

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Verbascum antiochium Boiss. (Scrophulariaceae)
BİTKİ EKSTRAKTININ ANTIMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

MİRAY YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

OCAK 2009

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Bitkilerin Sekonder Metabolitleri.....	6
2.2. Bitkilerin İn Vitro Biyolojik Aktiviteleri.....	7
2.2.1. <i>Verbascum</i> Türlerinin İn Vitro Biyolojik Aktiviteleri.....	10
2.3. Bitkilerin İn Vitro Antioksidan Özellikleri	13
2.3.1. <i>Verbascum</i> Türlerinin İn Vitro Antioksidan Özellikleri.....	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. <i>Verbascum antiochium</i> (Boiss.) Bitkisinin Toplanması ve Teshisi.....	18
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Özütleme İşlemleri.....	19
3.2.1.1. Artan Polariteye Göre Özütleme.....	20
3.2.1.2. Direkt Metanol Özütlemesi.....	21
3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri.....	21
3.2.2.1. Bitki Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri İçin Hazırlanması.....	21
3.2.2.2. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	21

	Sayfa
3.2.3. Antioksidan Aktivite Deneyleri.....	22
3.2.3.1. Bitki Özütlelerinin Antioksidan Aktivite Deneyleri İçin Hazırlanması.....	22
3.2.3.2. DPPH Yöntemi.....	23
3.2.3.3. β -Karoten Renk Açılım Testi.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	25
4.1. Özütle Verimleri.....	25
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	26
4.2.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	26
4.2.2. Artan Polarite Özütlelerinin Antimikrobiyal Aktivitesi	26
4.2.3. Direkt Metanol Özütlelerinin Antimikrobiyal Aktivitesi	30
4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları	33
4.3.1. DPPH Yöntemi	33
4.3.2. Beta Karoten Renk Açılım Testi	37
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR.....	42
TEŞEKKÜR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ÖZET

***Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae) BİTKİSİNİN İN VİTRO ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Scrophulariaceae familyasına ait olan *Verbascum antiochium* Boiss. türünün in vitro antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Artan polarite ve direkt metanol özütleme yöntemleriyle elde edilen polar ve non-polar özütlerin antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi ile dokuz Gram-pozitif, altı Gram-negatif bakteri ve bir fungus üzerinde çalışılmıştır. Non-polar hekzan ve diklorometan özütlerinde belirgin bir antibakteriyel etki gözlenmezken, metanol/kloroform ve polar metanol/su özütlerinde artan bir etki gözlenmiştir. En yüksek antibakteriyel etki direkt metanol özütünde saptanmıştır. Fungus üzerinde sadece hekzan özütünün antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Antioksidan kapasite direkt metanol özütü kullanılarak DPPH (2,2-difenilpikrilhidrazil) ve beta-karoten renk açılımı yöntemleriyle test edilmiştir. Özüt ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve askorbik asidin, DPPH radikalının %50 inhibisyon sağlayan IC50 değerleri sırasıyla 4.8 mg/ml, 1.53 mg/ml ve 0.46 mg/ml olarak bulunmuştur. Beta-karoten renk açılım testinde, 48. saatin sonunda *V. antiochium* bitki özütünün linoleik asit oksidasyonunu % 88.58, BHT' nin ise % 92.47 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

2009, 49 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Verbascum antiochium*, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, tıbbi bitkiler

ABSTRACT**DETERMINATION OF IN VITRO ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae)**

The antimicrobial and antioxidant activities of *Verbascum antiochium* Boiss. species, a member of *Scrophulariaceae* family, were determined. The polar and non-polar extracts obtained by increasing polarity and direct methanol extraction were tested for antimicrobial activity by using well diffusion methods against nine gram positive bacteria, six gram negative bacteria and one fungus. While an increasing antibacterial effect was observed on nonpolar methanol-chloroform and polar methanol/water extracts, non-polar parts including hexane and dichloromethane extracts exhibited weak antibacterial effect. The highest antibacterial activity was determined on direct methanolic extract. Among the extracts, only hexane extract showed antifungal activity.

The antioxidant capacities of methanolic extract of *V. antiochium* was determined with DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazil) and beta-carotene bleaching test system. The 50% (IC₅₀) inhibition of methanolic extract, and BHT and ascorbic acid, used as positive controls, on the free radical DPPH were calculated according to results of DPPH method. IC₅₀ of extract, BHT and ascorbic acid were determined as 4.8 mg/ml, 1.53 mg/ml and 0.46 mg/ml, respectively. The % inhibition of linoleic acid oxidation taken on depending on time was evaluated according to blank. At the end of the forty-eight hours, while the methanolic extract of *V. antiochium* exhibited % 88.58 inhibition on the oxidation of linoleic acid, BHT, positive control, showed % 92.47 inhibition.

2009, 49 Pages

Key Words: *Verbascum antiochium*, antimicrobial activity, antioxidant activity, medicinal plants

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATCC	American Type Culture Collection
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenilpikrilhidrazil
HO [·]	Hidroksil Radikali
IC ₅₀	% 50 inhibisyon değeri
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MRSA	Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus
NCTC	The National Collection of Type Cultures
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SDA	Saboroud Dekstroz Agar
SDB	Saboroud Dekstroz Broth
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>V. antiochium</i> bitkisinin özüt verimleri.....	25
Çizelge 4.2. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemiyle belirlenen antibiyotik duyarlılık testleri.....	27
Çizelge 4.3. <i>V. antiochium</i> hekzan, diklorometan, metanol/kloroform ve metanol/su (artan polariteye göre) özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi...28	28
Çizelge 4.4. <i>V. antiochium</i> ' un direkt metanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivitesi.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Verbascum antiochium</i> Boiss. bitkisinin görünümü	18
Şekil 3.2. <i>Verbascum antiochium</i> bitki materyalinin özütleme işlemleri.....	20
Şekil 4.1. <i>V. antiochium</i> ' dan elde edilen metanol ve metanol/su özütlerinin <i>H. influenzae</i> ATCC 49247 bakterisi üzerinde agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivitesi.....	29
Şekil 4.2. <i>V. antiochium</i> ' un metanolik özütünün çeşitli derişimlerine karşı DPPH' nin % inhibisyon grafiği.....	34
Şekil 4.3. BHT' nin çeşitli derişimlerine karşı DPPH' nin % inhibisyon grafiği.....	35
Şekil 4.4. Askorbik asitin çeşitli derişimlerine karşı DPPH' nin % inhibisyon grafiği..	36
Şekil 4.5. <i>V. antiochium</i> , BHT ve Askorbik asitin DPPH testinde % 50 inhibisyon sağlayan derişimleri.....	37

1. GİRİŞ

Hastalık etkenlerinin dünyanın oluşumundan bu yana var oldukları ve eski devirlere ait kemik kalıntılarından insanların bu hastalıklardan etkilendikleri bilinmektedir. Dolayısıyla ilk insandan itibaren hastalıklara karşı korunma yöntemlerinin var olduğu düşünülmektedir.

Hastalık etkenlerine karşı korunma şekilleri ilk zamanlarda içgüdüsel olarak gelişmiştir. Zaman içinde insanlar etrafındaki tabiat unsurlarını yavaş yavaş tanıyarak (su, toprak, bitkiler vs.) bunları tedavi aracı olarak kullanmaya başlamışlardır. İnsanoğlu bitkileri, tarih boyunca barınak, giyecek, yiyecek, baharat, parfüm ve ilaç olarak kullanmıştır. Bitkilerin tedavi edici olarak kullanılması antik zamanlara kadar uzanmaktadır. Tarih boyunca tüm anakaralarda yaşayan insanlar yüzlerce yerli bitkinin lapasını ve çayını tedavi amacıyla kullanmışlardır (Baytop, 1984).

Bitkilerin tedavide kullanımları çok eski tarihlerde başlar. İnsanoğlu ilk çağlarda, hastalıkları iyileştirebilmek için tabiata, hayvanlara ve özellikle de bitkilere yönelmişlerdir.

Yeryüzünde 750.000 ile 1.000.000 arasında bitki türünün olduğu ve bu bitki türlerinin % 1-10'u kadarının insanlar ve diğer hayvanlar tarafından besin olarak kullanıldığı tahmin edilmektedir. Fakat bu orandan çok daha fazlasının ise tıbbi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Baytop, 1999; Cowan, 1999).

Deneme ve yanılma yöntemiyle bazen etkili bitkiler bulup onları kullanmışlardır. Tıbbi bitkiler hakkında en eski kitabın Çin Hükümdarı Shin-Nong tarafından M.Ö. 3700 yıllarında yazıldığı belirtilmektedir. Eski devirlere ait mezarlarda bulunan yazı ve şekiller bize Mısırlıların M.Ö. 3700 yıllarında bitkisel kaynaklardan faydalandıklarını ve bunların ticaretini yaptıklarını göstermektedir. İlk olarak Aristoteles bitkiler âlemi ile etraflı bir şekilde ilgilenmiş ve 'Bitkinin Teorisi' adlı kitabını yazmıştır. Onun ardından Aristo' nun öğrencisi meşhur botanikçi Theoprast, bildiklerini ve mevcut olan bilgileri bir araya getirmiştir. Theoprast 'Historie de Plante' isimli kitabında; *Claviceps purpurea* (çavdarmahmuzu), *Caspicum* (biber), *Papaver* (haşhaş), *Cinnamomum* (tarçın) gibi çok sayıda bitkisel drogdan bahsetmiştir. Hippocrates (5. yy) 300-400 civarında tıbbi bitkiden bahsetmiştir. Zaman içinde yeni bitkiler tanınarak yeni yöntemler geliştirilmiş, bitkisel öz taşıyan ekstreler tedavi amaçlı olarak kullanılmış ve günümüze kadar bu tedavi şekli süregelmiştir (Baytop, 1972).

Yeniçağın başlaması ile birlikte, eski droglar yanında yenileri bulunmuştur. 16. yy' ın ilk yarısında farmasötik kimyayı kuran Paracelcus, bitkilerden belirli maddeleri izole etmiş, kimyasal maddelerden ilaç hazırlamıştır. Bu sırada matbaanın icadı ile buluşların yazılması ve basılması kolaylaşmış, 1749' da Linne' nin 'Materia Medica' adlı eseri kendi sistematüğini tamamlamada çok önemli rol oynamıştır. Bitki droglarının yapı, tanım ve işlevlerini inceleyen farmakognozi bilimi ilk defa 19. yy başlarında ortaya atılmıştır (Ceylan, 1995).

Uzun yıllar geleneksel şekilde devam eden bitkilerin bu kullanım şekilleri 20. yüzyılın başından itibaren değışime uğramış, gıdalara baharat olarak katılan ve tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin çeşitli özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır.

Anadolu'da ise bitkilerin tedavi amacıyla kullanımı yüzyıllar öncesine, hatta Hitit uygarlığından da öncesine dayanmaktadır (Başer, 2000). Bu konuyla ilgili Şanidar mağarasındaki (Hakkâri' nin güneyinde) yontma taş dönemine ait mezarlarda bulunan bitki türleri bunun kanıtlarından biridir. Sümer, Asur ve Akad medeniyetlerinde de bitkilerin tedavi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. M.Ö. 3000 yıllarına ait tabletlerdeki yazılardan bu medeniyetler döneminde sihir ve bitkisel ilaçlar yardımıyla tedavinin yapıldığı ve bu amaçla çeşitli bitkilerin kullanıldığı belirtilmiştir. Adamotu, nane, kekik, haşhaş, banotu, nar kabuğu ve safran gibi 250 kadar bitkinin bu dönemde kullanıldığı bilinmektedir (Baytop, 1999). Anadolu'da tarih boyunca bitkilerin yaygın kullanımının nedeni bu bölgenin sahip olduğu fitocoğrafik özelliğinin ve kültürel zenginliğinin bir sonucudur. Anadolu' nun çeşitli iklim tiplerinin etkisinde olması ve sahip olduğu coğrafik konum flora çeşitliliğinin oluşumundaki en önemli etkenlerin başında gelmektedir. 11000' in üzerindeki bitki türüyle zengin bir floraya sahip olan Anadolu' da birçok bitki tedavi amacıyla kullanılmıştır (Başer, 2000).

Bitkiler, antik çağ uygarlıklarından, günümüzün gelişmiş modern toplumlarına kadar pek çok insan tarafından sağlığın korunmasında önemli bir araç olarak kullanılmıştır. Modern ilaçların % 50' den fazlasının doğal ürün kökenli olması, bu durumun günümüzde de etkin bir şekilde devam ettiğini göstermektedir. Örneğın gelişmekte olan ülkelerde nüfusun % 80' i sağlık gereksinimlerini ilk etapta geleneksel tıbbi bitkilerden sağlamaktadır. Dünya nüfusunun % 80' inin gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse, toplam dünya nüfusunun % 64' ünün bitkileri tedavi amaçlı olarak kullandığı anlaşılmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise reçete ile satılan ilaçların

yaklaşık % 25' i bitkisel kökenli kimyasallardır. (Principe, 1991; Babaoğlu ve ark., 2002). Avrupa Birliği üye ülkelerindeki araştırma sonuçlarına göre, yaklaşık olarak 1400 adet bitkisel preparat özellikle Almanya, Fransa, Belçika ve Hollanda' da temel sağlık hizmetlerinde kullanıldığı bildirilmiştir (Hoareau ve Da Silva, 1999).

1990' ların sonunda bitkisel ekstraktların kullanılması diğer alternatif tıbbi tedaviler kadar beğenilmeye ve popülaritesi artmaya başlamıştır. Dünya genelinde botanik kökenli ilaçların kullanımında artış olduğu bilinmektedir (Cowan, 1999). Ayrıca sentetik katkı maddelerinin mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin ortaya çıkması ile birlikte doğal ürünlere talep giderek artmıştır (Fowler, 1982). Bitkilerden elde edilen doğal ürünler farmasötik endüstrinin ilaç geliştirme programlarında ciddi bir öneme sahiptir (Nair ve ark., 2005). Günümüzde bitkilerden özütlenerek tüm dünyada tıbbi tedavide kullanılan 119 adet ilaç bulunmaktadır. Bu nedenle ilaç geliştirme çalışmalarının birinci basamağı olarak bitkilerin araştırılması mantıklı bir gerekçe olarak görülmektedir (Farnsworth, 1990).

Dünya sağlık teşkilatı (WHO)' nın 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak yaptığı bir araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır (Mahindru, 1992).

