



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BOTANİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**CONIUM MACULATUM L.'NİN BAZI FARMASOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sertan ZENGİN

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin Selvi

TOKAT- 2022

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin Selvi danışmanlığında hazırlamış olduğum “Conium Maculatum L.’Nin Bazı Farmasotik Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

18/02/2022

Sertan ZENGİN

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında *Conium maculatum* L. bitkisinin bazı farmasotik özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi ve Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarların da yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca tüm bilgi, tecrübe, sabır ve desteğinin benden esirgemeyen, tezimde büyük emeği olan ve kendisiyle çalışmaktan gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ' ye, tez çalışmam sürecinde bana yol gösteren, deneyim ve bilgisini paylaşan değerli hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a, yardımlarını esirgemiyen Nahide Kübra ZANBAK, Zeynep ÇELİK ve Esmenur YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Yüksek Lisans dönemim boyunca destek olan ve her daim yanımda olan Ailem'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Sertan ZENGİN

ŞUBAT-2022

ÖZET

CONIUM MACULATUM L.'NİN BAZI FARMASOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Sertan Zengin

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin Selvi
Şubat 2022, 54 sayfa

Bu çalışmada *Conium maculatum* L.'in antioksidan ve antibakteriyal aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan literatür taramasında bu bitki ile ilgili biyoaktif bileşiklere yönelik çalışma mevcut değildir. Bu sebepten ötürü bu türün kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının su ve metanol özütleri elde edilerek biyolojik aktivitelerine bakılmıştır. Elde edilen özütlerin antioksidan değerleri yüksek değeri gösterirken, aynı şekilde elde edilen özütlerin oksidan değerlerinin de yüksek olduğu saptanmıştır. Yine bu tür üzerinde yapılan antibakteriyal aktivite açısından *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603 bakterilerine karşı etkili olmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak antimikrobiyal özellikte aktif bileşiklere sahip olmadığı ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antibakteriyal, *Conium maculatum* L., *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603

ABSTRACT

DETERMINATION THE PHARMASOTICAL PROPERTIES OF CONIUM MACULATUM L.

Sertan ZENGİN

TOKAT GAZIOSMANPAŞA UNIVERSITY GRADUATE EDUCATION
INSTITUTE

BIOLOGY DEPARTMENT

Thesis Advisor: Asst. Prof. Dr. Bedrettin SELVİ

February 2022, 54 page

In this study, the antioxidant and antibacterial activity of *Conium maculatum* L. was investigated. In the literature review, there is no study on bioactive compounds related to this plant. For this reason, water and methanol extarcts of the root, stem, leaf, flower and seed parts of this species were obtained and their biological activities were examined. While the antioxidant values of the extracts obtained showed high values, it was determined that the oxidant values of the extracts obtained in the same way also high. Again, in terms of antibacterial activity on this species, it was observed that it was not effective against *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC-70603 bacteria. As a result, it was revealed that it does not have active compounds with antimicrobial properties.

Key Words: Antioxidant, Antimicrobial, *Conium maculatum* L., *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
ETİK SÖZLEŞME	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGE VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Apiaceae</i> Familyasının Genel Özellikleri.....	2
2.1.1. <i>Conium maculatum</i> L. Genel Özellikleri	2
2.2. Serbest Radikaller	3
2.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT)	5
2.2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNT)	6
2.2.3. Serbest radikal kaynakları	7
2.2.4. Serbest radikallerin yararları	8
2.2.5. Serbest radikallerin zararları	8
2.2.6. Serbest radikallerin biyolojik hedefleri	10
2.3. Antioksidanlar	10
2.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	11
2.4. Antimikrobiyal Aktivite	15
2.4.1. Antimikrobiyal maddelerin etki mekanizması	16
2.4.2. Antimikrobiyal ilaçlar ve direnç	17
2.4.3. Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi	19

3. MATERYAL ve METOD	20
3.1. <i>Conium maculatum</i> L. ‘un Toplanması ve Teşhisi.....	20
3.2. <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin Özütlerinin Elde Edilmesi	20
3.3. <i>Conium maculatum</i> L.Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod	21
3.3.1. Total antioksidan seviye (TAS) ile antioksidan aktive belirlenmesi	21
3.3.2. Total oksidan seviye (TOS) ile antioksidan aktive belirlenmesi.....	22
3.4. <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kulanılan Parametreler ve Metod	24
4. BULGULAR	25
4.1. Özüt Verimi.....	25
4.2. <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin Özütlerinin TAS, TOS ve OSI Aktivite Bulguları	25
4.3. <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	35
6. KAYNAKÇA	37
7. ÖZGEÇMİŞ	42

KISALTMALAR VE SİMGELER

ABTS	2,2'-Azino-Bis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sülfonik Asit)
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EMB	Eosin Methylene-Blue Lactose Sucrose Agar
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HOCL	Hipoklorik Asit
KAT	Katalaz
MHA	Mueller- Hilton Agar
MIK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standarts
NO	Azot Oksit
NO ₂	Azot Dioksit
N ₂ O ₃	Diazot Trioksit
N ₂ O ₄	Dinitrojen Tetraoksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O ₂	Oksijen

O_2^-	Süperoksit Radikali
O_3	Ozon
OH^-	Hidroksil Radikali
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
RO^-	Alkoksil Radikali
ROO^-	Peoksil Radikali
ROOH	Hidroperoksil Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin Genel Görünümü	3
Şekil 2.2: Oksijen veya Nitrojen Kaynaklı Olmalarına Göre Serbest Radikal Türleri	5
Şekil 2.3: Nitrojen Türleri	7
Şekil 2.4: Serbest Radikallerin Hücresel Hedefleri.....	9
Şekil 3.5: Özütleme İşlemi için Kullanılan Basınçlı Ekstrasyon Cihazı.....	21
Şekil 4.6: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-29213 'a Karşı Bitki Kısımlarının Su Özütü	30
Şekil 4.7: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-29213 'a Karşı Bitki Kısımlarının Metanol Özütü	30
Şekil 4.8: <i>Escheria coli</i> ATCC- 25922 'a Karşı Bitki Kısımlarının Su Özütü	31
Şekil 4.9: <i>Escheria coli</i> ATCC- 25922 'a Karşı Bitki Kısımlarının Metanol Özütü	32
Şekil 4.10: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2753 'a Karşı Bitki Kısımlarının Su Özütü	32
Şekil 4.11: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2753 'a Karşı Bitki Kısımlarının Metanol Özütü	33
Şekil 4.12: <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC-700603 'a Karşı Bitki Kısımlarını Su Özütü	34
Şekil 4.13: <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC-700603 'a Karşı Bitki Kısımlarını Metanol Özütü	34

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1: Reaktif Oksijen Türleri.....	5
Tablo 2.2: Organizmada Serbest Radikallerin Oluşma Şekilleri.....	7
Tablo 2.3: Oksidanların Sınıflandırılması.....	11
Tablo 2.4: Önemli Antioksidanlar ve Doku Lokalizasyonları.....	12
Tablo 3.5: Özüt Verimi Hesaplanması.....	25
Tablo 3.6: Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri.....	26
Tablo 3.7: <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin TAS ve TOS Değerleri	26
Tablo 3.8: <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin TAS, TOS ve OSI Değerleri	27
Tablo 4.9: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC- 29213 suşunun <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi	29
Tablo 4.10: <i>Escheria coli</i> ATCC- 25922 suşunun <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi	31
Tablo 4.11: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC- 29213 suşunun <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi	32
Tablo 4.12: <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC- 700603 suşunun <i>Conium maculatum</i> L. Bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi	34

1. GİRİŞ

Bitkilerdeki iyileştirici etkilerinin keşfedilmesi geçmişten günümüze gelen bir düşüncedir. Yeryüzündeki bütün kıtalarda insanlar eski zamanlardan beri yaraların iyileştirilmesinde bitkilerden hazırlanan özel karışımlardan yararlanmış ve tarih öncesine kadar uzanan dönemlerde birden fazla bitkinin buharlarını solunum yolu rahatsızlıklarının giderilmesi için kullanmışlardır (Clark, 1996).

Tıbbi bitkiler, antik dönemden bu yana dünya çapında kırsal bölge sakinleri arasında geleneksel bitkisel tıbbın temel noktası olmuştur (Sarker ve Nahar, 2007).

Gelişmekte olan ülkelerdeki yaklaşık 3,4 milyar insan, bitkisel kökenli geleneksel ilaçlara bağlıdır. DSÖ'ne göre tıbbi bitki, tek veya daha fazla organı terapötik amaçla kullanabilen maddeler içeren ya da kemofarmasötik yarı sentez için öncü olan herhangi bir bitkidir. Bu tarz bir bitki bir hastalık durumunun kontrolünde yada tedavisinde kullanılan kök, yaprak, rizom, gövde, kabuk, çiçek, meyve, tahıl yada tohumlar içeren parçalara sahip olacak ve bu sebeple tıbbi olarak aktif olan kimyasal bileşenler ihtiva edecektir (Abo ve ark., 1999; Liu, 2004; Nweze ve ark.,2004; Doughari ve ark., 2009).

Bitkisel ilaca olan ilginin tekrardan canlanmasının başlıca sebepleri; modern ilaçların her hastalığı tedavi etme yeteneğine sahip olmamaları, ilaçların fiyatının çok fazla oluşları ve birden fazla yan etkilerinin olmasıdır. Öyle ki bazı sentetik ilaçların yan etkilerini engelleyebilmek için bazı ilaçlarla birlikte kullanılma ihtiyacı göstermektedirler. Bunlara yanı sıra bitkisel droglardan elde edilen bazı ilaç etken maddelerinin sentetik olanlardan daha ucuza ve kolaylıkla elde edilebilir olması ve bitkisel drogların birden fazla etkiye birden sahip olmaları söylenebilir (Çelen, 2006).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apiaceae Familyasının Genel Özellikleri

Apiaceae familyası, dünya genelinde 434 cins ve 3780 tür barındırmaktadır.(Stevens ,2001) Bu aile ülkemizde 104 cins ve 486 türden oluşmaktadır (Davis ve ark., 1972; Güner ve ark., 2012; Duran ve ark ., 2015). Ülkemizde yaklaşık endemik tür sayısı 140'tır ve 4 tane monotipik endemik cins barındırır (Pimenov ve Leonov, 2004; Güner ve ark., 2012; Koch ve ark., 2017).

Apiaceae, çiçekli bitkiler arasında en tanınmış ailelerinden biridir. Apiaceae üyeleri arasında yaygın olarak yetiştirilen sebzeler (havuç, yabani havuç) ve çeşniler (Frenk maydanozu, kimyon, maydanoz, dereotu) bulunmaktadır. Kendine has lezzetlerini büyük miktarda meyve ve yapraklardaki çeşitli uçucu yağ bileşiklerine borçludurlar ve bu özellikleri sadece mutfak kullanımlarını açıklamakla kalmamak birlikte onların tıptaki geniş kullanım alanlarını da açıklar. Ayrıca bu aile geniş yayılmış yabani otları ve toksik bitkileri de kapsar (Downie, Katz-Downie ve Spalik, 2000).

2.1.1. *Conium maculatum* genel özellikleri

Aromatik bir bitkidir. Gövde 30-200 cm çizgili, tüysüz, genellikle mor benekli. Bazal yapraklar, 60 cm' ye kadar yaprak sapı ile nihai segmentler eliptik, 0,5-1 cm, genellikle tek saplı. Şemsiyeler 8-14 dereceli, brakte ve brakteol 3-6 yapraklı c.3 mm. Merikarp c. 2,5 x 1,5 mm, düzden kıvrımlıya doğru çıkıntılı ve kesintilidir. Fl, 4-8. Ormanlar ve dere kıyıları, daha çok suya yakın insan habitatlarda s.l.-2400 m.

Avrupa'dan tanımlanmıştır (HB. Linn, 343/1, Fotoğraf!).

