.7	8±0.0	11±0.0
4 mg/ml	8.4±0.0	7.8±0.0	7.1±0.0	7.6±0.7	10±0.0
5 mg/ml	8.6±0.5	9.6±2.8	7.6±0.5	8.6±0.5	8±1.0
10 mg/ml	8.3±0.5	8±0.0	7.3±1.1	8±1.0	9±1.0

¹Zon çapları disklerin (6 mm) çapını içerecek şekilde ölçümler alınmıştır.

Çizelge 4.1 de ki sonuçlara göre *C. syriaca* türünün metanolik yaprak özütünün *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *S. pyogenes* ATCC 19615, *C. albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Çiçek özütlerinin antimikrobiyal etkisine (zon çapı¹, mm) ilişkin ortalama değerleri

Konsantrasyon Değerleri	Mikroorganizmalar / inhibisyon zonu (mm)				
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
25 µg/ml	9.5±2.1	7±0.0	4±5.6	6±0.0	10±0.0
50 µg/ml	7.5±0.7	7.5±0.7	7±1.4	8.5±2.1	9.5±0.7
100 µg/ml	9±0.0	6.5±0.7	4±5.6	3.5±4.7	9.5±0.9
200 µg/ml	8.5±0.7	4.5±6.3	7±1.4	8.5±0.7	9±1.4
400 µg/ml	9±0.0	8.5±0.7	7.5±0.7	7.5±0.7	8±0.0
500 µg/ml	7±1.0	8±0.0	7±0.0	8.3±0.5	7.6±0.5
600 µg/ml	9.5±0.7	8±0.0	8.5±0.7	9±0.0	10±0.0
800 µg/ml	8.6±0.7	7.3±0.7	7.8±0.0	8±0.7	7.9±0.7
1 mg/ml	8.3±0.5	7±0.0	6.6±0.5	8±0.0	9.6±1.5
2 mg/ml	8.1±0.0	6.6±0.7	7.8±0.7	8.4±0.0	8.7±0.7
4 mg/ml	7.4±0.0	6.6±2.1	7.7±0.0	8.1±0.0	8±0.0
5 mg/ml	8±0.0	8±0.0	7±0.0	9±1.0	9±0.0
10 mg/ml	8.6±0.5	7.3±0.5	8.6±0.0	8±0.5	10±0.0

¹Zon çapları disklerin (6 mm) çapını içerecek şekilde ölçümler alınmıştır.

Çizelge 4.2 de ki sonuçlara göre *C. syriaca* türünün metanolik çiçek özütünün *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *S. pyogenes* ATCC 19615, *C. albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalara karşı yeterli antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir.

Negatif kontrol olarak kullanılan metanolün aynı test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite sonuçları çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Negatif kontrolün (metanol) antimikrobiyal etkisine (zon çapı¹, mm) ilişkin ortalama değerleri

Test bakterileri	İnhibisyon Zonu (mm)
<i>E.coli</i>	8±0.5
<i>S.aureus</i>	8±0.5
<i>S.pyogenes</i>	9±2.0
<i>P.aeruginosa</i>	9±2.5
<i>C.albicans</i>	11±2.0

¹Zon çapları disklerin (6 mm) çapını içerecek şekilde ölçümler alınmıştır.

Çizelge 4.3’de ki bulgulara göre negatif kontrol olarak kullandığımız metanol, test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin yaprak ve çiçek özütünün gösterdiği antimikrobiyal aktivite ile benzer değerler sergilemiştir. Bu değerler doğrultusunda yaprak ve çiçek özütleri için ölçülen inhibisyon değerlerinin bitki özütünde kullanılan metanolden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Literatürden elde edilen bilgiler doğrultusunda farklı *Cynara* türlerinin metanolik özütlerinin gram pozitif, gram negatif bakteriler ile çeşitli mayalar üzerinde farklı oranlarda antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir.

Zhu ve ark. (2004) *Cynara scolymus* L.’nin yaprak ekstraktlarının test edilen 4 küf, 4 maya ve 7 bakteri türüne karşı çok önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Kukic, J. ve ark. (2007) *Cynara cardunculus* L. (*Compositae*) etanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Antimikrobiyal aktiviteyi gıda kaynaklı, mikotoksin üreticileri ve insan patojen bakteri ve micromycetese karşı mikrodilüsyon tekniği kullanılarak değerlendirmişlerdir. Tüm biyolojik deneyler, *Cynara cardunculus* ekstraktının standart antibiyotikler ile karşılaştırılabilir olduğunu rapor etmişlerdir.