Bitkilerin iyileştirici etkisi doğal yapılarında bulunan ve sekonder metabolit olarak adlandırılan kimyasallardan kaynaklanmaktadır (Philipson, 1990). Bitki sekonder metabolitleri kozmetik, gıda ve farmasötik endüstriyel uygulamalar ve tıbbi uygulamalarda büyük bir potansiyele sahiptirler (Dorman ve Deans, 2000).

Bitki kaynaklı aktif doğal ürünlerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Özellikle günümüzde yeni antimikrobiyal ajan ve doğal antioksidan madde geliştirme çalışmalarında bitkiler ön plana çıkmıştır. Antibiyotiklerin 1940' larda ortaya çıkışından sonra bitkisel ekstraktların antibiyotik olarak kullanımında düşüş gözlenmiştir (Cowan, 1999). Tıp otoriteleri tarafından antibiyotiklerin infeksiyon hastalıklarının kökünü kurutacağına inanılıyordu. Ancak antibiyotiklerle kontrol altına alındığı düşünülen hastalık ve hastalık etmenleri bir süre sonra antibiyotik tedavilerine dirençli hale gelmeye başlamışlardır. Bu ilaç direncine sahip mikroorganizma kaynaklı salgınların neden olduğu genel bir küresel problemle karşı karşıya kalınmıştır. Özellikle metisilin dirençli stafilokoklar, penisilin ve

makrolidlere dirençli pnömokoklar, makrolid ve vankomisine dirençli enterokoklar gibi çoklu ilaç direncine sahip bakteri suşlarının artmasıyla mevcut ilaçlar etkisiz olmaya ve infeksiyon hastalıklarının tedavisinde başarısız olunmaya başlanmıştır.

Bununla birlikte bilim insanları direnç geliştiren bakterilere karşı koyabilmek için alternatif antibiyotik ajan üretme çalışmalarını hızlı bir şekilde sürdürmektedir. Bu aşamada tıbbi bitkiler içerdikleri tanen, terpenoid, alkaloid, flavonoid gibi sekonder metabolitlerden dolayı ilgi odağı haline gelmişlerdir. İn vitro koşullarda yapılmış pek çok çalışmada bitkilerden elde edilen özütlerin ve bu özütlerden saflaştırılan bileşiklerin antimikrobiyal aktivite gösterdiği çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Sibanda ve Okoh, 2007).

Bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra antioksidan özellikleri ile de ilgilenilmektedir. Oksidatif metabolizma sonucunda hücrede serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri karbonhidratlar, proteinler, lipitler ve DNA molekülü ile reaksiyona girebilirler. Bunun sonucunda hücresel yaşlanma, kanser, hücre ölümü gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Ayrıca gıda maddelerinde besinsel kalitenin azalmasına yol açmaktadırlar (Eryılmaz, 2001; Mantle ve ark., 1998; Vichi ve ark., 2001).

Günümüzde besin endüstrisinde ticari olarak kullanılan çeşitli sentetik antioksidan maddeler mevcuttur. Ancak bu sentetik antioksidanların olumsuz sağlık sorunlarını tetikleyeceğine dair bir takım bilgiler bulunmaktadır (Koleva ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada sentetik antioksidanların farelerde akciğer harabiyeti, karaciğerde nekroz ve kanamaya bağlı ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Candan ve Sökmen, 2004). Bu kısıtlayıcı nedenlerden dolayı sentetik antioksidan ajanların yerini alabilecek doğal antioksidan madde araştırmalarında bitkiler oldukça önem kazanmıştır.

Verilen bilgiler doğrultusunda *Scrophulariaceae* familyasına ait iki yıllık bir bitki olan *Verbascum antiochium* Boiss. bitkisinden çeşitli özütlerin elde edilmesi, bu özütlerin çeşitli gram pozitif, gram negatif bakteriler ve bir adet fungusun dahil olduğu 16 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmesi ve iki farklı yöntemle bitki ekstraktının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hastalık etmenlerinin ilk insandan önce yeryüzünde bulunduğu, çok eski devirlere ait kemikler, fosiller gibi kalıntılardan anlaşılmaktadır. İlk insandan itibaren hastalık etmenlerine karşı korunma yolları aranmış, bu korunma başlangıçta onların içgüdüleri yardımı ile olmuştur. Ancak aradan geçen uzun süre içinde insanlar çevrelerinde bulunan hem abiyotik (hava, su vb.) hem de biyotik (mikroorganizmalar, bitkiler, hayvanlar vb.) faktörleri kendi tedavilerinde yararlanan obje ve aracı olarak kullanmaya başlamışlardır.

İnsanoğlu tarihi boyunca bitkilerden ilaç, parfüm, yiyecek olarak faydalanmışlardır. M.Ö. 2600 yılında yazılmış ve tedavinin bitkilerle yapıldığına dair ilk kanıtlar Mezopotamya’ da bulunmuştur. Toprak tabletler üzerine çivi yazısı ile yazılmış bu ilk kanıtlarda, yaklaşık olarak 1000 adet bitki içeriğinin geleneksel tedavide kullanıldığı belirtilmiştir. *Cedrus L.* (sedir) türleri, *Cupressus sempervirens* (mazı), *Glycyrrhiza glabra* (meyan kökü), *Papaver somniferum* (haşhaş) gibi bitkiler tabletler üzerinde adları bulunan bitkilerdendir. Bu bitkiler bugün de öksürükten soğuk algınlığına kadar pek çok rahatsızlığın tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Newman ve ark., 1999).

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin sayısı antik çağlardan bu yana bir artış göstermiştir. Örneğin Mezopotamya uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel drog sayısı 250, Grekler döneminde 600, Arap Fars uygarlığı döneminde ise 4000 kadardır. 19. yüzyılın başlarındaysa bilinen tıbbi bitki sayısının 13.000’ e ulaştığı bildirilmiştir (Baytop, 1999).

Son yıllarda bitkilerin kullanımıyla gerçekleştirilen geleneksel tedavi yöntemlerine adeta bir geri dönüş yaşanmış ve bu alan oldukça popüler hale gelmiştir. Örneğin Amerika’ da 1996 yılında, bir önceki yıla göre % 37 oranında daha fazla bitkisel ilaç satıldığı rapor edilmiştir (Cowan, 1999).

Tıbbi bitkilerin halk arasında hangi hastalıkların tedavisinde kullanıldığını belirlemek için gerek ülkemizde, gerekse dünyanın pek çok yerinde etnofarmakolojik araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmaların ışığında; *Salvia officinalis* tıbbi adaçayı olarak satılmaktadır, *Nerium olender*’ in düşük dozlarda kalp kuvvetlendirici, idrar söktürücü olarak kullanıldığı (Tuğlacı, 1974), *Vitex agnus-castus*’ un idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanıldığı (Baytop, 1984), *Teucrium polium*’ un

romatizma tedavisinde, *Rhus coriaria*' nin gastrik ülser ve böbrek ağrılarının giderilmesinde (Yeşilada ve ark., 1993), *Ranunculus ficaria* ve *Centaurea drabifolia*' nin hemoroid tedavisinde (Gürhan ve Ezer, 2004), *Helichrysum melanacme*' nin baş ağrısı, ateş ve göğüs ağrısı hastalıklarında (Lall ve ark., 2006) kullanıldığı belirtilmiştir. Ayrıca *Melissa officinalis*, *Allium sativum* ve *Melaleuca alternifolia*' nin antibakteriyel ajan olarak (Rios ve Recio, 2005), *Rubus canescens*' in antipiretik olarak, *Mentha longifolia*' nin antihelmintik, *Plantago major*' un malarya hastalığına karşı, *Asparagus acutifolius*' un öksürüğe karşı, *Cerantonia siliqua*' nin antidiyareyik ve diüretik olarak (Polunin ve Huxley, 1972) kullanıldığı rapor edilmiştir.

Bitkilerin iyileştirici etkisi sahip oldukları sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır. Özellikle bitki savunma sisteminde önemli görevler üstlenen sekonder metabolitlerin, yapılan in vitro çalışmalarda çeşitli patojen mikroorganizmaların büyümelerini inhibe ettikleri ve antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Dormans ve Deans, 2000).

2.1. Bitki Sekonder Metabolitleri

Bitkiler primer metabolitlerin aksine; besin ve enerji sağlama gibi yaşamsal değer taşımayan ve bitki büyüme, gelişiminde doğrudan görev almayan organik maddeler üretirler. Bu maddeler “sekonder metabolitler” olarak isimlendirilir ve sekonder metabolizma süreci sonucunda üretilirler. Sekonder metabolitler, bitki hücresinin yapısında bulunan ve devamlılığın sağlanmasında temel göreve sahip olan karbonhidrat, lipid, protein ve nükleik asit gibi birincil metabolizma ürünlerinden farklılık gösterirler (Briskin, 2000). Kimyasal olarak 3 farklı grupta toplanırlar. Bunlar terpenler, fenolikler ve alkaloidlerdir. Fitokimyasallar olarak da adlandırılan sekonder metabolitler ilk keşfedildiklerinde bugünkü kadar önemli değillerdi. Çünkü sekonder metabolitler, kimyasal yapılarının ve çeşitliliğinin bilinmesine rağmen pek çok botanikçi tarafından, bitkiler için önemsiz ve hatta atık metabolitler olarak kabul edilmişti (Hartmann, 1996). Fakat organik kimyacılar, 1850' lerden beri yaygın bir şekilde bu ürünlerin kimyasal özelliklerini araştırmış ve her geçen gün bu yeni fitokimyasal ürünlere karşı gösterdikleri ilgiyi arttırmışlardır. Bugünkü çağdaş organik kimyanın temelini teşkil eden ayrıştırma tekniklerinin gelişmesi bu doğal ürünler üzerine yapılmakta olan çalışmalarını da teşvik etmiştir. Bu çalışmalar sonucunda

sekonder metabolitlerin bitki bünyesindeki önemli ekolojik işlevi de yavaş yavaş aydınlatılmaya başlanmış ve bu kimyasalların bitkinin çevresiyle olan etkileşiminde oldukça önemli rolleri olduğu saptanmıştır. Gelenen son noktada sekonder metabolitlerin bitkiyi herbivor ve patojen saldırılarına karşı koruduğu, allelopatide aktif rol oynadığı ve palinatörleri cezp etmede önemli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (Babaoğlu, 2002). Organik Kimya alanındaki gelişmelerin ışığında sekonder metabolitler üzerine oluşan ilgi sadece akademik boyutta kalmamıştır. Bu kimyasalların aynı zamanda boya, zambak, tutkal, parfümeri, tatlandırıcı ve polimer sanayi alanlarında kullanılması, onları endüstriyel alanda da önemli kılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucunda sekonder metabolitlerin biyolojik etkilerinin aydınlatılmasıyla birlikte bu kimyasallar bugün herbisit, insektisit, ilaç ve alternatif antibiyotik ajan araştırmalarının odağında yer almaya başlamıştır (Buchanan, 2000). Bitkilerden elde edilen bu aktif doğal ürünlerin biyolojik aktivitelerinin aydınlatılması bu alanla ilgili pek çok çalışmaya ön ayak olmuştur.

Etnofarmakolojik araştırmaların sonuçlarına dayanılarak yapılan çalışmalarda, bitkilerden elde edilen özütlerin çeşitli biyolojik aktiviteler ile antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur.

2.2. Bitkilerin İn Vitro Biyolojik Aktiviteleri

Bitkilerden çeşitli yöntemlerle elde edilen özütlerin antibakteriyel etkilere sahip oldukları bilinmektedir (Dorman ve Deans, 2000). İn vitro ortamda yapılmış olan pek çok çalışmada da çeşitli bitkilerden elde edilmiş özütlerin antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Sökmen ve ark., 1999; Nascimento ve ark., 2000; Tepe ve ark., 2004, Uysal ve ark., 2005; Sağdıç ve ark., 2008). Özellikle bitkisel kaynaklı uçucu yağlarda bulunan α -pinen, eucalyptol, camphor, camphene ve borneol gibi terpenlerin in vitro ortamda *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis* gibi patojen mikroorganizmalara karşı önemli derecelerde inhibisyon zonları oluşturdukları gözlenmiştir (Tepe ve ark., 2004). Ayrıca *Iris germanica* L. bitkisinin rizomlarından elde edilen izoflavonoidlerin (5,7,3'-trihidroksi-6,4',5'- trimetoksiflavon ve 5-hidroksi-4'-metoksi,6,7-metilendioksiflavon) *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri üzerinde etkili oldukları belirlenmiştir. *Buxus longifolia* L. bitkisi

ile yapılan antibakteriyel aktivite incelemeleri sonucunda *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri üzerinde etkili buxamarine, (+)-siklovirobuxeine-F bileşikleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerin azot ihtiva ettiği ve steroidal yapıya sahip oldukları saptanmıştır (Şener, 2004). Ayrıca Anadolu’ da Sakarya yöresinde halk tarafından antifungal olarak kullanılan *Arum maculatum*, bronşit, akne ve egzama için kullanılan *Datura stramonium*, yaralanmalarda kullanılan *Geranium asphodeloides* ve romatizma ağrılarında kullanılan *Equisetum telmateia* bitkilerinin petrol eteri ekstraktlarının patojen mikroorganizmalar üzerinde önemli antibakteriyel etki gösterdikleri belirtilmiştir (Uzun ve ark., 2004). 2000 yılında İsrail’ de yapılan benzeri bir çalışmada Filistin halkı tarafından etkin bir şekilde kullanılan 15 tıbbi bitkinin, patojen organizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. İnceleme sonucunda *Thymus vulgaris* ve *Thymus origanum* bitkilerinin hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdikleri açıklanmıştır (Essawi ve Srour, 2000). Pereira ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *Salvia officinalis*’ ten elde edilen uçucu yağın üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilmiş patojen mikroorganizmaları % 100 inhibe ettiği belirtilmiştir (Pereira ve ark., 2004).

Antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra bitki özüt ve uçucu yağlarının antifungal aktivite gösterdikleri ortaya konmuştur. Çeşitli bitkilerden elde edilen uçucu yağların *Candida albicans* gibi mayalar üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu belirtilmiştir. (Tepe ve ark., 2004). Bitki özütlerinin in vitro antifungal aktiviteleri üzerine yapılmış olan bir çalışmada, *Avena sativa* (yulaf), *Hedera helix* (duvar sarmaşığı) ve *Datura stramonium* (şeytan elması) gibi bitkilerin bitki patojeni bazı funguslar üzerinde antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Türküsay ve Onoğur, 1998). 1999 yılında Ürdün’ de yapılan bir diğer çalışmada *Bryonia syriaca* ve *Ononis spinosa* bitkilerinden elde edilen özütlerin, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Fusarium moniliforme* funguslarına karşı antifungal ajan olarak kullanılan mikonazol nitrattan on kat daha etkili oldukları bildirilmiştir (Mahasneh ve El-Oqlah, 1999).

