



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDEMİK *HELIOTROPİUM SAMOLİFOLİUM* BUNGE SUBSP.
ERZURUMİCUM (BORAGINACEAE) EKSTRAKTLARININ
ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE PLAZMİD DNA
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GALİP SAĞLAM

HAZİRAN

GALIP SAĞLAM	BİYOLOJİ ANABİLİM DALI	HAZİRAN 2019
---------------------	-------------------------------	---------------------

**ENDEMİK *HELIOTROPİUM SAMOLİFOLİUM* BUNGE SUBSP. *ERZURUMİCUM*
(BORAGINACEAE) EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL
VE PLAZMİD DNA AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Galip SAĞLAM

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2019

Galip SAĞLAM tarafından hazırlanan “**Endemik *Heliotropium samolifolium* Bunge subsp. *erzurumicum* (Boraginaceae) ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal ve plazmid DNA aktivitelerinin belirlenmesi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Başkan : Prof. Dr. Vahit KONAR

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Üye : Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ahi Evran Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: .../.../...

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

.....

Doç. Dr. Meryem EVECEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Büyük bir okyanus olan biyoloji biliminde, bir damla misali

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

(Galip Sağlam)

(Tarih)

ENDEMİK *HELIOTROPİUM SAMOLİFOLİUM* BUNGE SUBSP. *ERZURUMİCUM*
(BORAGINACEAE) EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE
PLAZMİD DNA AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Galip SAĞLAM

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2019

ÖZET

Bu çalışmada, endemik *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ve toprakaltı kısımlarının antimikrobiyal, antioksidan ve plazmit DNA aktiviteleri belirlendi. Bu alttür otsu, tek yıllık, 10-50 cm boyunda, yoğun villos tüylü, çiçek durumu 10-50 sapsız çiçeklidir. Ülkemizde sadece Olur (Erzurum) çevresinde yayılış göstermektedir ve halk arasında "Erzurum bambulu" olarak bilinmektedir. *Heliotropium* L. türleri pirolezidin alkoloitleri, terpenoitler, saponinler, fenoller, flavonoidler, tanenler ve steroidler gibi kimyasal maddeleri içermektedir. Bu türler antibakteriyal, anti-enflamatuvar, yara iyileştirici, antiviral, antitümör, sitotoksik ve fitotoksik özelliklerinden dolayı, pekçok hastalığın tedavisinde çok eskiden beri kullanılmaktadır.

Bitki ekstraktların antimikrobiyal aktivite testleri 4 farklı standart suş (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve bir maya mantarı (*Candida albicans* ATCC 10231) ile MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) metodu kullanılarak yapılmıştır. Antioksidan aktivite çalışmaları için DPPH ve toplam fenolik madde miktarı hesaplama metodları uygulanmıştır. Ekstraktların DNA hasarı üzerine etkileri pBR322 plazmit DNA kullanılarak araştırılmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre, *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı etanol ekstraktlarının daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler üzerinde aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde, serbest radikal (DPPH) giderme aktivitesi bakımından en yüksek aktivitenin topraküstü etanol+su, kloroform ve toprakaltı etanol ekstraktlarında görülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği bakımından en yüksek aktiviteye topraküstü, toprakaltı kloroform ve toprakaltı etanol+su ile hazırlanan ekstraktlarda rastlanmıştır. DNA'nın açık halkasal formu üzerinde toprakaltı su ve kloroform ekstraktlarının daha güçlü bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Antioksidan, antimikrobiyal ve DNA'nın yapısını tahrip etmesi bakımından alttürün toprakaltı ekstraktlarının topraküstü ekstraktlarına oranla daha etkili olduğu görülmüştür. Bu tez çalışması sonucunda, bu alttürden elde edilen ekstraktların ilaç sektöründe kullanılabileceği önerilmiştir.

Sayfa Adedi : 86
Anahtar Kelimeler : Endemik, *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*
Antimikrobiyal, Antioksidan, Plazmit DNA
Danışman : Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, AND PLASMID DNA
ACTIVITIES OF ENDEMIC *HELIOTROPIUM SAMOLIFOLIUM* BUNGE SUBSP.
ERZURUMICUM (BORAGINACEAE) EXTRACTS

(M. Sc. Thesis)

Galip SAĞLAM

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2019

ABSTRACT

In this study, antimicrobial, antioxidant and plasmid DNA properties of above-below ground parts of *Heliotropium samolifolium* Bunge subsp. *erzurumicum* were determined. This subspecies is herbaceous, annual, 10-50 cm high, dense villous hairy, inflorescence with 10-50 sessile flowered. It distributes only in the vicinity of Olur (Erzurum) in Turkey and is known as “Erzurum heliotrope” by the people. *Heliotropium* L. species include chemical matters such as; pyrrolizidine alkaloids, terpenoids, saponins, phenols, flavonoids, tannis, and steroids. These species, due to the antimicrobial, anti-inflammatory, wound healing, antiviral, antitumor, cytotoxicity and phytotoxicity properties, have been using for the treatment of many diseases for a long time.

The antimicrobial activity tests of plant the extracts were performed using 4 different standard strains (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and a yeast (*Candida albicans* ATCC 10231) and MIC (Minimum Inhibition Concentration) method. For the antioxidant activity studies, DPPH ve total phenolic content calculation methods were applied. The effects on DNA damage of extracts were investigated using pBR322 plasmid DNA.

Related to the findings of our research, below-ground ethanol extracts of *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum* has stronger antimicrobial activity and it was seen that it has an effect both on the Gram positive and Gram negative bacteria. When antioxidant activity results of the extracts investigated, the highest activity was seen in above-ground ethanol+ water, chloroform and below-ground ethanol extracts as free radical scavenging activity. Related to the total phenolic matter content, the highest activity was observed in the extracts prepared above-ground, below-ground chloroform and below-ground ethanol+ water. It was seen that below-ground water and chloroform extracts had a gretaer effect on the open spiral form of DNA. It was seen that below-ground extracts were more effective than the above-ground extracts of this subspecies as they are antioxidant and antimicrobial and they destroy the structure of DNA. At the end of this research, the extracts obtained from this subspecies can be used in medicine industry.

Page Number : 86
Key Words : Endemic *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*,
Antimicrobial, Antioxidant, Plasmid DNA
Supervisor : Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez konusunu birlikte belirlediğimiz, çalışmalarım süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen, kişisel birikim ve becerileri ile her daim tez çalışmalarına katkı sağlayan Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim. Bitkinin toplanması aşamasında göstermiş olduğu katkıdan dolayı Prof. Dr. Şevket Kandemir'e teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Melek GÜL, Dr. Öğretim Üyesi Önder İdil, araştırma görevlileri Umut Çelikoğlu ve Emine Çelikoğluna en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez dönemi boyunca benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevdiğim eşime, aileme destek ve yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürler ederim. FMB-BAP 17-0286 nolu proje ile tez çalışmalarımı destekleyen Amasya Üniversitesi BAP Birim Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
HARİTALAR DİZİNİ	xv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. <i>Heliotropium samolifolium</i> Bunge subsp. <i>erzurumicum</i> Dönmez'un Sistematiği Durumu	6
2.2. Boraginaceae (Hodangiller) Familyasının Genel Özellikleri	6
2.3. <i>Heliotropium</i> L. Cinsinin Genel Özellikleri	6
2.4. <i>Heliotropium samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un Genel Özellikleri	7
2.5. Serbest Radikaller	9
2.6. Antioksidanlar.....	11
2.6.1. Antioksidan kapasite ölçüm metotları	12
2.7. Antimikrobiyal Maddeler.....	13

2.7.1. Antimikrobiyal etki tayin yöntemleri	14
2.8. Plazmit DNA.....	17
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Kullanılan bitki	22
3.1.2. Kullanılan bakteriler	22
3.1.3. Kullanılan kimyasal madde ve ekipmanlar	22
3.2. Metot	24
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması.....	24
3.2.2. DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesinin belirlenmesi	26
3.2.3. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	27
3.2.4. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliğinin belirlenmesi.....	28
3.2.5. Bitki ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisinin belirlenmesi	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1. Bulgular.....	30
4.1.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi bulguları	30
4.1.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Bulguları	35
4.1.3. Antimikrobiyal bulgular	37
4.1.4. Bitki ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisi	39
4.2. Tartışma	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bazı antioksidanların bulunduğu bitkiler.....	12
Çizelge 2.2. Bazı antioksidan vitaminlerin bulunduğu gıda kaynakları	12
Çizelge 3.1. Bilimsel araştırmamızda kullanılan cihazlar ve markaları	24
Çizelge 4.1. Bitki Ekstraktlarının IC ₅₀ (mg/mL) değerleri.....	35
Çizelge 4.2. Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi için elde edilen Gallik Asit Konsantrasyonları ve Absorbans Değerleri	36
Çizelge 4.3. Topraküstü ve toprakaltı bitki ekstraktlarına ait Gallik asit eğdeğeri fenolik madde içeriği (mg/mL).....	37
Çizelge 4.4. <i>H. samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un topraküstü ve toprakaltı ekstraktların MİK değerleri (µg/ml).....	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Heliotropium samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un herbaryum örneği.....	8
Resim 3.1. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarı .	23
Resim 3.2. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarının iç görünümü	23
Resim 3.3. Bitki ekstraksiyonu için hazırlanmış Soklet düzeneği.....	25
Resim 3.4. Bitki ekstraktlarındaki organik çözücünün uçurulmasında kullanılan Rotary evaporatör (Döner buharlaştırıcı)	25
Resim 3.5. Bitki ekstraktlarının cam şişelerde muhafaza edilmesi	26
Resim 3.6. Toplam madde miktarı deneyinde, Na ₂ CO ₃ eklendikten sonraki deney tüplerinde oluşan görüntü	27
Resim 3.7. Petri kaplarındaki besi yerlerindeki Gram pozitif bakteriler (Topraküstü ve toprakaltı ekstrelerindeki <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i>).....	28
Resim 4.1. Petri kaplarındaki besi yerlerindeki Gram negatif bakteriler (Topraküstü ve toprakaltı ekstrelerindeki <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Elektron kazanmış serbest radikal formu	9
Şekil 2.2. Oksidatif stresin oluşumu	9
Şekil 2.3. Serbest radikallerin hücre üzerinde zarar verdiği bölgeler	10
Şekil 2.4. Disk difüzyon testi	15
Şekil 2.5. E-testine ait şekiller.	16
Şekil 2.6. Plazmit DNA'ya ait elektron mikroskobu görüntüleri	17
Şekil 2.7. Plazmit DNA'ya ait elektron mikroskobunda süpersarmal yoğunluğun artması.	18
Şekil 2.8. Agaroz jelde farklı formlardaki plazmit DNA'nın görüntüleri	19
Şekil 2.9. Agaroz jel hazırlama işlemlerinin sıra ile gösterimi. 1,2- Jel tankının hazır hale getirilmesi, 3-Jelin tanka dökülme işlemi, 4-Tarağın yerleştirilme işlemi, 5-Jel tankını yürütme kabına yerleştirerek ve voltajını ayarlama işleminden sonra elektroforez işlemine başlanması.	20
Şekil 2.10. Agaroz jel tankına ait görüntü (yukarıda), agaroz jel sistemi (aşağıda).	21
Şekil 4.1. Hekzan ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi (TÜ: topraküstü, TA: toprakaltı).....	30
Şekil 4.2. Kloroform ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi	31
Şekil 4.3. Etilasetat ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi.....	31
Şekil 4.4. Etanol ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi.....	32
Şekil 4.5. Etanol + Su ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi.....	32
Şekil 4.6. Su ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi.	33
Şekil 4.7. <i>H. samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un topraküstü ekstraktlarının tümünün DPPH radikali yakalama aktivitesi	33
Şekil 4.8. <i>H. samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un toprakaltı ekstraktlarının tümünün DPPH radikali yakalama aktivitesi	34

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.9. Gallik asit standart grafiği	36
Şekil 4.10. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüleri (1 ve 2: kontrol grubu, 3: toprakaltı su, 4: toprakaltı etilasetat, 5: toprakaltı etanol; 6: topraküstü su).....	40
Şekil 4.11. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüleri (1 ve 2: kontrol grubu; 3: topraküstü etanol; 4: topraküstü etilasetat; 5: topraküstü etanol+su, 6: toprakaltı etanol+su; 7: toprakaltı hekzan).....	40
Şekil 4.12. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüsü (1 grubu; 3: toprakaltı kloroform; 4: toprakaltı hekzan; 5: topraküstü kloroform; 6: topraküstü ve 2: kontrol hekzan).....	41

HARİTALAR DİZİNİ

Harita

Sayfa

Harita 2.1. <i>Heliotropium samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i> 'un Türkiye'deki yayılış alanı ●: <i>Heliotropium samolifolium</i> subsp. <i>erzurumicum</i>	8
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler	Açıklama
HO[•]	Hidroksil radikali
HO₂[•]	Hidroperoksi radikali
H₂O₂	Hidrojen peroksit
O[•]	Singlet oksijen
O₂[•]	Süperoksit radikali
Na₂CO₃	Sodyum Karbonat
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
m	Metre
bç	Baz çifti
kbç	Kilo baz çifti
CFU/ml	Mililitre Başına Koloni Oluşturan Birim
IC₅₀	Etkin konsantrasyon

Kısaltmalar	Açıklama
DMSO	Dimetil sülfoksit
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
NB	Nutrient broth
°C	Celcius
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleikasit
RNA	Ribonükleikasit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Redükte glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
MDA	Malondialdehit
pH	Asitlik derecesi
HAT	Hidrojen Atom Transferi
ET	Elektron transferi
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
SOD	Süperoksitdismutaz
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
Abs	Absorbans
Subsp.	Alttür

1. GİRİŞ

Türkiye Avrupa kıtasında biyoçeşitlilik bakımından dikkate değer zengin bir floraya ev sahipliği yapmaktadır. Bu zengin flora bünyesinde çok sayıda tıbbi ve endemik bitkileri barındırmaktadır. Ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren 12.000'den fazla bitki taksonunun yaklaşık 3750'si endemik taksonlardan oluşmaktadır [1]. Türkiye'deki tıbbi bitki sayısının 500 civarında olduğu tahmin edilmekte olup bunlardan 200 bitki türünün ihraç potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir [2, 3]. Türkiye'de tıbbi bitkiler yüzlerce yıldır halk tarafından çay, baharat, boya, süs eşyası, koku, tat endüstrisi, parfüm, temizlik, gıda maddesi ve kozmetik gibi pek çok alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [4, 5].

Bitkilerin değişik kısımlarının tedavi amacıyla kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Dünya'da pek çok insan tarih boyunca birçok hastalığın (kalp, böbrek, mide, safra kesesi karaciğer rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, uyku bozukluğu, şeker hastalığı, romatizmal ağrılarda ve stres) tedavi edilmesinde tıbbi bitkileri kullanmışlardır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, dünyada yaklaşık 4 milyardan fazla insan sağlıkla ilgili problemlerini daha çok bitkilerden elde edilen droglarla gidermeye çalışmaktadır [6]. Bitkilerin ucuz ve kolay tedavi olanaklarının olması, etkilerini çok geniş alanlarda göstermeleri, sentetik ilaçların insanlarda daha büyük tehlikeler oluşturması, daha kolay ulaşılabilir durumlarda olmaları ve bakterilerin sentetik ilaçlara karşı daha kolay direnç gösterebilmeleri gibi sebeplerden dolayı tıbbi bitkilerin önemi gün geçtikçe artmaktadır.

Bitkilerin gelişim ve büyümeleri sürecinde işlevsel özelliği bulunmayan çok sayıda ve çeşitte organik moleküller üretilmektedir. Bitki kaynaklı organik maddeler primer ve sekonder metabolitler olarak iki şekilde gruplandırılmaktadır. Primer metabolitler esas metabolitler olup, doğada çok olarak bulunan maddelerdir. Örneğin bitkinin rizom, tohum, sap, kök, yumru ve meyve gibi organlarında bulunan karbonhidrat, yağ, protein, nükleik asit, vitamin ve mineraller primer metabolitleri oluşturmaktadır. Bitkilerde temel yapı ve besin depo maddeleri olarak primer metabolitlerin haricinde bir de bitkinin yaşamı için olmazsa olmaz ve miktar olarak ölçülemeyecek seviyede küçük molekül yapıları sekonder (ikincil) metabolitler de bulunmaktadır. Sekonder metabolitler tuzluluk, kuraklık, UV ışınları gibi farklı çevresel etkilerin meydana getirdiği stres ortamına karşı koruma, herbivorlara (böcek, sürüngen vb.), mikroorganizmalara karşı koruma ve bazı ekolojik faktörler (polinasyon ve tohum yayılımını gerçekleştirmek için hayvan ve diğer dağıtıcıları kendine çekme) vb. işlevleri bulunmaktadır. Sekonder metabolitler genel olarak

antivirütük, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan olarak etki göstermektedirler. Bu metabolitler bitkilerde ortaya koyduğu işlevsel etkisinin benzerlerini hayvan ve insanların metabolizmalarında da oluşturmaktadır. Primer metabolitler bütün bitkilerin yapısında bulunmakla birlikte, sekonder metabolitlere bazı bitkilerin yapısında rastlanmaktadır. Bitkiler çok sayıda değişik yapılarda sekonder metabolitleri üretmektedirler. Bir bitkinin biyolojik etkisi, içeriğinde bulunan sekonder metabolitlerden dolayı meydana gelmektedir [7, 8]. Sekonder metabolitler, pek çok maddeyi içermesinden dolayı önemli bir sınıf olup içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, yaptıkları fonksiyonlar ve görevler sebebi ile değerlidirler. Fenolik bileşikler, antimikrobiyal ve antikanserojen etki oluşturmakta buna bağlı olarak insan sağlığı açısından pozitif etkisi olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşikler, serbest radikallerin nükleik asitlere, somatik hücre ve bağışıklıklara karşı farklı zararlara sebep olan maddeleri kendine bağlama özelliğinden dolayı çok iyi antioksidan aktivite oluşturma özelliği bilinmektedir [9, 10].

Kimya endüstrisinin gelişimi ile birlikte çeşitli alanlarda kullanılmakta olan pestisitler, herbisit, petrokimya ürünleri, çözücüler ve ilaçlar gibi kimyasal ürünlerin üretilmesi, çevre kirliliği, sanayi atıkları, UV ışınları, ozon kozmik ışınlar, virüsler, sigara dumanı, modern gıdalar, alkol, stres, yüksek şeker ve yoğun ekzersiz vücutta oksijen kullanımını arttırmaktadır. Bu durumda insan vücudunun hücre sel yapı ve vücut bağışıklık sistemine saldırı yapan ve insanlardaki kanser, kalp hastalıkları ve insan vücudunun hızlı yaşlanması vb. zararlı etki meydana getiren serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır [11].

Gün boyunca vücudumuzda teneffüs ettiğimiz kirli hava, bozulmuş gıdalar, katkı içeren maddeler, şursuz beslenme alışkanlıkları ve vücudun hareketsizliği sonucunda “serbest radikal” olarak isimlendirilen maddeler oluşmaktadır. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom, iyon ve moleküllerdir. Bunlar oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROS), nitrojen kaynaklı olanlara da reaktif nitrojen türleri (RNS) adı verilir [12]. Biyolojik sistemlerde önemli olan serbest radikaller oksijen türevli olanlardır. Kimyasal reaksiyonlar sonucunda serbest kalan oksijen atomları vücutta gezinmekte, hidrojen atomlarını kopartarak dokuların zarar görmesine neden olmaktadır. Serbest radikallerin ilk hedefi hücre ve bağışıklık sistemini etkisiz hale getirmektir [13]. Özellikle DNA'nın tahrip edilmesi, protein ve karbonhidratların oksidasyonuna sebep olan hücre sel yaşlanma, kanser ve hatta hücre ölümlerine neden olmaktadır [14, 15]. Vücudumuzda serbest radikallerin zarar ve tahribatını durduran, birçok hastalık ve erken yaşlılık gibi olumsuzluklara sebep olan

reaksiyonları engelleyen moleküllere “antioksidan”, vücut içerisindeki görevli savunma sistemine “antioksidan savunma sistemi” ismi verilir [13]. İnsan vücudunda bulunan antioksidan savunma sistemi elemanlarını vücut tarafından üretilmediği gibi vücut dışarıdan gıdalarla hazır olarak da alabilir. Antioksidanlar, hücrel faaliyetler sonucunda oluşan toksik maddelerden olan serbest radikalleri süpürücü etki yaparak bunların zararlı etkilerinden hücreyi korurlar. Dolayısıyla savunma sisteminin etkisini güçlendirerek hastalık oluşumunu azaltırlar [16-18].

Antioksidanlar en fazla yeşil ve kırmızı yapraklara sahip bitkilerde olduğu bilinmektedir. Aynı şekilde A, C ve E vitaminlerinin doğal antioksidanlar olduğu rapor edilmiştir [13]. *Lycopersicon esculantum* (domates), *Prunus armeniaca* (kayısı), *Malus domestica* (elma), *Camellia sinensis* (çay), *Vitis vinifera* (üzüm), *Allium sativum* (sarımsak), *Prunus avium* (kiraz), *Allium cepa* (soğan), *Ficus carica* L. (incir) doğal antioksidan içeren bazı bitkilerdir [19].

Bitkilerin büyük bir kısmının virüs, bakteri ve mantarlar üzerine antimikrobiyal etkilerinin olduğu yapılan bilimsel çalışmalarda belirlenmiştir [20-23]. Bu sebepten dolayı bitkiler özellikle tıbbi bitkiler, mikroorganizma kaynaklı hastalıkların tedavisinde uzun yıllar umut kaynağı olmuşlardır. Bitki içerisinde bulunan bu maddeler, distilasyon ve ekstraksiyon yapılarak elde edilmektedir. Bugünün teknolojisi ile üretilen farmakolojik ilaçlardaki etkili maddelerin minimum %25’i bitki kaynaklı olarak üretilmektedir. Doğada bulunan bitkilerdeki tohum, yaprak, gövde ve köklerdeki maddelerden, pek çok mikroorganizmada üremeyi durdurucu bileşikler izole edilmektedir. Yapay olarak üretilmekte olan pek çok ilacın maddelerinin bitki kaynaklı olarak elde edilen maddelerin yapısal özelliklerine benzediği görülmüştür [24-32].