Falleh ve ark. (2008) *Cynara cardunculus* L. bitkisi metanollü yaprak ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli*, *S. epidermidis*, *Micrococcus Luteus* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

In vitro çalışmalar ile enginar yaprağının antibakteriyal ve antifungal etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Enginar yaprağından izole edilen sinaropikrin, groshaymin gibi guyanolid yapıdaki seskiterpen laktonların sitostatik etkilerinin ispatlanması drogun değerini daha da arttırmaktadır (Moglia 2008).

Yapılan çalışmalarda *C. syriaca* da seskiterpen laktonları içerdiği belirlenmiştir (Meriçli 2006). Esas olarak *Asteraceae*'lerde bulunan seskiterpenlerin büyük çoğunluğu uçucu yağların terkininde yer alır ve bu fraksiyonların farmakolojik özelliklerinden sorumlu sayılır. Bitki uçucu yağlarının seskiterpen laktonlarının antitümöral, antilösemik, sitotoksik, antimikrobiyal gibi birçok etkisi bulunmaktadır. Bu bulgular doğrultusunda *C. syriaca*'nın farklı çözücülerden elde edilen özütlerinin ve özellikle uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi yönünde çalışmalar yapılabileceği görülmektedir.

4.1.1. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotiklerden Eritromycin, Vancomycin ve İmipenem (IMP) disk difüzyon yöntemiyle standart test mikroorganizmalarına karşı test edilmiştir. Test sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Antibiyotiklerin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisine (zon çapı¹, mm) ilişkin ortalama değerleri

	İnhibisyon zonu (mm)		
	Eritromycin (15 µg)	Vancomycin (30 µg)	İmipenem (10 µg)
<i>E. coli</i>	12.6± 2.7	Zon yok	13.16±3.6
<i>S.aureus</i>	22.25±0.6	12.5±2.12	25.33±5.5
<i>S.pyogenes</i>	20.2±2.6	11.5±0.7	26±2.62.6
<i>P.aeruginosa</i>	12.6±3.1	Zon yok	13.16±2.6

¹Zon çapları disklerin (6 mm) çapını içerecek şekilde ölçümler alınmıştır.

Pozitif kontroller olarak kullanılan antibiyotiklerden Eritromycin ve İmipenem' nin test mikroorganizmalarına karşı iyi derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği, Vancomycin antibiyotiğinin ise sadece *S.aureus* ve *S.pyogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, pozitif kontrollerin test mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteleri ile bizim yaprak ve çiçek özütlerimizin kıyaslanabilir bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği görülmektedir.

4.2. Ames Salmonella/Mikrozom Mutajenite Aktivite Çalışmaları

C.syriaca yaprak özütlerinin mutajenik aktivitesi *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 test mikroorganizmalarına karşı test edilmiştir.

Ames *Salmonella*/Mikrozom Mutajenite aktivitesi test sonuçları Çizelge 4.5' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Yaprak özütlerin Ames *Salmonella*/Mikrozom Mutajenite aktivite değerleri

	<i>S.typhimurium</i> TA 100 (Koloni sayıları)	<i>S.typhimurium</i> TA 98
Negatif Kontrol	49	163.5
Kontrol	183	62
10 µg/ml	167	52.5
20 µg/ml	183.5	27
40 µg/ml	141	39
80 µg/ml	182.5	Sayılamayacak kadar çok

Çizelge 4.5’ de ki sonuçlara göre *S.typhimurium* TA 100 suşunun kontroldeki koloni sayıları ile yaprak özütlerinin 10, 20, 40 ve 80 µg/ml de kullanıldığı petrilerdeki koloni sayıları kıyaslandığında bitkinin yaprak özütleri ile kontroldeki koloni sayılarının hemen hemen aynı olduğu görülmektedir.

S.typhimurium TA 98 suşunun kontrol ve 10, 20 ve 40 µg/ml konsantrasyonda yaprak özütlerinin kullanıldığı petrilerdeki koloni sayıları kıyaslandığında da tekrardan yaprak özütünün bu test suşu üzerinde de mutajenik aktivitesinin olmadığı söylenebilmektedir. Yalnız 80 µg/ml konsantrasyondaki koloni sayısının artmasıyla birlikte mutajenik etkinin de görüldüğü gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. Yaprak özütlerin Ames *Salmonella*/Mikrozom Mutajenite aktivite değerleri

	<i>S.typhimurium</i> TA 100 (Koloni sayıları)	<i>S.typhimurium</i> TA 98
Negatif Kontrol	323	40
Kontrol	353	35
100 µg/ml	322	152
200 µg/ml	353	83
400 µg/ml	323	71

Daha sonra mutajenite testi 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyonlarda tekrarlanmıştır. Çizelge 4.5’de de verilen değerlere göre, kontroldeki koloni sayısı ile 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyondaki yaprak özütlerinin bulunduğu petrilerdeki koloni sayıları kıyaslandığı zaman TA 100 de geriye dönen koloni sayısında iki kat bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu durumda yaprak özütlerinin TA 100 suşu üzerinde mutajenik bir etkisinin olduğu söylenebilir. Özellikle 100 ve 200 µg/ml konsantrasyondaki özütlerde mutajenik etki bulunurken 400 µg/ml de mutajenite etkisini yitirmeye başlamaktadır.

