



**Iris unguicularis Poiret'in FARMASOTİK**

**ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**RESUL ATEŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ**

**Ocak - 2019**

**Her hakkı saklıdır**

**T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***Iris unguicularis* Poirlet'in FARMASOTİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**RESUL ATEŞ**

**TOKAT  
Ocak - 2019**

Her hakkı saklıdır

RESUL ATEŞ tarafından hazırlanan “**Iris unguicularis Poiret Farmasotik Özelliklerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **14 Aralık 2018** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı** nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

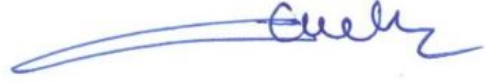
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ



Üye  
Doç. Dr. Necibe Canan USTA  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Üye  
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ  
Gaziantep Üniversitesi



ONAY

Prof. Dr. Çetin ÇEKİCİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## **TEZ BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**RESUL ATEŞ**

**14 Aralık 2018**

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## **Iris unguicularis Poiret'in FARMASOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Resul ATEŞ**

**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**(Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ )**

*Iridaceae* familyası kozmopolit bir ailedir. Doksan iki cinsi bulunup bu cinslerden altısı ülkemizde yayılış göstermektedir. Iris cinsinin Türkiye’de on altısı endemik olmak üzere toplam kırk altı türü bulunmaktadır. Halk arasında rizomları tedavi amaçlı kullanılmaktadır. *Iris unguicularis* bitkisi ile ilgili biyoaktif bileşiklerine yönelik çalışma mevcut değildir. Bu nedenle çalışmamızda *Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yaprak kısımlarının hekzan, diklorometan, metanol ve su özütleri elde edilerek biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktiviteleri çalışılmıştır. Antioksidan aktivitesi için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH yöntemi kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite testleri 4 farklı standart bakteri suşu kullanılarak CLS’ye göre MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) yöntemi kullanılmıştır. DNA koruyucu aktivite için pBR322 plazmid DNA’sı ve UV-C kullanılarak yapılmıştır. Farklı özütler farklı antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiş olup özellikle kök metanol özütlerinin aktivite gösterdikleri saptanmıştır. Yine antibakteriyel aktivite açısından su , metanol , hekzan, diklorometan özütlerinin etkili olduğu gözlenmiştir. DNAkoruyucu aktivite açısından en fazla koruyucu aktivite gösteren bitki kısımları yaprak ve kök su ve diklorometan özütlerin olduğu belirlenmiştir. *Iris unguicularis* bitkisinin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu özellikte aktif bileşiklere sahip olduğu ortaya konulmuştur.

2018, 37 Sayfa

**ANAHTAR KELİMELER:** *Iris unguicularis*, DNA, CLS, UV-C, DPPH, pBR322

## ABSTRACT

Master Thesis

### DETERMINATION OF PHARMASOTICAL PROPERTIES OF *Iris unguicularis* Poiret'in

Resul ATEŞ

GAZIOSMANPAŞA UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

BIOLOGY DEPARTMENT

(Assistant Prof. Dr. Bedrettin SELVİ)

The Iridaceae family is a cosmopolitan family. There are ninety-two genders and six of these genders are spreading in our country. Turkey sixteen in total fracture of the genus *Iris* There are six species being endemic. People's rhizomes are used for treatment. There is no study of bioactive compounds related to the *Iris unguicularis* plant. For this reason, in our study, bioactivity of the root and leaf parts of *Iris unguicularis* plant was investigated by obtaining hexane, dichloromethane, methanol and water extracts. Antioxidant, antibacterial and DNA protective activities have been studied for this purpose. Rel Assay Diagnostics kits (TAS, TOS) and DPPH method were used for antioxidant activity. Antibacterial activity tests MIC (minimum inhibition concentration) method was used according to CLS using 4 different standard bacterial strains. Plasmid DNA of pBR322 and UV-C were used for DNA-protecting activity. Different extracts showed different antioxidant activity, especially the radical methanol extracts showed activity. Again, water, methanol, hexane, dichloromethane extracts were observed to be effective for antibacterial activity. It was determined that leaf and root water and dichloromethane extracts were the most conserved plant parts in terms of DNA protective activity. *Iris unguicularis* plant has antioxidant, antibacterial and DNA protective properties of active compounds.

2018, 37 Page

**KEY WORDS:** *Iris unguicularis*, DNA, CLS, UV-C, DPPH, pBR322

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tezimin her aşamasında bilgisini, tecrübesini ve sabrını benden esirgemeyen, onunla çalışmaktan büyük gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ'ye,

Tez çalışmam sırasında daima yol gösteren, deneyim ve bilgisini paylaştan değerli hocam Sayın Doç. Dr. H. İbrahim KILIÇ'a,

Çalışmalarım için destek olan Helba İlaç A.Ş'ye,

İş hayatı ile eğitim hayatının birlikte devam etmesine vesile olan Sayın Hakan ARISAN'a,

Gönüllü olarak yardım eden Arş. Gör. Mehmet ERDEM ve Sami Serhat TONUS'a,

Tezimin yazılmasında her zaman bana destek olan ve varlığıyla hayatıma neşe veren eşim Hilal ATEŞ'e,

Tüm yaşamım boyunca her türlü imkanı bana sağlayan, yanımda olan babam Niyazi ATEŞ'e ve annem Hamide ATEŞ'e teşekkürü borç bilirim.

**RESUL ATEŞ**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETİ.....	3
2.1. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler.....	3
2.2. Botanik Bilgileri.....	5
2.2.1. Iridaceae Familyası.....	5
2.2.2. Iris L. Cinsi.....	6
2.2.3. <i>Iris unguicularis</i> .....	8
2.2.4. <i>Iris</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı.....	8
2.3. Bitkisel Sekonder Metabolitler.....	11
2.4. Serbest Radikaller.....	11
2.4.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri.....	12
2.4.1.1. Diğer Serbest Radikaller.....	13
2.5. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri.....	14
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	15
2.6.1. Antioksidanlar.....	15



2.6.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	16
2.7. DNA Koruyucu Aktivite.....	17
2.8. Antibakteriyal Aktivite.....	18
<b>3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>19</b>
3.1. <i>Iris unguicularis</i> Özütlerinin Elde Edilmesi.....	19
3.1.1. Materyal.....	19
3.1.2. Bitki Özütlerinin Hazırlanması.....	19
3.2. <i>Iris unguicularis</i> Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod.....	19
3.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesi ile Antioksidan Aktivite Belirlenmesi.....	19
3.2.1.1. Materyal.....	20
3.2.1.2. DPPH Çözeltisinin Hazırlanması.....	20
3.2.1.3. Protokol.....	20
3.2.2. Total Antioksidan Seviyesinin (TAS) Belirlenmesi.....	20
3.2.2.1. Materyal.....	21
3.2.2.2. Protokol.....	21
3.2.3. Total Oksidan Seviyesinin (TOS) Belirlenmesi.....	21
3.2.3.1. Materyal.....	22
3.2.3.2. Protokol.....	22
3.3. <i>Iris unguicularis</i> Bitki Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi.....	22
3.3.1. Materyal.....	22
3.3.2. Protokol.....	23

3.3.3. Kontrol ve Iris unguicularis Özütlерinin Hazırlanması.....	23
3.4. Iris unguicularis Bitki Öütlerinin Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi.....	23
3.4.1. Materyal.....	23
3.4.2. Test Mikroorganizmaları.....	24
3.4.3. Protokol.....	24
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>25</b>
4.1. Öüt Verimi.....	25
4.2. Iris unguicularis Bitki Öütlerinin DPPH, TAS ve TOS Aktivite Bulguları.....	25
4.3. Iris unguicularis Kök ve Yaprak Öütlerinin DNA Koruyucu Aktivite Bulguları.....	28
4.4. Iris unguicularis Kök ve Yaprak Öütlerinin Antimikrabiyal Aktivite Sonuçları.....	29
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>30</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>32</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>37</b>

**KISALTMALAR****AÇIKLAMA**

BHT	Bütillenmiş hidroksi tolüen
BHA	Bütillenmiş hidroksi anizol
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EMB	Eozin Metilen Blue
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
linDNA	Doğrusal DNA
MDA	Malondialdehit
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MIK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
CLS	Clinical Laboratory Standarts
ocDNA	Open-circular DNA
PABA	P-aminobenzoik asit
RNA	Ribonükleik asit
scDNA	Supercoiled DNA
SOD	Süperoksitdismutaz
UV	Ultraviyole
VIS	Görünür ışık
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>Iridaceae</i> familyasının yayılış haritası.....	6
Şekil 2.2. <i>Iridaceae</i> 'ye ait bazı cinslerin genel görünümü.....	6
Şekil 2.3. <i>Iris unguicularis</i> .....	7
Şekil 2.4. <i>Iris unguicularis</i> genel görünümü.....	8
Şekil 2.5. <i>Iris unguicularis</i> Türkiye dağılım haritası.....	9
Şekil 2.6. Sekonder metabolitlerin sentez yolları.....	10
Şekil 2.7. Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler.....	11
Şekil 2.8. Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	12
Şekil 2.9. Bazlar üzerine radikallerin etkisiyle oluşan ürünler.....	14
Şekil 2.10. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	17
Şekil 4.1. Özüt verim hesaplaması.....	25
Şekil 4.2. <i>Iris unguicularis</i> özütlerinin TAS değerleri.....	25
Şekil 4.3. <i>Iris unguicularis</i> özütlerinin TOS değerleri.....	26
Şekil 4.4. <i>Iris unguicularis</i> özütlerinin IC50 (mg) değerleri.....	27
Şekil 4.5. <i>Iris unguicularis</i> 'in kök, yaprak özütlerinin DNA koruyucu Aktivitesi Elektroforez görüntüsü.....	28

## TABLO LİSTESİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Tablo 2.1. Türkiye'deki Iris cinsine ait türler.....	7
Tablo 2.2. <i>Iris unguicularis</i> 'in taksonomik sınıflandırılması.....	9
Tablo 2.3. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri.....	12
Tablo 2.4. Bazı serbest radikal türleri.....	13
Tablo 4.1. <i>Iris unguicularis</i> 'in özütlerinin antioksidan, oksidan ve IC50 değerler.....	25
Tablo 4.2. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri.....	27
Tablo 4.3. <i>Iris unguicularis</i> özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi, Minimum inhibisyon konsantrasyon ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) sonuçları.....	28

## 1. GİRİŞ

Literatür taraması sonucu *Iris unguicularis* ile ilgili çalışmaların genel olarak bitkinin florası ile alakalı olup biyoaktivite çalışmalarının kısıtlı olduğu saptanmıştır.

Marner ve arkadaşları (1982) tarafından yapılan çalışma sonucunda *I. germanica*'dan iki yeni triterpen, irigermanal ve iridogermanal elde etmişlerdir.

Ali ve arkadaşları (1983) tarafından yapılan çalışma sonucunda *I. germanica* rizomlarından izoflavonoit bileşikler (irisolidon, irigenin, iridin) ve asetovanilon, sitosterol,  $\alpha$ -amirin ve  $\beta$ -amirin elde etmişlerdir.

Bonfils ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan çalışma neticesinde *I. germanica*'dan yeni bir epoksitlenmiş iridal bileşik izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Farag ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada *I. carthaliniae*'nin rizomlarından iki yeni izoflavonoit biosit, tectorigenin 4'-glikozil (1→6) glikozit ve iristectorigenin B 7-glikozil-(1→6) glikozit, bir yeni izoflavonoit monosit, 4'-metiltectorigenin 7-glikozit ve bir yeni flavon glikozit, 6,4'-dimetoksi-5-hidroksiflavon 7-glikozit, tectoridin ve tectorigenin 4'-glikozit izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Choudhary ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada *I. bungei*'den dört yeni flavon, irisflavon A-D, ve yeni bir izoflavon, irilin D izole edilmiştir.

Akyol ve ark. (2012), bu çalışmada *Crocus biflorus* Miller subsp. *tauri* (Maw) Mathew 'nin morfolojik ve anatomik özellikleri araştırıldı. Bitki örnekleri kareleme sistemine göre A8'de yer alan Erzurum ili, Narman ilçesinden toplandı. Anatomik çalışmalarda diğer Iridaceae üyelerine benzer oldukları belirtilmiştir.

