

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*SMILAX EXCELSA L.* MEYVE EKSTRELERİNİN ANTİMUTAJENİK,  
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

ECEHAN EFE

EYLÜL 2017

## ÖZET

### *SMILAX EXCELSA* L. MEYVE EKSTRELERİNİN ANTİMUTAJENİK, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

EFE, Ecehan

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Emine YALÇIN

Eylül 2017, 36 sayfa

Bu çalışmada *Smilax excelsa* meyve ekstraktının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik etkinlikleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal etki disk difüzyon yöntemi ile antimutajenik etki ise Ames/Salmonella/mikrozom testi kullanılarak araştırılmıştır. *Smilax excelsa* meyve örneklerinin antioksidan özelliği ise toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin tespiti ve DPPH giderme etkisi araştırılarak belirlenmiştir. Deneysel işlemler sonrasında *S. excelsa* meyve ekstraktının test edilen mikroorganizmalara karşı 11-16 cm aralığında inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. 200 mg/mL konsantrasyonunda ekstraktta flavonoid içeriği  $0.7985 \pm 0.0124$  mg QE/100 mL olarak, aynı konsantrasyonda fenolik içerik ise  $11.9847 \pm 0.0041$  mg GAE/100 mL olarak tespit edilmiştir. 200 mg/L dozunda DPPH giderme oranı %55 olarak belirlenmiştir. Meyve ekstraktının 200 mg/plak dozunda *S. typhimurium* TA1535 suşu ile S9 karışımı yokluğunda %81, S9 karışımı varlığında ise %67 oranında mutajenite inhibisyonu oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak *Smilax excelsa* meyve dokularının potansiyel doğal bir antimikrobiyal ve antimutajenik kaynak olduğu, antioksidan etkinlik sergilediği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ames/Salmonella/mikrozom testi, Antioksidan aktivite, Disk difüzyon testi, *Smilax excelsa*

## ABSTRACT

### ANTIMUTAGENIC, ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *SMILAX EXCELSA* L. FRUIT EXTRACTS

EFE, Ecehan

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emine YALÇIN

September 2017, 36 pages

In this study, antimicrobial, antioxidant and antimutagenic activities of *Smilax excelsa* fruit extract were investigated. The antimicrobial effect was investigated by disk diffusion method and the antimutagenic effect was investigated by Ames/Salmonella/microsomal test. The antioxidant properties of *Smilax excelsa* fruit samples were determined by investigating the total phenolic and flavonoid contents and DPPH removal effects. It was determined that *S. excelsa* fruit extract produced an inhibition zone in the range of 11-16 cm against the tested microorganisms. Flavonoid content was found to be  $0.7985 \pm 0.0124$  mg QE/100 mL in the extract at the concentration of 200 mg/mL and  $11.9847 \pm 0.0041$  mg GAE/100 mL in the same concentration. The DPPH removal rate at the 200 mg/L dose was determined to be 55%. The fruit extract was found to have a mutagenicity inhibition of 81% in the absence of S9 mixture and 67% in the presence of S9 mixture at a dose of 200 mg/plate of *S. typhimurium* TA1535 strain. In conclusion, it has been determined that *Smilax excelsa* fruit tissues exhibit antioxidant activity, a potential natural antimicrobial and antimutagenic source.

**Key Words:** Ames / Salmonella / microsomal test, Antioxidant activity, Disc diffusion test, *Smilax excelsa*

## TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın tm aőamalarında her trl bilimsel desteği sağlayan değerli hocam Do. Dr. Emine YALIN'a, bilgi birikimleri ve değerli grőleriyle katkı sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Kültięin AVUŐOęLU ve Prof. Dr. Kürőad YAPAR'a teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalıőmam sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen babam Prof. Dr. H. Ahmet ACET, annem Neslihan ACET ve sevgili eőim Av. Melih EFE'ye teőekkürü bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VII
KISALTMALAR DİZİNİ .....	XIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Antioksidan Aktivite .....	2
1.1.1. Fenolik Bileşikler .....	2
1.1.2. Flavonoidler .....	4
1.2. Antimutajenik Aktivite.....	9
1.2.1. Biyoantimutajenler.....	10
1.2.2. Des-mutajenler.....	10
1.2.3. Ames Test Yöntemi .....	10
1.3. Antimikrobiyal Aktivite.....	10
1.4. <i>Smilax excelsa</i> Linnaeus.....	11
1.5. <i>Smilax</i> Türlerinde Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik bileşikler.....	11
1.5.1. <i>Smilax china</i> .....	12
1.5.2. <i>Smilax glabra</i> .....	13
1.5.3. <i>Smilax riparia</i> .....	14
1.5.4. <i>Smilax excelsa</i> .....	15
2. MATERYAL VE METOT.....	14
2.1. Örnek hazırlama ve ekstraksiyon çalışmaları .....	14
2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini .....	14
2.3. Antioksidan Aktivite Tayini .....	17
2.3.1 Toplam Fenolik İçerik ve Flavonoid tayini .....	17
2.3.2 DPPH Radikal Giderme Aktivite Tayini .....	18
2.4. Antimutajenite testi .....	19
2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	20

3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	21
3.1. Antimikrobiyal Etkinlik.....	21
3.2. Antioksidan Aktivite .....	21
3.3. Antimutajenik aktivite.....	22
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR .....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	44



## TABLULAR DİZİNİ

### TABLO

1.1. Bitkilerde bulunan antimikrobiyal bileşikler ve etki mekanizmaları .....	6
1.2. <i>S. excelsa</i> 'nın sistematik hiyerarşisi ve morfolojik özellikleri .....	11
2.1. Antimutajenite hesaplama eşitliği .....	12
2.2. Antimutajenite değerlendirme .....	15
3.1. <i>S.excelsa</i> meyve ekstraktlarında toplam flavonoid ve fenolik madde miktarı ..	20



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

1.1. Serbest radikallerin oluşumu ve fonksiyonları .....	8
1.2. Fenolik bileşikler ve kimyasal yapıları .....	8
1.3. Flavonoidler ve kimyasal yapıları .....	9
1.4. <i>S. excelsa</i> 'da meyve görünümü .....	12
3.1. <i>S. excelsa</i> meyve ekstraktının antimikrobiyal etkinliği .....	14
3.2. <i>S. excelsa</i> meyve ekstraktının DPPH giderme aktivitesi .....	15
3.3. <i>S. excelsa</i> meyve ekstraktlarının TA 1535 üzerine antimitojenik aktiviteleri.....	16





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türleri
RSS	Reaktif Sülfür Türleri
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
•OH	Hidroksil radikali
O <sub>2</sub> •	Süperoksit radikali
ONOO	Peroksi nitrit
DPPH	1,1-difenil-2-pikril hidrazil

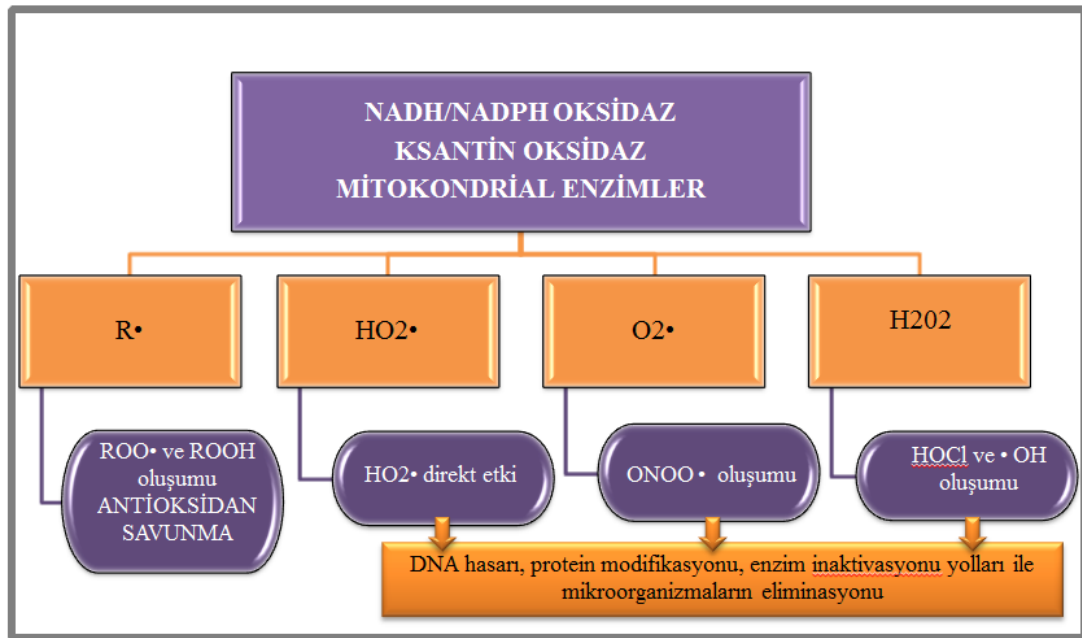
## 1. GİRİŞ

Artan endüstrileşme ile çeşitli sektörlerde kimyasal maddelerin kullanımı artmış, bu artış kullanılan kimyasalların olumsuz etkilerini giderebilecek doğal bileşenlere olan ihtiyacı da ön plana çıkartmıştır. Kimyasalların canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabilecek doğal bileşenler ilaç halinde ya da diyet içerisinde besin olarak tüketilebilmektedir. Doğal ürünlerin başında geleneksel ve modern ilaçların hammaddesi olarak tıbbi alanlarda kullanılan bitkiler gelmektedir. Bitkilerin farklı doku ve organları, kimyasalların olumsuz etkileri sonucunda ortaya çıkan pek çok rahatsızlığa, akut/kronik hastalıklara ve dejeneratif kusurlara karşı koruyucu rol üstlenmektedir. Bitkilerin bu özelliği farklı dokularda farklı oranlarda bulunan aktif bileşenlerle ilgilidir. Bitkisel kaynaklı aktif metabolitler hakkında pek çok çalışma yapılmakta; aktif bileşenlerin içeriği, fonksiyonu, antioksidan, antimikrobiyal, antimutajenik ve antikanserojenik etkileri aydınlatılmaktadır. Günlük yaşamda bu tür aktif bileşiklerin düzenli kullanımının kanser ve genetik hastalıkları önlemede etkili olabileceği öne sürülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, yeşil sebze ve taze meyve içeren bileşiklerin tüketiminin insanları pek çok hastalığa karşı koruduğunu göstermektedir (1-2).

İnsanlar, günlük yaşamlarında çok sayıda kimyasal karsinogen ve mutajenlere maruz kalabilmektedirler. Bitkilerde bulunan ve pek çok rahatsızlığı önlemede aktif olarak rol alan metabolitler, bu olumsuz etkileri giderebilmektedir. Bu nedenle doğal bitki kaynaklarının içeriklerinin, antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antimutajenik gibi pek çok etkilerinin araştırılması önem arz etmektedir. Bu tür etkileri belirlenen bitkilerin tüketimi, kimyasallar tarafından vücutta oluşabilecek olumsuzlukların azaltılmasına da yardımcı olacaktır. Bu yolla sentetik ilaçların yol açtığı sekonder rahatsızlıkların, ilaç yan etkilerinin ve vücuda aşırı ilaç yüklemesinin önüne geçilmiş olacaktır (3,4). Bu çalışmada *Smilax excelsa* meyve ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemi, antimutajenik aktivite Ames/Salmonella testi ile, antioksidan aktivite ise toplam fenolik içerik tayini, flavonoid içerik tayini, 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) giderme aktivite testi ile belirlenmiştir.