Aynı konsantrasyonlar üzerinde denen TA 98 suşu üzerinde, 100 µg/ml deki konsantrasyonda mutajenik etki görülürken, diğer konsantrasyonlarda kontrolle birbirine yakın değerlerin görülmesi üzerine mutajenik etkinin olmadığı söylenebilmektedir.

Bu sonuçlara göre yaprak özütlerinin doz artışına bağlı test suşları üzerinde mutajenik aktivitesi görülmemiştir diyebiliriz.

S.typhimurium TA 100 suşunun her iki deneyde de, negatif kontroldeki koloni sayısının, kontroldeki koloni sayısına göre çok düşük olması negatif kontrol olarak kullandığımız DMSO (dimetil sülfoksit) bileşiğinin TA 100 test suşu üzerinde bir mutajenik aktivitesinin olabileceği görülürken, negatif kontroldeki koloni sayısının yüksek çıkması itibariyle DMSO bileşiğinin *S.typhimurium* TA 98 suşu üzerinde herhangi bir mutajenik etkisinin olmayabileceği görülmektedir.

4.3. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Literatürde *Cynara* cinsinin diğer türleri ile ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen *C. syriaca* türünün antioksidan aktivitesi ile ilgili çalışmalar bulunmamaktadır.

C. syriaca bitkisinin yaprak ve çiçek metanol özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi dört farklı konsantrasyonda (5, 10, 20 mg/mL) tayin edilmiştir. Standart olarak kullanılan BHT, BHA ve askorbik asite göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır.

Bitkinin yaprak ve çiçek metanolik özütün stok çözeltilerinden hazırlanan 5, 10 ve 20 mg/ml konsantrasyonlardaki ve pozitif kontrollerin (BHA, BHT ve askorbik asit) %0.004' lük DPPH çözeltilisinin rengini açma kapasitesi % inhibisyon olarak değerlendirilmiştir.

Cynara syriaca'nın yaprak ve çiçeklerinin çeşitli konsantrasyonlardaki metanolik özütünün ve pozitif kontroller olarak kullanılan sentetik antioksidan BHT, BHA ve askorbik asitin % inhibisyon grafikleri çizelge 4.5 ve 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.7. Yaprak ve çiçek özütlelerinin antioksidan aktivite değerleri

	%İnhibisyon (mg/ml)	
	Yaprak	Çiçek
5 mg/ml	9.7±1.09	38.0 ±0.4
10 mg/ml	38.8±2.5	92.2±0.8
20 mg/ml	88.9±2.9	92.5±1.0

Çizelge 4.5 de ki sonuçlara göre *C. syriaca*'nın yapraklarının metanolik özütü 5 mg/ml konsantrasyonda %9.7, 10 mg/ml de 38.8 ve 20 mg/ml de % 88.9 inhibisyon göstermiştir. Çizelge 4.2' de de gösterilen sonuçlara göre yaprak özütlelerinin konsantrasyonunun artmasıyla %inhibisyon oranı da artmıştır.

Bitkinin çiçek kısımlarının metanolik özütleri 5 mg/ml konsantrasyonda %38.0, 10 mg/ml de %92.2 ve 20 mg/ml de %92.5 inhibisyon göstermiştir. Çiçek özütlelerinin 10 mg/ml ve 20 mg/ml konsantrasyonlarda gösterdiği inhibisyon değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlar doğrultusunda en yüksek aktiviteyi % 92.5 inhibisyon ile bitkinin 20 mg/ml konsantrasyondaki çiçek özütünün gösterdiği belirlenmiştir.

Yaprak ve çiçek özütünün antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında çiçek özütünün yaprak özütüne oranla % inhibisyon oranının daha yüksek olduğu görülmüştür

4.3.1. Pozitif Kontrollerin Antioksidan Aktivite Değerleri

Çizelge 4.8. Pozitif kontrollerin antioksidan aktivite değerleri

%İnhibisyon (mg/ml)	
AA	93.6±0.4
BHT	30.7±3.7
BHA	26.4±2.6

Çizelge 4.6' da gösterilen pozitif kontroller olarak kullanılan standart antioksidan maddelerden en yüksek antioksidan aktiviteyi %93.6 ile Askorbik Asit (AA) göstermiştir. Diğer standart antioksidanlar Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) % 30.7 ve Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) % 26.4 inhibisyon göstermiştir.