Atta-ur-Rahman ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları bir çalışmada ise *I. germanica*'dan izole 5,7- dihidroksi-3-(3'-hidroksi-4',5'-dimetoksi)-8-metoksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5,7-dihidroksi-3-(3'-hidroksi-4',5'-dimetoksi)-6-metoksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5,7-dihidroksi-3-(4'-hidroksi)-6-metoksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5-hidroksi-3-(4'-hidroksi)-6,7-metilendioksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5-hidroksi-3-(4'-metoksi)-6,7-metilendioksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5-metoksi-3-(4'-hidroksi)-6,7-metilendioksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5,7- dihidroksi-3-(3'-hidroksi-4'-metoksi)-6-metoksi-4H-1-benzopiran-4-on, 5,7-dihidroksi-3-(3'-metoksi-4'-hidroksi)-6-metoksi-4H-1-benzopiran-4-on ve isopeanol'un antienflamatuar aktiviteleri belirlenmiştir.

Orhan ve arkadaşları (2003) tarafından yapılan çalışmada ise *I. germanica*'nın rizomlarından hazırladıkları çeşitli ekstraktların antibakteriyel, antifungal, insektisidal ve fitotoksik aktivitelerini saptamışlardır.

Kandemir (2006) İris türlerinin rizomlarının antineoplastik, antioksidan, antitümör, antiplasmodiyal, antitüberküloz, antispazmodik, emenagog ve diüretik etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Farag ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışma sonucunda Iris türlerin flavon, izoflavon, flavanon, ksanton, iridal, stilben, peltoginoit, kinon ve triterpen tipli bileşikler içerdikleri saptanmıştır.

Farag ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise *I. spuria*'nın rizomlarından iki yeni izoflavon glikozit elde edildiği bildirilmiştir.

Şengül ve ark. (2009), bu çalışmada bazı bitkilerin ekstraktları elde edilmiş (*Inula aucherana*, *Fumaria officinalis*, *Crocus sativus*, *Vicum album*, *Tribulus terrestris*, *Polygonatum multiflorum*, *Alkanna tinctoria* and *Taraxacum officinale*) in vitro ortamda antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Bitkilerin potansiyel kaynaklarının doğal bir antioksidan ve antimikrobiyal ajanlar olduğu belirtilmiştir.

Coşkun ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmada, 29 morfolojik ve 4 anatomik karakter kullanılmak suretiyle Türkiye'de yayılış gösteren 15 *Crocus* L. taksonu arasındaki akrabalık ilişkileri analiz edilmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Ülkemizin farklı iklim ve ekolojik koşullara ev sahipliği etmesi, floranın çok fazla miktarda bitki türü ve çeşitliliği barındırması, bu sebeple de ülkemizde tıbbi amaçlı kullanıma sahip olan çok fazla bitki çeşitliliği vardır (Bayram vd., 2010). Bu bitkilerin yarısından fazlasının antimikrobiyal etkiye sahip oldukları gerek yurt dışında, gerek ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalar sayesinde rapor edilmiştir (Panizzi vd.. 1993; Benli ve Yiğit 2005; Ertürk vd.,2010).

Bitkilerin veya bitkisel ürünlerin tedavi amaçlı olarak kullanılmaları eski tarihlere kadar dayandığı bilinmektedir. Dünya'nın çeşitli yerlerinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi amaçlı olarak kullanılan önemli bitkiler tarihin en eski çağlarından bu yana halk arasında kullanılmaktadırlar. Bitkilerin mikroorganizmalar üzerine etkisi ve insan sağlığına katkıları 1926'dan beri laboratuvar ortamında araştırılmaktadır (Vonderbank, 1949; Dığrak vd., 1999).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün aralarında 91 ülkenin bulunduğu farmakopeniler ve tıbbi bitkiler üzerine yapılan yayınlara dayanarak hazırladığı bir rapora göre tedavi amacı ile kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarın yaklaşık 20,000 civarında olup bunlardan sadece 500 kadarının üretimi yapılabilmektedir (Baytop, 1999).

Eski medeniyetlerin hastalıklara tedavi üretme amacıyla bitkileri kullandıklarına dair kanıtlar ilk yazılı eserlerde görülmektedir. Mezopotamya bölgesinde bulunan uygarlıkların hastalıkları bitkisel ilaçlarla tedavi etmeye çalıştıkları Ninova tabletlerinde belirtilmiştir.

Tabletlerden anlaşıldığı kadarıyla bu ilaç olarak kullanılan bitkiler arasında hardal, defne, kekik, haşhaş, nane ve rezene gibi bitkilere rastlanmaktadır.

Yunan medeniyetleri bünyesinde bitkisel ilaçlar ve tedavi üzerine çok önemli eserler yazılmış ve bu kitaplar senelerce Avrupa ve İslâm tıbbına temel teşkil etmiştir. Bu süre içerisinde yaşamış olan Hipokrat 400 civarında bitkisel ilaçtan bahsetmektedir (Baytop, 1999). Botaniğin kurucusu olarak kabul edilen ve yaklaşık 240 eseri olan Theophratus'un "Historia Plantarum" adlı eserinde çeşitli bitkilere ait ilaçlara yer verilmiştir (Kara, 2002).



İslam medeniyetleri döneminde de bitkisel tedavinin halk sağlığında ki yeri çok önemliydi. Bu dönemde Biruni, İbni Sina, İbni Baytar, El Gafiki, Davut Al - Antaki gibi büyük âlimler vardır. Biruni “Kitab al Saydada fi al- Tıb” adlı kitabında yaklaşık 200 ilaç kaydı bulunmaktadır (Baytop 1999). Batılıların Avicenna olarak tanıdığı ünlü Türk âlimi İbn-i Sina “Kanun-i Fit Tıb” (Tıp Kanunu) adlı kitabında 700 den fazla bitkisel ve hayvansal ilaçtan bahsetmiştir (Öztürk, 1990; Baytop, 1999; Kara, 2002).

WHO'nun yaptığı bir araştırmaya göre, gelişmekte olan ülkelerdeki bireylerin %80'i tedavi için sadece bitkisel ilaçları kullanmaktadır. Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç içerikleri, reçete ile satılan ilaçların %25'ini oluşturmaktadır (Farnsworth vd.,1985). Günümüzde antibiyotiklerin bilinçsiz bir şekilde kullanılması insan patojeni bakterilerin direnç kazanmasına sebebiyet vermiştir. Bu durum infeksiyon hastalıkları ile başa çıkmayı zorlaştırmıştır (Facey vd., 1999; Ahmad ve Beg 2001).

Bitkiler doğal yolla ürettikleri bazı maddeler sayesinde hayatta kalma oranlarını arttırmaya çalışırlar. Bitkilerin bu savaşı esnasında biyotik ve abiyotik birçok zararlı etmenlere maruz kalırlar. Bitkilerin bu zararlı maddelerden doğaları gereği uzaklaşma durumları olmadığından, kendilerini fotosentez sayesinde ürettikleri sekonder metabolitler adı verilen bazı maddeler ile korurlar. Bu ikincil ürünler savunma, korunma, ortama uyum ve nesillerini sürdürmeleri açısından bitkiler için oldukça önemlidir (Taiz ve Zeiger, 2008).Sekonder ürünler alkaloidler, flavonoidler, uçucu yağlar, tanenler, glikozitler, fenoller, renk maddeleri ve reçineler açısından zengin olan bitki çeşitleri, tıbbi ve aromatik bitkiler grubunda yer almaktadır (Baydar, 2007). Dünya sağlık örgütünün (WHO) çalışmasına göre dünya genelinde tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Önder, 1994). Tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen hammaddeler üzerine yapılan çalışmalara son zamanlarda ilgi artmıştır. Bunun asıl sebebi, tedavi için kullanılan sentetik ilaçların bazılarının yan etki riski taşımasıdır.

Gıda sanayisinde emülgatör olarak sentetik antioksidanlar uzun zaman koruması gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir (Lanchman, 2004). En çok tercih edilen antioksidanlar BHA (2-3 tert-Butyl-4-hydroxyanisole) BHT (3,5-tert-Butyl-4hydroxytoluene), DG (Dodecylgallate), OG (Octyl gallate) THBP (2,4,5-trihydroxybutyrophenone), PG (propyl gallate) ve TBHQ (tert-Butylhydroquinone)'dur. Fakat son yıllarda sentetik ürünlerin insan sağlığı üzerinde negatif etkiler tespit edildiğinden bunlara olan ilgi azalmaya başlamıştır. Bunlara ek olarak bu maddelerin

kullanımına sınırlandırılmalar getirilmiştir. Bu durum özellikle bitkisel kökenli doğal katkı kaynaklarına yönelimi teşvik etmiştir.

Vücudumuzda yadımlama esnasında tüketilen oksijen, reaktif ara ürünler (ROS) olarak adlandırılan zararlı radikalleri oluşturur. Bu tür zararlı bazı radikallerin varlığı stres durumlarında artarak vücutta birçok zararlı etkinin başlamasına olanak sağlar. Bu radikaller kararsız ve canlı bünyesinde diğer moleküllerle ve gruplarla etkin bir şekilde reaksiyona girebilirler. Meydana gelen bu ara moleküller, hücrelerin hasarlanmasına, hücre kaybına, yaşlanmalarına ve böylece hastalıklara sebep olabilen oksidanlardır.

Oksidanlar; canlı yapılarının hızlı yaşlanmasını tetiklediği gibi Alzheimer, Parkinson, romatizmal, kalp-damar sertliği ve kanser gibi hastalıklara oluşması için canlıyı duyarlı hale getirir. Oluşan reaktif oksijen ara ürünleri canlıda lipit yapılarının peroksidasyonunu, protein moleküllerinin oksidasyonunu ve bozulmasını, DNA üzerine etki ederek ciddi hasarların oluşmasını sağlayabilir. (Dawn, Allan ve Colleen, 1996; Akkuş, 1995; Burtis ve Ashwood, 1999).

UV ışınları cilt kanseri ve cilt yaşlanmalarına neden olan ciddi hastalıklara sebep olmaktadır. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların topikal olarak (cilt üzerine) uygulanması, cildi UV ışınların zararlı etkilerine karşı korumada etkili bir yaklaşımdır (Tepe vd., 2011).

Oksidanın DNA üzerine etkisi örneğin; hidrojen peroksitin guanin nükleotidini 8- hidroksiguanine çevirmesi şeklinde gerçekleşir (Gutteridge,1984). Genetik hasarlar nedeniyle oluşan kanseri kontrol eden veya engelleyen yeni moleküller saptamak için bitkisel kaynaklar yoğun olarak araştırılmaktadır (Feig vd., 1994).

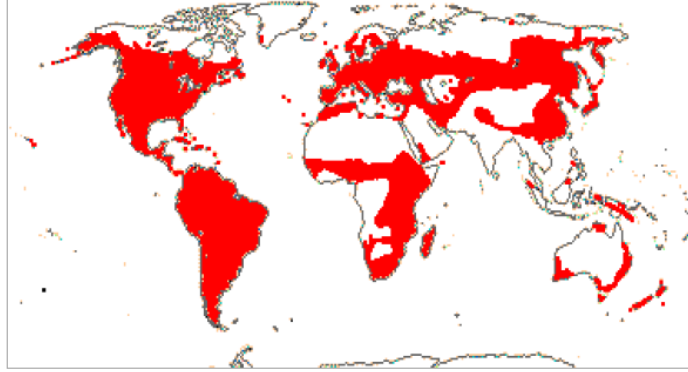
## **2.2. Botanik Bilgileri**

### **2.2.1. Iridaceae Familyası**

Geofitler Angiosperm grubuna ait olup dünyada çiçekli bitkiler örtüsünde önemli yer tutmaktadır. 250.000'den fazla olan çiçekli bitki türlerin %6,5-7'sini geofitler oluşturmaktadır. Danimarkalı botanikçi Christian Raunkier geofit terimini kullanan ilk bilim adamıdır. Bu bitkilerde toprağın altında tomurcuklanma gerçekleşirken, diğerlerinde ise toprak ile aynı seviyede veya üst kısmında gelişir. Tüm dünyada geofitlere rastlamak mümkündür ancak bu bitkilerden kökeni Akdeniz havzası olan çok bitki çeşidi vardır (Ekim vd.1992).

*Iridaceae* familyası kozmopolit bir familyadır. Kuzey Amerika, Avrupa, Kuzey Asya, Afrika'nın tropikal bölgeleri ve Avustralya' da yayılış gösterir. Bazı cinsleri

donmuş zonlar ve Kuzey Asya'da da yayılış göstermektedir. 92 tane cinsi vardır. Ülkemizde 6 cinsle temsil edilmektedir. Bu cinsler; Roumlea, Crocus, Gynandris, Hermodactylus, Gladiolus ve Iris'tir ( Davis, 1984; Usta, 2002).