## 1.1. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini giderme özellikleri nedeniyle gün geçtikçe pek çok çalışmanın odak noktasını oluşturmaktadır. Serbest radikaller paylaşılmamış elektron içeren diğer moleküllerle yüksek derecede kimyasal reaksiyon veren atomlardır. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller oksijen, azot ve sülfür moleküllerinden köken almaktadır. Serbest radikaller Reaktif Oksijen Türleri (ROS), Reaktif Azot Türleri (RNS) ve Reaktif Sülfür Türleri (RSS) olarak gruplandırılabilir. Süperoksit iyonu ( $O_2\cdot$ ), peroksi radikali ( $HO_2\cdot$ ), hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ), nitrik oksit, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), peroksi nitrit ( $ONOO$ ) radikalleri ROS olarak sınıflandırılmaktadır. RNS türleri ise daha çok nitrik oksidin  $O_2\cdot$  ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır. RSS grubu radikaller ise tiyollerin ROS radikalleri ile etkileşimi sonrasında ortaya çıkmaktadır. Canlı organizmalarda ROS radikalleri, hücresel yollarda ve normal metabolizma ağında da oluşabilmekte ve hücre sinyalizasyonu, apoptozis ve iyon transportu gibi pek çok önemli yollarda görev almaktadır (Şekil 1.1) (5,6).



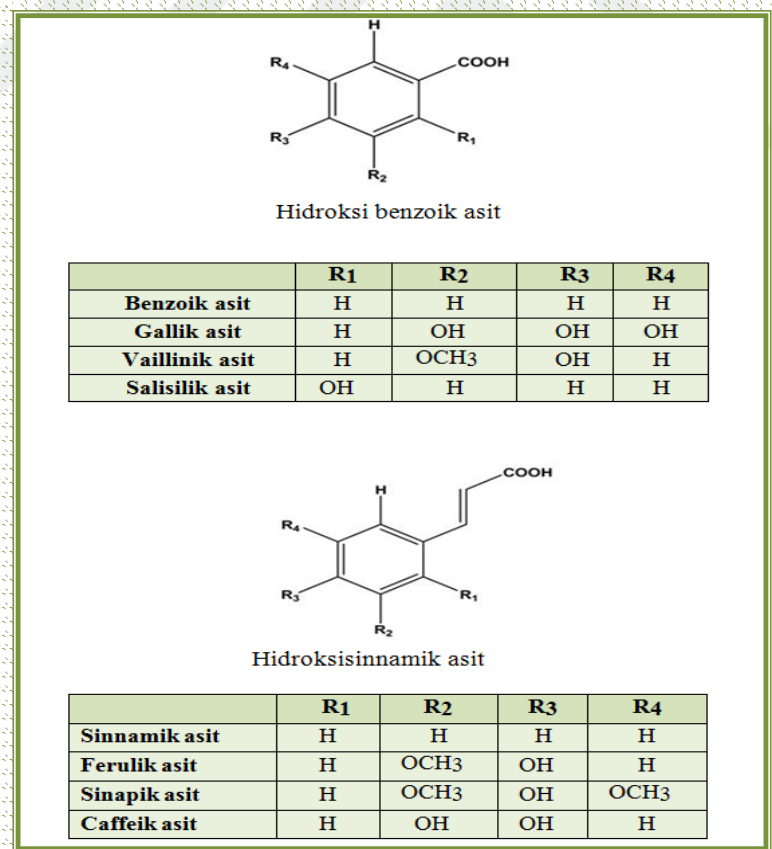
Şekil 1.1. Serbest radikallerin oluşumu ve fonksiyonları

Serbest radikaller vücutta mikroorganizmalarda savaşmada ve apoptozis gibi mekanizmalarda rol olsa da vücut tarafından aşırı üretimi hücredeki pek çok moleküle de zarar vermektedir. Serbest radikaller nükleik asitlerdeki bazlara, proteinlerdeki aminoasitlere ve özellikle doymamış lipitlere saldırarak hasara neden olmaktadır. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum, kardiyovasküler hastalıklara, kanser, diyabet, alzheimer, katarakt oluşumu gibi pek çok rahatsızlığa neden olmaktadır. Serbest radikaller tarafından oluşan anormalliklere karşı canlı organizmalarda antioksidan savunma sistemi koruyucu bir rol üstlenmektedir. Vücut tarafından üretilen antioksidan enzimler ve moleküller metal şelatlama, serbest radikalleri inaktive etme ya da etkisizleştirme ve nötralizasyon gibi yollarla serbest radikallerin olumsuz etkilerini azaltmaktadır. Bununla birlikte diyetle alınan antioksidan gıdalar da serbest radikallerin nötralizasyonunda önemli bir role sahiptir (6-8). Gıdalara katkı maddesi olarak ilave edilen tert butilhidroksitoluen, tert butilhidroksianisol, tert butil hidroksikinon gibi sentetik antioksidanlar gıdaları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Fakat toksik etkilerinin olabileceği düşünüldüğünde bu tür sentetik antioksidanların farmakolojik kullanımı ya da gıda takviyesi olarak kullanımı oldukça risklidir. Bu nedenle antioksidan takviyesi olarak bitkisel kaynaklı dokuların ya da bitki ekstraktlarının kullanımı dikkat çekmekte ve her geçen gün bu konudaki araştırmalar artarak devam etmektedir. Bitkilerin yaprak, kök, özellikle meyve gibi pek çok dokuları antioksidan kaynağı olarak tüketilmektedir. Ginseng, ginkgo, biberiye, yeşil çay, üzüm, zencefil ve sarımsak antioksidan takviye olarak sıkça tüketilen bitkisel kaynaklardır. Bu bitkilerin fenoller, flavonoidler, karotenler, steroidler ve tiyol bileşikler olmak üzere pek çok antioksidan etkili bileşik içerdiği bilinmektedir (9-11). Bitkilerde pek çok metabolizma sonucunda sekonder metabolit olarak üretilen maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler bitkilerde özellikle zararlılara karşı savunma sisteminde görev yapmaktadır. Bu tür sekonder metabolitlerin başında fenolik bileşikler bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, bitkilerde hemen hemen her dokuda bulunmaktadır (12-14). Fakat yüksek yoğunlukta bitkilerin meyve, çiçek, yaprak dokularında bulunmaktadır. Ayrıca kök, rizom ve gövdelerinde de fenolik bileşiklere rastlamak mümkündür. Fenolik bileşikler, kimyasal yapılarına göre fenolik asitler ve flavonoidler olarak sınıflandırılmaktadır. Flavonoidler, polifenolik antioksidanlardır ve meyve/sebzelerin doğal yapılarında bulunmaktadır. Fenolik bileşikler ise meyve

ve sebzelerde tat oluşumundan sorumludur ve özellikle acılık ve burukluk gibi tat unsurlarının oluşmasında etkilidirler (5-18).

### 1.1.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik asitler, bitkilerde aromatik sekonder metabolitlerdir ve sebze/meyvelerde tat ve lezzet oluşumuna katkı sağlamaktadır (19). Fenole bağlı karboksilik asit içerdikleri için "Fenolik asit" olarak adlandırılmakta ve pek çok polifenolün öncü bileşiği olarak bilinmektedir. Doğal fenolik asitler, bitkisel dokularda daha çok hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit yapısında ortaya çıkmaktadır. Sınnamik ve benzoik asit türevleri gibi fenolik asitlerin birçoğu tüm bitki ve bitkilerden elde edilen gıdalarda (örneğin meyveler, sebzeler ve tahıllar) bulunmaktadır (20). Hidroksisınnamik asit, glukoz veya hidroksikarboksilik asidin esterleri halinde üretilmektedir. Bitki fenolik bileşikleri, moleküler yapı bakımından farklıdır ve bitkilerdeki fenolik bileşikler hidroksillenmiş aromatik halka yapılarına göre karakterize edilmektedir (Şekil 1.2).



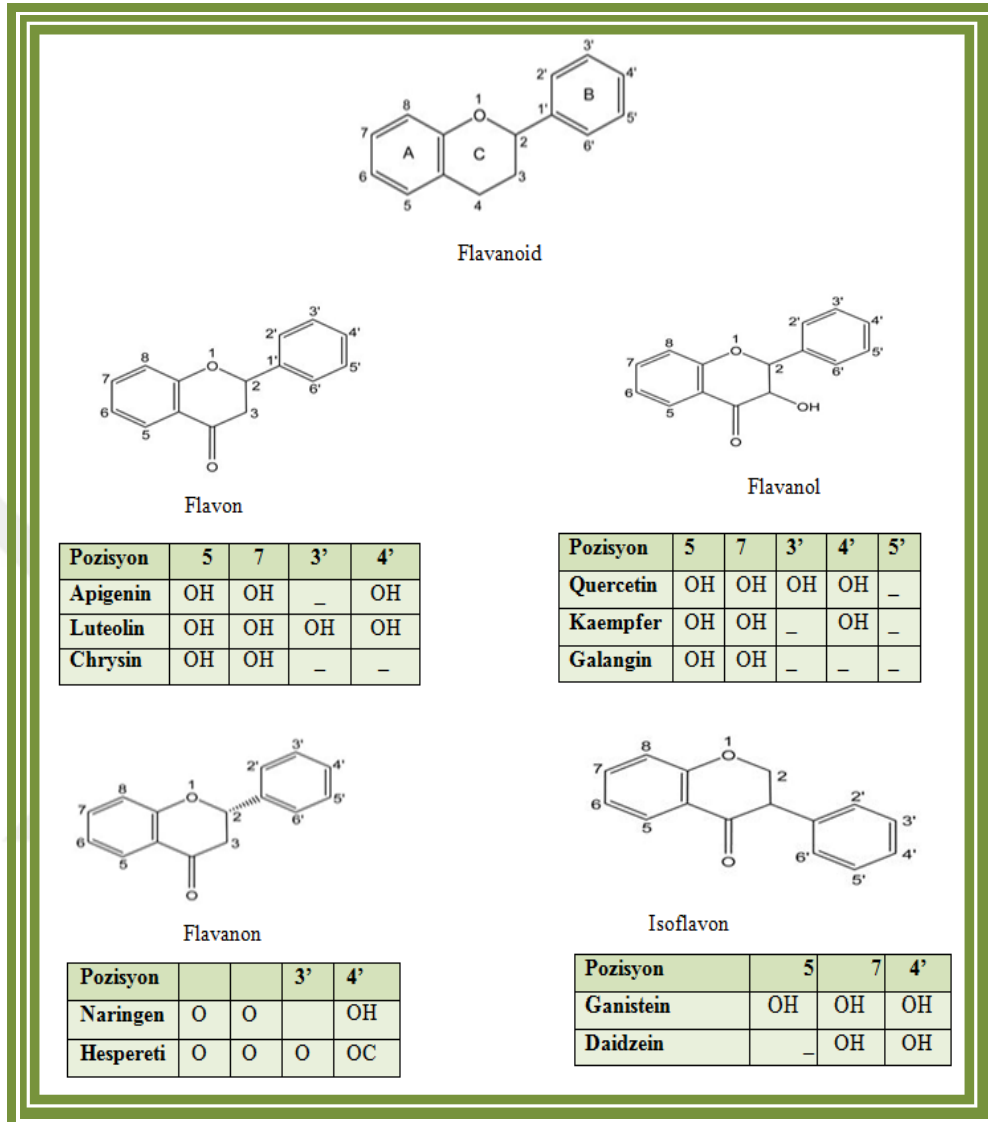
Şekil 1.2. Fenolik bileşikler ve kimyasal yapıları (21)

Bitkilerde fenolik bileşikler çözüner ya da çözünmeyen formda bulunabilirler. Çözünmeyen formlar daha çok hücre duvarlarında lokalize olurken, çözüner yapıda olanlar vakuollerde lokalize olmaktadır. Bu bileşikler ağırlıklı olarak iltihaplanma ve kanser gibi çeşitli dejeneratif hastalıklara yol açan oksidatif hasara karşı koruyucu role sahiptir (22, 23). Son yıllarda, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin önemi ve işlenmiş gıdalardaki doğal antioksidan bileşikleri olarak potansiyel kullanımları yeni bir kullanım sahası oluşturmuştur. Antioksidanların insan, hayvan ve bitki hücrelerini serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyan spesifik bileşikler olduğu bilinmektedir. Fenolik asitler bitkilerdeki en önemli biyoaktif bileşiklerdendir ve antiülser, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antiviral, antioksidan ve antitümör olmak üzere pek çok aktiviteye sahiptir. Beslenme fizyolojisi bakımından yüksek etkinlik sergilemeleri nedeni ile biyoflavonoid olarak adlandırılan fenolik bileşikler ayrıca kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kan basıncı düşürücü etkilere de sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle fenolik bileşiklere, P vitamini de denilmektedir (24).