Bitkinin yaprak kısımlarının metanol özütlerinin 20 mg/ml konsantrasyonda DPPH' yi %88.9 inhibisyona uğratarak kontrol grupları olan BHA ve BHT den çok daha yüksek bir inhibisyon değerinde, askorbik asite ise yakın bir inhibisyon değeri gösterdiği görülmüştür.

C. syriaca' nın çiçeklerinin metanolik özütünün 20 mg/ml konsantrasyonda DPPH' yi %92.5 inhibisyona uğratarak BHT, BHA ve askorbik asite oranla çok daha yüksek bir derişimde inhibisyon değeri gösterdiği görülmüştür.

C. syriaca' nın antioksidan etkisiyle ilgili literatürde çalışma bulunmadığından standart antioksidanların, antioksidan özelliklerinin karşılaştırıldığında sentetik antioksidanlarla aynı antioksidan değerlerde hatta daha yüksek değerler içerisinde olduğu görülmüştür. Aynı zaman da inhibisyon değerleri antioksidan aktivite gösteren bu bitkilerin ve standart antioksidan maddelerin antioksidan aktivite sonuçlarını desteklemektedir.

Cynara scolymus yani enginar, antik çağlardan beri bilindiği ve o dönemlerden beri birçok hastalıkta geleneksel iyileştirme yöntemlerinden biri olarak kullanıldığı bilinmektedir. Çünkü bu bitkide hepaprotektif (Adzet ve ark. 1987), hipokolesterolemik (Gebhardt 1998) ve antioksidan (Gebhardt 1997; Llorach ve ark. 2002) özellikleri ile birçok hastalığı tedavi edici özellik bulunmaktadır.

Gebhardt (1997); Llorach ve ark. (2002) *Cynara scolymus*'un antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Llorach, R. ve ark. (2002) çalışılan ham, sarartılmış enginar ve sarartılmış enginarın suyundan hızlı, ekonomik ve uygulanabilir şekilde antioksidan fenolik bileşikler rapor etmişlerdir.

Kukic, J. ve ark. (2007) *Cynara cardunculus* L. ekstraktının standart antibiyotikler ile karşılaştırılabilir olduğunu rapor etmişlerdir.

Moglia (2008) in vitro çalışmalar enginar yaprağının proteinlerin, lipidlerin ve DNA' nın serbest radikal aracılı oksidatif hasardan korunmasında aktif olduğunu belirlemişlerdir.

4.3. Total Fenol İçeriklerinin Belirlenmesi

Çalışmamızda bitkinin yaprak ve çiçeklerinin metanol özütlerinin toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) metodu ile belirlenmiştir. Toplam fenol miktarı 760 nm de spektrofotometrik olarak tayin edildi (Singleton ve Rossi 1965).

Total fenolik içerik belirlemede standart olarak Gallik asit kullanılmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi çizilerek eş değer Gallik asit (GAE) miktarı µg/ml olarak hesaplanmıştır.

Yaprak ve çiçek özütlerinin 10 ve 20 mg/ml konsantrasyonlardaki total fenol içeriklerinin eş değer Gallik asit miktar sonuçları Çizelge 4.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Yaprak ve çiçek özütlerinin total fenol içerikleri

Total fenol bileşikleri (mg/ml)		
	Yaprak	Çiçek
10 mg/ml	4.08±0.1	4.89±0.04
20 mg/ml	5.37±0.03	7.15±0.2

Standart grafik denkleminde hesaplanan sonuçların Çizelge 4.7. de verilen değerlere göre yaprak özütünün 10 mg/ml konsantrasyonda 4.08±0.1, çiçek özütünün 4.89±0.04 mg/ml olduğu, 20 mg/ml konsantrasyonda yaprak özütünün 5.37±0.03, çiçek özütünün 7.15±0.2 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Her iki özütte de artan konsantrasyonla beraber total fenol içerik değerlerinde de artış gözlenmiştir.

Elde edilen total fenol içerik sonuçlarına göre hem yaprak hem de çiçek özütlerinin iyi derecede total fenol içerik içerebileceği belirlenmiştir. Aynı zamanda sonuçlara göre antioksidan aktivite ve total fenol içerik arasında bir ilişki olduğu görülmüştür (Falleh ve ark. 2008, Oke ve ark. 2008).

Çizelge 4.7. de ki tablodan da görüldüğü üzere, çalışılan bitki özütlerinin toplam fenolik bileşik içerikleri karşılaştırıldığında; çiçek özütlerinin yaprak özütlerine oranla daha yüksek total fenol içeriğine sahip olabileceği belirlenmiştir.