Şekil 2.1. *Iridaceae* familyasının yayılış haritası (Janssen ve Bremer 2004)

Bu familyada; soğanlı, rizomlu ya da kormuslu bitkiler bulunur. Bitkiler dik ve büyük, yapraklar orta damarı boyunca ikiye katlı, eksen üzerine sapsız olarak karşılıklı iki sıra üzerine aynı planda ve tabanlarıyla biri diğerini örter durumda sık dizilişli, bunların birkaçı dik, diğerleri sarkık, geriye kıvrılmış haldedir ve çoğunlukla orta damarlarının üstü tüylüdür. Kaliks ve korolla iki sıra üzerine dizili ve zigomorftur. Sitamenler 3 tane, periant dışarıda ve sitamenlerin karşısındadır. Stilus 3 parçalıdır. Çiçekler hermafrodit, aktinomorf veya zigomorftur (Mathew, 1984). Bu familyanın en önemli cinslerinden biri olan *Iris* L. cinsi 5 altcins ile temsil edilir: *Iris*, *Limniris*, *Susiana*, *Scorpiris*, *Hermodactyloides* (Kandemir, 2006).



Şekil 2.2. *Iridaceae*'ye ait bazı cinslerin genel görünüşleri (Seçmen vd,1995)

### 2.2.2. *Iris* L. Cinsi

Rizomlu veya soğanlı bir cinstir. Yapraklar çoğunlukla düz-yassı, orta damar boyunca ikiye katlı, oluklu, 4 köşeli veya silindriktir. Çiçekler sapsız veya kısa saplı,

periant segmentleri 6 tanedir. Anterler 3 tane ve dış segmentlerin karşılarında, dışa yöneliklerdir. Iris L. cinsi başta izoflavon ve iridal tipi triterpenler olmak üzere fenolik bileşikler, ksantonlar ve stilbenler içerirler (Farag vd. 2009). Iris türlerinin halk arasında rizomları ve tohumları tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop 1984). Iris cinsinin Türkiye’de 16’sı endemik olmak üzere 46 türü bulunmaktadır (Mathew, 1984).

Tablo 2.1. Türkiye’deki *Iris* cinsine ait türler

Endemik Türler	Endemik Olmayan Türler	
<i>Iris danfrdiae</i>	<i>Iris albicans</i>	<i>Iris pseudacrus</i>
<i>Iris galatica</i>	<i>Iris attica</i>	<i>Iris pseudcaucasica</i>
<i>Iris histriüdes</i>	<i>Iris aucheri</i>	<i>Iris reticulata</i>
<i>Iris junonia</i>	<i>Iris barnumae</i>	<i>Iris sibirica</i>
<i>Iris kerneriana</i>	<i>Iris caucasica</i>	<i>Iris sintenisii</i>
<i>Iris nectarifera</i> var. <i>mardinensis</i>	<i>Iris sfarana</i>	<i>Iris suavelens</i>
<i>Iris nectarifera</i> var. <i>Nectarifera</i>	<i>Iris gatesii</i>	<i>Iris germanica</i>
<i>Iris pamphylica</i>	<i>Iris suavelens</i>	<i>Iris histri</i>
<i>Iris purpurebractea</i>	<i>Iris iberica</i>	<i>Iris paradxa</i>
<i>Iris sari</i>	<i>Iris kirkwdii</i>	<i>Iris persica</i>
<i>Iris sprengeri</i>	<i>Iris lazica</i>	<i>Iris schachtii</i>
<i>Iris stenphylla</i> subsp. <i>Allisnii</i>	<i>Iris masia</i>	<i>Iris rientalis</i>
<i>Iris unguicularis</i> subsp. <i>carica</i> var. <i>Carica</i>		
<i>Iris xanthspuria</i>		



Şekil 2.3. *Iris unguicularis* (<https://www.gardenia.net/plant/iris-unguicularis-algerian-iris/> Ziyaret tarihi: 22.03.2018)

### 2.2.3. *Iris unguicularis*

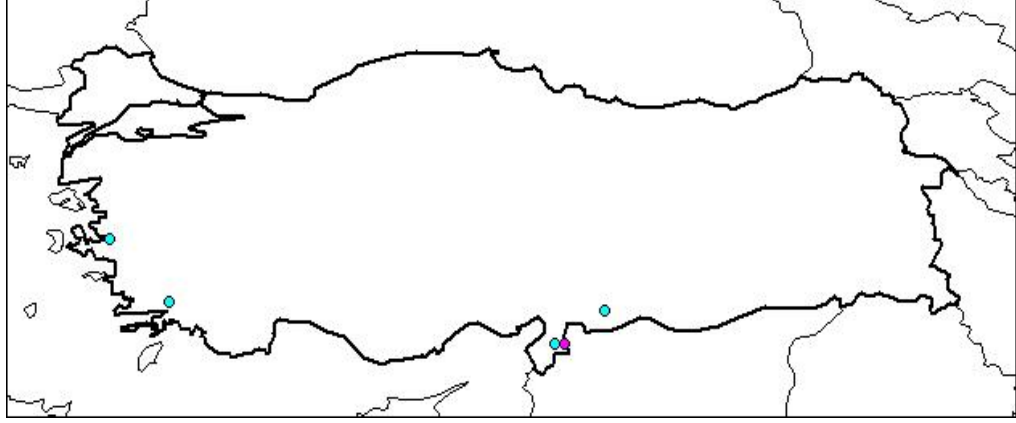
*I. unguicularis* yoğun yeşil yaprakları ve çok kokulu geniş mor çiçekleri 5-8cm genişliğinde, 30cm yüksekliğinde uzun ömürlü, her mevsim yeşil, killi topraklarda rahat yetişen, nötr ve alkali pH'a sahip topraklarda yayılımı kolay olan, genel bitki uzunluğu 0.1-0.5m olabilen, genişliği 0.1-0.5m arasında olan 2-5 yıllık bir bitkidir.



Şekil 2.4. *Iris unguicularis* genel görünüm (<https://www.gardenia.net/plant/iris-unguicularis-algerian-iris/> Ziyaret tarihi: 22.03.2018)

### 2.2.4. *Iris* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

*Iris* türleri halk arasında süsen, navruz gibi isimlerle bilinmektedir. Halk arasında *Iris* türlerinin rizomları idrar arttırıcı ve kusturucu, tohumları ise gaz söktürücü, kabız ve midevi olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Ayrıca bu türler süs bitkisi olarak yetiştirilmekte ve menekşeye benzer kokuları olduğundan kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır (Orhan vd., 2002). Avrupa piyasasında çocuklar için özel olarak hazırlanmış bir tür süsen kök bulunmaktadır. Bu tür, diş çıkaran çocuklara verilir. Çocuklar bu parçaları çiğneyerek diş etlerinin kaşıntısını giderirler (Baytop, 1984). Bazı *Iris* türleri antienflamatuar, antidot, emetik, laksatif, hemostatik ajan olarak, ayrıca bakteriyel enfeksiyon ve kanser tedavisinde kullanılırlar (Frag vd.,2009).



Şekil 2.5. *Iris unguicularis* türkiye dağılım haritası

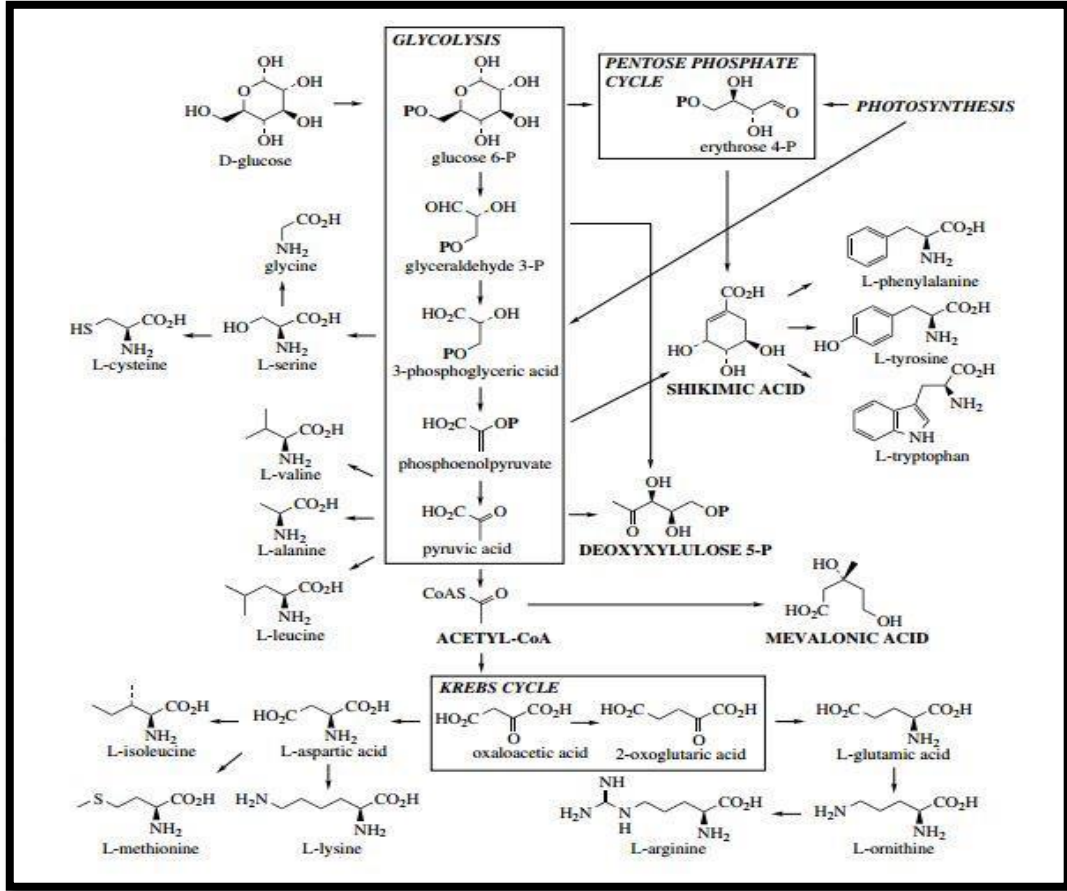
Tablo 2.2. *Iris unguicularis*'in taksonomik sınıflandırılması

TÜBİVES- Türkiye Bitkileri Veri Servisi	
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Liliopsida
Subclass	Liliidae
Order	Liliales
Family	Iridaceae
Genus	<i>Iris</i>
Species	<i>Iris unguicularis</i>

### 2.3. Bitkisel Sekonder Metabolitler

İnsan yaşamının devamı için ihtiyaç duyduğu organik bileşiklerin kaynağını bitkiler oluşturur. Bu organik bileşikler primer metabolitlerdir. Bunların yanı sıra medikal, gıda, kozmetik, tekstil sanayisi gibi endüstriyel açıdan önemli birçok maddenin kaynağını da bitkiler oluşturmaktadır. (Ramachandra ve Ravishankar, 2002). Kossel (1891)'de ilk kez sekonder metabolit terimini tanımlamıştır. Theis ve Lerdav (2003)'te sekonder metabolitleri ve fotosentez ürünü olmayan hücrenin metabolizması için zorunlu gerekli olmayan bitkiler tarafından üretilen birincil metabolizmasındaki fonksiyonları net olmayıp, savunma, hayatta kalma, nesillerini devam ettirme çevre koşullarına adaptasyon faaliyetleri sürecinde üretilen maddelerdir. Sekonder metabolitler terpen grubu, fenolik bileşik grubu ve azot / kükürt içeren grup olarak 3 temel gruba ayrılırlar. (Agostini-Costa ve diğ. 2012). Sekonder metabolitler solunum fotosentez sürecinde metabolik yan reaksiyonlardan üretilmektedirler. (Dewick, 2002).

Bu sentez mekanizmasının genetik mekanizması net değildir. Bu bileşiklerin bitkilerdeki fonksiyonları farklılık göstermesine rağmen mikroorganizma üzerine sitotoksik etkisi gösterenler antimikrobiyal madde olarak bilinmektedir.