Tıbbi bitkilerin antiviral aktivitelerine ilişkin de çok sayıda veri bulunmaktadır. Baharat, çay ve gıda olarak kullanılan pek çok bitki uçucu yağının yüksek oranda antiviral aktivite göstermiş olduğu ifade edilmektedir (Jassim ve Naji, 2003). *Sanicula europa* bitkisinin rizomlarından elde edilen sulu ekstraktın influenza-A virüsüne karşı

antiviral aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Turan ve ark., 1999). Fas' ta yapılan bir çalışmada ülkedeki Arap toplumu tarafından tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin herpes virüsüne karşı etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda halk tarafından bronşit, öksürük ve soğuk algınlığında kullanılan *Thymus maroccanus*' un, mide ağrıları ve ülser için kullanılan *Pistacia lentiscus*' un özütlerinin herpes virüsü üzerinde oldukça etkili oldukları belirtilmiştir (Mouhajir ve ark., 2001). Güney Afrika' da yapılan bir diğer çalışmada ise *Helichrysum aureonitens* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen galangin aktif maddesinin herpes simpleks virüs tip 1 (HSV-1) ve koksaki B virüs tip 1 (Cox B1) virüslerine karşı önemli derecede antiviral aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Meyer ve ark., 1997).

Bazı Türk tıbbi bitkilerinden ve doku kültürlerinden elde edilmiş özütlerle yapılan bir araştırmada ise, *Ecbalium elaterium* bitkisinin hücre kültüründen elde edilen özütün sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Sökmen, 1999).

Dünyanın tropikal bölgelerinde yılda en az bir milyon kişinin ölümüne neden olan sıtma hastalığına karşı bitkilerden faydalanılmıştır. Yapılan çalışmalarda *Artemisia annua* bitkisinden izole edilen *artemisinin* etken maddesinin sıtma hastalığına karşı önemli aktivite gösterdiği ve tedavide kullanıldığı ifade edilmiştir. Ayrıca Avrupa' da aromatik özelliklerinden dolayı kültürü yapılan *A. abrotanum*' dan izole edilen etken maddelerin antimalaryal aktivite gösterdiği de belirtilmiştir (Schwikkard ve Heerden, 2002).

Halk arasında migrene karşı kullanılan ve antienflamatuvar etkisi çeşitli çalışmalarla belirlenmiş olan *Tanacetum parthenium*' un içerdiği bir seskiterpen lakton türevidir olan partenolid ve çeşitli özütlerinin antileşmanyal aktivitesi araştırılmıştır. Bu araştırmaların sonucunda özütlerin ve partenolidin *Leishmania amazonensis*' in promastigot formunu üzerinde önemli derecede inhibisyon aktivitesi gösterdikleri belirtilmiştir. Elde edilmiş olan bu sonuçlar antileşmanya ilaçlarının geliştirilmesinde bitkilerin önemli bir kaynak olabileceği fikrini desteklemektedir (Tiuman ve ark., 2004; 2005).

Kıvçak ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *Ceratonia ciliqua* bitkisinden elde edilen metanol ve su özütlerinin hem antimikrobiyal hem de sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Kıvçak ve ark., 2002).

2.2.1. *Verbascum* Türlerinin İn Vitro Biyolojik Aktiviteleri

Verbascum, *Scrophulariaceae* familyasına ait bir cinstir, dünyada 360 tür ile temsil edilmektedir ve bu cinse ait türler Kuzey Yarıküre’ de ılıman bölgelere yayılmış olup kuru, açık ve kayalık habitatları tercih etmektedir (Heywood, 1979; Juan ve ark.,1997). *Verbascum* cinsi ülkemizde ‘sığırkuyruğu, kral şamdani’ olarak bilinmektedir ve 185’ i endemik olmak üzere 233 türü bulunmaktadır (Davis, 1978; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000).

Verbascum türleri yetiştirildiği yörelerde geleneksel tıpta uzun yıllar kullanılmış ve halen kullanılmakta olan bitkilerdir. *Scrophulariaceae* familyasına ait olan *Verbascum* türleri yüzyıllar boyunca çeşitli dahili ve harici enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Avrupa, Asya, Afrika ve Kuzey Amerika’ daki toplulukların çoğu da *Verbascum* türlerinin çeşitli aktif bileşen maddeler içeren yaprak ve çiçeklerinin çeşitli amaçlar doğrultusunda kullandığı rapor edilmiştir (Meurer-Grimes ve ark., 1999). Yapılan araştırmalarla *Verbascum* türlerinin çiçeğinin, müsilaj, uçucu yağ, hesperozit ve verbaskozit gibi flavon glikozitleri, yaprağının ise; saponin, müsilaj, rezin ve acı maddeler ihtiva ettiği belirtilmiştir (Tanker, 1998; 2003; Baytop, 1999). Ayrıca *Verbascum* türlerinin çok geniş oranda aucubin, ajugol ve harpagozit gibi iridoid glikozitleri ile verbaskozit gibi feniletanoid glikozitleri içerdikleri bildirilmiştir. Avrupa kökenli *Verbascum* türlerinin ise iridoit, lignan, saponin, flavonoit ve sterol içerdikleri de belirtilmiştir (Akdemir ve ark., 2004).

V. thapsus, *V. thapsiforme*, *V. phlomodies* gibi türlerin çiçekleri müsilaj taşımaları sebebiyle boğaz iritasyonu ve öksürük tedavisinde kullanılmaktadır. Çiçeklerinden hazırlanan çay günde birkaç kez içilebilmektedir. Ayrıca soğuk algınlığı tedavisi sebebiyle bitki Almanya’ da Commission E monograflarında da yer almaktadır (Robbers ve Tyler, 1999).

Kuzey Amerika’ da 18 farklı kabile incelenerek yapılan etnobotanik bir çalışma sonucunda bu kabilelerin soğuk algınlığı, öksürük, zafiyet, astım gibi akciğer hastalıklarını, *V. thapsus*’ un yapraklarının dekoksilyonunu içerek tedavi ettikleri ortaya çıkmıştır. Antiviral etkisinden dolayı nezle, kabakulak ve ateş gibi hastalıklarda da kullanılmaktadır (McCutcheon ve ark., 1995). *V. thapsus* diyare, hemaroid, zatürre, ateş, kan toplanması, alerji, migren, tümörlere karşı, nezle, boğaz hastalıkları, deri rahatsızlıkları, bağırsak ve karın ağrılarında kullanılmaktadır (Türker ve Gürel, 2005).

Avrupa’ da yaygın olarak bulunan *V.nigrum*’ un çiçek ve yaprakları halk tıbbında ve homeopatide öksürük kesici olarak kullanılmaktadır (Klimek ve ark., 1996).

Ghorbani, İran’ ın kuzeyinde Türkmen Sahra bölgesinde çeşitli amaçlarla kullanılan bitkileri ve bu bitkilerin kullanım şekillerini içeren etnobotanik tarama çalışması yapmıştır. Taranan 136 bitkinin 84’ ünün tıbbi kullanımının olduğunu belirtmiştir. Tıbbi amaçlı kullanılan bu bitkilerin içinde *V. grossypinum*’ un yılan sokmasına, ishale karşı kullanıldığı ve ayrıca antiseptik özelliğindedir yararlandığı belirtilmiştir (Ghorbani, 2005).

V. phlomodies türünden elde edilen *Flos Verbasci* drogundan öksürük kesici çay hazırlanıp ekspektoran olarak kullanıldığı literatürde kayıtlıdır (Klimek ve ark, 1996).

Bazı sığırkuyruğu türlerinin (Türkiye’ de yaygın olan *V. sinuatum* L. türü gibi) tohumları taşıdıkları saponozitlerden dolayı, balıklar için zehirlidir. Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde ‘Balıkotu’ adıyla tanınan *Verbascum* türleri, meyveli dalları göl ve dere sularına atılarak balıkların öldürülüp yakalanmasında kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Brantner ve Grein’ in yaptığı çalışmada bitki kitaplarından ve geleneksel kullanımlarından yararlanılarak seçilmiş 28 familyaya ait 48 bitki üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmış ve bu bitkiler içerisinde bulunan *V. phlomodies* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstrenin sık sık hastalıklara neden olan Gram-pozitif bakterilerden; *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144), *Enterococcus faecalis* (ATCC 6057), *Bacillus subtilis* (ATCC 9372) gibi ve Gram-negatif bakterilerden; *E. Coli* (ATCC 11229) gibi bakterilere karşı aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Branther ve Grein, 1994).

McCutcheon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Moerman’ ın etnobotanik araştırmalarını içeren ‘Medicinal Plants of Native America’ adlı kitabından seçtiği ve 96’ sı Amerikan yerlilerince antifungal olarak kullanılan içlerinde *V. thapsus*’ un da bulunduğu 100 bitkinin 9 mantar türüne karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. *V. thapsus*’ un yapraklarından hazırlanan metanolik ekstrakt; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Fusarium triuictum*, *Microsporum cookerii*, *Microsporum gypseum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma viridae*, *Trichophyton mentagrophytes* funguslarına karşı antifungal etki yönünden test edilmiştir. Çalışmalar

sonunda *V. thapsus*' dan hazırlanan ekstraktın muhtemel bir antifungal olduğu ve *Microsporium cookei* ve *Microsporium gypseum* mikroorganizmalarının büyümesini inhibe ettiği belirtilmiştir (McCutcheon ve ark., 1994).

V. gypsicola Vural-Aydoğdu bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermediği buna karşılık *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus* ve *Mycobacterium smegmatis* gibi gram (+) bakterilere karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca *V. gypsicola* Vural-Aydoğdu bitkisinin tüm test mayalarına karşı aktivite gösterdiği de belirtilmiştir (Dülger ve Gönüz, 2004).

Bir başka çalışmada; *Verbascum arcturus* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilmiş olan özüt *Leishmania donovani*' nin promastigot kültürüne karşı uygulanmış ve sonuçta bu bitkinin antileşmanyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Fokialakis ve ark., 2007).

Anadolu' da çiçekleri diüretik, ekspektoran ve sedatif amaçlı olarak kullanılan *Verbascum pseudoholotrichum*, *Verbascum cymigerum*, *Verbascum cholorostegium*, *Verbascum linguifolium*, *Verbascum pellitum* bitkilerinden elde edilen metanolik özütlerin özellikle gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Dülger ve Uğurlu, 2005).

Verbascum türlerinden *V. chianophyllum*, *V. cilicium*, *V. trapifolium*, *V. meinckeanum*, *V. lyratifolium*' un, *V. gypsicola*, *V. olympicum*, *V. prusianum* ve *V. bombyciferum*' dan elde edilen metanolik özütlerin gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Dülger ve ark., 2002; Dülger ve Gönüz, 2004; Dülger, 2006).

Magiatis ve arkadaşları tarafından *Verbascum undulatum* bitkisinin köklerinden ilk defa bir makrolik dimer lakton türevi olan verbalakton maddesi izole edilmiştir. Elde edilen bu verbalaktonun *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* gibi gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde önemli derecelerde antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Magiatis ve ark., 2001).

Meurer-Grimes ve arkadaşlarının 9 *Verbascum* L. türünün kök, çiçek, tohum ve yapraklardan elde edilen ekstraktı ile yaptıkları antimikrobiyal aktivite çalışmasında güçlü bir etki tespit etmişlerdir. Ekstraktların özellikle gram-pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve mayalardan *Candida albicans*' a karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Dülger ve Gönüz, 2004). Dülger ve Gönüz' ün daha önceki çalışmalarında *V. olympicum* Boiss., *V. prusianum* Boiss. ve *V. bombyciferum* Boiss. gibi 3 endemik *Verbascum* türünden elde edilen ekstraktlarla yapılan çalışmalarında aynı bakteriler için paralel sonuçlar bulunmuştur. Araştırmacılar *Verbascum* türlerinin gram-pozitif bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumda genel olarak gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki lipopolisakkaritlerden dolayı gram-pozitif bakterilere göre ekstraktlara karşı daha dirençli olduğu sonucuna ulaşılmaktadır (Dülger ve Gönüz, 2004).

Ayrıca in vivo olarak yapılan bir diğer çalışmada, *Verbascum pycnostachyum* bitkisininin çiçeklerinden elde edilen metanolik ekstraktın antienflamatuvar ve antinosiseptiv etki gösterdiği belirtilmiştir. Elde edilmiş olan bu olumlu sonuç bilim insanları tarafından, bu bitkinin halk arasında kullanımının bilimsel gerekçesi olarak yorumlanmıştır (Tatlı ve ark., 2007).

2.3. Bitkilerin İn Vitro Antioksidan Özellikleri

Atomlardaki elektronlar orbitaller olarak bilinen enerji seviyelerinde bulunurlar. Her bir orbital zıt yönde hareket eden 2 adet elektron tutabilir ve atom ancak bu şekilde stabilitesini koruyabilir. Ancak atom veya molekül dış yörüngesinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron içeriyorsa bu durumda *radikal* adını alır. Yapısında bulunan çiftleşmemiş elektron veya elektronlar molekülün kimyasal aktivitesini değiştirir. Bu serbest radikaller hücre harabiyetine neden olan etkenlerin başında yer almaktadır. Serbest radikaller bir dizi reaksiyon sonucunda aktif radikallere dönüşerek; doku hasarı, organ fonksiyonunun bozulması ve radikal hasarına bağlı hücre ölümlerine neden olabilmektedirler (Eryılmaz, 2001).

Aerobik organizmalarda bulunan serbest radikaller daha çok oksijen radikalleri şeklindedir. Çünkü oksijen ortamda sürekli bulunan ve elektrofilik ataklara en uygun olan moleküldür. Oksijenin normalde reaktif olmayan bir yapısı vardır. Ancak in vivo koşullarda oksidan maddelerle karşılaştığında metabolize olarak reaktif forma dönüşür

ve reaktif oksijen türlerini (ROT) oluşturur. Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH^\bullet), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), nitrik oksit (NO) ve peroksi radikalleri ROT' lara örnek olarak verilebilir (Eryılmaz, 2001).