### **1.1.2. Flavonoidler**

Flavonoidler, bir heterosiklik piran halkası aracılığıyla birbirine bağlı iki aromatik halkadan oluşan C<sub>15</sub> atomları içeren yapılardır. Bütün flavonoidler, iki aromatik C<sub>6</sub> halkasından (A ve B) ve bir heterosiklik halkadan (C) oluşan temel C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yapısal iskeletine sahiptir (Şekil 1.3). Flavonoidler bitkilerin çiçeklerinde yoğunlaşarak dikkat çekmeyi ve bu yolla tozlaşmayı arttırmaktadır. Bununla birlikte fungal patojenlere ve UV radyasyona karşı koruma sağlayarak bitkinin hayatta kalma şansını arttırmaktadır. Ayrıca fotosensitizasyon, enerji transferi, bitki büyüme hormonlarının düzenlenmesi, solunum ve fotosentezin kontrolü, morfogenez gibi metabolik yollarda da görev almaktadırlar (25). Flavonoidler C vitamini, E vitamini ve karotenoidlerden daha etkili antioksidan özelliğe sahiptir. Flavonlar ve kateşinler vücudu reaktif oksijen türlerine karşı koruyan en güçlü flavonoidlerdir. Kuersetin, kaempferol, morin ve myisetin anti-inflamatuar, antialerjik, antiviral ve anti-kanser etki göstermektedirler. Karaciğer hastalıkları ve kardiyovasküler hastalıklarda da koruyucu bir rol oynadıkları da belirlenmiştir. Flavonoid bileşiklerin indirgeme aktivitesi, moleküler yapıdaki serbest hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır (26-28).

Bitkilerdeki fizyolojik rollerinin yanı sıra, flavonoidler, insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir ve yaygın bir şekilde besin olarak tüketilmektedir.



Şekil 1.3. Flavonoidler ve kimyasal yapıları (21)

Günümüzde hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, arteriyel hipertansiyon ve kalp yetmezliği sıkça rastlanan hastalıklardandır. Genel olarak bu hastalıklarda asıl faktörün oksidatif stres olduğu düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda koroner kalp hastalığına karşı flavonoidlerin koruyucu bir rol oynadığı rapor edilmektedir (29).

## 1.2. Antimutajenik aktivite

Mutajenik etki genomda kendiliğinden meydana gelen ya da vücuda dışardan alınan kimyasal maddelerin etkisi ile oluşan baz değişimleridir. Kimyasal maddelerin etkisi sonucu oluşan bu tür mutasyonların kanser ile ilişkili olduğu pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Vücuda alındıktan sonra pek çok bileşik, aktif hale dönüşerek kansere neden olmaktadır. Bu bileşiklerin çoğunun aynı zamanda mutajenik de olduğu belirlenmiştir. Kansere neden olan her madde mutajenik olmayabilir, ya da mutajenik her madde kansere neden olmayabilir. Fakat mutajenite ve kanser oluşumu arasındaki paralellik, antimutajenik bileşiklerin araştırmalarını öncül çalışmalar haline getirmektedir. Antimutajenik aktivite, mutajen özelliğe sahip kimyasalların etkisini azaltma ya da yok etme etkisidir. Antimutajenler etki mekanizmalarına göre desmutajenler ve biyoantimutajenler olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır (30-31).

### 1.2.1. Biyo-antimutajenler

Biyo-antimutajenler etkilerini hücre içerisinde gösteren aktif ajanlardır. Özellikle DNA'da oluşan hasarları azaltarak ya da oluşan mutasyonları tamir ederek etki göstermektedirler. Biyoantimutajenik maddeler, mutajenin DNA'da oluşturduğu hasarı, DNA replikasyonu ve DNA tamir mekanizmalarını düzenleyerek olumsuz etkiyi azaltan bileşiklerdir. Biyoantimutajenler genel olarak DNA polimeraz I ve DNA polimeraz III sentezini arttırarak, error-prone DNA tamir mekanizmasını engelleyerek, error-free DNA tamir mekanizmasını geliştirerek etki göstermektedirler. Kobalt klorürün, *E. coli*'de N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin maddesinin DNA replikasyonu sırasında oluşturduğu spontan mutasyon oranını azaltarak biyoantimutajenik aktivite sergilediği rapor edilmiştir (32). Başka bir çalışmada ise yine kobalt klorürün *B. subtilis*'de DNA polimeraz III eksikliğine bağlı olarak gerçekleşen mutasyon oranını da azalttığı rapor edilmektedir (33). Shimo ve arkadaşları tıbbi tedavide kullanılan 150 bitki türünde bazı bileşenlerin UV, gamma ışınları ve pek çok mutajene karşı biyo-antimutajenik aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir (34). UVC (254nm) ışınları tarafından oluşturulan mutasyona karşı fenolik bileşenlerin antimutajenik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada kafeik asit, klorojenik asit ve kuarsetinin mutasyon oranı üzerine etkisinin olmadığı gözlenirken, gallo-kateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin-3-gallatın biyoantimutajenik aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir (35).



### 1.2.2. Des-mutajenler

Desmutajenler; hücreye mutajen girişini çeşitli yollarla önleyerek, ajanların DNA'ya ulaşmasını engelleyerek mutajeniteyi ortadan kaldırmaktadır (36). Desmutajenler, mutajenlere kimyasal olarak bağlanarak ya da enzimatik etki göstererek antimutajenik aktivite sergilemektedirler. 4-nitroquinolin-1-oksit gibi sentetik antimutajenlerin aktivitesinin kimyasal olarak bağlanma yolu ile mutajen maddeleri inhibe ettiği bildirilmektedir. Moriya ve arkadaşları, sistein tarafından Captan pestisitinin bloke edilerek antimutajenik aktivitenin oluştuğunu rapor etmişlerdir (37). Vitamin E, ürik asit, vitamin C gibi bileşikler kimyasal bağlanma yoluyla hidrojen peroksit ve oksijen radikallerinin mutajenik aktivitesini durdurdukları belirlenmiştir (38,39). Bu verilerden hareketle genel olarak antioksidanların desmutajen olarak sınıflandırılabilceği belirtilmektedir (40).

### 1.2.3. Ames Test Yöntemi

1975 yılında Prof. Dr. Ames ve Dr. Maron tarafından geliştirilen ve daha sonra modifiye edilen yaygın bir şekilde kullanılan mutajenite testidir (41). Ames mutajenite testinin güvenilir ve düşük maliyetli olması, hızlı sonuç vermesi, uygulanabilirliğinin basit olması nedenleriyle kullanım alanı oldukça geniştir. Ames mutajenite testi, organizmalarda tümör oluşumu, genlerde meydana gelen nokta mutasyonların tayini, mutajenik kimyasalların ve antimutajenik ajanların tespitinde de kullanılmaktadır (42,43). Ames testinde, mutant *Salmonella typhimurium*'un suşları kullanılmaktadır. Bu nedenle test Ames/Salmonella testi olarak da adlandırılmaktadır. Bu testin temeli, histidin sentezleme geninde mutasyon içeren ve histidin sentezleme özelliğini kaybeden *S. typhimurium* suşlarının hedef kimyasal ajan ile etkileştirildikten sonra ikinci bir mutasyona uğrayarak histidini sentezleme özelliğini yeniden kazanması (revertant koloni) ve histidin içermeyen ortamlarda da çoğalabilmesi prensibine dayanmaktadır. Revertant kolonilerin sayıları ile elde edilen istatistiksel veriler, mutajenite değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (42,43). Normal koşullarda da mutajen maddelere maruz kalmadan spontan olarak geri dönüşebilen suşlar oluşmaktadır. Spontan revertant sayısından daha fazla sayıda revertant koloni gözlenmesi durumunda test edilen maddenin mutajenik olduğu kabul edilmektedir (43-44). Bu test ile birçok mutajenik madde teşhis edilebilmektedir. Testte kullanılan Salmonella mutant suşları, histidin

operonunun çeşitli genlerinde farklı mutasyonlara neden olmaktadır. Bu mutasyonlar, her biri çeşitli mekanizmalar üzerinden etki eden mutajenlere duyarlı olacak şekilde tasarlanmıştır. Bu suşlar *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA97, TA98, TA100, TA102, TA104 suşlarıdır (41).

Ayrıca Ames/Salmonella testi memeli karaciğer süpernatantı (S9) varlığında veya yokluğunda olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Kimyasal bileşenler organizmalarda detoksifikasyon işleminden sonra değişime uğramakta ve mutajen olmayan bir bileşik mutajen hale dönüşebilmekte ya da mutajen özelliğe sahip bileşik mutajen özelliğini kaybedebilmektedir. Bu olay biyotransformasyon olarak adlandırılmaktadır ve Ames testinde kimyasallar S9 olarak bilinen mikrozoom ekstraktları ile muamele edilerek mutajeniteleri araştırılmakta ve biyotransformasyonun etkisi aydınlatılabilmektedir. Bu şekilde uygulanan Ames testi ise Ames/Salmonella/Mikrozoom testi olarak adlandırılmaktadır. Antimutajenite testi, Ames/Salmonella/Mikrozoom testinden türetilmektedir ve mutajen özellikte olduğu bilinen standart bir maddenin mutajenik aktivitesinin inhibisyonunun ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.

### **1.3. Antimikrobiyal Aktivite**

Bitkiler yüksek oranda fenoller veya oksijen türevli fenoller gibi aromatik yapılu bileşikleri sentezleme yeteneğine sahiptirler. Bu bileşiklerin büyük bir çoğunluğu sekonder metabolitlerdir ve bitkiler bu bileşikleri genellikle savunma amaçlı kullanmaktadır. Bu bileşikler özellikle mikroorganizmalar ve böceklere karşı savunmada görev almaktadır. Terpen, fenolik asit, flavonoid gibi yapılarda olan bu bileşikler mikroorganizmaların ölümüne ya da mikroorganizmalarda üremenin durmasına neden olmaktadır. Antimikrobiyal özellik gösteren bu bileşikler çeşitli yollarla etki göstermektedir. Bu yollardan bazıları hücre zarı/duvarı deformasyonu, enzim inhibisyonu, DNA yapısını bozmadır (45). Bitkilerde bulunan ve antimikrobiyal özellik sergileyen aktif bileşenler Tablo 1.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 1.1.** Bitkilerde bulunan antimikrobiyal bileşikler ve etki mekanizmaları (45)

Bileşik	Örnek molekül	Etki mekanizması
<b>Kumarin</b>	Warfarin	Antiviral aktivite
<b>Alkaloid</b>	Berberin, Piperin	DNA ve hücre zarı yapısına katılma
<b>Lektin</b>	Fabatin	Disülfid bağı blokasyonu
<b>Kinon</b>	Hiperisin	Adhesine bağlanma Enzim inhibisyonu
<b>Fenolik asit</b>	Sinnamik asit	Hücre zarına bağlanma Enzim inhibisyonu
<b>Flavonoid</b>	Khyrisin	Adhesine bağlanma Hücre zarına bağlanma
<b>Flavon</b>	Abissinone	HIV revers transkriptaz inhibisyonu
<b>Terpenoid</b>	Kapsaisin	Membran bütünlüğünü bozma
<b>Tannin</b>	Ellagitannin	Metal ion kompleksi oluşturma Hücre zarı deformasyonu

Katekol ve pirogallol, mikroorganizmalar için yüksek toksik özellik sergileyen hidroksillenmiş fenollerdir. Fenol grubundaki hidroksil gruplarının sayısı toksisitede önemlidir ve artmış hidroksilasyonun mikroorganizmalara karşı yüksek toksisiteye neden olduğu rapor edilmektedir. Bu bileşikleri içeren bitkisel ekstraktlar yüksek antimikrobiyal etki göstermektedir (46). Ayrıca oksitlenmiş fenolik bileşikler yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (47,48). Bu etki sülfidril grubuna sahip enzimlerin okside-fenol bileşikleri tarafından inhibisyonu ile açıklanmıştır. C3 yan zincirine sahip olan ve oksijen içermeyen fenolik bileşikler uçucu yağlar olarak sınıflandırılmakta ve yüksek antimikrobiyal etki sergilemektedir (49). *Smilax excelsa* ekstraksiyonunda izole edilen aktif bileşenler arasında kateşinin bulunduğu rapor edilmektedir (50). Flavonoid bileşiklerden C3 ünitesinin en indirgenmiş şekli olan kateşinlerde antimikrobiyal etkinlikte önemli bir role sahiptir. Kateşinin *Streptococcus mutans* (51) ve *Shigella* (52) üzerine yüksek inhibisyonu rapor

edilmiştir. *S. mutans* inhibisyonu bakterideki glikoziltransferaz enziminin kateşin tarafından inhibisyonu ile açıklanmıştır.