Şekil 2.6. Sekonder metabolitlerin sentez yolları (Dewick, 2002)

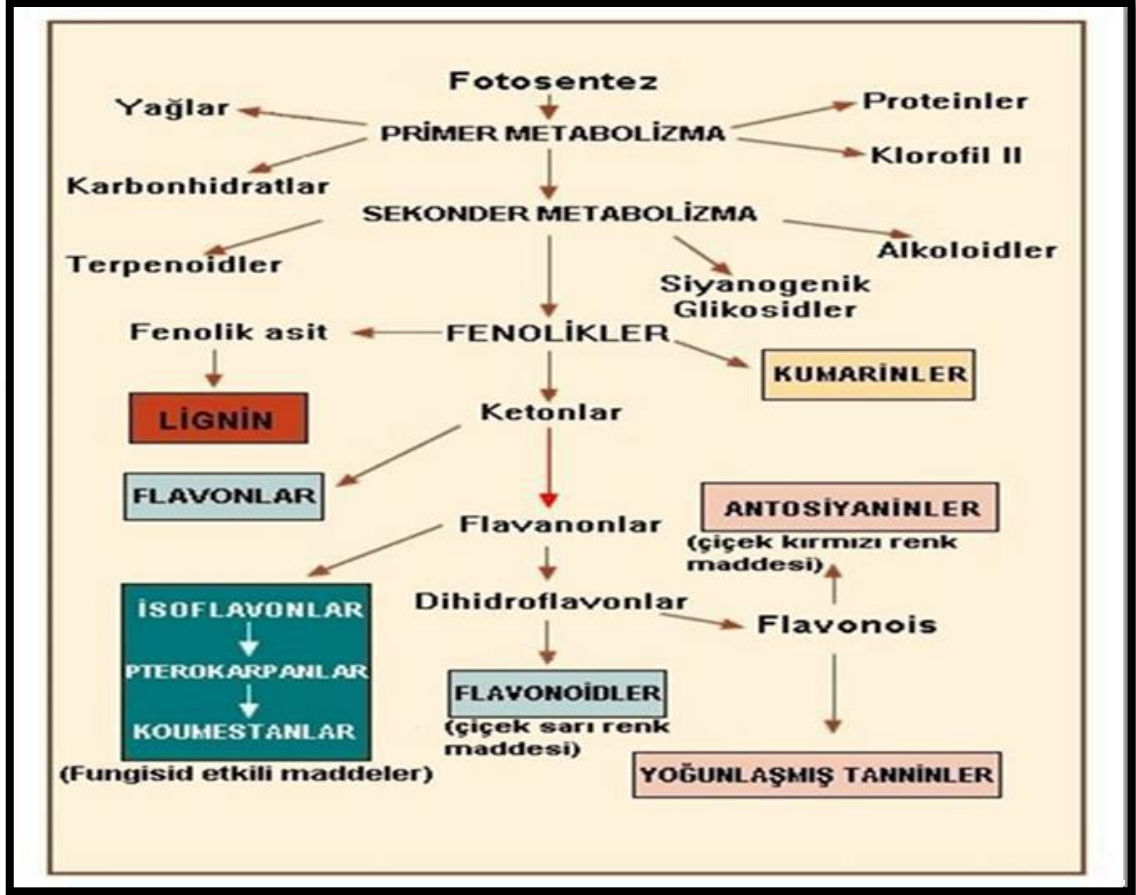
Bitkisel sekonder metabolitler birkaç grup altında toplamak mümkündür (Siddiqui, 2009):

### 1. Fenolik polifenoller:

- Basit Fenoller, Fenolik asitler
- Kinonlar
- Flavonlar, Flavonoidler, Flavanollar
- Tanenler
- Kumarinler
- Ligninler
- Fenilpropanoidler, Fenilpropenler



2. Terpenoidler ve Esansiyel Yağlar
3. Alkaloidler
4. Lektinler ve Polipeptitler



Şekil 2.7. Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler (Morris ve Robbins, 1997).

#### 2.4. Serbest Radikaller

Canlının yaşamasında önemli rolü olan hücre metabolizması esnasında oluşan bazı reaktif türevleri oldukça zararlı oksidanlardır. (Diplock, 1998). Bu oksijen türevleri normal oksijen molekülünden daha reaktiftir (Nawar1996). Bir atomun dış orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron mevcutsa bunlara “serbest radikal (SR)” adı verilir. Bunlar eşleşmemiş elektron sahip olduklarından yüksek reaktiftirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Reaktif moleküller hücrelerin protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi yapısal ve fonksiyonel birçok biyolojik yapılar üzerine olumsuz etkiler yaparak hasara uğratma potansiyelindedir. Oksijen türevi serbest radikaller pestisit, çeşitli tedavi yöntemleri, çevrenin etkisiyle oluşurlar. Oksidanlar hücre ve dokularda hasarlara neden olarak diğer etkenlere karşı duyarlı hale gelmiş zayıflamış olurlar. Bu



zararlı etkilere karşı vücudun doğal savunma sistemleri koruyucu etki gösterir (Diplock, 1998).

Tablo 2.3. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (Diplock, 1998).

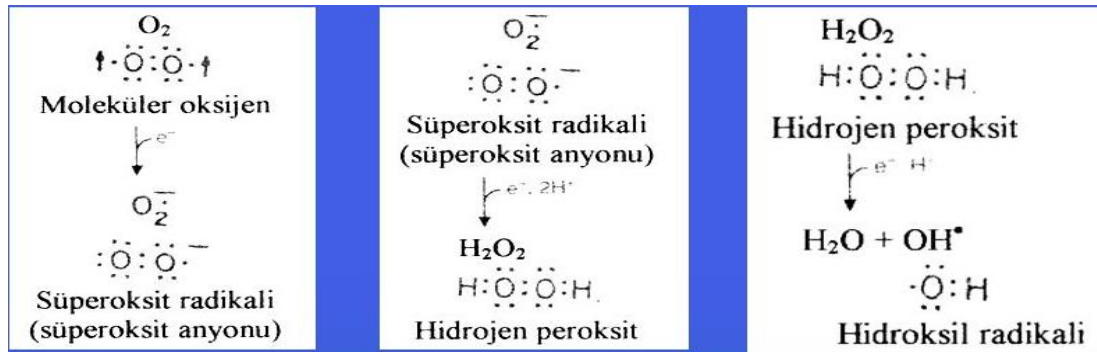
Oksidan	Antioksidan savunma
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Egzersiz	Katalaz
Ateşli hastalıklar	Glutatiyon
Radyasyon	Ubikinon
Karsinojenler	C vitamini, karotenoidler

Serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresi önleyen, serbest radikalleri stabilize etme yeteneği olan maddelere “**antioksidan**” adı verilir (Elliot1999).

#### 2.4.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen molekülünün paramanyetik özelliğinden dolayı iki kovalent bağ oluşturmaya rağmen eşlenmemiş elektrona sahip olabilir. Molekülün minimum enerjiye sahip olduğu durum dış orbitallerinde iki elektron, spinleri aynı ve farklı orbitallerde olduğu durumdur (Lee, 1991). Oksidan adlandırılmasında oksijen bir “diradikal” ismini alır. Diradikal oksijen, diğer radikallerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler (Akkuş, 1995).

Ortamda oksijenin olduğunda zorunlu metabolik reaksiyonlardan dolayı oksijen radikalleri meydana gelebilir. Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli serbest radikaller oksijen radikalleridir. Süperoksit radikali ( $O_2 \bullet^-$ ), hidroksil radikali ( $\bullet OH$ ) ve radikal olmayan hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) önemli oksijen radikalleri olup ve “reaktif oksijen türleri (ROT)” olarak adlandırılırlar.



Şekil 2.8. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Reaktif oksijenler, oksidanların oluşturduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarının oluşmasına neden olurlar. Böylece hücrede karbon merkezli organik radikaller (R●), peroksi radikalleri (ROO●), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO●), tiyil radikalleri (RS●) gibi oksidanların oluşumunda önemli rolleri vardır. Tiyil radikalleri oksijenle rereaksiyonu ile sülfenil (RSO●) veya tiyil peroksil (RSO<sub>2</sub>●) gibi oksidanların meydana gelmesine neden olurlar. (Akkuş, 1995).

Tablo 2.4. Bazı serbest radikal türleri

Adı	Formülü	Tanım
Hidrojen atomu	H●	En basit serbest radikal
Süperoksit	O <sub>2</sub> ● <sup>-</sup>	Oksijen merkezli radikal, seçimli reaktif
Hidroksil	●OH	En fazla reaktif oksijen radikali. İnsan vücudundaki tüm moleküllere saldırır.
Triklorometil	●	C merkezli radikal, CCl <sub>4</sub> metabolizması sonucu üretilir ve genellikle O <sub>2</sub> ile hızla reaksiyona girer.
Tiyil	RS●	Kükürt üzerinde eşleşmemiş elektron bulunduran türlerin genel adı
Peroksil, Alkoksil	RO <sub>2</sub> ●, RO●	Organik peroksitlerin yıkımı sırasında oluşan oksijen merkezli radikaller.
Nitrik oksit	NO●	L-arginin amino asidinden in vivo koşullarda üretilir.
Azotdioksit	NO <sub>2</sub> ●	NO●'nun O <sub>2</sub> ile reaksiyonunda oluşur. Kirli hava, sigara dumanında vb. bulunur.
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi en düşük, moleküler hasar yeteneği düşük.
Singlet oksijen	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oksijenin güçlü oksidatif formu

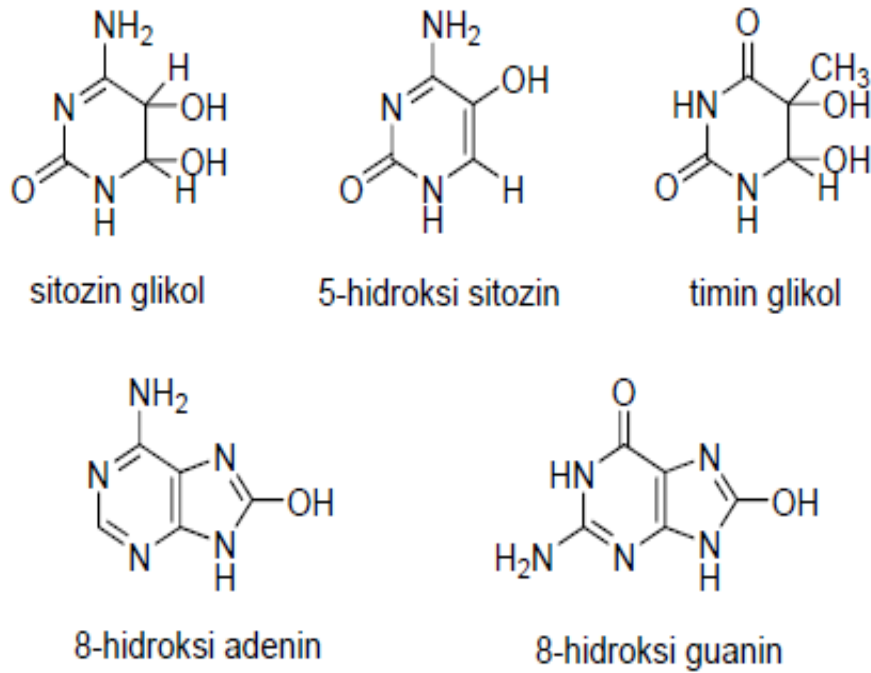
#### 2.4.1.1. Diğer Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisinden dolayı karbon merkezli radikaller (R.), peroksil radikalleri (ROO.), alkoksil radikalleri (RO.), tiyol radikalleri (RS.) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilmektedir. Bunlardan polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO.) veya tiyol peroksil (RSO<sub>2</sub>) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler (Chattopadhyay vd., 2006).

## 2.5. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri

DNA serbest radikallerden kolaylıkla etkilenebilen bir kalıtım materyalidir. İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucu DNA'da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir.

Ayrıca lipid peroksidasyonu sonucu oluşan melanoaldehit (MDA)'in nadiren de olsa DNA'da mutasyona sebep olabildiği, beslenme ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olabileceği düşünülmektedir (Auroma, 1999, Halliwell, 1984). Nötrofillerin aktive olmasıyla hücrelerden salınan  $H_2O_2$  zardan geçerek nükleusa ulaşır ve dört DNA bazıyla hızlı reaksiyona girip bazlarda modifikasyona neden olur (Halliwell, 1994). Meydana gelen DNA hasarı giderilmediğinde hücre fonksiyon kaybına hatta hücrenin ölümüne sebep olabilirler (Topçu vd., 2007; Yeşilyurt vd., 2008).



Şekil 2.9. Bazlar üzerine radikallerin etkisiyle oluşan ürünler.

## 2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Oksidanların zararlı etkilerini bertarafında hücre içi ve hücre zarında koruyucu etkiye sahip mekanizma ve moleküler mevcuttur. Oksidanların zararlı etkilerini ya oksidanları önleyerek ya da oluşan hasarı düzelterek etki gösterirler. Bu antioksidan etki mekanizmasında fonksiyonel bileşikler endojen ve ekzojen orjinli olabilirler. Ayrıca bu etki enzimatik ve nonenzimatik olarak 2 gruba ayrılır.