Meriçli, A.H.ve ark. (2006) çalışmalarının sonucunda *C.syriaca* bitkisinde altı tane flavonoid (apigenin, chrysoeriol, luteolin, apigenin 7-O-glucoside, chrysoeriol 7-O-glucoside, luteolin 7-O-glucoside), dört tane fenolik asit (caffeic acid, chlorogenic acid, 1,5-dicaffeoylquinic acid, cynarin) ve üç tane de sesquiterpene lakton (11,13-dihydroxy-8-desoxygrosheimin, 11,13-dihydrodeacylcynaropicrin, solstitialin) bileşiklerini tespit

etmişlerdir. *C. syriaca* bitkisinde flavonoid ve fenolik asit bileşenlerinin bulunması bu çalışmanın antioksidan ve total fenol içerik sonuçlarını destekler niteliktedir.

Kupicha (1975), ülkemizde drog olarak fazla kullanılmayan *Cynara scolymus* türünün bilhassa Avrupa’ da çeşitli ilaçların bileşenlerine girdiğini rapor etmiştir.

Meriçli, H.A. (1989) fenolik asitlerden en önemli bileşik olan fenolik asit, seskiterpen laktonlarından en fazla sinaropinler, flavonoidlerden luteolin ve glukozitlerin, ayrıca antoksiyonlar, seskiterpenler, streoidlerin *Cynara* yapraklarında bulunduğu rapor etmiştir.

King ve ark. (1999) enginar da (*Cynara scolymus*) biyosentetik habercisi klorojenik asit (5-caffeoylquinic asit) ile birlikte sinarin (1,3-dicaffeoylquinic asit) ve dikafeoylquinik asitler gibi fenolik asitler belirlemişlerdir.

King ve ark. (1999) enginar yapraklarından dikafeoylquinik asidin dört izomeri, kafeoliquinik asidin üç izomeri ve flavone luteolin 7-glucoside gibi major fenolik bileşikler belirlemişlerdir.

Wang, M. ve ark. (2003) enginardan yedi aktif fenolik bileşik elde etmişlerdir.

Yine yapılan önemli kimyasal araştırmalar da *C. cardunculus* yaprak ve tohumlarında steroller, flavonlar, sesquiterpene laktonazlar, saponinlerin bulunduğunu göstermiştir (Koubaa & Damak, 2003; Pinelli ve ark. 2007; Sevcikova, Glatz, Slanina, 2002; Valentao ark. 2002).

Moglia, A ve ark. (2008) enginar (*C. cardunculus* L. ve *C. scolymus*) yaprak özlerinin hepatoprotektant ve koleretik ajanlar olarak tıpta kullanıldığını bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile *C. syriaca* bitkisinden elde edilen çiçek ve yaprak özütlerinin metanol ekstraktlarının antimikrobiyal, mutajenite ve antioksidan aktiviteleri ilk kez bu tez çerçevesinde çalışılmıştır.

Çalışmanın ilk kısmında bitkinin yaprak ve çiçeklerin metanol özütlerinin elde edilmesinden sonra çeşitli patojenik mikroorganizmalar üzerinde bu özütlerin antimikrobiyal aktivitesine disk difüzyon metodu ile bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bitkinin yaprak ve çiçek özütlerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür.

Çalışmada, *C. syriaca* yaprak ekstraktlarının *Ames/salmonella* mikrozoom test sistemi ile mutajenik aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yaprak ekstraktlarının mutajenik etki göstermediği belirlenmiştir.

Çalışmanın bir diğer basamağında yaprak ve çiçek özütlerinin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. *C. syriaca*'nin güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu bu çalışmanın sonucunda bulunmuştur.

Bitkinin yaprak kısımlarının metanol özütlerinin 20 mg/ml konsantrasyonda DPPH' yi %88.9 inhibisyona uğrattığını, çiçeklerinin metanolik özütünün 20 mg/ml konsantrasyonda DPPH' yi %92.5 inhibisyona uğratarak standart antioksidanlar BHT ve BHA oranla çok daha yüksek bir derişimde inhibisyon oranı gösterdiği belirlenmiştir. Yaprak özütlerinin 20 mg/ ml konsantrasyonda bir diğer standart antibiyotik askorbik asite yakın bir derişim gösterdiği, çiçek özütlerinin ise daha yüksek bir derişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek antioksidan aktiviteyi % 92.5 inhibisyon ile bitkinin 20 mg/ml konsantrasyondaki çiçek özütünün gösterdiği belirlenmiştir.