Antimikrobiyal aktivite tayinlerinde genel olarak disk difüzyon ve tüp dilüsyon yöntemleri olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesinde disk difüzyon testi en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu test, steril disklerle emdirilen aktif maddenin, mikroorganizma ekilmiş besiyerine difüze olması esasına dayanmaktadır. Disklerde bulunan aktif madde difüzyon yolu ile besiyerine geçerken, besiyerine inoküle edilen mikroorganizmalar da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra aktif maddenin difüze olduğu alanlarda üremenin olmadığı ve o bölgelerin şeffaf kaldığı, bir inhibisyon zonu oluştuğu gözlenir. Mikroorganizma aktif maddeye ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu da o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek, standart antibiyotiklerin zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılmaktadır (53). Bu çalışmada *Smilax excelsa* meyve ekstrelerinin antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon yöntemi araştırılmıştır.

#### **1.4. *Smilax excelsa* Linnaeus**

Alem: Plantae

Bölüm: Angiosperms (Kapalı tohumlu)

Sınıf: Eudicots (İki çenekliler)

Takım: Liliales

Familya Smilacaceae

Cins: *Smilax*

Tür: *Smilax excelsa*

*Smilax excelsa* (Merulcan) Karadeniz dışında bazı bölgelerde merulcan, merucen, marucan, melocan, melvocan, diken gözü, diken gıcırı olarak da bilinmektedir. Dikenli bir bitki olan ve ilkbahar aylarında genç sürgünlerini vermeye başlayan *Smilax excelsa*'nın sürgünleri sebze olarak tüketilmektedir (Şekil 1.4) (54-55).



**Şekil 1.4.** *Smilax excelsa*'da meyve görünümü (56-57)

*Smilax* türlerine ait rizomların çeşitli immunomodülatör, antibakteriyal, antifungal, antioksidan gibi çeşitli farmakolojik özellikleri olduğu bilinmektedir (4,58,59). *Smilax china* kök ekstraktlarının yüksek oranda DPPH radikal süpürücü etkiye sahip olduğu, lipid peroksidasyonunu önlediği ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı belirtilmektedir. Kanı temizleme ve terletme özelliği bilinen *Smilax excelsa*'nın frengide de tedavi amaçlı kullanıldığı rapor edilmektedir (60). Smilacaceae familyası üyeleri ortalama boyu 3 m'den büyük olan 15 m'ye kadar boylanabilen, odunsu, dikenli, çok yıllık bitkilerdir. Yapraklar alternan dizilişli, yaprak sapları kısa, kalp şeklinde morfolojiye sahip, meyveleri ilk oluşumunda yeşil daha sonra kırmızı renk alan, 800 m'ye kadar yükseklerde görülebilen türlerdir. (Tablo 1.2)

**Tablo 1.2.** *Smilax excelsa*'nın sistematik hiyerarşisi ve morfolojik özellikleri

Sistematik Hiyerarşi		Morfolojik Özellik	
<b>Alem</b>	Plantae	Genel Özellik	Tırmanıcı ve çok yıllık
<b>Bölüm</b>	Angiosperms	Dal formu	20 metreye kadar boylanabilme
<b>Sınıf</b>	Liliopsida	Çiçek	Şemsiye durumlu
<b>Takım</b>	Liliales	Çiçek Rengi	Beyaz-sarımsı yeşil
<b>Familya</b>	Smilacaceae	Ortalama Boy	>3m
<b>Cins</b>	Smilax	Gövde	Odunsu ve alt kısmı dikenli
<b>Tür</b>	<i>Smilax excelsa</i>	Yaprak	Kalp şeklinde

Bakka tipi meyve ile uzun, dar ve silindirik kökleri mevcuttur. Orta Amerika'da daha çok *S. utilis*, *S. medica*, *S. ornata*, *S. officinalis*, *S. syphilitica*, *S. papyracea* türleri yetişirken Anadolu'da *S. aspera* ve *S. excelsa* türleri yetişmektedir. *S. aspera* Batı ve Güney Anadolu, *S. excelsa* ise daha çok Kuzey Anadolu boyunca yaygındır (54-56). Smilax türlerinde çeşitli aktif bileşenlerin olduğu pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Bu aktif bileşenler Smilax türlerinin antitümör, anti-mutajenik, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar özellik sergilemesinden sorumludur (58-60).

### **1.5. Smilax Türlerinde Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik bileşikler**

Smilacaceae yaklaşık 350 tür içermektedir ve kök sapı, kök, yaprakları yiyecek olarak tüketilmekte, geleneksel tıp tedavisinde de kullanılmaktadır. Bu bitkilerde bağışıklık düzenleyici, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve diüretik özellikler olduğu bilinmektedir (61). Ayrıca, Smilax türleri farmakolojik özelliklere sahiptir ve diyabet, deri hastalıkları, ülser, ateş, gut ve oftalmik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (62). Son yıllarda, Smilax türleri fenolik içeriği nedeniyle pek çok çalışmanın konusu olmuştur. *Smilax bockii* (63), *Smilax campestris* (64), *Smilax glabra* (65), *Smilax lanceifolia* (66), *Smilax perfoliata* (67), *Smilax riparia* (68), *Smilax scobinicaulis* (69) ve *Smilax sebeana* (70) türlerinin içerdikleri fenolik bileşiklerden dolayı DPPH radikal süpürücü etkileri olduğu belirlenmiştir. DPPH radikal süpürücü etki, türlerin içerdiği stilben, flavon, flavonon, flavonol, smilasid, smiglasid ve helionosid gibi fenolik bileşikler ile ilişkilendirilmektedir. Flavonoidler ve stilbenler kardiyovasküler, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı ajanlar olarak tanımlanmıştır (71).

#### **1.5.1. *Smilax china***

*Smilax china*, Smilax cinsinin en çok çalışılan türüdür. Lee ve ark. *Smilax china* kökünün antioksidan aktivitesini, radikal temizleme aktivitesini, süperoksit dismutaz aktivitesini, katalaz aktivitesini ve glutatyon peroksidaz aktivitesini araştırmışlar ve 8 ug/mL IC50 değeri tespit etmişlerdir (60). Jeong ve arkadaşları *Smilax china*'da 401.62±3.13 mgGAE/g total fenol içeriği, 135.26± 0.08 mg/100g kateşin, 58.10±0.51mg/100g epikateşin içeriğini rapor etmişlerdir (72). Li ve ark. *S. china*

ekstraktlarının HeLa hücrelerine karşı antikanser aktivitesini araştırmışlar ve ekstraktların kaempferol-7-O- $\beta$ -D-glukozid içerdiğini bu flavonoidin ise kanser hücrelerine karşı anti-proliferatif bir etki olarak apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir (73). Shao ve arkadaşları *S. china*'dan altı fenolik bileşik izole etmişler ve bu bileşikleri taksifolin-3-O-glikozid, scirpusin A, piceid, oksiresveratrol, resveratrol ve engeletin olarak tanımlamışlardır (74).

### 1.5.2. *Smilax glabra*

*Smilax* türleri arasında en çok çalışılan ikinci tür ise *S. glabra*'dır. Bu tür, akut bakteri dizanteri, frengi, kronik nefrit (65), hiperinsülinemi (75) ve kanser (76) tedavilerinde kullanılmaktadır. *S. glabra*'nın kanser hücrelerinin adezyonunu ve metastazını baskıladığı rapor edilmektedir (77). Gao ve arkadaşları *S. glabra* rizom ekstraktlarının göğüs kanserine, kolon karsinoması HT-29 hattına ve gastrik kanser hücre hattı BGC-823'ya karşı koruyucu olduğunu rapor etmişlerdir (78). Zhang ve arkadaşları *S. glabra*'da  $152.28 \pm 10.57$  mg GAE/g total fenol içeriğini tespit etmişler ve  $245.65 \pm 8.21$  mg/g oranında astilbin varlığını da rapor etmişlerdir (79). Lu et al. *S. glabra* rizomlarında 17 fenolik içerik saptamışlar ve bu bileşikleri engeletin, isoengeletin, astilbin, isoastilbin, neoastilbin, neoisoastilbin, 5-O-kafeoylşikimik asit olarak tanımlamışlardır (80). Xu ve arkadaşları *S. glabra* rizomlarında dihydrokaempferol, engeletin, astilbin, isoastilbin, neoastilbin, neoisoastilbin(-)-epikateşin ve cinchonain, luteolin, kuersetin, myrisetin, chalcone, kukulkanin B, piceatannol, resveratrol, 5-O-kafeoylşikimik asit, kafeik asit bileşiklerini izole etmişler ve rizomların etkinliğini bu bileşiklerle ilişkilendirmişlerdir (81).

### 1.5.3. *Smilax riparia*

Çinde "Niu-Wei-Cai" olarak adlandırılan *S. riparia* türlerine ait kök ve rizomlar diüretik olarak bilinmekte, kanser ve enflamasyon tedavisinde kullanılmaktadır (82-83). Sun ve arkadaşları *S. riparia*'da üç tür fenilpropanoid glikozid ve 2',6'-diasetil-3,6-diferuloylsükroz içeriğini rapor etmiştir (68). Wang ve arkadaşları ise sükroz içeren fenilpropanoid glikodiz yapılardan helonioside B, smiglaside A, smiglaside B, smilaside türlerini izole etmişlerdir (83). Bu bileşiklerin kanser hücreleri üzerine etkileri incelenmiş ve HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 hatlarına karşı koruyucu özellikleri tespit edilmiştir (68,83).

#### 1.5.4. *Smilax excelsa*

Türkiye’de yayılış gösteren *S. excelsa*, meme kanseri, mide ağrısı ve şişkinliği tedavi etmek için kullanılmaktadır. Özsoy ve arkadaşları *S. excelsa* yaprak ekstraktlarının flavonoid ve antosiyanin içeriğini araştırmışlar ve total fenol içeriğini 8.8–35.7 GAE mg/g olarak, total flavonoid içeriğini ise 0.61–28.7 kateşin ekuvalent mg/g olarak rapor etmişlerdir (50). Khaligh ve arkadaşları *S. excelsa*’dan trans-resveratrol, 5-O-caffeoylşikimik asit, 6-O-caffeoyl- $\beta$ -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D glucopyranosid yapılarını izole etmişlerdir. Ayrıca 6-O-caffeoyl- $\beta$ -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glucopyranosidin MCF-7 hücre hattına karşı yüksek aktivite sergilediği de rapor edilmiştir (84).



## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Örnek hazırlama ve ekstraksiyon çalışmaları

*Smilax excelsa* (Merulcan) meyve örnekleri laboratuvar ortamında steril koşullar altında kurutulmuş, örnekler öğütüldükten sonra 0.2 g öğütülmüş örnek 10 ml metanol içerisinde çalkalamalı inkübatörde 24 saat süre ile oda sıcaklığında ekstrakte edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda katı partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla ekstrakt filtre edilmiş ve elde edilen filtrat 10 dakika süre ile 10000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrasında supernatant sıvı faz evaporatör yardımı ile uçurulmuş ve elde edilen ekstraktlar antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenite testi için -18°C'de saklanmıştır.

### 2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

*Smilax excelsa* meyve ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktların antimikrobiyal etkinliği *Escherichia coli* DM, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Klebsiella pneumonia* FMC 5, *Candida albicans* FMC 17 ve *Candida krusei* ATCC 6258 mikroorganizma suşları ile disk difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bakteri ( $10^7$ - $10^8$  adet/mL) suşları Mueller Hinton Agara homojen bir şekilde aşılınmış, ekstraktlar (20 mg/mL) mikropipet ile 6 mm çapındaki boş steril disklere (20 µl/disk) emdirilmiştir. Ekstrakt emdirilmiş diskler mikroorganizma inoküle edilmiş petrilere yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4°C'de 1 saat bekletildikten sonra 37°C'de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir (85,86). Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiştir.

### 2.3. Antioksidan Aktivite Tayini

#### 2.3.1. Toplam Fenolik İçerik ve Flavonoid tayini

*S. excelsa* meyve ekstraktının fenolik içerik tayini Folin-Ciocalteu metoduna ile belirlenmiştir. Gallik asit standart madde olarak kullanılmıştır. 50-200 mg/L konsantrasyonlarında meyve ekstraktları ve kalibrasyon için gallik asidin 5 farklı konsantrasyonu metanol içerisinde hazırlanmıştır. Deneysel işlemler için 0.5 mL örnek, 2.5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk) ve 7.5 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (%20'lik) deney

tüpünde karıştırılmıştır. Bu karışım oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat süre ile bekletilmiş ve 750 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (87). Toplam fenolik madde konsantrasyonu eşdeğer gallik asit olarak değerlendirilmiştir (mg GAE/100 mL).

Flavonoid tayini için ekstraktlar ve standart madde olarak kullanılan kuersetinin metanol içerisinde 50-200 mg/L derişimlerinde çözeltileri hazırlanmıştır. 10 mL örnek, 1 mL sodyum nitrit (%5) ile karıştırılarak 6 dk bekletilmiş, süre sonunda 1 mL alüminyum nitrat (%10) ilave edilmiştir. Bu karışım 6 dk bekletilmiş ve 10 mL NaOH (%4.3) eklenerek toplam hacim dH<sub>2</sub>O ile 25 mL’ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 15 dk’lık bir inkübasyon sonrasında çözelti absorbansı 510 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (88). Flavonoid miktarları mg QE/100 mL olarak ifade edilmiştir.

### **2.3.2. DPPH Radikal Giderme Aktivite Tayini**

*S. excelsa* meyve ekstraktının antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde DPPH yöntemi de kullanılmıştır. 50-200 mg/L aralığında hazırlanmış örneklerden 80 µl alınmış ve 1185 µl DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M) ile karıştırılmıştır. Karışım 60 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiş ve süre sonunda çözeltinin absorbansı 517 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Standart madde olarak aynı konsantrasyonlarda BHA ve BHT kullanılmıştır. DPPH radikal giderme aktivitesi % Engelleme olarak, aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır (89).

$$\% \text{ Engelleme} = \frac{\text{Abs kon} - \text{Abs örnek}}{\text{Abs kontrol}} \times 100$$

### **2.4. Antimutajenite testi**

Antimutajenite tayini için mutant *Salmonella typhimurium* TA1535 suşları kullanılmıştır. Antimutajenite deneyinde test suşu üzerinde mutajen olduğu bilinen maddelerin, mutajenik etkilerinin meyve ekstraktları tarafından inhibe edilme oranları araştırılmıştır. Bu amaçla antimutajenite testinde Maron ve Ames (41) ile Uysal ve ark. (90) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Kısaca; 100 µL bakteri kültürü ( $1-2 \times 10^9$  bakteri/mL), 100 µL ekstrakt, 100 µL pozitif mutajen çözeltisi ve 500 µl S9 karışımı ya da fosfat tamponu (S9’suz deney için), 2.5 mL üst agar

içerisine ilave edilmiştir. Karışım vorteks ile çalkalanarak minimal glukoz agar plakalarının yüzeyine dökülmüş ve plaklar 37°C’de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin ardından revertant koloniler sayılmıştır. İçerisinde bitki özütü olmayan ve sadece bakteri ile mutajenik madde ilave edilen plaklarda mutajenite oranı %100 (yani %0 antimutajenite) olarak kabul edilmiştir. Özütlerin antimutajenite oranları Tablo 2.1 ve 2.2’deki eşitlikler kullanılarak değerlendirilmiştir (91).

**Tablo 2.1.** Antimutajenite hesaplama eşitliği

<b>Antimutajenite (%)=[(A-B)/(A-C)]x 100</b>	
<b>A</b>	Bakteri+mutajen plağındaki revertant koloni sayısını,
<b>B</b>	Bakteri+mutajen+özüt plağındaki revertant koloni sayısını
<b>C</b>	Kendiliğinden geri dönen revertant koloni sayısını (sadece bakteri plağı) ifade etmektedir

Elde edilen yüzdeler antimutajenite değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Antimutajenite değerlendirilmesinde %0-25, %26-40, %40 ve üzeri olmak üzere üç gruplandırılma yapılmış ve her bir yüzde aralığının anlamı Tablo 2.2.’de verilmiştir (91).

**Tablo 2.2.** Antimutajenite değerlendirme

<b>Antimutajenite (%)</b>	<b>Değerlendirme</b>
<b>% 0-25</b>	Zayıf antimutajenite veya aktivite yok;
<b>%26-40</b>	Orta dereceli antimutajenite
<b>%40 ve üzeri</b>	Güçlü antimutajenite

Ekstraktların antimutajenik analizlerine paralel olarak standart mutajenik etkisi olduğu bilinen ajanlar pozitif kontrol olarak aynı prosedüre tabii tutulmuştur. Pozitif kontrol olarak sodyum azid kullanılmıştır. Su ve dimetil sülfoksit çözeltileri ise negatif kontrol amacıyla test edilmiştir.

## 2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

İstatistiksel farklılıkların değerlendirilmesinde One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  Standart sapma (SD) değerleri olarak verilmiş ve p değerleri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

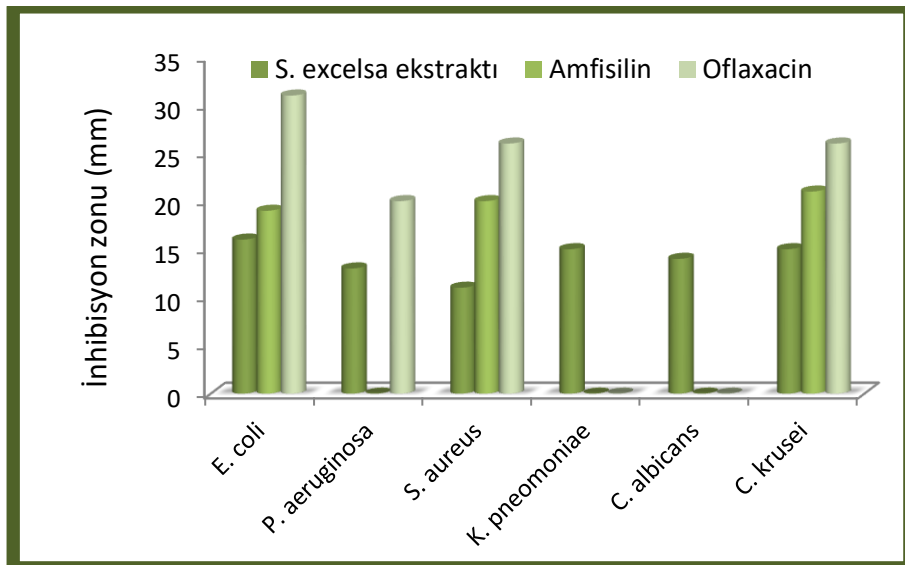


### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada *Smilax excelsa* meyve ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan ve antitumörjenik aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemi ile, antitumörjenik aktivite Ames/Salmonella/Mikrozom testi ile, antioksidan aktivite ise toplam fenolik içerik tayini, flavonoid içerik tayini, DPPH giderme aktivite testleri ile belirlenmiştir.

#### 3.1. Antimikrobiyal Etkinlik

Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon test yöntemi ile farklı mikroorganizmalara karşı araştırılmıştır. *S. excelsa* meyve ekstraktının antimikrobiyal etkinliği Şekil 3.1’de verilmiştir. Ekstraktlarda en fazla antimikrobiyal etki *E. coli*’ye karşı 16 mm inhibisyon zonu ile elde edilmiştir. En düşük antimikrobiyal etki ise *S. aureus*’a karşı 11 mm inhibisyon zonu ile elde edilmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktının *E.coli*’ye karşı antimikrobiyal etkisi amfisiline kıyasla 1.18 kat daha düşüktür. Amfisilin *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans*’a karşı; oflaxacin antibiyotiğinin ise *K. pneumoniae* ve *C. albicans*’a karşı etkinlik göstermediği belirlenmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktının ise tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinlik sergilediği belirlenmiştir.



Şekil 3.1. *S. excelsa* meyve ekstraktının antimikrobiyal etkinliği

### 3.2. Antioksidan Aktivite

*S. excelsa* meyve ekstraktlarının fenolik içerik tayini Folin-Ciocalteu metodu ile araştırılmıştır. *S. excelsa* meyve ekstraktlarında toplam flavonoid ve fenolik madde miktarı Tablo 3.1’de verilmiştir. Ekstraktlar 50-200 mg/mL konsantrasyonlarında araştırılmış ve konsantrasyon artışı ile birlikte flavonoid ve fenolik madde miktarının arttığı gözlenmiştir. En yüksek flavonoid içeriği 200 mg/mL konsantrasyonunda ekstraktta  $0.7985 \pm 0.0124$  mg QE/100 mL olarak belirlenmiştir. En yüksek fenolik içerik ise 200 mg/mL konsantrasyonunda ekstraktta  $11.9847 \pm 0.0041$  mg GAE/100 mL olarak belirlenmiştir. 200 mg/mL konsantrasyonundaki ekstraktta flavonoid ve fenolik madde içeriğinin 50 mg/mL konsantrasyonuna kıyasla sırası ile 1.15 ve 1.67 kat fazla olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 3.1.** *S. excelsa* meyve ekstraktlarında toplam flavonoid ve fenolik madde miktarı