### 2.6.1. Antioksidanlar

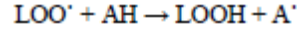
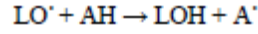
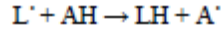
Antioksidanlar oksidanların etkisini iki şekilde bertaraf ederler. Birincisi serbest radikal oluşumunu engelleme veya oluşan radikali inhibe etme şeklindedir. İkincisi oluşan hasarı onararak etki gösterirler (Kahkönen vd.,1999). İnsan sağlığı açısından Antioksidanların yeri kendilerinin sentezleyebilmeleri ve doğal kaynaklardan alabilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Yani Antioksidanlar hücrelerimiz tarafından sentezlenebilirler ve besinlerle alınabilirler. Besinlerde bulunan bitkisel kaynaklı antioksidanlar, esas olarak vitaminler (C, E ve Avitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Literatürde bazı bitkisel gıda tüketimi ile bazı kanser ve kalp rahatsızlıklarının oluşumunun azaldığı bildirilmiştir (Güçlü vd. 2009).

Polifenoller ve türevleri en önemli Antioksidan çeşitlerinden biridir. Bunlar singlet oksijeni inhibe ederek oksijen derişimini redükte ederler. Bunlar hidroksil radikalleri vb. radikalleri inhibe ederek reaksiyon zincirinin başlamasını önler, metal iyon katalizörlerini bağlama şeklinde rol oynarlar (Shahidi, 1996). Antioksidan moleküller yükseltgenme özelliğinde bileşikler olup zincir reaksiyonlarını (örneğin lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikallik zincir reaksiyonunu) kırmaları esnasında yükseltgenip bozulurlar. Ancak antioksidanlar belli bir zaman etkinliğini koruyabilir ve sonra etkisini kaybeder. Antioksidanların hidrojen veya elektron donörlerini redükte güçleri onların serbest radikal engelleyici olarak göstermiş oldukları etkinlikleri olarak söylenebilir (Güçlü vd., 2009).

Zincir kopararak etki gösteren antioksidanların potansiyellerinin saptanması molekül başına verebildiği elektron veya redükte edebildiği oksidan sayısı (yani reaksiyon stokiyometrisi) ve bununla beraber reaksiyon hızı (kinetik) önemlidir (Rice-Evans vd., 1997).

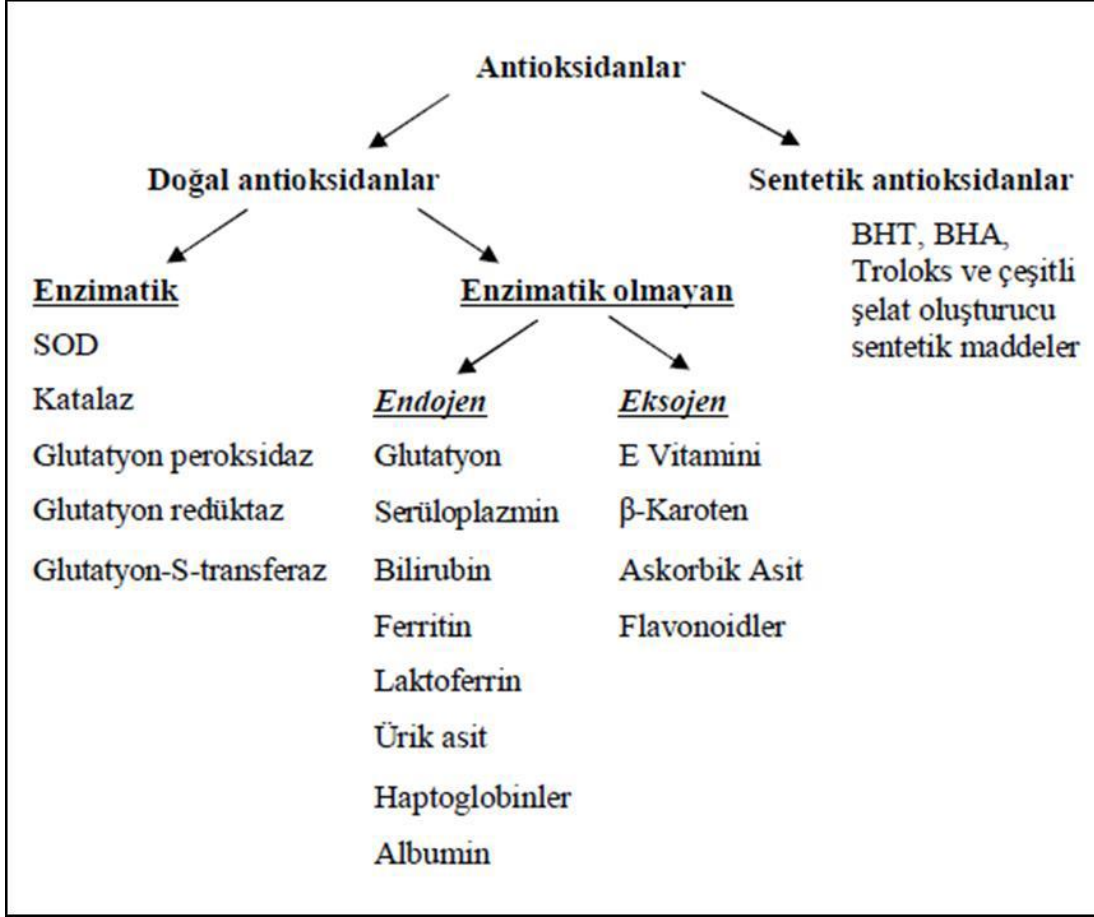
Zincir koparıcı antioksidan aktivite şu mekanizma ile gerçekleşir:



Radikallik reaksiyonun oluşması veya reaksiyonun devamı antioksidan (AH) tarafından engellenmektedir. Burada L<sup>·</sup> lipid, LO<sup>·</sup> alkoksil, LOO<sup>·</sup> ise peroksil radikallerini simgeler. Bu şekilde etki eden antioksidanlar ‘primer antioksidanlar’ olarak isimlendirilirler. ‘Sekonder antioksidanlar’ ise oksidasyon hızını azaltıp ve genel olarak Fenton-tipi reaksiyonları önleyerek etki gösterirler (Apak vd., 2007). Fenton reaksiyonları ise hidroksil radikallerinin meydana gelmesine sağlarlar.

### 2.6.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Normal koşullarda hücreler, oluşan serbest radikal ürünlerinin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur (Rice-Evans vd, 1997). Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kökenli olarak sınıflandırılması yapılabildiği (Akkuş, 1995) gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar (Seven ve Candan, 1996) şeklinde sınıflandırılabilmesi mümkündür. Vücudumuzda bulunan antioksidan savunma sistemi; enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler, suda ve yağda çözünen radikal tutucular gibi elemanlar içermektedir (Percival, 1998; Halliwell, 1994).



Şekil 2.10. Antioksidanların Sınıflandırılması

Doğal antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve non-enzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar olarak ayrılırlar.

## 2.7. DNA Koruyucu Aktivite

Gerek canlısal gerek sanayi faaliyetleri gibi nedenlerle Stratosfer tabakası incelerek daha fazla UV ışınlarının dünyaya ulaşmasına sebep olmaktadır. Artan UV maruziyeti vücudumuz için oldukça zararlıdır. Öyle ki cilt kanserleri, cildin erken yaşlanması gibi birçok hastalığa karşı duyarlı hale gelmesine sebebiyet verir. UV ışınlarının zararlı etkilerini korumada antioksidanlar etkilidirler. Cilt üzerine antioksidan uygulaması UV ışınlarına karşı koruyucu etki gösterir. (Tepe vd., 2011).

Normal olarak insan derisinin yapısı UV ışınlarına karşı koruyucu yapısal ve fonksiyonel özelliktedir. Ancak UV ışınlarına uzun süre maruz kaldığı takdirde hücrel antioksidanların miktarında azalma ve buna bağlı olarak oksidan artışı UV kaynaklı oksidatif DNA hasarları meydana gelebilir. UV ışınları ve serbest radikaller de DNA 'da kırılmalara veya çeşitli hasarlara neden olabilmektedirler. Özellikle serbest radikallerden hidrojen peroksit, guanini 8 hidroksi guanine çevirerek DNA üzerinde değişiklikler oluşturur. (Gutteridge, 1984). DNA dan meydana gelen değişiklikler kansere

neden olabilmektedir. Oksidatif hasarı önlemede etkili yeni moleküllerin araştırmaları bundan dolayı hız kazanmıştır (Feig vd., 1994).

## **2.8. Antibakteriyal Aktivite**

İnfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmaların gerek üremesini engelleyen gerek onlara öldürücü etki gösteren moleküller için antimikrobiyal etki ifadesi kullanılır. Bakteriler için ise bu antibakteriyel olarak ifade edilir. Öldürücü etki için bakterisidal, üremeyi durdurucu etki için ise bakteriyostatik terimleri kullanılır (Madigan ve Martinko, 2010).

İnsanlığın tarihinden beri antimikrobiyal olarak bitkiler yaygın kullanılmış ve kullanılmaya devam etmektedir. Özellikle sentetik antibiyotiklere karşı gelişen sürekli direnç mekanizması bitkisel kaynaklı antibakteriyel moleküllerin saptanmasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bitkilerin antimikrobiyal etki ve insan sağlığına faydalı özelliklerine yönelik araştırmalar 1926 yılından bu yana rapor edilmektedir. (Abdelaziz vd., 1990; Asdou vd., 1972; Dığrak vd., 1999; Kalaycıoğlu ve Önder 1994; Khan vd., 1988; Iwu vd., 1999).

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. *Iris unguicularis* Özütlerinin Elde Edilmesi**

##### **3.1.1. Materyal**

*Iris unguicularis* Poiret'in Toplanması ve Teşhisi

*Iris unguicularis* Poiret bitki örnekleri Muğla'nın Datça kazasının çevresinden, çiçek açma zamanı 2016 yılında Mayıs ayında kökleri ile birlikte, çiçek ve yaprak kısımları dâhil toplanarak uygun bir şekilde herbaryum örnekleri hazırlanmıştır. (Seçmen ve ark., 1988). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Dr. Öğretim Üyesi Bedrettin SELVİ tarafından teşhisi yapılarak herbaryum numarası alınmıştır (GOPU herbaryum numarası, 7822). Tür ismi belirlenmiştir. Toplanan bitkilerden analizler için kökler ve yapraklar öncelikle distile su ile temizlenmiş ve gölgede kurutulması sağlanmıştır. Çözücü olarak ise diklorometan, metanol, hekzan, distile su, soxhlet (Gerhardt EV 14), evaporatör (Heildolph HeizbadHB Digit) kullanılmıştır.

##### **3.1.2. Bitki Özütlerinin Hazırlanması**

Kurumuş bitki kısımları; kök ve yapraklar ezilerek toz halinde elde edilmiştir. Ekstraksiyon Soxhlet cihazında yapılmıştır. Alınan ekstraksiyon numuneleri çözücünün uzaklaştırılması için Rotary Evaporator kullanılmıştır. Hazır hale gelen numuneler +4 °C'de buzdolabına uygun koşullarda stoklanmıştır. (Gülaçtı vd., 2007).

#### **3.2. *Iris unguicularis* Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod**

##### **3.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesi ile Antioksidan Aktivite Belirlenmesi**



### 3.2.1.1. Materyal

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol (Sigma Aldrich. Germany), dimetil sülfoksit (DMSO=CH<sub>3</sub>2SO), Distile su, Thermo Scientific Multiskan Go (Vantaa, Finland) Spektrofotometre, Eliza plate.

### 3.2.1.2. DPPH Çözeltisinin Hazırlanması

Toz halindeki DPPH 'tan 0.002 mg tartılmış ve 50 ml metanol ilave edilerek çözülmüştür. DPPH çözeltisi 0.2 Mm olarak elde edilmiştir.

### 3.2.1.3. Protokol

*Iris unguicularis* kök ve yapraklarından elde edilen farklı numuneler özütlerin serbest radikal yakalama kapasitelerinin saptanması için 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak referans olarak belirlenmiştir. (Hatano vd., 1988). Çalışma prosedürü ise numune üzerine konulan DPPH solusyonu 517 nm' de absorbans değerinde azalmaya neden olup olmadığı saptanır. Ayrıca DPPH'in mor renginin açılması radikal tutma özelliğini gösteren gözlemsel bir gösterge olarak kabul edilir (Baydar vd., 2011). Protokol aşağıda verilmiştir. İçerisinde 0.1 mg/100µl bitkisel numune çözeltisi üzerine DPPH çözeltisi (final derişimi 0.2 mM) eklenir. Kontrol amaçlı ise numune yerine 1.0 ml dH<sub>2</sub>O konulur ve 30 dakika ışık görmeyen ortamda inkübasyona alınır. İnkübasyon sonunda 517-520 nm'de absorbansları ölçülerek kaydedilir. Alınan absorbanslar kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplanır.