Son zamanlarda reaktif oksijen türlerinin ve özellikle serbest radikallerin kanser ve arterosklerozis gibi hastalıkları tetiklediği de kabul edilmiştir (Cuendet ve ark, 1997). Ayrıca serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu, ROT' lara bağlı hücre harabiyetinin en önemli nedeni olarak tanımlanmaktadır. Yağ asitleri biyolojik membranların önemli bileşenleridir ve özellikle çoklu doymamış yağ asitleri çift bağlarından dolayı oksidatif hasara karşı çok hassastırlar. Bir serbest radikal membrana yakın bir yerde oluştuğunda, membran fosfolipitlerinin özellikle doymamış yağ asiti yan zincirine saldırır. Serbest radikal yan zincirdeki karbon atomlarından birinden bir hidrojen alarak su oluşturur. Bu reaksiyon serbest radikali oluşturur fakat membranda karbon merkezli bir radikal bırakır. Oluşan bu radikal moleküler oksijen ile reaksiyona girerek bir başka radikali meydana getirir. Açığa çıkan radikal ise hidrojen çıkarmak için komşu yağ asitlerine saldırabilecek kadar aktiftir. Bu saldırı ile karbon merkezli bir başka radikal oluşur ve böylece zincir reaksiyonu devam eder. Lipit peroksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan lipid hidroperoksitler bir dizi oldukça kuvvetli toksik ürünler oluşturmak üzere parçalanırlar. Sonuç olarak lipid peroksitler, çeşitli yağ asidi zincirlerinde oksidasyon, membran proteinlerinde hasar ve membranda sızıntı yaratarak membranın tamamen yıkılmasına neden olurlar (Özen, 2003).

Serbest radikaller yaşam için mutlak gereklidir. Çünkü gerek elektron transferinde gerekse enerji üretiminde ve diğer pek çok metabolik işlemde temel olarak görev yaparlar. Fakat lipid peroksidasyon reaksiyonları kontrolsüz bir davranış gösterecek olursa hücrede ve hücrelerin oluşturduğu dokularda hasarlara neden olmakta, sonuçta dejeneratif hastalıklar ortaya çıkmakta ve erken yaşlanmaya neden olmaktadır (Özen, 2003).

Serbest radikalleri bertaraf ederek yarattıkları olumsuz etkileri ortadan kaldıran maddeler '*antioksidan maddeler*' olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak antioksidan maddeler koruyucu antioksidanlar ve zincir kırıcı antioksidanlar olmak üzere 2 kategoride sınıflandırılabilirler. Süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz ve transferrin gibi enzimler koruyucu antioksidan grubuna dâhil edilirler. Radikal süpürücü ve lipid peroksidasyonunu önleyici özelliklere sahip olan vitamin C, vitamin E, bilirubin ve

polifenoller ise zincir kırıcı antioksidanlar grubuna girmektedirler. Zincir kırıcı antioksidanlar etkilerini, oksidasyon sürecinde ortaya çıkmış olan peroksil radikalleri üzerine hidrojen veya tekli oksijen atomu transfer ederek gösterirler. Fenoliklerin de dahil olduğu pek çok antioksidan madde oksidasyon sürecindeki etkisini H atomu transfer ederek gerçekleştirmektedir (Ou ve ark., 2002).

Antioksidan maddeler lipid peroksidasyonunun çeşitli aşamalarında; lokal oksijen konsantrasyonunu azaltma, O_2^- ve HO^- gibi reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırma, peroksitleri parçalayarak zincir reaksiyonu oluşturan radikellere dönüşümlerini engelleme, katalitik metal iyonlarını bağlama ve başlamış olan bir radikal zincir reaksiyonunu kırma şeklinde etkilerini göstermektedirler (Özen, 2003).

Sentetik antioksidan maddelerin olumsuz etkilerinden dolayı doğal kaynaklı antioksidanlar ilgi odağı olmuştur. Bitkilerden izole edilen fenoller (flavonoid, tokoferol), azotlu bileşikler (alkaloid, aminoasit ve aminler), karotenoidler ve askorbik asit doğal kökenli antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanların kanser vb. gibi çeşitli hastalıkları tetikleyebileceği şüphesinden dolayı, bitkiler alternatif antioksidan madde araştırmaları için önemli birer kaynak olmuştur (Velioğlu ve ark., 1998). Bitkilerden elde edilen özütlerin ve uçucu yağların in vitro ortamda antioksidan aktivite gösterdiğine dair pek çok çalışma bulunmaktadır. *Cyclotrichium origanifolium* bitkisinin uçucu yağ ve çeşitli özütleriyle yapılmış olan antioksidan aktivite araştırmasında ise bitkinin polar özütlerinin non-polar olanlara göre daha yüksek oranda antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Tepe ve ark., 2004). Ünlü ve arkadaşları (2003) tarafından yapılan bir çalışmada *Thymus pectinatus* bitkisinden izole edilen uçucu yağ ve metanolik ekstraktın antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada *Rhus coriaria* (sumak) bitkisinin meyvelerinin fenolik, tanen ve antosiyanin içerdiği ve bu maddelerin önemli oranda antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Koşar ve ark., 2002). Sarı kantaron veya binbirdelik otu olarak adlandırılan *Hypericum perforatum* bitkisinin metanolik özütünün antioksidan aktivitesi ve fenolik içeriği araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda bitkinin içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu ve fenolik madde içeriğinin arttığı oranda antioksidan aktivitenin de arttığı bildirilmiştir (Meral ve Konyalıoğlu, 2002).

2.3.1. *Verbascum* Türlerinin İn Vitro Antioksidan Özellikleri

Son yıllarda, antioksidan aktivite potansiyeline sahip çeşitli bitki grupları taranmaktadır. Bu gruplar arasında yer alan *Verbascum* türlerinde antioksidan etkiye sahip olanlar bulunmaktadır (Çalış ve ark., 2001).

Sivas Yıldızeli'nden toplanan *V. wiedemannianum* türünün kök ve toprak üstü kısımlarının metanolik ekstraktından feniletanoid glikozitler, verbaskozit, martinozit, ekinakozit ve lökoskeptozit B izole edilerek 2,2-difenil-1-pikrilhidrazile (DPPH) karşı radikal süpürücü etkileri incelenmiştir. Bilinen feniletanoit glikozitlerin radikal süpürücü ajan olarak DPPH'ye karşı antioksidan aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Abougazar ve ark., 2003).

2005 yılında Tepe ve arkadaşları tarafından içerisinde *V. wiedemannianum*'un da bulunduğu 5 bitkinin metanollü ekstrelerinin antioksidan etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada *V. wiedemannianum*'un antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur (Tepe ve ark., 2005).

Fenolik doğal bileşenler sahip oldukları oksijen radikal süpürücü etkileri nedeniyle potansiyel antioksidan maddeler olarak bilinmektedir. Bu nedenle flavonoidler gibi fenolik doğal bileşenler antioksidan aktivite açısından ilgi çekici fitokimyasallardır. Serbest radikal süpürücü etkiye sahip antioksidanlar özellikle kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma ve kanser hastalıklarının tedavisinde önemli rol oynamaktadır (Eryılmaz, 2001).

Flavonoitler gibi fenolik doğal bileşiklerin potansiyel antioksidan maddeler olduğu bilinmektedir. Burdur, Yeşilova'dan toplanan *V. salviifolium* Boiss. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanolik ekstraktan flavonoitler izole edilerek yapıları belirlenmiştir. Bitkiden elde edilen flavonoit glikozitlerden, apigenin-7-O- β glukopiranozit ve krizoeriyol-7-O- β -glukopiranozit bileşiklerinin radikal süpürücü özellikleri ile DPPH üzerinde önemli antioksidan etkiye sahip oldukları bulunmuştur (Akdemir ve ark., 2004).

Diğer bir çalışmada İzmir Urla'dan toplanan *V. lasianthum* Boiss.'in kökleri kullanılarak elde edilen metanolik ekstraktan 3 iridoit glikozit; 8-O-asetilharpajit, harpogozit ve 6-O-vanilloylajugol izole edilmiştir. Bunlardan harpogozitin serbest radikal süpürücü etkiye sahip olduğu ve DPPH'ye karşı antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (Akdemir ve ark., 2004).

Mariassyova ve Hielerova (2004) yaptıkları çalışmada *Verbascum densiflorum* bitkisinin metanolik ekstraktının oldukça güçlü bir radikal süpürücü etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Verbascum antiochium* Boiss. Bitkisinin Toplanması ve Teşhisi

Verbascum antiochium bitkisi Yayladağı yolu Kisecik Köyü üzeri 8. ve 9. km' de, Haziran-Temmuz (2007) aylarında toplanmıştır. Bitkinin teşhisi Dr. Hikmet Yolcu tarafından Davis' e göre yapılarak bitkinin *Verbascum antiochium* Boiss. olduğu belirlenmiştir (Davis, 1978) (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. *Verbascum antiochium* Boiss. bitkisinin görünümü (Dr. Hikmet Yolcu' dan sağlanmıştır)

3.1.2. Mikroorganizmalar

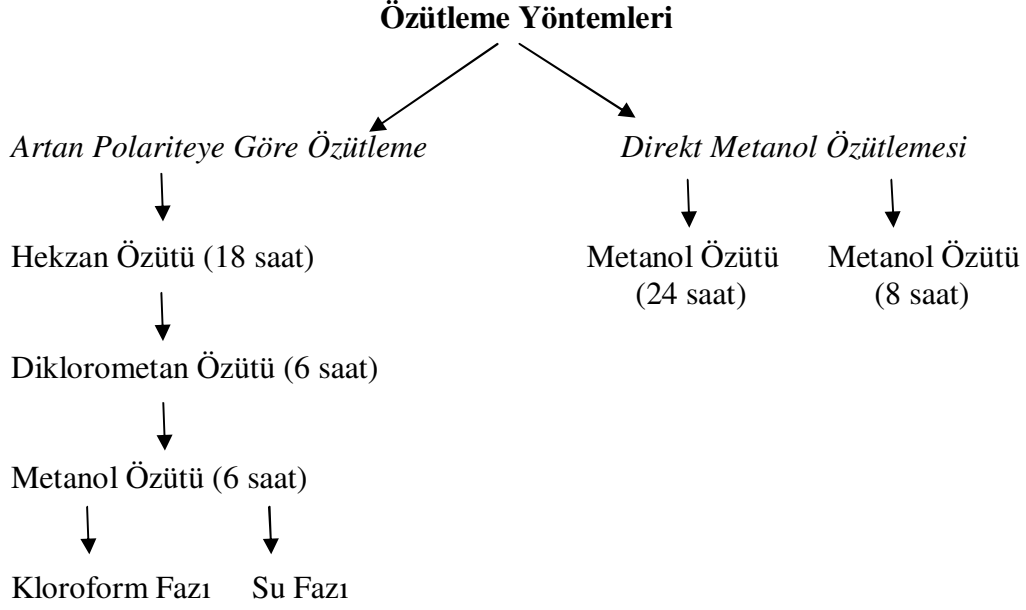
Çalışma kapsamındaki antimikrobiyal aktivite deneylerinde 15 adet bakteri ile 1 adet fungus kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılan Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *MRSA* ATCC 43300 Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarından, *Enterococcus gallinarum* CDC-NJ-4, *Enterococcus faecium* NJ-1 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden; Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 35218, *Haemophilus influenzae* ATCC 49247, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden, *Escherichia coli* O:157 H:7, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 8394 Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan *Candida albicans* ATCC 10231 fungusu ise Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Özütleme İşlemleri

V. antiochium bitkisinin toprak üstü kısımları toplanarak gölge ve hava akımının bulunduğu bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkisel materyal küçük parçalara ayrıldıktan sonra bir öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz halindeki materyalden 20 gram tartılarak kartuşlara yerleştirilip Soxholet apareyinde özütleme işlemlerine tabi tutulmuştur. Özütleme işlemleri artan polariteye göre özütleme ve direkt metanol özütlemesi olacak şekilde yapılmıştır (Tepe, 2002; Dülger, 2004). (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. *Verbascum antiochium* bitki materyalinin özütleme işlemleri

3.2.1.1. Artan Polariteye Göre Özütleme

Bitkisel materyal antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere artan polariteye göre özütleme işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla hazırlanan kartuşlar Soxholet apareyine yerleştirilerek 250 ml hekzan ile 18 saat boyunca özütlenmiştir. Hekzan özütlemesinin ardından bitkisel materyal diklorometan ile 6 saat boyunca özütlenmiştir. Bu özütleme işlemleri ile bitkisel materyalin içermiş olduğu non-polar kısımlar hekzan ve diklorometan çözümlerinin içerisine alınmıştır. Diklorometanla yapılan özütlemenin ardından bitkisel materyal 6 saat süreyle metanol ile özütlenmiştir. Metanol özütlemesinden sonra elde edilen yapışkan özüt kloroform ve su fazına alınmıştır. Bu sayede polar ve non-polar fazlar kademeli olarak elde edilmiştir. Artan polarite yöntemine göre elde edilen özütler +4°C' de saklanmıştır (Tepe, 2002).

3.2.1.2. Direkt Metanol Özütlemesi

Bitkisel toz materyal (20 gr) içeren kartuşlar Soxholet apareyine yerleştirilerek 250 ml metanol ile antimikrobiyal aktivite deneylerinde kullanılmak üzere 24 saat boyunca özütlenmiştir (Dülger, 2004). Ayrıca antioksidan aktivite tayini için, bitkisel materyal aynı yöntemle 8 saat boyunca metanolde özütlenmiştir.

Elde edilen özütler IKA marka döner buharlaştırıcıda solventin kaynama noktasının altında ve yüksek vakum uygulanarak uçurulmuştur ve +4°C'de saklanmıştır.