Bilim adamları bitkilerin antibakteriyal aktivitelerinin özellikle flavonoidler, tanenler ve alkaloitlerin varlığından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [33]. Cowan [1999] antimikrobiyal özellik gösteren sekonder metabolitleri fitokimyasal alkaloitler, terpenoidler-uçucu yağlar, fenolikler, lektinler-polipeptitler ve poliasetilenler olarak gruplamıştır [34]. Okunade ve Elvin-Levis [2004] bu metabolitlerin alkaloitler, flavonlar, kumarinler, kalkanlar, terpenoidler, kromonlar, saponinler, fenoller, polifenoller, steroidler ve peptitlerin olduğunu belirtmişlerdir [35]. Antimikrobiyal mekanizmanın mikroorganizmaların dış membranda bulunan proteinleri ve iyon kanallarını etkileyerek aktivite gösterdiği görülmüştür. Bazı alkaloitlerin bazı bakteriler (*Staphylococcus aureus*,

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* ve *Bacillus subtilis*) üzerinde geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [36]. Fenoller bitkisel antimikrobiyal ajanların en kalabalık grubunu oluşturduğu Karou ve ark. [2007] tarafından ifade edilmektedir [37]. Bu maddeler mikroorganizmaların enzim aktivitelerini inhibe ederek etkilerini göstermektedirler. Kinonlar etkilerini mikroorganizmaların hücre duvarındaki polipeptitler ve zarlardaki enzimler üzerinde yaparlar [38]. Polifenollerin antibakteriyel aktivite özelliklerinin olduğu bulunmuştur [39]. Taninlerin hücre üzerindeki sitotoksik etkisi oldukça güçlüdür. Bu toksik etkiyi proteinlerle yaptıkları kompleks bileşikler sayesinde yaparlar. Terpenler ve terpenoitler bakteriler, virüsler, funguslar ve protozoalara karşı aktivite göstermektedir [40]. Flavonoitler Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde farklı etkilere sahiptirler. Bu durum Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapılarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Pek çok araştırmada, *Heliotropium* türlerinin (özellikle topraküstü kısımları) saponinler, tanen, steroidler, terpenoitler, flavanoitler, fenoller, pirolizidin alkoloitleri gibi değişik sekonder metabolitleri içerdikleri belirlenmiştir [41-45]. Özellikle pirolizidin alkoloitleri bu cinsin başlıca sekonder metabolitlerindedir. Bu alkoloitler aşırı toksiktirler ve dünyanın değişik ülkelerinde bu bitkilerin kaza sonucu tüketilmesi ile insan ölümleri meydana gelmektedir. Türlerden elde edilen sekonder metabolitler antimikrobiyal, antitümör, antiviral, anti-enflamatuvar, yara iyileştirici, sitotoksik ve fitotoksik etkilere sahip oldukları için eskiden beri halk hekimliğinde enflamasyon, gut, romatizma, cilt hastalıkları (siğil ve döküntü), menstrual bozuklukları, ulser, ateşli hastalıklarda, göz hastalıklarında ve zehirli hayvan ısırıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır [45-49].

Özellikle *H. indicum* L.'un metanol ve etanol ekstraktları *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın sebep olduğu yaraların iyileştirilmesinde önemli bir özelliğe sahiptir [47]. Değişik sekonder metabolitler arasında özellikle pirolizidin alkoloitlerinin, saponinlerin, taninlerin ve triterpenoitlerin *Heliotropium* türlerinde antimikrobiyal aktivitelerden sorumlu olduğu bulunmuştur [50, 51]. Özellikle *H. filifolium* ve *H. sclerocarpum* güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çünkü bu iki tür aşırı çevre koşullarında yaşamaktadır ve içerdikleri değişik sekonder metabolitler onların savunma mekanizmalarında önemli rol oynadığı bildirilmiştir [52].

Pirolizidin alkaloitleri önemli farmakolojik, biyolojik ve kemotaksonomik özelliklere sahiptir. Bu metabolitler, özellikle Boraginaceae familyasına ait cinslerden çok çeşitli bitkilerden izole edilmiştir. *Heliotropium* türlerinden 200'den fazla çeşit pirolizidin alkaloitleri tespit edilmiştir. Bunun için bazı araştırmacılar *Heliotropium* türlerinin pirolizidin alkaloitlerinden dolayı doğal ilaçlar için iyi bir kaynak oluşturacaklarını rapor etmişlerdir [53-55]. Bu alkaloitler insanlarda ve çiftlik hayvanlarında zehirlenmelere sebep olmaktadır [56]. Ayrıca DNA'nın yapısını bozarak insanlarda ve herbivorlarda mutasyonlar hatta kanserler (özellikle böbrek ve karaciğer) oluşturmaktadırlar.

Bu tez çalışmasında, ülkemizde sınırlı yayılışa sahip olan endemik, *Heliotropium samolifolium* Bunge subsp. *erzurumicum* alttürünün topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal ve plazmit DNA aktivitesi belirlenerek karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu alttür bilim dünyasında yeni olduğu için halk arasında ve diğer alanlarda kimyasal yapısı tanınmamaktadır. Bu çalışma ile bu bitkinin hem alternatif hemde tamamlayıcı tıp alanında daha bilinçli bir şekilde kullanımı hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Heliotropium samolifolium* Bunge subsp. *erzurumicum* Dönmez'un Sistemantik Durumu

Alem (Kingdom): Plantae

Bölüm (Division): Magnoliophyta

Sınıf (Class): Magnoliopsida

Takım (Order): Lamiales

Familya (Family): Boraginaceae

Cins (Genus): *Heliotropium*

Tür (Species): *Heliotropium samolifolium*

Alttür (Subspecies): *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*

2.2. Boraginaceae (Hodangiller) Familyasının Genel Özellikleri

Boraginaceae familyası dünyada 154 cins ve 2500 tür, ülkemizde 34 cins, 325 tür, 16 alttür, 16 varyete olmak üzere toplam 357 takson içermektedir. Kuzey ve Güney Yarımküre'nin ılıman ve subtropikal alanlarında yayılış göstermektedir [57, 58]. Familyanın bazı türleri süs bitkisi, baharat ve boya maddesi elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu familya ülkemizdeki 10 büyük familya içerisinde yer almaktadır. Boraginaceae familyası otsu, çalı ve ağaç formunda sert tüylü bitkileri içerir. Yapraklar alternat dizilişli, nadiren karşılıklı, basit ve stipulsuz; çiçekler skorpoidal kimoza, ışınsal veya nadiren zigomorf simetrik; sepaller 5, serbest nadiren tabanda bitişik; petaller 5 ve birleşik; stamenler 5 ve petallere bağlı; ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 lokuluslu (nadiren 2); plasentalanman eksensel; stillus ginobazik; meyva şizokarp veya nuks nadiren drupa [59].

2.3. *Heliotropium* L. Cinsinin Genel Özellikleri

Heliotropium L. cinsi Boraginaceae familyasının büyük cinslerinden birisidir ve ülkemizde 17 tür ile temsil edilmektedir [60]. Türkiye'deki türlerden sadece *H. curassavicum* kültüre alınmıştır ve diğer 16 tür ülkemizde doğal yayılışa sahiptir. Ülkemizdeki doğal yayılışlı türlerden 4 tanesi (*H. ferrugineogriseum* Nabelek, *H. haussknechtii* Bunge, *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* ve *H. thermophilum* Kit Tan, A. Çelik ve Gemicici) endemiktir [60]. *Heliotropium* cinsinin dünyada 250-300 türü bulunmaktadır. Bu türler

tropikal ve subtropikal bölgelerde, yarı-kurak ve çok sıcak alanlarda yayılış göstermektedir [59-61]. Bu cins otsu ve nadiren yarı çalimsı çok veya tek yıllık türleri içerir. Tek yıllık türler dağlarda, çok yıllık türler ise genellikle çöllerde ve çok kurak alanlarda yayılış göstermektedir. Yapraklar alternat, bariz damarlı, tüylü, kaliks parçalı, stamenler korolla tüpünün içerisinde ve boğaz pulları genellikle sahip değil. *Heliotropium* cinsi akrepsi çiçek durumları ve yüksek derecede değişikliğe uğramış stigma başları ile familyanın diğer cinslerinden kolaylıkla ayırt edilmektedir. Türler yılın çok sıcak aylarında çiçek açarlar.

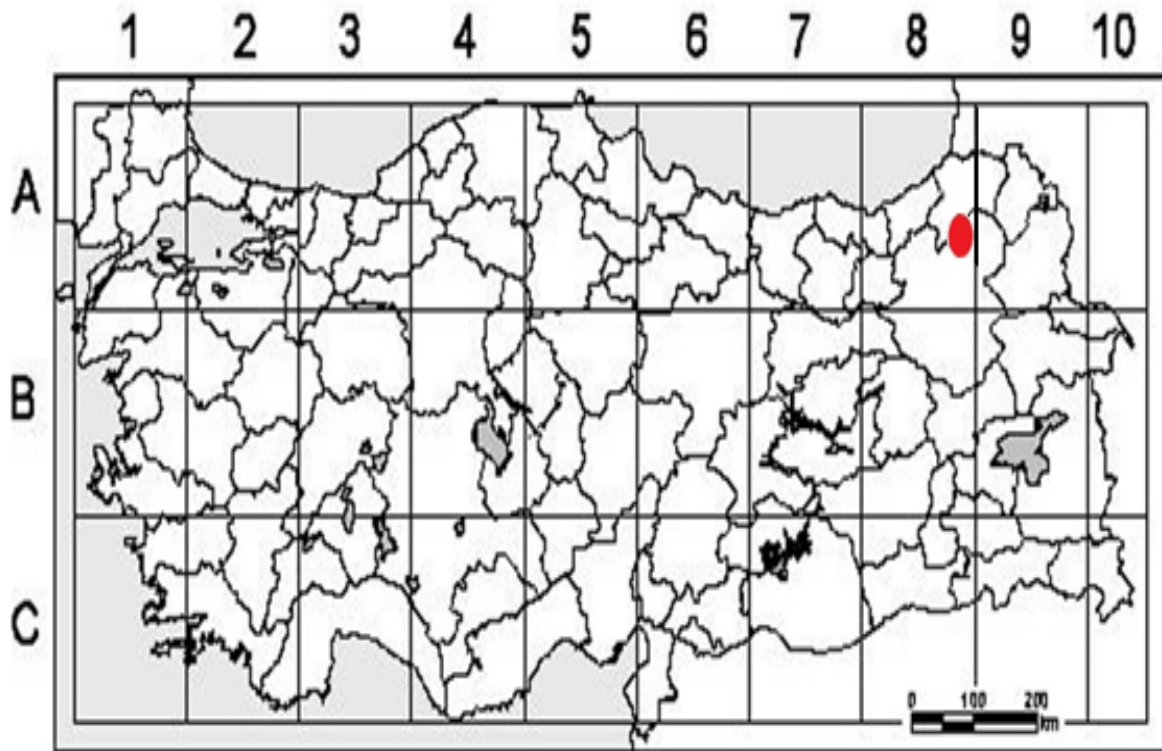
2.4. *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un Genel Özellikleri

Heliotropium samolifolium subsp. *erzurumicum* 10-50 cm boyunda, otsu tek yıllık bir bitki olup Temmuz–Ağustos aylarında çiçek açar. Gövde dallı ve yoğun villos tüylü; yapraklar 5-40 x 2-28 mm, tüylü; (Resim 2.1) çiçek durumu kimoza yapıda olup 10-50 sapsız çiçekli; kaliks 2-3 x 0,3-1 mm; korolla 3-7 mm; anter 1-2 mm; stigma 0,9-1,7 mm; stillus 0,2-0,8 mm; nutletler 0,9-1,5 x 0,7-1 mm [62]. Alttür halk arasında “Erzurum bambulu” olarak bilinir. Bitki genellikle metamorfik kayalıklarda 900-930 m yüksekliklerde yayılış gösterir. Ülkemizde sadece Yusufeli çevresinde (Artvin) yayılış gösterdiğinden Türkiye'nin sınırlı yayılış alanına sahip olan endemik bitkileri arasında yer almaktadır (Harita 2.1) [60, 62]. Araştırma türümüz olan *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* Dönmez tarafından 2008 yılında bilim dünyasına kazandırılmış yeni bir taksondur. Bu alttürün kimyasal içerikleri ve biyolojik aktiviteleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sadece Kandemir ve ark [2019] tarafından alttürün ayrıntılı olarak anatomik özellikleri, vejetatif ve generatif organlardaki tüy tipleri belirlenmiştir [63].

H. samolifolium türünün subsp. *erzurumicum* ve subsp. *samolifolium* olmak üzere iki alttürü vardır. Alttürler interkalar loblarının, nutlet karakterlerinin ve yayılış alanlarının farklı olması ile birbirinden ayrılmaktadır. Subsp. *erzurumicum* da interkalar loplara topuzlu, nutletler tüylü ve sadece Yusufeli çevresinde yayılış göstermektedir. Subsp. *samolifolium*' da ise interkalar loplara keskin sivri uçlu, nutletler tüysüz ve İran'da yaygın bir yayılışa sahiptir [62].



Resim 2.1. *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un herbarium örneği

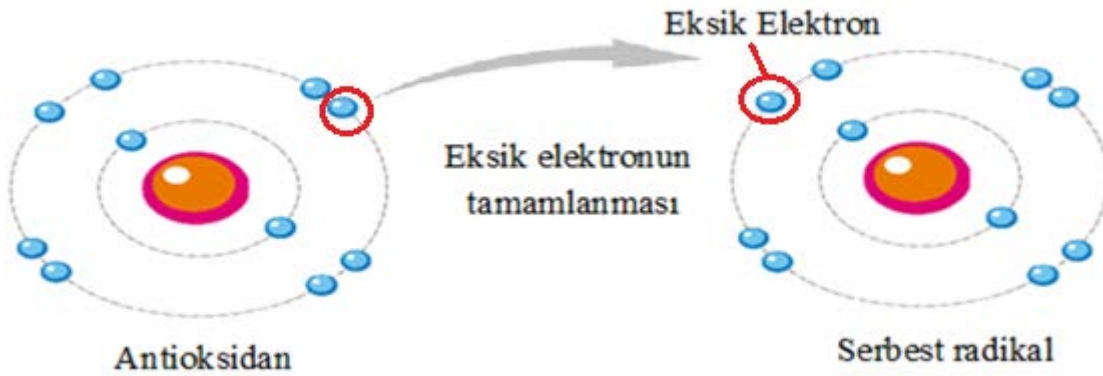


Harita 2.1. *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un Türkiye'deki yayılış alanı

●: *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*

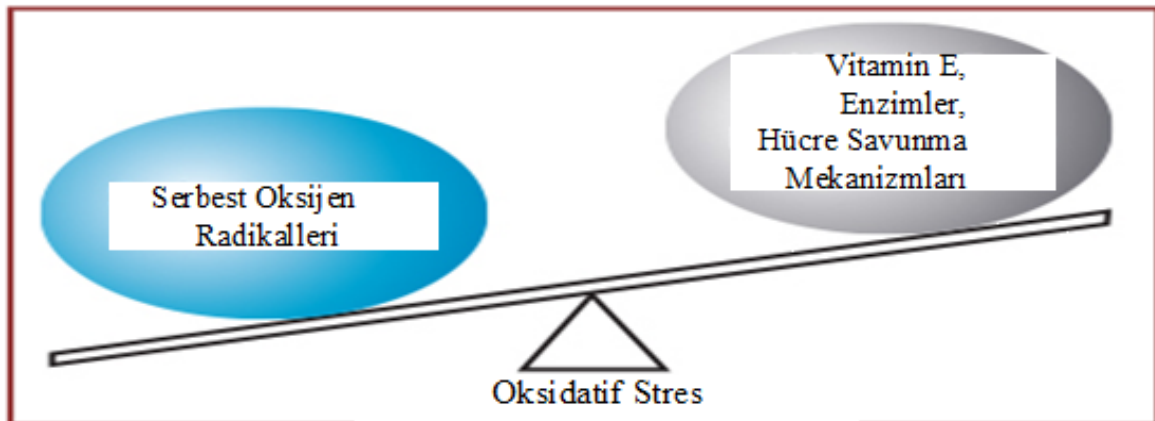
2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, atomik orbitallerde bir ya da daha çok ortaklanmamış elektron bulunduran atom veya molekülden oluşan kararsız yapılardır (Şekil 2.1). Küçük bir moleküler yapıya sahip olan serbest radikallerin, aktivasyon enerjileri düşük ve ömürleri kısadır. Boyutsal olarak küçük bir yapıya sahip olmaları, hücre zarından kolaylıkla geçmelerini sağlamaktadır [64].



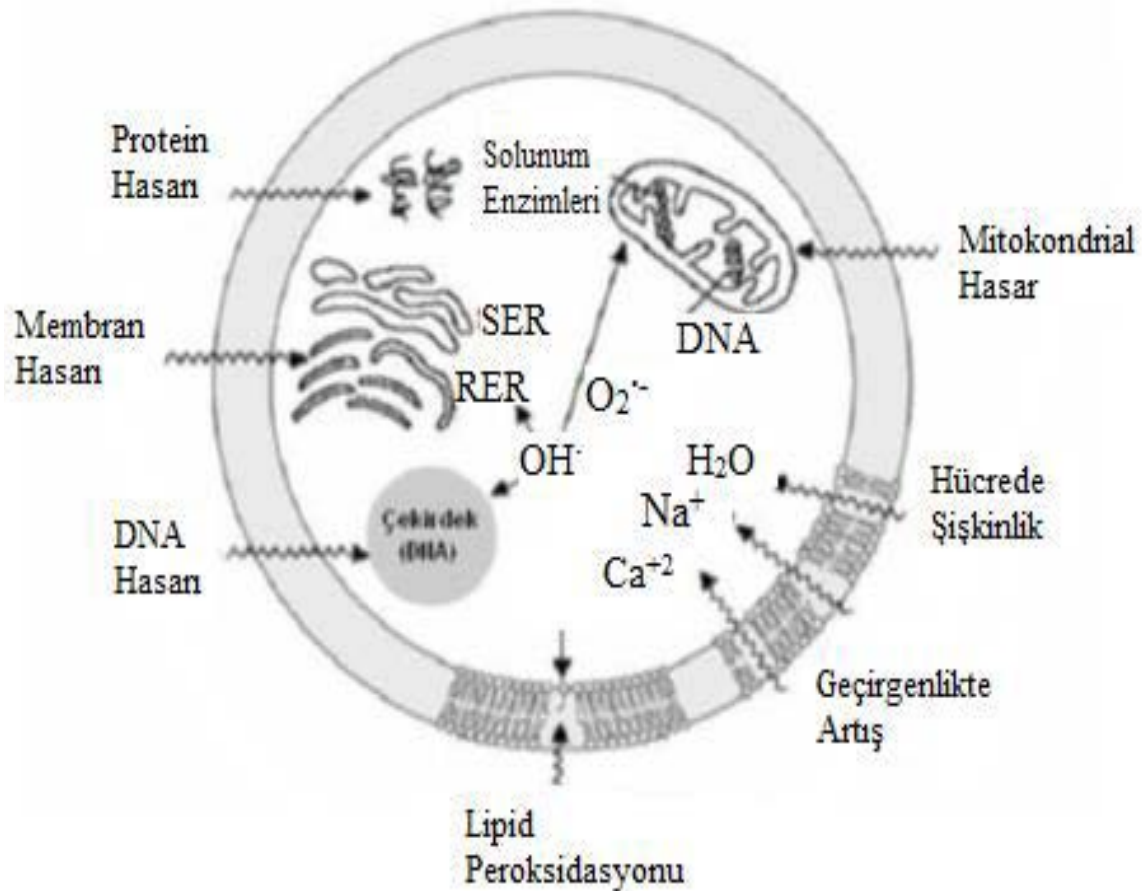
Şekil 2.1. Elektron kazanmış serbest radikal formu [65].

Reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller antioksidan mekanizma arasında oluşan dengesizliğe oksidatif stres denmektedir (Şekil 2.2). Oksidatif stres ile oluşan dengesizlik hücrede tekrar düzeltilmesi mümkün olmayan hasara sebep olmaktadır. Oksidatif stresin insan sağlığı açısından meydana getirdiği olumsuzluk önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır [66].



Şekil 2.2. Oksidatif stresin oluşumu [67].

Dış kaynaklardan veya metabolik yollardan vücutta oluşan hidroksil radikali (OH^\cdot), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit anyonu ($\text{O}_2^\cdot^-$) gibi reaktif oksijen türlerinin enzimatik olmayan ve enzimatik olan antioksidan moleküllerin birbirleri ile olan dengesizliği oksidatif stresi meydana getirmektedir. Aerobik yaşam için en önemli olan element oksijen elementidir. Bunun yanı sıra, birçok toksik kimyasal aktivitede de bulunmaktadır. Oksijenden türemekte olan radikaller canlı sisteminde, meydana gelen radikallerin en önemli bölümünü oluşturmaktadır olup, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilmektedir. Hidroksil (OH^\cdot), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($\text{O}_2^\cdot^-$) yapısında olan ROS'lar metabolik aktiviteler veya eksojen etkenler ve ajanlar ile de oluşabilir. Oksidatif fosforilasyonda oluşan radikaller DNA, protein, karbonhidrat ve lipid gibi büyük moleküllere saldırarak hücrenin yaşlanmasına sebep olmakta, kardiyovasküler hastalıklara, mutasyonel değişimlere ve kanserin ilerlemesi büyümesi gibi olumsuzluklara neden olmaktadır (Şekil 2.3). Reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller ile etkileşime giren, bu moleküllerin zararlı sonuçlarına ve oluşturduğu hastalıklara karşı mücadele etmenin en etkili yöntemi antioksidanlardır [66].



Şekil 2.3. Serbest radikallerin hücre üzerinde zarar verdiği bölgeler [68].

2.6. Antioksidanlar

Serbest radikallerin oluşmasına engel olan, meydana gelmiş olan serbest radikalleri süpürerek hücrenin zarara uğramasını engelleyen ve yapılarında genel olarak fenolik bileşikler bulunduran moleküllere antioksidanlar adı verilir [69].

Antioksidanlar insanın vücut hücreleri tarafından sentezlenebildiği gibi, gün içerisinde yediğimiz besinlerle de dışarıdan alınabilmektedir. Gıdaların içeriğinde bulunan ve insan vücudunu serbest radikallerin olumsuz etkilerinden koruyan en önemli doğal antioksidanlar, vitaminler (A, C ve E), karotenoitler, flavonoitler ve polifenol moleküllerdir (Çizelge 2.1). Araştırmaların birçoğunda sebze ve meyve tüketimi ile kalp hastalıkları ve belirli kanser çeşitlerinin oluşumunun ters orantılı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2.2) [70].

Oksidan moleküllerin biyolojik hedefler ile etkileşime girmesine engel olan antioksidanlar, radikallerin zincir oluşturmaya ve oksijenin reaktif ürün haline gelmesini de önleyip radikallerin verebileceği zarar ve tahribin minimum seviyelerde olmasını sağlamaktadırlar [71]. Reaktif oksijen türevlerinin vücuttaki organ sistemlerinin ve hücresel yapıların korunması için, vücut içerisinde çok gelişmiş ve komplike ‘antioksidan koruma sistemleri’ bulunmaktadır [72].

Normal fizyolojik koşullarda, insan vücudunun reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getiren katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) gibi endojen savunma sistemleri bulunmaktadır. Endojen antioksidan savunma sistemleri, antioksidan sistemlerde çok önemli görevlere sahip vitaminler, karotenoitler, mineraller ve polifenoller gibi eksojen kaynaklı indirgen yapılar olmadan fonksiyonların kazanamadıkları ve yaşın ilerlemesi ile birlikte seviyelerinde azalma görülmektedir. Bu sebep ile oksidatif strese karşı muhafaza için, eksojen antioksidanlara daima ihtiyaç bulunmaktadır [73, 74].

Çizelge 2.1. Bazı antioksidanların bulunduğu bitkiler [75].

Ürün	Antioksidanlar
Biberiye, Adaçayı	Karnosik asit, rosmarik asit
Yeşil çay, siyah çay	Polifenoller, kateşinler
Kahve	Fenolik Esterler
Soya fasülyesi	İzoflavonlar, fenolik asitler
Zeytin	Polifenoller
Soğan	Kuersetin, kaempferol

Çizelge 2.2. Bazı antioksidan vitaminlerin bulunduğu gıda kaynakları [75].