Yaprak ve çiçek özütünün antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında çiçek özütünün yaprak özütüne oranla % inhibisyon oranının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışma ile, yaprak ve çiçek özütlerinin total fenol içeriği de belirlenmiştir. 10 ve 20 mg/ml konsantrasyondaki yaprak ve çiçek özütlerinin total fenol sonuçlarına bakıldığında en yüksek total fenol bileşik değerini 7.15 ± 0.2 mg/ml ile çiçek özütünün 20 mg/ ml konsantrasyonda gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda *C. syriaca* bitkisinin metanol özütüyle yapılmış olan antioksidan aktivite çalışmalarının sonuçları umut verici kabul edilmekle beraber bu aktivitelerden sorumlu fonksiyonel sekonder metabolit grup veya grupların neler olduğu üzerine net veriler ortaya koyamamaktadır. Bu nedenle hazırlanan ekstraktlardan çeşitli kromatografik (kolon, ince tabaka ve preparatif ince tabaka, HPLC) yöntemlerle antioksidan aktiviteye sahip kimyasal organik maddelerin izolasyonu, elde edilen maddelerin de çeşitli spektroskopik yöntemlerle (IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS, X-ışınları) yapılarının tayinin yapılabileceği önerilmektedir. Bitkinin içerdiği aktif bileşikler izole edilerek canlı sistemlerdeki antioksidan özellikleri araştırılabilir (Çöl 2007). Ayrıca bitkinin içerdiği aktif maddeler dikkate alınarak antioksidan aktivitesi ile birlikte başka tedavi edici özellikleri de araştırılabilir. Ayrıca yapılan literatür taramaları sonucunda *C. syriaca* bitkisiyle ilgili herhangi bir biyolojik aktivite veya kimyasal analiz sonucuna ulaşılamamış olması da bu durumun gerekliliğini desteklemektedir.

Günümüzde, geleceğe yönelik sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidan arayışları hızla sürmektedir. Bu tip çalışmalarla yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki özütleri belirlenerek, bunların gıda sistemlerindeki antioksidan etkilerinin incelenmesi ile çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığı sağlanabilmektedir.

Elde edilen bu sonuçlara göre, *C. syriaca*'nin ilaç endüstrisi ve gıda katkı endüstrisi için doğal antioksidanların kolay bulunur bir kaynağı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Acar, G. 2006. *Crocus* cinsine ait (*Crocus biflorus* miller, *Crocus baytopiorum* mathew, *Crocus flavus* weston subp. *dissectus* t. baytop & mathew) saf ekstraktların antimikrobiyal ve antioksidant etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 68.

Ames, B.N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science Direct*, 204 (8): 587-593.

Ames, B.N., McCann, J., Yamasaki, E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella/mamalian* microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31: 347-364.

A. Aliero And A. J. Afolayan. 2005. Antimicrobial activity of *Solanum tomentosum*. *African Journal of Biotechnology*, 5 (4): 369-37.

Al-Bayati, F.A., Sulamania, K.D. 2007. In vitro antimicrobial activity of *Salvadora persica* L. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq. *Turkey Journal Biology Tübitak*, 32 (6): 57-62.

Aladesanmi, A.J., Iwalewa, E.O., Adebajo, A.C., Akinkunmi, E.O., Taiwo, B.J., Olorunmola, F.O., Lamikanra. A. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of some Nigerian medicinal plants. *African Journal Tradinitional*, 4 (2): 173-184.

Adıgüzel, A., Sökmen, M., Özkan, H., Açar, G., Güllüce, M., Şahin, F. 2008. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of methanol and hexane extract of *Astragalus* species growing in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Turkey Journal Biology Tubitak*, 33: 65-71.

Abdoul-Latif, F., Edou, P., Eba, F., Mohamed, N., Ali, A., Djama, S., Obame, L.C., Bassolé, I., Dick, M. 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Jasminum sambac* from Djibouti. *African Journal of Plant Science*, 4 (3): 038-043.

Borcaklı, M. 1999. Gıda üretiminde antimikrobiyal maddelerin kullanımı ve mikrobiyolojik güvencenin sağlanması. *TMMOB Yayınları*, 16-21.

Başer, K. H. C.1995. Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. *Tıbbi Bitkiler. Bilim ve Teknik Dergisi*, 331: 67-79.

Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Research*,14:323-328.

Barkely, T.M., Brouillet, L., Strother, J.L. 2006. Flora of North America – *Asteraceae* in Flora of North America. Oxford University Press, 19, 20, 21: 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 70.

Bayramoğlu, M. M., Toksoy, D., Ően, G. 2009. Türkiye’de tıbbi bitki ticareti. II. Ormancılıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi, Trabzon, 89-98.

Blazevic, I., Radonic, A., Mastelic, J., Zekic, M., Skocibusic, M., Maravic, A. 2010. Glucosinolates, glycosidically bound volatiles and antimicrobial activity of *Aurinina sinuata* (*Brassicaceae*). Food Chemistry, 121: 1020–1028.

C. avdar, A. Sifil, T. amsarı. 1997. Reaktif oksijen partiklleri ve antioksidan savunma. Trk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, (3-4): 92-95

Candan, F., nl, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat H.A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (*Asteraceae*). Journal of Ethnopharmacology, 87: 215–220.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta, 80: 1144–1152.

l, . 2007. *Sideritis* TMOLEA P.H. Davis bitkisinin Diterpen bileşenlerinin izolasyonu ve yapılarının tayini. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniveritesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 102.

ll, Z. 2007. *Urtica pilulifera* L. bitkisinin antioksidan aktivitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniveritesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 74.