Batı ve Kuzey Anadolu'da nadir de olsa Türkiye'nin her yerine dağılmıştır. A1(E) Çanakkale; Angadere, Ingoldby 369. A1(A) Balıkesir: Marmara Adası, Baytop (ISTE 13791)! A2(E) İstanbul: Belgrad Ormanı, Kayacık 71! A2(A) Bursa: Bithynian Olympus (Ulu Da.), Sestini. A3 Zonguldak: 30 km S. İle Devrek, 500 m, Kühne 3150! A4 Zonguldak: Sorgun Y.' de Yenice Keltepe üstü, 1300 m, D.38959! A5 Sinop: Ayancık, Zindan, 13 viii1945, Anadolu. A6 Samsun: Gelemen Çiftlik, 5 m Tobey 299! A7 Trabzon: Sürmela, Sint. 1889:1486! A8 Gümüşhane: Aşkale'den Bayburt'a, Kop Da. Geçmek, 2400 m, Lamond 2600! A9 Kars: nr. Yalnızçam (Grossheim 7: map 56).

B1 Balıkesir: Edremit, Kral (EGE 2154)! B2 Kütahya: Tavşanlı'dan İnegöl'e, 900 m D. 36108)! B4 Ankara: Ankara, Birand 183! B6 Sivas: 8 km N. ile Sivas, 1350 m, Sorger 70-19-54! B7 Erzincan: Sipikör, Sint. 1890: 3203! B10 Kars: nr. Serdar Bulak, B. Post 2067! C5 İçel: Tarsus, 1200 m, D. 26561! C6 Gaziantep: Kızılhisar dere, 25 km S. Gaziantep, 750 m, D. 28019! C8 Diyarbakır: Diyarbakır, 650 m, D28790! C10 Hakkari: Şemdinli, 1450 m, D. 44979! Is: Lezvos, Yüksek ön, c. 400 m. Rech. 5803. (Davis, 1978)

Dünyanın büyük geneline yayılmıştır. Geleneksel tıpta ağrı ve spazm giderici, tetanoz, sara, trigeminal nevralji ve kore hastalığı gibi rahatsızlıklarda bu bitkiye başvurulur. Zehirli ve ölümcül bir bitkidir. Zehiri doğrudan solunum sistemine saldırır ve ölüm boğulma yoluyla olur. Toksinleri uçucudur ve kurutulduğunda veya pişirildiğinde yok olur. (<https://kocaelibitkileri.com/conium-maculatum/>)

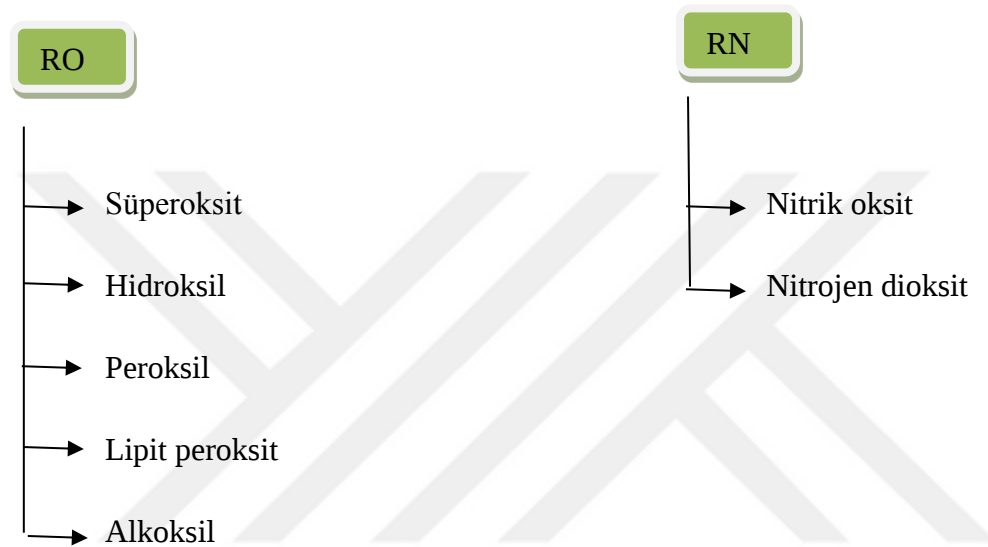


Şekil 2.1. *Conium maculatum* L. Genel Görünüşü

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve reaktif atom ya da moleküller olarak tanımlanır (Mc Cord, 1993). Eşlenmemiş elektron bulunduran serbest radikaller diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Başta O₂ olmak üzere karbon,

nitrojen, fosfor ve kükürt serbest radikal oluşturan moleküller arasında sayılabilir. Serbest radikaller hücrede O₂ ya da nitrojen kullanımı esnasında ortaya çıkar. O₂ kaynaklı olanlara ROT (Reaktif Oksijen Türleri) ve nitrojen kaynaklı olanlara RNT (Reaktif Nitrojen Türleri) adı verilir (Valco ve ark. ; 2007). Şekil 2. de bu serbest radikaller gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Oksijen veya Nitrojen Kaynaklı Olmalarına Göre Serbest Radikal Türleri

Oksijenli solunumla yaşayan bütün canlılarda metabolik olaylar sırasında serbest oksijen radikalleri oluşmakta ve antioksidan mekanizmalar ile ortadan kaldırılarak dengede tutulmaktadır. Fakat inflamasyon, hiperoksi, iskemi-reperfüzyon, radyasyon, yaşlanma, kimyasal maddelere maruz bırakılma gibi durumlarda çok fazla miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunma sistemi yetersiz kaldığında hücrede lipid, DNA, karbonhidrat ve enzimler üzerine toksik etkiler yaparak doku hasarına sebep olmaktadır. (Ozcan ve ark. , 2015)

Canlı organizmalarda, metabolik reaksiyonların donucunda devamlı ve kontrollü olarak ROT oluşur ve bu moleküllerin birikimini dolayısıyla da zararlı etkilerini engellemek için antioksidan moleküller üretir. Organizmadaki başlıca antioksidanlar SOD, GSH, GPx, GR, GST (glutatyon S transferaz), KAT (katalaz), A, C ve E vitaminleridir. (Handy ve Loscalzo, 2012) Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla hücrede serbest radikallerin artışıyla oluşan olumsuz

etkiler oksidatif stres olarak tanımlanır.(Ozcan ve ark., 2015) Oksidan molekülleri hücrenin yapı taşları olan protein, lipid, karbohidrat, enzim ve nükleik asitlere zarar vermesiyle oksidatif doku hasarı meydana gelir. Oksidatif stres, aynı zamanda nötrofil gibi immün sistem hücrelerini aktive ederek enflamasyona sebep olur. Enflamasyonun kendisinde oksidatif stres nedeni olduğu için kısır bir döngü oluşur.(Handy ve Loscalzo, 2012) Oksidatif stres günümüzde kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, enflamatuvar bozukluklar, diyabet, ateroskleroz, kanser ve otoimmün hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmektedir (Breelett ve Stadtman, 1997; Srivastava ve ark., 2017)

2.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT)

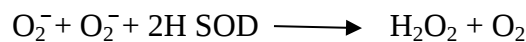
O₂ serbest radikal oluşumunda rol oynayan en önemli moleküldür. Serbest oksijen radikalleri enerji oluşturma süreçlerinin doğal bir yan ürünüdür. Dış yörüngesinde iki serbest e⁻ sayesinde e⁻ alıcısı olarak reaksiyonlara girerek oksidasyon yapar. Bunun sonucunda indirgenerek ROT oluşur. ROT oksijen radikalleri ve radikal olmayan reaktif oksijen türlerini kapsar.(Tarr ve Samson, 2013) Bunlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit Radikali (O₂⁻)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Hidroksil Radikali (OH⁻)	Hipoklorik Asit (HOCL)
Alkoksil Radikali (RO⁻)	Hidroperoksil Radikali (ROOH)
Peroksil Radikali (ROO⁻)	Ozon (O ₃)

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türleri

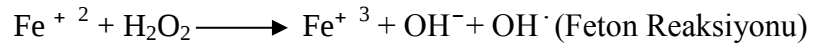
Süperoksit Radikali

O₂ 'nin bir e⁻ alarak indirgenmesiyle meydana gelir. Özellikle mitokondri iç zarında solunum zincirinde kendiliğinden meydana gelir. Zayıf bir oksidan olup direk olarak zararlı etkiden sorumlu değildir. Asıl önemi ise SOD (süperoksit dismutaz) enzimi ile H₂O₂ kaynağı olması ve geçiş metallerini indirgeyici olmasıdır.(Ozcan ve ark. , 2015)



Hidrojen Peroksit Radikali (H₂O₂)

Önemli bir serbest radikaldır. Asıl kaynağı süperoksit radikalının dismutasyonudur. Demir ve diğer geçiş metallerinin ve süperoksit radikalının varlığında en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikalini oluşturur. (Ozcan ve ark. , 2015) Katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle suya dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılır.



Hidroksil Radikali (OH[·])

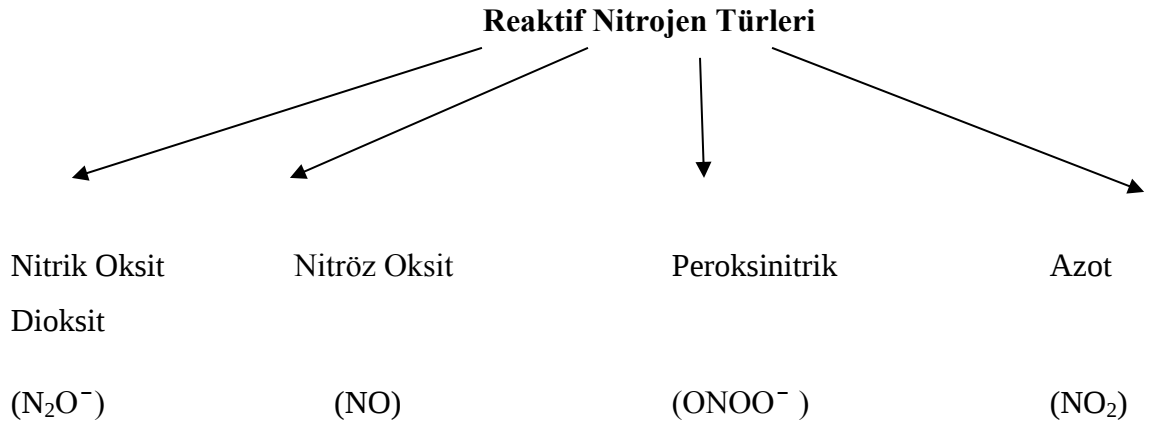
Bütün biyolojik moleküllerle reaksiyona girebilen ve çok fazla hasar veren oksijen radikalıdır. Ömrü çok kısa olmakla birlikte ciddi DNA hasarına ve membran lipidlerinde peroksidasyona yol açar.(Kehrer ve Klotz, 2015)

Singlet Oksijen

Moleküller oksijenin yüksek enerjiye maruz bırakılmasıyla en dış yörüngedeki e⁻ 'lardan birinin ters yönde dönmeye başlaması ile oluşur. Eşleşmemiş e⁻ olmadığı için gerçek bir radikal değildir ancak oldukça reaktiftir. Membrandaki lipidler ile reaksiyona girip lipid peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir.(Kehrer ve Klotz, 2015)

2.2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNT)

Sitozolik bir enzim olan NOS(Nitrik oksit sentaz) tarafından oluşturulur. (Moncada ve ark. ,1989) nitrik oksit radikali ve diğer nitrojen oksitleri (NO₂, NO, N₂O₃, N₂O₄ gibi) güçlü nitroze edici ajanlardır. Primer ve sekonder aminleri nitrozleyerek, nitrozaminleri oluştururlar. Nitrozamin bileşikler potansiyel karsinojenik maddelerdir. Çünkü bu bileşikler DNA'da nitrozilasyon, deaminasyon yapabilir ve alkil nükleofillerin oluşumuna sebep olabilirler. Bu şekilde oluşan mutasyonlar onkojenleri aktifleyerek malign transformasyonlara neden olabilirler (Kwon ve ark. ,1794). Reaktif nitrojen türleri aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Nitrojen Türleri

2.2.3. Serbest radikal kaynakları

Organizmada üretilen serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklı olmalarına göre ikiye ayrılır.(Sen ve ark. , 2010; Nagandrappa, 2005) Canlı fizyolojisinde normal şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite oksidan oluşumuna yol açarak endojen kaynakları oluşturur. Canlının hayatı boyunca dışarıdan aldığı veya maruz kaldığı kaynaklara eksojen kaynakları oluşturur. Çevre kirliliği, sigara tüketimi, iyonizan radyasyon, pestisitler, mikotoksinler ve ilaçlar eksojen kaynaklara örnek verilebilir (Delibaş ve Özçankaya, 1995).