Bulunduğu Gıda Kaynakları	Antioksidan Çeşitleri
Domates	Likopen
Narenciye meyveler	β -Kriptoksantin
Havuç	α - Karoten
Narenciye, kavun, çilek, domates, yeşil yapraklı sebzeler, karnıbahar	C Vitamini
Sarı-portakal renkteki meyve sebzeler, koyu yeşil renkli sebzelerde	β -Karoten
Brokoli ve koyu yeşil renkteki yapraklı sebzeler	Lutein ve Zeaksantin
Bitki ve tohum yağları, buğday tohumunda, meyveler, et, kümes hayvanları, balık.	E Vitamini

2.6.1. Antioksidan kapasite ölçüm metotları

Antioksidanlar ile ilgili bilimsel çalışma ve araştırmalar incelendiğinde antioksidan aktivitesini tanımlamak için birbirlerinden bağımsız olarak çalışan araştırmacılar çok farklı türde terimler kullandığı görülmektedir. Bütün antioksidan aktivitesini içermekte olan bu terimler, parametre, etkinlik, aktivite gibi terimlerdir. Kimyasal aktivite özel reaksiyon şartlarındaki sıcaklık, basınç ve reaksiyonun gerçekleştiği ortam gibi faktörlere bağlıdır. Bu sebeple antioksidan kapasitesi reaksiyon şartlarındaki ölçüm işlemlerini göstermektedir. Belirtildiği gibi diğer terimlerde spesifik reaksiyonlardan çokça bağımsızlaşmıştır [76].

Antioksidan maddelerin ne kadar çok önemli olduğunun görülmesi ile bu alanda yapılan bilimsel araştırma ve çalışmalarda artış görülmüştür. Antioksidan aktivite tayinleri iki temel metodolojiye dayanmaktadır. Bunlardan ilki "Hidrojen Atom Transferi" (HAT) eksenli yapılan analizler, ikinci olarak da "Elektron transferi" (ET) eksenli yapılan

analizlerdir. HAT metotları ET metotlarına göre daha hızlı gerçekleşmektedir. Spektrofotometrik eksenli ET metotları indirgenmesi ile renk değişimine uğrayan oksidanın, antioksidanın çok güçlü indirgenme özelliği olduğunu ölçmektedir. Renk değişikliği çalışılmakta olan dalga boyunun absorbans değerlerinin azalma ve artış göstermesine bağlı olarak tanımlanabilir [77].

Antioksidan kapasiteyi ölçmek için geliştirilmiş bazı yöntemler aşağıdaki gibidir;

- Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi
- Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi
- Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi
- Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Kuvvet (FRAP) Yöntemi
- Toplam Antioksidan Cevap (TAR) Tayin Yöntemi
- MDA Oluşumunun İnhibisyonu Yöntemi
- DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi
- Tiyosiyanat Yöntemi
- Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi
- Floresans Sönme Zamanı Yöntemi

Bu tez çalışmasında, bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitesi DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı tayini metotları ile araştırılmıştır. Yöntemlerle ilgili ayrıntılı bilgi materyal ve metot bölümünde verilmiştir.

2.7. Antimikrobiyal Maddeler

Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmanın çoğalmasına engel olan, etkisiz hale getiren

sentetik veya doğal kimyasal maddelerdir. Antimikrobiyal maddenin etkileri, üremeyi durdurduğu gibi tamamen yok ederek etkisiz hale getirebilir. Organizmayı öldürüp etkisiz hale getiren maddeler “sidal” maddeler olarak isimlendirilmektedir. Fungus ve bakterileri öldürüp etkisiz hale getiren maddeye sıra ile fungusidal ve bakteriyosidal maddeler, canlıyı öldürmeden sadece çoğalmasına engel olan maddelere de statik maddeler olarak adlandırılırlar. Bunlar bakteriyostatik ve fungistatik maddelerdir [78].

Hastalıkların tedavisinde günümüzde de kullanılan ilaçların pek çoğu doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Tıbbi olarak önemli olan bitkiler insanların tedavisinde, biyolojik etkisi

bulunan pek çok maddeyi yapılarında bulundurmaktadır. Bitkilerin tedavide etkili olmasının sebebi, antimikrobiyal etkisinin oluşması, içerdikleri kimyasal bileşiklerin sonucudur [79].

Bir antimikrobiyal madde için çok önemli özellik seçici toksisitenin bulunmasıdır. Kemoterapik tedavilerde kullanılan antimikrobiyal maddenin konsantrasyon seviyesinin düşük miktarda olup toksisitesinde minimum seviyede olmasıdır. Bu şekilde bir etkinin oluşabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak tayin ettiği memeli hücreden daha çok mikroorganizmaların seçilmesi gereklidir. Memeli hücre yapısı ökaryotik hücre tipine sahipken, bakteriler prokaryot hücre yapısına sahiptir. Ökaryot hücre de bulunmayıp prokaryot hücre de bulunmakta olan bir molekül, hedef tayin edebilen maddeler (örnek: sülfonamidler, sefalosporinler) yüksek seviyede seçici toksisite özelliğine sahiptirler.

Antimikrobiyal maddelerin etkili olabilmesi mikroorganizmanın cins sayısı az veya çok olma durumuna göre, geniş ve dar spektrumlu olarak ifade edilmektedir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliğe sahip maddeler etki ettiği mikroorganizmanın doğal bağışıklık sisteminde etkili ve ekolojik olarak dengeyi koruyan normal konağın florasını bozmaktadır. Çok dar spektruma sahip maddeler ise hastalığa sebep olan konak üzerinde etkisi olmakta ve hastalığın tedavisinde maksimum seviyede etkili antimikrobiyal maddeler olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ancak birçok patojenin beraber etkin olduğu hastalıklarda veya mikrobiyolojik laboratuvar sonucunun beklenmediği acil durumlarda geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler (kinolonlar, karbapenemler gibi) kullanılmaktadır.

Bazı mantar ve bakteri türü tarafından meydana getirilen mikrobiyostatik ve mikrobisid maddeler antibiyotik olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyostatik maddeler konağın üremesini durdurucu, mikrobisid maddeler ise konağı öldürerek etkisiz hale getiren maddelerdir. Antibiyotikler ile bir kısım özellikleri benzeyen, tamamen kimyasal yöntemler ile üretilen maddeler kemoterapötik madde olarak isimlendirilmektedir [80, 81].

2.7.1. Antimikrobiyal etki tayin yöntemleri

Antimikrobiyal duyarlılığı belirlemek için yapılan testler, bir antimikrobiyal ajanın belirlenen bir bakteri türüne olan in-vitro etkisini belirlemek gayesi ile yapılan testler olarak tanımlanmaktadır.

Antibiyotik duyarlılık ya da antimikrobiyal etki deneylerinde "difüzyon" ve "dilüsyon" olarak iki farklı test yöntemi kullanılmaktadır [82].

A.Difüzyon testleri

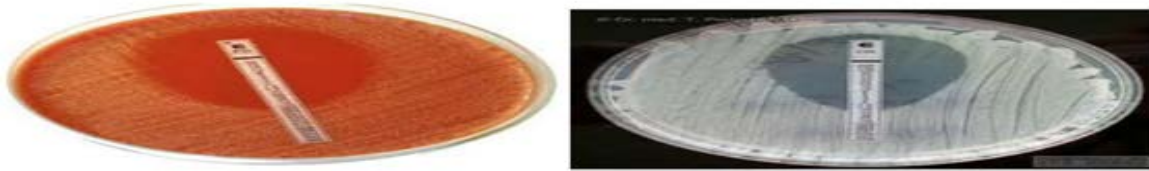
1. *Disk difüzyon testi*: Disk difüzyon testi Kirby-Bauer ikilisinin birlikte geliştirmiş oldukları kolay ve maliyeti az olan bir yöntemdir. Bu test yöntemi bu iki araştırmacının adı ile de bilinmektedir. Antimikrobiyal etkinin tespitinde en fazla kullanılan metotlardan birisi de disk difüzyon testidir. Disk difüzyon testi kimyevi maddenin kağıt disk tarafından absorbe edilerek, etki derecesinin belirlenmesi amacı ile kullanılan mikroorganizmanın inoküle yapılmış olduğu besiyerine difüze edilmesidir. Ekimi yapılan mikroorganizma üremesinin artış göstermesi, kağıt diskin belli bir süre geçtikten sonra çözünmesinin başlayıp agar doğrultusunda difüze olması ile başlamaktadır. Bir süre bekledikten sonra ilacın inhibitör yoğunluğunun gerçekleşmesi ile disk etrafında meydana gelen inhibisyon alanı o kadar çok geniş oluşacaktır (Şekil 2.4). Organizmanın üzerinde etkisinin tespiti aşamasında kullanılan antimikrobiyal maddenin etkili olup olmadığını belirlemek için inhibisyon zon bölgesinin çapı mm olarak ölçümü yapılmaktadır. Bu ölçümden sonra elde edilen değerler standart zon ölçümleri ile değerlendirilerek antimikrobiyal maddenin etki derecesi belirlenmektedir [82].



Şekil 2.4. Disk difüzyon testi [83].

2. *E-test*: MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) bir konağın çoğalmasını engelleyen en az seviyedeki ilaç yoğunluğudur. Katı besiyerinde difüze edilerek MİK değerinin belirlenmesini gerçekleştiren metotlar da bulunabilmektedir. Bu esasa dayanan metotlardan biri de E-test metodudur (Şekil 2.5). Bu metotla teste tabi tutulacak bakteri 0,5 McFarland yoğunluk değerine ulaştıktan sonra steril eküvyon ile Mueller Hinton agar yüzey kısmını kaplayarak yayılmaktadır. Bu işlem gerçekleştikten sonra agar yüzeyine E-test şeritlerinin konulması sağlanarak konulan E-test şeritlerinin bir miktar antibiyotik gradienti içermesi

gerekmektedir. MİK değeri 35°C sıcaklıkta 18-24 saat zaman aralığında, inkübasyona bırakılan plakların MİK değerleri tespit edilmektedir. Şerit çevresinde meydana gelen inhibisyon elipsi şerit üstündeki ölçekle kesişime uğradığı yer bize MİK değerini vermektedir [82].



Şekil 2.5. E-testine ait şekiller [83].

B. Dilüsyon testleri

Bir antimikrobiyal maddenin bir organizmanın çoğalmasını engellemek veya öldürülmesini sağlamak amacı ile asgari olması gereken minimum konsantrasyonunun tespitinde uygulanan testlerden biri de dilüsyon testleridir. Bu test “tüp dilüsyon” ve “agar dilüsyon” olarak ikiye ayrılmaktadır.

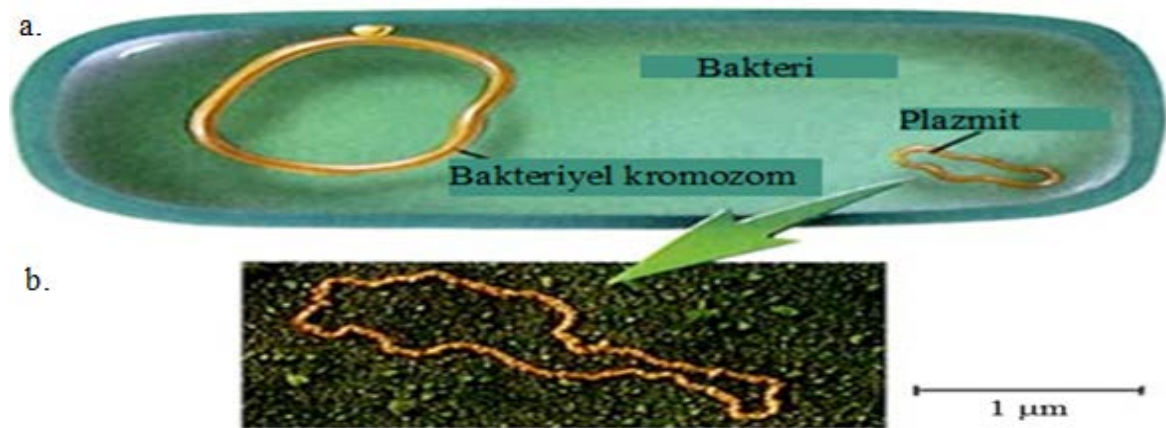
1. *Tüp dilüsyon:* Tüp dilüsyon da “mikro” ve “makro” olarak iki şekilde uygulama yapılabilmektedir. İki metodunda temel esasları aynıdır. Mikro dilüsyon da “U” veya “V” tabanlı “mikroplate” kullanılmaktadır. Tüp dilüsyon yönteminde besiyeri Mueller-Hinton buyyon içerisine katyon (magnezyum ve kalsiyum) eklenmiş besiyeri kullanılmaktadır. Antibiyotiklerden teste tabi tutulacak olan öncelikle özel hazırlanan çözücülerde ve bundan sonrada sıvı besiyerlerinde iki kat azalan sulandırma işlemleri gerçekleştirilir. Standart bir inokulumu (1×10^6 CFU/ml) hazırlanan organizmanın, antimikrobiyal maddenin farklı dilüsyonlarını içermekte olan bütün tüplere aynı miktarda eklenmektedir. Bakteri inokülasyon yapılmamış olup, içerisine besiyeri eklenmiş bir tüp ya da çukur da besiyeri kontrolünde kullanılması için hazır hale getirilir. Besiyerleri bir gece 35°C sıcaklıkta inkübe edilerek bakterinin çoğalmasının belirtisi olan, bulanıklık durumuna bakılarak incelemesi yapılır. Bunun sonucunda gözle görülmekte olan bulanıklık olmaması durumunda bakteri çoğalmasının engellendiği en az seviyedeki ilaç yoğunluğu belirlenerek MİK değeri elde edilmiş olmaktadır. [82].

2. *Agar dilüsyon:* Agar dilüsyon metodunun esasları tüp dilüsyon metodu ile aynı özelliklere sahiptir. Sadece bir fark vardır. O da agar dilüsyon metodunda antibiyotik sulandırma işleminin agar içerisine konması ile petri plağı içine dökme işlemidir. Böylelikle bütün plaklarda antibiyotiğin birbirinden farklı yoğunlukları bulunmaktadır. Bu

metotta önerilmekte olan besiyeri Mueller-Hinton agar besiyeridir. Testte tabi tutulacak olan bakteri konsantrasyonu 0,5 McFarland bulanıklığa göre oluşturularak, bundan sonra da 1:10 oranı ile sulandırma işlemi gerçekleştirilerek 10^7 CFU/ml sonucuna ulaşılmaktadır. Bu bakterilerden özel inokülatörler kullanılarak 1-2 ml inokülasyon yapılır. Bunun sonucunda agar yüzey kısmında bakteri ortalaması 10^4 CFU/ml olmaktadır. İnokülasyonu yapılan plaklarda 18-24 saat zaman ile inkübasyona bırakılır. Çoğalması engel olunan en az seviyedeki antibiyotik yoğunluğu MİK olarak elde edilir [82].

2.8. Plazmit DNA

Plazmidler, konakçı genomik DNA'sından ayrı olarak replike olan halkasal DNA molekülleridir (Şekil 2.6). Bakterilerde genel olarak çift sarmal formda bulunurlar; ayrıca archaea ve ökaryotik organizmalarda da görülürler. Kromozomal DNA plazmit DNA'ya göre çok daha büyük yapıda olup tüm yaşamsal bilgiyi kodladığı halde plazmitler onlara nispeten çok daha küçüktür ve daha çok antibiyotik direnci ve virülans gibi belli koşullar altında ihtiyaç duyulan özellikleri kodlarlar [84, 85]. Plazmitler, genel olarak konjugasyon yolu ile bir bakteriden diğer bakteriye aktarılırlar. Virüslerden farklı olarak herhangi bir kapsid benzeri zarf ile çevrilmemiş olup konakçı hücre içerisine aktarım olayları için ekstra genetik bilgi taşımamaktadır. Plazmitlerin büyüklüğü birkaç yüz bç ile 200 kbç arasında değişmektedir. Aynı bakteri birden fazla çeşit plazmit bulundurmamakla beraber aynı plazmitin binlerce kopyasını replike etmiş olabilir [86].

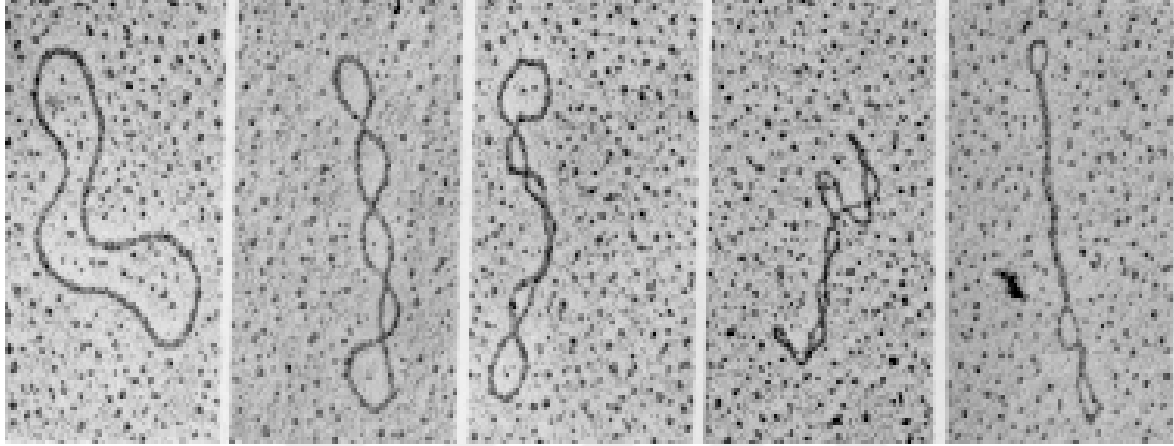


Şekil 2.6. Plazmit DNA'ya ait elektron mikroskobu görüntüleri [87].

- Bakteri hücresi içerisinde plazmit DNA'nın konumu
- Plazmit DNA'nın elektron mikroskobu görüntüsü

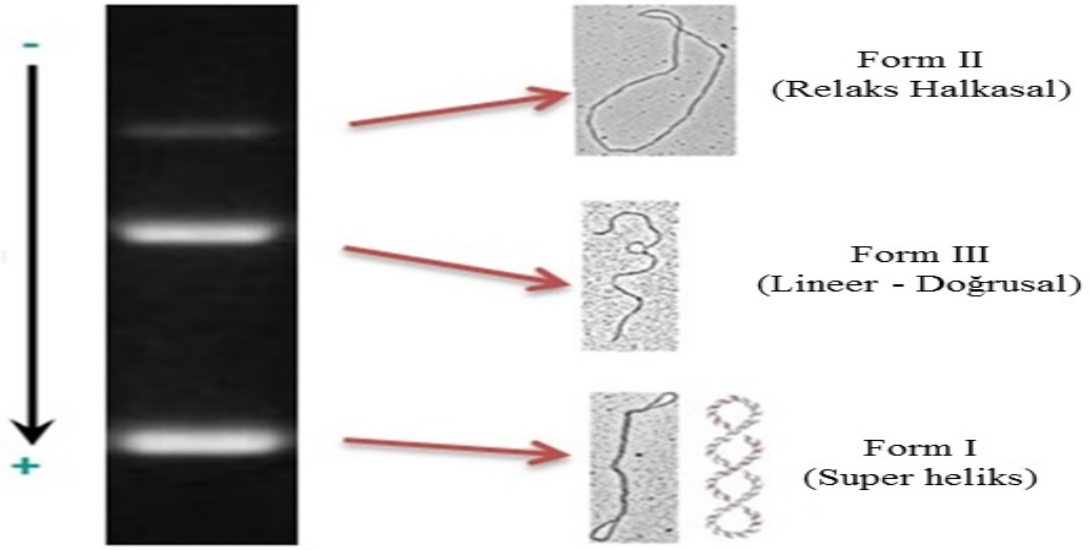
DNA molekül büyüklüğünden bağımsız olarak süpersarmal yoğunluk “ σ ” ile gösterilir, σ toplam dönme sayısına karşılık gelir ve süpersarılma seviyesini ifade eder (Şekil 2.7) [88].

Moleküler biyoloji laboratuvarlarında bakterilerde doğal olarak bulunan plazmitlerden ziyade özel amaçlar için rekombinant DNA teknolojisi ile tasarlanmış yapay plazmitler sıklıkla kullanılmaktadır [89].



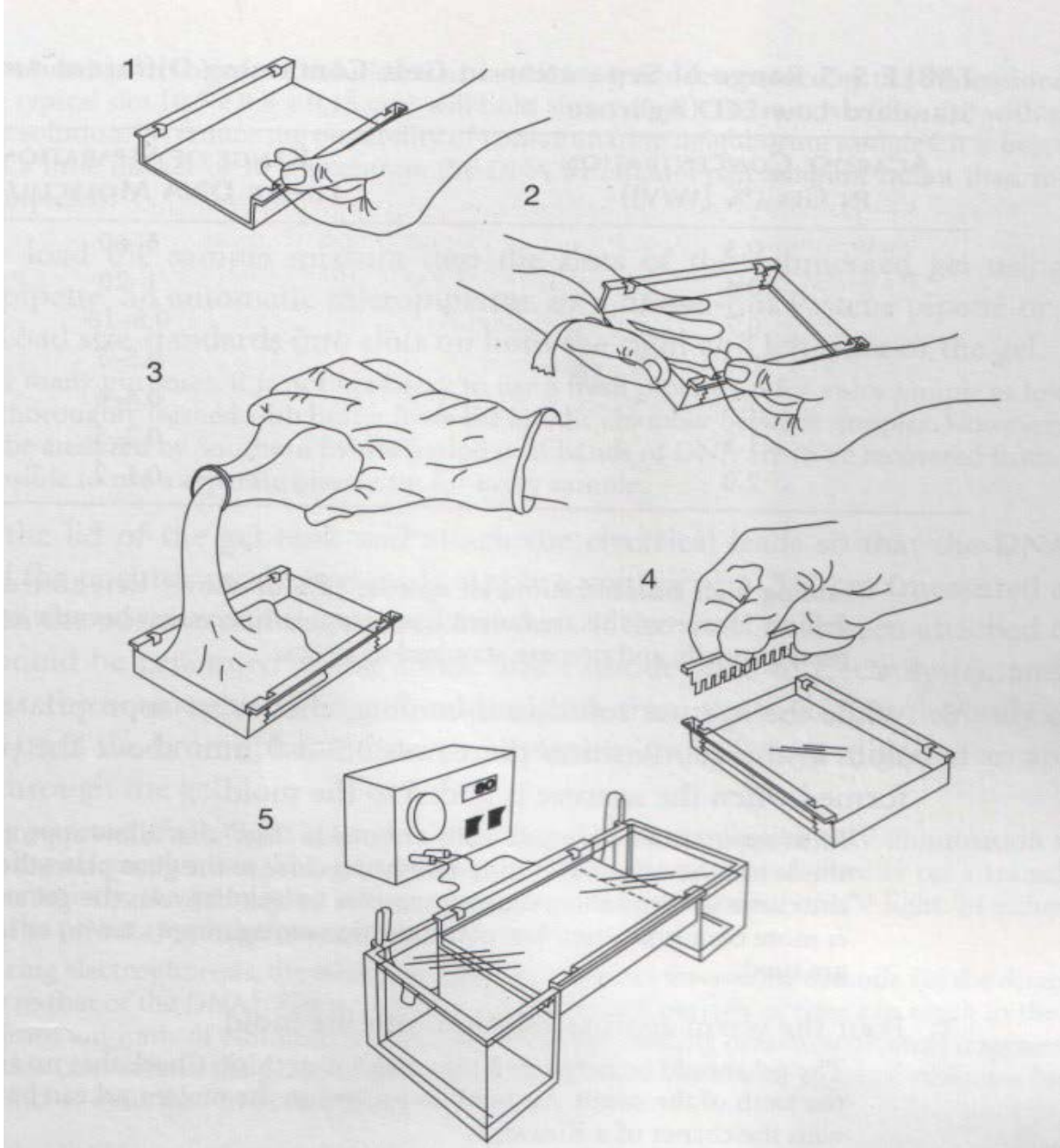
Şekil 2.7. Plazmit DNA'ya ait elektron mikroskopunda süpersarmal yoğunluğun artması [90].