### Hesaplamalar:

Yüzde inhibisyon= [(kontrol absorbans – numenin absorbansı) /kontrol absorbans] x 100

### 3.2.2. Total Antioksidan Seviyenin (TAS) Belirlenmesi

Total Antioksidan kapasitesini belirlemek için Rel Assay Diagnostics- TAS Assay Kit kullanılmıştır. Yöntemin çalışma prensibi; antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürmesidir. 660 nm absorbanstaki değişim örneğin total antioksidan seviyesini belirtir. Radikal olarak ABTS'i, pozitif kontrol olarak sentetik antioksidan kullanılmıştır (Halliwell ve ark. 2000).

### 3.2.2.1. Materyal

TAS assay kit (Rel Assay Diagnostics kit, Turkey), *Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yaprak özütleri, Thermo Scientific Multiskan Go(Vantaa, Finland) Spektrofotometre, Eliza plate.

### 3.2.2.2. Protokol

Kit içerisinde; Reagent 1: (Buffer), Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Çözeltisi), Standart 1 (0,0mmol Trolex Equiv./L), Standart 2 (1.00mmol Trolex Equiv./L) bulunmaktadır. Reagent 1'den 200 µl alınır ve kuyucuğa eklenir. Üzerine 12 µl bitki örneği konulur. Başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçülür. Üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edilir. 5 dakika 370C' de inkübasyon yapılır. İnkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbans alınır. TAS değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanacaktır.

### Hesaplamalar:

$$TAS \text{ (mmol/L)} = [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] / [\Delta Abs \text{ Std1} - \Delta Abs \text{ Örnek}] \times 20$$

Hesaplama da kullanılacak veriler:

$\Delta Abs \text{ Std1}$ : (Std1'in ikinci Abs. - Std1'in birinci Abs.)

$\Delta Abs \text{ Std2}$ : (Std2'in ikinci Abs. - Std2'in birinci Abs.)

$\Delta \text{Örnek Abs.}$ : (Örneğin ikinci Abs. - Örneğin birinci Abs.)

### 3.2.3. Total Oksidan Seviyenin (TOS) Belirlenmesi

Hidrojen peroksit referansına göre kalibre edilen bir yöntemdir. Eğer oksidan bulunuyorsa ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyonla oksitlemektedir. Reaksiyon ortamında oksidan miktarına göre oksidasyon reaksiyon yoğunluğu artar. Asidik ortamda Ferrik iyon renkli bir bileşik meydana gelir. Renk konsantrasyonu spektrofotometrik olarak saptanır. Ölçülen Absorbans örnekteki oksidan konsantrasyonunu gösterir. Elde edilen sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L ile kıyaslanarak TOS değeri belirlenir. (Tarpey vd., 2004). Bu yöntem Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit'i kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.3.1. Materyal

TOS assay kit, *Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yaprak özütleri, Spektrofotometre, Eliza plate.

### 3.2.3.2. Protokol

Kit içerisinde; Reagent 1 (Assay Buffer) : 50 ml X 1, Reagent 2 (Prokromojensolusyon) : 10 ml X 1, Standard 1 (Blanksolusyon)\* (deiyonize su) (0.0µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L), Standard 2 solusyon\*\* : 10 ml X 1 bulunmaktadır. \*\*[Stok stabilize standart solusyon (SSSS)] (800 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Equiv./L)

Standart çalışma solüsyonu: SSSS deiyonize su 40 dilüe edilir. Dilüe edilen SSSS'ten 5 µl üzerine 1 µl distile su konarak iyice karıştırılır. Karıştırılan bu solusyondan 5 µl alınıp yine 1 µl distile su konularak karıştırılır. Ve sonuç olarak Sonuçta 20 µmolar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> elde edilmiş olur. 96 kuyucuklu Eliza plate' teki ilk kuyucuğa 200 µl Reagent 1 konular ve 30 µl numune ilave edilir. İlk absorbansı 530 nm' de okunur. Okumadan sonra 10 µl Reagent 2 eklenir 10 dk oda ısısında bekletilir. Son absorbans 530 nm' de ölçülür. Belirtilen protokol standart 2 için de aynı şekilde gerçekleştirilir.

TOS değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanacaktır.

### Hesaplamalar:

Total Oksidan Status(µmol/L) = ( Numune Absorbansı / Standart2 absorbansı) X 20 (Standart2 Değeri)

Hesaplama da kullanılacak veriler:

Numune absorbansı =(Numunenin ikinci absorbansı - numunenin ilk absorbansı)

Standart2 absorbansı:(Std2'in ikinci Abs.- Std2'in birinci Abs.)

Standart 2 Değeri = 20 µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L

### 3.3. *Iris unguicularis* Bitki Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi

UV ve Oksidanın birlikte DNA hasarına karşı koruyucu etkinliğin olup-olmadığının saptanabilmesi için yapılan bir analizdir.

### 3.3.1. Materyal

pBR322 DNA(vivantis), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, % 1,25'lik agaroz jel, distile su (dH<sub>2</sub>O), UV translüminatör (DNR-IS), jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MiniBIS Pro), DMSO.

### 3.3.2. Protokol

Çalışmada DNA örneği olarak kullanılan Plazmid DNA'sı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve UV'ye maruz bırakılarak hasarlanması sağlanmıştır. Russo vd. (2000) makalesinde belirtmiş olduğu şekilde % 1.25'lik agaroz jel'e yüklenerek DNA kırılmalarının ortaya çıkarak görülebilir olması sağlanmıştır. DNA protektif özelliğinin belirlenmesi amacıyla *Iris unguicularis* kök ve yapraklarından elde edilen ekstraksiyon numunelerinden %0.1 lik stok derişimi elde etmek amacıyla 0.1 mg tartılarak 100 µl DMSO (dimetilsülfoksit, %10' luk)' içerisinde çözülmüştür. İyice çözünüp homejen hale getirildikten sonra dilüsyon işlemi yapılmıştır. Dilüsyon işlemi 1/5 oranında gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.3. Kontrol ve *Iris unguicularis* Özütlerinin Hazırlanması

Kontrol gurupları K1'den K4'e kadar kodlanmıştır. Kontrol gurupları aşağıda sırayla açıklanmıştır. Her gruba pBR322 DNA'sından 3 µl, distile su ise 6 µl konulmuştur.

1.kontrol= pBR322 DNA +distile su

2.kontrol= pBR322 DNA + distile su +UV

3.kontrol= pBR322 DNA + distile su +Hidrojen peroksit 1 µl

4.kontrol= pBR322 DNA + distile su + UV+ Hidrojen peroksit 1 µl

Çalışma gurupları ise kökten elde edilen ekstraksiyon örnekleri A1'den A4'e kadar guruplandırılmış, yaprak örnekleri ise B1'den B4'e kadar guruplandırılmıştır. Her grup için pBR322 DNA 3 µl, ekstraksiyon numunesi 5 µl +5 dakika UV uygulaması+ Hidrojen peroksit 1 µl şeklinde uygulanmıştır.

Uygulama sonrası 5.0 µl yükleme tamponu ilave edilerek % 1.25'lik agaroz jeldeki kuyucuklara yükleme yapılmıştır. Işık kaynağı ise oda ısısında 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör (DNR-IS) cihazı kullanılarak sağlanmıştır. 60 dakika 100 Voltluk % 1.25'lik agaroz jel eketroforezi yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonra jel ökümantasyon sisteminde (DNRIS, MiniBIS Pro) oluşan bantlar görüntülenmiş ve resimleri kaydedilmiştir.

## 3.4. *Iris unguicularis* Bitki Özütlerinin Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi

### 3.4.1. Materyal

*Iris unguicularis* bitkisinden elde edilen kök ve yaprak ekstraksiyonları

### 3.4.2. Test Mikroorganizmaları

*Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yapraklarından elde edilen ekstraksiyonların antibakteriyal etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla 4 farklı bakteri suşu kullanılmıştır. Bu bakteriler *E. coli* ATCC 25322, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 'tür.

### 3.4.3. Protokol

*Iris unguicularis* bitki kısımlarının özütlerinin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için CLS klavuzuna uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır (Jorgensen ve Ferraro, 2009). *E. coli* ve *K. pneumoniae* EMB (Eozin Metilen Blue) Agar besi ortamları, diğerleri için ise MHA (Mueller Hinton Agar) besi ortamı kullanılmıştır. 24 saat 37<sup>0</sup>C' de inkübasyona bırakılmıştır. Konsantrasyon için 0.1 mg özüt tartılmış ve 1000 µl DMSO' da çözülerek elde edilmiştir. Mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Özüt Verimi:

*Iris unguicularis* bitkisinin kök, gövde, çiçek ve yaprak diklorometan, metanol, su ve hekzan özütleri sokshlet cihazı ile elde edilmiş olup özüt verimleri kök için % 29, yaprak için %28 olarak hesaplanmıştır.

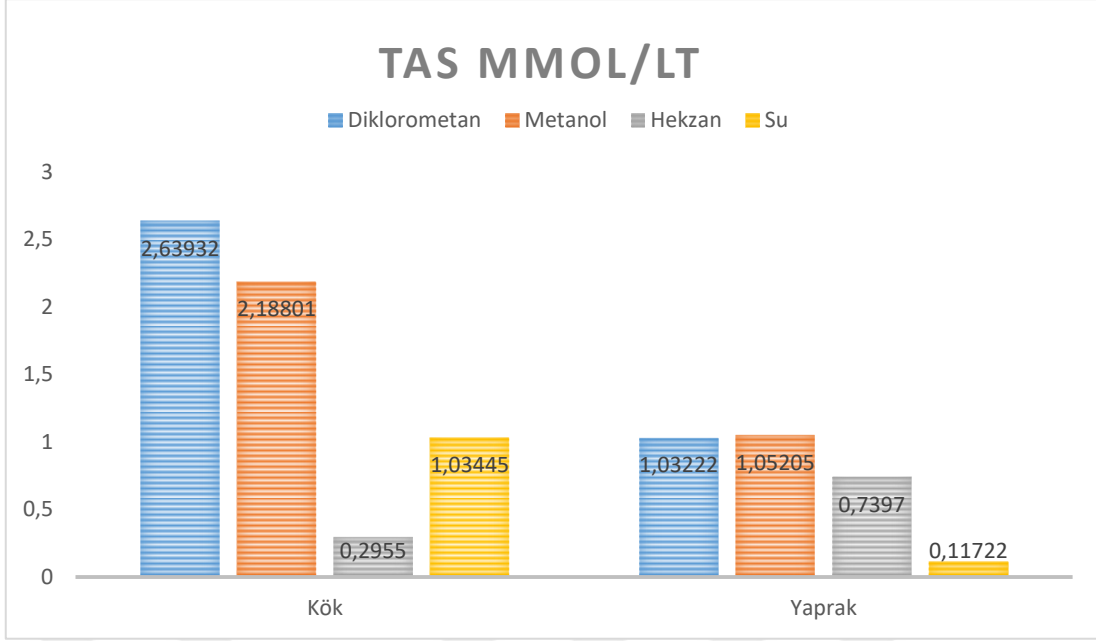
Özüt verimi aşağıdaki eşitlik yardımıyla ile hesaplanır
$\% \text{ Verim} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$
m1: Özüt edilecek katı madde miktarı
m2: Özüt sonucunda elde edilen özüt miktarı

Şekil 4.1. Özüt verim hesaplaması

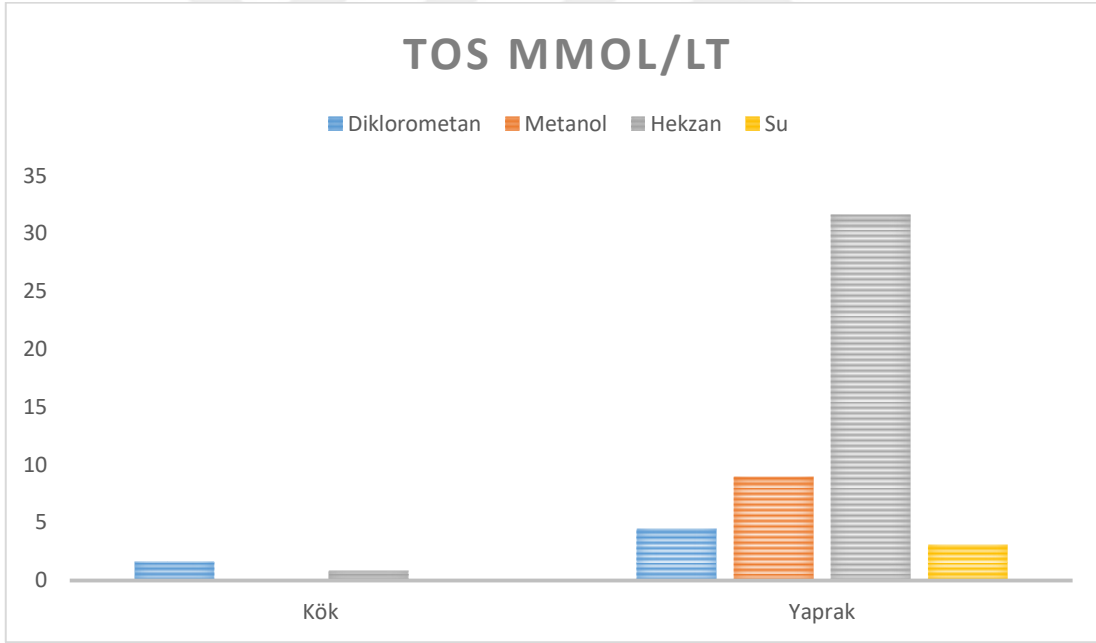
### 4.2. *Iris unguicularis* Bitki Özütlerinin DPPH, TAS ve TOS Aktivite Bulguları

Tablo 4.1. *Iris unguicularis* 'in özütlerinin antioksidan, oksidan, IC50 değerleri.