3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri

3.2.2.1. Bitki Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri İçin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite tayini için artan polariteye göre elde edilmiş özütler (hekzan, diklorometan, kloroform) ve direkt metanol özütü, son konsantrasyonu 200 mg/ml olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Özütlerin polar kısımları ise distile su içerisinde son konsantrasyonu 200 mg/ml olacak şekilde çözülmüştür (Tepe, 2002; Dülger, 2004). Gerek DMSO gerekse distile su içinde çözümlenerek hazırlanan özütler koyu renkli ve kapaklı şişelerin içerisinde antimikrobiyal aktivite deneyleri yapıncaya kadar +4°C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2. Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

V. antiochium bitkisinden elde edilmiş olan özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemle göre çalışmada kullanılan standart bakteri suşları Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinde bir gece 37°C' de ve maya suşu ise Saboroud Dextroz Broth (SDB) besiyeri içerisinde 1 gece 30°C' de kültüre alınmıştır. İzotonik sodyum klorür (NaCl) çözeltisi kullanılarak kültürlerin 0.5 Mc farland ayarına uygun süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlananan bakteri süspansiyonları MHA besiyerlerine, maya süspansiyonu ise SDA besiyerine inoküle edilmiştir. İnokülasyonun ardından petrilere yeterince kurumaması sağlandıktan

sonra steril cam borularla petride uygun aralıklarla 6 mm çapında kuyular açılmıştır. Kuyulara her bir ekstraktan 50µl (200 mg/ml) aktarılmıştır (Tepe, 2002). Ekstrakt eklene petriyer bakteriler için 37°C' de 24 saat, mayalar için ise 30°C' de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından oluşan zon çapları (mm) ölçülerek kaydedilmiştir (NCCLS, 1999). Ayrıca çözücü olarak kullanılan DMSO' da kuyulara yüklenerek, DMSO' nun mikroorganizmalar üzerinde etkisinin olup olmadığı test edilmiştir. Çalışmalar en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.3. Antioksidan Aktivite Deneyleri

Bitki özütleri gibi oldukça kompleks içeriklerin antioksidan aktivitesinin belirlenebilmesi için çok sayıda yöntem bulunmaktadır. Bu çeşitli yöntemlerden sadece bir tanesini uygulayarak özütün veya kompleks karışımın olası antioksidan aktivitesini belirlemek mümkün değildir. Çünkü sadece bir yöntem antioksidan aktivite gösteren bir maddenin tüm olası etki mekanizmalarını belirlemek için yeterli değildir. Bu doğrultuda *V. antiochium*' dan elde edilen metanolik ekstraktın antioksidan aktivitesi iki komplementer yöntem olan DPPH (2,2-Difenilpikrilhidrazil) ve β-karoten renk açılım yöntemi ile belirlenmiştir (Tepe ve ark., 2006).

3.2.3.1. Bitki Özütlerinin Antioksidan Aktivite Deneyleri İçin Hazırlanması

Sekiz saatlik metanol özütü, 2,2-Difenilpikrilhidrazil (DPPH) yönteminde kullanılmak üzere çeşitli derişimlerde metanolde çözülerek koyu renkli şişelerde +4°C' de çalışma anına kadar saklanmıştır.

β-karoten renk açılım yöntemi için de *V. antiochium* bitkisinin sekiz saatlik metanol özütü kullanılmıştır. Metanol döner buharlaştırıcıda uçurulduktan sonra elde edilen özüt 2g/L konsantrasyonunda olacak şekilde etanol içerisinde çözülerek koyu renkli şişeler içerisinde +4°C' de çalışma anına kadar saklanmıştır.

3.2.3.2. DPPH Yöntemi

DPPH antioksidan aktivite belirleme yöntemi Burits ve Bucar' dan (2000) modifiye edilerek uygulanmıştır. DPPH yönteminin içeriği, kararlı serbest radikal 2,2-difenilpikrilhidrazilin (DPPH), elektron veya hidrojen atomları veren bir antioksidan varlığında bu kimyasal tarafından süpürülmesi ile karakteristik mor rengin açılması ve bunun spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır. Dolayısıyla antioksidan madde ne kadar güçlü etki gösterirse, DPPH' nin mor renginin o derece açılması beklenir. Bu test yönteminde *V. antiochium* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanolik özütünün çeşitli derişimlerde metanol içinde hazırlanmış olan çözeltileri kullanılmıştır. *V. antiochium* özütünün çeşitli derişimlerdeki çözeltilerinin 50 µL' si 5 mL % 0.004' lük metanolik DPPH çözeltisi ile karıştırılmış ve daha sonra karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örneklerin absorbansı 517 nm' de ölçülerek boş kontrole (50 µL metanol) karşı değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve askorbik asit kullanılmıştır. Özütün, boş kontrol testleri ve pozitif kontrollerin absorbans değerleri kullanılarak DPPH' nin % inhibisyonu aşağıdaki formüle göre değerlendirilerek sonuçlar grafiğe alınmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.3.3. β-Karoten Renk Açılım Testi

Bu test yöntemi, β-karoten linoleik asit solüsyonundaki linoleik asidin oksidasyonu sonucunda, β-karotenin tipik sarı renginin açılması ile meydana gelen renk değişikliğinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanır.

β-karoten renk açılım testi, Dapkevicious ve ark (1998) tarafından önerildiği şekilde uygulanmıştır. Buna teste göre; *V. antiochium* bitkisinin metanolik özütü ve pozitif kontrol, etanol içerisinde konsantrasyonu 2g/L olacak şekilde hazırlanmıştır. 0.5 mg β-karoten 1 mL kloroform içerisinde çözüldükten sonra içerisine 200 mg tween 80 ile emülsiyon haline getirilmiş olan 25 µL linoleik asit eklenmiştir. Bu karışım iyice

çalkalandıktan sonra döner buharlaştırıcıda 50°C' de kuvvetli vakum altında kloroformu uçurulmuştur. Daha sonra β -karoten linoleik asit solüsyonu üzerine, linoleik asitin oksidasyonunu sağlayacak oksijene doyurulmuş distile sudan 100 mL eklenerek kuvvetli bir şekilde karıştırılmıştır. Böylece sarı renkli β -karoten linoleik asit çözeltisi elde edilmiştir. Bir test tüpü içerisine bu çözeltden 2 mL, üzerine 280 μ L özüt eklendikten sonra oda ısısında 48 saat boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda özütün ve kontrol gruplarının absorbansı 490 nm dalga boyunda Biospec-mini Shimadzu marka spektrofotometre ile ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak da BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) kullanılmıştır. Deney en az üç tekrarlı olarak çalışılmıştır. Deneyin sonunda linoleik asit oksidasyonunun % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100 \quad (3.2)$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada *V. antiochium* bitkisinin toprak üstü kısımları artan polariteye göre ve direkt metanol (24 saat) ile özütleme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen bu özütlerin antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemine göre belirlenmiştir. Ayrıca *V. antiochium*' un 8 saatlik metanol ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilmiş olan özütünün antioksidan aktivitesi, DPPH ve β -karoten renk açılım testi yöntemleriyle belirlenmeye çalışılmıştır.

4.1. Özüt Verimleri

V. antiochium bitkisinden elde edilen özütlerin verimleri (g/kg) aşağıdaki Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *V. antiochium* bitkisinin özüt verimleri (g/kg)

Özüt Tipi	Verim g/kg
Hekzan	17,773
Diklorometan	21,526
Metanol/ Kloroform	5,66
Metanol/ Su	146,94
Direkt Metanol	258,74

Özütleme işlemleri sonucunda en yüksek verim metanol ekstraksiyonundan elde edilmiştir. Almış olduğumuz bu sonuç suda çözünmeyen maddelerin büyük bir kısmının hekzan ve diklorometanla yapılan özütleme ile çıktığı ve son aşamada metanol ile yapılan özütleme sonucunda geriye apolar maddeler ile birlikte büyük oranda polar maddelerin kalmış olabileceği görüşünü desteklemektedir (Tepe, 2002).

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.2.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotiklerden penisilin, streptomisin ve siprofloksasin test koşullarının NCCLS kriterlerini sağladığını göstermesi bakımından agar kuyu difüzyon yöntemiyle standart bakteri suşlarına karşı test edilmiştir. Test sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

DMSO' nun hiçbir test mikroorganizması üzerinde inhibisyon etkisi göstermediği tespit edilmiştir.

4.2.2. Artan Polarite Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Artan polarite özütlemesi sonucunda elde edilen özütlerin agar kuyu difüzyon yöntemine göre göstermiş oldukları antimikrobiyal aktivite sonuçları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

V. antiochium bitkisinden elde edilen hekzan, diklorometan, metanol/su ve metanol/kloroform özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi, 9 gram pozitif, 6 gram negatif bakteri ile bir adet fungus olmak üzere toplam 16 mikroorganizma üzerinde incelenmiştir. Bu sonuçlara göre her bir özütün en az bir mikroorganizma üzerinde aktivite gösterdiği bulunmuştur. Metanol/su özütü, *S. aureus* ATCC 29213, *S.aureus* ATCC 25923, *MRSA* ATCC 43300, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. typhi* NCTC 8394, *H. influenzae* ATCC 49247 mikroorganizmaları üzerinde 10 mm ile 27 mm arasında zon çapı oluşturan en etkili özüt olarak belirlenmiştir. Metanol/su özütündeki en yüksek zon çapı *H. influenzae* ATCC 49247 mikroorganizması üzerinde 27 mm olarak ölçülmüştür. İkinci en yüksek aktiviteyi gösteren özüt ise metanol/kloroform özütü olmuştur (Çizelge 4.3).

Hekzan özütünün *C. albicans* ATCC 10231, *S.aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *H. influenzae* ATCC 49247 üzerinde çeşitli derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Agar Kuyu Difüzyon yöntemiyle belirlenen antibiyotik duyarlılık test sonuçları¹ Sip.: Siprofloksasin, Pen.: Penisilin, S.: Streptomisin

Mikroorganizma	Antimikrobiyal ajan		
	Sip. (10 µ)	Pen.(10 U)	S . (25 µ)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	24	33,5	17
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	25	30	16,3
<i>MRSA</i> ATCC 43300	18	9,8	15,3
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	30	21	20,7
<i>E. gallinarium</i> CDC-NJ-4	24	18	-
<i>E. faecium</i> NJ-1	20	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	24,8	21	20
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	25,8	23,8	21
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	26	30	21,3
<i>E. coli</i> O:157 H:7	25	-	19
<i>E. coli</i> ATCC 25922	20,8	-	17,3
<i>E. coli</i> ATCC 35218	21,8	-	-
<i>S. typhi</i> NCTC 8394	30	22	20,7
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	25	20	20,7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	27	-	20,7

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

Çizelge 4.3. *V. antiochium*' un hekzan, diklorometan, metanol/kloroform ve metanol/su (artan polariteye göre) özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi¹

Mikroorganizmalar	Özüt Tipleri			
	Hekzan	Diklorometan	Metanol	
			CHCl ₃	H ₂ O
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	-	7	11	16,7
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	8,3	-	12	17,7
<i>MRSA</i> ATCC 43300	-	-	13	20
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	7,7	-	10	-
<i>E. gallinarium</i> CDC-NJ-4	-	-	9	9,7
<i>E. faecium</i> NJ-1	7	7	7	18,3
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	7	8	8
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	-	-	8	8,3
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	-	15
<i>E. coli</i> O: 157 H:7	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-
<i>S. typhi</i> NCTC 8394	-	7	7,3	11,7
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	7	7	11,3	27
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	7,3	7	7,3
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	12	-	-	-

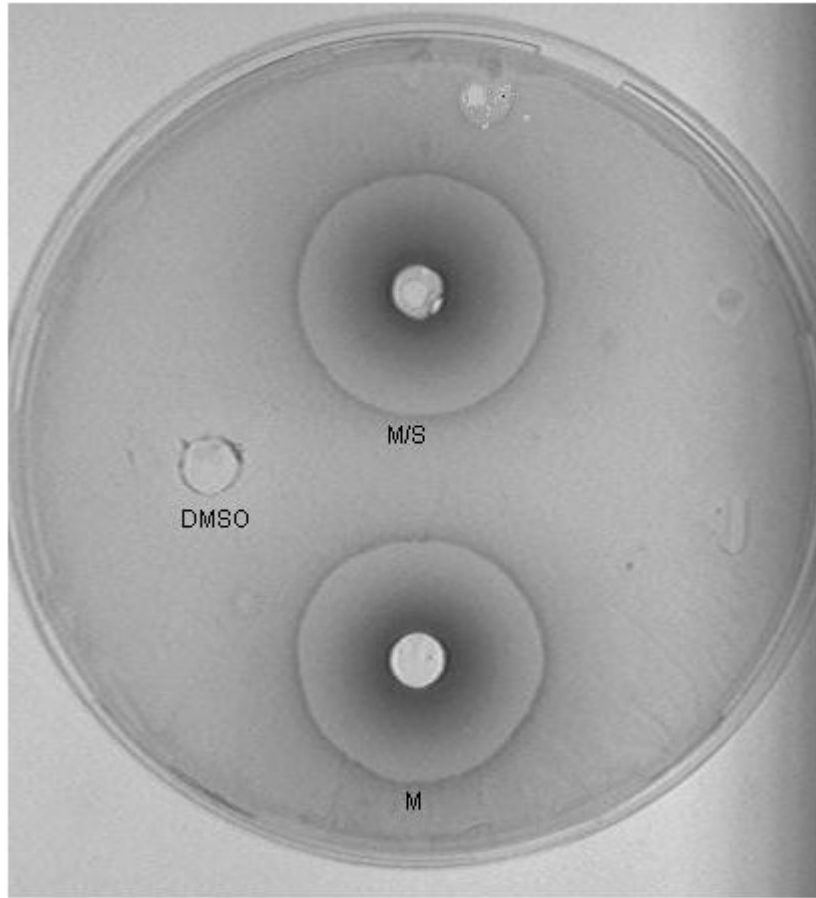
¹Zon çapları kuyuların (6 mm) çapını içerecek şekilde ölçümler alınmıştır

En düşük antimikrobiyal aktivite ise diklorometan özütünde kaydedilmiştir. Diklorometan özütünün sadece *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhi* NCTC 8394, *H. influenzae* ATCC 49247, *P. aeruginosa* ATCC 27853 mikroorganizmaları üzerinde düşük oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur.

C. albicans ATCC 10231 fungusu üzerinde antimikrobiyal aktivite gösteren tek özüt 12 mm zon çapıyla hekzan özütü olarak kaydedilmiştir.

Yapılan çalışmada gram-negatif bakterilerden *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* O157 H:7 bakterileri, çalışılan özütlere karşı dirençli olarak tespit edilmiştir.