Davis, P. H. 1975. *Cynara* L. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, 5: 327-328.

Davis, P. H. 1965-1985. Compositae (Asteraceae). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, 5: 1-9.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T.A., Linssen, P.H. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal Science Food Agriculture, 77:140–146.

Disilvestro, R.A. 2001. Flavanoids as antioxidants. R.E.C. Wildman. Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. CRC Pres, 72, USA.

Dülger, B., Gnz, A. 2004. Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. Pakistan Journal of Biological Sciences, 7(9): 1559-1562.

Dülger, B., Gönüz, A. 2004. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(1): 104-107.

Edziri, H.L., Smach, M.A., Ammar, S., Mahjoub, M.A., Mighric, Z., Aounia, M., Mastouri M. 2011. Antioxidant, antibacterial, and antiviral effects of *Lactuca sativa* extracts. *Industrial Crops and Products*, 34: 1182– 1185.

Elik, M. ve ark. 2007. Mirisetin ve kuersetin bileşiklerinin antioksidan etkinliklerinin DFT yöntemiyle belirlenmesi. *Fen Bilimleri Dergisi*, 28(2): 53-65.

Erdoğan, U., Demirezer, Ö. 2001. Seskiterpen. [öğrenci.hacettepe.edu.tr/serkan02/kognozi/Seskiterpen.pdf]. Erişim Tarihi: 12.04.2011.

Erol, N.T., Sarı, F., Polat, G., Veliöğlu, S.Y. 2009. Antioxidant and antibacterial activities of various extracts and fractions of fresh tea leaves and green tea. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (4): 371-378.

Esmaili, M.A. ve Sonboli, A. 2009. Antioxidant, free radical scavenging activities of *Salvia bracyantha* and its protective effect against oxidative cardiac cell injury. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 846-853.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. 2008. Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (5): 372–379.

Güllüce, M., Sökmen, M., Şahin, F., Sökmen, A. 2004. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L) Druce ssp *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *Journal Science Food Agriculture*, 84:735–741.

Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, E. 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(60): 2016–2021.

Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Residence Commun*, 9: 1-32.

Hanen, F., Ksouri, R., Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. 2008. Effect of salinity on growth, leaf-phenolic content and antioxidant scavenging activity in *Cynara Cardunculus* L. *Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance*, 3:335-343.

Huang, D., Ou, B., L. Prior, L.R. J. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Agriculture Food Chemistry*, 53: 1841-1856.

Holopainen, M., Jahodar, Kauppien, V., Seppanen-Laoksa, T., Laokso, I. 1988. Antimicrobial activity of some finnish ericaceous plants. Finland, Acta Pharmaceutica Fennica, 97:197-202.

Kızıl, S., Haşimi, N., Tolan, V., Kılınç, E., Karataş, H. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Hyssop* (*Hyssopus Officinalis* L.) essential oil. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 38(3): 99-103.

Kızıl, S., Haşimi, N., Tolan, V., Kılınç, Yüksel, U. 2010. Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). Turkish Journal of Field Crops, 15(2): 148-153

Kırbağ, S., Zengin, F. 2005. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (Journal Agrical Science), 16(2): 77-80.

Kukic, J., Popovic, V., Petrovic', S., Mucaji, P., İric', A., Stojkovic', D., Sokovic', M. 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. Food Chemistry, 107: 861–868.

Kendir, G., Güvenç, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 30 (1): 49-80.

Llorach, R., Espiñan, C.J., Barbera N, T., Ferreres, F. 2002. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts as a potential source of health promoting antioxidant phenolics. Journal Agriculture Food Chemistry, 50 (12): 3458–3464.

Mahlke, J.D., Boligon, A.A., Machado, M.M., Spader,T.B., Alves, S.H. 2009. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of a crude extract and fractions from *Buddleja thyrsoides* Lam. leaves. Quim Nova, 32 (2): 277-288.

Maron, D., Ames, B.N. 1983. Revised methods for detecting the *Salmonella* mutagenicity test. Mutation Research. 113:173-215.

Mabberley, D.J. 1987. A portable dictionary of the higher plants. The Plant Book. Cambridge University Press, Cambridge. 706.

McCann, J.E., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N. 1975. Detection of carcinogenes as mutagens in the *Salmonella*/ Microsome Test: Assay of 300 Chemicals. Procudition National Academy Science, 72: 5135-5139.

Meriçli, H.A. 1989. *Cynara* (Enginar) türlerinin kimyasal bileşikleri ve farmakolojik etkileri. Pharmacia- JTPA, 29(63): 22-25.