Özütler	TAS (mmol/lit)	TOS (µmol/lit)	IC50 (mg)
Kök diklorometan	2,63932	1,61626	5,36666
Kök metanol	2,18801	0,02974	4,06052
Kök hekzan	0,29550	0,84283	22,4819
Kök su	1,03445	0,01983	4,73515
Yaprak diklorometan	1,03222	4,43232	11,0969
Yaprak metanol	1,05205	8,94397	57,9093
Yaprak hekzan	0,73970	31,6410	23,0306
Yaprak su	0,11722	3,04412	7,31120



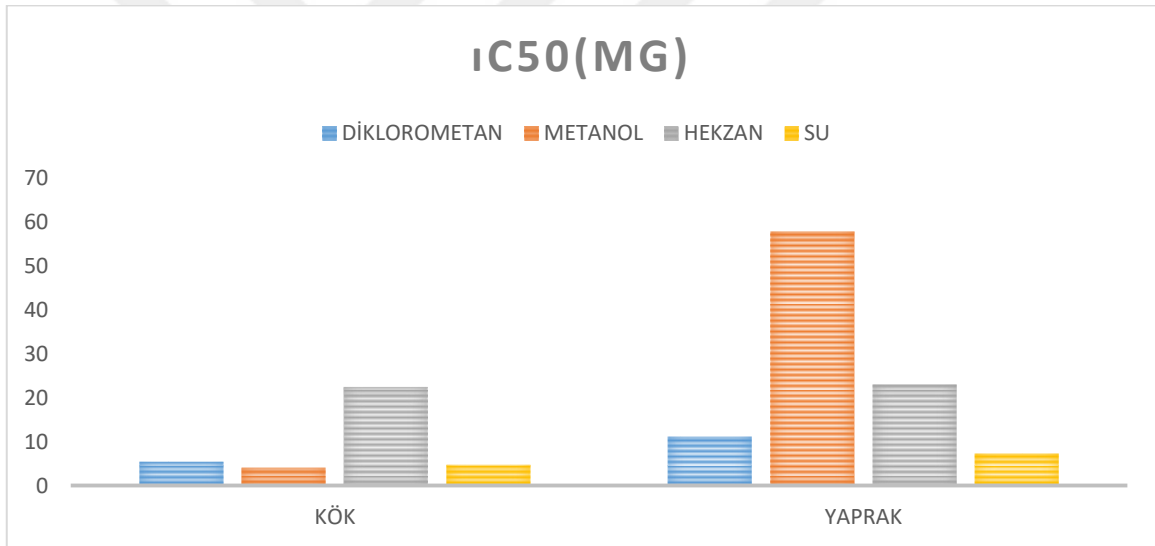
Şekil 4.2. *Iris unguicularis* özütlerinin TAS değerleri.



Şekil 4.3. *Iris unguicularis* özütlerinin TOS değerleri.

Tablo 4.2. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri

TAS REFERANS DEĞERLER (mmol Trolox Equiv./L)		
>2.0		Çok İyi
1.45	2	Normal
1.2	1.45	Normal Kabul Edilebilir
1	1.2	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1.20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi
TOS REFERANS DEĞERLER ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)		
<5.00		Çok İyi
8	5	Normal Değer
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12.00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

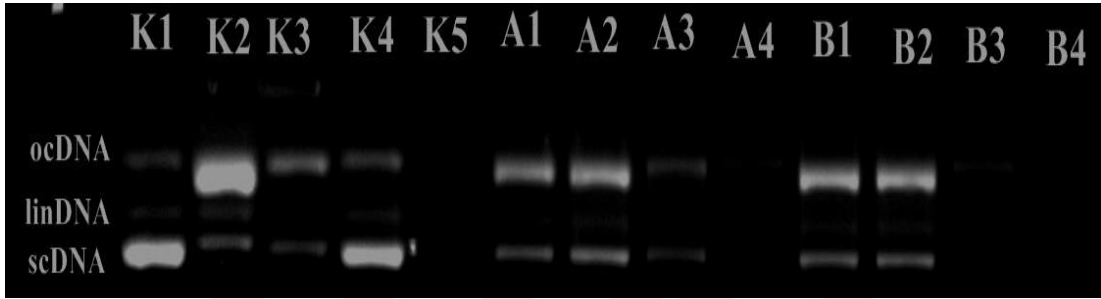


Şekil 4.4. *Iris unguicularis* özütlerinin IC50 (mg) değerleri.



### 4.3. *Iris unguicularis* Kök ve Yaprak Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivite Bulguları

*Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yaprak kısımlarından elde edilen dört çeşit özütün DNA koruyucu aktivitesi, pBR322 plazmit DNA'sı kullanılarak test edilmiştir. Bu yöntemle göre, DNA üzerinde hasara yol açan UV ışınları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında, özütün DNA hasarına engel olma yeteneği değerlendirilmiştir. *I. unguicularis* bitkisinin kök kısmından elde edilen su özütünün, kök kısmından elde edilen diklorometan özütünün DNA koruyucu aktiviteye sahip olduğu, *I. unguicularis* bitkisinin yaprak kısımlarından elde edilen su ve diklorometan özütlerinin de DNA koruyucu aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bulgular Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. *Iris unguicularis*'in kök, yaprak özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesi Elektroforez görüntüsü

**K1.** Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH<sub>2</sub>O (6 µl) **K2.** Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH<sub>2</sub>O (6 µl)+ UV  
**K3.** Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH<sub>2</sub>O (6 µl)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **K4.** Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH<sub>2</sub>O (6 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **A1.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* kök su özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **A2.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* kök diklorometan özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **A3.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* kök metanol özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **A4.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris junonia* kök hekzan özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **B1.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* yaprak su özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **B2.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* yaprak diklorometan özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **B3.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* yaprak metanol özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl) **B4.** Plazmit DNA (3 µl) + *Iris unguicularis* yaprak hekzan özütü (5 µl)+ UV+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 µl)

#### 4.4. *Iris unguicularis* Kök ve Yaprak Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

*Iris unguicularis* bitki kısımlarından çıkarılan özütlerin MİK değerlerinin belirlenmesi için CLS tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (Jorgensen ve Ferraro, 2009). *Iris unguicularis* aktivite sonuçları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 4.3. *Iris unguicularis* özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi, Minimum inhibisyon konsantrasyon ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) sonuçları.

	A ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )	B ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )	C ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )	D ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )
Kök Su	1,5	1,2	1,3	1,2
Kök Diklorometan	2,6	2,3	2,2	2,2
Kök Metanol	3,4	3,3	3,4	3,3
Kök Hekzan	4,5	4,4	4,3	4,1
Yaprak Su	5,2	5,3	5,3	5,3
Yaprak Diklorometan	6,2	6,2	6,1	6,3
Yaprak Metanol	7,5	7,3	7,3	7,3
Yaprak Hekzan	8,2	8,1	8,5	8,1
Amoxicillin	10,6	10,6	10,2	10,6

A: *Escherichia coli* ATCC 25322

B: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

C: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

D: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Çalışma sonuçlarının tamamı CLS tarafından saptanan referans değerlerine göre değerlendirilmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Iris unguicularis* biyoaktif bileşikleri ile ilgili olarak bilimsel bir çalışma literatürler de mevcut değildir. İridaceae familyasından özellikle *I. germanica* ile yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır. Bu tür dışında *I. nigricans*, *I. sibirica*, *I. carhalinae*, *I. bungei*, *I. pseudopumila*, *I. spuria* türleri ile yapılan araştırmalar rapor edilmiştir ( Rigano vd.;2007; Farag vd., 2009; Kandemir, 2006; Orhan vd., 2003; Attatur-Rahman vd., 2003; Choudhary vd.,2001; Farag vd., 1999; Bonfils vd., 1998; Marner vd., 1995; Ali vd., 1983; Marner vd., 1982). Diğer *Iris* türlerinin biyoaktif bileşikler içeriyor olması ve halk arasında rizomlarının sağlık için kullanılıyor olması *I. unguicularis* 'nın biyoaktif bileşiklere sahip olabileceğini düşünmemize sebep olmuştur.

Orhan ve arkadaşları (2003) *I. germanica* rizomlarını çalışmışlar ve antibakteriyal, antifungal, insektisidal ve fitotoksik etkinliklerini rapor etmişlerdir.

Rigano vd. (2007) yılında yayınlamış olduğu makalesinde *I. pseudopumila* rizomlarından ekstrakte ettikleri izoflavonların antioksidan potansiyellerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bonfils ve arkadaşları (1998) *I. Germanica* ile yapmış oldukları çalışmada yeni bir epoksitlenmiş iridal bir molekül elde ettiklerini belirtmişlerdir. Araştırmamızda *Iris unguicularis* kök ve yaprak ekstraksiyonları DPPH yöntemi ile serbest radikallerin yüzde inhibisyon potansiyelleri belirlenmiştir. Sonuçlar IC50 değerlerine göre kıyaslandığında kök kısmının serbest radikalleri inhibe açısından yaprak kısımlara göre oldukça daha etkin olduğu görülmüştür. Kök kısmında ise hekzan ekstraksiyonunun diğerlerine göre etkinliği daha az olarak saptanmıştır.

Sonuçlara göre *Iris unguicularis* bitkisinden elde edilen özütlerin Kök diklorometan özütünden hesaplanan TAS değerlerine bakıldığında sonuçların diğer bitki özütlerinin TAS sonuçlarına göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında TOS değerlerine bakıldığında en iyi TOS değerinin Kök metanol özütünde olduğu saptanmıştır. TAS ve TOS değerlerine bakıldığında en etkili antioksidan aktivitenin Kök metanol özütünde olduğu söylenebilir.

*Iris unguicularis* bitkisinin kök ve yapraklarından diklorometan, metanol, su ve hekzan ekstraksiyonlarının antibakteriyal aktivitesi belirlenmiştir. *Iris unguicularis* bitki özütlerinin bakterilere karşı etkili antibakteriyal aktivitelerinin bulunduğu saptanmıştır. Çalışmada kullanılan *Iris unguicularis* bitkisinden elde edilen özütlerin, kullanılan

bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. İleride yapılacak farmakolojik araştırmalarla beraber etken bileşiklerin saptanması ile birlikte patojen mikroorganizmaların yaptığı hastalıklara karşı bir ilaç olarak kullanılabilirliği dűőünűlmektedir.

DNA koruyucu aktivite sonuçların deđerlendirildiđinde metanol ve hekzan űzűtleri haricindeki tűm űrnekler DNA protektif etki gűsterdiđi gűrűlműőűtűr. *Iris unguicularis* birkisinin kűk ve yapraklarında DNA'yı, UV ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin etkisinden koruyabilecek potansiyel molekűllere sahip olduđu sűylenebilir.

*Iris unguicularis* bitkisinin yaprak ve kűklerinde potansiyel biyoaktif bileřiklerin saptanmasına yűnelik yapılan arařtırma sonuçlarımıza gűre biyoaktif bileřiklerin bulunduđu ancak bunların konsantrasyonları ve isimlerinin saptanması için temel bir çalıőma olmuőtur. Daha sonraki çalıőmalar için űnemli űn veriler bu arařtırma ile literatűre kazandırılmıőtır.