Oksidatif strese sebep olan radikal yapımı endojen ve eksojen faktörleri içeren çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir (Antmen, 2005) Aşağıdaki tabloda endojen ve eksojen faktörlerin oluşma yolları gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Organizma da serbest radikallerin oluşma şekilleri

A. Eksojen Faktörler	B. Endojen Faktörler
1. Diyetset	1. Fiziksel egzersiz/sedanter yaşam
a. Çok doymamış yağ asitlerince zengin beslenme	2. Stres
b. Alkol alımı	3. Yaşlılık
c. Fazla kalorili beslenme (Obesite)	4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar
d. Hayvansal proteinlerce zengin beslenme	5. Diyetset antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar
e. Aşırı demir, bakır alımı	
f. Yiyeceklerin uygun olmayan koşullarda hazırlanması	
g. Yemek pişirme yöntemlerindeki hatalar	
2. Çevresel	
a. Sigara dumanı	

b. Hava kirliliği	
c. Diğer kirleticiler	
d. Radyasyon	
3. İlaçlar	
a. Anti kanser ilaçlar	
b. Glutasyon tüketen ilaçlar	

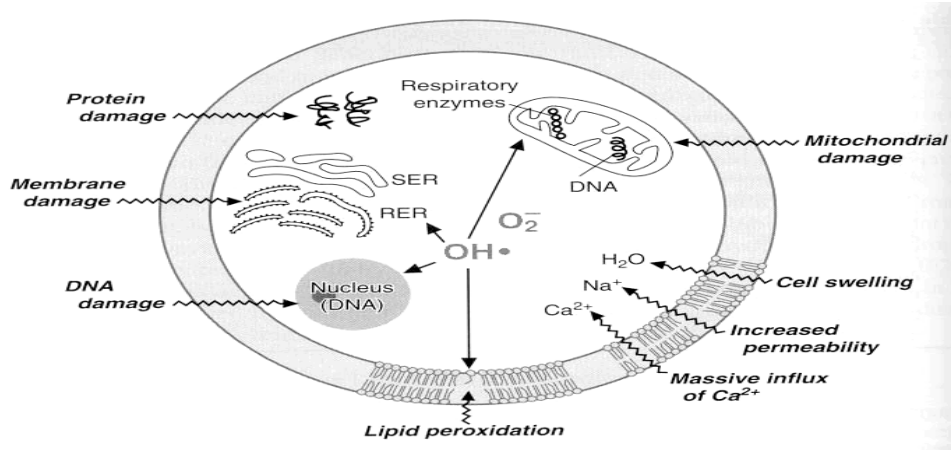
2.2.4. Serbest radikallerin yararları

Serbest O₂ radikalleri düşük miktarda oldukları zaman organizma için yararlı olabilirler. Hücrenin günlük normal işleyişi sırasında gün içinde defalarca üretilirler. Faydaları ise;

- Kanser hücresi gibi zararlı hücrelerin yok edilmesinde,
- Enfeksiyon durumlarında mikroorganizmaların öldürülmesinde,
- Ca⁺² 'nın hücre dışına salınımında
- Hücre büyümesinin uyarılmasında
- Bazı aminoasitlerin fosfatlanmasında (tirozin gibi)
- Sitokrom p450 sistemi ile toksik ürünlerin detoksikasyonunda
- ATP üretiminde
- Endotel hücrelerinde üretilen NO, lökosit adezyonu, platelet agregasyonu, anjiyogenesis, trombozis ve damar düz kaslarının kan basıncını düzenlenmesinde
- Nöronlar tarafından üretilen NO ise transmitter olarak görev yapar ve nöroplastisitede önemli rol onar
- Makrofajların ürettiği NO ile bağışıklık oluşturmada
- Genlerin transkripsiyonunda rol oynar (Devasagayom ve ark. , 2003)

2.2.5. Serbest radikallerin zararları

Serbest oksijen radikallerin organizmadaki yoğunluğu arttığı zaman zararlı hale gelir. Oldukça reaktif olan serbest radikallerin aşırı üretimi hücrede membran fosfolipidleri başta olmak üzere lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi yapısal bileşenlerde hasara neden olmaktadır.(Erel, 2004)



Şekil 2.4. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Onat ve ark, 2002).

a. Lipidlere etkileri;

En önemli etkilerinden biri, hücrenin organellerinin membranlarında bulunan lipidlerle serbest oksijen radikallerinin reaksiyona girmesiyle lipid peroksidasyonu meydana gelir. Bu olay gerçekleşirken bir sürü toksik ürün ortaya çıkar. Hücreleri olumsuz etki yaparak hücre membranı geçirgenliği bozulur.(Devasagayam ve ark. ,2003)

b. Proteinlere etkileri;

Radikaller yapısal proteinlerin yapısını bozabilir ve enzimlerin aktivitelerini etkileyerek hasara sebep olurlar. Okside hale gelen proteinlerinçoğu doğada inaktif halde bulunur ve ortamdan hemen uzaklaştırılır. Fakat zamanla birikerek yaşlanma ve bazı hastalıklara yol açabilir.(Devasagayam ve ark. , 2003)

c. Karbonhidratlara Etkileri;

OH· gibi serbest radikaller ile reaksiyona girerek karbon atomlarından hidrojen atomu çıkararak karbon içeren radikal üretirler. Hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına neden olur (Devasagayam ve ark. , 2004)

d. DNA 'ya Etkileri;

ROT ve RNT, DNA ile etkileşerek oksidatif hasara sebep olabilir. DNA, OH· iyonu ile çok kolay reaksiyona girerek hasar görebilir. Bu radikaller DNA'dan H kaybına ya

da eklenmesine sebep olur. Bu olayın sonucunda da okside olan pirimidin ürünleri meydana gelir (Devasagayam ve ark. , 2004).

Mitokondriyal DNA ile etkileşerek işlevini kaybetmesine, enerji kaynaklarında ki bozulmada yaşlanma ve ölüme sebep olur. Hidroksil radikali ve nütrofil kaynaklı H₂O₂ başlıca DNA hasarından sorumlu reaktif oksijen türleridir (Valko ve ark. , 2004).

2.2.6. Serbest radikallerin biyolojik hedefleri

Serbest radikaller hücre ve dokulara birçok zara sebep olmaktadır. Bu zararlar ise;

- DNA'nın tahribatı
- Nükleotit yapılı Koenzimlerin yıkılmasına
- Zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi
- Enzim aktivitelerinde ve yağ metabolizmasındaki değişiklikler
- Protein ve yağlarla kovalan bağlantılar yapması
- Zar ve proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- Seroid ve yağ pigmenti denilen bazı moleküllerin birikimi
- Proteinlerin tahrip olması ve protein döngüsünün artması
- Mukopolisakkaritlerin yıkımı denilebilir (Zhang ve ark. , 2005).

2.3. Antioksidanlar

Serbest radikal veya ROT üretimi ile antioksidan sistem arasındaki dengenin kaybolması sonucu moleküler ve hücresel fonksiyonlarda bozulma oksidatif stres olarak tanımlanır. Reaktif oksijen ürünlerinin artması veya antioksidan sistemin fonksiyonunun azalması veya bozulması oksidatif strese neden olmaktadır (Ames ve ark., 1993).

ROT; fizyolojik düzeylerin üzerine çıktığında oksidatif hasara sebep olan primer moleküllerdir. ROT'un bu zararlı etkilerine karşı organizmayı korumak için devreye enzimatik ve ya enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar girer (Fruehauf ve ark., 2007). Bu moleküller çoğunlukla çok kısa ömre sahip olmakla birlikte üretimlerini takiben antioksidatif kapasiteyi aşmadıkları sürece kısa zamanda yok edilirler (Ames ve ark., 1993)

Antioksidanlar, okside olabilen substratların oksidasyonunu önleyen ya da oksidasyon derecesini azaltan moleküllerdir. Bu sebeple antioksidanlar antikarsinojen olarak etki göstererek, hücreleri oksidatif hasarlardan korurlar. Karsinogenezisin her üç safhasına da baskılayıcı etki yapabilirler (Allen ve Tresini, 2000). Antioksidanların normal hücreleri uzun ve kısa zamanda serbest radikaller bağlı hasarlanmadan koruduğu gibi, tümör hücrelerini de kanser tedavisi sonucu oluşan hasarlanmaya karşı aynı oranda koruduğu ileri sürülmektedir (Borek ve ark., 1986).

Antioksidanları oksidan maddelerin etkilerini dört mekanizma ile ortadan kaldırırlar (Memişoğulları, 2005):

- ✓ Scavenging (Temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki antioksidan enzimler tarafından yapılır.
- ✓ Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanalara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.
- ✓ Onarma etkisi: Nükleik asitler gibi SOR ile yıkılmış biyomolekülleri onarırlar. DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu gruba dahil edilir.
- ✓ Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

2.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi dört gruba ayrılır (Yalçın, 1998).

Tablo 2.3. Oksidanların sınıflandırılması

Yapılarına Göre	Kaynaklarına Göre	Çözünürlüklerine Göre	Yerleşimlerine Göre
Enzimatik antioksidanlar	Endojen Antioksidanlar	Sıvı Faz	Hücre içinde bulunanlar
Enzimatik olmayan antioksidanlar	Eksojen Antioksidanlar	Lipid Faz	Plazma ve diğer hücre dışı sıvılarda bulunanlar

Antioksidan maddeler endojen, eksojen kökenli olabilirler. Endojen kaynaklı antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olarak 2 gruba ayrılırlar. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise vitaminler ve ilaç antioksidanlar olarak gruplandırılabilirler (Aydemir ve ark., 2009).

Tablo 2.4. Önemli antioksidanlar ve doku lokalizasyonları (Mates ve ark., 1999; Tan ve ark., 1998).

I- ENZİMATİK	DOKU LOKALİZASYONU
-SOD	Mitokondri ve sitozol
-GSH redoks sistemi GSH-peroksidaz GSH-redüktaz	Sitozol ve mitokondri Sitozol ve mitokondri
-Katalaz	Peroksizomlar
II- NON-ENZİMATİK	
a. Yağda Çözünenler	
-E Vitamini	Membranlar ve ekstraselüler sıvı
-A vitamini	Membranlar
-Ubiquinol	Mitokondri
b. Suda Çözünenler	
-C Vitamini	İntraselüler ve ekstraselüler sıvıda yaygın
-Glutasyon	İntraselüler
-Ürik asit	Genel dağılımlı
-Abümine bağlı bilirubin	Plazma
c. Demir ve Bakır Bağlayan Protein	
-Albümin	Plazma
-Transferrin	Plazma
-Serüloplazmin	Plazma

2.3.1.1.Enzimatik endojen antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz

SOD memeli vücudunda antioksidan bir enzim olarak görev alır. Bu işlevini süperoksit serbest radikalini, H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyerek yerine getirir. SOD enzimi 2 tipte bulunur. Bu enzimlerden biri bakır ve çinko içererek hücrenin sitoplazmasında bulunurken, diğer tipi mangan içererek mitokondride bulunur. En çok bulunanı bakır ve çinko içeren tipidir. SOD aynı zamanda fagosite edilen bakterilerin yok edilmesinde de görev alır. Yapılan çalışmalarda bu enzimin aktivitesi yaşlı insanların eritrositlerinde düşük bulunmuştur (Young ve Woodside, 2001).