Meriçli, A. H., Seyhan, G. V. 2006. Constituents of *Cynara syriaca* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 44 (9): 643 – 645.

Moglia, A., Lanteri, S., Comino, C., Acquadro, A., Vos, R., Beekwilder, J. 2008. Stress-induced biosynthesis of dicaffeoylquinic acids in globe artichoke. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 56: 8641–8649.

N. Balasundram, K. Sundram, S. Sammar. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses *Food Chemistry*, 191–203.

Pizzichini, M., Romani, A., Pizzichini, D., Russo, C., Pinelli, P. 2010. Process for producing refined nutraceutical extracts from artichoke waste and from other plants of the *Cynara* genus. 207-314.

Rice –Avans, C. A., Miller, N. J., Papanga, G. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Free Radical Biology Medicine*, 20: 331-332.

Ripa, F.A., Haque, M., Imran-Ul-Haque, Md. 2009. In vitro antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of flower extract of *Saccharum Spontaneum* Linn. *European Journal of Scientific Research* ISSN1450-216X, 30(3): 478-483.

Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L., Echeverrigaray. S. 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry*, 103: 823–828.

Scherer, R., Godoy, H. T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112: 654-658.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagent, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16:144–158.

Sugimura, T. 1988. Successful use of short-term test for academic purposes: Their use in identification of new environmental carcinogens with possible risk for humans. *Mutation Research*, 205: 33-39.

Oke, F., Aslim, B., Öztürk, Ş., Altundağ. Ş. 2008. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. *Food Chemistry*, 112: 874–879.

Ögütçü, H., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Şahin F., Barış, Ö., Gulluce, M. 2008. Bioactivities of the various extracts and essential oils of *Salvia limbata* C.A.Mey. and *Salvia sclarea* L. *Turkey Journal Biology*, 32: 181-192.

Özcan, B., Esen, M., Sangün, K.M., Coleri, A., Çalışkan, M. 2009. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. Journal of Environmental Biology, 31(5): 637-641.

Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. 2001. Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar. Genetik mühendisliği ve Uygulamaları, Bitki Biyoteknolojisi II. 20(2): 261-262.

Tanaka, M., Kuei, C.W., Nagashima, Y., Taguchi, T., 1998. Application of antioxidative maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products. Nippon Suisan Gakkaishil, 54:1409– 1414.

Tan, A. 1992. Türkiye’de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. Anadolu Journal of AARI, 2:50-64.

Tarakçı, S. 2006. Beykoz civarındaki tıbbi özellik taşıyan bitkiler üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 148.

Tolan, V. 2002. Bazı peptisitlerin ve Dicle nehri yüzey suyunun genotoksik potansiyelinin kısa zamanlı bakteriyel test sistemleri ile araştırılması. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 146.

Tolan, V., Toker, Z., Özdemir, S., Demirci, Ö., Otludil, B., Özen, H. Ç. 2009. Mutagenicity of *Hypericum lysimachioides* extracts. Pharmaceutical Biology, 47:11, 1035-1041.

Tolan, V. Kızıl, S. Özdemir, S. Demirci, Ö. 2009. Genotoxicity of essential oil of *Thymbra spicata* L. var *spicata* in *Salmonella*/microsome and SOS chromotest. Fresenius Environmental Bulletin, 18:5, 533-537 .

Wang, M., Simon, E.J., Aviles, F.I., He, K., Zheng, Q.Y., Tadmor, Y. 2003. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.) Journal Agricial Food Chemistry, 51: 601-608.

Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M.B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E., Marzouk, B. 2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. Food and Chemical Toxicology. 1-8.

Vinson, J.A., Yong, H., Xuchui, S., Zubik, L.1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46:3630–3634.

Vorderbank, H. 1949. The chemotherapy of experimental tuberculosis. Pharmazie, 4: 198-207.

Yaltırak, T., Aslim, B., Öztürk, S., Alli, H. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. Food and Chemical Toxicology, 47: 2052–205.

Yıldırım, İ., Duranoğlu, S., Koyuncu, İ. 2008. Peynir muhafazasında kullanılan bazı antimikrobiyal katkı maddeleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 701-704.

Zhu, X., Zhang, H., Lo, R. 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(24): 7272.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad-Soyad: Nurhüda KARAŞIN

Doğum Tarihi: 07.02.1985

Doğum Yeri: Mardin

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lise: Mardin Süper Lisesi, 2000-2004

Lisans: Kars-Kafkas Üniversitesi, 2005-2009

Yüksek Lisans: 2009-2011 Dicle Üniversitesi Biyoloji Bölümü- Moleküler Biyoloji

İŞ BİLGİLERİ

Dicle Üniversitesi AB Proje Ofisi Kariyer Danışma Merkezi, Kariyer Danışmanı