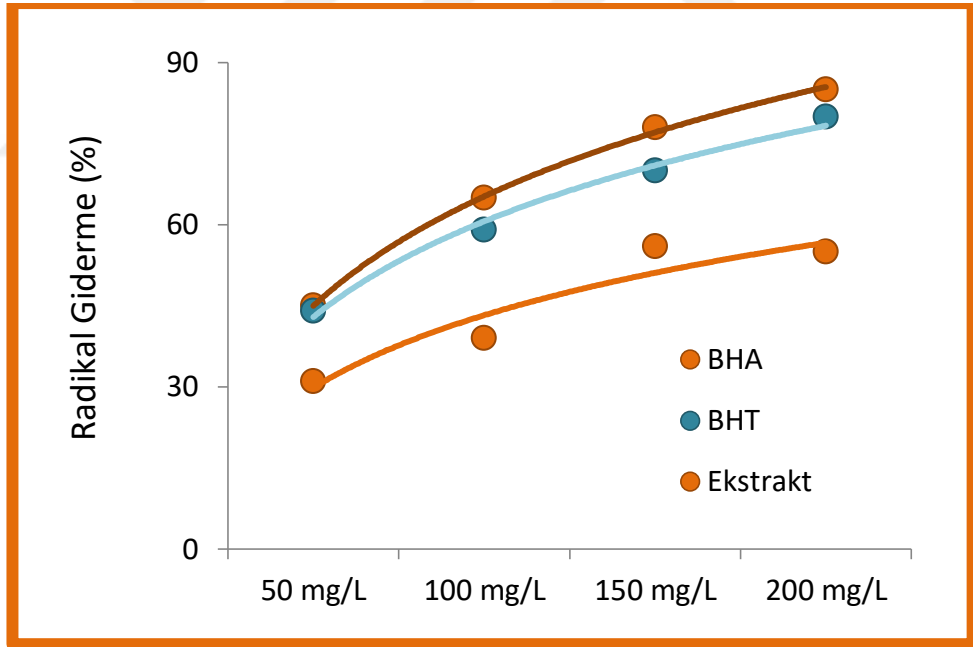
Örnek	Toplam flavonoid miktarı	Toplam fenolik miktarı
	mg QE/100 mL	mg GAE/100 mL
50 mg/mL	$0.6915 \pm 0.0110$	$7.1126 \pm 0.0021$
100 mg/mL	$0.7117 \pm 0.0019$	$8.2009 \pm 0.0017$
150 mg/mL	$0.7519 \pm 0.0024$	$10.2675 \pm 0.0120$
200 mg/mL	$0.7985 \pm 0.0124$	$11.9847 \pm 0.0041$

QE: Keuersetine eşdeğer; GAE: Gallik aside eşdeğer

Antioksidan etkinliğin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerden biri DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivite tayinidir. DPPH azot yapıda kararlı bir radikaldir ve antioksidanlarla etkileşimi sonrasında yapısı ve rengi değişmekte, bu değişim absorbansta azalmaya neden olmaktadır. DPPH ile antioksidan moleküllerin etkileşimi sonucunda, radikale hidrojen bağlanmakta ve radikalik etki giderilmektedir. Bu etki % radikal giderme aktivitesi olarak değerlendirilmektedir (92).

Bu çalışmada araştırılan *S. excelsa* meyve ekstraktının DPPH giderme aktivitesi Şekil 3.2’de verilmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktının radikal giderme etkisinin

değerlendirilmesinde BHA ve BHT standart madde olarak kullanılmıştır. Standart ve ekstraktlar 50-200 mg/L konsantrasyonlarında test edilmiş ve her örnek için derişimin artmasıyla birlikte radikal giderme etkinliğinin de arttığı belirlenmiştir. Her bir örnek için en yüksek radikal giderme aktivitesi 200 mg/L derişiminde, en düşük radikal giderme aktivitesi ise 50 mg/L derişiminde elde edilmiştir. BHA, BHT ve meyve ekstraktı için en yüksek radikal giderme aktivitesi sırasıyla %85, %80 ve %55 olarak belirlenmiştir. Meyve ekstraktının 200 mg/L dozunda elde edilen radikal giderme aktivitesi 50 mg/L derişimindeki radikal giderme etkisine kıyasla 1.7 kat daha yüksek bulunmuştur. Ekstraktlarının DPPH giderme etkisi yapılarındaki aktif bileşenlerle özellikle antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerle ilişkilendirilebilir. Ayrıca ekstrakt dozunun artması ile radikal giderme aktivitesinin arttığı göz önünde bulundurulduğunda, daha yüksek dozlarda ekstrakt kullanımı ile BHA ve BHT standartlarına yakın değerlerde radikal giderme oranlarının elde edilebileceği açıktır.

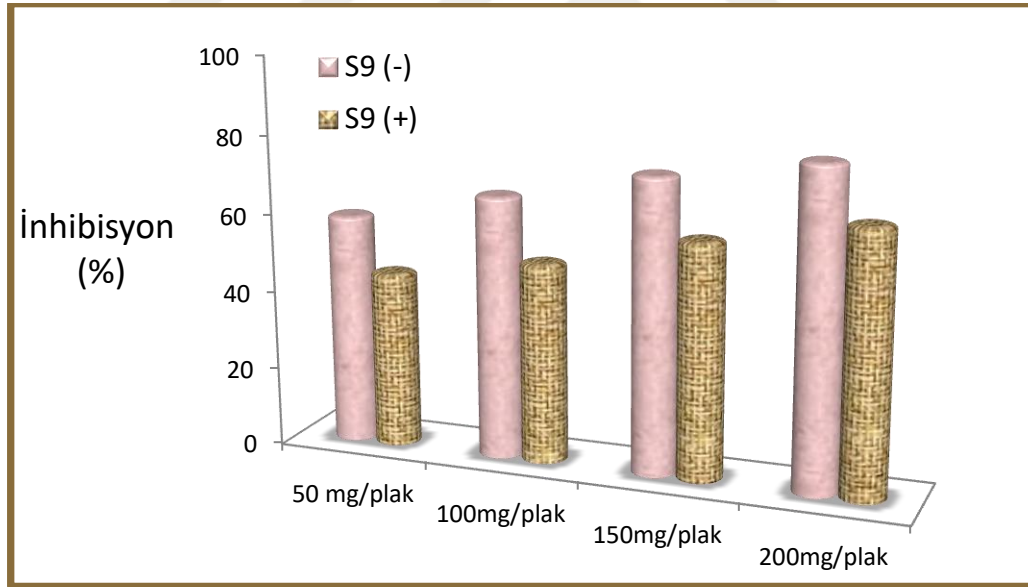


Şekil 3.2. *S. excelsa* meyve ekstraktının DPPH giderme aktivitesi

### 3.3. Antimutajenik aktivite

*S. excelsa* meyve ekstraktlarının TA 1535 suşu ile gerçekleştirilen antimutajenite test sonuçları Şekil 3.3'te verilmiştir. Meyve ekstraktının 200 mg/plak dozunda S9

karışımı yokluğunda %81 oranında inhibisyon oluşturduğu belirlenmiştir. Doz artışı ile birlikte inhibisyon yüzdesinin de arttığı, 200 mg/plak ekstrakt ile elde edilen inhibisyon oranının 50 mg/plak dozunda elde edilen orana kıyasla 1.37 kat fazla olduğu belirlenmiştir. İnhibisyon yüzdeleri değerlendirildiğinde 50-200 mg/plak aralığında ekstraktların güçlü antimitojenik aktivite sergilediği belirlenmiştir. Meyve ekstraktının 200 mg/plak dozunda TA 1535 suşu üzerinde S9 karışımı varlığında %67 oranında inhibisyon oluşturduğu belirlenmiştir. Doz artışı ile birlikte inhibisyon yüzdesinin de arttığı, 200 mg/plak ekstrakt ile elde edilen inhibisyon oranının 50 mg/plak dozunda elde edilen orana kıyasla 1.48 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde S9 karışımı varlığında da inhibisyon yüzdeleri oranları baz alındığında 50-200 mg/plak aralığında ekstraktların güçlü antimitojenik aktivite sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca S9 karışımı varlığında ya da yokluğunda elde edilen veriler kıyaslandığında S9 karışımı kullanıldığında elde edilen inhibisyon sonuçlarının daha düşük olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 3.3.** *Smilax excelsa* meyve ekstraktlarının TA 1535 üzerine antimitojenik aktiviteleri



#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mutajenik, kanserojenik ve kontaminant kimyasal bileşiklerin artması ile doğal yapıda antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik bileşiklerin önemi de gün geçtikçe artmaktadır. Doğal aktif bileşiklerin özellikle antimikrobiyal, antiviral ve antioksidan etkileri üzerine pek çok çalışma mevcuttur. Fakat kanser vakkalarının gün geçtikçe artması bu tür bileşiklerin antikanserojenik ya da antimutajenik özelliklerinin de araştırılmasını gündeme getirmektedir. Antimutajenik etki üzerine pek çok çalışma bulunmasına rağmen doğal kaynakların çeşitliliği bu çalışmaları yetersiz kılmaktadır. Bu çalışmada *Smilax excelsa* meyve ekstraktının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik etkinlikleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal etki disk difüzyon yöntemi ile antimutajenik etki ise Ames/Salmonella/mikrozom testi kullanılarak araştırılmıştır. *Smilax excelsa* meyve örneklerinin antioksidan özelliği ise toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin tespiti ve DPPH giderme etkisi araştırılarak belirlenmiştir.

*S. excelsa* meyve ekstraktının farklı mikroorganizmalar üzerine farklı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktının test edilen mikroorganizmalara karşı 11-16 cm aralığında inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Bu antimikrobiyal etki çalışmada test edilen amfisilin ve oflaxacin antibiyotiklerinin etkisi ile kıyaslanabilir düzeydedir. Amfisilin antibiyotiğinin *P. aureginosa*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı; oflaxacin antibiyotiğinin ise *K. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı etkinlik göstermediği belirlenmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktlarının ise bu mikroorganizmalara karşı da etkili olduğu belirlenmiş ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal etkinliği olduğu tespit edilmiştir. Smilax türlerinde antimikrobiyal etkinliğin fenolik asitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bitkisel dokularda bulunan katekol ve pirogallol, mikroorganizmalar için yüksek toksik özellik sergileyen hidroksillenmiş fenollerdir. Fenol grubununun yapısı antimikrobiyal etkide oldukça önemlidir. Fenoldeki hidroksil gruplarının sayısı toksisitede önemlidir ve yüksek hidroksil gruplarının bulunması daha yüksek antimikrobiyal etki ile sonuçlanmaktadır (46). C3 yan zincirine sahip olan ve oksijen içermeyen fenolik bileşikler uçucu yağlar olarak sınıflandırılmakta ve yüksek antimikrobiyal etki sergilemektedir (49).

Literatürde farklı Smilax türlerinin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Özsoy ve arkadaşları *Smilax excelsa* dokularında kateşin varlığını rapor etmişler (50). Bu çalışmada gözlenen antimikrobiyal etki flavonoid bileşiklerden C3 ünitesinin en indirgenmiş şekli olan kateşin ile ilişkilendirilebilir. Kateşinin *Streptococcus mutans* (51) ve Shigella (52) üzerine yüksek inhibisyonu rapor edilmiştir ve bu inhibisyon glikoziltransferaz enziminin kateşin tarafından inhibisyonu ile açıklanmıştır. Jagessar ve arkadaşları *Smilax schomburgkiana* ekstraktlarının 0.18 mg/10 mL dozunda *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (93). Borkataky *S.perfoliata* yapraklarının farklı yapıda fenolik bileşikler, streoidler ve tanenler içerdiğini; 3 Gram pozitif, 3 Gram-negatif bakteri ile *Candida albicans* üzerine yüksek antimikrobiyal etki sergilediğini belirtmiştir (94). Xu ve arkadaşları *Smilax glabra* rizom ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini üç Gram negatif, üç Gram pozitif bakteri ve bir mantar türü üzerinde çalışmış ve ekstraktların 0.0794–3.09 mM aralığında MİK değerini ve ekstraktların antimikrobiyal etkisini rapor etmişlerdir (95).