Aynı moleküler büyüklüğe sahip çift iplikli plazmitler agaroz jel elektroforezinde yürütüldüğünde jelde üç farklı bant oluşumu gözlenir. Bu farklılık plazmit DNA'nın relaks halkasal form (Form I), süper heliks (Form II) ve lineer (Form III) gibi farklı konformasyonel formlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Süpersarmal formdaki plazmit DNA agaroz jel elektroforezinde hızlı hareket ettiği için en ilerideki bantı oluşturur. Ancak çift zincirli DNA'nın tek zincirinde kesim meydana gelmesiyle oluşan relaks halkasal form (nicked), geniş hacim kaplaması sonucu agaroz jeldeki porlardan geçişi zor olacağı için yavaş hareket eder. Eğer iki zincirde de kesim gerçekleşirse lineer form oluşur ve elektroforezde Form I ve Form II arasında konumlanır (Şekil 2.8). Oluşan bu farklı bantların birbirine karşı konumu agaroz konsantrasyonu, tampon çözeltisinin iyonik kuvvetleri ve farklı formların sahip olduğu farklı konsantrasyonlardan kaynaklanmaktadır [84].



Şekil 2.8. Agaroz jelde farklı formlardaki plazmit DNA'nın görüntüleri [91].

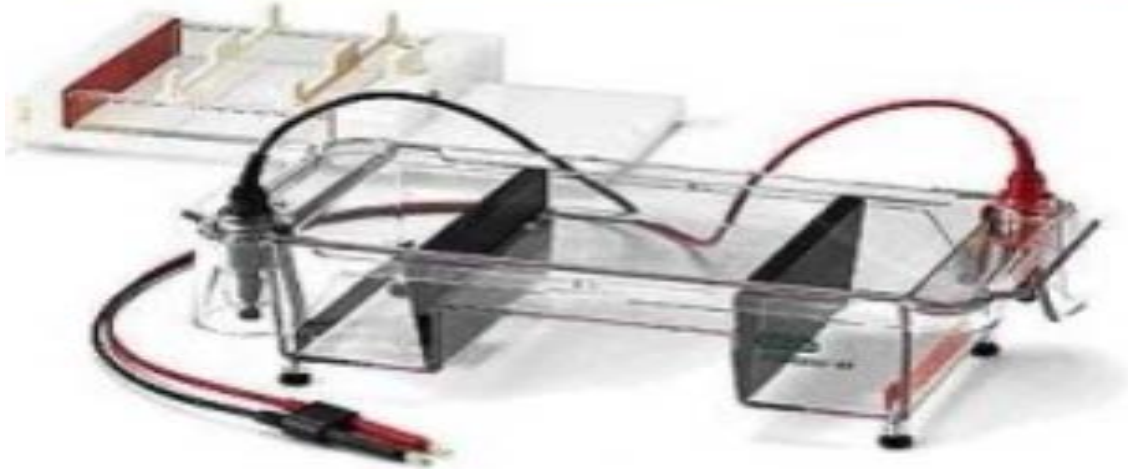
Saf haldeki nükleik asitler ve protein moleküllerinin molekül ağırlıkları, miktarları ve alt türlerinin belirlenmesinde kullanılan moleküler inceleme metotlarından biridir. Çok kullanılan jel elektroforezi metotları agaroz jel elektroforezi Şekil 2.9'da aşamaları gösterilmiştir. Diğeri de poliakrilamid jel elektroforezidir. Genel olarak nükleik asit molekülü için agaroz jel, protein için ise poliakrilamid jel elektroforezi kullanılmaktadır [92].



Şekil 2.9. Agaroz jel hazırlama işlemlerinin sıra ile gösterimi. 1,2- Jel tankının hazır hale getirilmesi, 3-Jelin tanka dökülme işlemi, 4-Tarağın yerleştirilme işlemi, 5-Jel tankını yürütme kabına yerleştirerek ve voltajını ayarlama işleminden sonra elektroforez işlemine başlanması [92].

Elektroforetik analiz, elektriksel bir ortamda çözülmüş molekülleri elektrik yük durumuna göre göç etmesi esasına dayanmaktadır. Büyük yapıdaki moleküller jel üstünde yürümekte zorlanırken küçük yapıdaki moleküller hızlı ve rahat hareket etmektedirler. Molekülün katoda mı (- kutup) ve ya anoda mı (+ kutup) tarafına yönelip hareket kazanacağı moleküldeki net yüke göre şekillenmektedir. RNA ve DNA molekülleri serbest fosfat grubundan dolayı

eksi yüke sahip yapılardır. Bu sebep ile jel üstünde katoddan (- kutup) anod (+ kutup) tarafına doğru hareket etmektedirler (Şekil 2.10) [92].



Şekil 2.10. Agaroz jel tankına ait görüntü (yukarıda), agaroz jel sistemi (aşağıda) [92].

Molekülün göç hızı molekül yapısının büyüklük durumu, yapısına, iyonik kuvvete, ortamdaki yoğunluk durumu ve uygulanmakta olan akım miktarına göre değişebilmektedir. Jel üzerinde molekülün yerini tespit etmek için ortam UV ışığı etkisinde floresan etki oluşturan etidyum bromürün (EB) veya benzer bir maddenin olması gerekmektedir. Elektroforez deneyi çözelti olarak tampon çözeltiler içerisinde gerçekleşmektedir. Bunun iki esas sebebi vardır. Ortam pH'nın değişime uğramasına engel olmak ve akımın geçişini gerçekleştirmek için elektrolit miktarının artırılmasını sağlamaktır [92].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bitki

Bu çalışmada, *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* örnekleri alttürün doğal yayılış alanı olan Olur ve Yusufeli arasındaki Buzluca Köyü çevresindeki metamorfik kayalıklardan çiçeklenme periyotlarında (Temmuz ve Ağustos) toplanmıştır. Türün taksonomik tanımlaması Dönmez (2008)'e [62] göre yapılmıştır. Taze bitki örneklerinin toprakaltı ve topraküstü kısımları ayrı ayrı küçük parçalara bölünerek laboratuvarda bençler üzerinde gölgede kurutulmuştur. Kurumuş bitki örnekleri kimyasal analizlere kadar bez torbalarda saklanmıştır. Sonra bu kurumuş bitki örnekleri değirmen kullanılarak öğütülmüştür. Biyolojik aktivitesini belirlemek için bitkinin toprakaltı ve topraküstü kısımları çeşitli organik çözücüler varlığında Sokhlet ekstretörü ile ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Toprakaltı ve topraküstü bitki kısımlarında organik çözücü olarak sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, etanol, etanol+su ve su kullanılmıştır. Bitki örneklerinin bir kısmı da herbaryum örneği haline getirilip saklanmıştır.

3.1.2. Kullanılan bakteriler

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında; standart bakteri türleri olarak Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018), Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve bir maya mantarı (*Candida albicans* ATCC 10231) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal madde ve ekipmanlar

Tez çalışması için yaptığımız deneylerin tümü Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarındaki malzemeler ve ekipmanlar kullanılarak yapılmıştır (Resim 3.1) (Resim 3.2). Laboratuvardan temin ettiğimiz araç ve malzemelere ait bütün mevcut bilgiler Çizelge 3.1' de gösterilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız bütün kimyevi malzemeler kalite standartları olarak iyi derece olup Oxoid, Merck, Sigma gibi alanında kalite standartları yüksek ve yetkin kuruluşlardan temin edilmiştir.

Tablodaki ekipmanların haricinde; pensler, eküvyon çubukları, membran filtreler, farklı büyüklük ve çeşitte petriyeler, farklı ölçümler için balon jöjeler, enjektörler, filtre kağıt, farklı

büyükükte deney tüpleri, hekzan, etilasetat, kloroform, etanol, metanol, DMSO, gallik asit, DPPH gibi birçok kimyasal ve malzemeler yine aynı laboratuvar'dan karşılanmıştır.



Resim 3.1. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarı



Resim 3.2. Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Hazırlık ve Uygulama Laboratuvarının iç görünümü

Çizelge 3.1. Bilimsel araştırmamızda kullanılan cihazlar ve markaları

No	Cihaz Adı	Markası
1	Derin Dondurucu (-80°C)	VESTEL
2	Büyük Otoklav	NÜVE STEAM ART
3	Vorteks	IKA VORTEKS 4 basic
4	Soxhelet Ekstraktörü	ISOLAB
5	Santrifüj	SİGMA
6	Rotary Evaporatör	IKA RV 10
7	Otoklav	SANYO
8	Etiv	MEMMERT
9	Rotary Shaker	IKA RV 10
10	Manyetik Karıştırıcı	IKA RH basic 2
11	İnkübatör	STUART
12	Mikropipet	BRAND
13	Spektrofotometre	THERMO SCIENTIFIC
14	Hassas Terazı	RADWAG 6
15	Buz Dolabı	ARÇELİK
16	Saf Su Elde Etme Cihazı	GFL

3.2. Metot

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

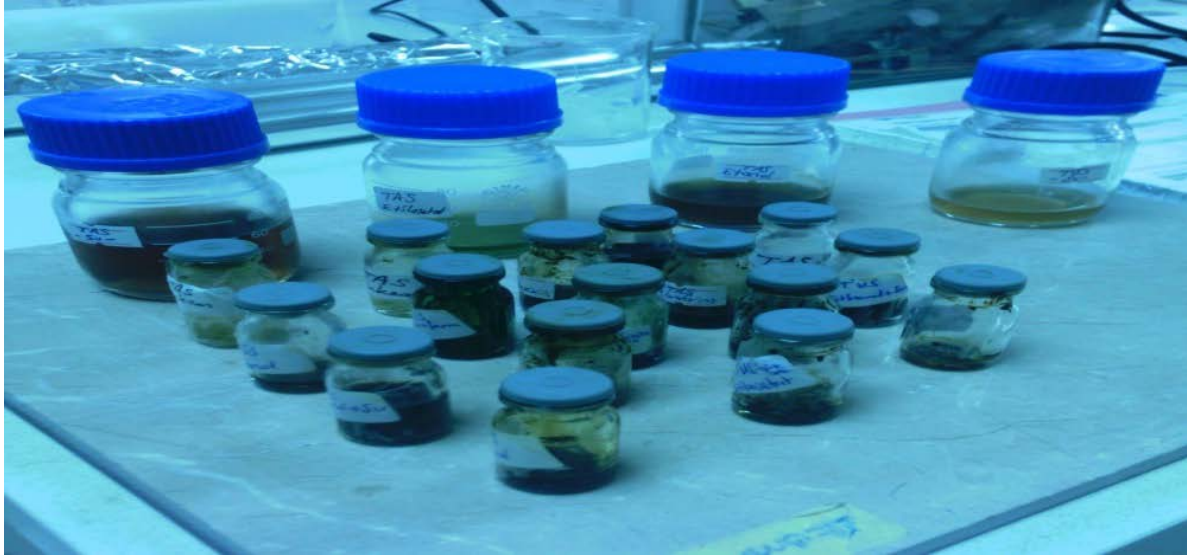
Toz halindeki topraküstü ve toprakaltı kısımlarından 50 gr tartılıp sokhlet kartuşu içerisine koyuldu ve sokhlet kartuşu sokhlet ekstretörünün içerisine yerleştirilerek düzenek kuruldu (Resim 3.3). 6-8 saat süre ile sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, etanol, etanol+su ve su içerisinde ekstraksiyon yapıldı. Ekstraksiyon işleminden sonra organik çözücüler ve su evaporasyon cihazı ile uçuruldu (Resim 3.4). Bu işlem sonunda elde edilen bitki ekstreleri antimikrobiyal çalışmalara kadar küçük Şişelerde buzdolabının derin dondurucu kısmında saklandı (Resim 3.5).



Resim 3.3. Bitki ekstraksiyonu için hazırlanmış Soklet düzeneği



Resim 3.4. Bitki ekstraktlarındaki organik çözücünün uçurulmasında kullanılan Rotary evaporatör (Döner buharlaştırıcı)



Resim 3.5. Bitki ekstraktlarının cam şişelerde muhafaza edilmesi

Çalışmamızda *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* bitkisinin değişik organik çözücülerle hazırlanmış topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ve toplam fenolik madde miktarı metotları kullanılarak araştırılmıştır.

3.2.2. DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesinin belirlenmesi

DPPH radikale bağlanan bitki ekstraktının mor renk oluşumunun azalması ve açılması, bitki ekstraktının antioksidan etkisini 517 nm’de spektrofotometrede ölçümüne dayanmaktadır [93].

H. samolifolium subsp. *erzurumicum* bitkisinden elde ettiğimiz ekstraktlardan bir deney tüpü hariç diğer 7 deney tüpüne 50µl konuldu. Bundan sonra deney tüplerinin üzerlerine 2850 µl DPPH çözeltisinden eklendi. Elde ettiğimiz karışımı iyice vorteksleyip karıştırma işlemini gerçekleştirdikten sonra oda sıcaklığında 30 dk karanlık bir ortamda durdurduktan sonra her bir tüpteki karışımın absorbans değeri spektrofotometre cihazında 517 nm’de okutarak işlem basamağı tamamlanmıştır. Elde ettiğimiz değerlerden faydalanarak bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikale olan etkisi yani serbest radikalın yarısını etkisiz hale getirdiği noktadaki konsantrasyonda (IC_{50}) değerleri bulundu. Gallik asit ile karşılaştırma yapılarak %inhibisyon-konsantrasyon grafikleri çizerek gösterilmiştir [94].

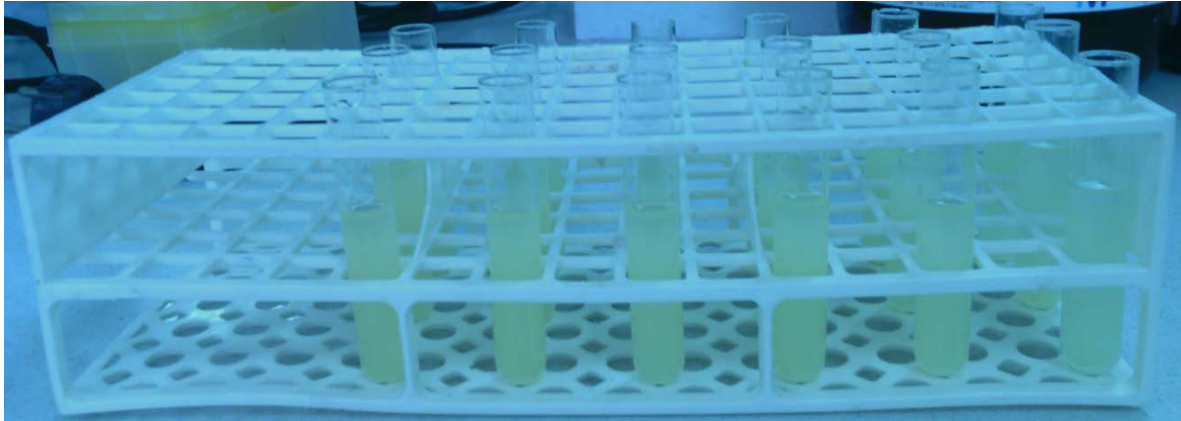
% DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanarak belirlenmiştir;

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

3.2.3. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

H. samolifolium subsp. *erzurumicum* bitkisinin farklı solventler ile hazırlanan topraküstü ve toprakaltı ekstraktları içerisinde mevcut olan fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile belirlenerek bulunmuştur. Bu yöntemin özelliği fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile bileşik oluşturması olup bileşiğin mavimsi ve yeşilimsi renk almasıdır. Bu renkli bileşik fenolik bileşiklerin miktarına göre değişmektedir. Fenolik bileşiklerin miktarı fazla ise doğru orantılı olarak oluşan mavi yeşil renkli bileşikler doğal olarak fazla olmaktadır. Fenolik madde miktarı ile meydana gelen bileşiğin maksimum absorbans değeri 760 nm'dir.

Yaptığımız bu araştırmada standart fenolik madde olarak kullandığımız madde gallik asittir. Bundan dolayı gallik asit standart grafiği çizildi. Deneyde 1 ml solventte 1 mg gallik asit çözerek çözeltimizi hazırladık. Solvent olarak metanol çözücüsü kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerden 10, 25, 50, 75 ve 100 µl alarak deney tüplerine ekledik son hacim değeri metanol solventi ile 2400 µl'ye tamamlandı. Bu aşamadan sonra deney tüplerine 50 µl FCR eklenerek 3dk bekleme süresinde beklendi. Beklemeden sonra % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 150 µl deney tüplerine ilave edildi. Na₂CO₃ çözeltisinin eklenmesi ile oluşan bu karışım 2 saat süre ile oda sıcaklığında çalkalama işlemi yapılarak inkübasyona bırakıldı (Resim 3.6).



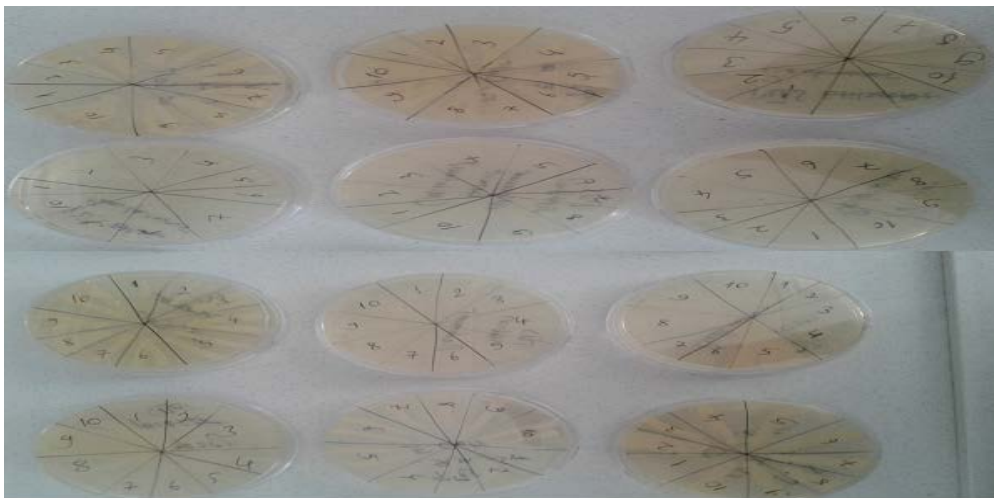
Resim 3.6. Toplam fenolik madde miktarı deneyinde, Na₂CO₃ eklendikten sonraki deney tüplerinde oluşan görüntü

Bu işlemin ardından 760 nm'de elde edilen nünuneler absorbans değerleri okunarak bu işlem tamamlandı. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* bitkisinin ekstraksiyonu ile farklı solventlerdeki ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarlarını belirlemek amacı ile deneysel

çalışma aşamalarına geçmeden stok çözeltileri hazırlandı. Bitki ekstreleri 1 mg ekstre ile 1 ml solvent organik çözücü ile çözülme işlemine tabi tutulmuştur. Hazırlanan bu stok çözeltilerden 100 µl mikropipet ile alınarak deney tüplerine konuldu. Gallik asit deneyinde yapmış olduğumuz bütün aşamalar aynen tekrarlanarak absorbands değerleri okundu. Gallik asit standart grafiği ile bitki ekstrelerinin sonuçları kıyaslanarak toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir [95].

3.2.4. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliğinin belirlenmesi

Antimikrobiyal çalışma Minimal İnhibition Konsantrasyon (MİK) metoduna göre yapıldı. Standart bakteri türleri olarak Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018) (Resim 3.7), Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) standart bakteri türleri ve bir maya olan *Candida albicans* ATCC 10231 kullanıldı. Kullanılan ekstraktların stok solüsyonları uygun konsantrasyonlarda hazırlandı. Sıvı besi yerinde (Nutrient broth-NB) sulandırma yöntemiyle yapılan çalışmada, kültürler 5 ml NB'da, 37°C'de, 175 rpm sallamalı inkübatörlerde 18 saat sürede büyütüldü. Büyütülen bakteri ve maya hücreleri 1 ml'de yaklaşık 10^6 hücre olacak şekilde 50 ml NB içine, 0,5 McFarland turbidity standartlarına uygun olacak şekilde ilave edildi. Mikroorganizma bulunan NB'dan test tüplerine 1'er ml ilave edildi. Üzerine uygun konsantrasyonlarda bileşikler eklenerek yarı yarıya seri sulandırma yapıldı. Seri sulandırma yapılan tüpler 37°C'de 24 saat inkübatörde inkübasyona bırakılıp, bakteri büyümesinin olmadığı son tüp MİK değeri (µg/ml) olarak tespit edildi.



Resim 3.7. Petri kaplarındaki besi yerlerindeki Gram pozitif bakteriler (Topraküstü ve toprakaltı ekstrelerindeki *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*)

3.2.5. Bitki ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisinin belirlenmesi

H. samolifolium subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı ve topraküstü ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisinin tespiti Babu vd., (2007)'nin agaroz jel elektroforezi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir [96]. Bu hedef doğrultusunda öncelikle hassas bir şekilde tartılma işlemi yapılarak 1 gram agaroz 100 ml TBE (1X) tamponu bulunan bir beher içerisinde iyice karıştırma yapıldıktan sonra mikrodalga fırında 5 dk süre ısıtılma işlemi ile agarozun tamamının tampon çözelti içerisinde çözünme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözelti sıcaklığı 55°C'ye kadar düşmesi beklendikten sonra içerisinde tarak bulunan tank bölümüne aktarıldıktan sonra, tankın içerisinde jel soğumaya bırakılmıştır. Bundan sonra Jelin soğuma işlemi gerçekleştirildikten sonra tarakları çıkarıp, jelin kullanılabilir durumda gelmesi sağlanmıştır.

DNA üzerindeki etkisi belirlenecek olan bitki ekstraktları gerekli miktarlarda (100-10000 ppm) karıştırma işlemine tabi tutulduktan sonra 14000 rpm'de 3 dakika süre santrifüj işlemi yapılmıştır. Bundan sonra yapılan 37°C sıcaklıkta 2 saat süre inkübasyon işleminin ardından hazır hale gelen örnek karışımdan mikropipet ile alındıktan sonra jeldeki jel çukurlarına (kuyucuk) yükleme işlemi yapılmıştır. Yükleme işleminin ardından 100V 80 dk yürütme işlemi yapılarak, sonrasında jel EtBr (Etidyum Bromür) ile boyanarak görüntüleme sistemi yardımıyla bantların görüntülenmesi sağlanmıştır. Elde edilen sonuçları DNA formlarının parçalanma yüzdesi olarak değerlendirip bu doğrultuda yorumlama yapılmıştır.