## 6. KAYNAKLAR

- Abdelaziz, A., Abuiryie, M., Alkofahı, A.S., El-oqla, A., Hunaiti, A. and Mahmoud, I. (1990). Cytotoxicity, mutagenicity and antimicrobial of forty Jordanian medicinal plants", *International Journal of Crude Drug Research*, **28**, 139-144.
- Ahmad, I., Beg, A.Z. (2001). Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* **74**(2), 113-123.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Konya.
- Akyol, Y., Yetişen, K., Özdemir, C., Bozdağ, B., Kocabaş, O., Türkiye'deki *Crocus biflorus* Miller subsp. tauri (Maw) Mathew (Iridaceae) Üzerine Morfolojik ve Anatomik Bir Çalışma, Iğdır Üniv. *J. Inst. Sci. & Tech.* (2012).
- Ali, A. A., El-Emary, N. A., El-Moghazi, M. A., Darwish, F. M., Frahm, A. W. (1983). Three isoflavonoids from *Iris germanica*. *Phytochemistry*, **22**, 2061-2063.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektasoglu, B., Berker, K.I. and Özyurt, D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, **12**; 1496-1547.
- Asdou, I.A., Abou-Zeid, H.R. and El-Sherbeeney, Z.H. (1972). Antimicrobial activities of *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Raphanus sativus*, *Capsicum rutescens*, *Erucasativa* Allim kurrat on Bacteria", *Qual. Plant et Materiae Vegetab.* **22**(1), 29-35.
- Atta-ur-Rahman, Nasim, S., Baig, I., Jalil, S., Orhan, I., Sener, B., Choudhary, M. I.(2003). Anti-inflammatory isoflavonoids from the rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, **86**, 177-180.
- Auroma, O. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* **8**: 53-63.
- Baydar, H. (2007). Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü No:51 Isparta.
- Baydar, NG, Babalık Z, Türk FH, Çetin ES.(2011). Phenolic Composition and Antioxidant Activities of Wines and Extracts of Some Grape Varieties Grown in Turkey. *Journal of Agricultural Sciences* **17**, 67-76.
- Bayram, E., Kırıcı, E., Tansi, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Bildiriler Kitabı-1, 11-15 Ocak Ankara, 437-457.
- Baytop, T. (1984). Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, 384-385.
- Baytop, T. (1999). Therapy with Medicinal Plants in Turkey (past and Present), *2nd ed. Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, Turkey.
- Benli, M, Yiğit N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 03,1-8.
- Bonfils, J. P., Marner, F. J. ve Sauvaire, Y. (1998). An epoxidized iridal from *Iris germanica* var 'Rococo'. *Phytochemistry*, **48**, 751-753.
- Briksin, D.P. (2000). Medicinal Plants and Phytomedicines, *Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. Plant Physiology*, **124**:507-514.
- Burtis, C. A., Ashwood, ER. (1999). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B.Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.

- Cao, G., Prior, R.L. (1999). In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, **27**: 1173-1181.
- Chattopadhyay, I., Bandyopadhyay, U., Biswas, K., Maity, P., Banerjee, R.K. (2006). Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology & Medicine* **40**: 1397-1408.
- Choudhary, M. I., Nur-e-Alam, M., Baig, I., Akhtar, F., Khan, A. M., Ndögnii, P. Ö., Badarchiin, T., Purevsuren, G., Nahar, N., Atta-ur-Rahman. (2001). Four new flavones and a new isoflavone from *Iris bungei*. *Journal of Natural Products*, **64**, 857-860.
- Coşkun, F., Selvi, S., Satıl, F., Phylogenetic relationships of some Turkish Crocus (Iridaceae) taxa based on morphological and anatomical characters, TÜBİTAK (2010).
- Davis, P.H. (1984). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.8, Edinburg, 358-445p.
- Dawn, B. M., Allan, DM., Colleen, MS. (1996). *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Dewick, PM. (2002). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2nd ed.(pp. 6-12). Wiley & Sons., Chichester, England.
- Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. (1999). Antimicrobial activities of several parts of *Diplock*, A. (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Ekim, T., Koyuncu, M. (1992), Türkiye’den ihraç edilen çiçek soğanları ve koruma önlemleri, II.Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorunları Sempozyumu Bildirileri, Ankara, 42-47s.
- Elliot, J.G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* 53(2); 46-48.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., Aydın, H. (2010). Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, **32**: 281- 286.
- Facey, P.C., Pascoe, K.O., Porter, R.B., Jones, A.D. (1999). Investigation of plants used in Jamaican folk medicine for anti-bacterial activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **51(12)**, 1455-1460.
- Farag, S. F., Backheet, E. Y., El-Emary, N. A., Niwa, M. (1999). Isoflavonoids and flavone glycosides from rhizomes of *Iris carthaliniae*. *Phytochemistry*, **50**, 1407-1410.
- Farag, S. F., Kimura, Y., Ito, H., Takayusu, J., Tokuda, H., Hatano, T. (2009). New isoflavone glycosides from *Iris spuria* L. (Calizona) cultivated in Egypt. *Journal of Natural Medicines*, **63**, 91-95.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S. (1985). The Bulletin of WHO., **63**: 9865-9871.
- Feig DI., Reid, TM., Loeb, LA. (1994). Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res* **54**: S1890-4.
- Gutteridge, J.M.C. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide- dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS Lett* **172**: 245- 9.
- Güçlü, K., Apak, R., Özyürek, M. (2009). Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Tübitak Proje, pp. 1-114.

- Gülaçtı, T., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., (2007). Ulubelen, A., A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103:816-822.
- Güvenç, A., Kurucu, S., Koyuncu, M., Arıhan, O., Erdurak, C.S., Investigation on the seeds of *IRIS SPURIA L. SUBSP. MUSULMANICA* (FOMIN) TAKHT. (*IRIDACEAE*), *Turkish J. Pharm. Sci.* (2005).
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. In: *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. (2000). *Free radicals in biology and medicine*. Third ed. Oxford: *Oxford Science Publications*. 617–24.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view.” *Nutrition Reviews*, **52(8)**, 253-265.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* **219**: 1-14.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root; their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 2090–2097.
- Iwu, G.M.W., Duncan, A.B. ve Okuuji, C.O. (1999). New Antimicrobials of Plant Orijin.p.457-462, in: J. Janick (ed.), *Perspective on new crops and new uses*, ASHS Pres, Alexandria.
- Janssen T, Bremer K 2004. The age of major monocot groups inferred from 800+ rbcL sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 385–398.
- JH and Ferraro MJ. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: *A Review of General Principles and Contemporary Practices*. *Medical Mikrobiology*, **49**, 1749-1755.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3954-3962.
- Kalaycıoğlu, A., Önder, C. (1994). Bazı Bitki Ekstraksiyonlarının antiimmutajenik Etkilerinin amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Tr. J. Botany* 18:117- 122.
- Kandemir, N. (2006). An investigation on the Autecological of endemic *Iris taochia* Woronow Ex Grossh. (Iridaceae) distributed in the North East Anatolia Region. *Journal of Biological Sciences*, **9**, 2753-2760.
- Kara, A.A. (2002). Bazı Şifalı Bitkilerin *Helicobacter pylori*’nin İn-Vitro Üremesi Üzerine Etkileri ve Antioksidan Özellikleri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium’s health. *Int. J. Food Sci. Tech.* **36**; 703-725.
- Khan, N.H., Nur, E., Kamal, M.S.A. ve Rahman, M. (1988). Antimicrobial Activity of *Euphorbia thymifolia* Linn. *Indian J. med. Res.* 87, 395-397.
- Lee, J.D. (1991). *Concise Inorganic Chemistry*, 4th Ed., Chapman&Hall, New York.
- Lila, M.A. (2005). Valuable Secondary Products from In Vitro Culture. Chapter 24: *Plant Development and Biotechnology*. CRC Pres, pp:285–289.
- Madigan, T.M. and Martinko, M.J. (2010). *Mikroorganizmaların biyolojisi*, 11th ed, Cumhuriyet Çökmüş, Palme yayıncılık, Ankara
- Marner, F. J., Krick, W., Gellrich, B., Jaenicke, L. (1982). Irigermanal and iridogermanal: Two new triterpenoids from rhizomes of *Iris germanica* L. *Journal of Organic Chemistry*, **47**, 2531-2536.
- Mathew B., (1984). Rare and Little-Known Crocuses in Cultivation. *Curtis’s Botanical Magazine*, **1(2)**, 68-74

- Morris, P. and Robbins, M. (1997). Manipulating the Chemical Composition of Plants. <http://www.aber.ac.uk/en/media/ch2.pdf> (Erişim tarihi: 04/02/2009).
- Nawar, W.W. (1996). Lipids. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.
- Orhan, İ., Nasim, S., Şener, B., Ayanoğlu, F., Özgüven, M., Choudhary, M.I., Attaur-Rahman. (2003). Two isoflavones and bioactivity spectrum of the crude extracts of *Iris germanica* rhizomes. *Phytotherapy Research*, **17**, 575-577.
- Osborn, A.E. (1996). Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack. *The Plant Cell*, **8**: 1821– 1831.
- Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N. ve Sancak, C. (2005). Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar: Bitki Biyoteknolojisi. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Cilt 1, 315–346, Ankara
- Öztürk, A. (1990). Erzurum Yöresinin Faydalı ve Tıbbi Yabancı Bitkilerinin Yerel Ad ve Kullanılışları Yönünden Kısa Tanımları. *Y.Y. Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi.*, No:13, 132 s, Van.
- Percival, M. (1998). *Antioxidants. Clinical Nutrition Insights*, **10**, 1-4.  
*Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytotherapy Research*, **13**: 584-587.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, **2**: 152-159.
- Rigano, D., Formisano, C., Grassia, A., Grassia, G., Perrone, A., Piacente, S., Vuotto, M.L., Senatore, F. (2007). Antioxidant flavonoids and isoflavonoids from rhizomes of *Iris pseudopumila*. *Planta Medica*, **73**, 93-96.
- Russo, A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti, V, DiGiacomo, C, Virgata, G, Barcellona, ML, Vanella ,A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell. Biol. Toxicol.*, **16**, 91-98.
- Scott, C.D. and Dougall, D.K. (1987). Plant Cell Tissue Culture-A Potential Source of Chemicals. Chemical Technology Division, Department of Botany, University of Tennessee, Knoxville, 44 pg.
- Shahidi, F. (1996). Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, Champaign-Illinois, pp. 209, USA.
- Siddiqui M.H., Mohammad F., Khan M.N. Morphological and physio-biochemical characterization of *Brassica juncea* L. Czern. & Coss. genotypes under salt stress. *J. Plant Int.* 2009; **4**: 67–80.
- Şengül, M., Yıldız, H., Güngör, N., Çetin, B., Eser, Z., Ercişli, Z., Total Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants, *Pak. J. Pharm. Sci.* (2009).
- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2008). Bitki Fizyolojisi-Üçüncü baskıdan çeviri. Palme yayıncılık. 283-308.
- Tarpey, M.M, Wink, D.A, Grisham, M.B. (2004). Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol, Regul Integr Comp Physiol*; **286(3)**: R431–44.
- Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., Sarikurkcu, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiameobic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, **82(2)** 237–246.
- Topçu, G.; Ay, M.; Bilici, A.; Sarikürkçü, C.; Öztürk, M.; Ulubelen, A. (2007). *Food Chemistry*, **103**, 816-822.



- Usta, E. (2002). Assessment of the Present Taxonomic Status of Turkish Iris L.(Iridaceae) by Phenetic Methods, Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi,1- 150.
- Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin, C.Y. and Tsay, H.S. (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture. *Botanical Bulletin Academia Sinica*, **45**: 1–22.
- Verpoorte, R., Heijden, R., Hoge, J.H.C., and Hoopen, H.J.G. (1994). Plant cell biotechnology for the production of secondary metabolites. *Pure and Applied Chemistry*, **66**:2307-2310.
- Vonderbank, H. (1949). Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. *Pharmazie*, **4**:198-207.
- Waterman, P.G. (2001). Evolution of Secondary Plant Metabolism. *Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group. University of Strathclyde, Glasgow, United Kingdom, 9 pg.
- Yeşilyurt, V.; Halfon, B.; Öztürk, M.; Topçu, G. (2008). *Food Chemistry*, **108**, 31-39.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Resul ATEŞ  
Doğum Tarihi ve Yer : 16.06.1988 / TOKAT  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce  
Telefon : 0537 665 90 54  
e-mail : resul\_ats@msn.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü	-
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	(2007 – 2011)
Lise	Ahmet Sani Gezici Lisesi	(2003 – 2006)