Glutasyon Peroksidaz

Bu enzimde antioksidan olarak görev yapmaktadır. Ayrıca bu enzim selenyum elementi içermektedir. Hücre membranını peroksidasyona karşı korur. Bu enzim aynı zamanda fagosite edilen mikroorganizmaların yok edilmesi sırasında fagosite eden hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korur. Oksidatif strese karşı en dayanıksız hücre eritrositlerdir. Bu hücreleride koruyan GSH-P_x'dir. (Reiter ve ark., 2001)

Glutasyon Redüktaz

Hücrede GSH-P_x aracılığı ile H₂O₂'lerin indirgenmesi basamağında oluşan glutasyonun tekrar indirgenmesinde rol alır.(Sen ve Chakraborty, 2011)

Glutasyon S-Tranferazlar

Lipit peroksitlerine karşı koruyucu bir antioksidan olarak görev almakla birlikte katalizör olarak ve hücre içi taşıyıcı olarak ta görev alır. Bu enzimler karaciğerde bulunan sitokrom p450 enzimi tarafından oksidatif ara ürünlere çevrilen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalize ederler. (Reiter ve ark., 2001)

Katalaz

Antioksidan enzim olan KAT, yapısında 4 tane hem grubu bulunan bir hem proteindir. Hücre içinde en fazla peroksizomlarda daha azda sitozol ve mikrozomal yapılarda bulunur. Bu enzim H₂O₂ 'i H₂O' ya ve O₂ 'e dönüştürür. Hücrede reaksiyonlar sonucu meydana gelen H₂O₂ molekülünü, hidroksil serbest radikale dönüşmesini engellemek için yok eder.(Young ve Woodside, 2001)

2.3.1.2.Enzimatik olmayan antioksidanlar

Vitamin E

Plazmada ve tüm hücre zarlarında yer alır. Lipit fazda serbest radikal temizleyicisi gibi davranan önemli antioksidandır. (Burton ve Ingold, 1989; McCay, 1985; Seven ve Candan, 1996; Sies ve ark., 1992; Sokol ve Hoffenberg, 1996; Van

Herbay ve ark., 1994). Hücre zarlarının görevini düzgün şekilde yapmasında ve dolaşımdaki lipoproteinlerin korunmasında çok önemli görevleri vardır. Radikalleri daha az aktif formlara dönüştürerek zarları lipid peroksidasyonundan korur. Peroksidasyon zincirini kırarak ilk savunma hattını oluşturur. (Yalçın, 1998; Yamazaki ve ark., 1993)

Vitamin A

İmmün sistem dahil büyüme, görme, üreme, epitelyum farklılaşması gibi önemli görevleri vardır. SOR 'lerini temizleme özelliği sebebiyle etkili bir antioksidandır. Zincir kırıcı olarak etkiyi lipid fazda gösterir.(Bast ve ark., 1996; Blomhoff, 1987; Blomhoff ve ark., 1990; Seven ve Candan, 1996).

Vitamin C

Güçlü bir antioksidan olmakla birlikte süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet O₂ ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sıvı formda bulunmasına rağmen lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek zarları oksidan hasara karşı korur (Erenel ve ark., 1992; Seven ve Candaş, 1996; Sies ve ark., 1992; Tanakol, 1998; Yalçın, 1998).

Glutasyon

Karaciğerde sentezlenir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan oldukça önemli bir antioksidandır. (Townsend ve ark., 2003; Cnubben ve ark., 2001).

Ürik Asit

Yüksek miktarda üretildiği zaman kristalize olarak böbrek taşları ve gut artritinin alevlenmesine neden olabilir. Kanın toplam antioksidan kapasitesinin hemen hemen yarısından ürik asitin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Güçlü bir antioksidandır (Kumar ve ark., 2015).

Bilirubin

Yaşlı eritrositlerin yıkılması, eritrositlerin içinde bulunan hem proteinlerinin yıkımı sonucunda meydana gelir. Kan dolaşımından karaciğer ile alınır, burada suda çözünebilen bir forma dönüştürülerek safra ya da idrarla dışarı atılır. Peroksil radikalleri üzerinde zincir kırıcı erki gösterir.(Gutteridge, 1995)

Albumin

Vücut içindeki sıvı dengesini ayarlayarak osmotik dengeyi ayarlayan en önemli proteindir. Plazmada bulunan en önemli ve etkili antioksidanlardan birisidir. (Roche ve ark., 2008)

Seruloplazmin ve Transferrin

Bu iki protein vücudumuzda birden fazla dokuda sentezlenen önemli bir α_2 serum glikoproteinidir. Seruloplazmin bakır metabolizmasında rol almakla birlikte kandaki bakırın yaklaşık olarak %95'ini taşır. Transferrin ise hücrelere +3 değerlikli demirin taşınmasında görev alan bir taşıyıcı proteindir.(Chauhan ve ark., 2004)

2.3.1.3.Eksojen kaynaklı antioksidanlar

Üç gruba ayrılır. Vitaminler, ilaçlar ve besin antioksidanlar olarak isimlendirilir. Vitaminler, vitamin E, β -karoten, vitamin C, folik asit olarak kendi arasında ayrılmaktadır.

İlaçlar non-enzimatik serbest radikal toplayıcılar, ksantin oksidaz inhibitörleri, barbitüratlar, demir şelatörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C, Nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, demir redox döngüsü inhibitörleri, endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar olarak kendi arasında ayrılmaktadır.

Besin antioksidanları ise butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, sodium benzoate olarak kendi arasında üçe ayrılmaktadır (Köksal, 2021).

2.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antibiyotik kullanımı insanlık tarihinde sağlık açısından bir dönüm noktasına olmasına rağmen yanlış ve sıkça kullanımından dolayı günümüzde önemli bir sağlık

sorunu haline gelmiştir. Dirençli bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlar hastalık ve ölüm oranlarının artmasına, hastanede yatışların uzaması ile önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Balık, 2018). Antibiyotiklere karşı çoklu dirençli bakterilerin sayıca her geçen gün artmasına rağmen yeni antibiyotiklerin keşfi bu artışa yetişememektedir (Karras ve ark., 2012; Purkayastha ve ark., 2012). Bitkiler ve bitkilerden elde edilen extratlar çeşitli hastalıkların tedavisinde uzun süre kullanılmakla birlikte bitki kaynaklı materyaller birden fazla gelişmekte olan ülkede temel sağlık hizmetlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Antibakteriyal aktivite için bu tür bitki ve bitkilerden elde edilen extratların araştırılması, çeşitli hastalıkların tedavisi için yeni ilaçların bulunması adına her zaman ilgi duyulmaktadır (Oka ve ark., 2000; Sökmen ve ark., 2000).

Günümüzde tıbbi bitkiler ve onlardan elde edilen extratların, özellikle uçucu yağların antibakteriyal özellikleri dikkat çekmekle birlikte uçucu yağların antibakteriyal etkileri uzun zamandır bilinmekte ve bileşenlerinin antibakteriyel aktivitesi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır (Aroro, 2015).

Uçucu yağlar bitkilerin sekonder metabolizma ürünleri olmakla birlikte genellikle bitkilerin çiçek, yaprak, tohum, kök, kabuk ve odun gibi parçalarından elde edilmektedir. Bu uçucu yağlar kokulu, uçucu, eterik ve aromatik yağlar olarak da bilinmektedirler (Baser ve Demirci, 2007). Uçucu yağların antibakteriyal, antifungal, antiviral, böcek öldürücü ve antioksidan özellikleri içerdiği bilinmektedir (Burt, 2002).

Antimikrobiyalleri diğer ilaçlardan ayıran önemli özelliklerden birisi, etkilerinin verildikleri konağa değil, patojen mikroorganizmalara yönelik olmasıdır (Köksal, 2010). Konağa herhangi bir hasara uğratmadan mikroorganizmaların üremelerinin inhibe edilmesi olarak tanımlanan seçici toksisite, mikroorganizma ile insan arasında yapı ve metabolizma farklılıklarının ortaya çıkarılması ile elde edilir. Örneğin penisilinler ve sefalosporinler, peptidoglikan sentezini baskılanması sebebiyle bakteri üremesini engelleyeyip insan hücrelerinin üremesini etkilemediklerinden etkin antibakteriyal ajanlardır (Lewinson, 2008).

2.4.1. Antimikrobiyal maddelerin etki mekanizması

Antimikrobiyaller, etki mekanizmasına göre;

- a. Hücre duvarı sentezini engelleyenler
- b. Protein sentezini engelleyenler
- c. Nükleik asit sentezi engelleyenler
- d. Antimetabolitler (Bakterilerde ara metabolizmayı bozanlar)
- e. Membran bütünlüğünü bozanlar olarak beş sınıfta incelenir (Saran ve Karahan, 2010).

2.4.2. Antimikrobiyal ilaçlar ve direnç

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın bakteri öldürücü ya da bakteri üreme ve gelişmesini yavaşlamasına karşı gelebilme yeteneğidir. Direnç oluşumu ve yayılımı genel olarak sebepsiz ve bilgisiz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte 1940'lı yıllarda dayanıklılık veya direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın bakteriosit ya da bakteriostatik etkisine direnebilme yeteneğidir. Dayanıklılığın farklılaşması ve yayılımı ekseriyetle sebepsiz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımına bağlı olmakla birlikte 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bir kaç adalar da incelenen toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine karşı dirençli bakteriler saptandığını belirtmektedir. Antibiyotiğe karşı dayanıklılığın bir tek yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin uygunsuz çevre ortamlarında yaşamını sürdürmek için kullanıldığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtmektedir (Yüce, 2001).

Bakteriler ilaca doğal olarak da dirençli olabilir. Bu türden bir dayanıklılık bakterinin temel özelliği olmakla birlikte ilaç kullanımıyla da bir bağlantısı yoktur. Belirli bir ilaca bağlı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, benzer veya aynı mekanizmayla etki gösteren başka ilaçlarda direnç göstermesi çapraz direnç olarak tanımlanır. Çoğunlukla neomisin-kanamisin gibi yapısal özellikleri benzerlik gösteren ilaçlarda gözlemlenen bu durum, linkomisin, eritromisin gibi birbiriyle ilgisiz ilaçlarda da görülür (Yüce, 2001).

Literatür bilgileri ışığında yapılan çalışmada 4 farklı bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır.

Escherichia coli

Gram negatif, fakültatif anaerop, endospor oluşturmeyan ve katalaz pozitif, soğuga dirençli dezenfektanlar ve boyalara karşı dirençsiz bir mikroorganizmadır. Normal flora bakterisi olarak bulunmakla birlikte idrar yolu enfeksiyonu, sepsis, yara enfeksiyonu, sinüzit, safra kesesi ile safra yolu enfeksiyonları ve yeni doğan bebeklerde menenjit hastalığına sebep olurlar (Anonim, 2018a)

Klebsiella pneumoniae

Bu bakteri gram negatif, kapsüllü, hareketsiz, sporsuz, basil şeklinde olan bir mikroorganizmadır. Çoğunlukla fırsatçı patojen olarak isimlendirilmekle birlikte hastane enfeksiyonları, pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (Karahocagil ve ark., 2011).

Pseudomonas aeruginosa

Her yerde bulunabilen, Gram- negatif, aerobik, sporsuz bir patojendir. Basil şeklinde ve tek kamçılı bir yapıya sahiptir. Yapılan araştırmalara göre bu bakteri anaerobik olarak da büyüme göstermektedir fakat fermentasyon yapmaz, bunun yerine gerekli enerjiyi şeker oksidasyonundan elde etmektedir (Allydice- Francis ve Brown 2012; Pachori ve ark., 2019) Bağışıklığı baskılanmış hastalarda çeşitli enfeksiyonlara sebep olan bu bakteri farklı ortamlarda da yaşayabilen bir gram-negatif bakteridir (Pang ve ark., 2019; Khan ve ark., 2020) Bu bakteri hastane kaynaklı enfeksiyonlarda en fazla izole edilen patojenlerden biridir (Chen ve ark., 2017). Kulak, deri, kalp, göz ve akciğer dokularında çeşitli enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Valentini ve ark., 2018). Toprak, atık su, tatlı su ve okyanus gibi farklı ortamlara uyum sağlayan bir bakteridir (Liu ve ark., 2019).

Staphylococcus aureus

Gram-pozitif, hareketsiz, katalaz pozitif, kemoorganotrof ve mezofilik olmakla birlikte insan ve hayvanlarda fırsatçı patojen olarak bulunurlar. Bu bakteri gıda zehirlenmelerine de sebep olabilirler(Anonim, 2018) Anaerobik bir bakteri olmakla birlikte hastane enfeksiyonlarına ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (Karahocagil ve ark., 2011; Zell ve ark., 2008).

2.4.3. Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi

Laboratuvar ortamında antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesinde; broth makrodilüsyon, broth mikrodilüsyon, agar dilüsyon, E-testi, disk difüzyon gibi çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemleri iki grup içinde toparlarsak bu gruplar dilüsyon(seyreltme) yöntemi ve difüzyon(yayılım) yöntemi diyebiliriz.