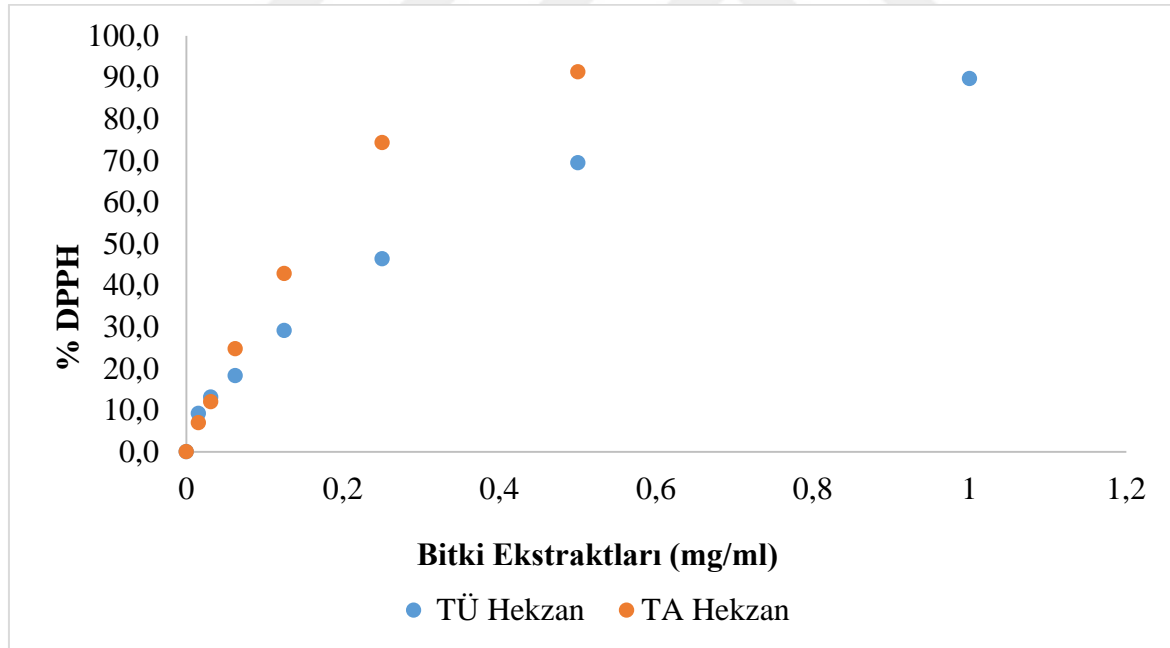
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu bilimsel araştırma ve çalışmada farklı organik solventler ile ekstraksiyonu elde edilen *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının antioksidan özellikleri DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) radikali yakalama aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı tayini yöntemleri kullanılarak araştırma yapılmıştır.

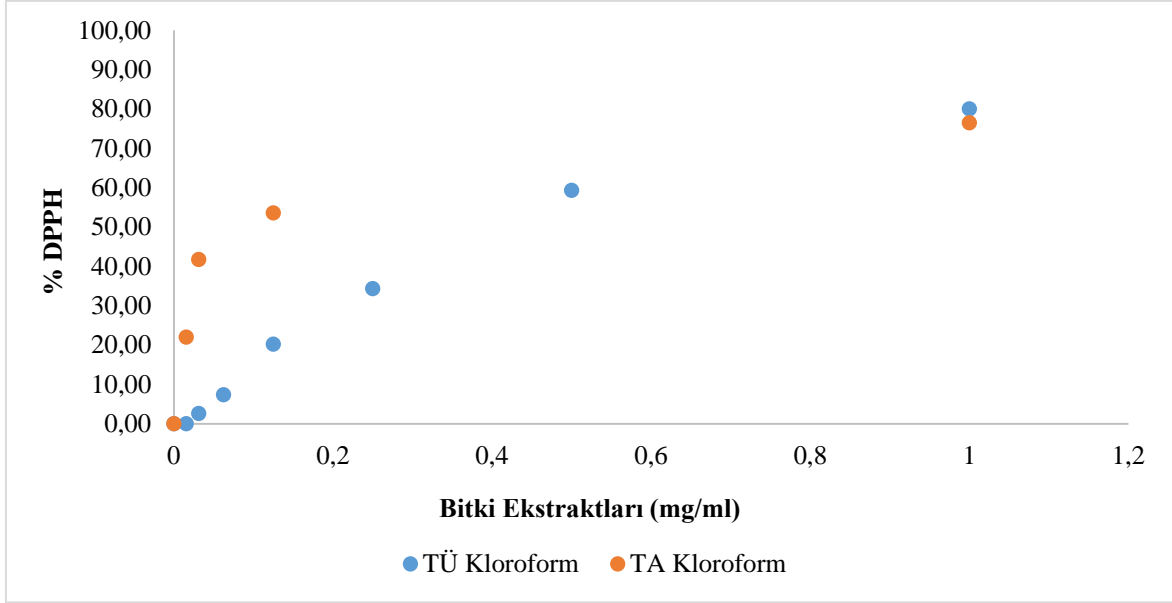
4.1. Bulgular

4.1.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi bulguları

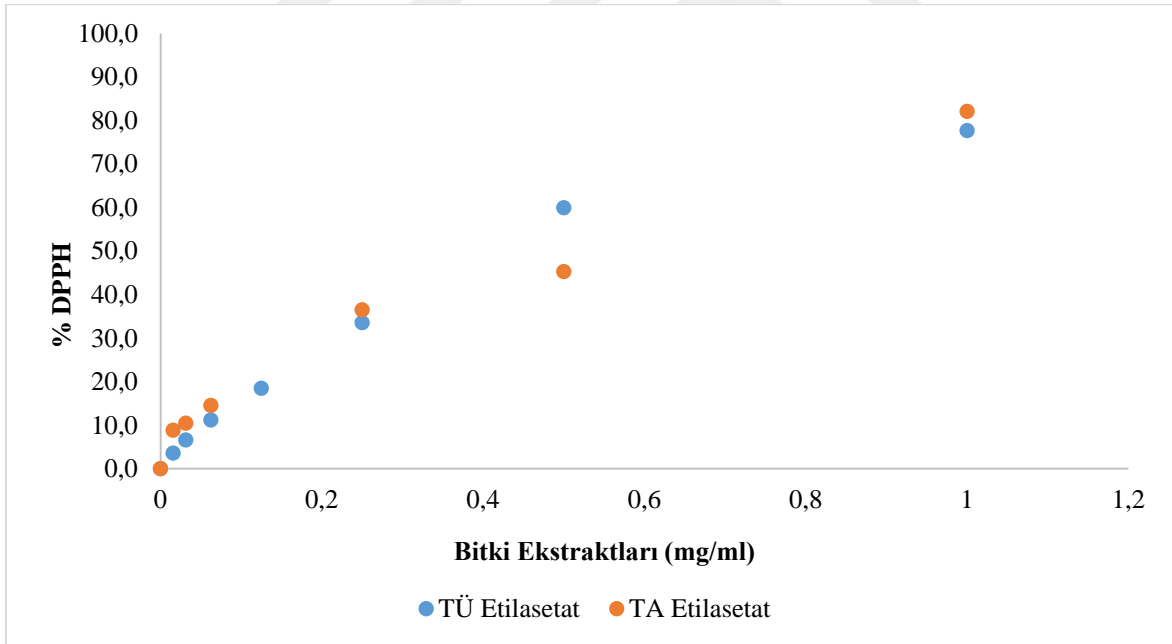
H. samolifolium subsp. *erzurumicum* bitkisinin DPPH radikalini süpürme aktivitesinin topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarına ait sonuçları (Şekil 4.1), (Şekil 4.2), (Şekil 4.3), (Şekil 4.4), (Şekil 4.5), (Şekil 4.6), (Şekil 4.7) ve (Şekil 4.8) ve (Çizelge 4.1) verilmiştir. Elde edilen verilerden farklı organik çözücülerle hazırlanan ekstraktların DPPH radikal giderme aktivitelerinin aynı olmadığı görülmüştür.



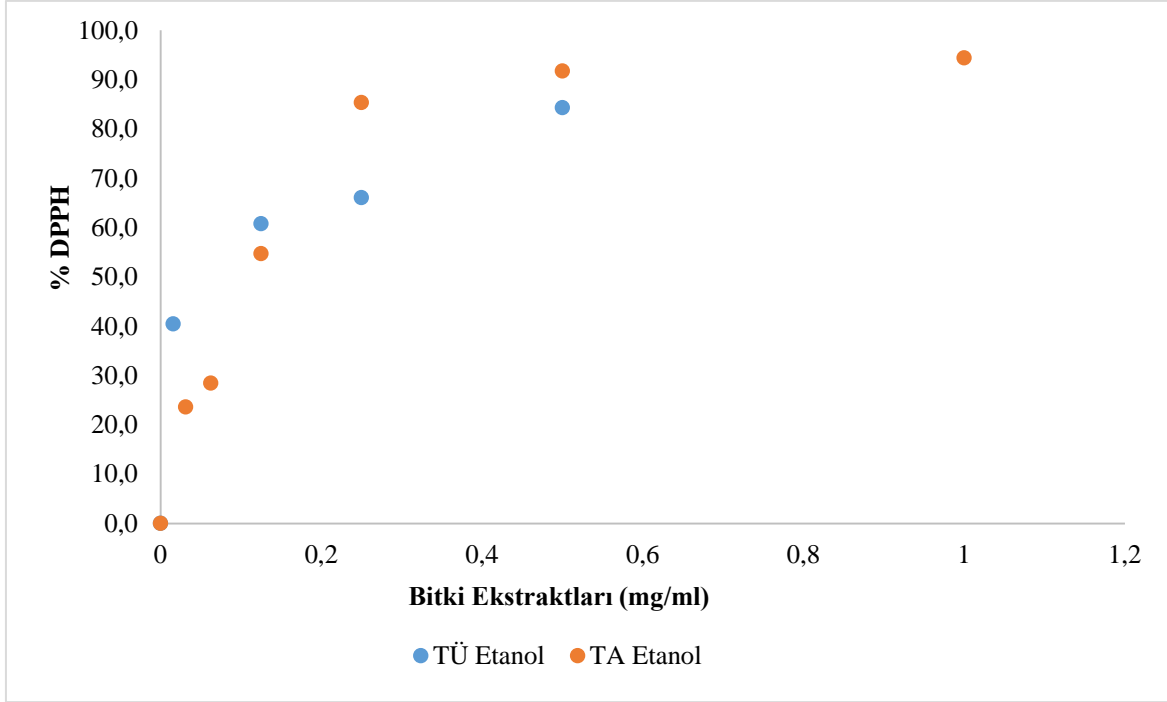
Şekil 4.1. Hekzan ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi (TÛ: topraküstü, TA: toprakaltı)



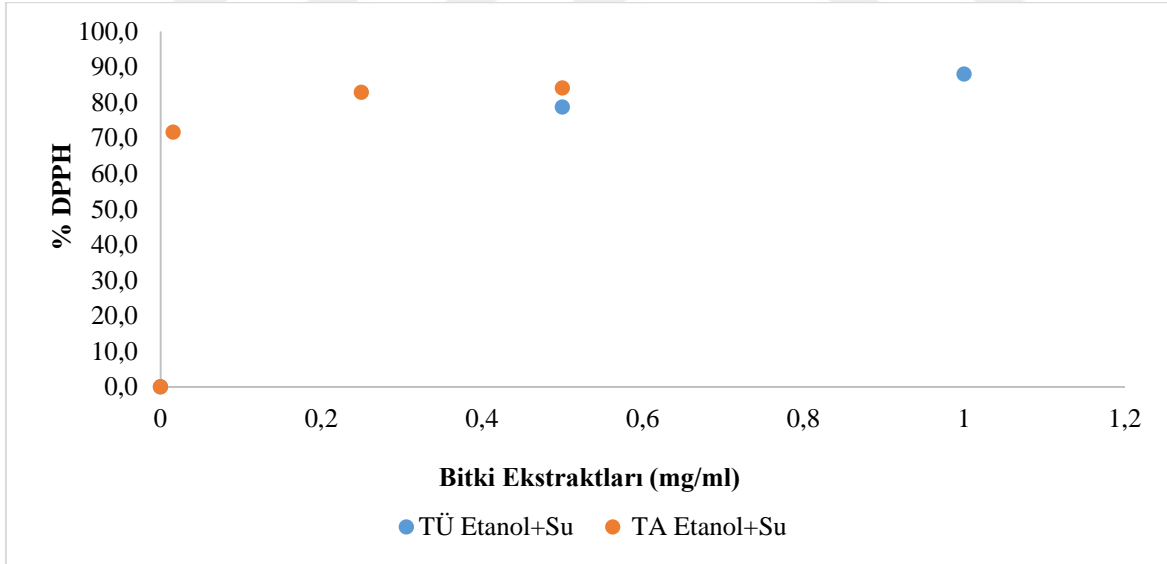
Şekil 4.2. Kloroform ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi



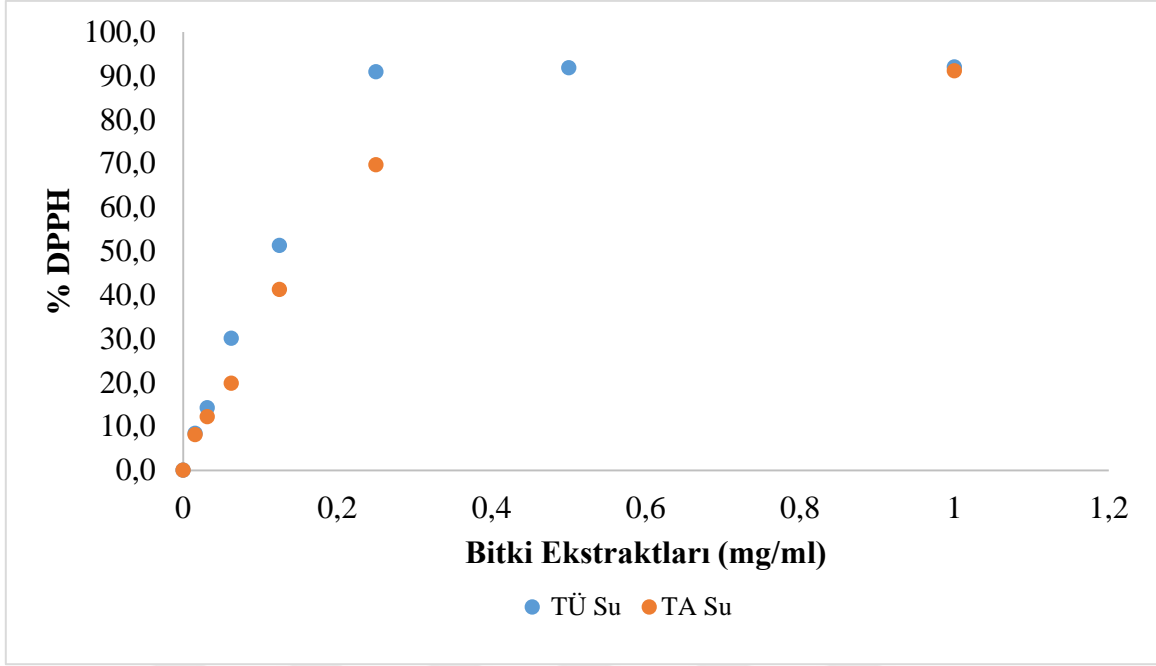
Şekil 4.3. Etilasetat ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi



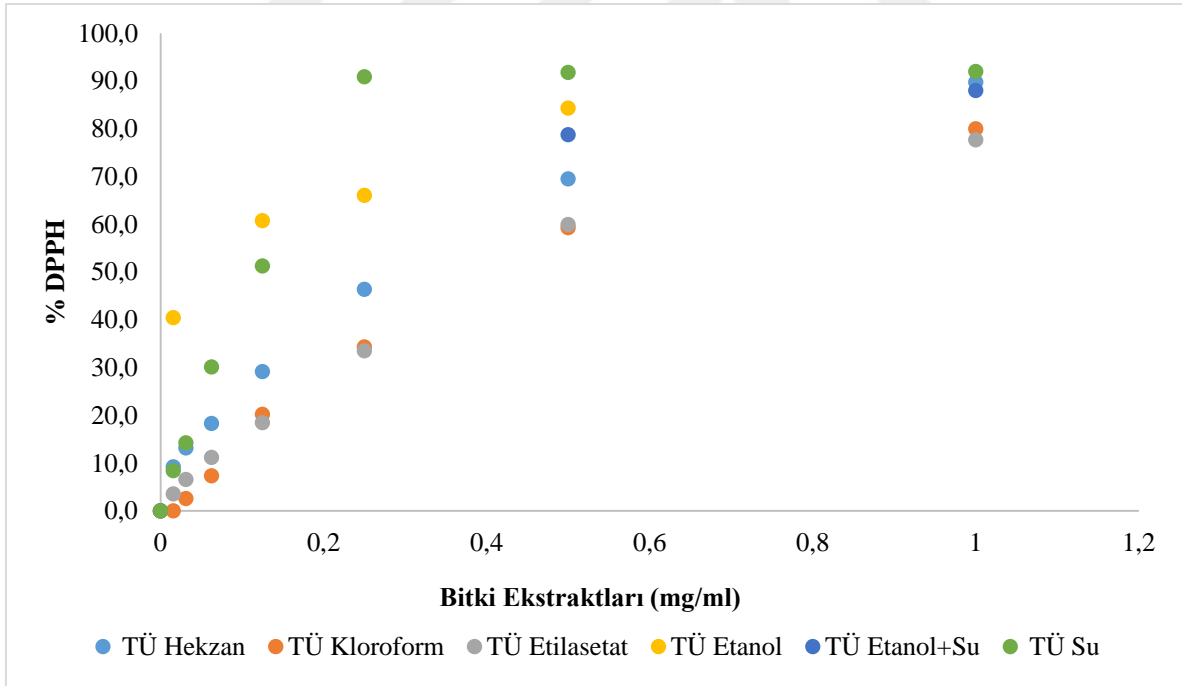
Şekil 4.4. Etanol ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi



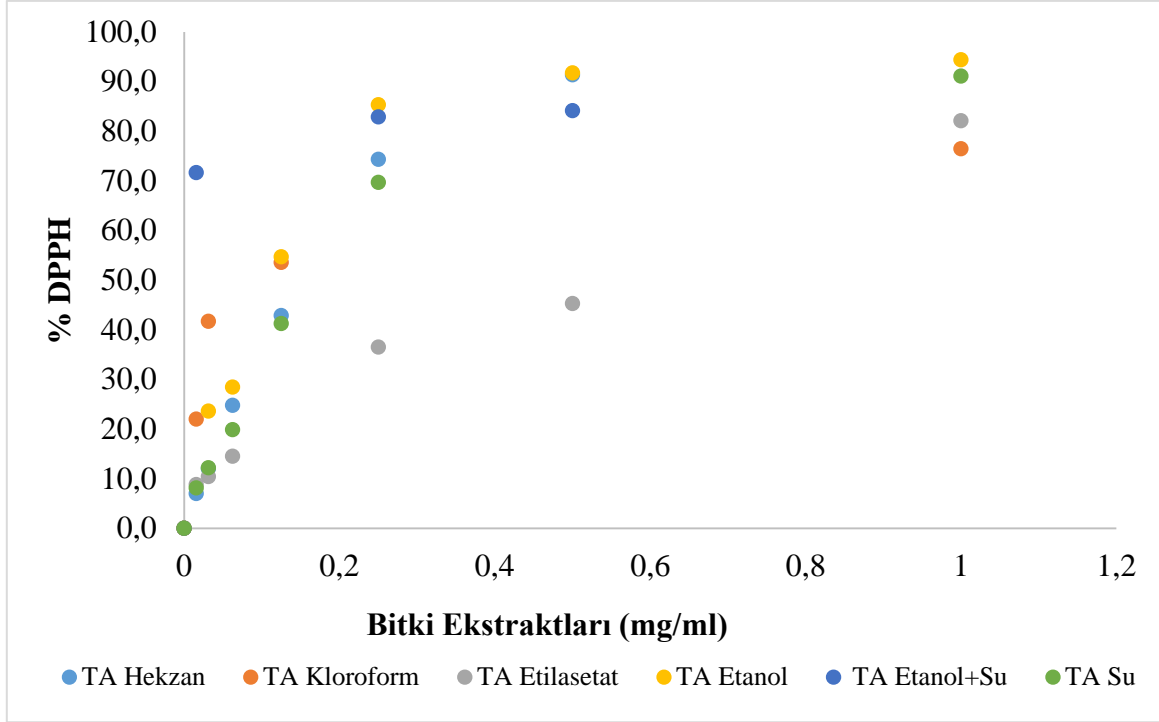
Şekil 4.5. Etanol + Su ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi



Şekil 4.6. Su ekstraktının topraküstü ve toprakaltı kısımlarının DPPH radikali yakalama aktivitesi.



Şekil 4.7. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ekstraktlarının tümünün DPPH radikali yakalama aktivitesi



Şekil 4.8. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı ekstraktlarının tümünün DPPH radikali yakalama aktivitesi

H. samolifolium subsp. *erzurumicum* bitkisine ait topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının DPPH radikali yakalama ya da süpürmeye ilişkin bulgular Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Bu çizelgedeki sonuçlara göre, topraküstü hekzan ekstraktının IC_{50} değeri 0,133 mg/ml iken, toprakaltı hekzan ekstraktının IC_{50} değeri 0,289 mg/ml olarak belirlenmiştir. Topraküstü ve toprakaltı hekzan sonuçlarına göre, topraküstü hekzan ekstraktlarının DPPH radikali yakalama aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Topraküstü kloroform ekstraktının IC_{50} değeri 0,097 mg/ml olup, toprakaltı kloroform ekstraktının IC_{50} değeri ise 0,407 mg/ml olarak bulunmuştur. Topraküstü kloroformun antioksidan kapasitesinin, toprakaltı kloroformun antioksidan kapasitesinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Topraküstü etilasetat ekstraktının IC_{50} değeri 0,564 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Toprakaltı etilasetat ekstraktının IC_{50} değerinin ise 0,406 mg/ml olduğu hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, toprakaltı ve topraküstü etilasetat ekstraktlarının DPPH radikalini yakalama aktivitesinin toprakaltı etilasetat ekstraktlarında daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Topraküstü etanol ekstraktının IC_{50} değeri 0,114 mg/ml iken, toprakaltı etanol ekstraktının IC_{50} değeri 0,067 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, toprakaltı etanol ekstraktının güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir. Toprakaltı etanol ekstraktının, topraküstü ve toprakaltı olmak üzere hekzan, kloroform, etilasetat ekstraktlarına kıyasla çok güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu

belirlenmiştir. Aynı şekilde topraküstü etanol ekstraktını da karşılaştıracak olursak, toprakaltı hekzan, kloroform, etilasetat olmak üzere, topraküstünün ise hekzan ve etilasetat ekstraktlarından daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Sadece toprakaltı etanol ekstraktının, topraküstü kloroform ekstraktından daha az antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Topraküstü etanol+su ekstraktının IC_{50} değeri 0,011 mg/ml olarak belirlenmiştir. Toprakaltı etanol+su IC_{50} değeri 0,318 mg/ml olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Topraküstü etanol+su ekstraktının yapılan bu çalışmada bütün organik çözücülerin topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarından daha güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Topraküstü su ekstraktının IC_{50} değeri 0,163 mg/ml olduğu belirlendi. Toprakaltı su ekstraktı 0,121 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Su ekstraktının da toprakaltı ve topraküstü IC_{50} değerlerinin yüksek antioksidan kapasite özelliği taşıdığı bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Bitki Ekstraktlarının IC_{50} (mg/mL) değerleri

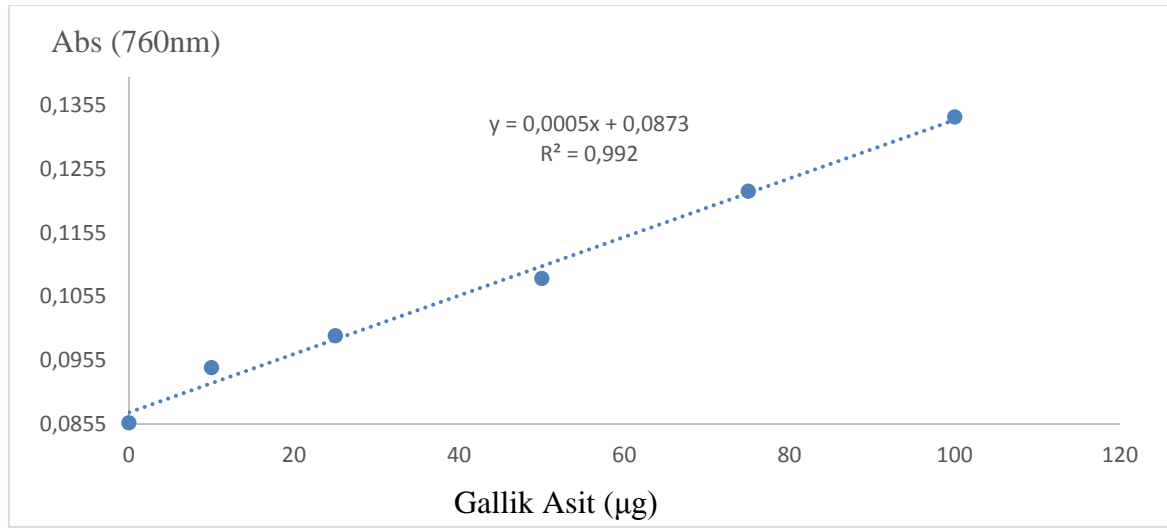
Bitki Ekstraktı	IC_{50} (mg/ml)
Topraküstü hekzan ekstraktı	0,133
Topraküstü kloroform ekstraktı	0,097
Topraküstü etil asetat ekstraktı	0,564
Topraküstü etanol ekstraktı	0,114
Topraküstü etanol+ su ekstraktı	0,011
Topraküstü su ekstraktı	0,163
Toprakaltı hekzan	0,289
Toprakaltı kloroform ekstraktı	0,407
Toprakaltı etil asetat esktraktı	0,406
Toprakaltı etanol ekstraktı	0,067
Toprakaltı etanol+ su ekstraktı	0,318
Toprakaltı su ekstraktı	0,121

4.1.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Bulguları

Toplam fenolik madde içeriğini hesaplamak amacıyla, kalibrasyon eğrisinin çizilmesi için farklı gallik asit konsantrasyonlarında elde edilen absorbans değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Gallik asit absorbans değerlerini kullanarak hazırlanan standart grafiği Şekil 4.9’ da gösterilmektedir.