Tüm özüt tipleri sadece *H. influenzae* ATCC 49247 mikroorganizması üzerinde değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. *V. antiochium*' dan elde edilen metanol ve metanol/su özütlerinin *H. influenzae* ATCC 49247 bakterisi üzerinde agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivitesi (M/S: Metanol/su özütü, M: Metanol özütü, DMSO: Dimetilsülfoksit)

4.2.3. Direkt Metanol Özütünün Antimikrobiyal Aktivitesi

V. antiochium bitkisinden elde edilen 24 saatlik metanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal aktivite sonuçları Çizelge 4.4.' te verilmiştir.

Çizelge 4.4. *V. antiochium*' un direkt metanol özütünün agar kuyu difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivitesi¹

Mikroorganizma	İnhibisyon zonu (mm)	Mikroorganizma	İnhibisyon zonu (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	14,7	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	10,7
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	17,3	<i>E. coli</i> O: 157 H:7	10,7
<i>MRSA</i> ATCC 43300	17,3	<i>E. coli</i> ATCC 25922	10
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	8	<i>E. coli</i> ATCC 35218	10,3
<i>E. gallinarium</i> CDC-NJ-	10,7	<i>S. typhi</i> NCTC 8394	14
<i>E. faecium</i> NJ-1	10,7	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	24,7
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	10	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10,7
<i>S. pyogenes</i> ATCC	9	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-

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

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *V. antiochium* bitkisinin metanolik özütü sadece *C. albicans* ATCC 10231 fungusu üzerinde herhangi bir aktivite göstermediği, diğer test mikroorganizmaları üzerinde çeşitli derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Metanolik özütte en yüksek zon çapı 24,7 mm ile *H. influenzae* ATCC 49247 bakterisinde saptanmıştır. Ardından 17,3 mm zon çapı ile *S.aureus* ATCC 25923, *MRSA* ATCC 43300 bakterileri ikinci yüksek zon çapı veren mikroorganizmalar olarak belirlenmiştir.

En düşük zon çapı ise *B. subtilis* ATCC 6633 ve *S. pyogenes* ATCC 19615 bakterilerinde tespit edilmiştir.

Literatürden elde edilen bilgiler doğrultusunda farklı *Verbascum* türlerinin metanolik özütlerinin gram pozitif, gram negatif bakteriler ile çeşitli mayalar üzerinde farklı oranlarda antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. *Verbascum*' un farklı türlerinden elde edilen metanolik özütlerin gram pozitif bakterilerden *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis* ve funguslardan *C. albicans*, *Kluyveromyces fragilis* ve *Rhodotorula rubra*' ya karşı çeşitli derecelerde antimikrobiyal etki gösterdikleri ancak *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* gibi gram negatif mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etki göstermedikleri bildirilmiştir (Dülger ve ark., 2002; Dülger ve Gönüz, 2004; Dülger ve Uğurlu, 2005; Dülger, 2006). Bir başka çalışmada *V. phoenicum*' un yapraklarından elde edilen metanolik özütün *S. aureus* bakterisi üzerinde önemli derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Meurer-Grimes ve ark., 1999). Barbour ve arkadaşları (2004) *V. leptostychem*' un *E. coli*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella. enteritidis*, *S. typhi* gibi gram negatif ve *S. aureus*, *Streptococcus faecalis* gibi gram pozitif bakteriler üzerinde % 99.9 oranında antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca *V. georgicum*' un metanolik ekstraktının *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediği, fakat *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Keleş, 2001). *V. siniaticum*' un metanol özütü ile yapılan bir diğer çalışmada bu özütün *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ancak *E. coli* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği bildirilmiştir (Tadeg ve ark., 2005).

Yapılan iki ayrı özütlemenin sonuçları karşılaştırıldığında, her iki yöntemin özütlerinin genelde aynı mikroorganizmalar üzerine etkili olduğu görülmüştür. En yüksek zon çapını veren özüt metanol/su özütü olarak kaydedilmiştir. Direkt metanol özütünün etkilediği mikroorganizma sayısı, diğer özütlere oranla daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca özütlerin hem bakteriler hem de fungus üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermesi *V. antiochium*' un farklı etki mekanizmalarına sahip farklı antimikrobiyal bileşenler içerdiğini ortaya koymaktadır.

Artan polariteye göre yapılan özütleme yönteminde amaç bitkinin içerdiği polar ve non-polar bileşenleri kademeli olacak şekilde birbirinden ayırarak, olası antimikrobiyal aktiviteden sorumlu maddelerin hangi kimyasal yapıda olabileceğini

(polar veya non-polar) belirlemektir. Ancak elde edilen sonuçlar doğrultusunda hem polar (metanol / su) hem de non-polar (hekzan, diklorometan, metanol / kloroform) özütlerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiği, metanol/su özütünün yüksek derecede zon çapı oluşturduğu görülmüştür.

Verbascum türlerinden antimikrobiyal özelliklere sahip verbaskozit, iridoid glikozit, saponinler ve flavonoidler izole edilmiştir (Klimek ve ark., 1996). Özellikle verbaskozitin gram pozitif bakteriler üzerinde diğerlerine göre daha yüksek oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Çalış ve ark., 2001). İridoit ve feniletanoid glikozitler *Verbascum* cinsinde yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiş ve çeşitli verbascum cinsi üyelerinden farklı yapıda iridoid ve feniletanoid glikozitler izole edilerek tanımlanmıştır (Warashina ve ark., 1992; Tatlı ve ark., 2002; Akdemir ve ark., 2004).

Metanolik özütlerden izole edilerek yapısı belirlenen bu grup bileşiklerin *V. antiochium* direkt metanolik ya da metanol/su özütünde bulunduğu ve antimikrobiyal etkisinin söz konusu maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızın sonucunda *V. antiochium*' un metanolik ekstraktının antimikrobiyal etki gösterdiği bulgusu diğer *Verbascum* türleri ile yapılmış çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Ayrıca literatürde herhangi bir *Verbascum* türü ekstraktının *MRSA* ATCC 43300 bakterisi üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle *MRSA* ATCC 43300 ile ilgili olarak elde etmiş olduğumuz antimikrobiyal aktivite sonuçları literatür açısından ilk kayıt olacaktır. Gün geçtikçe antibiyotiklere direnç geliştiren *MRSA*' nın yapılan bu çalışma sonucunda bu soruna ışık tutacağı düşünülmektedir.

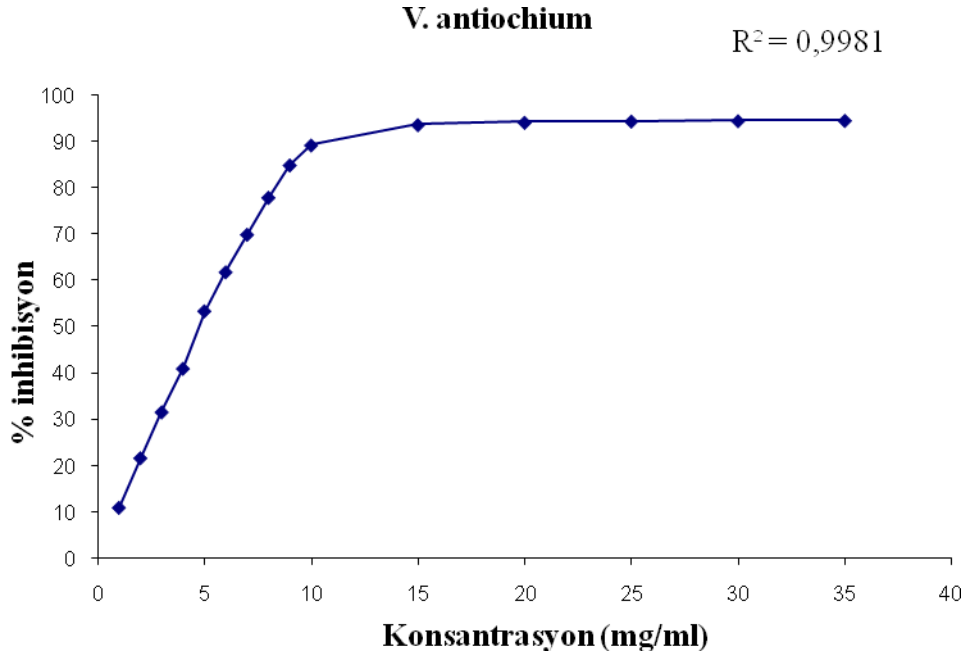
4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.3.1. DPPH Yöntemi

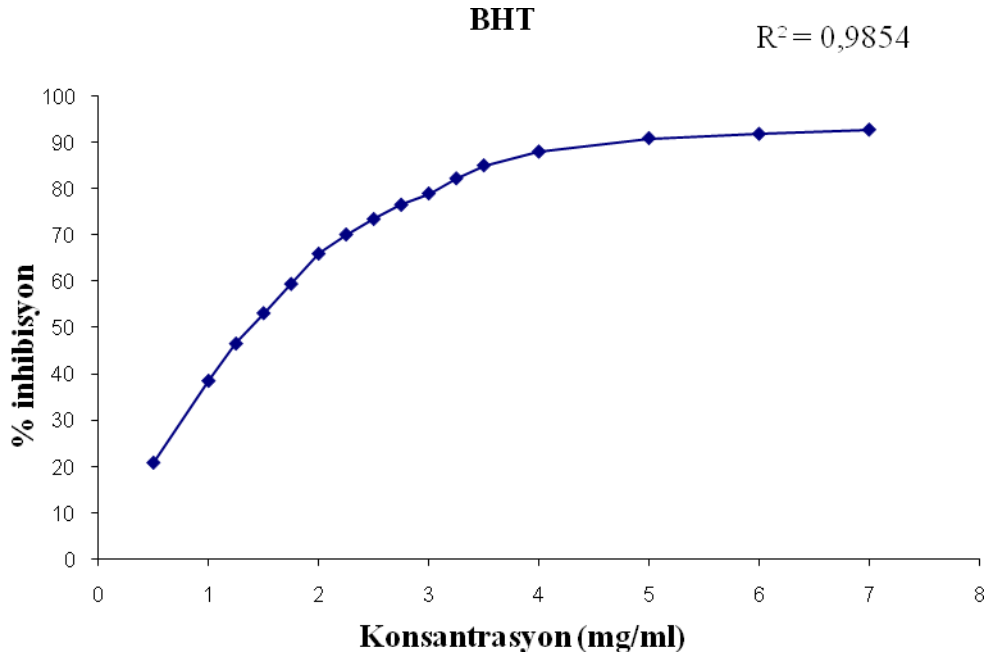
Bu yöntem kararlı bir serbest radikal olan DPPH' nin metanolik çözeltisinin hidrojen içeren bir antioksidan madde varlığında ve 517 nm' deki redüksiyonuna dayanan bir yöntemdir (Burits ve Bucar, 2000).



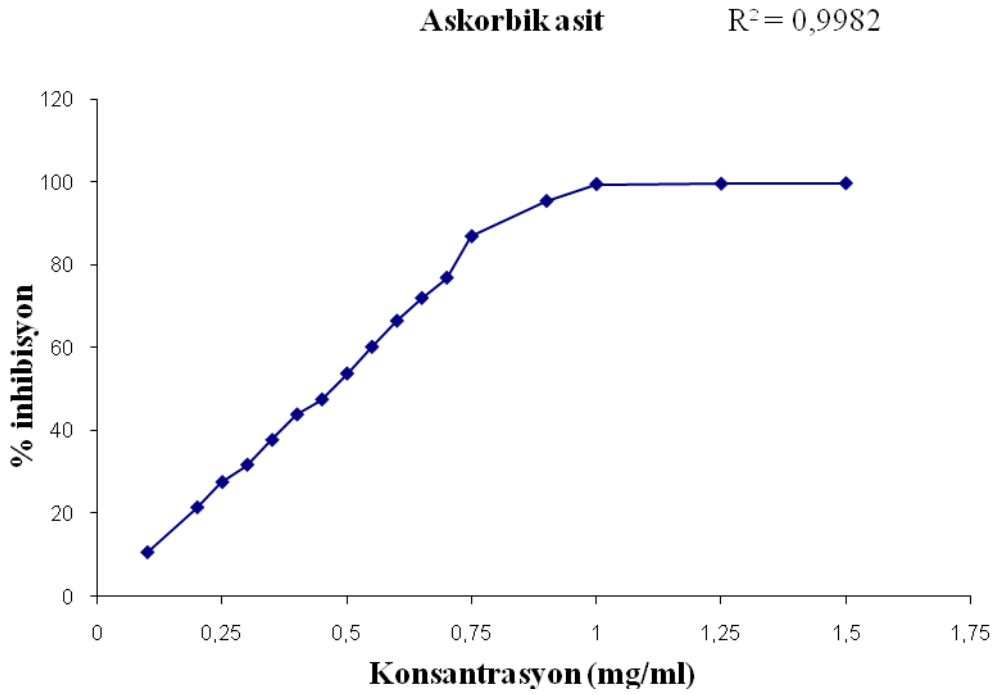
Materyal ve yöntem bölümünde ayrıntılarıyla anlatılan yöntem izlenerek; kararlı DPPH radikalinin *V. antiochium* bitkisinden elde edilen metanolik özütün varlığındaki davranışı incelenmiştir. Elde edilen metanolik özütün ve pozitif kontrollerin (BHT ve askorbik asit) stok çözeltilerinden hazırlanan farklı derişimlerdeki özütün ve pozitif kontrollerin % 0.004' lük DPPH çözeltisinin rengini açma kapasitesi % inhibisyon olarak değerlendirilmiştir. *V. antiochium*' un metanolik özütü ile BHT ve askorbik asitin çeşitli derişimlerine karşı % inhibisyon grafikleri Şekil 4.2., 4.3. ve 4.4.' te verilmiştir.