Dilüsyon yöntemlerinde kural sıvı ya da katı besiyerleri içerisinde antimikrobiklerin belirli dilüsyonları yapılarak mikroorganizmalarla karşılaştırılması yapılmasıdır. Difüzyon yöntemlerinde katı besiyerlerine uygulanır. Temel kural plak besiyerine ekilen mikroorganizmaların, besiyerine konulmuş olan disklerdeki, besiyerlerine açılmış çukurlardaki veya cam ya da porselen silindirlerdeki etrafına dağılmakta olan antimikrobiyal maddelerle birlikte çoğalmaları şeklinde özetlenebilir (Bilgehan, 2004).

2.4.3.1.Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ise, mantar ya da bakteri suşlarının çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılığının tespiti amacıyla yapılır (Burt ve Reinders, 2002; Baydar ve ark., 2003; Benkeblia, 2003; Tampieri ve ark., 2003; Türker ve ark., 2008; Saindana ve ark., 2008; Pirbalouti ve ark., 2009; Saraç ve ark., 2009; Semwal ve ark., 2009; Ünlü ve ark., 2009; Mihajilov ve ark., 2010; Pirbalouti ve ark., 2010). Uygulanışı ise mikroorganizmaya uygun bir katı agar üzerine ekim yapılır ve bitki yağları emdirilmiş diskler hafifçe bastırılarak aralarında 2cm kalacak şekilde agar üzerine yerleştirilir. Besiyer üzerinde meydana gelen inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilir. Standart antibiyotik diskleri, karşılaştırma yapmak için kontrol diskleri olarak kullanılabilir (Toroğlu ve Çenet, 2006).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. *Conium maculatum* 'un Toplanması ve Teşhisi

Çalışma için kullanılan *Conium maculatum* L. bitkisi Tokat ili, Merkez, Abayır civarından, haziran ayında, yaşadığı habitattan kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımları toplanarak örnekler herbaryum tekniklerine uygun olarak preslenip kurutulmuştur (Seçmen ve ark., 1988). Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ tarafından teşhis edilmiştir (GOPU herbaryum numarası, 9596). Teşhisi yapıldıktan sonra sağlıklı ve taze görülen kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımları çalışma için seçilerek bu kısımlar kullanılmadan önce distile su ile yıkanarak kurutulmuştur.

A6 TOKAT: Merkez, Abayır civarı, 800-900 m, 21.06.2019, Bedrettin Selvi, Sertan Zengin, 1220.

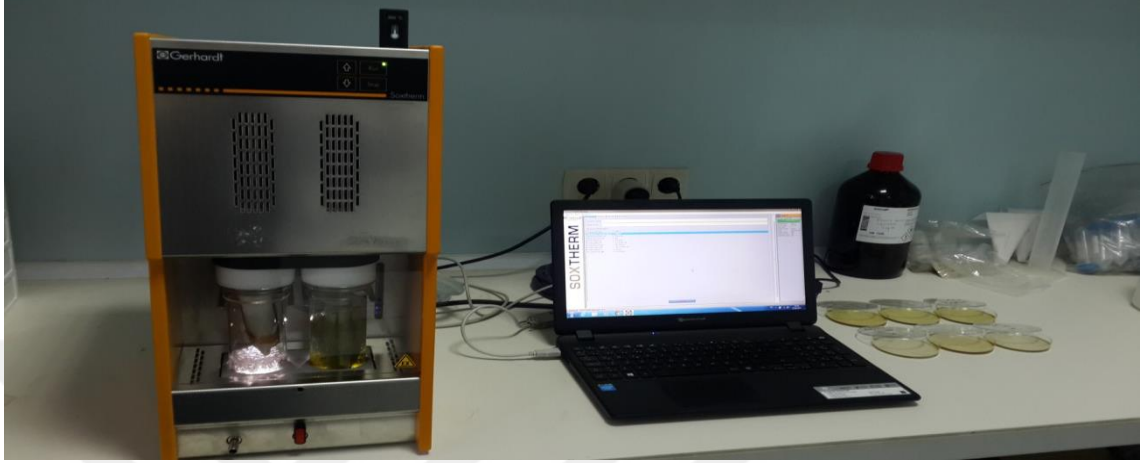
3.2. *Conium maculatum* L. Bitkisinin Özütlerinin Elde Edilmesi

Conium maculatum L. bitkisinin özütlerini elde etmek için; distile su, methanol, filtre kağıdı, hassas terazi, blender, Soxhlet cihazı- Grehardt EV 14, petri kabı olmak üzere bu materyaller kullanıldı.

Conium maculatum L. bitkisinin özütlerinin eldesi için bitkinin kullanılacak kısımları öğütücü ile toz haline getirildi. Özüt çıkarma işlemi çözücü ile birlikte basınç uygulandı. Bu bitkinin özütlerini çıkartma işleminde kullanılan çözücüler su ve metanol olarak belirlenerek özütleme işlemi bu solventlerle gerçekleştirildi. Elde edilen özütler deney başlangıcına kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. (Gülaçtı ve ark., 2007)

Basınçlı solvent ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen işlemde *Conium maculatum* L. bitkisinin öğütülen kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımları hassas terazide 10 gr olarak tartıldı. Tartılan kısımlar yağlı kağıda konularak Soxhlet cihazının tüplerine yerleştirildi. 5.1 bar basınçta, her solvent için belirli sürelerde ve uygun sıcaklık belirlenerek yapıldı. Her bir işlem sonrası içindeki sıvı kısmı petri kaplarına konularak sıvı kısmının uçması beklendi. Bunun neden ise, içindeki maddenin daha kolay uçarak özütlerin daha kolay uçarak özütlerin daha kısa sürede elde edilmesini sağlamaktır.

Yapılan bu çalışmada antioksidan aktivite belirlenmesinde çalışılacak bitki, *Conium maculatum* L. bitkisidir. *Conium maculatum* L.'un kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının 2 farklı çözücü (distile su, methanol) ile özütleri elde edilmiştir.



Şekil 3.5. Özütleme işlemi için kullanılan basınçlı ekstraksiyon cihazı

3.3. *Conium maculatum* L. Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod

3.3.1. TAS (Total antioksidan seviye) ile antioksidan aktivite belirlenmesi

ROT 'leri fizyolojik ve metabolik süreçler sonucunda meydana gelir. Zararlı oksidatif reaksiyonlar, enzimatik ya da non-enzimatik aktivitelerle organizmadan uzaklaştırılır. Uygun şartlar altında, oksidanların çoğalmasının ya da antioksidanların tam tersi azalmasının önüne geçilemez. Bunun sonucu olarak ta 100'den fazla hastalık ortaya çıkabilir. Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları ya durdurur ya da baskılar.

Conium maculatum L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohumlarının özütleri ticari olarak satılan kitlerle antioksidan kapasitesinin belirlenmesini sağlamak için kullanılmaktadır. Örnekteki antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürerek 660 nm absorbanstaki değişim örneğin TAS 'ı belirtir. Ticari olarak trolox olarak adlandırılan bu test E vitamini benzeri ile kalibre edilir. Örneğin, kan serumu, plazma, üre, doku homojenatı, hücre lizati, meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir. Yaptığımız çalışmada Rel Assay Diagnostics-TAS Assay Kit kullanılmıştır.

TAS ile antioksidan belirlenmesinde; TAS Assay Kit, *Conium maculatum* L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum özütleri Spektrofotometre, Eliza plate kullanılmıştır.

TAS ile antioksidan aktivite belirlenmesi için aşağıda belirtilen metod kullanılmıştır.

Kit içerisinde;

Reagent1 (Buffer)

Reagent2 (Renkli ABTS Radikal Solüsyon)

Standart 1 (0,0 mmol Troleks Equiv./L)

Standart 2(1.00 mmol Troleks Equiv./L)

Reaktif 1' den 200 µl alınarak kuyucuğa eklenerek üzerine 12 µl bitki örneği konularak başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçülür. Daha sonra üzerine 30 µl Reaktif 2 ilave edilerek 5 dakika 37°C' de inkübasyon yapılarak, inkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbansı alınır. TAS değeri aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$\Delta \text{Abs std1: std1'in ikinci absorbansı} - \text{std1'in birinci absorbansı}$

$\Delta \text{Abs std2: std2'nin ikinci absorbansı} - \text{std2'nin birinci absorbansı}$

$\Delta \text{Örnek abs: örneğin ikinci absorbansı} - \text{örneğin birinci absorbansı}$

Sonuç: $[\Delta \text{Abs std1} - \Delta \text{Abs örnek}] / [\Delta \text{Abs std1} - \Delta \text{Abs std2}]$

3.3.2. Total oksidan seviye (TOS) ile antioksidan aktivite belirlenmesi

Metabolik ve fizyolojik süreçlerde, nitrojen türleri ve reaktif oksijen üretilir. Bunlar enzimatik veya enzimatik olmayan süreçlerle uzaklaştırılır. Uygun şartlar altında, oksidanların çoğalması veya antioksidanların azalması gibi önlenemez durumlarda 100'den fazla hastalık oluşabilir. Antioksidanlar da bu zararlı reaksiyonları ya durdurur ya da ket vurur. Burada kullanılan metodun amacı ise incelenilmek istenen örneklerin oksidan potansiyelini belirlemektir. Yapılan bu test, H₂O₂ ile kalibre edilir. Absorbans

değeri ise örnekteki oksidan değerini belirtmektedir. Elde edilen sonuçlar, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L ile kıyaslanarak TOS değeri saptanır. (Tarpey ve ark., 2004).

Yapılan çalışmada Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit kullanıldı. TOS ile antioksidan aktivite belirlenmesinde, TOS Assay Kit, *Conium maculatum* L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum özütleri, Spektrofotometre, Eliza plate kullanılmıştır. TOS ile antioksidan aktivite belirlenmesi için kullanılan metod;

Kit içerisinde;

Reagent 1 (Assay buffer)

Reagent 2 (Prokromojen solüsyon)

Standart 1 (Kör solüsyon: distile su)

Standart 2 (Stok Stabilize Standart Solüsyon (SSSS): 800mM H_2O_2 Equiv./L)

Standart çalışma çözeltisinin hazırlanmasında SSSS distile su ile kırk kez seyreltilir. Seyrelttiğimiz standart 2' den 5 μl ependorfa alınarak üzerine 1 ml distile su eklenerek vortekslendi. Devamında vortekslediğimiz çözeltiden 5 μl alınarak ikinci kez 1 ml distile su ilave edilerek vortekslenir. Sonuç olarak 20 $\mu\text{molar H}_2\text{O}_2$ hazırlanmış olur. Eliza plate alınarak kuyucuğa ilk olarak 200 μl Reagent 1 eklenerek devamında üzerine 30 μl örnek eklenir. Başlangıç absorbansı spektrofotometrik olarak 530 nm' de okunur. Ölçüm yaptıktan sonra üzerine 10 μl Reagent 2 ilave edilerek 5 dk 37 °C oda sıcaklığında inkübasyona bırakılarak ikinci defa 530 nm' de okunur. Aynı işlemleri standart 2 için de sırayla tekrarlanır. TOS değeri aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanacaktır.

$$\text{TOS } (\mu\text{mol/L}) = (\text{Abs.örnek} / \text{Abs.standart 2}) \times 20 \text{ (standart2 değeri)}$$

Hesaplamada kullanılacak veriler:

$$\text{Abs.örnek} = (\text{Örneğin ikinci abs.} - \text{Örneğin birinci abs.})$$

$$\text{Abs.standart 2} = (\text{Std.2' nin ikinci Abs.} - \text{Std 2' nin birinci Abs.})$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$$

3.4. *Conium maculatum* Bitkisinin Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod

Conium maculatum L. bitkisinin özütlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde, Mueller-Hilton Agar (MHA), Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose Agar (EMB), Distile su, McFarland Cihazı, McFarland tüpleri, Eküvyon, Blank Diskler, Bitki özütleri, Bakteri suşu, Petri kapları, Otoklav, Hassas terazi, Mikropipetler, Cetvel, Dimetil sülfoksit (DMSO), İnkübatör, Biyolojik Güvenlik Kabini kullanılmıştır.

Test çalışmamızda kullanılan mikroorganizmaların tamamı Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiş olmakla birlikte 4 farklı bakteri suşu kullanılmıştır. Bunlar; *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603'dür.