Çizelge 4.2. Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi için elde edilen Gallik Asit Konsantrasyonları ve Absorbans Değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm
0	0,082	0,081	0,094
10	0,113	0,078	0,092
25	0,083	0,094	0,121
50	0,109	0,134	0,082
75	0,124	0,135	0,107
100	0,116	0,151	0,134



Şekil 4.9. Gallik asit standart grafiği

Çizelge 4.3'deki sonuçlara göre, topraküstü ve toprakaltı kloroform ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin diğer çözücülerdeki bitki ekstraktlarına oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fenolik madde içeriğinin topraküstü kloroform değeri 241,18 $\mu\text{g/ml}$ ve toprakaltı kloroform değeri ise 169,28 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır. Kloroformdan sonra toprakaltı etanol+su ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin (167,10 $\mu\text{g/ml}$) yüksek olduğu görülmüştür. Topraküstü etanol (84,31 $\mu\text{g/ml}$) ve toprakaltı (84,31 $\mu\text{g/ml}$) etanol ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin aynı olduğu bulunmuştur. Toprakaltı su ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin (10,24 $\mu\text{g/ml}$) diğer bitki ekstraktlarına göre çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Topraküstü ve toprakaltı hekzan, topraküstü ve toprakaltı etilasetat, topraküstü etanol+su ve su ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Topraküstü ve toprakaltı bitki ekstraktlarına ait Gallik asit eşdeğeri fenolik madde içeriği (mg/mL)

Bitki Ekstraktı	Gallik asit eşdeğeri fenolik madde içeriği (mg/ml)
Topraküstü hekzan ekstraktı	-
Topraküstü kloroform ekstraktı	241,18
Topraküstü etil asetat ekstraktı	-
Topraküstü etanol ekstraktı	84,31
Topraküstü etanol+ su ekstraktı	-
Topraküstü su ekstraktı	-
Toprakaltı hekzan	-
Toprakaltı kloroform ekstraktı	169,28
Toprakaltı etil asetat ekstraktı	-
Toprakaltı etanol ekstraktı	84,31
Toprakaltı etanol+ su ekstraktı	167,10
Toprakaltı su ekstraktı	10,24

4.1.3. Antimikrobiyal bulgular

Bu çalışmada *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için bitkinin topraküstü ve toprakaltı hekzan, kloroform, etilasetat, etanol, etanol+su ve su solventleri ile elde edilen ekstraktları belirlemiştir olduğumuz, gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018) ve gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve bir maya olan *Candida albicans* ATCC 10231 kullanarak belirledik (Resim 4.1). Bitkinin topraküstü hekzan ekstraktlarının sadece *E. coli* üzerinde orta derecede antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu bulundu. Topraküstü hekzan ekstraktlarının *S. aureus*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* üzerinde MİK değerleri 3000 ($\mu\text{g/ml}$) olarak hesaplandığından antimikrobiyal bir aktivite gösterememiştir.



Resim 4.1. Petri kaplarındaki besiyerlerindeki Gram negatif bakteriler (Topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarındaki *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*)

Çizelge 4.4. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ve toprakaltı ekstraktların MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

Bitki Ekstraktı	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Micrococcus luteus</i> NRLLB 1018	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Topraküstü hekzan	3000	3000	1500	3000	3000
Topraküstü kloroform	3000	3000	3000	3000	1500
Topraküstü etilasetat	3000	3000	3000	3000	1500
Topraküstü etanol	3000	3000	>5000	3000	1500
Topraküstü etanol+su	>5000	3000	3000	1500	>5000
Topraküstü su	>5000	1500	3000	3000	1500
Toprakaltı hekzan	>5000	3000	>5000	>5000	1500
Toprakaltı kloroform	3000	3000	3000	3000	1500
Toprakaltı etilasetat	1500	3000	3000	3000	1500
Toprakaltı etanol	1500	750	>5000	750	1500
Toprakaltı etanol+su	3000	3000	>5000	3000	1500
Toprakaltı su	3000	3000	3000	3000	1500
DMSO	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000

Topraküstü kloroform, etilasetat ve etanol ekstraktlarının çalışmamızda kullanılan Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerindeki MİK değeri 3000 ($\mu\text{g/ml}$) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, topraküstü kloroform, etilasetat ve etanol ekstraktları bakteriler üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterememiştir. Topraküstü kloroform, etilasetat ve etanol ekstraktlarının maya üzerindeki MİK değeri 1500 ($\mu\text{g/ml}$) olarak hesaplandığı için *C. albicans* üzerinde orta derecede bir antifungal aktivite göstermiştir. Topraküstü etanol+su ekstraktları sadece *P. aeruginosa* üzerinde orta derecede antibakteriyal aktiviteye sahip olurken, diğer bakteriler ve *C. albicans* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değeri 1500, diğer bakteriler ve maya üzerindeki MİK değerleri 3000 ($\mu\text{g/ml}$) olarak belirlenmiştir. Topraküstü su ekstraktları *M. luteus* ve *C. albicans* üzerinde orta derecede bir etkiye sahip olduğu tespit

edilmiştir (Çigelge 4.4). Topraküstü su ekstraktlarının MİK değeri *M. luteus* ve *C. albicans* hariç 3000 ($\mu\text{g/ml}$) ve üzerindedir.

Bitkinin toprakaltı hekzan, kloroform, su, etanol+su, etanol ve etilasetat ekstraktlarının *C. albicans* üzerindeki MİK değerleri 1500 ($\mu\text{g/ml}$) olduğundan orta dereceli bir aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu ekstraktların bakteriler üzerindeki MİK değerleri 3000 ($\mu\text{g/ml}$) olarak bulunduğundan herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Toprakaltı etilasetat ve etanol ekstraktları sadece *S. aureus* ve *C. albicans* üzerinde orta dereceli bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Toprakaltı etilasetat ve etanol ekstraktlarının *S. aureus* ve *C. albicans* üzerindeki MİK değeri 1500 ($\mu\text{g/ml}$) olarak belirlenmiştir. Toprakaltı etanol ekstraktlarının MİK değerleri *M. luteus* ve *P. aeruginosa* üzerinde 750 ($\mu\text{g/ml}$) olduğundan daha güçlü bir antimikrobiyal etki göstermiştir. Bitkinin toprakaltı etanol ekstraktları sadece *E. coli* üzerinde herhangi bir aktiviteye sahip olamamıştır (Çigelge 4.4). Toprakaltı su ekstraktlarının MİK değerleri 3000 ($\mu\text{g/ml}$) olduğundan bu tez çalışmasında kullandığımız Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal bir etki gösterememiştir. Toprakaltı su ekstraktı sadece *C. albicans* üzerinde orta dereceli bir aktiviteye sahiptir.

4.1.4. Bitki ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisi

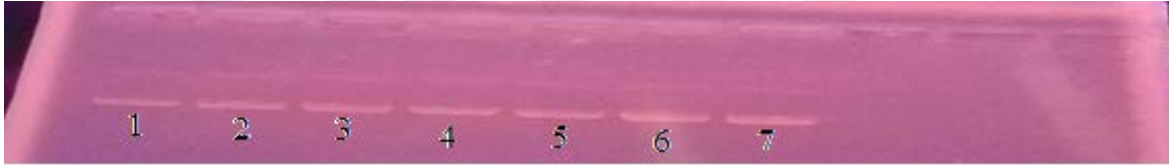
Elektroforezde yürütülen DNA üç farklı formda görülmektedir. Üç farklı DNA formunun oluşması jeldeki göçlerinden kaynaklanmaktadır. Agaroz jel elektroforezinde süper sarmal DNA (Form I) açık halkasal ve lineer formdan daha hızlı göç etmektedir. Eğer bir bağ kırılırsa süper sarmal form agaroz jelde daha yavaş göç eden açık halkasal forma (Form II) dönüşmektedir. Çift bağ kırılması durumunda ise lineer form (Form III) meydana gelmektedir.

Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’deki 1 ve 2 numaralı hatta bulunan örnekler kontrol grubunu oluşturmaktadır. Şekil 4.10’daki toprakaltı su (Hat 3), toprakaltı etilasetat (Hat 4), toprakaltı etanol (Hat 5) ve topraküstü su (Hat 6) bitki ekstraktlarının açık halkasal formun konsantrasyonunu artırıcı yönde etki göstermiştir. Açık halkasal formun oluşmasında toprakaltı su (Hat 3) ekstraktının diğerlerinden daha etkili olduğu belirlenmiştir.



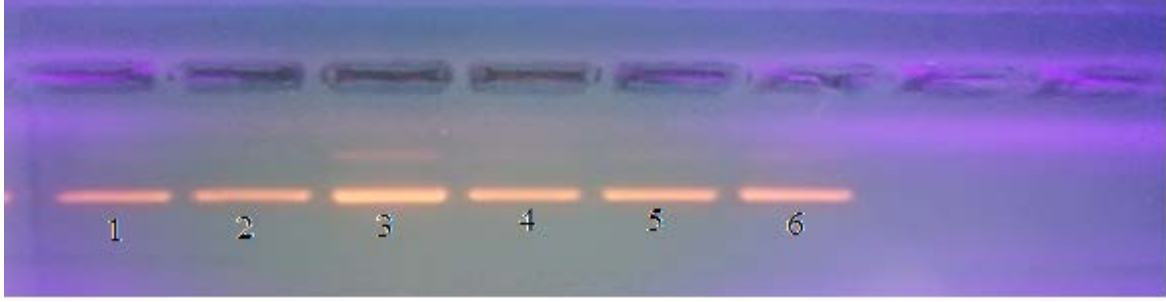
Şekil 4.10. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüleri (1 ve 2: kontrol grubu, 3: toprakaltı su, 4: toprakaltı etilasetat, 5: toprakaltı etanol; 6: topraküstü su)

Şekil 4.11'deki bütün bitki ekstraktlarının DNA'nın oluşumunda herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir. Buradaki 1 ve 2 numaralı hattaki örnekler kontrol grubudur. Topraküstü etanol (Hat 3), Topraküstü etilasetat (Hat 4), topraküstü etanol+su (Hat 5), toprakaltı etanol+su (Hat 6) ve toprakaltı hekzan (Hat 7) ekstraktları bulunmaktadır.



Şekil 4.11. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüleri (1 ve 2: kontrol grubu; 3: topraküstü etanol; 4: topraküstü etilasetat; 5: topraküstü etanol+su, 6: toprakaltı etanol+su; 7: toprakaltı hekzan)

Şekil 4.12'deki 1 ve 2 numaralı hatta bulunan örnekler kontrol grubuna aittir. Şekil 4.12'de toprakaltı kloroform (Hat 3), topraküstü kloroform (Hat 5) ve topraküstü hekzan (Hat 6) bitki ekstraktlarının açık halkasal formun konsantrasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği görülmüştür. Toprakaltı kloroform (Hat 3) ekstraktı açık halkasal formun oluşumunda topraküstü kloroform (Hat 5) ve topraküstü hekzan (Hat 6) ekstraktlarından daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Toprakaltı hekzan (Hat 4) ekstraktlarının DNA üzerinde bir etkisi gözlenememiştir. DNA'nın süper sarmal formdan diğer formlara dönüşmesi normal DNA yapısının bozulduğunu göstermektedir. Dolayısı ile yukarıda ifade edilen bitki ekstraktlarının DNA'nın normal yapısını bozup diğer yapılara dönüşmesine neden olması, bu ekstraktların DNA üzerine önemli derecede etkili olduğunu gösterir.



Şekil 4.12. Bitki ekstraktlarının DNA üzerine etkisinin agaroz jel elektroforez görüntüsü (1 ve 2 kontrol grubu; 3: toprakaltı kloroform; 4: toprakaltı hekzan; 5: topraküstü kloroform; 6: topraküstü hekzan)



4.2. Tartışma

Bitkiler içerdikleri sekonder metabolitlerden dolayı virüsler, bakteriler ve funguslar üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Bilim adamları bitkilerin antibakteriyal aktivitelerinin flavonoidler, tanenler ve alkaloitlerin varlığından dolayı olabileceğini ileriye sürmüşlerdir [33]. Antimikrobiyal mekanizmada mikroorganizmaların dış membranda bulunan proteinleri ve iyon kanallarını etkilemektedir. Sekonder metabolitlerden olan fenoller bitkisel antimikrobiyal ajanların en kalabalık grubunu oluşturmaktadır [37]. Polifenollerin güçlü antibakteriyel aktivite özelliklerinin olduğu belirlenmiştir [39]. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapıları farklı olduğundan flavonoidler hem gram pozitif hemde gram negatif bakteriler üzerinde farklı aktivitelere sahiptirler.

Özellikle sekonder metabolitlerden pirolizidin alkaloitleri *Heliotropium* türlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Bu alkaloitler aşırı derecede toksik özelliğe sahiptir ve bu alkaloitler antitümör, antimikrobiyal ve antiviral gibi bazı biyolojik aktivitelerden sorumludurlar [97, 98].

Pirolizidin alkaloitlerinin dağılımı bu cinsin türlerinde ve aynı bitkinin organlarında da farklılık göstermektedir. Örneğin *H. indicum* da pirolizidin alkaloitleri %70 çiçek durumunda saptanmış, *H. spanthulatum*'da genç gövde, yaprak ve tohumlarda en yüksek pirolizidin alkaloitleri rapor edilmiştir [98].

H. samolifolium subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ve toprakaltı kısımlarının antimikrobiyal sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelgedeki sonuçlara göre, topraküstü heksan ekstresinin sadece *E. coli*, topraküstü etanol+su ekstresinin sadece *P. aeruginosa*, topraküstü su ekstresinin sadece *M. luteus* ve topraküstü kloroform, etilasetat, etanol ve su ekstrelerinin ise *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu alttürün çizelge 4.4'deki toprakaltı MİK değerleri incelendiğinde, bütün toprakaltı ekstrelerinin *C. albicans* üzerinde aktiviteye sahip olduğu, etilasetat ekstrelerinin sadece *S. aureus* üzerinde, etanol ekstresinin ise *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *M. luteus* üzerinde güçlü bir mikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Alttürün hem topraküstü hemde toprakaltı kısımları *C. albicans* üzerinde önemli bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Özellikle bitkinin toprakaltı etanol ekstresi araştırmada kullanılan dört bakteriden sadece *E. coli* üzerinde mikrobiyal aktivite gösteremezken, diğer bakteriler

ve maya üzerinde önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Benzer sonuçlar diğer *Heliotropium* türleri ile yapılan antimikrobiyal çalışmalarda da tespit edilmiştir.

H. subulatum Hochst. ex DC.'dan izole edilen bazı pirolizidin alkoloitleri (kloroform, petrol eteri ve etanol ekstraları) bazı bakteri (*E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *B. anthracis*, *Staphylococcus aureus*) ve funguslara (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Rhizoctonia phaseoli* ve *Penicillium chrysogenum*) uygulamıştır. Kloroform ekstralarının *E. coli* bakterisine karşı daha büyük aktivite gösterdiği, oysa petrol eteri ekstralarının *P.chrysogenum* fungusuna karşı daha iyi etkili olduğu bulunmuştur. 7-angeloyl heliotrine bileşiği ise *E. coli* ve *P. chrysogenum* üzerinde daha etkilidir [99].

H. ellipticum Ledeb.'dan izole edilen 7 sterol ve triterpenoitler bakteri ve funguslara uygulanmış ve antimikrobiyal aktivitelerinin hem bakteri hemde funguslar üzerinde en yüksek derecede olduğu belirlenmiştir [99].

H. marifolium Koen. ex Retz.'un hekzan ekstrallerinden izole edilen triterpenoitler patojen bakteri (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*) ve funguslara (*Aspergillus niger* ve *Penicillium chrysogenum*) uygulanmış ve bazı triterpenoitlerin *S. aureus* *P. chrysogenum* üzerinde, oysa bazı triterpenoitlerin ise *E. coli* ve *A. niger* üzerinde yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [100]. Bizim bitkimizin topraküstü hekzan ekstralarının *E. coli* ve toprakaltı hekzan ekstralarının ise *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Singh ve Dubey (2001)'in antimikrobiyal bulguları bizim antimikrobiyal bulgularımızla örtüşmektedir.

H. marifolium'un kloroform, etilasetat, metanol ve su ekstralarının antimikrobiyal etkisi olduğu Radha ve ark. (2003) tarafından rapor edilmiştir [101]. Subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı etilasetat ekstraları Gram pozitif ve maya mantarı (*C. albicans*) üzerinde pozitif antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Toprakaltı etanol ekstraları ise Gram pozitif ve negatif bakteriler ve maya mantarında pozitif aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Radha ve ark.(2003)'nın sonuçları bizim antimikrobiyal sonuçlarımızla benzerdir.

H. filifolium (Miers) Reiche'dan izole edilen bazı sekonder metabolitler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere uygulanmış ve bu metabolitlerin Gram pozitif bakteriler üzerinde aktif antimikrobiyal aktiviteye sahip olurken, bu metabolitlerin Gram negatif bakteriler üzerinde inaktif bir aktivite gösterdiği Urzua ve ark. (2008) tarafından bildirilmiştir [102].

Tez bitkimizin toprakaltı etanol ekstraktları hem Gram pozitif hemde Gram negatif bakterilerde, toprakaltı etil asetat ekstraktları sadece Gram pozitif bakterilerde güçlü antimikrobiyal aktivite gösterirken, topraküstü hekzan ve etanol+su ekstraktları sadece Gram negatif bakterilerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu durum Gram pozitif ve negatif bakterilerin hücre duvarı yapılarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca Urzua ve ark. (2008)'nin antimikrobiyal sonuçları bizim antimikrobiyal sonuçlarımızla uyumludur.

H.europaeum L.'dan izole edilen uçucu yağlar bazı bakterileri ve funguslara (*Staphylococcus aureus* PTCC 1112, *E. coli* PTCC, *Bacillus subtilis* PTCC 1023, *Salmonella typhi* PTCC 1639 ve *Aspergillus niger* PTCC 5011, *C. albicans* PTCC 5027) uygulanmış ve *B. subtilis* ve *S. typhi* üzerinde önemli antimikrobiyal etkiye sahip olduğu Saeedi ve Morteza-Semnani (2009) tarafından rapor edilmiştir [103].

H. indicum'un alkol ekstreleri dört Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, üç fungus ve iki maya üzerine uygulanmış ve kullanılan bütün bakteri, fungi ve mayalar üzerinde umut verici antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [104]. Ayrıca bu çalışmada kullanılan bitki ekstrelerinin özellikle dozlarının antimikrobiyal aktivitede çok önemli olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan *H. indicum* içerdiği bazı uçucu yağların antitüberküloz, yaprak ve gövdenin metanol ekstrelerinin antitümör, yaprağın etanol ekstrelerinin antikatarak, alkol ekstrelerinin de farelerde yara iyileştirme özelliği olduğu tespit edilmiştir [105].

H. indicum'un metanol ekstreleri Gram pozitif (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. lutea*), Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *E. coli*, *S. paratyphi*, *Vibrio mimicus*) ve *A. niger* mantarına uygulanmıştır. En güçlü antimikrobiyal aktivitenin *P. aeruginosa* üzerinde, orta derecede antimikrobiyal aktivitenin *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* ve *S. lutea* bakterileri üzerinde, hafif antibakteriyal aktivitenin ise geriye kalan diğer bakteriler üzerinde olduğu belirtilmiştir [47]. Bizim tez çalışmamızda Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerindeki güçlü antimikrobiyal aktivitenin toprakaltı etanol ekstrelerinde olduğu görülmüştür. Bu durum farklı organik çözücülerin kullanılmasından dolayısıyla farklı sekonder metabolitlerin bitki ekstrelerinde açığa çıkarılmasından kaynaklanabileceği söylenebilir.

H. indicum'un pek çok geleneksel tıp alanlarında kullanıldığı tıbbi özelliğe sahip bir bitki olduğu rapor edilmiştir [105, 106, 107]. Bu bitkinin yaprakları göz ve yılançık hastalıklarının tedavisinde, kökleri balgam söktürücü ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır [108, 109]. Ayrıca deri hastalıklarında, zehirli hayvan ısırıklarında, mide ve sinir düzensizliklerinde, kesik ve yaralarda, romatizmal hastalıklarda, menstrual düzensizliklerde, ishal, böcek sokmalarında, çocuklardaki boğmacada, karın ağrılarında kullanıldığı rapor edilmiştir [110, 111]. *H. indicum*'un yaprakları, kökleri, tohumları, bütün bitki kısımları ve çiçekleri birçok hastalığın tedavisinde dünyanın değişik bölgelerinde kullanılmaktadır.

H. ellipticum'un topraküstü kısımlarının petrol eteri, benzen, kloroform, etanol ekstrelerinin zayıf antimikrobiyal aktivitesi olduğu Jain ve Singh (1998) tarafından bildirilmiştir [112]. Bizim bulgularımızdan topraküstü hekzan ekstraktlarının bakterilerden sadece *E. coli*, topraküstü etanol+su ekstraktlarının sadece *P. aeruginosa* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahipken, diğer topraküstü bitki ekstraktlarının bakteriler üzerinde bir aktivitesi olmadığı bulunmuş. Diğer taraftan *H. ellipticum*'dan izole edilen pirolizidin alkooidlerinin patojen bakteri ve mantarlar üzerinde pozitif antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [113]. *H. curassavicum* L.'un su, etanol, kloroform petrol eteri ekstrelerinin antimikrobiyal etkileri tespit edilmiştir [114].