*S. excelsa* meyve ekstraktlarının antioksidan özelliği fenolik içerik, flavonoid içerik tayini ve DPPH giderme etkisi test edilerek değerlendirilmiştir. *S. excelsa* meyve ekstraktlarının 200 mg/mL konsantrasyonunda ekstraktta flavonoid içeriği  $0.7985 \pm 0.0124$  mg QE/100 mL olarak, aynı konsantrasyonda fenolik içerik ise  $11.9847 \pm 0.0041$  mg GAE/100 mL olarak tespit edilmiştir. 200 mg/L dozunda standart antioksidanlardan BHA, BHT'nin DPPH giderme oranı %85 ve %80 olarak bulunmuş, *S. excelsa* meyve ekstraktı için bu oran %55 olarak belirlenmiştir. Borkataky, *Smilax perfoliata* yapraklarında antioksidan etkinin içerdiği alkaloid, flavonoid, fenolik bileşikler ve tanenler, steroidler, saponin bileşiklerinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (94). Literatürde farklı Smilax türlerinde ve *S. excelsa*'nın farklı dokularında antioksidan aktivite çalışmaları rapor edilmiştir. Sun ve arkadaşları. *Smilax riparia* dokularında üç tür fenilpropanoid glikozid ve 2',6'-diasetil-3,6-diferuloilsükroz içeriğini rapor etmişlerdir (68). Zhang ve arkadaşları ise *S. glabra*'da  $152.28 \pm 10.57$  mgGAE/g total fenol içeriğini tespit etmişler ve  $245.65 \pm 8.21$  mg/g oranında astilbin varlığını rapor etmişlerdir (79). Lu ve arkadaşları *S.glabra* rizomlarında 17 fenolik içerik saptamışlar ve bu bileşikleri engeletin, isoengeletin, astilbin, isoastilbin, neoastilbin, neoisoastilbin, 5-O-kaffeoylsikimik asit

olarak tanımlamışlardır. Xu ve arkadaşları *S. glabra* rizomlarında dihydrokaempferol, engeletin, astilbin, isoastilbin, neoastilbin, neoisoastilbin(-)-epikateşin ve cinchonain, luteolin, kuersetin, myrisetin, chalcone, kukulkanin B, resveratrol, 5-O-caffeoylşikimik asit, kaffeik asit, 3-O-p-coumaroylşikimik asit, smigliserol, juncusyl ester B, 1-O-p-coumarylglicerol bileşiklerini izole etmişler ve rizomların etkinliğini bu bileşiklerle ilişkilendirmiştir (81). Özsoy ve arkadaşları *S. excelsa* yaprak ekstraktlarında 8.8–35.7 GAE mg/g total fenol içeriği, 0.61–28.7 kateşin ekuvalent mg/g total flavonoid içeriği rapor etmişlerdir (50). Khaligh ve arkadaşları *S. excelsa* dokularından trans-resveratrol, 5-O-caffeoylşikimik asit, 6-O-caffeoyl- $\beta$ -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D glucopyranozid yapılarını izole etmişlerdir (84).

Smilax dokularında bulunan flavonoidler, antioksidatif etkileri ile serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonu önleyerek kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların önlenmesinde aktif rol almaktadır (80). Flavonoidlerin radikal oluşumunda görev alan enzimatik sistemi engellediği, metal iyonlarını bağlayarak lipid oksidasyonunu azalttığı da bilinmektedir (98). Pek çok çalışmada flavonoidlerin antimitojenik ve antikanserojenik etkilerinin olduğu gösterilmektedir (65,95-99). Smilax dokularının içerdiği saponinler yüksek antioksidan aktivitesi sayesinde antimitojenik, antikarsinojenik etki sergilemektedirler (94). Fareler üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada saponin uygulamasının preneoplastik kolon lezyonlarında gerilemeye neden olduğu rapor edilmektedir. Benzer başka bir çalışmada ise ginsenoside-Rb2 ve ginsenoside-Rg3 saponinlerinin tümör metastazını inhibe edici bir özellik sergilediği belirtilmiştir (94-96).

Literatürde doğal ürünlerin antimitojenitesi üzerine çalışmalar oldukça fazladır. *Smilax* türlerine ait dokuların koruyucu etkisi daha önceki çalışmalarda araştırılmıştır. Bu araştırmalar daha çok antimikrobiyal etki ve antioksidan etkiler üzerine olup (96,97), nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkisi (98), immün sistemi güçlendirici (65) etkileri üzerine de çalışma mevcuttur. Bu çalışmada *S. excelsa* meyve ekstraktlarının antimitojenik etkisi Ames/Salmonella/Mikrozom test sistemi ile araştırılmıştır. Meyve ekstraktının 200 mg/plak dozunda *S. typhimurium* TA1535 suşu ile S9 karışımı yokluğunda %81 oranında inhibisyon oluşturduğu belirlenmiştir.

Meyve ekstraktının 200 mg/plak dozunda TA 1535 suşu üzerinde S9 karışımı varlığında ise %67 oranında inhibisyon oluşturduğu belirlenmiştir. İnhibisyon yüzdeleri baz alındığında 50-200 mg/plak aralığında *S. excelsa* meyve ekstraktlarının güçlü antimutajenik aktivite sergilediği belirlenmiştir. Literatürde *Smilax excelsa* dokularında kateşin (50), trans-resveratrol, 5-O-caffeoylşikimik asit, 6-O-caffeoyl-β-D-fructofuranosyl-(2→1)-α-D glucopyranozid (84) ve fitokimyasal bileşikler (99) içerdiği rapor edilmektedir. Bu bileşikler antioksidan etki göstererek hücreleri ve dokuları oksidatif strese ve pek çok hasara karşı korumaktadır ve bu yolla anti-mutajenik özellik sergilemektedir.

Bitkisel dokular, uzun yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Endüstriyel kirliliğin artması, kontaminantların besin zinciri yoluyla insanlara ulaşması pek çok hastalığın özellikle de kanserin görülme riskini arttırmıştır. Bu artışa paralel olarak sentetik ilaç maddelerinin kullanımı da artmış, ilaçların yan etkileri ve mikroorganizmaların çeşitli direnç mekanizmaları oluşturması, doğal aktif bileşenlerin tedavi amaçlı kullanımını gündeme getirmiştir. Bitkisel dokular pek çok hastalığın tedavisinde alternatif tıp olarak kullanılmaktadır. Bitkisel dokuların antifungal, antioksidatif, antibakteriyel, antimutajenik, antiviral ve antikanserojenik gibi pek çok etkileri test edilmiş, doğal kaynakların çok çeşitli olması bu çalışmaların artarak devam etmesini sağlamıştır. Bu çalışmada Karadeniz bölgesinde yayılış gösteren, *Smilax excelsa* meyve ekstraktının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktivitesi araştırılmıştır. Meyve ekstraktlarının *E.coli*, *P. aureginosa*, *S.aureus*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* ve *C. krusei*'ye karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği en yüksek antimikrobiyal etkiyi ise *E. coli*'ye karşı sergilediği belirlenmiştir. Antioksidan etkinliği araştırılan meyve ekstraktlarının fenolik ve flavonoid içeriği saptanmış, %85 oranında DPPH giderme etkisi tespit edilmiştir. *S. typhimirium* TA 1535 suşu ile test edilen antimutajenik aktivite çalışmalarında meyve ekstraktının %67-81 oranında mutajenite inhibisyonu oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak *Smilax excelsa* meyve dokularının potansiyel doğal bir antimikrobiyal ve antimutajenik kaynak olduğu, antioksidan etkinlik sergilediği belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Süzer Ö. 2005. Süzer Farmakoloji. 3. Baskı. Klinisyen Tıp Kitabevleri, İstanbul, s. 533.
2. Stein C.M. 2002. Are herbal products dietary supplements or drugs? An important question for public safety. *Clin. Pharmacol. Therapeutics* 71: 411-423.
3. Iarc L. 1980. Monographs on the carcinogenic risks of chemicals to humans. supp. z. Long Term Screening Assays For Carcinogens. A Critical Appraisal, IARC Monographs Supplement 2. IARC Lyon, International Agency For Research on Cancer.
4. Navarro M.C., Montilla M.P., Cabo M.M., Galisteo M., Cáceres A., Morales C., Berger I. 2003. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research* 17:325–329.
5. Dawn B.M., Allan D.M., Colleen M.S. 1996. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
6. Akkuş İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Konya.
7. Van Dam P.S., Van Asbeck B.S., Erkelens D.W., Marx J.J., Gispen W.H., Bravenboer B. 1995. The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metabolism Reviews* 11(3): 181-192.
8. Bukan N., Sancak B., Yavuz Ö., Koca C., Tutkun F., Özçelikay T.A., Altan N. 2003. Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotocin-induced diabetes rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 40(6): 447-450.
9. DeFeudis F.V., Papadopoulos V., Drieu K. 2003. Ginkgo biloba extracts and cancer: a research area in its infancy. *Fundam Clin Pharmacol.* 17: 405–17.
10. Rababah T.M., Hettiarachchy N.S., Horax R. 2004. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *J Agric Food Chem.* 52: 5183–6.
11. Lotito S.B., Frei B. 2006. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radic Biol Med.* 41: 1727–46.

12. Saldamlı İ. 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
13. Kafkas E., Bozdoğan A., Burgut A., Türemiş N., Paydaş K., Cabaroğlu, T. 2006. Bazı Üzümzü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri. II. Ulusal Üzümzü Meyveler Sempozyumu, Tokat, 309-312.
14. Cemeroğlu B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* 35: 77-88.
15. Coşkun F. 2006. Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2: 27-33.
16. Aydın S.A, Üstün F., 2007. Tanenler 1 kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 33 (1): 21-31.
17. Zor M. 2007. Depolamanın Ayva Reçelinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
18. Güngör N. 2007. Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
19. Tomas-Barberan F., Espin J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. *Jour Sci Food Agric.* 81: 853-876.
20. Shahidi F., Nacsk M. 1995. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, and Application. Technomic Publishing Company Inc. Lancaster. 27: 245-278.
21. Mamta S., Dr Jyoti S., Alka P. 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 16(2): 130-134.
22. Towers G.H.N., Harborne J.B. 1964. Biochemistry of Phenolic Compounds. Academic Press, London UK. 176: 249-294.
23. Battisti V., Maders L.D., Bagatini M.D., Santos K.F., Spanevello R.M., Maldonado P.A., Brulé A.O., Araújo Mdo C., Schetinger M.R., Morsch V.M. 2008. Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukemia patients. *Clin Biochem.* 41: 511-518.
24. Paliwal S., Sundaram J., Mitragotri S. 2005. Induction of cancer-specific cytotoxicity towards human prostate and skin cells using quercetin and

- ultrasound. *Br Jour Cancer*. 92: 499-502.
25. Harborne J.B. 1976. Functions of Flavonoids in Plants, In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. TW Goodwin Academic press New York. 67: 736-778.
  26. Dai J., Mumper R. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352.
  27. Kim H.K., Namgoong S.Y., Kim H.P. 1993. Biological actions of flavonoids-I. *Arch Pharmacol Res*. 16: 18-27.
  28. Rice-Evans C.A, Miller N.J., Paganga G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med*. 20: 933-956.
  29. Halliwell B. 1997. Antioxidants and human diseases: a general introduction. *Nutrition Reviews* 55: 44-52.
  30. Mc Cann J., Ames B. N. 1976. Detection of Carcinogens as Mutagens in The Salmonella/microsome Test: Assay of 300 chemicals: Discussion, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73: 950-954.
  31. Karolina S., Beata P., Elżbieta P., Anna M. 2014. Waszkielewicz Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. *J Appl Genetics*. 55: 273–285.
  32. Jones M., Wagner R. 1981. N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine sensitivity of E. coli mutants deficient in DNA methylation and mismatch repair. *Mol Gen Genet*. 184(3): 562-563.
  33. Tadashi I., Yoshiko O., Yoshito S., Tsuneo K. 1981. Effect of cobaltous chloride on spontaneous mutation induction in a *Bacillus subtilis*. *Mutation Research* 91: 41-45.
  34. Shimoi K., Nakamura Y., Tomita I., Kada T. 1985. Bio-antimutagen effects of tannic acid on UV and chemically induced mutagenesis in *Escherichia coli* Brr. *Mutation Res*. 149: 17–23.
  35. Shimoi K., Nakamura Y., Tomita I., Hara Y., Kada T. 1986. The pyrogallol related compounds reduce UV-induced mutations in *Escherichia coli* Brr WP2. *Mutation Res*. 173: 239–244.
  36. Özbek T. 2006. Doğu Anadolu tıbbi bitkilerine ait bazı türlerin Ames/Salmonella Mikrozom testi kullanılarak antimutajenik özelliklerinin saptanması. Atatürk

Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

37. Moriya M., Ou C., Bodepudi V., Johnson F., Takeshita M., Grollman A. P. 1991. *Mutat. Res.* 254: 281-288.
38. Antunes L.M., Takahashi C.S. 1998. Effects of high doses of vitamin C and E against doxorubicin-induced chromosomal damage in winter rat bone marrow cells. *Mutat. Res.* 419: 137-143.
39. Tavan E., Maziere S., Narbonne J.F. and Cassend P. 1997. Effects of vitamins A and E on methylazoxymethonol induced mutagenesis in *S. typhimirium* strains TA100. *Mutat. Res.* 377: 231-237.
40. Delbert M. S., Philip E. H., Tsuneo K., Alexander H., Claire M. W., Gregory K. 2013. Springer Science & Business Media, 618.
41. Maron D. M., Ames B. N. 1983. Revised methods for the mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113: 173-215.
42. McCann J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc Nat Acad Sci.* 72: 5135-39.
43. Mortelmans K., Zeiger E. 2000. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res.* 455: 29-60.
44. Gollapudi B. B., Krishna G. 2000. Practical aspects of mutagenicity testing strategy:an industrial perspective. *Mutat Res.* 455: 21–28.
45. Marjorie Murphy C. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 564–582.
46. Geissman T. A. 1963. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. In M. Florkin and E. H. Stotz (ed.), *Pyrrole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents*, Elsevier, New York. 9: 265.
47. Urs N.V.R. R., Dunleavy J.M. 1975. Enhancement of the bactericidal activity of a peroxidase system by phenolic compounds (*Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis*, soybeans). *Phytopathology* 65: 686–690.
48. Scalbert A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30: 3875–3883.
49. Thomson W.A.R. (ed.). 1978. *Medicines from the Earth*. McGraw-Hill Book Co., Maidenhead, United Kingdom.
50. Özsoy N., Can A., Yanardag R., Akev N. 2008. Antioxidant activity of *Smilax*



- excelsa* L. leaf extracts. *Food Chem.* 110:571–583.
51. Sakanaka S., Kim M., Taniguchi M., Yamamoto T. 1989. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2307–2311.
  52. Vijaya K., Ananthan S., Nalini R. 1995. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella spp.*—a cell culture study. *J. Ethnopharmacol.* 49: 115–118.
  53. Hakkı B., 1993. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları.
  54. <http://www.haberordu.com/sifa-deposu-merucen-seyyar-pazarda-18519h.htm>
  55. [aves.istanbul.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=11&USER=1651](http://aves.istanbul.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=11&USER=1651)
  56. [http://kimmeria.com/world\\_library/vavilovkrasnov\\_40\\_57.htm](http://kimmeria.com/world_library/vavilovkrasnov_40_57.htm)
  57. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Smilax\\_excelsa\\_-\\_berries\\_01.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Smilax_excelsa_-_berries_01.jpg)
  58. Jiang J., Xu Q. 2003. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 85: 53–59.
  59. Chen T., Li J., Cao J., Xu Q., Komatsu K., Namba T. 1999. A new flavanone isolated from rhizoma *Smilacis glabrae* and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Planta Medica* 65: 56–59.
  60. Lee S.E., Ju E.M., Kim J.H. 2001. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from *Smilax china* root. *Experimental and Molecular Medicine* 33: 263–268.
  61. Jiang J., Xu Q. 2003. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. *J Ethnopharmacol.* 85: 53–59.
  62. Zubair M., Rizwan K., Rashid U., Saeed R., Saeed A.A., Rasool N., Riaz M. 2013. GC/MS profiling, in vitro antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of *Smilax macrophylla* leaves. *Arabian J Chem.* 10: 1460-1468.
  63. Xu J., Li X., Zhang P., Li Z.L. 2005. Wang Y. Antiinflammatory constituents from the roots of *Smilax bockii* warb. *Arch Pharm Res.* 4: 395–399.
  64. Rugna A., Polo J., Evelson P., Gurni A.A., Llesuy S., Wagner M.L. 2003. Antioxidant activity in rhizomes from *Smilax campestris* Griseb. Smilacaceae. *Mol Med Chem.* 1: 21–25.

65. Chen T., Li J.X., Xu Q. 1999. Komatsu K. A new flavanone isolated from rizoma *Smilacis glabrae*, and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. *Plant Med.* 65: 56–59.
66. Laitonjam W.S., Kongbrailatpam B.D. 2010. Studies on the chemical constituents and antioxidant activities of extracts from the roots of *Smilax lanceaefolia* Roxb. *Nat Prod Res.* 24: 1168–1176.
67. Cheng Y.B., Zhang D.M., Yu S.S. 2004. Chemical constituents of *Smilax perfoliata*. *Acta Bot Sin.* 46: 618–620.
68. Sun T.T., Zhang D.W., Han Y., Dong F.Y., Wang W. 2012. Smilasides M and N, two new phenylpropanoid glycosides from *Smilax riparia*. *J Asian Nat Prod.* 2: 165–170.
69. Zhang C.L., Feng S.X., Wang Q., Wang P., Xu J., Chen T. 2014. Flavonoids and phenolic compounds from *Smilax scobinicaulis*. *Chem Nat Comp.* 50: 254–257.
70. Ao C., Higa T., Khanh T.D., Upadhyay A., Tawata S. 2011. Antioxidant phenolic compounds from *Smilax sebeana* Miq. *LWT. Food Sci Technol.* 44: 1681–1686.
71. Wu L.S., Wang X.J., Wang H., Yang H.W., Jia H., Jia A.Q., Ding Q. 2010. Cytotoxic polyphenols against breast tumor cell in *Smilax china* L. *J Ethnopharmacol.* 130: 460–464.
72. Jeong C-H., Jeong H.R., Kwak J.H., Choi G.N., Kim D-O., Lee U., Heo H.J. 2013. Phenolic Composition and in vitro antioxidant activities of *Smilax china* root. *J Food Biochem.* 37: 98–107.
73. Li Y-L., Gan G-P., Zhang H-Z., Wu H-Z., Li C-L., Huang Y-P., Liu Y-W., Liu J-W. 2007. A flavonoid glycoside isolated from *Smilax china* L. rhizome in vitro anticancer effects on human cancer cell lines. *J Ethnopharmacol.* 113: 115–124.
74. Shao B., Guo H-Z., Cui Y-J., Liu A-H., Yu H-L., Guo H., Xu M., Guo D-A. 2007. Simultaneous determination of six major stilbenes and flavonoids in *Smilax china* by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 44: 737–742.
75. Gunn J., Che C.T., Farnsworth N. 2013. Diabetes and natural products. In: Watson RR, Preedy RV, editor. *Bioactive food as dietary interventions for diabetes*. Elsevier, Inc. 381–394.
76. Sa F., Gao J.L., Fung K.P., Zheng Y., Lee S.M. 2008. Anti-proliferative and proapoptotic effect of *Smilax glabra* Roxb. extract on hepatoma cell lines. *Chem*

*Biol Interact.* 171: 1–14.

77. She T., Zhao C., Feng J., Wang L., Qu L., Fang K., Cai S., Shou C. 2015. Sarsaparilla (*Smilax glabra* Rhizome) extract inhibits migration and invasion of cancer cells by suppressing TGF- $\beta$ 1 pathway. *PLoS One.* 10: 1–16.
78. Gao Y., Su Y., Qu L., Xu S., Meng L., Cai S.Q., Shou C. 2011. Mitochondrial apoptosis contributes to the anti-cancer effect of *Smilax glabra* Roxb. *Toxicol Lett.* 207: 112–120.
79. Zhang Q-F., Zhang Z-R., Cheung H-Y. 2009. Antioxidant activity of rhyzoma *Smilacis glabrae* extracts and its key constituent—astilbin. *Food Chem.* 115: 297–303.
80. Lu C-L., Zhu W., Wang M., Xu X-J., Lu C-J. 2014. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic-enriched extracts of *Smilax glabra*. *Evid Based Complement Alternat Med.* DOI: 10.1155/2014/910438.
81. Xu S., Shang M-Y., Liu G-X., Xu F., Wang X., Shou C-C., Cai S-Q. 2013. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity. *Molecules* 18: 5265– 5287.
82. Zhang S.L., Han Z.H. 2012. Textural research of categories and functions on Nian-Yu-Xu recorded in Cai-Yao-Lu from Ben-Cao-Gang-Mu-Shi-Yi. *J Zhejiang Univ Trad Chin Med.* 36: 484–486.
83. Wang W.H., Shao M.N., Han Y.G. 2000. The nutrition composition analysis of *Smilax riparia* A. DC. *Spec Wild Econ Anim Plant Res.* 3: 46–47.
84. Khaligh P., Salehi P., Farimani M.M., Ali-Asgari S., Esmaeili M.A., Ebrahimi S.M. 2016. Bioactive compounds from *Smilax excelsa* L. *J Iran Chem Soc.* 13: 1055–1059.
85. Li Z., Lang S., Wagner F., Witte L., Wray V., 1984. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 610.
86. Cooper D. G., Paddock P.A. 1984. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 173.
87. Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
88. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents on mulberry and their scavenging effects on superoxide radical. *Food Chemistry* 64: 555–559.

89. Yen G.C., Duh P.D. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. *J Agric Food Chem* 42: 629-632.
90. Uysal A., Zengin G., Durak Y., Aktümsek A. 2016. *Centaurea pterocaula* özütlerinin antioksidan ve antitümör özellikleri ile enzim inhibitör potansiyellerinin incelenmesi. *Marmara Pharmaceutical Journal* 20(3): 232-242.
91. Schutz K., Carle R., Schieber A. 2006. Taraxacum - A review on its phytochemical and pharmacological profile. *J Ethnopharmacol* 107: 313-23.
92. Huang D., Ou B., Prior R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food. Chem.* 53: 1841-1856.
93. Jagessar R.C., Mars A., Gomes G. 2009. Leaf extract of *Smilax schomburgkiana* exhibit selective antimicrobial properties against pathogenic microorganisms. *Life Science Journal* 6:1.
94. Borkataky M. 2014. Antimicrobial and antioxidant activity of *Smilax perfoliata* Lour. *Der Pharmacia Lettre* 6(6): 246-250.
95. Shuo X., Ming-Ying S., Guang-Xue L., Feng X., Xuan W., Cheng-Chao S., Shao-Qing C. 2013. Chemical Constituents from the Rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial Activity. *Molecules* 18: 5265-5287.
96. Seo H.K., Lee J.H., Kim H.S., Lee C.K., Lee S.C. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of *Smilax china* L. leaf extracts. *Food Sci Biotechnol.* 21: 1723-1727.
97. Chen L., Yin H., Lan Z., Ma S., Zhang C., Yang Z., Li P., Lin B. 2011. Antihyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. *J Ethnopharmacol* 135: 399-405.
98. Özsoy N., Okyar A., Arda-Pirinçci P., Can A., Bolkent Ş., Akev N. 2013. Evaluation of *Smilax excelsa* L. Use in Experimentally Induced Nephrotoxicity. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 19(5): 807-814.
99. Ivanova A., Mikhova B., Kostova I., Evstatieva L. 2010. Bioactive chemical constituents from *Smilax excelsa*. *Chem Nat Compd* 46: 295-297.

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya tamamladı. 2008 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. 2015 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını Eylül 2017'de tamamladı. Yabancı dili İngilizcedir.