Conium maculatum L. Bitki kısımlarının özütlerinin MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) değerinin belirlenebilmesi için NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (Jorgensen JH ve Ferraro MJ., 2009). Test mikroorganizmalarından Enterik bakteriler olan *Escheria coli* ATCC-25922 ve *Klepsiella pneumoniae* ATCC-700603 EMB (Eozin Metilen Blue) agarda, *Staphylacoccus aureus* ATCC-29213 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 ise MHA (Mueller Hilton Agar)'da bir gece 37°C 'de inkübe edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1.Özüt verimi

Conium maculatum L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının su ve metanol özütleri Soxhlet cihazı ile elde edilerek özüt verimleri sırasıyla;

	Su	Metanol
✓ Kök	%13	%6.53
✓ Gövde	%7.31	%6.81
✓ Yaprak	%19.35	%18.16
✓ Çiçek	%4.84	%18.68
✓ Tohum	%2.72	%6.54

Tablo 3.5. Özüt verim hesaplaması

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

4.2. *Conium maculatum* L. Bitkisinin Özütlerinin TAS, TOS ve OSI Aktivite Bulguları

Oksidatif Stres İndeksi oksidatif stres seviyesini gösteren bir indikatördür. TAS ve TOS değerlerinin hesaplanması yapıldıktan sonra OSI hesaplaması yapılır. Formülü ise aşağıda belirtildiği şekilde hesaplanmaktadır.

OSI= (TOS, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L)/(TAS, $\mu\text{mol Trolox equivalent/L}$) (Ulas ve ark., 2013).

Tablo 3.6. 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		
(μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)		
<5.00		Çok İyi
8	5	Normal Değer
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12.00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

Tablo 3.7. *Conium maculatum* L. bitkisinin TAS ve TOS değerleri

Örnek isim / Oran	Konsantrasyon	TAS Değeri	TOS Değeri
Çiçek Su (1/10)	100 ug/uL	4,277154mmolTroloxEquiv./L	18,64154685μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Kök Su (1/10)	100 ug/uL	4,262172mmolTroloxEquiv./L	17,25334655μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Gövde Su (1/10)	100 ug/uL	4,269663mmolTroloxEquiv./L	41,1502231μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Tohum Su (1/10)	100 ug/uL	4,307116mmolTroloxEquiv./L	32,52354983μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Yaprak Su (1/10)	100 ug/uL	4,258427mmolTroloxEquiv./L	28,25979177μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Su		-2,35955mmolTroloxEquiv./L	8,527516113μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Çiçek Metanol (1/10)	100 ug/uL	4,262172mmolTroloxEquiv./L	107,9821517μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Kök Metanol(1/10)	100 ug/uL	4,213483mmolTroloxEquiv./L	57,01536936μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Gövde Metanol (1/10)	100 ug/uL	3,992509mmolTroloxEquiv./L	51,76003966μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Tohum Metanol (1/10)	100 ug/uL	4,269663mmolTroloxEquiv./L	42,93505206μmol H ₂ O ₂ Equiv./L
Yaprak Metanol (1/10)	100 ug/uL	1,835206mmolTroloxEquiv./L	255,4288547μmol H ₂ O ₂ Equiv./L

Metanol		-2,13858mmolTroloxEquiv./L	8,130887457µmol H ₂ O ₂ Equiv./L
---------	--	----------------------------	---

Ana stok 100 ug/uL

Yaprak metanol özütü suda çözünmediği için alkol ile çözüldü. TOS çalışmasında Yaprak Metanol örneği TOS 2 çalışmasında spektrofotometre cihazını ölçebileceği değer üzerinde olduğu için cihaz bu sonucu 6 olarak aldı.

Tablo 3.8. *C. maculatum* L.'nin TAS, TOS ve OSI değeri (Konsantrasyon)

Örnek isim	Konsantrasyon	TOS Değeri	TAS Değeri	OSI Değeri
Çiçek Su (1/5)	20 ug/uL	18,83986118		
Çiçek Su (1/10)	10 ug/uL	11,00644522		
Çiçek Su (1/25)	4 ug/uL	11,79970253		
Çiçek Su (1/50)	2 ug/uL	4,462072385		
Çiçek Su (1/100)	1 ug/uL	4,263758057		
Çiçek Su (1/200)	0,5 ug/uL	3,569657908	4,007490637	0.8907464125
Kök Su (1/5)	20 ug/uL	16,75756073		
Kök Su (1/10)	10 ug/uL	11,79970253		
Kök Su (1/25)	4 ug/uL	10,5106594		
Kök Su (1/50)	2 ug/uL	4,759543877		
Kök Su (1/100)	1 ug/uL	4,362915221		
Kök Su (1/200)	0,5 ug/uL	4,065443728	2,352059925	1.7284609481
Gövde Su (1/5)	20 ug/uL	38,671294		
Gövde Su (1/10)	10 ug/uL	17,45166088		
Gövde Su (1/25)	4 ug/uL	12,09717402		
Gövde Su (1/50)	2 ug/uL	5,255329698		
Gövde Su (1/100)	1 ug/uL	4,957858205		
Gövde Su (1/200)	0,5 ug/uL	3,470500744	2,670411985	1.2996124806
Tohum Su (1/5)	20 ug/uL	47,69459593		
Tohum Su (1/10)	10 ug/uL	29,8463064		
Tohum Su (1/25)	4 ug/uL	17,84828954		
Tohum Su (1/50)	2 ug/uL	17,55081805		
Tohum Su (1/100)	1 ug/uL	14,17947447		
Tohum Su (1/200)	0,5 ug/uL	11,99801686	3,94756543	3.039345914
Yaprak Su (1/5)	20 ug/uL	16,55924641		
Yaprak Su (1/10)	10 ug/uL	13,18790283		
Yaprak Su (1/25)	4 ug/uL	12,09717402		
Yaprak Su (1/50)	2 ug/uL	4,957858205		
Yaprak Su (1/100)	1 ug/uL	4,561229549		
Yaprak Su (1/200)	0,5 ug/uL	3,569657908	2,037453184	1.7520195978

Çiçek Metanol (1/5)	20 ug/uL	99,05800694		
Çiçek Metanol (1/10)	10 ug/uL	45,41398116		
Çiçek Metanol (1/25)	4 ug/uL	30,44124938		
Çiçek Metanol (1/50)	2 ug/uL	21,41794745		
Çiçek Metanol (1/100)	1 ug/uL	17,25334655		
Çiçek Metanol (1/200)	0,5 ug/uL	12,29548835	2,25093633	5.4623883342
Kök Metanol (1/5)	20 ug/uL	44,12493803		
Kök Metanol (1/10)	10 ug/uL	28,65642043		
Kök Metanol (1/25)	4 ug/uL	21,31879028		
Kök Metanol (1/50)	2 ug/uL	19,335647		
Kök Metanol (1/100)	1 ug/uL	17,15418939		
Kök Metanol (1/200)	0,5 ug/uL	10,11403074	2,797752809	3.6150551641
Gövde Metanol (1/5)	20 ug/uL	44,42240952		
Gövde Metanol (1/10)	10 ug/uL	26,47496282		
Gövde Metanol (1/25)	4 ug/uL	21,91373327		
Gövde Metanol (1/50)	2 ug/uL	18,34407536		
Gövde Metanol (1/100)	1 ug/uL	17,35250372		
Gövde Metanol (1/200)	0,5 ug/uL	9,915716411	2,254681648	4.3978343549
Tohum Metanol (1/5)	20 ug/uL	68,71591472		
Tohum Metanol (1/10)	10 ug/uL	37,87803669		
Tohum Metanol (1/25)	4 ug/uL	25,88001983		
Tohum Metanol (1/50)	2 ug/uL	20,82300446		
Tohum Metanol (1/100)	1 ug/uL	18,93901834		
Tohum Metanol (1/200)	0,5 ug/uL	13,38621715	2,936329588	4.5588265039
Yaprak Metanol (1/5)	20 ug/uL	58,40356966		
Yaprak Metanol (1/10)	10 ug/uL	47,39712444		
Yaprak Metanol (1/25)	4 ug/uL	29,25136341		
Yaprak Metanol (1/50)	2 ug/uL	23,30193356		
Yaprak Metanol (1/100)	1 ug/uL	21,41794745		
Yaprak Metanol (1/200)	0,5 ug/uL	12,89043133	1,891385768	6.8153369598

4.3. *Conium maculatum* L. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi

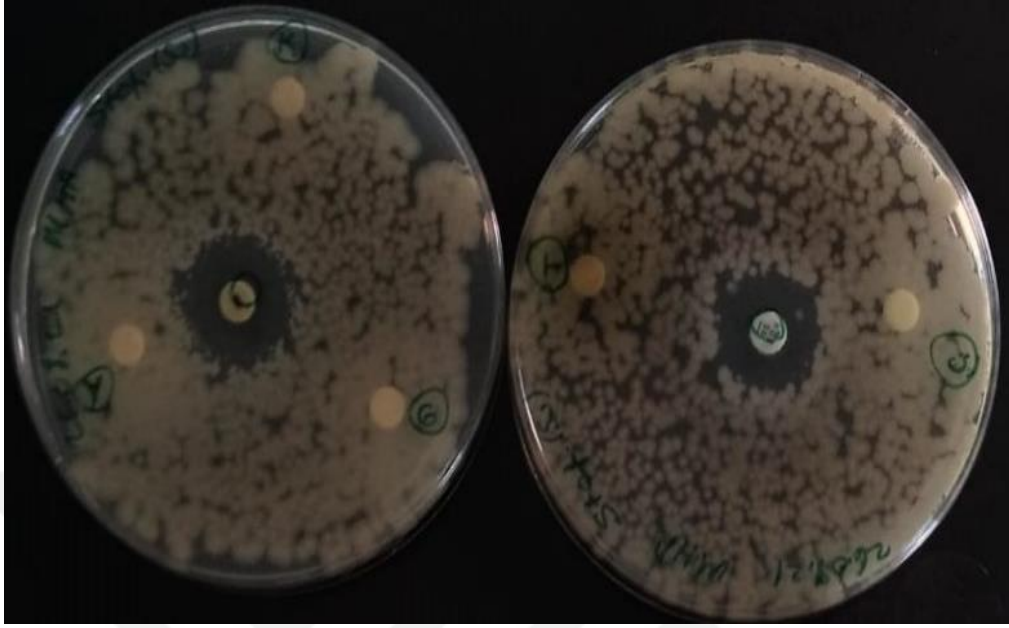
Conium maculatum L. bitki kısımlarının özütlerinin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. (Jorgensen JH ve Ferraro MJ, 2009). Özütler, *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, *Escheria coli* ATCC-25922,

Pseudomonas aeruginosa ATCC-27853 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603 şuslarının disk difüzyon test sonuçları, disklerin etrafında oluşan zonlar üzerinden değerlendirilmiştir. Plaklar, çıplak gözle gözden 30 cm uzakta olacak şekilde tutularak, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta belirlenerek MHA ve EMB plakları zon çapları cetvel ile mm olarak ölçüldü.