H. dasycarpum L.'un taze bitki ekstreleri göz hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu bitki türü Boraginaceae familyasının önemli bir çöl bitkisidir [115]. *H. dasycarpum* L.'un metanol ve diklorometan ekstreleri bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere uygulandı ve bitki ekstrelerinin her ikisinde Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde inaktif bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bakteri olarak *E. coli*, *B. subtilis*, *Shigella flexinari*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Salmonella typhi*, fungus olarak *C. albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *C. glabrata* ve *Microsporum canis* kullanılmıştır. Bu bitkinin sadece metanol ekstreleri mantarlardan sadece *Microsporum canis* üzerinde düşük (%25) bir antifungal aktivite gösterirken, diğer mantarlar üzerinde bir aktivite gösterememiştir [116]. Bu türün antifungal aktivite sonuçları *Cordia alliodora*, *C. morelosana*, *Arnebia euchroma*, *Trichodesma amplexicaule* gibi Boraginaceae familyasının diğer bitkilerinden elde edilen sonuçlarla uyum içindedir [117-119]. *Onosma griffithii*'nin metanol ekstraktları *A. flavus* üzerinde %55 ve *F. solani* % 40 antifungal aktivite gösterirken, n-bütanol ve etil asetat ekstreleri bir aktivite gösterememiştir [120]. *Colendia procumbents*'in su ve etanol

ekstraktarı *C. albicans* üzerinde negatif bir aktiviteye sahiptir [121]. Değişik sekonder metabolitler özellikle pirolizidin alkoloitleri, saponinler, taninler ve triterpenoitlerin *Heliotropium* türlerinde antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olduğu bulundu [122]. *H. dasycarpum* da bazı alkoloitler bulunurken, saponinlere ve taninlere rastlanmamıştır. Bu bitkinin Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve mantarlar (*Microsporum canis* hariç) üzerinde antimikrobiyal etki gösterememesinin sebebi saponinlerin ve taninlerin olmamasından kaynaklanabilir. Tez konusunu oluşturan subsp. *erzurumicum*'un topraküstü hekzan ve etanol+su ekstraktarı hariç diğer topraküstü ve toprakaltı ekstraktarı *C. albicans* üzerinde antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Topraküstü hekzan ekstraktarı *E. coli*, topraküstü etanol+su ekstraktarı *P. aeruginosa*, topraküstü su ekstraktarınının *M. luteus*, toprakaltı etil asetat ekstraktarınının *S. aureus*, toprakaltı etanol ekstraktarınının *E. coli* hariç çalışmamızda kullandığımız bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle toprakaltı etanol ekstraktarı bakteriler üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu durum bizim tez çalışmamızda kullandığımız bitkide alkoloitlerin, saponinlerin, taninlerin ve triterpenlerin varlığını ortaya koymaktadır.

H. hirsutissimum Grauer'un petrol eteri, kloroform ve etanol ekstrelerinin altı maya (*C. pseudotropicalis* Kuen 1015, *C. guilliermondii* Kuen 998, *C. krusei* Kuen 1001, *C. albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* CBS 2730 ve *C. tropicalis* Kuen 1024) ve sekiz bakteri (*Staphylococcus epidermis* ATCC 1228, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus pyogenes* NCTC 10870, *Listeria monocytogenes* Kuen 135, *Crynebacterium diphtheriae*) üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve mayalardan *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* ve *C. guilliermondii*, bakterilerden de sadece *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur [123]. Bizim çalışma bitkimizin toprakaltı etilasetat ve etanol ekstraktarında *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. Topraküstü hekzan ve etanol+su ekstraktarı hariç diğer toprakaltı ve topraküstü bitki ekstraktarınının çalışmamızda kullandığımız *C. albicans* mantarı üzerinde antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Böylece bizim bulgularımızla Sür-Altiner ve ark. (1996)'nın bulgularıyla uyum içerisindedir.

H. bacciferum Forssk.'un n-hekzan, n-bütanol, etilasetat ve su ekstreleri *E. coli*, *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Erwinia carotovora*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus atrophaeus* ve *B. subtilis*, *Trichoderma longibrachiantum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium solani* ve *Candida albicans* üzerine uygulanmıştır. Etilasetat ve n-hekzan

ekstreleri bütün bakteriler üzerinde mükemmel bir antibakteriyal aktivite göstermiştir. n-butanol ekstresi *S. aureus* hariç, su ekstresi de *B. subtilis* hariç diğer bakteriler üzerinde iyi bir aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. *H. bacciferum*'un bütün ekstreleri mantarlar üzerinde antifungal etki göstermiştir [124]. Çalışmadaki antifungal sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz antifungal sonuçları desteklemektedir. Ancak n-bütanol ekstresi *S. aureus* ve su ekstreside *B. subtilis* üzerinde inaktif özellik göstermiştir. Bu bitkinin yukarıda belirtilen ekstreleri farklı konsantrasyonlarda *C. albicans*, *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Trichoderma longibrachiantum* gibi funguslara uygulanmış ve önemli antifungal sonuçlar elde edilmiştir [124]. Yukarıdaki bulgulara göre Ahmad ve ark. [2015] *H. bacciferum*'un değişik hastalıkların tedavisinde önemli olacağını rapor etmişlerdir.

H. indicum'un antioksidan özelliği DPPH metodu kullanılarak belirlenmiştir. Metanol ekstresinin antioksidan özelliğinin olduğu tespit edilmiştir [47]. Ayrıca başka bilim adamları tarafından *H. indicum*'un önemli antioksidan, antimikrobiyal, sitototik ve zar stabilasyon özelliklerinin olduğu rapor edilmiştir [106, 107].

H. indicum'un antioksidan özelliğini belirlemek için petrol eteri, kloroform, su ve etanol ekstraktları kullanıldı. Bu ekstraktlarda fenollere, flavonoidlere, steroidlere, taninlere alkaloitlere, saponinlere ve proteinlere rastlanmıştır. DPPH ve H₂O₂ metotlarına göre etanol ekstraktlarının antioksidan özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir [125]. *H. indicum* ekstraktlarındaki taninler ve flavonoidlerin serbest radikal süpürücüler olduğu Santhosha ve ark. (2015) tarafından bulundu [125]. Ayrıca flavonoidler ve taninler fenolik bileşiklerdir ve bitki fenolikleri serbest radikal süpürücüler veya başlıca antioksidanlardır. Bu çalışmanın sonuçları *H. indicum*'un etanol ekstraktlarının doğal antioksidan kaynağı ve gıda takviyesinde veya farmasötik endüstrisinde kullanılabileceğini gösterdi.

H. sinuatum'dan Miers. izole edilen flavonoidlerin, *H. sclerocarpum*'un Phil. fenolik bileşiklerinin ve reçinenin antioksidan özelliğe sahip olduğu görüldü [126-128]. *H. zeylanicum* (Burm.) Lam. metanol ve kloroform ekstraktlarının antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir [129]. *H. glutinosum* Phil. *H. taltalense* Phil. diklorometan ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin varlığı tespit edilmiştir [130, 131].

Bitki sekonder metabolitlerinden olan fenolikler veya polifenoller antioksidan aktivitelere sahip olduklarından çok önemli bileşiklerdir. *C. longiflorus* subsp. *longiflorus*'un özellikle

metanolla hazırlanan topraküstü ve toprakaltı ekstraktlarının önemli antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklere sahip olduğu bulunmuştur [132]. Ayar (2019), Hassan ve ark. (2013), Yen ve ark. (1996) ve Hertog ve ark. (1993) yaptıkları çalışmalarda metanolün, antioksidanların ekstraksiyonu için etkili bir çözücü olduğunu rapor etmişlerdir [132-135].

Bazı çalışmalarda, saponinler, flavonoidler, fenoller ve tanenlerin antikanser ve antioksidan aktivitelerinde önemli rol oynadıkları bulunmuştur [136-139]. Yapılan DPPH sonuçlarımıza göre *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* bitkisinin bütün organik çözücüler ile elde edilen ekstraktlarının yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Kullandığımız organik çözücüler içerisinde özellikle de topraküstü etanol+su ekstraktının IC₅₀ değerinin 0,011 mg/ml olduğundan en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan toprakaltı bitki ekstraktları içerisinde toprakaltı etanol ekstraktının antioksidan özelliğinin daha güçlü olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz DPPH bulgularına göre, inceleme bitkimizin antioksidan özelliğinin çok yüksek seviyelerde olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ancak topraküstü kısımların antioksidan özelliğinin toprakaltı kısımlara göre daha yüksek olduğu hesaplanmıştır. Bizim tez bitkimizde elde ettiğimiz antioksidan etkilerin kullandığımız ekstraktlarda tanenler, flavonoidler, fenoller ve saponinlerin varlığından ileri gelebileceği söylenebilir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular Santhosha ve ark. (2015) tarafından *H. indicum*'un etanol ekstraktlarından elde ettikleri bulgularla uyum içerisindedir [125]. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı etanol ekstraktları gelecekte doğal antioksidan kaynağı olabilir.

Tez çalışmasındaki fenolik madde içeriği sonuçlarına göre, topraküstü ve toprakaltı kloroform ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin diğer bitki ekstraktlarına oranla en yüksek olduğu belirlenmiştir. Kloroform ekstraktlarından sonra toprakaltı etanol+su ekstraktlarının, daha sonra da topraküstü ve toprakaltı etanol ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin yüksek olduğu bulunmuştur. Toprakaltı su ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin (10,24 µg/mL) diğer bitki ekstraktlarına göre çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan topraküstü ve toprakaltı hekzan, topraküstü ve toprakaltı etilasetat, topraküstü etanol+su ve su ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin olmadığı belirlenmiştir.

Murugesha ve ark. (2006)'nın *H. zeylanicum* bitkisinden elde ettikleri fenolik madde içeriği sonuçları ile bizim tez konusunu oluşturan bitkimizden elde ettiğimiz fenolik madde sonuçları paralellik göstermektedir [129]. Fenolik madde bulgularına göre, inceleme

bitkimizin toprakaltı ve topraküstü kloroform ekstraktları gelecekte güçlü doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Zengin ve ark.(2016) *C. longiflorus* subsp. *longiflorus* ve *Cerithe minor* subsp. *auriculata* (Ten.) Domac bitkilerinin metanolle hazırlanan ekstraktlarının güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir [140].

Yapılan başka bir çalışmada Liliaceae familyasından *Allium ampeloprasum* L. , *Muscari armeniacum* L. , *Asparagus acutifolius* L. , *Gagea graeca* L. ve *Ornithogalum sigmoideum* L. türlerin etanol ekstreleri ile antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Antioksidan etki sonuçlarına göre en yüksek IC50 değeri 11.24 mg/ml değer ile *O. sigmoideum* bitkisinin toprakaltı etanol ekstraktında elde edilmiştir. DPPH serbest radikali süpürme sonucunda *G. graeca* haricinde bütün bitkilerde toprakaltı kısımlardan elde edilen ekstraktlar, topraküstü ekstraktlara kıyasla daha yüksek seviyede antioksidan etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda bitki ekstraktları iyi bir antioksidan kaynak olabilecek özellik gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda antioksidan aktivitede kullanılan ekstraktlar, demans, alzheimer, bunama, yaşlılık vb. hastalıkları önlemede antioksidan içerik bulundurmaktadır. Bu ekstraktlar kanser oluşturabilen zararlı yapay antioksidanların yerine, gıda sektöründe uzun raf ömrünü sağlayabilecek sağlıklı antioksidan kaynak olarak kullanılabilmesi önerilmiştir [141].

H. samolifolium subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı ve topraküstü kısımlarının farklı organik çözeltilerle hazırlanmış ekstraktlarının plazmit DNA üzerine etkisi ilk defa çalışılmıştır. Toprakaltı su ekstraktı DNA'nın açık halkasal formun oluşmasında diğer bitki ekstraktları olan toprakaltı etilasetat (Hat 4), toprakaltı etanol (Hat 5) ve topraküstü su (Hat 6) ekstraktlarından daha güçlü bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Topraküstü etanol (Hat 3), topraküstü etilasetat (Hat 4), topraküstü etanol+su (Hat 5), toprakaltı etanol+su (Hat 5) ve toprakaltı hekzan (Hat 6) ekstraktlarının DNA'nın açık halkasal formu üzerinde herhangi bir etki gösterememiştir (Şekil 4.11).

Toprakaltı kloroform (Hat 3) ekstraktının DNA'nın açık halkasal formunun oluşması üzerinde topraküstü kloroform (Hat 5) ve topraküstü hekzan (Hat 6) ekstraktlarından daha fazla etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).

Literatürde çeşitli bitkilerin bu şekilde yapılmış birçok biyolojik aktivite çalışması bulunmaktadır. Örneğin; Kaba navruz (*Iris galatica* Siehe.) bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen hekzan, diklorometan, metanol ve su özütlerinin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktivitelerin araştırıldığı çalışmada; bitki, kök, çiçek ve yaprak özütlerinin konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri ayrıca özütlerin tümünün DNA'yı UV ve H₂O₂'nin zararlı etkilerine karşı koruduğu saptanmıştır [142].

Endemik türlerden biri olan *Iris kirkwoodiae* Chaudhary bitkisinin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktivitelerini içeren biyolojik aktivitesi incelenmiştir. Antioksidan aktivitesini belirlemek için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH testleri, antibakteriyel aktivite testi için MIK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi ve DNA koruyucu aktivite için pBR322 plazmit DNA'sından yararlanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda; özellikle su ve metanol ekstralarının oldukça yüksek antioksidan aktivite, kök hekzan ekstresi dışındaki tüm ekstraların geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite ve kök diklorometan ile su ekstraları dışındaki tüm ekstraların UV ve H₂O₂ ile oluşturulan plazmit DNA hasarına karşı koruyucu özellik gösterdiği gözlenmiştir [143].

Başka bir endemik bitki türü *Linaria corifolia* Desf. (Plantaginaceae) ile yapılan benzer bir çalışmada bitkinin topraküstü ve toprakaltı kısımlarının etanol, etilasetat ve diklorometan ekstralarının antioksidan, antimikrobiyal ve plazmit DNA üzerine koruyucu etkinlik gösterdiği belirlenmiştir [144].

Sonuç olarak, bu alttürün toprakaltı kısımlarının topraküstü kısımlarına göre daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Özellikle toprakaltı etanol ekstraları hem maya hemde bakteriler üzerinde güçlü bir aktiviteye sahiptir. Böylece bu alttürün toprakaltı etanol ekstraları maya ve bakteri kaynaklı hastalıkların tedavisinde geleneksel tıp alanında kullanılabilceği düşünülmektedir. Fenolik madde içeriğinin en fazla topraküstü ve toprakaltı kloroform ve toprakaltı etanol+su ekstralarında hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri bütün bitki ekstralarında yüksek olmasına rağmen, topraküstü kloroform, etanol+su ve toprakaltı etanol ekstralarında en yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre, *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un topraküstü ve toprakaltı kloroform ve toprakaltı etanol+su ve toprakaltı etanol ekstraları güçlü doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabilme kapasitesine sahiptir. Toprakaltı ve topraküstü kloroform, topraküstü hekzan, toprakaltı su, toprakaltı etilasetat, toprakaltı etanol ve

topraküstü su ekstraktları DNA'nın normal yapısını bozmuştur. DNA'nın süper sarmal yapısının diğer formlara dönüşümü DNA'nın yapısının bozulduğunu dolayısıyla sözü edilen ekstraktların DNA üzerine yüksek seviyede aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Araştırma bitkimizin bu ekstraktları birçok hastalığın tedavi edilmesinde rol oynayacak ilaçların veya preparatların yapısına katılabilir. Kısacası bu alttürün toprakaltı ve topraküstü kısımları antioksidan, antimikrobiyal ve DNA üzerinde önemli aktivitelere sahiptir. İlâveten bu alttür bilim dünyasında yeni olduğu için halk arasında ve diğer alanlarda kimyasal yapısı tanınmamaktadır. Bu alttürün en kısa zamanda kimyasal kompozisyonununda araştırılması gerekmektedir. Böylelikle bitkinin halk arasında fungus ve bakteri kaynaklı hastalıkların tedavisinde daha bilinçli bir şekilde kullanımı sağlanacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde ettiğimiz bulgu ve sonuçlara göre özellikle kloroform ekstraktının fenolik madde içeriği çok yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Etanol ekstraktıda kloroformdan sonra en yüksek seviyede fenolik madde içeriğine sahip olduğu sonucuna ulaşıldı. Tezde çalıştığımız bitkimizin DPPH radikalini süpürme aktivitesinin bütün çözücülerde çok yüksek olduğu ve bu bitkinin antioksidan özelliğinin çok iyi derecede olduğu belirlenmiştir. Yüksek orandaki bu antioksidan özelliğinin bitkinin yapısında sekonder metabolit olarak adlandırdığımız bileşiklerin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Topraküstü etanol + su ekstraktının diğer ekstraktlara göre, az seviyedeki oranlarının DPPH radikalini yüksek oranda süpürme etkisine sahip olduğu ve dolayısıyla antioksidan kapasitesinin çok iyi olduğu tespit edilmiştir. Tez bitkimiz *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum*'un çok iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği dolayısıyla ilaç ve gıda sektöründe ciddi olarak kullanılabileceği ileriye sürülmüştür.

Bitkinin serbest radikalleri süpürme, reaktif oksijen türler gibi hücrel hasarlara sebep olan faktörlerin oluşmasına engel olması antioksidan özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bitkinin yapısında, fenolik bileşikler, saponinler, fenoller ve tanen gibi moleküllerin varlığından dolayı yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Doğal antioksidanlar tükettiğimiz birçok meyve ve sebze bulunmaktadır ve pek çok hastalığın oluşmasına engel olmaktadır.

Tez bitkimizin yüksek seviyede antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu görülmektedir. Alttürün toprakaltı ve topraküstü kısımlarının *C. albicans* üzerinde çok ciddi antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Alttürün etanol ekstraktının kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* NRLLB 1018, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine çok yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Benzer sonuçların diğer *Heliotropium* türlerinde de görüldüğü rapor edilmiştir. Alttürün özellikle bakterileri ve fungi kaynaklı hastalıkların tedavi ve iyileştirilmesinde önemli bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.

H. samolifolium subsp. *erzurumicum*'un toprakaltı ve topraküstü kloroform, topraküstü hekzan, toprakaltı su, toprakaltı etilasetat, toprakaltı etanol ve topraküstü su ekstraktları DNA'nın normal yapısını tahrip edici yönde bir aktivite göstermiştir. Araştırma bitkimizin

yukarıda belirtilen ekstraktlarının gelecekte birçok hastalığının tedavisinde rol oynayacak ilaçların veya preparatların yapısına katılabileceği önerilmiştir.

Yapılan bu bilimsel çalışmanın sonucunda tez bitkimizden elde edilen ekstraktlarının hemen hemen hepsinin güçlü bir antioksidan kapasitesi olduğu belirlenmiştir. Kısacası bu alttürün toprakaltı ve topraküstü kısımları antioksidan, antimikrobiyal ve DNA üzerinde önemli aktivitelere sahip olduğundan bitkinin farklı çözücülerle yapılan ekstraktlarının ilaç endüstrisinde ve gıda sektöründe ciddi bir kaynak olarak kullanılabilceği ortaya konmuştur. Yaptığımız bu çalışma sayesinde Ülkemizin 2023 hedefleri doğrultusunda, sağlık alanındaki yatırım ve üretime çok büyük destek olacağında şüphe yoktur. Bu bitkinin ülke olarak hedeflediğimiz 2023 sağlık vizyonunun gerçekleşmesi amacı ile *Heliotropium samolifolium* subsp. *erzurumicum* bitkisinin önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. *H. samolifolium* subsp. *erzurumicum* alttürü ile ilgili bu alanda bir çalışma yapılmadığı dolayısıyla bu çalışmanın literatüre iyi bir kaynak olarak fayda sağlayacağı muhakkaktır. Aynı zamanda elde ettiğimiz sonuçlarla yapacağımız makalenin kaliteli bir dergide yayınlanması da üniversitemize ve ülkemize büyük katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., ve Başer, K. (2000). Flora of Turkey. *Edinburg University Press. Edinburg*, 11.
2. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., ve Adıgüzel, N. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler*. Ankara: Red Data Book Of Turkish Plants (Pteridophyta And Spermatophyta), 459-466.
3. Aydın, S. (2004). Anadolu Diyagonalı: Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel bir Farklılığa işaret edebilir mi? *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 9(17), 117-137.
4. Başer, K. H. C. (2000). Uçucu yağların parlak geleceği. *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni*, 15, 20-33.
5. Toroğlu, S., ve Çenet, M. (2006). Tedavi amaçla kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve mikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metotlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 9(2), 18-26.
6. Faydalıoğlu, E., ve Sürücüoğlu, M. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
7. Şener, G., ve Yeğen, B. Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22(3), 5-13.
8. Baydar, H. (2013). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları*, 303.
9. Zhao, J., Wang, J., Chen, Y., and Agarwal, R. (1999). Anti-tumor promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two stage initiation promotion protocol and identification of procyanidin B5-3-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, 20(9), 1737-1745.
10. Khalil, M., Moustafa, A., and Naguib, N. (2007). Growth phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4), 451-457.

11. Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., and Boskou, D. (1998). Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food resarch international*, 31(5), 351-354.
12. Valko, M., Leibfritz, D., and Moncola, j. (2007). Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *International Journal Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
13. Alaca Güre, F.,ve Arabacı, O. (2005). Bazı tıbbi bitkilerdeki doğal antioksidanlar ve önemi. (s. 465-470). Antalya: Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi.
14. Mantle, D., Anderton, J., Folkos, G., Barnes, M., Jones, P., and Perry, E. (1998). Comparison of methods for determination of total antioxidant status:application to analysis of medicinal plant essential oils. *ComparativeBiochemistry and Physiology Part B*, 385-391.
15. Eryılmaz, B. (2001). *Capsicum annuum (L.) Solanaceae meyvelerinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilmesi*. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
16. Shinde, A., Ganu, J., and Naik, P. (2012). Effect of free radicals Antioxidants on oxidative stress: A Review. *Journal Dent Allied Sci*, 1(2), 63-66.
17. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y., and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Resarch*, 3(1), 91-100.
18. Pham-Huy, L., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidant in Disease and Health. *International Journal Biomed Science*, 4(2), 89-96.
19. Öğüt, S. (2014). Doğal antioksidanların önemi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(1), 25-30.
20. Erdoğan, E., and Everest, A. (2013). Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2), 27-32.
21. Panizzi, L., Flamini, G., and Cioni, P. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal Ethnopharmacol*, 39(3), 167-70.

22. Benli, M., and Yiğit, N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(8), 1-8.
23. Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., and Aydın, H. (2010). Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 32(4), 281-286.
24. Başer, K. (1997). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı. 39. (İ. T. Odası, Dü.) İstanbul: Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi.
25. Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, Geçmişte ve Bugün* (s. 550). içinde İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi.
26. Erdoğan, S., Özkara, A., Korcan, S., Bağcı, Y., ve Dural, H. (2012). *Sartoria hedysaroides* Boiss. Heldr Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. *Afyon Kocatepe University Journal of Science*, 12(1), 17-22.
27. Ertürk, Ö., ve Demirbağ, Z. (2003). *Scorzonare mollis* Bieb. (Compositae) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Çevkor*, 12(47), 27-31.
28. Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H., and Qureshi, M. (2011). In Vitro Screening of Methanol Plant Extracts for Their Antibacterial Activity. *Pak. Journal Botanica*, 43(1), 531-538.
29. Liu, Y., and Wang, M. (2007). Botanical drugs: challenges and opportunities. *Contribution to Linnaeus Symposium. Life Sciences*, 82(9-10), 445-449.
30. Sekar, S., and Kandavel, D. (2010). Interaction of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Endophytes with Medicinal Plants-New Avenues for Phytochemicals. *Journal Phytology*, 2(7), 91-100.
31. Patrakar, R., Gond, N., and Jadge, D. (2010). Flower Extract of *Jacaranda acutifolia* Used as a Natural Indicator in Acid Base Titration. *Journal Pharm. Tech. Res*, 2(3), 1954-1957.
32. Vital, P., Velasco, J., Demigillo, J., and Riyera, W. (2010). Antimicrobial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of *Ficus septica* Burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts. *Journal Med. Plants Research*, 4(1), 58-63.