Şekil 4.2. *V. antiochium* 'un metanolik özütünün çeşitli derişimlerine karşı DPPH'nin % inhibisyon grafiği

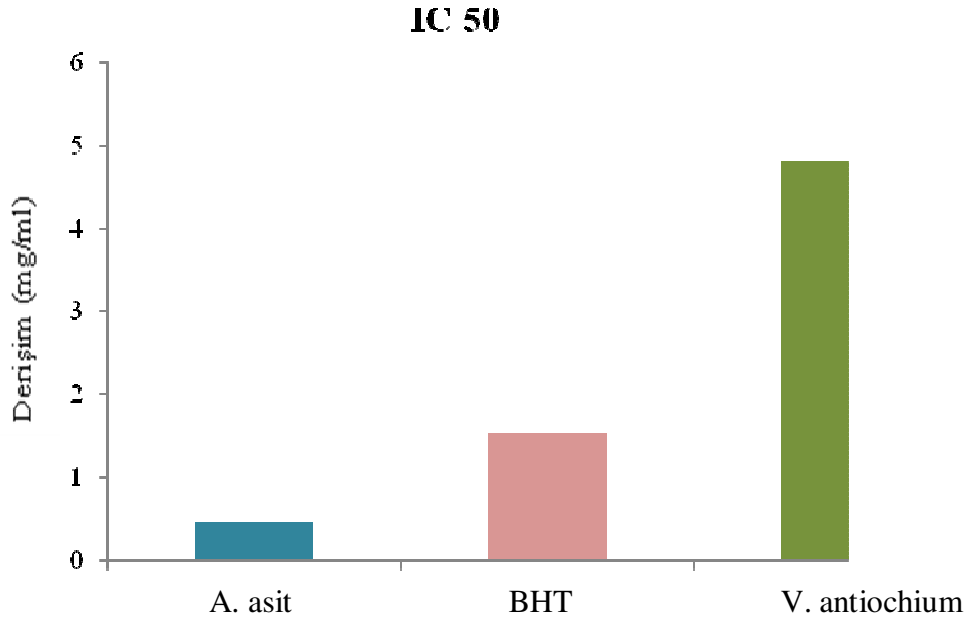


Şekil 4.3. BHT' nin çeşitli derişimlerine karşı DPPH' nin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.4. Askorbik asitin çeşitli derişimlerine karşı DPPH' nin % inhibisyon grafiği

Bu sonuçlar doğrultusunda *V. antiochium*' un metanolik özütünün kontrol grupları olan askorbik asit ve BHT' ye oranla yüksek bir derişimde, DPPH' yi % 100 inhibisyona uğrattığı görölmektedir. Ayrıca *V. antiochium* özütü ve kontrol gruplarının DPPH' nin % 50 (IC₅₀) inhibisyonuna neden olan derişimleri de belirlenerek Şekil 4.5.' te karşılaştırmalı olarak grafik şeklinde verilmiştir.



Şekil 4.5. Askorbik asit, BHT ve *V. antiochium*' un DPPH testinde % 50 inhibisyon sağlayan derişimleri

Özüt ve pozitif kontrollerin % 100 inhibisyon sağlayan derişim değerlerine paralel olarak, % 50 inhibisyon sağlayan derişimleri incelendiğinde yine *V. antiochium*' un IC₅₀ değerinin pozitif kontrollere oranla yüksek olduğu (4,8 mg/ml) görülmektedir. Özütün ardından BHT' nin en yüksek IC₅₀ değerine (1,53 mg/ml) sahip olduğu görülmektedir. Askorbik asitin ise oldukça güçlü bir antioksidan aktivite göstermesinden dolayı, kararlı bir radikal olan DPPH' nin aktivitesini (*V. antiochium* ve BHT' ye göre) çok daha düşük derişimlerde inhibe ettiği görülmektedir (IC₅₀: 0,46 mg/ml) (Şekil 4.5).

4.3.2. β -Karoten Renk Açılım Testi

β -karoten linoleik asit test sistemine oksijene doyurulmuş suyun eklenmesi linoleik asitin peroksidasyonuna ve dolayısıyla β -karotenin renginin zamana bağlı olarak açılmasına neden olmuştur. β -karotenin renginin açılmasının linoleik asidin oksidasyonu sonucu ortaya çıkan konjuge dienler ve diğer uçucu bozunma ürünlerinden

kaynaklanmaktadır (Dapkevicious ve ark., 1998). 48. saatte β -karotenin rengine meydana gelen değişimler 490 nm dalga boyunda spektrofotometreyle ölçülerek absorbans değerleri belirlenmiştir. Pozitif kontrol olan BHT ve özütten elde edilen absorbans değerleri boş kontrole karşı değerlendirilerek linoleik asitin oksidasyonu üzerindeki % inhibisyon değerleri BHT için 92,5 V. antiochium için 88,6 olarak belirlenmiştir. Değerlendirme sırasında β -karotenin açık sarı olan renginin korunması pozitif aktivite değeri olarak değerlendirilmiştir.

β -karoten renk açılım testinin sonuçlarına göre *V. antiochium*' un metanolik özütü neredeyse pozitif kontrole eşdeğer oranda bir inhibisyon gösterdiği saptanmıştır.

Bitkilerden elde edilen bazı feniletanoid glikozitlerinin in vitro koşullarda oldukça güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri ve özellikle yapısında caffeic asit ve ferulic asit gibi fenolik asitler içeren feniletanoid glikozitlerin güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Çalış ve ark., 2001; Tatlı ve ark., 2007). Cuendet ve arkadaşları (1997) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Fragraea blumei* bitkisinden elde edilen özellikle hidrokinon içeren iridoit glikozitlerinin de güçlü bir şekilde antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi *Verbascum* cinsinden izole edilmiş flavanoit, feniletanoid ve iridoit glikozitleri bulunmaktadır (Klimek ve ark., 1996; Tatlı ve ark., 2007). Özellikle de iridoit glikozitlerinin *Scrophulariaceae* familyasının üyeleri arasında oldukça yaygın olduğu ve kemotaksonomik bir belirteç olarak bu kimyasalların önemli olduğu Akdemir ve arkadaşları (2004) tarafından yapılmış çalışmalarda belirtilmiştir. *V. pycnostachyum* ile yapılan bir çalışmada bu bitkinin metanolik özütünün iridoit glikozitlerinden okubin, ajugol, ajugozit ve harpagozit içerdiği, feniletanoit glikozitlerinden verbaskozit içerdiği ve bu glikozitlerden harpagozit ve verbaskozitin konsantrasyona bağlı olarak DPPH üzerinde inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (Tatlı ve ark., 2007). Bir diğer çalışmada *V. lesianthum*'um köklerinden izole edilen harpagozit (iridoit glikoziti) ve poliumozitin (feniletanoid glikozit) güçlü antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Akdemir ve ark., 2004). Ayrıca *V. salviifolium*'dan da elde edilen glikozitlerin DPPH yöntemi ile güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Akdemir ve ark., 2003).

Yapılan çalışma sonucunda *V. antiochium* bitkisinin metanolik özütünün antioksidan aktivitesinin diğer araştırmacıların elde etmiş oldukları bulgularla paralel sonuçlar gösterdiği bulunmuştur. *V. antiochium*' un da bu cinsin diğer üyeleri gibi

çeşitli glikozitler içerebileceği ve göstermiş olduğu antioksidan aktivitenin de bu kimyasallardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Scrophulariaceae familyasının en geniş cinsi olan *Verbascum* ülkemizde de çok sayıda tür ile temsil edilen bir türdür. Türkiye’ de yetişen 233 türün 185’ inin endemik olması ve bu türlerin birçoğunun araştırılmamış olması *Verbascum* türlerini ilgi çekici hale getirmektedir.

Halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde veya önleyici tedavide kullanılan pek çok bitkinin in vitro ortamda antimikrobiyal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. İn vitro ortamlarda elde edilmiş olan bu önemli sonuçlar özellikle çeşitli enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen hastalıkların tedavisinde bitkilerin kullanımının haklı gerekçesini açıklamaktadır.

20. yüzyılın ortasından günümüze değin hızla gelişen ve mikroorganizmalar arasında genetiksel aktarım yoluyla yayılan bakteriyel direnç bilim insanlarının alternatif antimikrobiyal madde arayışlarını zorunlu kılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite gösteren bitkisel kökenli kimyasalların mikroorganizmaları sentetik kematerapotiklerden daha farklı mekanizmalarla inhibe ettikleri bildirilmiştir. Farklı etki mekanizmasının bir sonucu olarak özellikle antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiş mikroorganizmaların bu kimyasallar tarafından in vitro ortamda büyümelerinin inhibe edildiği çalışmalarla ortaya konmuştur.

Verbascum türlerinin başta iridoit glikozitleri olmak üzere fenil propanoit ve fenil etanoit glikozitleri, saponozitler ve flavonoitler gibi başlıca sekonder metabolitleri içerdikleri belirlenmiştir. Bugüne kadar yapılmış olan biyolojik aktivite çalışmalarında ise özellikle antibakteriyel ve antifungal etki üzerinde durulmuş ve son yıllarda ise bazı türlerin antioksidan etkileri de araştırılmıştır. Bunların dışında antiviral, antiülserojenik, sitotoksik ve antitümör, immunomodülatör, antihepatoma etkilerinin de bazı türlerde araştırıldığı göze çarpmaktadır. Yapılan literatür taraması sonucunda Türkiye’ de yetişen *Verbascum* türlerinin çok azının araştırıldığı görülmüştür. Bu çalışmayla *V. antiochium* bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

V. antiochium bitkisinin geleneksel kullanımına ait kayda rastlanmadığından bu türün biyolojik aktivite açısından öncelikle diğer *Verbascum* türlerinde sıklıkla gözlenmiş olan antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktiviteler yönünden

incelenmesi gerekliliği düşünölmüş ve iki farklı özütleme işlemleri (artan polarite ve direkt metanol) yapılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite testinde uygulanan agar kuyu difüzyon metodunun sonucunda özütlerden metanol/su ve metanol özütlerinin mikroorganizmalar üzerinde yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca hekzan özütünün *C. albicans* ATCC 10231 fungusu üzerinde antifungal etkisinin olduğu saptanmıştır. Özütlerin hem bakteriler hem de bir fungus olan *C. albicans* üzerinde aktivite göstermiş olması bitkinin içeriğinde bulunan antimikrobiyal maddelerin çok çeşitli olabileceğini düşündürmektedir. Çalışma sonucunda *Verbascum* bitkisinin diğer türleriyle yapılmış olan antimikrobiyal aktivite sonuçlarıyla paralel bulgular elde edilmiştir.

Antioksidan aktivite testlerinde hızlı sonuç veren DPPH ön testinden sonra β -karoten renk açılım testi uygulanmıştır. Buna göre *V. antiochium* metanolik özütü çalışmada kullanılan pozitif kontrol BHT ile neredeyse eşit derecede antioksidan aktivite göstermiştir ve bu etkiden sorumlu bileşiklerin daha ileri çalışmalarda bu araştırmaların yapılabileceğinin uygun olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Bu sonuçlar doğrultusunda *V. antiochium* bitkisinin çeşitli özütleriyle yapılmış olan antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarının sonuçları umut verici kabul edilmekle beraber bu aktivitelerden sorumlu fonksiyonel sekonder metabolit grup veya grupların neler olduğu üzerine net veriler ortaya koyamamaktadır. Bu nedenle daha ayrıntılı kimyasal analizlerle bitkinin kimyasal yapısının aydınlatılması, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye neden olan etken madde gruplarının saflaştırılması önerilmektedir. Ayrıca yapılan literatür taramaları sonucunda *V. antiochium* bitkisiyle ilgili herhangi bir biyolojik aktivite veya kimyasal analiz sonucuna ulaşılamamış olması da bu durumun gerekliliğini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- Abougazar H., Bedir H., Khan I.A., Çalış I., 2003. Wiedemanniosides A-E: new phenylethanoid glycosides from the roots of *Verbascum wiedemannianum*. **Planta Medica**, 69:814-819.
- Akdemir Z.S., Tatlı I.I., Bedir E., Khan A.I., 2003. Antioxidant flavonoids from *Verbascum salviifolium* Boiss. **Fabad J. Pharm. Sci**, 28: 71-75.
- Akdemir Z.S., Tatlı I.I., Bedir E., Khan I.A., 2004. Neolignan And Phenylethanoid Glycosides From *Verbascum salviifolium* Boiss. **Turk J Chem**, 28 : 621-628.
- Akdemir Z.S., Tatlı I.I., E. Bedir, Khan I.A., 2004. Acylated Iridoid Glycosides from *Verbascum lasianthum*. **Turk J Chem.**, 28 : 101 – 109.
- Akdemir Z.S., Tatlı I.I., Bedir E., Khan A.I., 2004. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Verbascum lasianthum*. **Turk J. Chem.**, 28: 227-234
- Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S., 2002. **Bitki Biyoteknolojisi I**. Sel-Ün yayınları, 374, Konya
- Başer K. H.C., 2000. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c23/CI011069.pdf>
- Baytop T., 1972. **Farmasötik Botanik** İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Sy.246
- Baytop, T.,1984. **Türkiye’ de Bitkiler ile Tedavi**. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi, No:40, İstanbul.
- Baytop,T., 1999. **Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi**. Nobel Tıp Kitapevleri, 480, Ankara
- Barbour E. K., Al Sharif M., Sagherian V. K., Habre A. N., Talhouk R. S., Talhouk S. N. 2004. Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 93 : 1–7
- Branther A., Grein E., 1994. Antibacterial activity of plant extracts used externally in traditional Medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, 44: 35-40.
- Briskin D.P., 2000. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. **Plant Physiology**, 124: . 507–514,
- Buchanan B., Gruissem W., Jones R., 2000. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. **American Society of Plant Physiologists**. 1250-1318
- Burits M., Bucar F., 2000. Antioxidant Activity Of *Nigella Sativa* Essential Oil. **Phytotherapy Research**, 14:323–328
- Candan F., Sökmen A., 2004. Effects of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on Lipid Peroxidation and Free Radical Scavenging Activity. **Phytotherapy Research**, 18: 84-86
- Ceylan, A., 1995. **Tıbbi Bitkiler I**. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 312. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atelyesi, Bornova İzmir
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products As Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**. 12: 564-582
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., Dyatmiko W., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*. **Helvetica Chimica Acta** , 4 : 1144 – 1152
- Çalış I., Gazar A.H., Bedir H., Khan A., 2001. Phenylethanoid glycosides with free radical scavenging properties from *Verbascum wiedemannianum*. **3. IUPAC International Conference on Biodiversity**. Antalya, 64
- Dapkevicius A., Venskutonis van Beek R.,T. A, Linssen J.P H, 1998. Antioxidant Activity of Extracts Obtained Different Isolation Procedures from some Aromatic Herbs Grown in Lithuania. **J Sci Food Agric** , 77: 140-46
- Davis P.H., 1978. *V. antiochium*. Flora of Turkey and East Aegean Island. Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 6: 558-559.