Tablo 4.9. *Staphylococcus aureus* ATCC-29213 suşunun *Conium maculatum* L. bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi

Ürün	Zon çapı
Sefoksitin (30µg)	25 mm
Kök su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Kök metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm

Şekil 4.6. *Staphylococcus aureus* ATCC-29213 'a karşı bitki kısımlarının su özütü



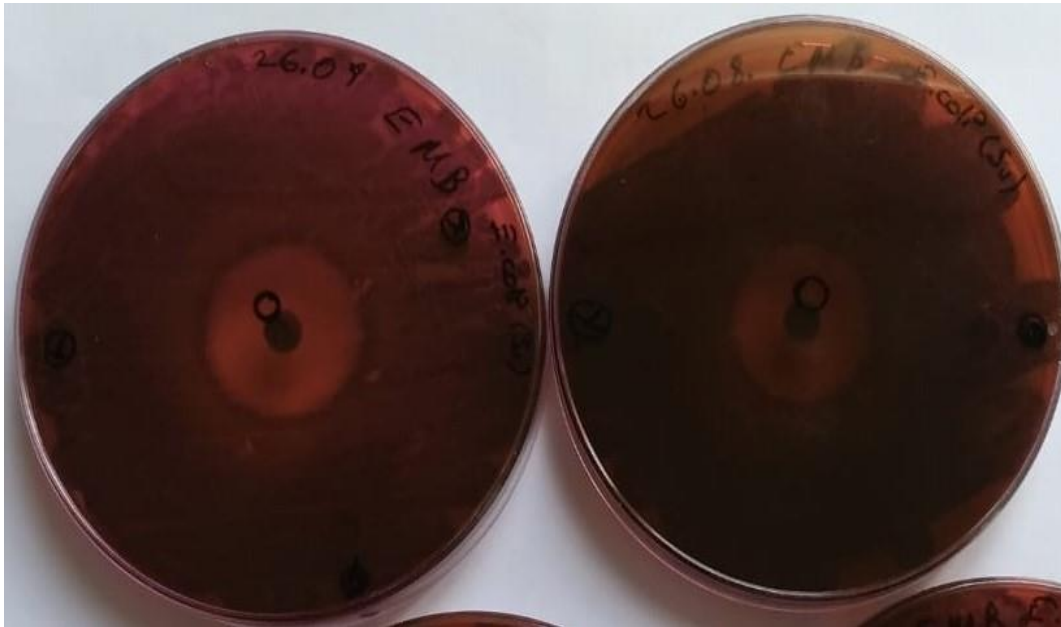
Şekil 4.7. *Staphylococcus aureus* ATCC-29213 'a karşı bitki kısımlarının metanol özütü



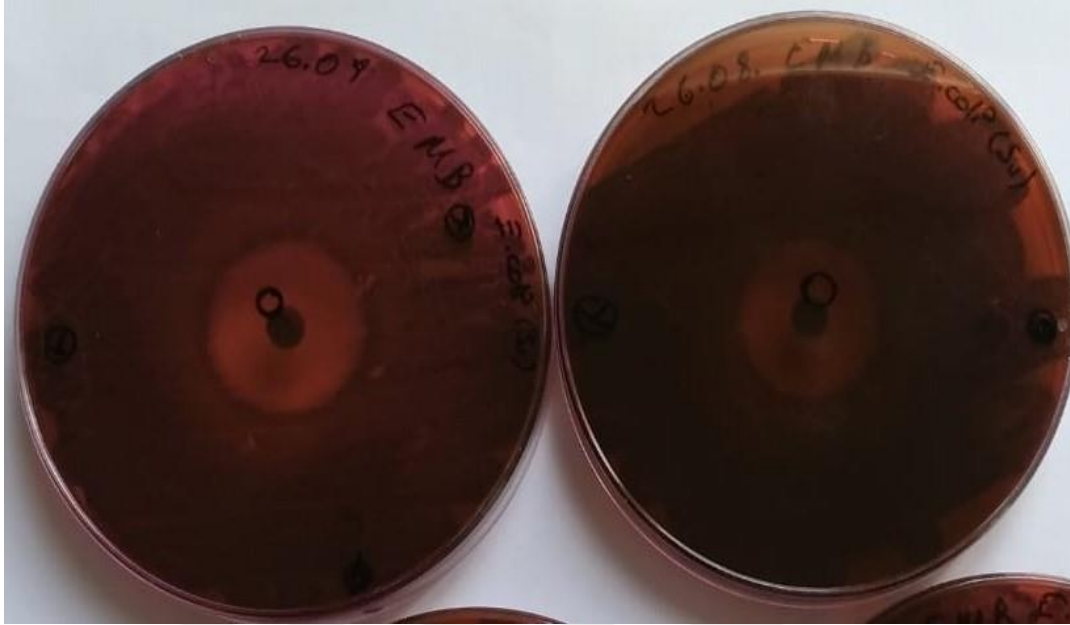
Tablo 4.10. *Escheria coli* ATCC- 25922 suşunun *Conium maculatum* L. bitkisinin özütlерinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi

Ürün	Zon çapı
Sefoksitin (30µg)	25 mm
Kök su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Kök metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm

Şekil 4.8. *Escheria coli* ATCC- 25922'a karşı bitki kısımlarının su özütü



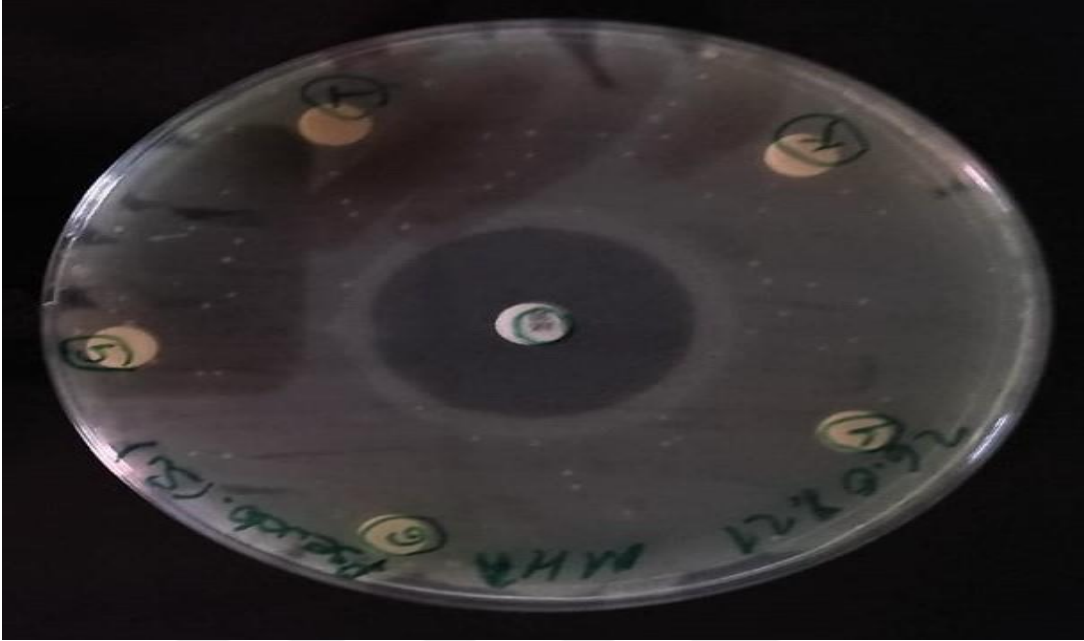
Şekil 4.9. *Escheria coli* ATCC- 25922'a karşı bitki kısımlarının metanol özütü



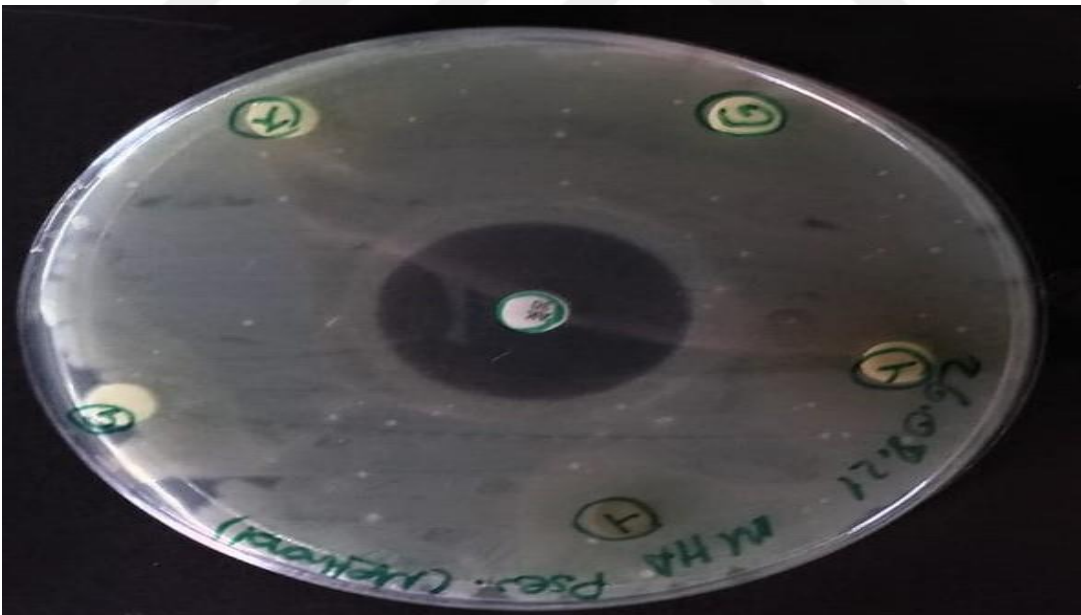
Tablo 4.11. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 suşunun *Conium maculatum* L. bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi

Ürün	Zon çapı
Amikasin (30µg)	25 mm
Kök su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Kök metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm

Şekil 4.10. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-2753 'a karşı bitki kısımlarının su özütü



Şekil 4.11. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-2753' a karşı bitki kısımlarının metanol özütü



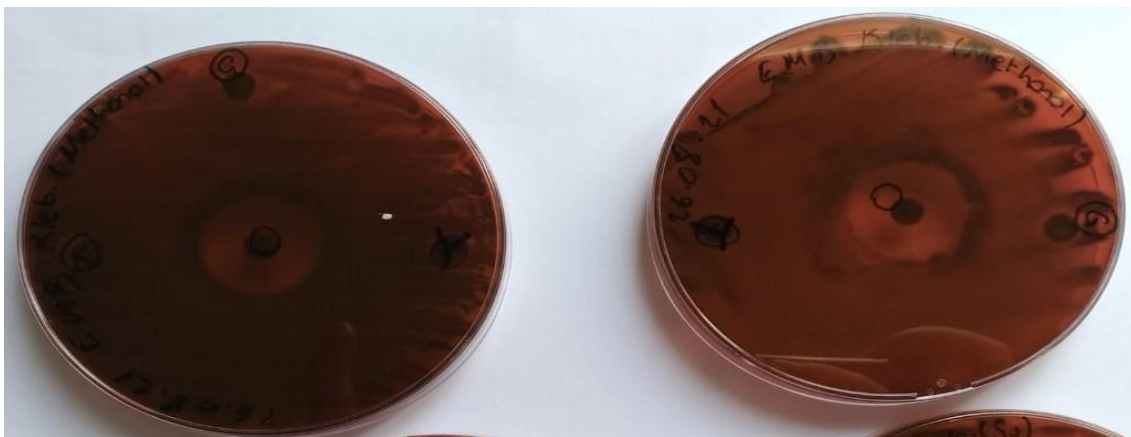
Tablo 4.12. *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603 suşunun *Conium maculatum* L. bitkisinin özütlerinin diskler etrafında oluşturduğu zon çaplarının değerlendirilmesi

Ürün	Zon çapı
Sefoksitin (30µg)	25 mm
Kök su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Kök metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Gövde metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Yaprak metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Çiçek metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum su özütü 100 µg/ µL	0 mm
Tohum metanol özütü 100 µg/ µL	0 mm

Şekil 4.12. *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603’a karşı bitki kısımlarının Su Özütü



Şekil 4.13. *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603’a karşı bitki kısımlarının Metanol Özütü



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan bu çalışmada kullanılan *Conium maculatum* L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının su ve metanol özütlerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan zehirli bir bitki olan *Conium maculatum* L. 'un antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesiyle ilgili yapılan araştırmalar sonucunda literatür de bu bitkiye dair herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Çalışma kapsamında *Conium maculatum* L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarından elde edilen su ve metanol özütlerinin TAS (Total Antioksidan Seviye) ve TOS (Total Oksidan Seviye) aktiviteleri "Rell Assay Diagnostic" kitleri ile belirlenmiştir.

Çalışmamızda *Conium maculatum* L. bitkisinin TAS değerlerine bakıldığında kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının su özütlerinde çok yüksek antioksidan etki göstermiştir. Aynı zamanda kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının metanol özütlerine bakıldığı zaman çok yüksek antioksidan etki göstermiştir. Bitki kısımlarından en iyi antioksidan etkiyi gösteren çiçek kısmının su özütünde göstermiştir.

Conium maculatum L. bitkisinin TOS değerlerine bakıldığında kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum kısımlarının su özütlerine kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum metanol özütlerinin TOS değerinin $> 12 \mu\text{mol/L}$ olması çok yüksek oksidan seviyesini göstermektedir.

TOS değerleri yüksek çıktığı için konsantrasyon çalışması yapıldı. $0,5 \mu\text{g/uL}$ konsantrasyonda; *Conium maculatum* L. bitkisinin TOS değerlerine bakıldığında kök, gövde, yaprak ve çiçek su özütlerinin TOS değerinin $< 5,00 \mu\text{mol/L}$ olması oksidan seviye bakımından çok iyi etkide olduğunu ve kabul edilebilir olduğunu göstermektedir. Tohum kısmının su özütü ise $12-8 \mu\text{mol/L}$ arasında olması yüksek oksidan seviye olduğunu göstermektedir. Kök ve gövde kısımlarının metanol özütlerine bakıldığında TOS değerinin $12-8 \mu\text{mol/L}$ arasında olması oksidan seviye bakımından yüksek oksidan seviyesinde olduğunu göstermektedir. Yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının metanol özütlerinin $>12 \mu\text{mol/L}$ aralığında olması çok yüksek oksidan seviye gösterdiği ve kabul edilebilir TOS değerinin bulunmadığını göstermektedir. TOS değerlerinin $< 5,00 \mu\text{mol/L}$ olduğu kök, gövde, yaprak ve çiçek su özütlerinin TAS değerleri > 2 idi.

Conium maculatum L. bitkisinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının su ve metanol ekstraksiyonlarının antimikrobiyal etkisi gözlemlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC-700603, *Staphylococcus aureus* ATCC-29213 ve *Escheria coli* ATCC-25922 bakterilerine karşı inhibisyon etkisinin olup olmadığını araştırdık. Bu zehirli bitkinin bu bakteri suşlarına karşı kullanabilecek yeni bir etken madde veya ilaç potansiyelinin ölçümünde araştırılmıştır. Bitkinin hiçbir kısmının su ve metanol özütlerinin bu 4 bakteri üzerinde etkili bir özütünün olmadığı saptanmıştır.



6. KAYNAKÇA

- Abo, K.A., Ogunleye, V.O. & Ashidi, J.S., 1999. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zombesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytotherapy Research*, 13(6), 494-497.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest oksijen radikalleri ve patolojik etkileri. Mimosa Basım Yayın ve Dağıtım, pp: 1-20, Konya.
- Allen, RG., Tresini, M., 2000. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med.*, 28:463-499.
- Allydice-Francis, K., & Brown, P.D., 2012. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables. *International journal of microbiology*.
- Anonim, 2018a. From, <http://www.microbiyoloji.org/genelpdf/943105010.pdf>
- Aroro, D., 2015. Biological activities of essential oils. *Journal of pharmaconosy and phytochemistry*, 3(1):16-18.
- Baser, K.H.C., Demirci, F., 2007. Chemistry of essential oils. In: Berger RG(ed) *Fragrance and flavours: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Springer, Berlin, Germany, 25-30.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T., 2003. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja species* with commercial importance in Turkey. *Elsevier food control*, 15: 169-172.
- Benkeblia, N., 2003. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensm.-wiss.v.-Technol.*, 37:263-268.
- Berlett, BS., Stadtman, ER., 1997. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313-20316.
- Bilgehan, H., 2004. Klinik mikrobiyoloji tanı. Barış yayınları fakülteler kitapevi 4. Baskı, 145-153s, İzmir.
- Borek, C., Ong, A., Mason, H., Donahuze, L., Biaglow, SE., 1986. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transmutation in vitro via different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 83:1490-1494.
- Burt, S., 2000. Essential oils their antibacterial properties and potential applications in foods: review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Chauhan, A., Chauhan U., Brown, WT., Cohen, I., 2004. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin- the antioxidant proteins. *Life Sci.*, 75(21):2539-49.
- Chen, W., Zhang, Y.M., & Davies, C., 2017. Penicilin-binding protein 3 is essential for growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(1).

- Clark, A.M., 1896. Natural products as a resource for new drugs. *Pharmaceutical Research*. 13(8): 1133-1141.
- Cnubben, NH., Rietjens, IM., Wartelboer, H., Van Zanden, J., Van, Bladeren, PJ., 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental toxicology and pharmacology*, 10(4): 141-52.
- Çelen, S., 2006. Türkiye’de yayılış gösteren dört *Thymus* türünün uçucu yağ birleşimleri. Antibakteriyal ve antifungal aktivite özelliklerinin belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Devasagayom, T., Bloor, K., Ramasarma, T., 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. *Indian J. Biochem Biophys.*, 40(5): 300-8.
- Devasagayom, T., Tilak, J., Bloor, K., Sane, K.S., Ghaskadbi, SS., Lele, R., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects, *J Assoc Physicians India*, 52(4): 794-804.
- Doughari, J., Human, I., Benade, A. & Ndakidemi, P., 2009. Phytochemicals as chemotherapeutic agents and antioxidants: Possible solution to the control of antibiotic resistant verocytotoxin producing bacteria. *Journal of medicinal plants research*, 3(11): 839-848.
- Erel, O., 2004. A novel automated method of measure total antioxidant response against peroxide free radical reactions. *Clin Biochem.*, 37(2):112-9.
- Gutteridge, JM., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin chem.*, 41(12):1819-28.
- Gülaçtı, T., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., Uluben, A., 2007. A new flavone From antioxidant extract of *Pistacia terebinthus* L. *Food Chemistry*, 103: 816-822.
- Handy, DE., Loscalzo, J., 2012. Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(11), 1323-1367.
- Jorgensen JH and Ferraro MJ., 2009. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary Practices. *Medical Microbiology*, Vol. 49, 1749-1755.
- Karahocagil, M.K., Yaman, G., Göktaş, U., Sünnetçioğlu, M., Çıkman, A., Bilici, A., Yapıcı, K., Baran, A.İ., Binici, İ., Akdeniz, H., 2011. Hastane enfeksiyon etkenlerinin ve direnç profillerinin belirlenmesi. *Van Tıp Dergisi*, 18(1):27-32.
- Karras, G., Giannakaki, V., Kotsis, V., Miyakis, S., 2012. Novel antimicrobial agents against multi-drug-resistant gram-negative Bacteria: An Overview Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery, 7:175-181.
- Kehrer, JP., Klotz, L-O., 2015. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implication for Health. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(9): 765-98.

- Khan, M., Stapleton, F., Summer, S., Rice, S.A., & Willcox, M.D., 2020. Antibiotic resistance characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Keratitits in Augtralia and India. *Antibiotics*, 9(9), 600.
- Köksal, T., 2021. Puberte Preokslu Kız Çocuklarında Oksidan- Antioksidan Denge: Vako Kontrol Çalışması. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 22 syf.
- Kumar, AN., Aruna, P., Naidu, JN., Kumar, R., Srivastava, KA., 2015. Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv kaynak tarama dergisi*, 24(1):19-40.
- Kwon, NS., Steuhr, DS., Nathan, CF., 1991. Inhibition of tumor cells ribonucleotide reductase by nitric oxide. *J Exp Med.*, 179(4): 442-448.
- Lewinson, W., 2008. Tıbbi mikrobiyoloji ve immünoloji (Çeviri editörü: Tuncay ÖZGÜNEN) Güneş Tıp Kitap Evleri, 69-85.
- Liu, R.H., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Am Soc Nutrition* 3479, (12) 134, S-34855.
- Liu, X., Wang, S., Xu, A., Zhang, L., Liu, H. & Ma, L.Z., 2019. Biological synthesis of high-conductive pili in aerobic bacterium *Pseudomonas aeruginosa*,. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(3), 1535-1544.
- Mc Cord, Jm., 1993. Human disease, free radicals and the axidant antioxidant bailace. *Clin Biochem.*, 26:351-357.
- Memişoğulları, R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.
- Moncada, S., Palmer, RMJ., Higgs, EA., 1989. Biosynthesis of nitric oxide from L. Arginin: A pathway for the regulation of cell functyon and communication. *Biochem Pharmacal*, 38: 1709-1715.
- Nagendrappa, G., 2005. An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals indiseases and health. *Resonance*; 10(4):615-74.
- Nweze, E., Okafor, J., Bio-research, O.N., 2004. Antimicrobial activites of methanolic extracts of *Trema guineensis* (Schumm and Thorn) and *Morindo lucida* benth used in Nigerian. *Journal of Biological Research and Biotechnology*, 2(1): 39-46.
- Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., 2000. Nematicidal activity of essentials oil sand their companents againts the root-knot nematode. *Phytopathology*, 90(7), 710-715.
- Ozcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3):331-6.

- Pachori, P., Gothwal, R., & Gandhi, P., 2019. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & diseases*, 6(2): 109-119.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B.R., Lin, T.J., & Cheng, Z., 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative the rapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177-192.
- Pirbakouti, A.G., Bahmani, M., Avijgan, M., 2009. Anti-Candida activity of some of the Iranian medicinal plants. *Electronic Journal of Biology*, 5(4), 85-88.
- Pirbalouti, A.G., Jahanbazi, P., Enteshari, S., Malekpoor, F., Hamed, B., 2010. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. *Arch. Biol. Sci. Belgrade*, 62(3), 633-642.
- Purkayastha, S., Narain, R., Dahiya, P., 2012. Evaluation of antimicrobial and phytochemical screening of Fennel, Juniper and Kolonji essential oils againts multi drug resistant clinical isolates. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1625-1629.
- Reiter, R.J., Acuna- Castrovie jo D., Tan, D.X., Burkhardt, S., 2001. Free radical-mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann NY Acad Sci.*, 939(1): 200-15.
- Roche, M., Randeav, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E., 2008. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.*, 582(13):1783-7.
- Saïdana, D., Mahjoub, S., Boussoada, O., Chriaa, J., Mahjoub, M.A., Cheraif, I., Daami, M., Mighri, Z., Helal, A.N., 2008. Antibacterial an antifungal activities of the essential oils of two salt cedar species from Tunisia. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86,817-826.
- Sakar, S. & Nahar, L., 2007. Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry. Organic and natural product chemistry. John Wiley & Sons, pp 283-359.
- Saran, B., Karahan, Z.C., 2010. Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. *Türk Ural Sem*, 1: 216-20.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhor, C., Reddy, R., De, B., 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and pytomedicines: current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Review and Research*, 3(1): 91-100.
- Sen, S., Chakraborty, R., 2011. The role of antioxidants in human health. Andreescu S, Hepel M, editors. *Oxidative stress: diagnostics, prevention and therapy*. New York: ACS Publications.
- Sökmen, A., Vardar, Ü.G., Dorlcl, N., 2000. Antimicrobial activity of methanolic extracts of various plants growing in the Sivas district. *Turkish Journal of Infection*, 14(2), 253-256.

- Srivastava, S., Singh, D., Patel, S., Singh, MR., 2017. Role of enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress in autoimmune disorders. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1001:502-517.
- Tampieri, M.P., Galluppi, R., Carell, M.S., Macchioni, F., Cioni, P.L., Morelli, I., 2003. Effect of selected essential oils and pure compounds on *Saprolegnia parasitica*. *Pharmaceutical biology*, 41(8): 584-591.
- Tarr, M., Samson, F., 2013. Oxygen free radicals in tissue damage. 1. Baskı, New York City: Springer Science& Business Media; p.83-91.
- Toroğlu, S., Çenet, M., 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik dergisi*, 9(2):12-20.
- Townsend, DM., Tew, Kd., Tapiera, H., 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomed pharmacother*, 57 (3-4):145-55.
- Türker, H., Birinci Yıldırım, A., Pehlivan Karakaş, F., Köylüoğlu, F., 2008. Antibacterial activities of extracts from some Turkish endemic plants on common fish pathogens. *Turk. J. Biol.*, 33,73-78.
- Ulas, T., Büyükhatipoğlu, H., Kirhan, I., Dal, M. S., Ulas, S., Demir, M. E., Eren, M. A., Ucar, M., Hazar, A., Kürkcüoğlu, İ. C., Aksoy, N., 2013. Evaluation of oxidative stress parameters and metabolic activities of nurses working day and night shifts. *Rev Esc Enferm USP*, Vol. 47(2), 471-6.
- Valentini, M., Gonzalez, D., Mauridou, D.A. & Filloux, A., 2018. Lifestyle transitions and adaptive pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Current opinion in microbiology*, 41: 15-20.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, CJ., Telser, J., 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.*, 266(1-2): 37-56.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MT., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, 39(1):44-84.
- Yüce, A., 2001. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2): 41-46s.
- Young, I., Woodside, J., 2001. Antioxidant is health and disease. *J Clin Pathol.*, 54(3):176-86.
- Zell, C., Resch, M., Rosenstein, R., 2008. Characterization of toxin production of coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from food and starter cultures. *International journal of food microbiology*, 127 (3):246-51.