33. Draughon, F. A. (2004). Use of Botanicals as Biopreservatives in Foods. *Food technology*, 58(2), 20-28.
34. Cowan, M. (1999). Plants products as antimicrobial agent. *Clin. Microbial. Rev.*, 12(4), 564-582.
35. Okunade, A. L., & Elvin, L. M. (2004). Natural antimycobacterial metabolites Current Status. *Phytochemistry*, 65(8), 1017-1032.
36. Cheesman, L., Nair, j., and Van Staden, j. (2012). Antibacterial activity of crinane alkaloids from *Boophone disticha* (Amaryllidacea). *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2), 405-408.
37. Karou, D., Nadembega, W., Quattara, L., Ilboudo, D. P., Canini, A., Nikiema, J. B., and Traore, A. S. (2007). African Ethnopharmacology and New Drug Discovery. *Medicinal and Aromatic plant science and Biotech*, 1(1), 61-69.
38. Rates, S. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603-613.
39. Taguri, T., Tanaka, T., and Kouno, I. (2004). Antimicrobial activity of 10 different plant polyhenol against Bacteria causing food-borne disease. *Biol. Pharm. Bull.*, 27(12), 1965-1969.
40. Vishwakarma, R. A. (1990). Stereoselective Synthesis of a-Arteether from Artemisinin. *Journal. Nat. Prod.*, 53(1), 216-217.
41. Gutern, A., Ioset, J. R., Queiroz, E. F., Foggin, C. M., and Hostettman, K. (2001). Quinones from *Heliotropium ovalifolium*. *Phytochemistry*, 58, 631-635.
42. Singh, B., Sahu, P. M., and Singh, S. (2002). Antimicrobial activity of pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium subulatum*. *Fitoterapia*, 73(2), 153-155.
43. Santhosha, D., Ramesh, A., Hemalatha, E., and Nagulu, M. (2015). Phytochemical screening and anti-oxidant activity of ethanolic extract of *Heliotropium indicum*. *International research journal of pharmacy*, 6(8), 567-572.
44. Goyal, N., and Sharma, S. (2014). Bioactive phytoconstituents and plant extracts from genus *Heliotropium*. *International Journal of Green Pharmacy*, 8(4), 217-225.

45. Roy, A. (2015). Pharmacological activities of Indian Heliotrope (*Heliotropium indicum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(3), 101-104.
46. Gaffari, M., Bano, S., and Hayat, K. (2013). Antimicrobial and phytotoxic effects of the plant *Heliotropium dasycarpum* L. . *International Journal of Pharmacol and Bio Sciences*, 4(4), 339-345.
47. Begum, Y. (2014). Antibacterial, antioksidant and cytotoxic activities of *Heliotropium indicum*. *Experiment*, 23(1), 1564-1569.
48. Ahmad, S., Bibi, I., N, M., Hussain, H., Ishaq, M., Adnan, M., and Ullah, R. (2015). Antibacterial and antifungal avtivites of the extract and fractions of aerial parts of *Heliotropium bacciferum*. *Afr Journal Tradit complement altern Med.*, 12(2), 32-35.
49. Shoge, M. O., Ndukwe, G. I., and Amupitan, J. (2011). Phytochemical and antimicrobial studies on the aerial parts of *Heliotropium indicum* Linn. *Annals of Biological Resarch*, 2(2), 129-136.
50. Scott, O., and Osho, A. (2012). Comparison of antimicrobiyal effects of *Mezoneuronbenthamianum*, *Heliotropium indicum* and *Flabellaria paniculata* on *Candida* species. *Journal of Microbiology Research*, 2(1), 18-23.
51. AL, A. (1968). West African plants research. *Journal of ethno phamacology*, 145-150.
52. Urzua, A., Echeverria, J., Rozende, Rozende, M., and Wilkens, M. (2008). Antibacterial properties of 3 H-Spiro(1-benzofuran-2,1-cyclohexane) derivates from *Heliotropium filifolium*. *Molecules*, 13(10), 2385-2393.
53. Graser, G., and Hartmann, T. (1997). Biosynthetic incorporation of the aminobutyl group of spermidine into pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry*, 45(8), 1591-1595.
54. Graser, G., Witte, L., Robins, D., and Hartmann, T. (1998). Incorporation of chirally deterated putrescines into pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry*, 1017.
55. Ghorı, M., Ghaffari, M., Hussain, S., Manzoor, M., and Sarwer, W. (2016). Ethnopharmacological, phytochemical and pharmacognostic potential of genus *Heliotropium* L. *Türk Journal Pharmacol Science*, 13(2), 143-168.

56. Sharma, R., Singh, B., Singh, D., and Chandrawat, P. (2009). Ethnomedicinal, pharmacological properties and chemistry of some medicinal plants of Boraginaceae in India. *Jornal of Medicinal Plants Research*, 3(13), 1153-1175.
57. Mabberley, D. (1997). *The Plant-Book*. Cambridge University Press.
58. Yıldırım, Ş. (2000). The chorology of the Turkish species of Boraginaceae family. *The Herb Journal of Systematic Botany*, 7(2), 257-272.
59. Davis, P. (1978). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Edinburg University Press*, 6, 248-255.
60. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırma Derneği Yayınları.
61. Diane , N., Further, H., and Hilger, H. (2002). A systematic analysis of Heliotropium, Tournefortia and allied taxa of the Heliotropiaceae (Boraginales) baseb on ITS1 sequences and morphological data. *Am. Journal Botanica*, 89(2), 287-295.
62. Dönmez, A. (2008). Heliotropium samolifolium subsp. erzurumicum (Boraginacea), a new subspecies from Turkey. *Annual Botanical Fennici*, 45, 396-399.
63. Kandemir N., Çelik A., Shah N. S., and Razzaq A., 2019. Comparative micro-anatomical investigation of genus Heliotropium (Boraginaceae) found in Turkey. *Flora* (in press).
64. Jensen, S. (2003). Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 666-667, 387-392.
65. İnternet:İsmail Paksoy. Serbest Radikaller - Oksidatif Stres. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fismailpaksoy.com.tr%2Fserbest-radikaller.asp&date=2019-05-21>, Son Erişim Tarihi: 21.05.2019.
66. Van den Berg, R., Haenen, G., Van den Berg, H., and Bast, A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 4(66), 511-517.

67. İnternet: Oksidatif stres nedir? [URL:http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fsynevo.com.tr%2Ftr%2FOksidatif-Stres-Paneli&date=2019-05-24](http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fsynevo.com.tr%2Ftr%2FOksidatif-Stres-Paneli&date=2019-05-24), Son erişim tarihi: 24.05.2019.
68. Onat, T., Emerk, K., and Sözmen, E. (2002). *İnsan Biyokimyası*. Ankara: *Palme Yayıncılık*.
69. Kahkönen, M., Hopia, A., Vuorela, H., Rauha, J., Kujala, T., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant avctivity of plants extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
70. Güçlü, K., Apak, R., and Özyürek, M. (2009). Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Tübitak Proje.
71. Cihaner, S. (2009). İndol-amino asit türevi yeni ilaç etken maddelerinin sentezleri ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Ankara: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü .
72. Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, 10(98), 01-04.
73. Bouayed, J., and Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants - Double edged swords in cellular redox state. *Oxidate Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228-237.
74. Benbrook, M. C. (2005). Elevating antioxidant levels in food throgh organic farming and food processing. *The Organic Center [Electronic Journal]*, 4-21.
75. Bali, E. B. (2012). *Achillea teretifolia* wılld. Özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi. Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
76. Huang, D., Ou, B., and Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
77. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., and Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.

78. Madigan, T., ve Martinko, M. (2010). *Mikroorganizmaların biyolojisi*. Ankara: Palme Yayıncılık.
79. Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., ve Yılmaz, G. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. (s. 11-5). TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi.
80. Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *Carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
81. Öztürk, H. (2009). *Jurinea Consanguinea*'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi. Edirne: Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
82. İnternet: Uğur Demirpek. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.
URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.klimik.org.tr%2Fwpcontent%2Fuploads%2F2012%2F02%2F128201112107.pdf&date=2019-05-29>, Son erişim tarihi: 29.05.2019.
83. İnternet: Antimikrobiyal Maddeler.
URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fazkurs.org%2Fantikrobiyal-maddeler-antibiyotik.html&date=2019-05-29>, Son erişim tarihi: 29.05.2019.
84. Smillie, C., Garcillan-Barcia, M. P., Francia, M. V., Rocha, E. P., Cruz, and Fernando de la. (2010). Mobility of Plasmids. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 434-452.
85. Doğan, P., (2009). *Pediococcus Acidilactici* PBF Suşunda Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genin Aktarımı. Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
86. Thomas, C. M., and Summers, D. (2008). Bacterial Plasmids. *Encyclopedia of Life Sciences*, 361, 1761-1776.
87. İnternet: Vincent Racaniello. The Chlamydia Vaccine: Reloaded. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fthatbasicscience.blogspot.com%2F2011%2F12%2Fchlamydia-vaccinereloaded.html&date=2019-05-29>, Son erişim tarihi: 29.05.2019.

88. Albert, A., Spirito, F., Figueroa-Bossi, N., Bossi, L., and Rahmouni, A. (1996). Hyper-negative template DNA supercoiling during transcription of the tetracycline-resistance gene in topa mutants is largely constrained in vivo. *Nucl Acids Research*, 24, 3093-3099.
89. Özbek, S. (2012). *Gypsophila Pilulifera Boiss. Türünden Elde Edilen Ekstreleri Saflaştırılmış Alkalen Proteaz Ve Dna Hasarı Üzerine Etkileri İle Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması*. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
90. İnternet: Ross C. Hardison and T. Ming Chu.. Measuring a change in linking number. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fbio.libretexts.org%2FBookshelves%2FGenetics%2FBook%253A%20Working%20with%20Molecular%20Genetics%28Hardison%29%2FUnit%20I%253A%20Genes%252C%20Nucleic%20Acids%252C%20Genomes%20and%20Chromosomes%2F2%253A%20Structures%20of%20Nucleic%20Acids%2F2.8%253A%20Intro&date=2019-05-29>, Son erişim tarihi:29.05.2019.
91. İnternet: Moleküler biyoloji, biyokimya ve hücre biyolojisi hakkında detaylı bilgiler içeren moleküler biyoloji ve genetik öğrencisi tarafından hazırlanan bir blog. DNA'nın Nükleus İçerisindeki Organizasyonu: Kromozom, Kromatid. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Faboutmolecularbilogy.blogspot.com%2F2019%2F01%2Fdnann-nukleus-icerisindeki.html&date=2019-05-29>, Son erişim tarihi:29.05.2019.
92. Aydınoglu, F. (2014). Biyoloji Laboratuvarı. *Moleküler biyolojide temel teknikler ; Agroz jel elektroforezi*. Kocaeli, Gebze: Gebze Teknik Üniversitesi, 1-3.
93. Haung D., Ou B., and Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal. Agric. Chem*, 53(6), 1841-1856.
94. Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fugita, Y., and Yasuhara, T. (1989). Effect of the interaction of tannin with co-existing substances VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical. *Chem. Pharmacol. Bull.* 37, 2016-2021.
95. Singleton, V. L., and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phospho-tungstic acid reagents. *Am. Journal Enol . Vitic*, 16, 144-158.

96. Babu, J., Pramod, W.R., George, T., Nitisha, S. (2007). Standard Review Cold-active microbial Lipases: a versatile tool for industrial applications. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 2(2), 039-048.
97. Singh, B., Sahu, P., Jain, S., and Singh, S. (2002). Antineoplastic and antiviral screening of pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium subulatum*. *Pharmacol Biological*, 40(8), 581-586.
98. Singh, B., Sahu, P., and Singh, S. (2002). Antimicrobial activity of pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium subulatum*. *Fitoterapia*, 73(2), 153-155.
99. Jain, S., Singh, B., and Jain, R. (2001). Antimicrobial activity of triterpenoids from *Heliotropium ellipticum*. *Fitoterapia*, 72(6), 666-668.
100. Singh, B., and Dubey, M. (2001). Estimation of triterpenoids from *Heliotropium marifolium* Koen. ex Retz. In vivo and In vitro. I. Antimicrobial screening. *Phytother Research*, 15(3), 231-234.
101. Radha, R., Lata, T., and Rajendran, N. (2003). Antimicrobial activity of crude extracts of *Heliotropium marifolium* Retz. *Journal Nat Remedies*, 3(2), 208-201.
102. Urzua, A., Echeverria, J., Rezende, M., and Wilkens, M. (2008). Antibacterial properties of 3 H Spiro[1 benzofuran 2,1' cyclohexane] derivatives from *Heliotropium filifolium*. *Molecules*, 13(10), 2385-2393.
103. Saeedi, M., and Morteza-Semnani, K. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Heliotropium europaeum*. *Chem Nat Compd*, 45(1), 98-99.
104. Rao, P., Nammi, S., Routhu, K., and Vijaya Raju, A. (2006). Antimicrobial activity of alcoholic extract of *Heliotropium indicum* in vitro. *Asia Pacific Journal Pharmacol*, 16(3), 121-122.
105. Roy, A. (2015). Pharmacological activities of Indian Heliotrope (*Heliotropium indicum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(3), 101-104.
106. Mourin, N., Sharmin, T., Chowdhury, S., Islam, F., Rahman, M., and Rashid, M. (2013). Evaluation of bioactivities of *Heliotropium indicum*, a medicinal plant of Bangladesh. *The pharma innovation journal*, 2(5), 217-221.

107. Shoge, M., Ndukwe, G., and Amupitan, J. (2011). Phytochemical and antimicrobial studies on the aerial parts of *Heliotropium indicum*. *Linn. Annals of Biological Research*, 2(2), 129-136.
108. Chadha, Y. (1991). The wealth of India: A dictionary of Indian raw materials industrial products. *Council of Scientific and Industrial Research*, 5-28.
109. Reddy, J. S., Rao, P. R., and Reddy, M. S. (2002). Wound healing effect of *Heliotropium indicum* *Plumbago zeylanicum* and *Acalypha indicain* rats. *Journal Ethnopharmacol*, 79(2), 249-251.
110. Das, K., Dutta, K., and Sharma, D. (2008). Medicinal plants used by different tribes of Cachar distric, Assam. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 7(3), 446-454.
111. Dash, G., and Abdullah, M. (2013). A review on *Heliotropium indicum* L. (Boraginacea). *International Journal Pharm Science Research*, 4(4), 1253-1258.
112. Jain, S., and Singh, B. (1998). Bioefficacy of *Heliotropium ellipticum* Ledeb.I. Antimicrobial screening. *Indian Journal Pharmaceutical Sciences*, 60(6), 394-396.
113. Jain, S., and Sharma, R. (1987). Antimicrobial activity of pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium ellipticum*. *Chem Pharm Bull*, 35(8), 3487-3489.
114. Mandeel , Q., and Taha, A. (2005). Assessment of in vitro antifungal activities of various extracts of indigenous Bahraini medicinal plants. *Pharm Biological*, 43(4), 340-348.
115. Tareen, R., Bibi, T., Khan, M., Ahmad, M., and Zafar, M. (2010). Indigenous knowledge of folk medicine by the women of Kalat and Khuzdar regions of Balochistan. *Pakistan Journal Botanic*, 42(3), 1465-1485.
116. Gaffari, M., Bano, S., and Hayat, K. (2013). Antimicrobial and phytotoxic effects of the plant *Heliotropium dasycarpum* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(4), 339-345.
117. Ionset, J., Marston, A., Gupta, M., and Hostettmann, K. (1998). Antifungal and larvicidal meroterpenoid naphthoquinones and a naphthoxirene from the roots of *Cordia linnaei*. *Phytochemistry*, 47(5), 729-734.

118. Sanchez, D., Najera, G., Rivera, I., Ramirez, O., Cisneros, M., and Garcia, V. (2009). Antimicrobial activity of Medicinal plants from the Huautla sierra biosphere reserve in Morelos (Mexico). *Polibotanica*, 28, 213-225.
119. Singh, B., and Singh, S. (2003). Antimicrobial activity of Terpenoids from *Trichodesma amplexicaule* Roth. *Phytotherapy Research*, 17(7), 814-816.
120. Ahmad, B., Ali, N., Bashir, S., Choudhary, M., Azam, S., and Kan, I. (2009). Parasiticidal, antifungal and antibacterial activities of *Onosma griffithii* Vatke. *African Journal of Biotechnology*, 8(19), 5084-5087.
121. Ramakrishnan, G., Kothai, R., Jaykar, B., and Rathnakumar, T. (2011). In vitro Antibacterial activity of different extracts of leaves of *Colendia procumbens*. *International Journal of PharmTech Research*, 3, 1000-1004.
122. Scott, O., and Osho, A. (2012). Comparison of antimicrobiyal effects of *Mezoneuron benthamianum*, *Heliotropium indicum* and *Flabellaria paniculata* on *Candida* species. *Journal of Microbiology Research*, 2(1), 18-23.
123. Sür-Altner, D., Gürkan, E., Sarıboyacı, U., Uzun, M., and Tuzlacı, E. (1996). *Heliotropium hirsutissimum*'un antibakteriyal ve antifungal etkileri. *Mar. Üniv. Ecz. Der*, 12(2), 77-80.
124. Ahmad, S., Ahmad, S., Bibi, I., Abdel-Salam, N., Hussain, H., Ishaq, M., and Ullah, R. (2015). Antibacterial and antifungal activities of the extract and fractions of aerial parts of *Heliotropium bacciferum*. *Afr Journal Tradit Complement Altern Med*, 12(2), 32-35.
125. Santhosha, D., Ramesh, A., Hemalatha, E., and Nagulu, M. (2015). Phytochemical screening and anti-oxidant activity of ethanolic extract of *Heliotropium indicum*. *International research journal of pharmacy*, 6(8), 567-572.
126. Modak, B., Contreas, M., Gonzalez-Nilo, F., and Torres, R. (2005). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from the resinous exudate of *Heliotropium sinuatum*. *Bioorg Med Chem Lett*, 15(2), 309-312.
127. Modak, B., Rojas, M., and Torres, R. (2009). Chemical analysis of the resinous exudate isolated from *Heliotropium taltalense* and evaluation of the antioxidant activity of the phenolics components and the resin in homogeneous and heterogeneous systems. *Molecules*, 14(6), 1980-9.

128. Goyal, N., and Sharma, S. (2014). Bioactive phytoconstituents and plant extracts from genus *Heliotropium*. *International Journal of Green Pharmacy. Int J Green Pharm*, 8(4), 217.
129. Muruges, K., Veerendra, Y., Dash, D., Sengupta, P., and Maitiy, T. (2006). Antidiabetic, antioxidant and antihyperlipidemic status of *Heliotropium zeylanicum* extract on streptozotocin induced diabetes in rats. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 29(11), 2202-2205.
130. Modak, B., Rojas, M., Torres, R., Rodilla, J., and Luebert, F. (2007). Antioxidant activity of a new aromatic geranyl derivative of the resinous exudates from *Heliotropium glutinosum* Phil. *Molecules*, 12(5), 1057-63.
131. Modak, B., Salina, M., Rodilla, J., and Torres, R. (2009). Study of the chemical composition of the resinous exudate isolated from *Heliotropium Sclerocarpum* and evaluation of the antioxidant properties of the phenolic compounds and the resin. *Molecules*, 14(11), 4625-4633.
132. Ayar, E. (2019). *Centranthus Longiflorus ssp. Longiflorus ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin incelemesi*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans tezi, Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya.
133. Hassan, R., Hussein, F., Akram, H., Ali, B., Ahmed, K., and Bassam, B. (2013). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Centranthus longiflorus* L. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 3(3), 29-36.
134. Yeng, G., Wu, S., and Duh, P. (1996). Extraction and Identification of Antioxidant Components from The Leaves of Mulberry (*Morus alba* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1687-1690.
135. Hertog, M., Hollman, P., and Van de Putte, B. (1993). Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of Tea Infusions, Wines, and Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(8), 1242-1246.
136. Wink, M. (2012). Secondary Metabolites from Plants Inhibiting ABC Transporters and Reversing Resistance of Cancer Cells and Microbes to Cytotoxic and Antimicrobial Agents. *Frontiers In Microbiology*, 23(3), 130.

137. Law, P., Auyeung, K., Chan, L., and Ko, J. (2012). Astragalus Saponins Downregulate Vascular Endothelial Growth Factor Under Cobalt Chloride-Stimulated Hypoxia in Colon Cancer Cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 160.
138. Zamora-Ros, R., Agudo, A., Lujan-Barroso, L., Romieu, I., Ferrari, P., Knaze, V., and Sanchez-Cantalejo, E. (2012). Dietary Flavonoid and Lignan Intake and Gastric Adenocarcinoma Risk in The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(6), 1398-1408.
139. Prasad, R., Vaid, M., and Katiyarand, S. (2012). Grape Proanthocyanidin Inhibit Pancreatic Cancer Cell Growth in vitro and in vivo Through Induction of Apoptosis and by Targeting The PI3K/Akt Pathway. *Plos One*, 7(8), 43064.
140. Zengin, G., Nithiyantham, S., Locatelli, M., Ceylan, R., Uysal, S., Aktumsek, A., and Maskovic, P. (2016). Screening of In vitro Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of Different Extracts From Two Uninvestigated Wild Plants: *Centranthus longiflorus* subsp. *longiflorus* and *Cerithe minor* subsp. *auriculata*. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(3), 286-292.
141. Özcan, F. (2013). Bazı Liliaceae familyası üyelerinin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan, antimutajenik ve sitotoksik aktiviteleri. Muğla: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
142. Orhan, E. (2015). Endemik *Iris galatica*'nın *Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
143. Emaduldeen, A. (2014). *Iris kirkwoodiae*'nin *Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü.
144. Gul, M., Öztürk Çali, I., Cansaran, A., Idil, O., Kulu, I., and Çelikoğlu, U. (2017). Evaluation of Phytochemical Content, Antioxidant, Antimicrobial Activity and DNA Cleavage Effect of Endemic *Linaria corifolia* Desf.(Plantaginaceae). *Cogent Chemistry*, 3(1), 1-14.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Galip SAĞLAM
 Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
 e-posta : gsglm20@gmail.com

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi	2014
Yüksek Lisans	Amasya Üniversitesi	
İş Deneyimi/Yıl	Çalıştığı Yer	Görevi
2014-	Gençlik Merkezleri	Fenbilimleri-Biyoloji öđrt.

Yabancı Dili

İngilizce

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1. Sağlam, G., Kandemir, N., Kandemir, Ş., ve İdil, Ö. Endemik *Heliotropium samolifolium* Bunge subsp. *erzurumicum* Dönmez'un Topraküstü ve Toprakaltı Kısımlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin Karşılaştırılması. 5.Ulusal Botanik Kongresi 07-10 Ekim 2018 Bodrum/Muğla
2. Amasya Üniversitesi Uygulamalı Biyoinformatik Çalıştayı 20-22 Eylül 2017 Amasya