- Davis P.H., 1978. *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and East Aegean Island. Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 6: 461-603.
- Davis P.H., Mill R.R., Tan K., 1988. Flora of Turkey and The East Aegean Island. Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 10: 191-193.
- Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, 88: 308–316
- Dülger B., Kırmızı S., Arslan H., Güteryüz G., 2002. Antimicrobial Activity of Three Endemic *Verbascum* Species. **Pharmaceutical Biology**, 40/8:587–589
- Dülger B., Gönüz A., 2004. Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Salvia* and *Stachys* Species. **Pharmaceutical Biology**, 42(4-5): 301-304.
- Dülger B., Uğurlu E., 2005. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic Scrophulariaceae Members from Turkey. **Pharmaceutical Biology**, 43/ 3: 275-279
- Dülger B., 2006. Antimicrobial Activity of Some Endemic Scrophulariaceae from Turkey. **Pharmaceutical Biology**, 44/ 9: 672–676
- Eryılmaz B., 2001. Capsicum annum (L.) Solanaceae meyvelerinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilmesi. **Yüksek Lisans Tezi**, Gazi Üniv. 102 s, Ankara
- Essawi T., Sour M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 70: 343-349
- Farnsworth N. R., 1990. The role of ethnopharmacology in drug development. **Ciba Found. Symp.** 2:11-21
- Fokialakis N., Kalpoutzakis E., Tekwani B. L., Khan S. I., Kobaisy M., Skaltsounis A. L., Duke S. O., 2007. Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from the Greek island of Crete. **Nat Med**, 61:38-45
- Fowler, M. W., 1982. Substrate utilisation by plant cell cultures. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 32: 338-346.
- Ghorbani A., 2005. Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Turkmen Sahra, North of Iran (Part 1): General results **Journal of Ethnopharmacology**, 102;58-68.
- Güner A., Özhatay N., Tuna E., Başer K.H.C., 2000. *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and The Aegean Islands. (Supplement 2) Edinburgh: Edinburgh University Press, Vol 11: 193.
- Gürhan G., Ezer N., 2004. Halk Arasında Hemoroit tedavisinde kullanılan Bitkiler I. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 24:37-55
- Hartmann T., 1996. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 80: 177-188,
- Heywood V.H., 1979. **Flowering Plants of the World**. Oxford: Oxford University.
- Hoareau L., Da Silva J. E., 1999. Medicinal plants: a re-emerging health aid. **Electronic Journal of Biotechnology**, 2:56-70
- Jassim S.A.A., Naji M.A., 2003. A Review Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. **Journal of Applied Microbiology**, 95:412-427
- Juan R., Fernandez I., Pastor J., 1997. Systematic consideration of microcharacters of fruit and seeds in the genus *Verbascum* (*Scrophulariaceae*). **Annals of Botany**, 80: 591-598.
- Keleş, O., Ak, S., Bakırel, T., Alpınar, K. 2001. Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. **Türk Journal Of Veterinary And Animal Sciences**, 25, 559-565

- Kıvçak B., Mert T., 2002. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Ceratonia siliqua* L. Extracts. **Turk J Biol**, 26:197-200
- Klimek B., Lavaud C., Massiot G., 1996. Saponins from *Verbascum nigrum*. **Phytochemistry**, 31(12): 4368-4370.
- Koleva I., Van Beek T., Linssen J. P. H., Groot A., Evstatieva L. N., 2002. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, 13:8-17
- Koşar M., Bozan B., Temelli F., Başer K.H. C., 2002. SUMAK (*Rhus Coriaria*)'in Fenolik Bileşikleri Ve Antioksidan Etkileri. **Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı**.
- Lall N., Hussein A. A., Meyer J. J. J. M., 2006. Antiviral and antituberculous activity of *Helichrysum melanacme* constituents. **Fitoterapia**, 77: 230-232
- Magiatis P., Spanakis D., Mitaku S., Tsitsa E., Mentis, A., Harvala C., 2001. Verbalactone, a New Macrocyclic Dimer Lactone from the Roots of *Verbascum undulatum* with Antibacterial Activity. **J. Nat. Prod.**, 64:1093-109
- Mahasneh A. M., El-Oqlah A. A., 1999. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. **Journal of Ethnopharmacology**, 64:271-276
- Mahindru S.N., 1992. Indian Plant Perfumes Metropolitan Phototype Settera Printers Ltd India
- Mantle D., Anderton J. G., Folkos G., Barnes M., Jones P., Perry E. K., 1998. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 121: 385-391
- McCutcheon A.R., Ellis M.S., Hancock W.E.R., Towers N.H.G., 1994. Antifungal screening of Medicinal plants of British Columbian native peoples. **Journal of Ethnopharmacology**. 44: 157-169.
- McCutcheon A.R., Roberts T.E., Gibbons E., Ellis M.S., Babiuk A.L., Hancock W.E.R., Towers N.H.G., 2005. Antiviral screening of British Columbian Medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 49:101-110
- Mariassyova, M., Heilerová, 2004. L. Optimalization Of Antioxidants Extraction From Wool Mullein (*Verbascum Densiflorum*). **3. Medicinal and aromatic plants of southest european countries, book of Abstract**, 57.
- Meral G.E., Konyalıoğlu S., 2002. Üç *Hypericum* L. Türünün Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi. **Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı**.
- Meurer-Grimes B., McBeth D.L., Hallihan B., Delph S., 1999. Antimicrobial Activity In Medicinal Plants Of The Scrophulariaceae And Acanthaceae. **International Journal of Pharmacognosy**, 4: 243-248.
- Meyer J.J.M., Afolayan A.J., M.B. T, Erasmus D., 1997. Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. **Journal of Ethnopharmacology**, 56: 165-169
- Mouhajir F., Hudson J.B., Rejdali M., Towers G.H.N., 2001. Multiple Antiviral Activities of Endemic Medicinal Plants Used by Berber Peoples of Morocco. **Pharmaceutical Biology**, 39:364-374
- Nair R., Kalariya T., Chanda S., 2005. Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora. **Turk J Biol**. 29: 41-47

- Nascimento, G.G.F., Locatelli J., Freitas P.C., Silva, G.L. 2000. Antibacterial Activity Of Plant Extracts And Phytochemicals On Antibiotic-Resistant Bacteria. **Brazilian Journal Of Microbiology**. 31:247-256
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1999. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **9th International Supplement**. M100-S9.
- Newman D.J., Cragga G. M., Snader K. M., 1999. The influence of natural products upon drug discovery. **Nat. Prod. Rep**, 17: 215-234
- Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J. A., Deemer E.K. 2002. Analysis Of Antioxidant Activities Of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (Orac) And Ferric Reducing Antioxidant Power (Frap) Assays: A Comparative Study. **J. Agric. Food Chem.**, 50:3122-3128 .
- Özen T., 2003. Bazı bitkilerin Antioksidan Aktivitesinin İn Vitro ve İn Vivo Araştırılması. **Doktora Tezi**, Samsun On Dokuz Mayıs Üniv. 103 s, Samsun
- Pereira R. S., Sumita T. C., Furlan M. R., Olavo A., Jorge C., Ueno M., 2004. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. **Rev. Saude. Republica**, 38:1-3.
- Philipson, J. D., 1990. Plants as sources of valuable products. **In Secondary Products from Plant Tissue Culture**, eds. Charlwood, B. V. & Rhodes, M. J. , pp. 1-22. Oxford: Clarendon Press.
- Polunin, O., Huxley, A., 1972. Flowers of the Mediterranean, Publications of Chatto and WindosLtd., London
- Principe, P. P., 1991. Valuing the biodiversity of medicinal plants. **In Conservation of Medicinal Plants**. eds. Akerele, O., heywood, V. & Syngé, H., pp. 79-124. Cambridge: Cambridge University Press.
- Rios J. L., Recio M. C., 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 100:80-84.
- Robbers J.E., Tyler V.E. 1999. **Tyler's Herbs of Choice** (The Therapeutic Use of Phytomedicinals). New York: The Harworth Heral Pres, ;119
- Sağdıç O., Aksoy A., Özkan G., Ekici L., Albayrak S., 2008. Biological activities of two endemic Sideritis species in Turkey. **Innovative Food Science and emerging technologies**, 9:80-84
- Schwikkard S., Van Heerden F. R., 2002. Antimalarial activity of plant metabolites **Nat. Prod. Rep.**, 19: 675-692
- Sibanba T., Okoh A.I., 2007. The challenges of overcoming antibiotic resistance plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. **Africa J. Biotech.**, V: 6(25), 2886-2896
- Sökmen A., Jones M. J., Ertürk M., 1999. Antimicrobial Activity of Extracts from the Cell Cultures of some Turkish Medicinal Plants. **Phytother. Res.**, 13:355–357
- Sökmen A., 1999. Antiviral and Cytotoxic Activities of Extracts from the Cell Cultures and Respective Parts of Some Turkish Medicinal Plants. **Turk J Biol.**, 5:343-350
- Şener B., 2004. **Turhan Baytop Anma Kitabı**. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 81. 150 s. İstanbul

- Tadeg H., Mohammed E., Asres K., Gebre-Mariam T., 2005. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. **Journal of Ethnopharmacology** , 100:168-175
- Tanker M., Tanker N., 1998. **Farmakognozi Cilt 2**. Ankara Üniv. Eczc. Fak. Yayınları No:65. 433 s. Ankara.
- Tanker M., Tanker N., 2003. **Farmakognozi Cilt 1**. Ankara Üniv. Eczc. Fak. Yayınları No:66. 347 s. Ankara.
- Tatlı İ.İ., Akdemir Ş.Z., Bedir E., Khan A.I., 2002. *Verbascum pterocalycinum var. mutense*’ den elde edilen doğal bileşikler ve bunların antimikrobiyal aktiviteleri. 14. Bihat. Eskişehir. 27.
- Tatlı İ.İ., Schuhly W., Akdemir Z.S., 2007. Secondary metabolites from bioactive methanolic extract of *Verbascum pycnostachyum* Boiss. & Helder Flowers. **Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy**. Volume 27/ Number:1, 23-32
- Tepe B., 2002. Lamiaceae Familyasına ait bazı Bitki türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. **Yüksek Lisans Tezi**, Cumhuriyet Üniv. 66 s., Sivas
- Tepe B., Dönmez E., Ünlü M., Candan F., Dafera D., Ünlü G. V., Polissoui M., Sökmen A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). **Food Chemistry** ,84:519-525
- Tepe B., Sökmen M., Akpulat H.A., Yumrutaş Ö., Sökmen A., 2005. Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch.&Mey., *Sideritis libanotica* Labill. Subsp. *linearis* (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* D.C. and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora. **Food Chemistry**.
- Tepe B., Sökmen M., Akpulat H. A., Sökmen A., 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. **Food Chemistry**, 95:200–204
- Tiuman S. T., Nakamura U. T., Cortez G. A. T., Filho D. P. B., Dí'az M. J. A., Souza W., 2004. Antileishmanial Activity of Parthenolide, a Sesquiterpene Lactone Isolated from *Tanacetum parthenium*. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 49: 176–182
- Tiuman T.S., Nakamura U.T., Dias Filho B.P., Cortez G.A.D., Nakamura V.C., 2005. Studies On The Effectiveness Of *Tanacetum parthenium* Against *Leishmania amazonensis*. **Acta Protozool.**, 44: 245 – 251
- Tuğlacı, Pars, Okyanus, İstanbul, 3, 3080, 1974
- Turan K., Turan S. Ö., Kuru A., 1999. Sanicula europaea L. Rizomlarından Hazırlanan Sulu Ekstraktların Anti-Influenza Virus Aktivitesi. **Tr. J. of Biology**, 23:369-376
- Türker A.U., Gürel E., 2005. Common Mullein (*Verbascum thapsus* L.): recent advances in research. **Phytotherapy Research**.
- Türküsay H., Onoğur E., 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının In Vitro Antifungal Etkileri Üzerine Araştırmalar. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 22: 267-271
- Uysal İ., Çelik S., Oldacay M., 2005. Antimicrobial activity of *Anthemis coelopoda* and *Anthemis tinctoria* species having ethnobotanical features. **Journal of Applied Sciences**, 4: 639-642

- Uzun E., Sariyar G., Andersen A., Karakoç B., Ötük G., Oktayoğlu E., Pırıldar S., 2004. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. **Journal of Ethnopharmacology**, 95: 287-296
- Ünlü-Vardar G., Candan F., Sökmen A., Daferera D. , Polissiou M., Sökmen M., Dönmez E., Tepe B., 2003. Antimicrobial And Antioxidant Activity Of The Essential Oil And Methanol Extracts Of *Thymus Pectinatus* Fisch. Et Mey. Var. *Pectinatus* (Lamiaceae). **J. Agric. Food Chem.** 51: 63-67
- Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L., Oomah B. D., 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. **J. Agric. Food Chem.** 46: 4113-4117
- Vichi S., Zietter-Eglseer K., Jugl M., Franz C., 2001. Determination of the presence of Antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal feed by means of assessment of the radical scavenging capacity by phytochemiluminescence analysis. *Nahrung* food, 45, 101-104
- Warashina T., Miyase T., Ueno A., 1992. Phenylethanoid and lignan glycosides from *Verbascum thapsus*. *Phytochemistry*, 31(3): 961-965.
- Yeşilada E., Hondab G., Sezik E., Tabata M., Goto K., Ikeshiro Y., 1993. Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. **Journal of Ethnopharmacology**, 39: 31-38

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın bütün aşamalarında derin bilgi birikimi, tecrübesi, laboratuvar çalışmalarım ve tez yazım aşamalarında değerli katkılarıyla yol gösterici olan, manevi desteği ile sürekli yanımda olduğunu hissettiğim danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Birgül ÖZCAN' a, değerli fikirleriyle bana yol gösteren Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Mahmut ÇALIŞKAN' a çok teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca manevi desteğini esirgemeyen, her an yanımda olduğunu hissettiren ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarım için mikroorganizmaların temininde yardımlarını esirgemeyen sevgili nişanlım Dr. Barış Düzel' e (Yeşilyurt Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi) sonsuz teşekkürler.

Bitki materyalinin toplanmasını sağlayan ve teşhisini gerçekleştiren Sayın Dr. Hikmet YOLCU' ya ve kimyasal analizler sırasında yol gösteren MKÜ FAM Müdürü Sayın Yrd.Doç.Dr. M. Kemal SANGÜN' e, laboratuvar çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca manevi desteğini esirgemeyen, her anımda yanımda olduklarını hissettiren, varlıklarından güç aldığım sevgili aileme sonsuz teşekkürler.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İskenderun' da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İskenderun' da tamamladım. 2001 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. 2006 yılında mezun oldum. Mezun olduğum yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladım.