

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Doronicum macrolepis BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ANTİOKSİDAN,
ANTİMİKROBİYAL VE DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS

Nijat ASADOV

ŞUBAT-2024
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Doronicum macrolepis BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ANTİOKSİDAN,
ANTİMİKROBİYAL VE DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, AND DNA
PROTECTIVE ACTIVITIES OF *Doronicum macrolepis* PLANT EXTRACTS

YÜKSEK LİSANS

Nijat ASADOV

ŞUBAT-2024
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Doronicum macrolepis BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ANTİOKSİDAN,
ANTİMİKROBİYAL VE DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, AND DNA
PROTECTIVE ACTIVITIES OF *Doronicum macrolepis* PLANT EXTRACTS

YÜKSEK LİSANS

Nijat ASADOV

Danışman: Doç. Dr. Tuba ACET

ŞUBAT-2024
GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “*Dornicum marcolepis Bitki Özütlерinin Antioksidan, Antimikrobiyal ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi*” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğum intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasıна izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

05/02/2024

Nijat ASADOV

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Gümüşhane Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Tez çalışmalarım boyunca, değerli katkıları, bilgileri ve destekleri için Tez Danışmanım Doç. Dr. Tuba ACET'e şükranlarımı sunarım. Ayrıca, mikrobiyolojik testlerde sunduğu katkılardan dolayı Doç. Dr. Kadriye ÖZCAN'a ve laboratuvar çalışmalarım sırasında plazmit DNA çoğaltımı ve saflaştırılmasında değerli katkılarını esirgemeyen Doç. Dr. Azer ÖZAD DÜZGÜN'e teşekkür ederim. Tüm tez çalışmam süresince her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından, GÜBAP2907: Lisansüstü Öğrenci Destek Programı (proje no: 23.E0102.07.01) dâhilinde desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Gümüşhane Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve BAP Kordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Nijat ASADOV
GÜMÜŞHANE – 2024

ÖZET

Doronicum macrolepis bitkisi Anadolu'da hem geleneksel halk tıbbında çeşitli rahatsızlıkların hafifletilmesinde hem de çay olarak tüketilmektedir. Ancak, geleneksel kullanımların bilimsel veriler ile desteklenmesi ve en etkili kullanım biçimlerinin ortaya çıkarılması günümüzde bir ihtiyaç haline gelmiştir. Bu yüzden, bu alanda son yıllarda bilimsel çalışmalar hız kazanmıştır. Söz konusu çalışmada, bitkinin etanol ile farklı ekstraksiyon metotları kullanılarak elde edilen özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, özütlerin toplam fenolik (Folin-Ciocalteu metodu) ve flavonoid ($AlCl_3$ metodu) madde miktarları, antioksidan (ABTS ve DPPH metotları) ve antimikrobiyal (disk difüzyon ve MİK yöntemleri) olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Fenolik madde içeriği ise HPLC analizi ile tespit edilmiştir. Bununla birlikte, DNA koruyucu etkinliğin belirlenmesi için, hasar oluşturulmuş plazmit hücrelerin özütlerle etkileşimi sonucu ortaya çıkan DNA yapılarının agaroz jeldeki görüntüleri yorumlanmıştır. Bulunan değerlere göre, *Doronicum macrolepis* bitki özütlerinin biyolojik aktiviteleri belirlenerek, en etkili kullanım biçimi bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, 24 saat çalkalayıcının ardından 30 dakika ultrasonik banyoda tutulan ve yalnız 30 dakika ultrasonik banyoda tutulan eksrelerin diğerlerine kıyasla daha yüksek biyolojik aktivitelerinin olduğu ortaya çıkmıştır. HPLC sonuçlarına göre eskrelerde en yüksek fenolik bileşen *siyrinkaldehit* olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, elde edilen bulgular literatüre önemli katkılar sunmaktadır. Bununla birlikte, bitkinin söz konusu biyolojik aktivitelerinin değerlendirilerek, doğal, ucuz ve alternatif bir kaynak olarak çeşitli endüstrilerde kullanılabilme potansiyeli olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antimikrobiyal, DNA koruyucu etki, *Doronicum macrolepis*

SUMMARY

The plant *Doronicum macrolepis* is used both in traditional folk medicine and as a tea in Anatolia to alleviate various ailments. However, the need to support traditional uses with scientific data has become essential nowadays, leading to an acceleration of scientific studies in this field in recent years. This study aims to determine the antioxidant, antimicrobial, and DNA protective activities of extracts obtained from the plant using different extraction methods with ethanol. In this research, various biological activities of the extracts, including total phenolic (Folin-Ciocalteu method) and flavonoid (AlCl_3 method) content, as well as antioxidant (ABTS and DPPH methods) and antimicrobial (disk diffusion and MIC methods) activities, were determined. The phenolic content was also identified through HPLC analysis. Additionally, for the determination of DNA protective activity, the images of DNA structures resulting from the interaction of damaged plasmid cells with the extracts were interpreted on agarose gel. Based on the obtained values, the biological activities of *Doronicum macrolepis* plant extracts were identified, leading to the discovery of the most effective usage form. According to the results obtained, it was revealed that the extracts kept in ultrasonic bath for 30 minutes after 24 hours of agitation and the extracts kept in ultrasonic bath for 30 minutes only had higher biological activities compared to the others. According to HPLC results, the highest phenolic component in the extracts was found to be syringaldehyde. Consequently, the findings contribute significantly to the literature. Moreover, considering the evaluated biological activities of the plant, it is suggested that it may have the potential to be used as a natural, inexpensive, and alternative source in various industries.

Key words: Antioxidant, Antimicrobial, DNA Protective Effects, *Doronicum macrolepis*

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
EKLER.....	XII
GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Çalışmanın Amacı.....	3
1.3. <i>Doronicum macrolepis</i> (D.m) Bitkisiyle İlgili Genel Bilgiler	3
1.4. Bitkisel Sekonder Bileşikler.....	6
1.4.1. Fenolik Bileşikler	7
1.5. Serbets Radikaller ve Oksidatif Stres.....	8
1.6. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları	11
1.8. Antimikrobiyal Ajanlar	19
1.9. DNA ve DNA Hasarı	21
1.9.1. DNA Tamir Mekanizmaları	23
1.9.2. pUC19 Plazmit DNA	23
2.1. Materyal ve Metot	24
2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar	24
2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Malzemeler	25
2.1.3. Bitki Örneklerinin Ekstraksiyona Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi	27
2.1.5. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	28
2.1.6. Antioksidan Aktivite Belirleme Deneyleri	29
2.1.6.1. ABTS Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	29
2.1.6.2. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	30
2.1.7. DNA Koruyucu Aktivitenin Belirlenmesi	31
2.1.8. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi ile Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi.....	34

2.1.9. İstatistiksel Analiz.....	35
3. BULGULAR.....	36
3.1. Ekstraksiyon Verimi.....	36
3.2. Toplam Fenolik Madde Tayini Sonuçları	36
3.3. Toplam Flavonoid Madde Tayini Sonuçları	37
3.4. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları	38
3.4.1. ABTS Radikali Giderme Aktivite Tayini Sonuçları	38
3.4.2. DPPH Radikali Süpürme Aktivite Tayini Sonuçları.....	40
3.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları	41
3.5.1. Mikro Dilüsyon Yöntemi Sonuçları.....	41
3.6. DNA Koruyucu Aktivite Sonuçları.....	44
3.7. HPLC Analizi ile Fenolik Madde İçeriği Sonuçları.....	45
4. TARTIŞMA	47
4.1. Toplam Fenolik İçerik (TPC).....	47
4.2. Toplam Flavonoid İçeriği (TFC).....	47
4.3. Antioksidan aktivite	48
4.4. Antimikrobiyal Etkinlik	49
4.6. DNA Koruyucu Aktivite	51
5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	52
6. ÖNERİLER.....	53
KAYNAKÇA.....	55
EKLER.....	72
ÖZGEÇMİŞ	78

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Antimikrobiyal testlerde kullanılan mikroorganizmalar.	13
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar.	25
Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler.	26
Tablo 4. Tez çalışmasında kullanılan ekstraksiyon yöntemleri.	27
Tablo 5. Ekstraktlarının pUC19 plazmiti üzerine koruyucu aktivitesinin tespiti için deney tasarımı.	34
Tablo 6. <i>D.m</i> bitkisinin ekstraksiyon verimleri.	36
Tablo 7. Toplam fenolik madde miktarı bulguları.	36
Tablo 8. Toplam toplam flavonoid madde miktarı bulguları.	37
Tablo 9. Antioksidan aktivite (ABTS) bulguları ve IC ₅₀ değerleri.	38
Tablo 10. Antioksidan aktivite (DPPH) bulguları ve IC ₅₀ değerleri.	40
Tablo 11. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivite (MİK) bulguları.	42
Tablo 12. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivite bulguları.	43
Tablo 13. Ekstrelerin fenolik bileşen içeriği.	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Doronicum</i> cinsinin Dünya'daki yayılış alanları	4
Şekil 2. <i>Doronicum macrolepis</i> türünün Türkiye'de yayılış alanları.....	5
Şekil 3. Doğal ortamında <i>Doronicum macrolepis</i>	5
Şekil 4. Sekonder Metabolitlerin Genel Sınıflandırması	7
Şekil 5. Moleküler oksijenin indirgenmesi	9
Şekil 6. Oksidatif stres hasarı.....	11
Şekil 7. pUC19 plazmit DNA	24
Şekil 8. Ekstraksiyon işlemi.....	27
Şekil 9. Petrilere transformasyon sonucu oluşan mavi renkli koloniler	33
Şekil 10. Çoğaltılan pUC19 plazmitine ait jel görüntüsü	33
Şekil 11. HPLC cihazı polifenolik bileşik standart kromatogramı	35
Şekil 12. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan <i>D.m.</i> ekstraktlarında gallik asite karşılık gelen fenolik madde miktarı	37
Şekil 13. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanan <i>D.m.</i> bitki ekstraktlarında kuersetine karşılık gelen flavonoid maddelerin miktarı.....	38
Şekil 14. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan <i>D.m.</i> bitki ekstraktlarındaki askorbik asite karşılık ABTS bulguları	39
Şekil 15. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan <i>D.m.</i> bitki ekstraktlarındaki troloksa karşılık ABTS bulguları	39
Şekil 16. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan <i>D.m.</i> bitki ekstraktlarındaki askorbik asite karşılık DPPH bulguları	40
Şekil 17. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan <i>D.m.</i> bitki ekstraktlarındaki troloksa karşılık DPPH bulguları	41
Şekil 18. Farklı ekstraksiyon metodlarıyla hazırlanmış <i>Doronicum macrolepis</i> 'e ait ekstrelerin DNA koruyucu aktiviteleri.....	44

EKLER

EK 1. Fenolik madde tayini için gallik asit standart grafiği	72
EK 2. Flavonoid madde tayini için kuersetin standart grafiği	72
EK 3. ABTS için askorbik asit standart grafiği.....	73
EK 4. ABTS için troloks standart grafiği.....	73
EK 5. DPPH için askorbik asit standart grafiği.....	74
EK 6. DPPH için troloks standart grafiği.....	74
EK 7. Disk dufuzyon test sonuçları	75
EK 8. HPLC analiz sonuçlarına ait pikler	76
EK 9. HPLC analiz sonuçlarına ait pikler (EK 8. devamı)	77

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

24h	: 24 h çalkalayıcı
24h+30'US	: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu
24h+60'US	: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu
30'US	: 60 dk ultrasonik su banyosu
60'US	: Askorbik asit eşdeğeri
AAE	: Amerika Birleşik Devletleri
ABD	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ABTS	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
ATCC	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
ATP	: Adenozin trifosfat
Bp	: Baz çifti
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
H	: Hidrojen
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCL	: Hidroklorik asit
HO•	: Hidroksil radikali
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IPTG	: İzopropil β-d-1-tiyogalaktopiranosid
Kb	: Kilobayt
LB	: Lysogeny Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MSC	: Çoklu Klonlama Bölgesi
NO-	: Nitrik oksit
O•2	: Süper oksit anyon radikali / Singlet oksijen
OH-	: Hidroksil anyonu
QE	: Kuersetin eşdeğeri
RNA	: Ribo Nükleik asit
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri XIII
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
spp.	: Türler

subsp.	: Alt tür
TAE	: Tris-Acetate-EDTA
TE	: Troloks eşdeğeri
UV	: Ultra viyole
X-GAL	: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside
YETEM	: Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi
DMSO	: Dimetil sulfoksid
<i>D.m</i>	: <i>Doronicum macrolepis</i>



GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

İnsanlık, var olduğu günden bu yana şifalı bitkileri incelemiş ve birçoğunu çeşitli hastalıkların tedavisi veya beslenme amaçlı olarak kullanmışlardır (Cowan, 1999; Petrovska vd., 2012). Zamanla bu bitkiler yeni ilaçların geliştirilmesi için de ilham kaynağı haline gelmiştir (Verma vd., 2015). Çünkü bitkilere tıbbi özellikler kazandıran belirli sekonder metabolitler vardır (Guru vd., 2021). Bitkilerde farklı biyosentetik özelliklere sahip olan bu metabolitler, azotlu bileşikler (siyanojenik glukozitler, alkaloidler ve glukozinolatlar), fenolik bileşikler (flavonoidler ve fenilpropanoidler) ve terpenler (izoprenoidler) olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Sekonder metabolitler ilaç öncülleri olarak düşünülebilirler (Fang vd., 2011). Özellikle sentetik madde kullanımının yarattığı yan etkilerle birlikte en güvenilir, en ucuz ve en ulaşılabilir alternatif doğal kaynaklardan biri olan bitkilerin kullanım eğilimi artmıştır (Naveen vd., 2021). Bitkilerin fitokimyasal yapısı, farmakolojik etkileri açısından benzersiz bir keşif kaynağı oluşturmaktadır. Dünyanın birçok yerinde bitkilerin farklı kısımları (yapraklar, çiçekler, meyveler, rizomlar, yumrular, kökler, saplar ve ağaç kabuğu) ekstrakt veya karışım olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Bordoloi vd., 2023). Bununla birlikte, bu karışımların olası etkilerinin bilimsel verilerle doğrulanması da gereklidir.

Modernleşme ve kendine özgü yaşam tarzlarının oluşmasıyla birlikte günümüzde pek çok sorun ortaya çıkmıştır. Özellikle yaşadığımız Kovid-19 salgın süreci insanlarda ciddi bir strese neden olmuştur (Bhuiyan vd., 2021). Stres hücrel dengeyi bozan ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına neden olan önemli bir faktördür (Sun vd., 2022). Öte yandan ilaca dirençli mikroorganizmaların neden olduğu bulaşıcı hastalıklar da artmaktadır (Çicek vd., 2013). Bu sorunları ortadan kaldırmak veya azaltmak için sentetik ilaçlara kıyasla daha güvenli, ekonomik, doğal ve yan etkileri daha az olan yeni alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır (Özcan, 2021). Bu bağlamda, bitkiler önemli bir kaynak teşkil etmektedir. Yapılan çalışmalar, bitkilerin sahip oldukları sekonder metabolitler ile antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, antikanser ve enzim inhibe edici pek çok biyolojik aktivitelerden sorumlu olduklarını ortaya koymaktadır (Ozcan ve Acet, 2018; Saleem vd., 2019; Elansary vd., 2019; Borah vd., 2019).

Türkiye, farklı yükselti ve iklim koşulları nedeniyle çok geniş bir bitki örtüsüne sahiptir. Yetişen bitkilerin birçoğu aromatik olup çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın

olarak kullanılmaktadır (Altındal, 2019). Ancak ne yazık ki bu bitkilerin hangi kısımlarının, nasıl kullanıldığına dair bilgiler oldukça sınırlıdır. Bu nedenle geleneksel olarak kullanılan bitkilerin yeni araştırma ve bilimsel verilerle desteklenmesi, sentetik ürünlerin olası zararlarına karşı yeni doğal ve sağlıklı ürünlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle daha önce kullanılan doğal yöntemler bilim adamlarına ilham kaynağı olmaktadır. Bu anlamda görsel güzellikleriyle dikkat çeken, eski çağlardan beri tıbbi özellikleri sayesinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılan *Asteraceae* üyeleri (papatyalar) ön plana çıkmaktadır (Hossain, 2011; Ahmed vd., 2021).

Asteraceae, çiçekli bitkilerin en geniş familyasıdır ve yaklaşık 1700 cins ve 32000 tür ile temsil edilmektedir. Bu familyanın, sahip olduğu sekonder metabolitler sayesinde çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bildirilmiştir (Vestena vd., 2023). Çoğunlukla kuzey ve doğu Anadolu dağlarındaki nemli bölgelerde yetişir. Bu cinse ilişkin son kapsamlı çalışma 2000'li yılların başında gerçekleştirilmiş ve bu türe ilişkin çeşitli morfolojik ve moleküler çalışmalar ile bu cinsin sistematüğünü aydınlatmaya çalışılmıştır. *Asteraceae* türlerinin, ekstrakt veya uçucu yağ formunda, beslenme ve tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir (Roig, 1965; Denisow-Pietrzyk vd., 2019; Kladar vd., 2015). Yine bu familyaya ait türlerin, gastroprotektif, antioksidan, sitotoksik, anti-obezite, anti-inflamatuar, spazmolitik ve antimikrobiyal etkiler gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Awuchi vd., 2023). *Doronicum macrolepis* Freyn. & Sint. de (Kaplanotu) bu familyaya ait olan endemik bir türdür ve halk tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Edmondson, 1975). Avrupa'da *Doronicum* türleri kalp hastalıkları, sara, sıtma, intestinal bozuklukları ve zehirli hayvan ısırıklarının giderilmesi gibi çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Büyük, gösterişli çiçekleri nedeniyle Avrupa'da süs bitkileri olarak da yetiştirilmektedir. Birçok çalışma, *Doronicum* türlerinin toprak üstü kısımlarının, kök ekstraktlarının pirrolizidin alkaloidleri, flavonoidler, kumarinler, terpenler ve benzofuran (bir tremeton türevi) gibi bileşikler içerdiğini göstermiştir. Esansiyel yağların içeriği arasında seskiterpen ve monoterpen bileşikleri öne çıkmaktadır. *Doronicum* türlerinin içerdiği çeşitli biyoaktif bileşenler sayesinde, doğal bir ilaç olarak kullanılma potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden, *Doronicum* türü üzerine, özellikle yeni saf bileşiklerin ortaya çıkarılması ve etkilerinin belirlenmesini kapsayan, daha fazla araştırma yapılması beklenmektedir (Erarslan vd., 2023).

Literatürde, *D.macrolepis* üzerine yapılmış sınırlı çalışma bulunmakla birlikte (Akpınar vd., 2009; Ozcan, 2020), bu bitkinin etanol ile farklı ekstraksiyon yöntemleri

kullanılarak elde edilen ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, *D.macrolepis*'in etanol ile farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak (24 saat çalkalayıcı, 24 saat çalkalayıcı + 30 dakika ultrasonik banyo, 24 saat çalkalayıcı + 60 dakika ultrasonik banyo, yalnız 30 dakika ultrasonik banyo ve yalnız 60 dakika ultrasonik banyo muameleri ile) elde edilen ekstraktların fitokimyasal profilinin aydınlatılmasının yanı sıra, antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruma aktivitesi gibi biyolojik aktivitelerinin de belirlenmesidir. Bu çalışma, endemik bir tür olan *Doronicum macrolepis* bitkisinin DNA koruma aktivitesi üzerine yapılan ilk kapsamlı çalışma olma niteliğindedir.

1.2. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında, Gümüşhane ili, Artabel Gölleri Milli Parkı'nın yüksek kesimlerinde endemik olarak yayılış gösteren; bölge halkı tarafından geleneksel halk tıbbında ve gıda olarak tüketilen *Doronicum macrolepis* bitkisinin etanol ile farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstaktların bazı biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, farklı yöntemler kullanılarak hazırlanmış ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin; antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, fenolik içeriğinin aydınlatılması ve bunlara ek olarak ilk kez DNA koruyucu aktivitesinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Halen bölge halkı tarafından gelişigüzel ve bilinçsiz şekilde tüketilen söz konusu bitkinin biyolojik özelliklerini yitirmeden, en etkili yöntemlerle kullanımının bilimsel verilerle ortaya konulması hedeflenmektedir.

1.3. *Doronicum macrolepis* (D.m) Bitkisiyle İlgili Genel Bilgiler

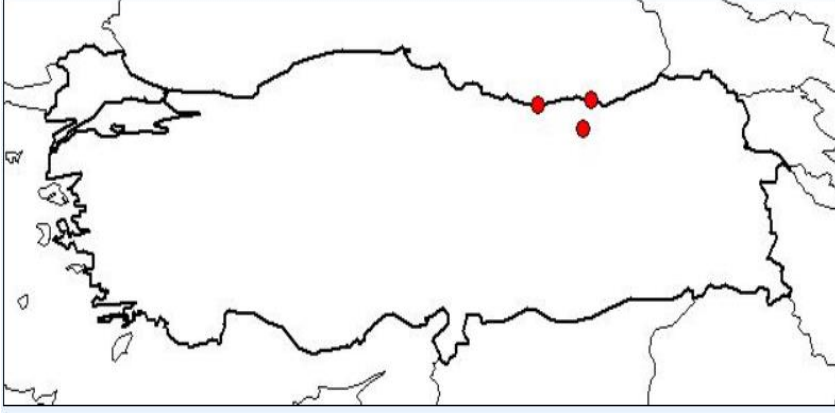
Son verilere göre *Doronicum* cinsi dünya çapında 163'a yakın türle temsil edilmektedir (URL 1). Bu türlerin neredeyse yarısı Avrupa'da ve Afrika'nın kuzey kesimlerinde dağılış göstermektedir. Bununla birlikte, diğer kısmı ise Asya'nın orta ve güneybatı kısımlarına özgü olarak yetişmektedir (Skof vd., 2019). *Doronicum orientale* haricinde, bu cinsteki türlerin dağılımı genellikle üç bölgeden biriyle sınırlıdır: Avrupa, güneybatı Asya veya orta Asya. *D. orientale*, Avrupa ve güneybatı Asya'da yaygındır, ancak görülme sıklığı esas olarak Doğu Akdeniz bölgesinde (Yunanistan, kuzey Türkiye, güney İtalya ve Lübnan-Suriye) artmaktadır (Şekil 1) (Fernandez vd., 2003; Fernandez vd., 2001).



Şekil 1. *Doronicum* cinsinin Dünya'daki yayılış alanları (Erarslan vd., 2023).

Cins isminin etimolojisine bakıldığında *Doronicum* isminin kökeninin Arapça darānāj, darāunāj kelimesine dayandığı görülmektedir (Mikaili vd., 2012). İbn-i Sina'nın “Kitab-ül-Adviya Qalbiya” adlı eserinde kalp hastalıkları tüm yönleriyle anlatılmaktadır. Buna göre, *Doronicum hookeri*'nin kalp hastalıklarını tedavi etmede etkili olduğu ifade edilmiştir. Yine, *Doronicum scorpioides* türünün köklerinin (yerel adı: leopar büyüğü, leopar örümcekkuşu) Doğu Akdeniz'de göz hastalıklarını tedavi etmek ve cinsel isteği bastırmak için kullanıldığı bildirilmektedir (Lev vd., 2015). Bununla birlikte, *D.m* türünün köklerinden elde edilen toniğin (karaciğeri, kalbi, sindirim sistemini ve duyu organlarını güçlendirici etkisi dolayısıyla) Azerbaycan'da kullanıldığı bilinmektedir (Alakbarov vd., 2001). Ayrıca, Osmanlı döneminde *D. scorpioides*'in çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Lev vd., 2002).

Türkiye Florasındaki *Doronicum* cinsinin revizyonu Edmondson tarafından yapılmıştır. Buna göre *Doronicum* türü ülkemiz florasında 14 tür (yaklaşık onbeş takson) ile temsil edilmektedir. *Doronicum*'un türü güneybatı Asya'da, özellikle de Türkiye'nin doğusunda yaygın olarak dağılmaktadır. Anadolu'da bulunan 15 taksonun 8'i endemiktir (Güner vd., 2012). Endemizm oranının çok yüksek olması ülkemizin bu cins için çeşitlilik merkezi olduğunu düşündürmektedir. Bu endemik çeşitliliğe Gümüşhane, Trabzon ve Giresun illerinde yaygın olan *D.m* örnek verilebilir (Şekil 2).



Şekil 2. *Doronicum macrolepis* türünün Türkiye’de yayılış alanları (URL 2).

D.m bitkisinin tanımı: Dayanıklı bir bitki olup, yaklaşık bir metre yüksekliğinde, seyrek yapraklı, üst kısmında dallanan, uzun, beyaz ve kısa tüylerle kaplı saplara sahip. Yapraklar uzun saplı olup, 20 cm'ye kadar genişlikte, yumurta ve kalp şeklinde, seyrek dişli kenarlara sahiptir; 4 cm'ye kadar olan başçıklar sarı çiçeklerle kaplanmıştır (URL 3).



Şekil 3. Doğal ortamında *Doronicum macrolepis* (URL 3).

D.m dünya flora konsorsiyumuna göre (WFO, 2024), *Doronicum macrophyllum* Fisch. subsp. *macrophyllum* eşanlamlısı ile de güncel olarak kullanılmaktadır.

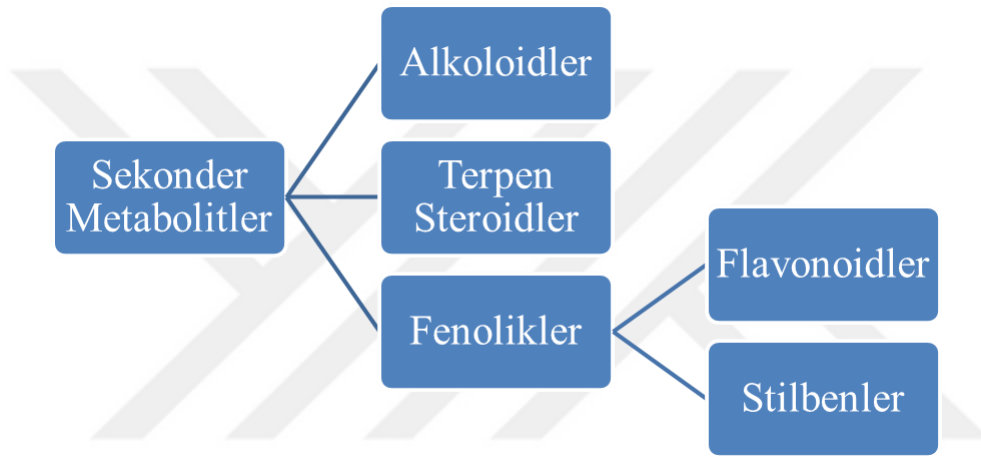
1.4. Bitkisel Sekonder Bileşikler

Bitkiler karbonhidrat, protein ve lipid gibi bitkilerin yaşamsal fonksiyonlarını doğrudan etkileyen primer ürünlerin yanı sıra zorlu çevresel etkilerle başa çıkabilmek için sekonder bileşikler sentezlerler (MacCari vd., 2011; Tiring vd., 2020). Bu metabolitlerin, dikkate değer biyolojik aktiviteleri vardır ve tedavi, besin ve gıda katkı maddeleri gibi çeşitli amaçlar için kullanılabilirler (Akileshwar vd., 2012; Güven ve Gürsul, 2014; Yang vd., 2018).

Modern çağın, insanların yaşam biçimleri üzerinde pek çok olumsuz etkileri olmuştur. Enerji fazlalığı, kilo artışı, obezite ve birçok kronik hastalığın artışı gibi sorunlar dikket çekici hale gelmiştir (Berberoğlu ve Hocağlu, 2021). Bu nedenle, tüketicilerin sağlığı artırmayı amaçlayan hem gıda olarak tüketilebilen hem de tedavi edici özellikte olan doğal takviye ürünlere olan taleplerini artırmıştır. Bu durum, bitki bazlı fonksiyonel ürünlerinin üretimi ve genişlemesi konusundaki endüstrilerde ilerlemeye neden olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre, küresel nüfusun yaklaşık %80'inin sağlık problemleri ile karşılaştıklarında, çözüm olarak geleneksel halk tıbbına başvurduğunu belirtmiştir (Min vd., 2012). Örneğin halk tıbbı aracılığı ile, bitkisel kaynakları tüketen kişilerde kanser riskinin azaldığını gözlenmiştir (Anand vd., 2016). Bitkilerden elde edilen doğal biyo bileşikler, ilaçlar, fonksiyonel gıda içerikleri, parfümler, gıda katkı maddeleri ve pigmentler olarak kullanılabilirler (Nohutçu vd., 2019; Bozkır vd., 2022). Bu nedenlerden dolayı bitkisel ekstraktların üretimi ve saflaştırılması bilimsel araştırmaların ilgi odağını oluşturmaktadır.

Bitki sekonder metabolitleri, yalnızca bitkiler tarafından üretilen 12.000'den fazla alkaloid, 40.000 terpenoid ve 8000 fenil propanoid için kullanılan genel bir terimdir (Elshafie vd., 2023). Sekonder metabolitler primer metabolizmanın son ürünleri olarak kabul edilir ve bitki hormonları arasındaki etkileşimi, bitkilerin zorlu koşullar altında uyum sağlamasına ve hayatta kalmalarına olanak tanıyan önemli bir düzenleyici mekanizmadır. (Kumari vd., 2023). Bu biyo-bileşikler savunma kimyasalları olup yokluğu bitki için herhangi bir kötü etkiye neden olmadığı gibi insanlarda da sağlığı desteklemektedir. Bu biyoaktif bileşikler, konsantrasyonları ve saflıklarına bağlı olarak insanlar ve hayvanlar üzerinde toksikolojik veya farmakolojik etkilere neden olabilirler. Örneğin antioksidan, anti-kanserojen, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal özelliklerle karakterize edilirler. Birkaç bitki sekonder metabolitlerinin, DNA'da hasara neden olan ve dolayısıyla karsinogeneze yol açan oksidatif stresi ve inflamasyonu önleme kapasiteleri nedeniyle potansiyel antikanser aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Blok vd., 2015; Dionysia vd., 2021). Antioksidanlar, doğal ve

sentetik yollarla elde edilebilen, oksidasyon sürecini engelleyebilen bileşiklerdir. Özellikle bitkiler, antioksidanlarca çok zengindir (Satyajit vd., 2006; Poljsak vd., 2021). Potansiyel antioksidan aktiviteye sahip bitki sekonder metabolitleri, gıda kalitesini iyileştirmek ve kişisel yaşam kalitesini arttırmak için birçok kemosentetik maddeye doğal alternatifler olarak düşünülebilir (Paine vd., 2005; Jiang vd., 2016). Bitkisel kaynaklardan sekonder bileşiklerin kullanımında yer alan başlıca adımlar, ekstraksiyon, tarama, izolasyon ve karakterizasyon, toksikolojik ve klinik değerlendirme olarak sıralanabilirler (Kumar vd., 2010). Kimyasal içeriğine bağlı olarak, bitki bazlı sekonder metabolitler alkaloidler, fenolikler ve terpenoidler olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır (Topcu vd., 2015) (Şekil 4).



Şekil 4. Sekonder Metabolitlerin Genel Sınıflandırması (Topcu vd., 2015).

1.4.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, tüm bitkilerde bulunan ve esas olarak pigmentlerle temsil edilen büyük bir gruptur. Bu grupta hücre duvarlarının güçlendirilmesine yardımcı olan lignin gibi yapısal işlevlere sahip bileşikler de bulunmaktadır. Bitki savunmasında yer alan diğer maddeler (örneğin kumarinler, stilbenler, izoflavonoidler, proantosiyanidinler, yoğunlaştırılmış tanenler), tozlaşma ve tohum gelişiminde kimyasal olarak işlev gören, daha çok asit hidroksil grubu içeren aromatik bileşenlerdir. Fenolik bileşikler flavonoidler ve stilbenler olarak iki kategoriye ayrılmaktadırlar (Alvarez, 2016).

Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan, bitki büyümesine ve gelişimine katkıda bulunan ve gıda ve tıpta önemli uygulamaları olan önemli bir ikincil metabolit sınıfıdır. Flavonoidlerin biyosentezi uzun zamandır bitki biyolojisinde yoğun araştırmaların odak noktası olmuştur. Flavonoidler, fenilpropanoid metabolik yolundan

türetilir ve C15-C6-C3-C6 benzen halka yapısından oluşan temel bir yapıya sahiptir (Liu vd., 2021). Flavonoidler; genellikle hücre stromasında bulunurlar. Bitkinin meyve ve çiçeklerindeki renk oluşmasında, polinatör çekiminde (pelargonidin, siyanidin, delphinidin), bitkilerin UV-B radyasyonuna karşı korunmasında (kaempferol), kuraklık, metal stresi, yanma ve kıtlık zamanlarında sentezlenirler (Fernandez, 2016).

Stilbenler; esas olarak bitki koruma amaçlı kullanılmaktadır. Stilben grubunda en çok resveratrollar bulunmaktadır. Cis ve trans izomerleri içeren Resveratrol, stresli ortamda (saldırıları ve patojenler) üretilmektedir. Resveratrolların trans izomerleri, antioksidan aktivitesi nedeniyle insanlarda kalp hastalığının tedavisinde faydalıdır. Günümüzde Trans-resveratrolün elde edilebildiği pek çok bitkisel kaynak bulunmaktadır ve bunlar tıp ve kozmetik alanlarda kullanılmaktadır.

Bitki bazlı ürünlerin sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin çoğu, antioksidan etkiye sahip fenolik bileşiklere atfedilmektedir (Thangapazham vd., 2006; Erlund vd., 2008; Demir vd., 2019; Fisher vd., 2015; Balasundram vd., 2006). Bugüne kadar 8.000'den fazla bitki fenolik bileşiği rapor edilmiş olup, biyoteknolojik yöntemlerle bu fenolik bileşiklere sürekli olarak yeni bileşikler eklenmektedir (Harborne ve Williams, 2002; Naczki ve Shahidi, 2006).

1.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, ilk kez Moses Gomberg tarafından tanımlanmıştır (Gomberg vd., 1900). Reaktif oksijen türleri (ROS, serbest radikallerin kısmi indirgenmesi veya türevleri) oldukça reaktif, tehlikeli ve oksidatif hücre ölümüne neden olabilecek yapılardır (Mansoor vd., 2022). Uzun bir süre boyunca, yüksek reaktivliği ve kısa ömürlülüğü nedeniyle biyolojik ortamlarda bulunmadıkları düşünülmüştür. Bununla birlikte, Leonor Michaelis (1939), organik molekülleri içeren tüm oksidasyon reaksiyonlarının serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşeceğini öne sürmüştür. Bu ifade genellikle yanlış olmasına rağmen, biyolojik süreçlerde serbest radikallerin rolüne ilgiyi artırmış ve 1950'lerde, biyolojik sistemlerde serbest radikaller bulunmuştur (Commoner vd., 1954). Böylece, ROS'ların birçok hücreyel yapının zarar görmesine ve hücreyel homeostazın bozulmasına yol açabileceği düşünülmeye başlanmıştır (Fang vd., 2003, Cai vd., 2004).

Aerobik ortamda yaşayan organizmanın tüketilen oksijenin %90'dan fazlası, elektron taşıma zinciri (ETC) içinde sitokrom oksidaz tarafından dört elektronlu mekanizmalar aracılığıyla ROS salınımı olmaksızın doğrudan suya indirgenir (Skulachev, 2012). Eukaryotlarda, sistem iç mitokondri membranında bulunan ETC tarafından temsil edilir, prokaryotlarda ise ETC bileşenleri plazmatik membranda

$$\begin{array}{c}
 \text{O}_2 \xrightarrow{\bar{e}} \text{O}_2^{\bullet -} \xrightarrow{2\text{H}^+} \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\bar{e}} \text{HO}^\bullet + \text{HO}^- \\
 \downarrow 4\bar{e} \quad 4\text{H}^+ \\
 2\text{H}_2\text{O} \xleftarrow{\bar{e}, \text{H}^+ (\text{H}^\bullet)} \text{HO}^\bullet \xleftarrow{\text{H}^+} \text{HO}^-
 \end{array}$$

H_2O_2 molekülü bir elektron daha alarak hidroksil radikali ($HO^\bullet$) ve hidroksil anyon (OH^-) oluşturur. Sonunda, $HO^\bullet$, proton ve elektronlardan bir daha alarak su molekülünün oluşumuna neden olur. Biyolojik sistemlerde bu reaksiyon genellikle farklı bileşenlerden (proteinler ve lipidler gibi) bir hidrojen atomunun çıkartılması yoluyla sıkça zincir süreçlerinin başlatılmasına neden olur. Kısaca, O_2 , H_2O_2 ve $HO^\bullet$ toplu olarak reaktif oksijen türleri olarak adlandırılır. Reaktif oksijen türleri yalnızca yukarıda bahsedilen O_2 , H_2O_2 ve $HO^\bullet$ 'yu içermez, aynı zamanda çeşitli peroksitleri, lipid peroksitleri ve proteinlerin peroksitlerini ve nükleik asitleri içerir. Dahası, ROS'un homeostazı, reaktif karbon türleri (glikozal, metilglikozal gibi) (Semchyshyn vd., 2012) gibi birçok diğer reaktif türle (RS) yakından ilişkilidir. Ayrıca, azot (azot oksit, peroksinitrit ve ilgili bileşikler), karbon, kükürt, halojenler, vb. gibi birçok başka ROS türleri de vardır (Bild vd., 2013; Radi vd., 2013).

9

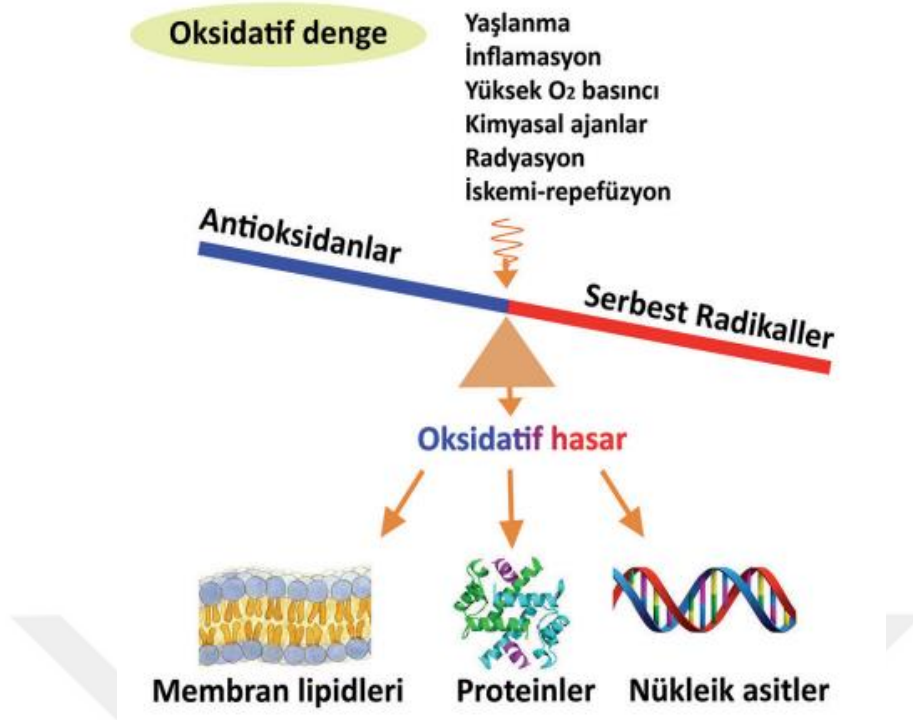
m¼cadelede etkili bir fakt¼r olabilir. Doğal antioksidanların m¼kemmek alternatif kaynaklarının başında bitkisel ¼r¼nler gelmektedir (Zafar vd., 2023; Trevizan vd., 2020). Bu ¼r¼nler, antioksidan aktiviteye sahip bir dizi madde içerir, ¼rneęin vitaminler A, C ve E ve karotenoidler (Razali vd., 2012); fenolik bileşenler (fenolik asitler, flavanol, flavonlar, kateşinler, antosiyaninler ve antosiyadidinler, lignanlar ve stilbenler); tanenler; ve kumarinler (Miser-Salihoglu vd., 2023). ¼zellikle, bitkilerde en bol miktarda bulunan ve besinlerden en yaygın olarak alınan antioksidan grubu olan fenolik bileşenler dikkat çekmektedir (Scalbert vd., 2005).

1.5.1. Oksidatif Stres

Canlı organizmalar s¼rekli olarak ROS'ların saldırısıyla, otomatik olarak oksidatif strese maruz kalır. Oksidatif stres, kanser, diyabet, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar, kardiyovask¼ler ve n¼rolojik hastalıklar dahil olmak ¼zere birçok hastalığın sorumlusudur (Berlett, 1997; şahin, 2017). Canlı organizmalar ROS saldırılarıyla m¼cadele edebilecek karmaşık bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Ancak bazı durumlarda bu denge bozulur ve oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, oksidan-antioksidan dengesinde potansiyel hasara yol açabilecek, oksijen toksisitesinin v¼cut h¼creleri ¼zerinde yaratabileceği sayısız yan etkiye yol açabilecek olumsuz bir değişiklik olarak tanımlar (Jaganjac vd., 2022). Oluşan bu denge durumunun bozukluğu aşağıdaki koşulların biri veya birkaçının kombinasyonu ile bozulabilmektedir.

- ROS ¼retimi ile bağlantılı oto-oksidasyona giren endojen ve eksojen bileşenlerin artan seviyesi,
- D¼ř¼k molek¼ler k¼t¼leli antioksidan rezervlerinin t¼kenmesi,
- Antioksidan enzimlerin inaktivasyonu,
- Antioksidan olan enzimlerin ve antioksidan ¼retiminin azalması (Sies, 1997).

şekil 6, antioksidanlar ve reaktif oksijen t¼r¼leri arasındaki dengesizlik nedeniyle oluşabilecek oksidatif stresin neden olduğu hasarı g¼stermektedir.



Şekil 6. Oksidatif stres hasarı (Özcan vd., 2015).

1.6. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarını önleyebilen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Shinde vd., 2012). Antioksidanların serbest radikallere karşı afinitesi yüksektir. Bu nedenle vücutta oksidanlar belirli bir seviyeye kadar artsa bile vücutta her zaman sabit düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından nötralize edilir. Genel olarak antioksidanlar, küçük miktarlarda bile olsa, DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlerin oksidasyonunu yavaşlatabilir ve önleyebilir, böylece hücreler içindeki oksidan/antioksidan dengesinin korunmasını sağlayabilirler (Halliwell, 1990; Casas-Grajales ve Muriel, 2015). Antioksidanlar genellikle reaktif oksijen türlerinin üretimini ve çoğalmasını engeller ve yararlı etkilerini çeşitli mekanizmalar yoluyla gösterirler. Bu mekanizmalar:

- Antioksidanların yakaladığı serbest radikalleri toplayıp daha stabil yapılara dönüştürerek,
- Zincir kesme fonksiyonu ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak,
- Reaksiyonları inhibe ederek hızını düşürerek,
- Biyomoleküllerdeki hasarı onararak onarıcı bir etkiye sahiptir.
- Vücuttaki antioksidan enzimlerin aracılığı ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini artırarak çalışırlar.

- Oksidasyonu başlatan yüksek derecede reaktif türleri yakalayarak (Nawar, 1996; Brewer, 2011).

Antioksidanların benzersiz yapısal özellikleri, fiziksel konumları, indirgeme potansiyelleri, aktivasyon enerjileri, uçuculukları ve termal hassasiyetleri bunların etkinliğini etkiler. Mükemmel özelliklere sahip antioksidanlara, zincir reaksiyonlarının yayılmasını önleyen antioksidanlar denir. Antioksidanlar, bir H atomu tutma yeteneklerinden dolayı reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini sınırlayarak temizleme yeteneğine sahiptirler (Brewer, 2011).

1.7. Mikroorganizmalar

Çalışmış olduğumuz bu tezde, *Doronicum macrolepis* ekstraktının antibakteriyel özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla insanlarda, hayvanlarda ve gıdalarda yoğunluk gösteren patojen mikroorganizmalar kullanılmıştır. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi 6 adet Gram (-) bakteri, 9 Gram (+) bakteri ve 1 maya olmak üzere toplam 16 mikroorganizmaya karşı araştırılmıştır (Tablo 1). Yapılan analizde *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Salmonella thyphimurium*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus hirae*, *Xanthomonas spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* mikroorganizmaları ve *Candida tropicalis* mayası kullanılmıştır.

Tablo 1. Antimikrobiyal testlerde kullanılan mikroorganizmalar.

Cinsi	Mikroorganizma Adı	Suş Numarası
Gram (+) Bakteri	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300
	<i>Enterococcus faecium</i>	DSMZ 13590
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	
	<i>Bacillus cereus</i>	
	<i>Enterococcus hirae</i>	RSKK 709
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 10541
	<i>Salmonella typhimurium</i>	CCM 5445
Gram (-) Bakteri	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 29,998
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13,883
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	ATCC 911
	<i>Xanthomonas spp.</i>	ATCC 6538
Maya	<i>Candida tropicalis</i>	NRRL YB-366

Salmonella typhimurium: *Enterobacteriaceae* familyasına ait olan *S. typhimurium*, çubuk şeklinde gram-negatif bir bakteri türüdür. İnsanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak enfeksiyonlara neden olan bir mikroorganizma türü olduğu bilinmektedir (Brenner vd., 2000). Salmonella vakalarının çoğuna *S. typhimurium* ile kontamine olmuş yiyecekler neden olur. Çiftlik hayvanlarının ve kümes hayvanlarının bu bakteri ile yaygın olarak enfekte olduğu bilinmesine rağmen, evcil kedilerin ve hamsterlerin de bu organizmayı taşıdıkları ve insanlarda enfeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Az pişmiş kümes hayvanı eti ve yumurta tüketildiğinde Salmonella yayılır ve enfeksiyona neden olmaktadır (Swanson vd., 2007).

Escherichia coli: Bu bakteriler *Enterobacteriaceae* familyasına ait olup gram negatif, hareketli, fakültatif anaerobik ve spor oluşturmeyen bir bakteridir (Buranasinsup vd., 2023). Sıvı ortamda hızlı bir şekilde çoğalabilirler ve tek veya çift olarak gözlemlenebilirler (Ewers ve ark., 2004). *Escherichia* cinsinde yedi tür bulunmaktadır. Bunlar: *E.coli*, *E.adecarboxylata*, *E.hermanii*, *E.fergusonii*, *E.blattae*, *E.vulnaris* ve *E.alberti*. Bunlardan en önemlisi *E.coli*'dir (Ewers vd., 2004).

Escherichia coli hem insanlarda hem de hayvanlarda çok çeşitli yaygın bakteriyel hastalıklardan sorumlu olan en yaygın patojenlerden biridir (Islam vd., 2023). Vakaların çoğunda *E. coli* tipik olarak bağırsak mikrobiyotasında bulunur, ancak bazı *E.coli* türleri kümes hayvanlarında kolibasiloz gibi çeşitli ciddi enfeksiyonlardan sorumludur; süt

sığırlarında mastitis, insanlarda idrar yolu enfeksiyonu, neonatal menenjit, sepsis gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır (Ievy vd., 2020; Islam vd., 2021). Bu organizma aynı zamanda zoonotik özelliklerinden dolayı daha yıkıcı etkiler geliştirme yeteneğine de sahiptir (Rahman vd., 2020). Ayrıca *E. coli* patojeninin insanlardan ve hayvanlardan çevresel ortamlara geçme olasılığı da bulunmaktadır.

***Klebsiella pneumoniae*:** *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae* familyasına aittir. Hareketsiz, gram negatif ve fakültatif anaerobik bir basildir. *K.pneumoniae* bitkilerde, toprakta ve suda bulunur ve insanların nazofarinks ve gastrointestinal kanalının normal mikrobiyotasının bir parçası olarak bulunur. Normalde ağız boşluğunda, ciltte ve bağırsak florasında bulunmasına rağmen, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerin solunum yollarında kolonize olduğunda yıkıcı hasarın yanı sıra iltihaplanma, hücre ölümü ve kanamaya neden olabilir ve büyük miktarlarda ciddi semptomlara neden olabilir (Cejas vd., 2022). *K.pneumoniae*, özellikle hastanede yatan bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, nozokomiyal ve toplumdan edinilen enfeksiyonlarla ilişkili en önemli fırsatçı patojenlerden biri olarak kabul edilir; aynı şekilde, *K.pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar, antimikrobiyal ajanların kullanımıyla artmaktadır. *K.pneumoniae* esas olarak yanık yaralarında, solunum ve idrar yollarında enfeksiyonlara neden olur (Endemik hastalık olarak piyozenik karaciğer apsesi, 2008).

***Yersinia pseudotuberculosis*:** *Yersinia* cinsi insanlar için patojen olduğu bilinen üç tür içerir: *Yersinia pestis* vebanın etken maddesidir, *Yersinia enterocolitica* ve *Yersinia pseudotuberculosis* ise yersiniosis adı verilen gıda kaynaklı enterik enfeksiyona neden olabilen enteropatojenlerdir. Yersiniosis'in tipik belirtileri ateş, karın ağrısı ve ishaldir; hastalık genellikle klinik olarak akut apandisit'ten ayırt edilemez ve bu da gereksiz apendektomilerle sonuçlanabilir. Ayrıca reaktif artrit ve eritema nodosum gibi enfeksiyon sonrası komplikasyonlar da ortaya çıkabilir. *Y.enterocolitica*'nın gıdalar yoluyla yayılabileceği uzun süredir biliniyordu. *Y.pseudotuberculosis*'in neden olduğu salgınların çoğu, başta havuç olmak üzere taze ürünler yoluyla bulaşmıştır. Ancak kirlenmiş içme suyu ve süt de *Y. pseudotuberculosis* salgınlarının kaynağı olmuştur (Keto-Timonen vd., 2018)

***Bacillus cereus*:** *Bacillus* türü ve ona bağlı olan cinsler, endospor oluşturan özellikleri nedeniyle tarih boyunca gıda üretiminde önemli bir rol oynamıştır. Son 30 yılda önemli taksonomik evrimler yaşanmış olup, 56 cins ve 545'ten fazla tür tespit edilmiştir. *Bacillus cereus*, endospor oluşturan, gram-pozitif, çubuk şeklinde bir bakteridir. Frankland tarafından ilk kez bir ahırın havasından yanlışlıkla izole edilmiştir

(Phil vd., 1887). *B.cereus*'un deniz suyu, yeşil sebzeler, gıda maddeleri, fomitler ve omurgasızların bağırsak yolu hastalıklarıdır (Kritik vd., 2022). *B.cereus*, gıda zehirlenmesine, kusmaya, şiddetli ishale ve ölümcül menenjitte (beyin ve ya omuriliği hastalığı) neden olabilen önemli bir gıda kaynaklı patojendir. *B.cereus*, yaygın olarak bulunan ve herhangi bir gıda işlemlerine kolayca kontamine olan bir bakteridir. Haşlanmış tahıllar, etler, sebzeler ve süt ürünlerinde büyümeleri daha yaygın rastlanmıştır. *B.cereus*, 'kızarmış pirinç sendromu'nun başlıca nedenidir; bu durum, haşlanmış pirincin birkaç saat boyunca oda sıcaklığında bırakılması ve *B.cereus* ile kontamine olması sonucu gıda zehirlenmesine yol açar. Bakteri sporları, oksijenin varlığında kolayca sporlaşabilir. 2018'de Avrupa Birliği üyesi ülkelerini *B.cereus* tarafından neden olan toplam 98 belgelenmiş salgın hatalık içermiştir (Leong vd., 2023).

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): MRSA burun deliklerinde ve deride, daha az oranda da idrar ve dışkıda kolonize olur. *Staphylococcus aureus*, vücudun mikrobiyotasında yaygın olarak çoğalmış, küresel morfolojiye sahip bir Gram+ bakteridir. Bu bakteri insanlarda ortak olarak yaşasada, gıda zehirlenmesine ve cilt enfeksiyonlarına yol açabileceğinden ciddiye alınabilecek bakteri olabilir. Antibiyotiğe dirençli (esas olarak metisiline dirençli) *S. MRSA olarak bilinen aureus* öncelikle *beta-laktam* antibiyotiklere dirençlidir. MRSA, *methicillin* ile ilk kez *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarını tedavi etmek amacıyla kullanılmaya başlandıktan sadece bir yıl sonra, 1961 yılında Birleşik Krallık'ta tanımlandı. Methicillin'in aktif bir şekilde sağlık alanında kullanılmamasına rağmen, *Staphylococcus aureus*'un oksasilin gibi yaygın olarak kullanılan *beta-laktam* antibiyotiklere direnci hala "metisilin dirençli" olarak adlandırılmaktadır (Alghamdi vd., 2023).

Pseudomonas aeruginosa: *P.aeruginosa* gram negatif, aerobik, kapsülsüz, hareketli, spor oluşturmeyen bir bakteridir. Dünya çapında hastane kaynaklı enfeksiyonların en yaygın ve önemli nedenlerinden biridir. Çevre koşullarına kolaylıkla uyum sağlayabilmelerinin yanı sıra nemli ve sulu ortamlarda da çok iyi üreme yeteneğine sahiptirler. *P.aeruginosa*. Sıklıkla üst solunum yollarını istila eder. *P.aeruginosa* alt solunum yoluna ilerleyerek primer pnömoniye neden olur. Özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan ve hastanede yatan hastalarda son derece ciddi ve hatta ölümcül enfeksiyonlara neden oluyor. Birçok antibiyotiğe dirençli olduğu bilinen *P.aeruginosa*, kullanılan antibiyotiklere karşı da hızla direnç geliştirmiştir. Direnç

geliştirme sorunu ve çevre koşullarına toleransı bu enfeksiyon etkeninin önemini arttırmaktadır (Zilberberg vd., 2010).

***Staphylococcus aureus*:** *Micrococcaceae* familyasına ait *S.aureus*, spor oluşturmeyen, gram pozitif, hareketsiz, fakültatif anaerobik, katalaz pozitif bir bakteridir. *S.aureus*, genellikle et ve balıklarda, makarnalarda, patateslerde ve süt ürünlerinde bulunan protein ve nişasta içeren gıdalarda gelişir. *S. aureus* bakterimi, kan dolaşımı enfeksiyonlarının yaygın bir nedeni olmaya devam etmektedir. Etkili antibakteriyel tedavilere rağmen, gelişmiş ülkelerde yıllık nüfus başlı görülme oranı 100.000 kişi başına 50'den fazla olup, ölüm oranı yaklaşık olarak %20-30'dur. Buna karşılık, akut miyokard enfarktüsünden kaynaklanan 30 günlük ölüm oranı yaklaşık olarak %10'dur. *S.aureus* bakteremisi olan hastaların çeşitli klinik belirtileri vardır; bazıları tesadüfen tespit edilen primer bakteremi ile asemptomatikken (mikrob taşıyıcısı), diğerleri embolik fenomenlerle (vücutta dolaşan bir kan pıhtısı) komplike (hastayı ağırlaştıran durumlara verilen isim) olan sürdürülmüş bir kan dolaşımı enfeksiyonuna sahiptir. *S.aureus*'un hastalık mekanizması iyi anlaşılamamıştır. (Lam vd., 2023). Birçok ülkelerde yapılan araştırmalarda, gıda zehirlenmesi olasılıklarının yaklaşık üçte birinin enterotoksijenik bakteri *S.aureus* ile kontamine olmuş gıda tüketiminden kaynaklandığını ortaya koymuştur (Rao vd., 2022).

***Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*:** Enterokoklar, toprak, tuzlu su ve tatlı su gibi çeşitli doğal yaşam ortamlarında bulunur ve aynı zamanda insanlar ve hayvanların sağlıklı gastrointestinal sistem, ağız boşluğu ve vajinal sistemlerinin normal mikrobiyotasının bir parçasıdır. *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleri, sağlık hizmeti ortamlarında önemli enfeksiyon nedenlerindendir, örneğin, ABD'de *E. faecalis* ve *E.faecium* sırasıyla tüm sağlıkla ilişkili enfeksiyonların %7.4'ünden ve %3.7'sinden sorumludur. Avrupa Birliği/Avrupa Ekonomik Alanı (AB/AEA) ülkelerinde, *E.faecalis* ve *E.faecium*, 2020 yılında Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetleme Ağı (EARS-Net) tarafından izlenen bakteri türlerinin %8.4'ünü ve %5.5'ini oluşturmuştu. Enterokoklar doğrudan hastalar arasında yayılabilir, ancak aynı zamanda kirli yüzeylerden, yatak korkuluklarından, yatak üstü masalardan, alarm düğmelerinden, tuvalet koltuklarından ve kapı kollarından edinilebilirler. Enterokoklara bağlı sağlıkla ilişkili enfeksiyonların yaygın klinik belirtileri arasında idrar yolu enfeksiyonu, hepatobiliyer sepsis, endokardit, cerrahi yara enfeksiyonu, bakteremi ve neonatal sepsis bulunmaktadır. Enterokoklara bağlı enfeksiyonların, antibiyotik dirençli formları da dahil olmak üzere kontrolü, bunların sağlık hizmeti ortamlarına girişini ve iletimini izlemek için araçları gerektirir. Burada, genotip ve genomik yaklaşımların, vankomisin

dirençli *Enterococcus faecium* (VREfm) nedeniyle sağlıkla ilişkili enfeksiyonların gözetimi bağlamında rolü incelenmektedir (O'Toole vd., 2023).

Bacillus subtilis: *Bacillus subtilis*, gram pozitif çubuk şeklinde bir bakteri olup, besi agarı üzerinde koloni formunda genellikle kaba, beyaz veya hafif sarı renkte ve dişli kenarlı olarak görünür (Lu vd., 2018). Bitki iyileştirmesi için *Bacillus* türleri, yüksek pH, yüksek tuzlu ortamlar ve fazla besin gibi stres toleransında yeteneklidir, bu da bitki büyümesini uyarır (Gingichashvili vd., 2017; Han vd., 2014). Radhakrishnan vd.,'nin (2017) çalışması, *Bacillus* türlerinin bitki büyümesini teşvik etmede gübre ve pestisit olarak önemli bir rol oynadığını ve olumsuz çevresel koşulları düzelterek ürün verimini değiştirdiğini göstermiştir. *B.subtilis*, özellikle bitki homeostazını koruyan 1-aminosiklopropan-1-karboksilat deaminaz gibi spesifik gen ve enzimlerin ifadesi aracılığıyla hastalık direncini de indüklemiştir (Glick vd., 2007). *Bacillus* türü (JG3), tuz toleransı, azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, amonyak, indol asetik asit aktiviteleri gibi özelliklere sahiptir (Vimal vd., 2018). *B.subtilis* grubunun aynı zamanda biyopestisit olarak ve bir bakteriosin bileşiği olarak bitki hasadından sonraki dönemde önemli olduğu belirlenmiştir (Tran vd., 2021). *B.subtilis* tarafından üretilen sideroforlar, fosforun çözünmesi ve toprakta azot fiksasyonu aracılığıyla patojenlerin büyümesini engeller, bu da stres toleransını artırır ve bitki büyümesini teşvik eder (Hashem vd., 2019). Kritik durumlarda, *B.subtilis* bitkilerdeki zararlı stresi hafifletmek, ürün verimini artırmak ve bitki yaşlanmasını yavaşlatmak için çeşitli metabolitler üretecektir. Bu kritik durumlar arasında kuraklık, yüksek tuzluluk veya pH, ağır metal kirliliği veya patojen enfeksiyonu yer alabilir (Radhakrishnan vd., 2017). Ayrıca, *B.subtilis* çeşitli bitki zararlılarını kontrol etmek için çeşitli aktif bileşiklerin sentezi aracılığıyla çevre dostu biyolojik kontrol ajanları olarak da işlev görebilir (Shafi vd., 2017).

Candida tropicalis: *C.tropicalis*, idrar yolu ve kan dolaşımı enfeksiyonlarında bulunan, en çok rastlanan, eşeysiz diploid mayalardan biridir (Suzuki vd., 1991). Deri de dahil olmak üzere gastrointestinal, solunum ve genital yolları kolonize eden bir insan patojenidir. Mayalar vücudun sıcak, nemli bölgelerini tercih eder, aynı zamanda ozmotik basınca dayanıklıdır ve tuz açısından zengin ortamlarda bile önemli özelliklere sahiptir (Zuza-Alves vd., 2017). *C.tropicalis*'in, *C.albicans*'tan sonra en öldürücü patojenlerden biri olduğu bilinmektedir. *C.tropicalis* aynı zamanda güçlü biyofilm üretme yeteneğine de sahiptir. Tropikal türler bu özelliğinden dolayı bazı durumlarda *C.albicans*'tan daha tehlikeli olabilmektedir. Bu mikroorganizma, bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde bebek bezi döküntüsü, cilt ve tırnak enfeksiyonlarının yanı sıra diş

ve vajinal sorunlarına da neden olur ve bazı durumlarda ölümcül olduğu bilinmektedir (Chai vd., 2010).

***Enterococcus hirae*:** En sık görülen hastane enfeksiyonları pnömoni (genellikle ventilatörle ilişkili), idrar yolu enfeksiyonu (genellikle kateterle ilişkili) ve primer kan dolaşımı enfeksiyonu olmasına rağmen (genellikle intravasküler cihaz kullanımıyla ilişkili) (Richards vd., 2000) ilk kez 1985'te tanımlanmış olan, nadiren rapor edilen *Enterococcus hirae* gibi hastane bakterisi de vardır (Nakamura vd., 2021).

Enterococcus hirae hayvanlarda da örneğin sıçanlarda ishal, tavuklarda endokardit, sığırlarda mastit, kedilerde kolanjit ve pankreatit, kuşlarda sepsis enfeksiyonlarına neden olur. Ancak insan enfeksiyonları nispeten nadirdir *E. hirae*'nin neden olduğu ilk insan enfeksiyonu *E. hirae*, 1998 yılında hemodiyaliz uygulanan böbrek hastalığı olan bir hastadan alınan kanda keşfedildi (Bollam vd., 2021). En son çalışmalara göre tüm enterokok enfeksiyonlarının %0,4 ila %3,03'ü arasında değişmektedir (Daniele vd., 2023). Hemen hemen her patojenin hastalarda enfeksiyona neden olma potansiyeli vardır, ancak HAI'lerin çoğundan yalnızca sınırlı sayıda bakteri türü sorumludur. Bunlar arasında *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve enterokoklar en yaygın olanlardır (Pinholt vd., 2014). Enterokoklar hastane kaynaklı bakteriyemi vakalarının yaklaşık %10'unu oluşturur ve dünya çapında sepsisin önemli bir nedenidir (Kelesidis vd., 2011).

***Streptococcus pyogenes*:** A grubu streptokokların orofarenks (boğazın, ağzın arkasında kalan kısmı, dil tabanı ve bademcikler), genital mukoza (vücut boşluklarının ve organların içerisini kaplayan tabaka), rektum (12-15 cm uzunluğunda olup, sigmoid kolondan başlar anüste biter), ve deride (özellikle lezyon bölgesinde) kolonize olduğu bilinirken, günümüz popülasyonlarındaki taşıyıcılık oranları tam olarak anlaşılamamıştır. Sağlıklı yetişkinlerde taşıyıcılık oranlarını inceleyen çalışmalar, düşük taşıyıcılık seviyelerini, tipik olarak boğaz ve vajinal (rektal) taşıyıcılık için sırasıyla %5 ve %1'den az olduğunu göstermektedir (Steer vd., 2012). Sağlıklı çocuklarda faringeal *S. pyogenes* taşıyıcılığına ilişkin tahminler %2 ila %17 arasında önemli ölçüde değişmektedir (Marshall vd., 2015; Martin vd., 2004; Oliver vd., 2018).

Suçiçeği aşılması, ister evrensel olarak çocukluk çağı aşılmasının bir parçası olarak uygulansın, ister *S. pyogenes* ile suçiçeğin birlikte dolaşımını içeren salgınlara yanıt olarak kullanılsın yine de önleme için daha fazla mücadele gerekir.

***Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*:** Domates verimi ve kalitesi, patojenik virüsler, mantarlar ve bakteriler gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından sınırlanmaktadır. *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (Cmm),

domateslerde bakteriyel solar (bakteriyel solgunluk hastalığı) ve kanser oluşturan ciddi bir hastalık etmenidir. Bakteriyel kanser, ilk kez 1909'da ABD'de rapor edildiğinden beri büyük bir sorun olarak kabul edilmiştir (Razdan vd., 2007). Bu hastalık, bitkilerin %46 ila %93'ünde ölüme neden olabilir ve domateslerde %10 ila %80 arasında değişen oranlarda küresel verim kayıplarına nedenolabilir (Peritore vd., 2021). *Cmm*, toprakta bulunan bir hastalık etmenidir ve enfeksiyondan sonra bitki kalıntılarında iki yıldan daha uzun süre canlılığını sürdürebilir (Fatmi vd., 2002). Bu patojen genellikle enfekte tohumlar aracılığıyla bulaşır (Belgüzar vd., 2016) ve beş bakteri hücresi kadar düşük yoğunluklarda bile fideleri enfekte edebilir (Lelis vd., 2014).

1.8. Antimikrobiyal Ajanlar

Enfeksiyonlar, tarih boyunca ölümlerin önde gelen nedeni olmuştur. Şaşırtıcı bir şekilde, *E.coli*, *Shigella* ve *Salmonella* mikroorganizmaları Afrikalı çocuklar arasında yılda 300.000 ölüme neden olmaktadır (Karou vd., 2007). Gelişmiş ülkelerde ise enfeksiyon sayısı ve bunun sonucunda ortaya çıkan ölümler zamanla artmaya devam ediyor. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırma, mikroorganizma kaynaklı ölümlerin 1981 ile 1992 yılları arasında %58'lik önemli bir artışla 5'inci sıradan 3'üncü sıraya yükseldiğini gösteriyor. Çeşitli kaynaklara göre enfeksiyonlar tehlikeli bir şekilde günümüzde de küresel sağlığı büyük ölçüde tehdit etmektedir (Murray vd., 2022; Iwu vd., 1999). Dünyayı etkisi altına alan mevcut salgının ortasında, toplam 6.232.818 ölümle birlikte, toplam 6.232.818 ölümle birlikte COVID-19 vakalarının sayısı 512.635.444'e ulaştı (COVID-19 Veri Gezini, 2022). Ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi, Silva ve ark.'nın belirttiği gibi yeni tedavi stratejileri ve yeni antimikrobiyal ajanların araştırılmasını gerektirir (Silva vd., 2010). Antimikrobiyal ajanlar mantar, virüs ve bakteri gibi mikroorganizmaları yok etmeyi, dolayısıyla onların gelişimini engelleyerek büyümelerini kısıtlamak amacıyla kullanılır. (Musumeci ve Puglisi, 2013).

Durum ve etki şekli, antimikrobiyal özelliklere sahip maddelerin çeşitli şekillerde etki gösterme şekillerini belirler. Mekanizmalar kimyasal durumlarına göre bu şekilde sınıflandırılır;

- Bakteriyel hücre duvarının sentezini inhibe eden aktif maddeler,
- Mikrobiyal hücre zarı yapılarının geçirgenliğini artırarak doğrudan hücre içi bağların bozulmasına neden olan aktif maddeler,
- Ribozom içi 30S ve 50S birimlerinin fonksiyonunu bozan maddeler,
- Ve antimetabolitler (Musumeci ve Puglisi, 2013).

Bitkiler, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar gibi biyolojik saldırılardan kendilerini korumak için birçok antimikrobiyal bileşik üretirler. Bitkiler, antimikrobiyal özelliklerinden dolayı mikroorganizmalar üzerinde yapılan araştırmalar için değerli bir kaynaktır ve bu süreçlerde etkili oldukları belirtilmektedir (Orhan vd., 2012). Antimikrobiyal özelliklere sahip fitokimyasallar tanenler, kumarinler, kinonlar, fenolik asitler, saponinler, alkaloidler, fenoller, terpenoidler ve flavonoidler olarak sınıflandırılır (Kan vd., 2009). Bitkisel antimikrobiyal ajanların mikroorganizmalara karşı etkinliği tam olarak kanıtlanmamış olsa da birçok araştırmacı bu maddelerin doğrudan veya dolaylı olarak hücrelerin biyokimyasal süreçlerini etkilediğine ve bunların fizikokimyasallarının cinselliği yok ettiğine inanmaktadır. Hidrofobik terpenler özellikle bitkilerde yaygındır ve mikrobiyal hücre duvarlarıyla etkileşime girerek onların bütünlüğünü bozar. Hidrofobik terpenlerin hücre duvarının lipit yapılarıyla reaksiyonu, lipit birikimine ve bunun sonucunda hücre zarı geçirgenliğinin artmasına neden olur. Sonuç olarak, hücre zarı yapısının bozulması, hücre içeriğinin pıhtılaşmasına neden olur ve böylece hücrenin hayati fonksiyonları engellenir (Silva vd., 2010).

Fenolik bileşiklerin hidroksil grubunun (-OH) da bakteriyel hücre zarı ile etkileşime girerek, zar yapısını bozarak inhibitör etkiye sahip olduğuna inanılmaktadır (Lai ve Roy, 2004; Zhong, 2013). Fenolik bileşikler aynı zamanda antioksidan görevi de görmektedir ve bu bileşiklerde serbest OH gruplarının varlığı antioksidan özellikler kazandırmaktadır. Bu özelliğin reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve serbest radikal temizlemeyi engellediği, dolayısıyla büyüme ortamının redoks potansiyelini düşürdüğü rapor edilmiştir. Redoks potansiyelindeki bu azalma, istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini daha da sınırlayabilir (Cueva vd., 2010; Stojković vd., 2013). Ayrıca flavonoidlerin bitkiler üzerinde antiviral etkilerinin olduğu ve bu özelliğin proteinlere olan yüksek ilgileri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Örneğin araştırmacılar, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan metilkuersetinin çocuk felci virüsü hücresel protein sentezini ortadan kaldırdığını bulmuşlardır (Kahraman vd., 2002). Bitkilerin yanı sıra algler ve mantarların patojenlere karşı ürettiği antimikrobiyal bileşikler de antimikrobiyal madde kaynağı olarak görev yapmıştır (Bhagavathy vd., 2011; Ramesh ve Pattar, 2010). Mantarlar tarafından üretilen penisilinin keşfi antibakteriyel araştırmaların artmasına yol açmış ve çeşitli mikroorganizmalardan streptomisin, aureomisin ve kloromisetin gibi birçok antibiyotik keşfedilmiştir (Iwu vd., 1999; Shinji, 1993). Aslında antibiyotiklerin uzun süre yanlış ve sık kullanılması durumunda bakteriler doğal olarak onlara karşı direnç kazanabilmektedir. Direnç durumu

mikroorganizmanın türüne göre değişmektedir (Eliopoulos, 1992). Bakterilerin antibiyotiklere karşı doğal direncinin yanı sıra kazanılmış direnç de daha büyük bir sorun teşkil etmektedir (Tenover, 2006). Kazanılmış direnç mikroorganizmanın genetik materyalindeki değişikliklere dayanmaktadır. Kazanılmış direnç, mikroorganizmaların önceden duyarlı oldukları antimikrobiyal maddelere artık yanıt vermemesi durumunda ortaya çıkar (Yüce, 2001). Antibiyotik direnci geliştiğinde bakteriler arasında yayılarak mikroorganizmaların geliştirilen antibiyotiklere karşı hızla dirençli hale gelmesine neden olur. İlaçların etkinliğini kaybetmesinin temel nedeni budur (Kürek, 2007; Kuyucu, 2007). Tek bir etken madde ile yapılan sentetik ilaçlara bakterilerin direnç geliştirme olasılığı daha yüksektir, ancak birçok etken maddenin kompleks formlarda yer aldığı bitkiler, mikroorganizmaların çoklu direnç geliştirmesini zorlaştırmaktadır (Tenover, 2006; Kürek, 2007). Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sinerjistik etkilerinden dolayı bitkisel antimikrobiyallerin enfeksiyonların tedavisinde daha etkili olduğu bulunmuştur (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2014). Bu nedenle mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların tedavisinde bitkilerin faydalı olacağına dair büyük umutlar bulunmaktadır (Erdoğan ve Everest, 2013).

1.9. DNA ve DNA Hasarı

Bir organizmanın genetik özelliklerini aktaran ve gelecek nesillere aktarılmasını sağlayan yapı olan DNA, her zaman bir miktar hasara maruz kalır. Çeşitli DNA onarım sistemleri kullanılarak DNA hasarının onarılmasının yanı sıra, hasar onarılamaz boyutlara ulaştığında DNA hasarı birikimi meydana gelir. DNA'da biriken bu hasar, zamanla, başta hücre kaybı olmak üzere çeşitli mutasyonlara neden olur. DNA'da hasara neden olan sorunlar ve hasar türleri iki grupta incelenebilir. Bunlardan ilki: Doğal olarak meydana gelen değişikliklerin neden olduğu hasar. Uyumsuzluklar, bazların kimyasal yapısında doğal olarak oluşan farklılıklar, baz kaybı ve oksidatif hasar olarak tanımlanabilirken, ikinci grupta fiziksel faktörler (iyonlaştırıcı radyasyon, ultraviyole ışık) ve kimyasal faktörler yer almaktadır (Dinçer ve Akçay, 2000).

Vücudumuza giren oksijenin metabolizmaya katılması ile ağırsık moleküller veya serbest radikaller denilen ürünler açığa çıkmaktadır ve bunlar oksidatif bir strese neden olurlar. Buna bağlı oluşan DNA hasarı başta karsinogenez olmak üzere birçok hastalığın gelişiminde önemli etkiye sahiptir. Yüksek derecede reaktif hidroksil radikalleri, DNA bazları arasındaki çift bağlara H atomları ekleyerek veya lipidler ve proteinlere benzer şekilde timin bazlarının yapısındaki metil gruplarından H atomlarını çıkararak DNA molekülleri ile etkileşime girer (Breen ve Murphy, 1995). DNA'da

oksidatif hasar, çift ve tek iplik kırılmaları, şeker-fosfat omurgasında hasar, baz modifikasyonları (baz kapanımları, baz yeniden düzenlenmeleri) ve abazik bölgeler, DNA ile protein yapıları arasında çapraz bağlanma meydana gelir (Cooke vd., 2003; Evans, 2004). Cu^{+2} iyonlarının DNA'daki guanin bazlarına güçlü bir şekilde afinite aracılığı ile bağlanarak DNA'ya kuvvetli bir şekilde zarar verir. (Helbock vd., 1999). Bütün bunlar DNA'da oksidatif hasara neden olur. Sonuçta replikasyon, transkripsiyon ve DNA onarım mekanizmalarını baskılayarak hücre hasarına veya ölümüne neden olur (Ghisalbertie, 1979). ROS kaynaklı DNA hasarının iki farklı şekilde meydana geldiği düşünülmektedir:

1. Proteinler, nükleik asitler ve lipitler hidroksil radikalleri, aynen süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi ROS'un ana hedefleridir. Bunlar, vücut hücreleri içinde ekzojen kimyasallar veya dahili metabolik süreçler tarafından üretilebilen reaktif oksijen türleridir (ROS). Bazı ROS, nükleozit bileşenlerine saldırarak DNA'ya saldırır. Bu hasara neden olabilir ve gen ifadesini değiştirebilir. DNA hasarı genomik kararsızlığa yol açar ve birçok kanserin ve nörodejeneratif hastalığın nedenidir. Fenton reaktifi hipotezinde, OH radikalleri DNA'ya saldırır ve bunu DNA hasarı takip eder. H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\cdot-}$ gibi radikaller DNA'ya doğrudan zarar veremez. OH $^{\cdot}$ radikallerinin DNA'ya zarar vermesi için doğrudan DNA'nın içinde veya DNA'ya çok yakın bir bölgede oluşması gerekir. DNA, büyük miktarlarda negatif yüklü fosfat grupları içeren büyük bir moleküldür. Fe_2^{+3} ve Cu^{+2} iyonları her zaman negatif yüklü DNA'ya bağlanır ve oksidatif stres altında hücre içi demir ve bakır içeren proteinlerden ayrılarak DNA'ya bağlanır. Ayrıca redoks aktif geçiş metali iyonları DNA moleküllerini H_2O_2 'ye hedefler (Halliwell 1994; Özden 2006). OH radikalleri, DNA'ya bağlı metal iyonlarının DNA üzerindeki H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu oluşur ve OH radikal temizleyiciler tarafından uzaklaştırılmaz. Ek olarak, OH radikal temizleyicileri tarafından üretilen radikaller de DNA hasarına neden olabilir (Milligan vd., 1994).

2. Nükleaz aktivasyon hipotezinde oksidatif stres, sitozoldeki Ca_2^{+} iyonlarının konsantrasyonunu artırır, bu da çekirdekteki Ca_2^{+} 'ya bağımlı endonükleazları aktive ederek hücre içinde DNA parçalanmasına neden olur. Son araştırmalar sıklıkla temel hasarı buldu. Cu_2^{+} iyonları DNA'nın G-C bazları açısından zengin bölgelerinde büyük miktarlarda bulunur. Sonuç olarak guinin bazı oksidatif hasara en çok maruz kalan bölgedir. (Dinçer ve Akçay, 2000; Cooke vd., 2003).

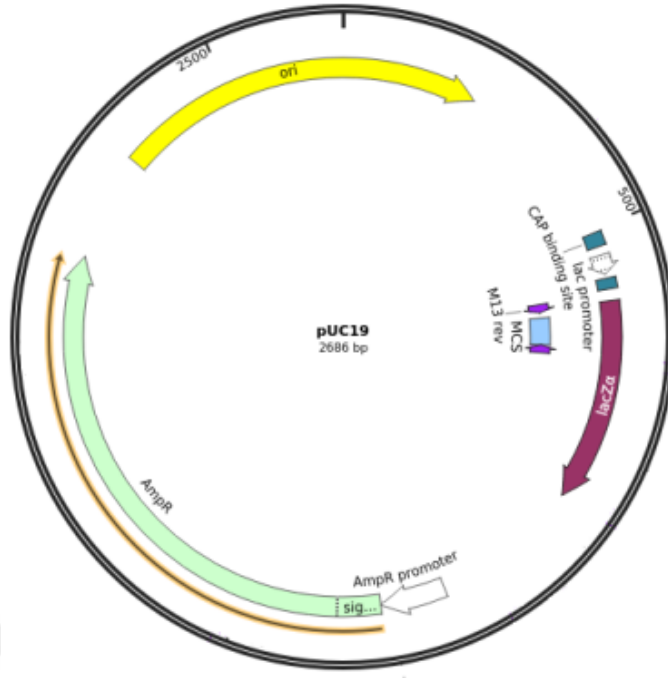
1.9.1. DNA Tamir Mekanizmaları

DNA bütünlüğü hücre bölünmesi için kritik öneme sahiptir ve oksidatif değişiklikler, translasyonu, DNA replikasyonunu ve transkripsiyonu bozarak mutasyonlara, hücresel yaşlanmaya ve hücre ölümüne yol açabilir (Riso vd., 2004). Genom bütünlüğünü korumak için hücreler oldukça karmaşık DNA onarım mekanizmalarıyla donatılmıştır (Ciccio ve Elledge, 2010; Jeppesen vd., 2011). DNA onarımı, ligazlar, glikozilazlar, fosfatazlar, helikazlar, demetilazlar, kinazlar, topoizomerazlar, polimerazlar ve rekombinazlar gibi kimyasal olarak değiştirilmiş enzim fonksiyonlarına göre gerçekleşir. Canlı hücrelerin, DNA hasarına yanıt olarak doğru faktörleri doğru zamanda ve yerde aktive etmek için farklı stratejileri vardır (Ciccio ve Elledge, 2010).

1.9.2. pUC19 Plazmit DNA

Bu çalışmış olduğumuz deneyde, DNA koruma aktivitesini ölçmek için pUC19 plazmid DNA'sı kullanıldı. pUC19 plazmidi çift sarmallı dairesel yapıya sahip bir DNA olup 2686 baz çiftine sahiptir (Şekil 7). Rekombinant çalışmalarda en çok kullanılan vektör moleküllerden biridir. Bu plazmid, "transformasyon" adı verilen bir işlemle bakteri hücrelerine aktarılır. Plazmid DNA'nın çoklu klonlama bölgesi (MCS), birçok endonükleaz kısıtlama bölgesi ve lac Z gen bölgesini sağlar (Louro ve Crichton, 2013). Ampisilin direnç geni, pUC19 plazmidinde, konakçı hücreler için toksisite azaltıcı görevi gören β -laktamaz enzimi tarafından kodlanır ve bu geni içeren hücreler, ampisilin içeren ortamlarda hayatta kalabilir (Wang, 2017).

Bu şekilde ilgi konusu genleri içeren plazmidlerle eklenen hücreler IPTG ve X-galformes'tir. Rekombinant koloniler beyaz koloniler oluşturur ve rekombinant olmayan koloniler mavi koloniler oluşturur.



Şekil 7. pUC19 plazmit DNA (URL 4).

Lac Z geninde yer alan MCS'ye yabancı DNA'nın eklenmesi, bu genin β -galaktosidazın N-terminal kısmında yerleştirilerek inaktivasyonu ile sonuçlanır, böylece intraallelik tamamlayıcılığı ortadan kaldırır. Bu nedenle rekombinant plazmitleri barındıran bakteriler, X-Gal'i hidrolize edemez ve kültür ortamında mavi rekombinant olmayan hücrelerden ayırt edilebilecek beyaz koloniler oluşturamazlar (Pasternak, 2005).

2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Metot

2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan cihazlar aşağıdaki Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar.

Cihazlar	Firma
Blok Isıtıcı	Thermo Scientific
Buz Makinesi	Scotsman
Buzdolabı	Beko
Cam Malzemeler	ISO Lab
Çalkalayıcı İnkübatör	Shel lab
Değirmen	Retsch
Elektroforez	Bio-Rad
Ependorf Tüp	ISO Lab
Etüv	Memmert
Filtre Kağıdı	Schleicher & Schüll
Hassas Terazı	Shimadzu
Jel Görüntüleme Cihazı	Herolab
Manyetik Karıştırıcı	IKA RH Basic
Mikrodalga Fırın	Altus
Mikropleyt Okuyucu	Thermo Scientific
Otoklav	HMC Hirayama
Cam Baget	Loop Plast
Petri	ISO Lab
pH-Metre	Hanna Instruments
Rotary Evaporatör	Heidolph
Santrifüj	Allegra X-30R
Steril Kabin	Esco
Su Banyosu	Memmert
Ultrasonik Banyo	Wisd Laboratory Instruments
Vorteks	Heidolph
Steril falkon tüpleri	ISO Lab
96 Kuyucuklu Mikropleyt	Lp Italiana Spa

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal malzemeler aşağıdaki Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler.

Malzeme adı	Firma
DNA Ladder	GeneDirex
ABTS	Sigma Aldrich
Agaroz	Sigma Alrich
Akarboz	Sigma Aldrich
Alfa-amilaz	Sigma Aldrich
Alfa-glukosidaz	Sigma Aldrich
Alüminyum nitrat nonahidrat	Merck
Amonyum heptamolibdat tetrahidrat	Merck
Ampisillin	Sigma Alrich
Askorbik asit	Merck
Baicalein	Sigma Aldrich
Demir (III) klorür	Merck
Dimetilsülfoksit	Merck
DPPH	Sigma Aldrich
Etanol	Merck
Ethidyum Bromide	Panreac Applichem
Folin-Ciocalteu fenol reaktifi	Merck
Fosfat Tamponu	Amresco
Gallik asit	Merck
Glutasyon	Sigma Aldrich
HCl	Sigma Aldrich
Hidrojen Peroksit	Sigma Alrich
IPTG	Sigma Alrich
İyot	Merck
Kalsiyum Klorür	Sigma Alrich
Kuersetin	Sigma Aldrich
LB Besi Yeri	Merck
L-Dopa	Sigma Aldrich
Loadingdye	Biomatik
Metanol	Merck
Müller-Hinton Agar	Merck
Müller-Hinton Broth	Merck
PNPG (4-nitrofenil β -d-glukuronid)	Sigma Aldrich
Potasyum asetat	Sigma Aldrich
Potasyum ferrisiyanat	Merck
Potasyum iyodid	Sigma Alrich
Potasyum persülfat	Potasyum persülfat
Sigma Aldrich	Sigma Aldrich
Sodyum Karbonat	Merck
Sülfürik asit	Merck
TAE Buffer	Multicell
Tirozinaz	Sigma Aldrich
Trikloroasetik Asit (TCA)	Sigma Alrich
Troloks	Sigma Aldrich
X-Gal	Sigma Alrich

2.1.3. Bitki Örneklerinin Ekstraksiyona Hazırlanması ve Ekstraksiyon İşlemi

Doronicum macrolepis (D.m) bitkisi Gümüşhane ili'nin dağlarından toplanarak deneylerde kullanılmak üzere toz haline getirilmiş ve analiz yapılana kadar dondurulmuştur. D.m bitkisi %99 saf etanol olan çözücüde 5 farklı ekstraksiyon metodu kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Önce yıkanmış daha sonra toz haline getirilmiş D.m bitkisi 10 g bitki örneği üzerine 200 mL etanol eklenmiştir. Tablo 4'teki ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstraktler elde edilmiştir.

Tablo 4. Tez çalışmasında kullanılan ekstraksiyon yöntemleri.

Ekstraktlar	Ekstraksiyon Yöntemleri
24h	24 Saat Çalkalayıcı (37 °C, 125 rpm)
24h+30'US	24 Saat Çalkalayıcı + 30 Dakika Ultrasonik Banyo
24h+60'US	24 Saat Çalkalayıcı + 60 Dakika Ultrasonik Banyo
30'US	30 Dakika Ultrasonik Banyo
60'US	60 Dakika Ultrasonik Banyo

Toplamda 5 farklı ekstrakt elde edilmiştir. Örnekler partikülleri kaba filtre kağıdından süzildükten sonra enjektör aracılığı ile küçük 0.20 µm filtreden süzülmüş ve solvent evaporatörü ile 37 °C'de altında kurutulmuştur. Elde edilen kuru ekstraktlar tüm analizlerde kullanılmak üzere -18 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 8. Ekstraksiyon işlemi

2.1.4. Toplam Fenolik İeriğın Belirlenmesi

D.macrolepis bitkisinin total fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodunda (Slinkard ve Singleton, 1977), bir kaç değışiklik yapılarak spektrofotometrik yöntemle mikrolakalarda belirlenmiştir (Acet ve Özcan, 2018).

Toplam Fenolik Madde Tayini İçin Gereken Çözeltiler

- **%1’lik Sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi:** 0.25 g Na_2CO_3 hassas terazide tartılmıştır. Tartılan Na_2CO_3 bir miktar saf su içinde çözüldükten sonra son hacim 25 mL’ye tamamlamak amacıyla üzerine 25 mL saf su ile eklenmiştir.
- **Folin-Ciocalteu reaktif çözeltisi (%10 v/v):** 1 mL folin reaktifi alınarak üzerine 9 mL saf su eklenerek toplam hacim 10 mL’ye tamamlanmıştır. Çözeltinin ışık fotonları ile reaksiyona girmemesi amacı ile içerişine Folin-Ciocalteu reaktif çözeltisi döktüğümüz falkon tüp alüminyum folya ile kaplanarak karanlık ortamda saklanmıştır.
- **Gallik asit standart çözeltisi:** 10 mg gallik asit analitik hassas terazide tartılarak 1 mL metanol eklenmiş ve vorteks ile tamamen çözülmesi sağlanmıştır. Elde edilen stok çözelti 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda seyreltilmiştir.

96 kuyucuklu plakalara 31 μL , 1 mg/mL’lik bitki ekstrakt konsantrasyonu veya gerekli seyretmeler yapılmış olan standart çözelti koyulduktan sonra 125 μL folin ve üzerine 94 μL Na_2CO_3 eklenerek karanlık ortamda ve oda sıcaklığında 2 saat inküba edildikten sonra 760 nm dalga boyunda mikrolaka okuyucu ile saf su körüne karşı absorbanslar ölçülmüştür. Son olarak, toplam fenolik içerik, gallik asit (mg GAE/g ekstre) eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

2.1.5. Toplam Flavonoid İeriğının Belirlenmesi

Alüminyum nitrat kolorimetrik metodunda birkaç değışiklik yapılmasıyla, esktrelerin toplam favonoid miktarı mikrolakalarda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Moreno vd., 2000).

Toplam Flavonoid Madde Miktarı için Gereken Çözeltiler

- **Alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi:** %10’lik Alüminyum klorür (AlCl_3) 1g hassas terazide tartılarak çeker ocakta, 10 mL saf su içerişinde çözülmüştür.
- **Potasyum asetat (KCH_3COO) çözeltisi (1 M):** 1333.4 mg (KCH_3COO) hassas terazide tartılarak 10 mL saf su içinde çözülmüştür.
- **Metanol çözeltisi (CH_3OH , %99,9 v/v):** Saf metanol kullanılmıştır.

- **Kuarsetin standart çözeltisi:** 10 mg kuarsetin hassas terazide tartıldıktan sonra az-az 80 µL saf etanol eklenerek vortekste çözülmüştür. Toplam hacmi, 1000 µL'ye tamamlamak amacıyla üzerine 920 µL saf su eklenmiştir. Ardından oluşturulan bu 1.000 µg/mL'lik kuarsetin stok çözeltisi %80'lik etanol ile 1:10 oranında seyreltilerek 1000 µg/mL'lik çözelti hazırlanmıştır. Ardından 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150 µg/mL olmak üzere 8 farklı yoğunluktaki kuarsetin çözeltileri hazırlanmıştır.

Bitki ekstralarının 1 mg/mL'lik konsantrasyonlarının veya gerekli seyretmeler yaptığımız standart çözeltinin 30 µL-sine 80 µL metanol, 6 µL 10 %10 AlCl₃, 6 µL KCH₃COO, 125 µL dH₂O ilave edilmiştir. Kör olarak da metodun uygulandığı saf su kullanılmıştır. Tüm bu işlem bitdikden sonra karanlık ortamda ve oda sıcaklığına 40 dakika inküba edildikten sonra mikropilaka okuyucusu ile 415 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Ekstraktların toplam favonoid içeriği, kuarsetin (mg QE/g ekstre) eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. 5-150 µg/mL (5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150) konsantrasyon aralığında 8 noktada kuarsetin standart eğri grafiği çizilmiştir.

2.1.6. Antioksidan Aktivite Belirleme Deneyleri

2.1.6.1. ABTS Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Yumru ekstraktlarının ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal uzaklaştırma aktivitesi, (Re vd., 1999) tarafından geliştirilen bir yöntemle, mikropilakalarda spektrofotometrik olarak birkaç küçük değişiklik yapılarak belirlenmiştir (Acet ve Özcan, 2018).

ABTS Tayini için Gereken Çözeltiler

- **ABTS radikal çözeltisi (7 mM):** 38 mg 2,2'-azino-bis hassas terazi kullanılarak tartıldı ve bir tüp içerisinde 10 ml distile su içerisinde çözülmüştür. Daha sonra 6.622 mg potasyum persülfat (K₂S₂O₈) hassas terazide tartılarak ayrı bir tüpte 10 ml saf su içerisinde çözülmüştür. Bu iki çözelti bir falkon tüpünde karıştırıldı ve falkon tüpünün etrafına folyo ile sarılmıştır. ABTS radikal solüsyonunu elde etmek için oda sıcaklığında, korunaklı bir ortamda 12 ila 14 saat saklanılmıştır. Bu çözeltinin optik yoğunluk değerini 0.7 yapmak için 1: 30 oranında saf su kullanılarak istenilen konsantrasyon değeri ayarlanmıştır.
- **Askorbik asit çözeltisi:** 1.5 mg askorbik asit hassas terazide tartılarak üzerine 1 mL etanol ile eklenerek vortekslenerek çözülmüştür. Elde edilen bu stok çözelti

15mg/mL'ik seyreltikten sonra bu çözeltiden 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 7.5, 9, µg/mL'lik seyreltik askorbik asit standartları oluşturulmuştur.

- **Troloks çözeltisi:** 1.5 mg troloks hassas terazide tartılarak üzerine 1 mL etanol ile eklenerek vortekslenerek çözülmüştür. Elde edilen bu stok çözelti 15 mg/mL'ik seyreltikten sonra bu çözeltiden 0.25, 0.5, 1, 1.5 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 7.5, 9, µg/mL'lik seyreltik askorbik asit standartları oluşturulmuştur.

96 kuyucuklu mikropalakalara gerekli seyretilmeler yapılmış ekstrakt ve standartlardan 80 µL eklenerek üzerlerine 160 µL ABTS radikalı koyulmuştur. Karanlık odada 6 dakika beklemeden sonra 240 µL etanol körüne karşı 750 nm dalga boyunda mikropalaka okuyucu absorban ölçümü yapılmıştır. Mikropalaka okuyucusuna körnen yanaşı 80 µL'lik etanol kontrolü da koyulmuştur. Temizleme aktiviteleri şekil 21 ve 22'deki standart grafikleri baz alınarak askorbik asit ve troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Ekstraktların radikal temizleme aktivitesi, % inhibisyon formülü kullanılarak hesaplanmıştır ve IC₅₀ değerleri olarak rapor edilmiştir. Askorbik asit ve Troloks için standart çizelgeler, 0,25 ile 9 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda oluşturulmuştur. Bu analiz için 100, 75, 50, 25, 15, 10, 5, 2.5, 1 ve 0.5 mg/mL ekstrakt konsantrasyonları kullanılmıştır.

2.1.6.2. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

D.m bitki ekstraktlarının DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) süpürücü aktivitesi, Özcan ve Acet, (2018)'e göre bir kaç değişiklik yapılarak mikropalakalarda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

DPPH Tayini İçin Gereken Çözeltiler

- **DPPH radikal çözeltisi (0.1 mM):** Hassas terazide 3.9 mg DPPH tartıldı 100 mL'ye tamamlanacak şeklinde etanol eklenmiştir. Balon joje etrafı folyo ile sarılarak çözeltinin karanlık bir ortamda muhafazası sağlanmıştır.
- **Askorbik asit standart çözeltisi:** Daha önce hazırlanan 1000 µg/mL'lik çözeltiden 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 10 µg/mL'lik askorbik asit çözeltileri elde edilmiştir.
- **Troloks çözeltisi:** Daha önce hazırlanan 1000 µg/mL'lik çözeltiden 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 10 µg/mL'lik troloks çözeltileri elde edilmiştir.

96 kuyucuklu mikropalakalara gerekli seyretilmeler yapılmış ekstrakt ve standartlardan 125 µL eklenerek üzerlerine 125 µL DPPH radikalı koyulmuştur. Karanlık odada 30 dakika beklemeden sonra 250 µL etanol körüne karşı 517 nm dalga

boyunda mikrolaka okuyucu absorbans ölçümü yapılmıştır. Mikrolaka okuyucusuna körnen yanaşı 125 µL'lik etanol kontrolü da koyulmuştur. Temizleme aktiviteleri şekil 23 ve 24'deki standart grafikleri baz alınarak askorbik asit ve troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Ekstraktların radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon formülüne göre hesaplanmış ve IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. Askorbik asit ve troloks için 0.5-10 µg/mL konsantrasyonlar da askorbik asit ve troloks standart grafikleri oluşturulmuştur. Ekstreler trolox standartında 1.5, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1, 0.05, mg/mL'lik konsantrasyonları askorbik standartında ise 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 konsantrasyonları analiz için kullanılmıştır.

2.1.7. DNA Koruyucu Aktivitenin Belirlenmesi

D.m ekstraktı pUC19 plazmitinde koruyucu aktivitesinin varlığı fenton reaktifi kullanılarak %1 agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

DNA Koruyucu Aktivitesi İçin Gereken Çözeltiler

Fentonun hazırlanması: 129.5 mg FeCl₃ ve 88.06 mg askorbik asit ayrı ayrılıkta hassas terazide tartılarak falkonlarda saf su ile çözüldü ortak falkona eklenerek ve 9970 µL'ye saf su ile tamamlanmıştır. Sonda 30%'lik 30 µL H₂O₂ otomatik pipet yardımıyla bu falkona eklenerek son hacimi 10 mL olacak şekilde tamamlanmıştır. Elde edilmiş solüsyon bir saata kadar ultrasonik banyoda saklanarak tam çözülmesi sağlanmıştır.

1 x TAE Buffer solüsyonun hazırlanması. 10 mL 50x TAE tamponundan alınarak 500 mL tamamlanacak şekilde, 490 mL saf su eklenerek 1x TAE buffer hazırlanmıştır.

pUC19 Plazmit DNA'nın çoğaltılması: Yapılan bu analiz, en yüksek DNA koruma kapasitesine sahip ekstraktı ve bu ekstraktın en etkili konsantrasyonunu belirlemek için yeterli miktarda pUC19 plazmid DNA'sı gerektirir. Bu maksatla pUC19 plazmid DNA'sı yetkin bir (kompotent) hücre hazırlanması ve transformasyon süreci yoluyla izole edilmiştir.

Kompotent Hücre Hazırlanması. Yetkin hücrelerin üretilmesi için kalsiyum klorür (CaCl₂) yöntemi tercih edilmiştir. Öncelikle 100 µL *E. coli* DH5α stok solüsyonu alınarak 10 ml LB ortamına eklenmiştir. Gece boyunca kültür oluşturmak için hücreler, 125 rpm'de bir çalkalayıcı üzerinde gece boyunca 37 °C'de büyütülmüştür.

- 0,4±0,6'lık bir OD değeri elde etmek için, gecelik kültürün 500 µL'si çıkarıldı ve ampisilin içermeyen 10 ml LB ortamına aşılanmıştır.

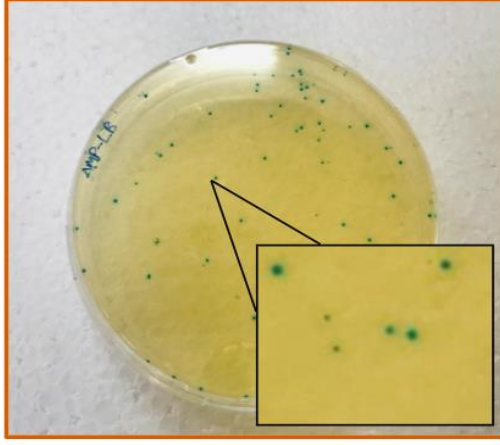
- 125 rpm'de bir çalkalayıcı üzerinde 37°C'de 2 saat süreyle inkübe edilmiştir.
- OD değeri $0,4 \pm 0,6$ olan hücre kültürleri süre sonunda 5 dakika buz üzerinde bekletilmiştir.
- Hücre kültürleri Falcon tüplerine aktarılmıştır, 4500 rpm'de 5 dakika 4°C'de santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır.
- Pelete 10 mL soğuk 100 mM kalsiyum klorür (CaCl_2) ilave edilmiş ve peletin hafifçe pipetlenmesiyle çözölmüştür.
- 30 dakika boyunca buz üzerinde bırakılmıştır.
- Sürenin sonunda, 4°C'de 4500 rpm'de tekrar 5 dakika santrifüj ederek süpernatantı atılmıştır.
- Santrifüj sonunda pellet kısmına 2 mL soğuk kalsiyum klorür (CaCl_2) ekleniş ve dikkatlice pipetlenerek çözönmesi sağlanmıştır.
- Kullanım için en az 2 saat boyunca 4°C'de saklanmıştır.

Transformasyon. Copur Cicek vd., (2014)'ye göre yapılmıştır.

- 100 µL kompetan hücre bir tüpe yerleştirilmiş ve 1 µL pUC19 plazmid DNA eklenmiştir.

Bu karışım 20 dakika buz üzerinde tutulmuştur.

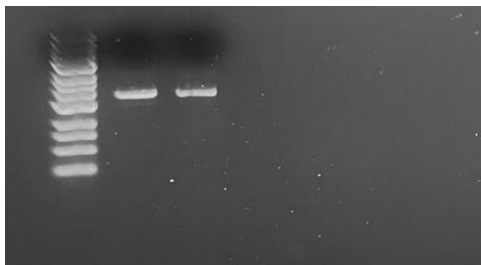
- Süre sonunda önceden ısıtılmış termobloğa 42°C'de 90 saniye boyunca ısı şoku uygulanmıştır.
- Tüpe 200 µL hacimde LB ortamı eklenmiş ve ardından 37 °C'de 2 saat bekletilmiştir.
- Antibiyotik ampisilin, içeren LB ortamı, 40 µL IPTG ve 40 µL X-Gal steril bir cam baget kullanılarak tamamen emilmiştir.
- 2 saat sonra tüpteki hücre kültüründen 100 µL çıkarılmış ve bir cam baget kullanılarak ampisilin içeren bir Petri kabına yerleştirilmiştir. Mikroorganizmaların çoğalması için Petri kapları 37°C sıcaklıktaki etüvde 16 saat bekletilmiştir.



Şekil 9. Petrilerde transformasyon sonucu oluşan mavi renkli koloniler

- Süre sonunda Şekil 11'deki Petri kabında oluşan mavi kolonilerden biri steril pipet ucuyla alınarak ampisilin içeren 3 ml LB besiyeri içeren test tüpüne yerleştirilmiştir. 37 °C'de 16 saat çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.
- Sürenin sonunda kültürler Eppendorf tüplerine yerleştirilmiş ve plazmid DNA'yı izole etmek için bir santrifüjde döndürülmüştür.

Plazmit DNA İzolasyonu: Bu işlem, transformasyonla çoğaltılmış pUC19 plazmit DNA'sının, bir EZ-10 Spin Column kitiyle hücrelerdeki çeşitli kirletici maddelerden saflaştırılmasını içeriyordu. İzole edilen plazmid DNA, 1 kb ladder ve %1 agaroz jel elektroforeze tabi tutulmuştur. Şekil 10. başarılı dönüştürme ve ayırma işlemini göstermektedir. Elde edilen plazmidler çeşitli analizlerde kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanılmıştır.



Şekil 10. Çoğaltılan pUC19 plazmitine ait jel görüntüsü

%1'lik Agaroz jel çözeltisinin hazırlanması: Hassas terazide 1 g agaroz tartılarak içerisinde 100 mL 1 x TAE tamponu olan cam erlene eklenmiştir. Daha sonra elde edilmiş karışım iyice çözülmesi için mikrodalgalı sobaya alınmıştır. İyice çözülmüş olan karışım soyuduktan sonra 2 µL etidyum bromür eklenmiş ve ardından tarakları yerleştirilmiş elektroforez tankına dökülerek, kuruyup sertleşmesi beklenilmiştir.

D.m ekstraktlarının pUC19 plazmiti üzerine koruyucu aktivitesinin varlığı fenton reaktifi ile %1'lik agaroz jel elektroforezinde belirlenmiştir. Deneyde pipetleme işlemi sıralaması ile Tablo 5. de belirlenmiştir. Kontrol ve örnekler jelde yürütülmeden önce 30 dakika 37°C etüvde burakıldı ve sonra her birine 1 µL 6x boya eklenmiştir. Yükleme boyasıyla muamele edilmesinin ardından elektroforez kuyucuklarına yüklenerek, 80 Voltta 1 saat süreyle yürütülmüştür. Deneyde kullanılan örnekler 1, 5, 10, 20, 40 mg/mL olarak seyrettilmiştir.

Tablo 5. Ekstraktlarının pUC19 plazmiti üzerine koruyucu aktivitesinin tespiti için deney tasarımı.

1 kb	+ Kontrol	- Kontrol	-* Kontrol	Örnekler
1 µL	12 µL Saf Su	17 µL Saf Su	17 µL DMSO	7 µL Saf Su
	3 µL Puc19	3 µL Puc19	3 µL Puc19	5 µL ekstrakt
	5 µL Fenton			3 µL Puc19
				5 µL Fenton
Toplam:	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL

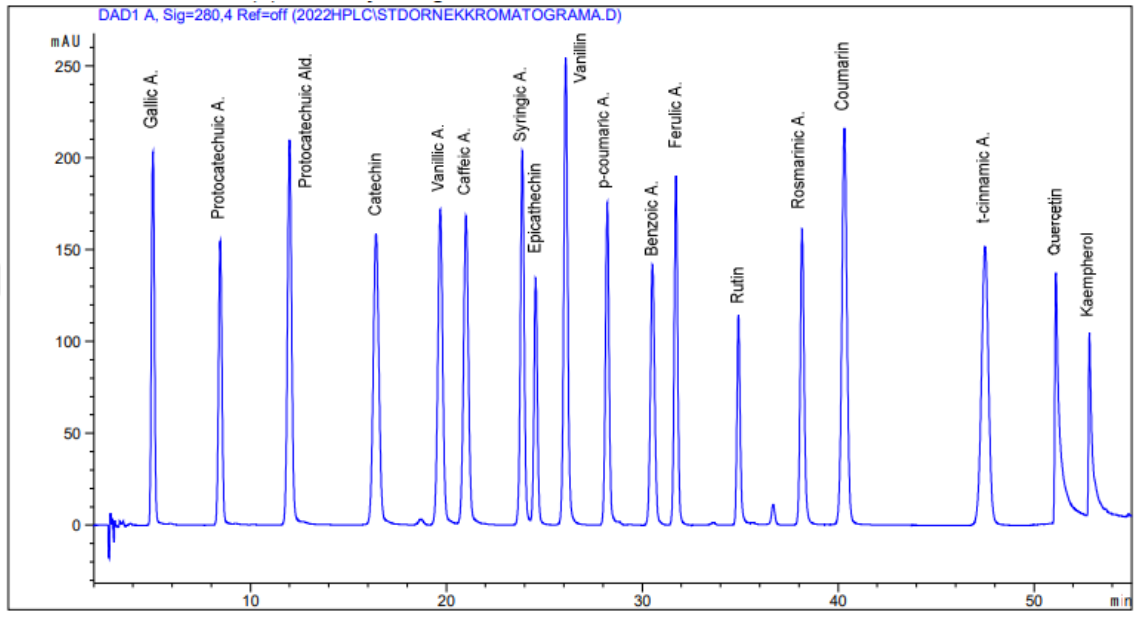
2.1.8. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi ile Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Çalışmada 24h, 24h+30'US, 24h+60'US, 30'US, 60'US banyoda hazırlanan ekstreler kullanılmıştır. 22 farklı fenolik bileşik araştırılmıştır. *Gallik asit, protokateşik asit, kateşin, vanilin asit, kafeik asit, sirinjik asit, epikateşin, vanilin, p-kumarik asit, benzoik asit, ferulik asit, rutin, rosmarinik asit, kumarin, trans-sinamik asit, kuersetin, kamferol, srisin, sisamol, hidrobenzoik asit, siyrinkaldehit, protokateşik aldehit* içeriklerine ilişkin sonuçlar µg/g ekstre olacak şekilde gösterilmiştir.

Örneklerin sekonder metabolit profillerinin belirlenmesi için HPLC sistemi kullanılmıştır. Polifenolik bileşik içerik analizi, hizmet alımı ile Gümüşhane Üniversitesi MALUAM'da (Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi) yapılmıştır.

Polifenolik bileşik analizi için Agilent marka, 1260 Infinity model HPLC sistemi kullanıldı. Sistem G1311C/1260 Quat Pump VL model gradient pompa, G1329/1260 ALS model otomatik örnekleyici, G1316A/1260 TCC model kolon fırını ve G1315D/1260 DAD VL model dedektörden oluşmaktadır. Analiz için Macherey-nagel marka, EC 250x4.6 nucleosil 100-5, 5 µm C18 HD kolon kullanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 27 °C'ye ayarlandı. Hareketli faz olarak ultra saf su (faz A), %100 acetonnitril

(faz B), %3 asetik asit/ultra saf su (faz C) ve %3 asetik asit + %25 acetonnitril+ ultra saf su (faz D) kullanıldı. HPLC gradiyent profili %10-20 D/%90-80 C (0-10 dk.), %20-30 D/%80-70 C (10-17 dk.), %30-50 D/% 70-50 C (17-22 dk.), %50-80 D/%50-20 C (22-32 dk.), %20 D/%80 C (32-40 dk.), %80-20 D/%20-0 C/% 0-80 B (40-45 dk.), %20 D/%80 B (45-50 dk.), %20-10 D/%0-90 C/% 80-0 B (45-50 dk.), %10 D/%90 C (55-60 dk.), olacak şekilde, mobil faz akış hızı 0.8 ml/dk. ve enjeksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde metod oluşturulmuştu.



Şekil 11. HPLC cihazı polifenolik bileşik standart kromatogramı

2.1.9. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar SPSS programında (Windows 2000 için sürüm 20, SPSS Inc.) One-Way Anova tarafından hesaplanmıştır. Önemli farklılıklar Duncan'ın çoklu testleri kullanılarak belirlendi. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Ekstraksiyon Verimi

Bitkileri ekstrakte etmek için etanol kullanıldı. *D.m* bitkisinin etanol ile elde edilen etanol ekstre verimleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. *D.m* bitkisinin ekstraksiyon verimleri.

Ekstraktlar	% Verim
24h	5.3
24h + 30 ‘US	6.3
24h + 60 ‘US	5.5
30 ‘US	3.6
60 ‘US	4.1

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30‘US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60‘US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30‘US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60‘US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.

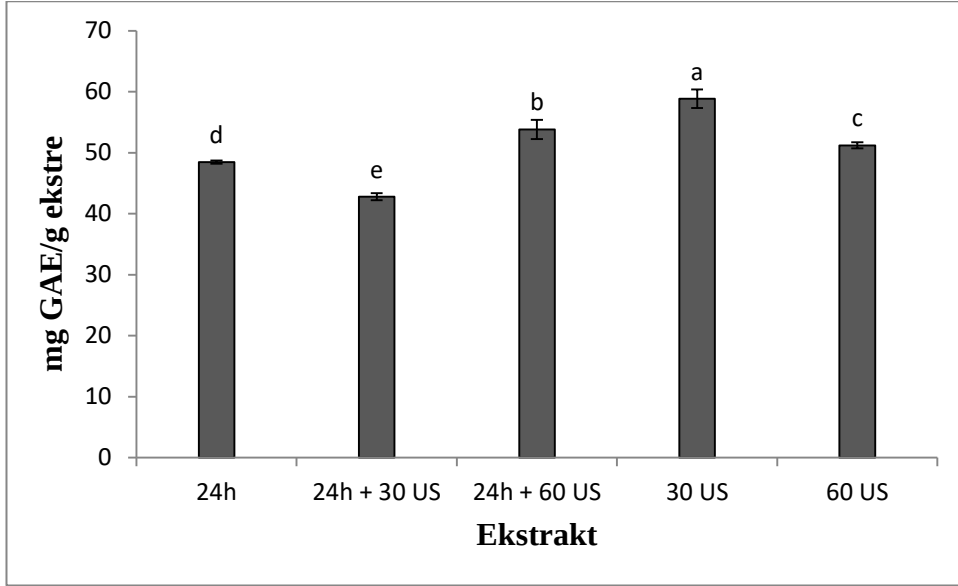
3.2. Toplam Fenolik Madde Tayini Sonuçları

Bitki ekstraktlarındaki fenolik maddelerin toplam miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocaltaeu yöntemi kullanılmıştır. Genel fenolik madde sonuçları, Şekil 19’teki standart tabloya dayalı olarak gallik asit eşdeğerleri olarak ifade edilmiştir.

Tablo 7. Toplam fenolik madde miktarı bulguları.

Ekstraktlar	Total Fenolik Madde (mg GAE/g Ekstre)
24h	42.11 ± 0.26 ^d
24h + 30 ‘US	37.42 ± 0.57 ^e
24h + 60 ‘US	46.54 ± 1.56 ^b
30‘US	50.71 ± 1.51 ^a
60‘US	44.39 ± 0.48 ^c

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30‘US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60‘US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30‘US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60‘US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir ($p < 0.05$). Sonuçlar 3 paralel değerlerin ortalaması alınarak $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. **24h**: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 12. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan *D.m.* ekstraktlarında gallik asite karşılık gelen fenolik madde miktarı

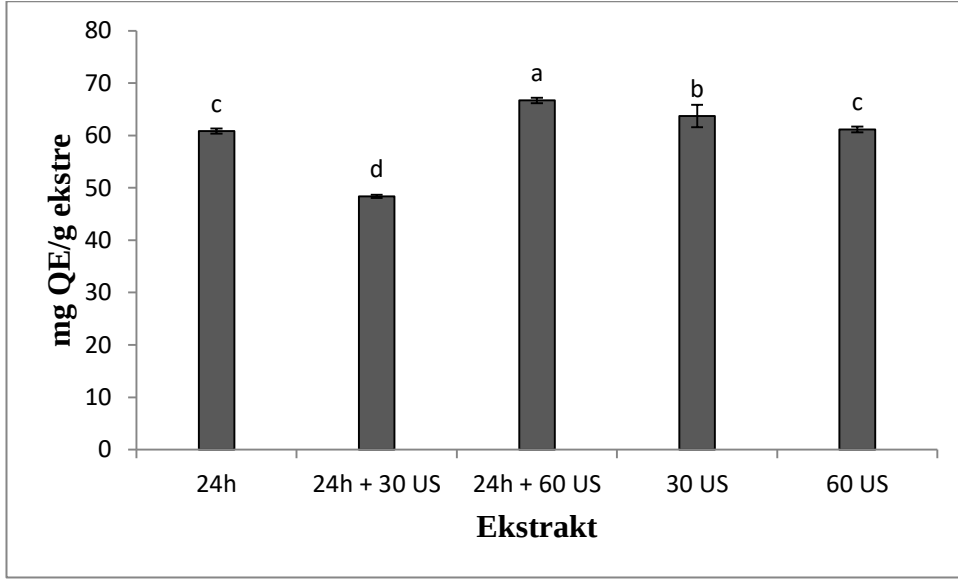
3.3. Toplam Flavonoid Madde Tayini Sonuçları

Ekstraktların toplam flavonoid madde içeriği alüminyum klorür yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Şekil 20'deki standart grafiğe referansla flavonoid maddelerin toplam miktarı, kuersetinin eşdeğer miktarı olarak belirlenmiştir.

Tablo 8. Toplam toplam flavonoid madde miktarı bulguları.

Ekstraktlar	Total Flavonoid Madde (mg QE/g Ekstre)
24h	60.85 ± 0.49^c
24h + 30 'US	48.35 ± 0.31^d
24h + 60 'US	66.7 ± 0.53^a
30'US	63.72 ± 2.15^b
60'US	61.13 ± 0.57^c

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir ($p < 0.05$). Sonuçlar 3 paralel değerlerin ortalaması alınarak $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. **24h**: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 13. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanan *D.m.* bitki ekstraktlarında kuersetine karşılık gelen flavonoid maddelerin miktarı

3.4. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

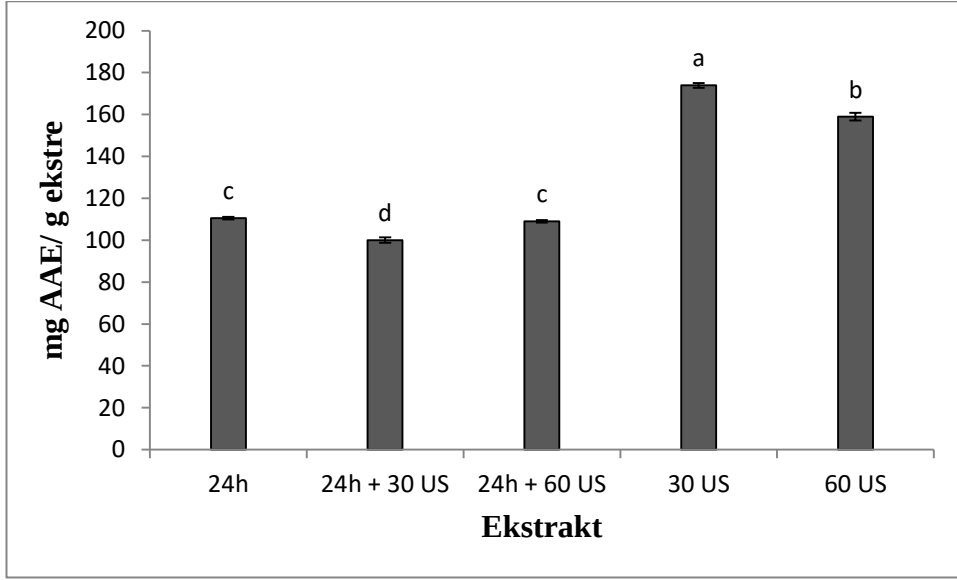
3.4.1. ABTS Radikali Giderme Aktivite Tayini Sonuçları

Ekstraktların ABTS aktivitesi, Şekil 21 ve 22'teki standart grafiklere dayanarak askorbik asit ve trolox eşdeğerleri olarak rapor edilmiştir. Ayrıca, ekstraktın ABTS aktivitesi IC_{50} (mg/ml) olarak rapor edilmiştir.

Tablo 9. Antioksidan aktivite (ABTS) bulguları ve IC_{50} değerleri.

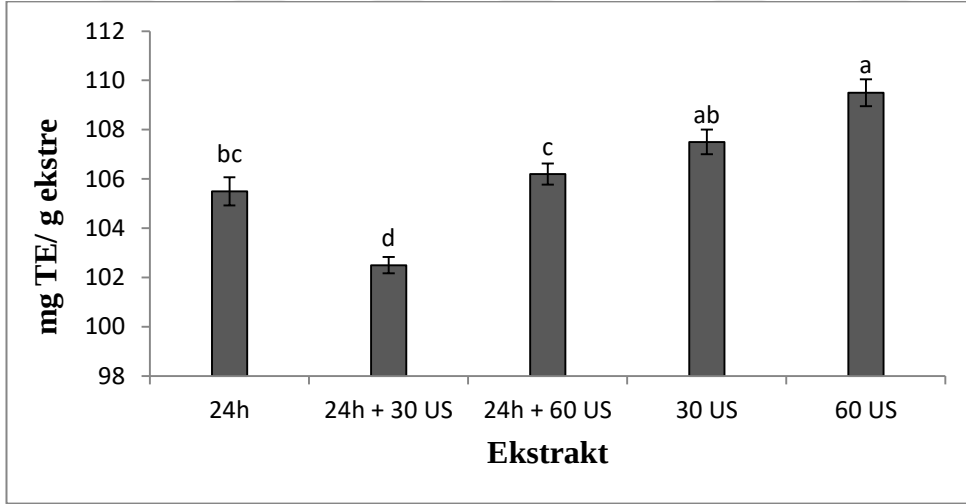
Ekstreler	mg AAE/g Ekstre	mg TE/g Ekstre	IC_{50} mg/mL
24h	110.5 ± 0.62^c	107.5 ± 0.57^{bc}	$0,149 \pm 0.21^e$
24h + 30'US	100 ± 1.32^d	102.3 ± 0.33^d	$0,166 \pm 0.03^f$
24h + 60'US	109 ± 0.63^c	105.9 ± 0.43^c	$0,134 \pm 0.05^d$
30'US	173.9 ± 1.17^a	109.6 ± 0.5^{ab}	$0,106 \pm 0.01^b$
60'US	160.6 ± 1.8^b	110.2 ± 0.55^a	$0,110 \pm 0.06^c$
Trolox	-	-	$0,019 \pm 0.02^a$

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir ($p < 0.05$). Sonuçlar 3 paralel değerlerin ortalaması alınarak $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. **24h**: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 14. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan *D.m.* bitki ekstraktlarındaki askorbik asite karşılık ABTS bulguları



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir ($p < 0.05$). Sonuçlar 3 paralel değerlerin ortalaması alınarak $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. **24h**: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 15. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan *D.m.* bitki ekstraktlarındaki troloksa karşılık ABTS bulguları

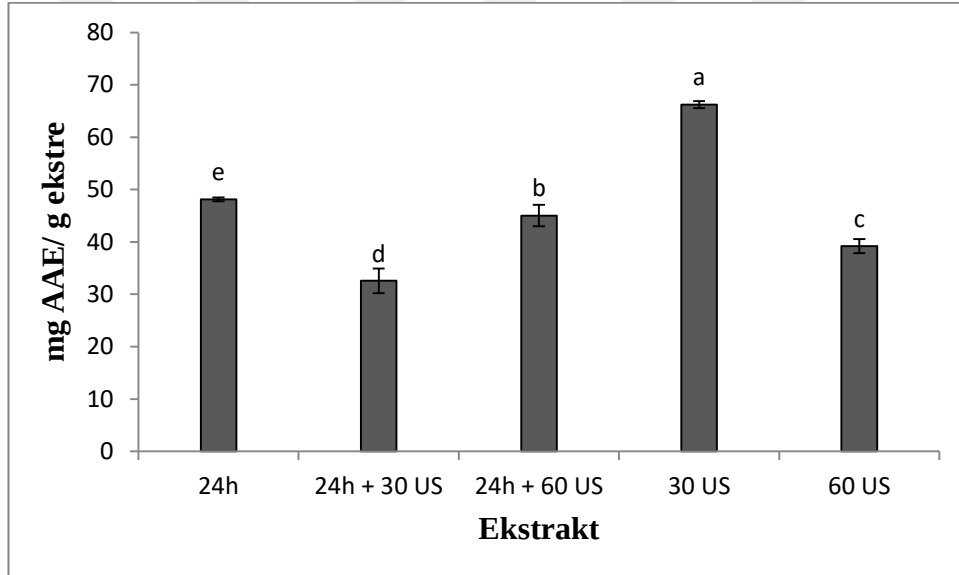
3.4.2. DPPH Radikali Süpürme Aktivite Tayini Sonuçları

DPPH radikal temizleme aktivitesi  ekil 23 ve 24'daki standart grafikleri esas olarak askorbik asit ve troloks e de eri olarak hesaplanmıştır (Tablo 10). Ekstraktların DPPH aktivitesi IC₅₀ değeri (mg/mL) olarak rapor edilmiştir.

Tablo 10. Antioksidan aktivite (DPPH) bulguları ve IC₅₀ değerleri.

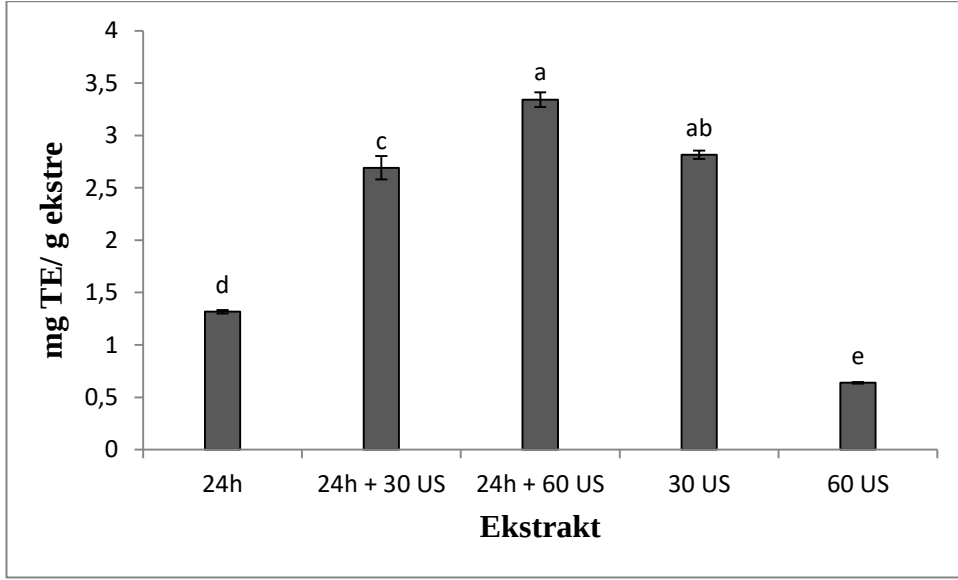
Ekstreler	mg AAE/g Ekstre	mg TE/g Ekstre	IC ₅₀ mg/mL
24h	16 ± 0.35 ^e	1.31 ± 0.016 ^d	1,33 ± 0.7 ^e
24h + 30'US	32.6 ± 2.3 ^d	2.69 ± 0.11 ^c	1,01 ± 0.1 ^d
24h + 60'US	45 ± 2.03 ^b	3.34 ± 0.07 ^a	0,46 ± 0.13 ^b
30'US	66.2 ± 0.6 ^a	2.81 ± 0.04 ^{ab}	0,86 ± 0.02 ^c
60'US	39.2 ± 1.3 ^c	1.04 ± 0.009 ^e	1,82 ± 0.3 ^f
Trolox	-	-	0,0006 ^a

24h: 24h  alkalayıcı; **24h+30'US:** 24h  alkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir (p<0.05). Sonuçlar 3 paralel değerin ortalaması alınarak ± standart sapma şeklinde gösterildi. **24h:**24 h çalkalayıcı; **24h+30'US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 16. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan *D.m.* bitki ekstraktlarındaki askorbik asite karşılık DPPH bulguları



a, b, c, d İfadeleri Duncan analizine göre istatistiksel olarak, sonuçların birbirinden farklı olduğunu belirtmektedir ($p < 0.05$). Sonuçlar 3 paralel değerin ortalaması alınarak $\pm$ standart sapma şeklinde gösterildi. **24h**: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US**: 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US**: 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US** : 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US** : 60 dk ultrasonik su banyosu.

Şekil 17. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan *D.m.* bitki ekstraktlarındaki troloksa karşılık DPPH bulguları

3.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları

3.5.1. Mikro Dilüsyon Yöntemi Sonuçları

D.m bitki ekstrelerinin MİK değerleri mikrodilüsyon ve disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 11, 12'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivite (MİK) bulguları (µg/mL).

Test Mikroorganizmaları	Ekstraktlar						Nistatin
	24h	24h+30' US	24h+60' US	30'US	60'US	Chloromphenicol	
<i>S. typhimurium</i> (gram -)	1000	1000	1000	1000	1000	16	-
<i>E. coli</i> (gram -)	64	64	64	64	64	16	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i> (gram -)	128	32	16	16	16	32	-
<i>K. pneumoniae</i> (gram -)	512	512	512	512	512	32	-
<i>P. aeruginosa</i> (gram -)	256	256	256	256	256	16	-
<i>X. spp.</i> (gram -)	32	32	32	32	32	32	-
<i>S. aureus</i> (gram +)	32	32	32	32	32	128	-
<i>MRSA</i> (gram +)	32	32	32	32	32	32	-
<i>B. subtilis</i> (gram +)	256	32	32	4	128	32	-
<i>E. faecium</i> (gram +)	512	512	512	512	512	32	-
<i>E. faecalis</i> (gram +)	32	32	8	16	16	16	-
<i>E. hirae</i> (gram +)	4	4	4	4	4	32	-
<i>B.cereus</i> (gram +)	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	16	-
<i>C. michiganensis</i> (gram +)	128	128	128	128	128	32	-
<i>S. pyogenes</i> (gram +)	512	512	512	512	512	32	-
<i>C. tropicalis</i> (maya)	4	32	32	16	256	-	16

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.

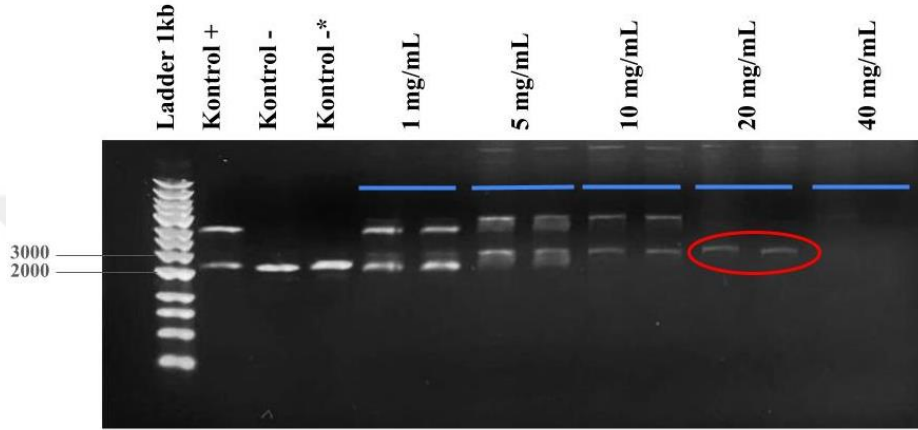
Tablo 12. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivite (disk difüzyon, 800 µg/mL ekstre) bulguları (mm).

Test	Ekstraktlar					Chloromphenicol (200 µg/mL)	Nistatin (200 µg/mL)
	24h	24h+30'US	24h+60' US	30'US	60'US		
Mikroorganizmaları							
<i>S. typhimurium</i> (gram -)	10	10	10	10	10	18	-
<i>E. coli</i> (gram -)	-	-	-	-	-	16	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i> (gram -)	12	12	12	12	12	12	-
<i>K. pneumoniae</i> (gram -)	-	-	-	-	-	12	-
<i>P. aeruginosa</i> (gram -)	-	-	-	-	-	16	-
<i>X. spp.</i> (gram -)	10	10	10	12	12	18	-
<i>S. aureus</i> (gram +)	-	-	-	-	-	18	-
<i>MRSA</i> (gram +)	-	-	-	-	-	15	-
<i>B. subtilis</i> (gram +)	9	11	10	8	10	18	-
<i>E. faecium</i> (gram +)	-	-	-	-	-	10	-
<i>E. faecalis</i> (gram +)	-	-	-	-	-	15	-
<i>E. hirae</i> (gram +)	-	-	-	-	-	17	-
<i>B.cereus</i> (gram +)	-	-	-	-	-	20	-
<i>C. michiganensis</i> (gram +)	-	-	-	-	-	18	-
<i>S. pyogenes</i> (gram +)	20	18	18	16	16	20	-
<i>C. tropicalis</i> (maya)	11	12	11	10	8	-	15

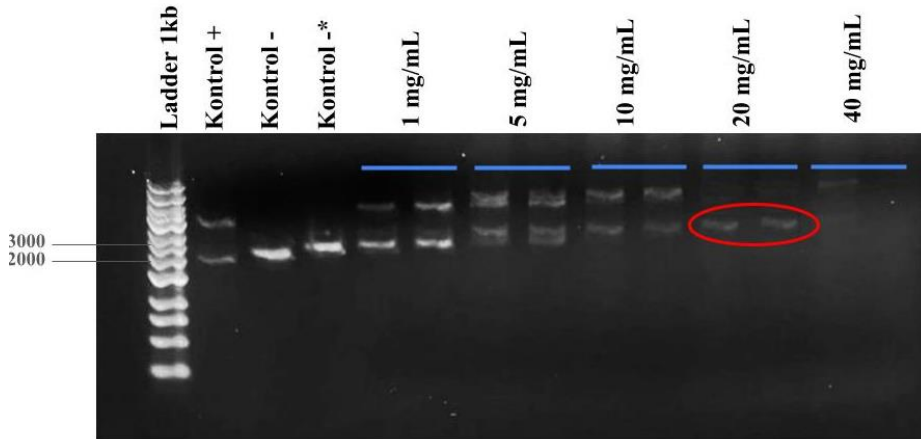
24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.

3.6. DNA Koruyucu Aktivite Sonuçları

Doronicum macrolepis (D.m) ekstraktlarının pUC19 plazmiti üzerine koruyucu aktivitesinin varlığı fenton reaktifi ile %1'lik agaroz jel elektroforezin de belirlenmiştir. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanmış D.m.'ya ait ekstratların 1-5-10-20 ve 40 mg/mL konsantrasyonları ile DNA koruyucu aktiviteleri araştırılmıştır. 20 mg/mL konsantrasyonda veriler en etkili DNA koruyucu aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 18).



Şekil A



Şekil B

Şekil 18. Farklı ekstraksiyon metodlarıyla hazırlanmış *Doronicum macrolepis*'e ait ekstratların (20 mg/mL) DNA koruyucu aktiviteleri. (A: 30 dk ultrasonik su banyosu; B: 24h çalkalayıcı + 60 dk ultrasonik;)

3.7. HPLC Analizi ile Fenolik Madde İçeriği Sonuçları

Ekstrelerin fenolik içeriği, 24h, 24h+30'US, 24h+60'US, 30'US, 60'US banyoda hazırlanan ekstreler kullanılarak HPLC ile analiz edilmiştir. Yukarıda belirtilen 22 standart kromotogramına göre okumalar yapılarak elde edilen sonuçlar Tablo 13'de gösterilmiştir.



Tablo 13. Ekstrelerin fenolik bileşen içeriği (mg/g ekstre).

Bileşen	<i>Gallik Asit</i>	<i>Kafeik Asit</i>	<i>Protokateşik Asit</i>	<i>Syringaldehyde</i>	<i>Sirinjik Asit</i>	<i>Rutin</i>	<i>Ferulik Asit</i>	<i>Epikateşin</i>
24h	0,18	0,59	0,24	20,07	-	3,97	4,89	4,21
24h+30'UV	0,08	0,69	0,25	19,99	0,13	-	5,91	0,42
24+60'UV	0,09	0,63	0,52	20,93	0,14	-	5,81	0,09
30'UV	0,14	1,11	-	17,97	0,08	-	6,61	6,57
60'UV	0,08	0,62	0,17	18,26	0,09	-	6,38	5,45

- Tespit edilemedi.

24h: 24h çalkalayıcı; **24h+30'US:** 24h çalkalayıcı+30 dk ultrasonik su banyosu; **24h+60'US:** 24h çalkalayıcı+60 dk ultrasonik su banyosu; **30'US :** 30 dk ultrasonik su banyosu; **60'US :** 60 dk ultrasonik su banyosu.

4. TARTIŞMA

4.1. Toplam Fenolik İçerik (TPC)

Bu çalışmada, *Doronicum macrolepis*'in farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi ile spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir. Buna göre, toplam fenolik içerik 37.42-50.71 mgGAE/g ekstre aralığında bulunmuştu. En yüksek fenolik içeriğin 30' US bitki ekstresinde (50.71 ± 1.51^a mg GAE/g ekstre), en düşük fenolik içeriğin ise 24h+30' US bitki ekstresinde (37.42 ± 0.57^e mg GAE/g ekstre) olduğu belirlenmiştir (Tablo 7).

Literatürde, *Doronicum macrolepis* üzerine yapılmış benzer bir çalışmada, etanol (EtOH) kullanılarak yapılan 8 saatlik ekstraksiyon sonucunda elde edilen çiçek ekstresinin toplam fenolik içeriği 273.8 ve gövde ekstresinin ise 48.5 mg GAE/g ekstre olduğu bulunmuştur (Özcan, 2020). Bu farklılığın hem kullanılan bitki kısımlarından hem de ekstraksiyon süresindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülebilir. Bununla birlikte, *Doronicum orientale*'nin toprak üstü kısımlarının kullanıldığı bir çalışmada, oda sıcaklığında 24 saatlik etanol ekstresinin toplam fenolik içeriğinin 35.81 mg GAE/g ekstre olduğu rapor edilmiştir (Zengin vd., 2022). Buna göre, mevcut çalışmada, elde edilen (30' US bitki etanol ekstresi) fenolik içeriğin (50.71 mg GAE/g ekstre) daha yüksek olduğu görülmektedir. Burada ultrasonik banyo kullanımının fenolik içeriğin artmasına neden olduğu söylenebilir. Ayrıca diğer bir çalışmada, *Doronicum hookeri*'nin soksilet kullanılarak elde edilen metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği 43.98 mg GAE/g ekstre olarak tespit edilmiştir (Devi vd., 2023). Bu farklılığın kullanılan solvent ve ekstraksiyon yönteminden kaynaklandığı düşünülebilir.

Doronicum cinsi üzerine yapılan çalışmalar kısıtlı olsa da aynı aileye mensup olan çeşitli bitkiler üzerine yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda bitkilerin etanol ekstrelerinin fenolik içerikleri tespit edilmiş ve mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür (Nebrigić vd., 2023; Zengin vd., 2023; Yıldırım vd., 2022).

4.2. Toplam Flavonoid İçeriği (TFC)

Bu çalışmada, *Doronicum macrolepis*'in farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam flavonoid içeriği, $AlCl_3$ yöntemi ile spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir. Buna göre, toplam flavonoid içerik 48.35-

66.7 mgQE/g ekstre aralığında bulunmuştur. En yüksek flavonoid içeriğin 24h+60'US bitki ekstresinde (66.7 ± 0.53^a mg GAE/g ekstre), en düşük flavonoid içeriğin ise 24h+30' US bitki ekstresinde (48.35 ± 0.31^d mg GAE/g ekstre) olduğu belirlenmiştir (Tablo 8).

Literatürde, *Doronicum macrolepis* üzerine yapılmış benzer bir çalışmada, etanol (EtOH) kullanılarak yapılan 8 saatlik ekstraksiyon sonucunda elde edilen çiçek ekstresinin toplam flavonoid içeriği 123.2 ve gövde ekstresinin ise 19.3 mg QE/g ekstre olduğu bulunmuştur (Özcan, 2020). Buna göre, gövde ekstresi açısından kıyaslandığında, mevcut çalışmada elde edilen sonuçların daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum ekstraksiyon metoduna bağlı olarak toplam flavonoid içeriğin de değişebileceğini göstermektedir. Diğer taraftan, *Doronicum orientale*'nin toprak üstü kısımlarının kullanıldığı bir çalışmada, oda sıcaklığında 24 saatlik etanol ekstresinin toplam flavonoid içeriğinin 12.44 mg QE/g ekstre olduğu rapor edilmiştir (Zengin vd., 2022). Buna göre, mevcut çalışmada, elde edilen (24h+60'US bitki etanol ekstresi) flavonoid içeriğin (66.7 mg QE/g ekstre) çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Burada ultrasonik banyo kullanımının flavonoid içeriğin artmasına neden olduğu söylenebilir. Ayrıca, *Doronicum hookeri*'nin soksilet kullanılarak elde edilen metanol ekstresinin toplam flavonoid içeriği 53.56 mg RE/g ekstre olarak tespit edilmiştir (Devi vd., 2023). Bu değer de mevcut çalışma ile kıyaslandığında düşüktür. Soksilet kullanımı ve farklı bir solventin seçilmesi bu değişimi açıklayabilir. Ayrıca, standart olarak rutin kullanılmıştır ve tam anlamıyla kıyaslanabilir değildir.

Sonuç olarak, mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların, genel olarak literatüre uygun olduğu söylenebilir.

4.3. Antioksidan aktivite

Ekstrelerinin antioksidan aktivitesi, ABTS ve DPPH yöntemleri ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada ABTS radikal süpürme aktivitesi en yüksek 24h+30'US ekstresinde, en düşük ise 30'US ekstresinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 9); en yüksek DPPH radikal süpürme aktivitesi 60'US ekstresinde ve en düşük ise 24h+60'US ekstresinde tespit edilmiştir (Tablo 10). Ekstraktların ABTS ve DPPH radikal süpürücü aktiviteleri de IC_{50} değeri şeklinde verildi. Düşük bir IC_{50} değeri, ekstrenin ABTS ve DPPH radikal süpürme aktivitelerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada ise ABTS ve DPPH IC_{50} değerleri en düşük ve bundan kaynaklı en yüksek verimliliğe sahip olan ekstreler sırası ile 30'US ekstre 109.6 ± 2.05^{ab} (mg TE/g Ekstre) ve 30'US ekstre 2.81 ± 0.34^a (mg TE/g Ekstre) olmuştur.

Literatürde, *Doronicum macrolepis* üzerine yapılmış benzer bir çalışmada, etanol (EtOH) kullanılarak yapılan 8 saatlik ekstraksiyon sonucunda elde edilen çiçek ekstresinin ABTS radikal süpürme aktivitesinin değeri 185.7 ± 1.5^e (TE/g ektre), DPPH radikal süpürme aktivitesinin değeri ise 21.6 ± 0.9^g (TE/g ektre) olduğu belirlenmiştir. (Özcan, 2020). Buna göre, gövde ekstresi açısından kıyaslandığında, mevcut çalışmada elde edilen sonuçların daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum bitki organlarının farklı antioksidant değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, *Doronicum orientale*'nin toprak üstü kısımlarının kullanıldığı bir çalışmada, oda sıcaklığında 24 saatlik etanol ekstresinin ABTS radikal süpürme aktivitesinin değeri 62.85 ± 1.22^c (TE/g ektre), DPPH radikal süpürme aktivitesinin değeri ise 39.36 ± 0.12^c (TE/g ektre) olduğu rapor edilmiştir (Zengin vd., 2022).

Sonuç olarak, mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların, genel olarak literatüre uygun olduğu söylenebilir.

4.4. Antimikrobiyal Etkinlik

Tüm ekstrelerin en azı 1 mikroorganizmaya karşı aktivite göstermiştir (Tablo 11). En yüksek aktivite, 30'US ekstresinde $4 \mu\text{g/mL}$ MİK değeri ile *B. subtilis* üzerinde gözlemlenmiştir. *Bacillus subtilis*, gram pozitif çubuk halinde bir bakteri türü olup bitki iyileştirmesi için kullanılmakta olan bakteri türlerinden biridir. Ekstrelerin bu organizmanın üzerindeki etkisi ise yabancı otların harap edilmesi açısından oldukça önemlidir. Diğer 24h+60'US ve tüm ekstresinde *E. hirae* bakterisinde $4 \mu\text{g/mL}$ MİK değeri vermesi, ekstreleri *E. hirae* bakterisinin sebebiyet verdiği prostat büyümesi ve idrar yolu enfeksiyonlarının, 24h+60'US, 30'US, 60'US ekstrelerinde *Y.pseudotuberculosis* bakterisinde $16 \mu\text{g/mL}$ MİK değeri vermesi ise *Y.pseudotuberculosis*'in insanlarda neden olduğu enterik enfeksiyonların (Ikeuchi vd., 2023) tedavisi açısından değerlendirilebilmektedir. Literatürde, *Doronicum macrolepis* bitki ekstreleri ve yağının antimikrobiyal aktivitesi, 17 bakteri ve 2 maya türü kullanılarak mikrodilüsyon yöntemiyle (Özcan, 2020) araştırılmıştır. Test edilen tüm mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdikleri ($>512 \text{ mg/mL}$) belirlendi, ancak bitkinin uçucu yağı tüm mikroorganizmalarda dikkat çekici aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin, bitkiden elde edilen uçucu yağ, 4 mg/mL konsantrasyonda *E.coli* üzerinde çok güçlü bir etki gösterirken, 32 mg/mL konsantrasyonda *S.epidermidis*, vankomisin dirençli *E.faecium*, *Y.pseudotuberculosis*, *C.albicans* ve *C.tropicalis* üzerinde dikkate değer antimikrobiyal etki göstermiştir.

Bunların yanında, *Doronicum hookeri*'nin metanol ekstralarının 3 organizmaya karşı antimikrobiyal (*Bacillus subtilis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas aeruginosa* (500 µg/ml) etki gösterdiği belirlenmiştir (Aleem vd., 2020).

Doronicum cinsi üzerine yapılan çalışmalar kısıtlı olsa da aynı *Asteraceae*, ailesine mensup olan çeşitli bitkiler üzerine yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda bitkilerin etanol ekstralarının fenolik içerikleri tespit edilmiş ve mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür (Yıldırım vd., 2022; Nostro vd., 2001).

4.5. Fenolik Bileşen Analizi

Bu çalışmada, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen beş farklı etanol ekstresinin fenolik bileşenleri, 22 fenolik bileşiğin varlığında, HPLC ile analiz edilmiştir (Tablo 13). Buna göre *kateşin*, *vanilin asit*, *vanilin*, *p-kumarik asit*, *benzoik asit*, *rosmarinik asit*, *kumarin*, *trans-sinamik asit*, *kuersetin* ve *kamferol* hiçbir ekstrakta tespit edilememiştir. Aynı zamanda en yüksek fenolik bileşen miktarı 24 + 60' UV ve 30'UV ekstralarında görülmüştür. Ek olarak, 24h+60'UV ve 24h ekstralarının ana bileşeni *syringaldehyde* (sırasıyla 20.93 mg/g ekstre ve 20.07 mg/g ekstre) olarak tespit edilmiştir.

Literatürdeki benzer çalışmalara bakıldığında, Zengin vd., (2022)'nin *Doronicum orientale* üzerine yapmış oldukları çalışmada, HPLC/MS/MS ile bitkinin toplam biyoaktif bileşenleri incelenmiş ve toprak üstü etanol ekstresinde en yüksek 5-*Caffeoylquinic acid* (330.56 µg/g ekstre) bulmuşlardır. Bu çalışmada ortak taranan fenolik bileşenlere bakıldığında (*gallik asit*, *kafeik asit* ve *rutin* gibi) mevcut çalışmadaki tüm ekstraların fenolik içeriklerinin çok daha yüksek miktarda olduğu dikkat çekmektedir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşenlerin onların aktiviteleri ile bağlantılı olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur. Esasında ana bileşenlerden bir tanesi olan *syringaldehyde* anti-hiperglisemik ve antiinflamatuvar bileşendir (Wang vd., 2018). *Ferulik asit* ise kuvvetli bir antioksidandır ve tek başına UV'nin bir kısmını emer ve bu sebeple kendisi zayıf bir güneş koruyucudur (Burke vd., 2009).

Literatürde aynı bitki üzerine yapılam diğer bir çalışmada ise, *Doronicum macrolepis* bitkisinin uçucu yağı Özcan (2020) tarafından hidro-distilasyon yöntemi kullanılarak elde edilmiş ve fitokimyasal bileşimi GC/GC-MS (Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometrisi) kullanılarak belirlenmiştir. Yağın yüksek miktarlarda (E,E)- α -*Farnesen* (% 21.5), *trans- β -Osimen* (% 12.8), δ -*Cadinene* (% 9.5), *Caryophyllene oksit*

(% 8.2) ve *timol* (% 4.4) içerdiği tespit edildi. Bu kimyasal bileşimdeki farklılıkların, bitkilerin toplandığı ekolojik koşullar toplama zamanı ve ekstraksiyon yöntemi gibi çeşitli faktörlerden kaynaklandığı düşünülmüştür (Salehi vd., 2018).

Sonuç olarak, *Doronicum macrolepis* bitkisinin farklı ekstrelerinin fenolik bileşen analizi ilk kez bu çalışma ile kapsamlı olarak ortaya konulmuştur.

4.6. DNA Koruyucu Aktivite

Ekstrelerin DNA koruyucu aktivitesi, fenton solüsyonu ile pUC19 plazmitine hasar indüklenerek tespit edildi. Bu çalışmanın içerisinde 1, 5, 10, 20 ve 40 mg/mL gibi birbirinden farklı daha yüksek aktivite göstermekte olan 24h+60'US ve 30'US ekstrelerinin konsantrasyonlardaki DNA koruyucu aktiviteleri araştırıldı en etkili DNA koruyucu aktivite, her iki ekstre için de 20 mg/mL konsantrasyonda görüldü. Bu aktivitenin, ekstrelerin ana bileşenlerinden biri olan ve DNA koruyucu özelliği olduğu bilinen *ferulik* asitten (Dharmendra vd., 2005) kaynaklandığı düşünülebilir. Sonuç olarak, bitkinin kısmen DNA koruyucu aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Sonuç olarak, Türkiye üzerinde yetismekte olan halk tarafından pek çok rahatsızlığın ve problemin giderilmesi amacıyla kullanılan ve ticari bir öneme sahip olan *D.m*'nın ekstraksiyonu değişik ve farklı yöntemlerle yapılmıştır. Bu durum bitkinin en etkin kullanım halini ortaya koyması açısından fazlaca değerlidir. 30'US hazırlanan ekstrelerin 4 µg/mL MİK değeri ile bitki yetiştirmede büyük faydası olan *B.subtilis* bakterisi üzerinde, yüksek antibiyotik direnc gözlemlenmiştir. Buda *D.m* ekstrelerinin kullanımı tarımda, yabancı otların mahvına olanak sağlar. *D.m* ekstrelerinin DNA koruyucu aktiviteleri de ilk kez ortaya konulmuş olup, bu çalışmanın literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bütün sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, söz konusu olan bitkinin sağlık gibi alanlarda kullanım için güçlü bir potansiyeli olduğu söylenebilir. Fakat bu mevcut biyolojik aktivitelerin dahada iyi anlaşılabilmesi amacıyla ekstraktların etken maddelerinin daha gelişmiş teknikler ile saflaştırılması ve in vivo çalışmalarla test edilmesi gerekmektedir.

6. ÖNERİLER

Bitki kaynaklı bileşiklerin farmakolojik özelliklerini araştırmak ve kullanmak, modern tıbbın gelişiminde hayati bir rol oynar. Bu bağlamda, endemik bitkilerin ileri araştırmalarda kullanılabilmesi için bitki biyoteknolojisi son derece önemlidir. Bitki biyoteknolojisi, endemik bitkilerin örneklerini toplamak, doku kültüründe çoğaltmak suretiyle bitki örneklerini korumakla kalmaz, aynı zamanda bu bitkilerin belirli bileşenlerini analiz etmek ve üretmek için de kullanılır. Bu yöntem, nadir bitki türlerinin korunmasına ve farmakolojik açıdan önemli bileşenlerin elde edilmesine kolaylık sağlar. Dolayısıyla, mevcut çalışmalar ileri biyoteknolojik uygulamalar için önemli bir veri kaynağı oluşturabilir.

Antioksidan deneyleri, bitkilerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerini değerlendirmek için önemli bir araçtır. Antioksidanlar, vücuttaki serbest radikallerin etkilerini nötralize ederek hücresel hasarı azaltabilir ve çeşitli hastalıkların önlenmesine yardımcı olabilirler. Bu nedenle, daha fazla antioksidan deneylerin yapılması, antioksidanların sağlık üzerindeki olumlu etkilerini anlamamıza yardımcı olabilir. Antioksidan deneylerin tekrarlanabilirliği, elde edilen sonuçların güvenilirliği açısından kritiktir. Farklı doğal ve sentetik standartların kullanılması, deneylerin daha güvenilir olmasını sağlar ve sonuçların daha sağlam bir temele dayanmasına yardımcı olabilir. Bu nedenle, antioksidan analiz metodları çeşitlendirilebilir ve yapılan deneylerde çeşitli doğal ve sentetik standartlar kullanılarak tekrarlanabilir.

D.m türü, şeker hastalığı, alzheimer hastalığı, yara iyileşmesi ve kanser gibi çeşitli metabolik bozuklukların tedavisindeki potansiyelleriyle tıbbi araştırmaların odak noktalarından birini oluşturmaktadır. Bu tür hastalıkların tedavisinde bitkisel bileşiklerin kullanılması, geleneksel tedavilere alternatif veya destekleyici bir yaklaşım sağlayabilir. Bitkiden elde edilen etken maddelerin saflaştırılması ve farmakolojik olarak değerlendirilmeside, bitkisel ilaçların geliştirilmesinde önemli bir adımdır. Bu süreç, bitkisel bileşiklerin biyolojik etkilerini daha iyi anlamamıza ve potansiyel ilaç adaylarını belirlememize olanak tanır. Bu etki mekanizmasının da daha detaylı olarak anlaşılabilmesi için *in vivo* deneyler gerçekleştirilmelidir. Bu deneyler, bitkisel bileşiklerin vücut üzerindeki etkilerini daha gerçekçi bir şekilde değerlendirmemize ve klinik uygulamalara daha yakın sonuçlar elde etmemize yardımcı olabilir.

Bitkinin antibakteriyel aktivitesi göz önünde bulundurularak, daha fazla antibiyotiklerle sinerjistik etkileri araştırılmalıdır. Bu, doğal bitkisel bileşenlerin antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında daha etkili olup olmadığını değerlendirmemize olanak tanır. Bitkilerin antibakteriyel aktivitesinin daha dirençli mikroorganizmalara karşı test edilmesi, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi açısından önemlidir. Dirençli mikroorganizmalarla mücadele etmek için bitkisel kaynaklardan elde edilen bileşiklerin potansiyelini değerlendirmek, antibiyotik direncine karşı mücadelede yeni stratejiler geliştirmemize yardımcı olabilir.

Ekstraksiyon çeşitliliğini artırmak ve farklı solüsyonlarla çalışmak, bitkilerin biyolojik etkilerini daha ayrıntılı ve kapsamlı bir şekilde değerlendirmemize olanak tanıyabilir.

Fenol içeriği analizi, bitkilerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Daha fazla standart kullanarak yapılan fenol içeriği analizi, bitkilerin antioksidan kapasitelerini daha kapsamlı bir şekilde belirlememize ve farklı bitki örnekleri arasında daha güvenilir karşılaştırmalar yapmamıza yardımcı olur. Bu, bitkisel bileşiklerin sağlık üzerindeki etkilerini daha etkin bir şekilde anlamamıza ve potansiyel tedavi seçeneklerini daha doğru bir şekilde değerlendirmemize katkı sağlayabilir.

Sonuç olarak, Gümüşhane iline endemik olan *D.m.* sahip olduğu biyolojik aktiviteler nedeniyle, oldukça değerlidir. Ayrıca, görsel güzelliği ile de dikkati çekmektedir. Bu bitki üzerine yapılan çalışmalar, ilimizin bitki zenginliğini vurgulamak açısından önemlidir. Ayrıca, bu tür çalışmalar Gümüşhane ilinin etnobotanik açıdan önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan, mevcut çalışma çevreye olan duyarlılığın artırılması açısından önemli mesajlar barındırmaktadır. Gelecekteki çevre eğitimleri için önemli bir kaynak oluşturabilir.

KAYNAKÇA

- Acet, T. (2020). Determining the phenolic components by using HPLC and biological activity of *Centaurea triumfetti*. *Plant Biosystems*, 155(1), 159–164.
- Ahmed, A. M. A., Rahman, M. A., Hossen, M. A., Reza, A. S. M. A., Islam, M. S., Rashid, M. M., . . . Uddin, M. N. (2021). Epiphytic *Acampe ochracea* orchid relieves paracetamol-induced hepatotoxicity by inhibiting oxidative stress and upregulating antioxidant genes in in vivo and virtual screening. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 143, 112–215.
- Akileshwari, C., Muthenna, P., Nastasijevi, B., Joksi, G., Petrash, J. M. ve Reddy, G. B. (2012). Inhibition of aldose reductase by *Gentiana lutea* extracts. *Exp. Diabetes Res.*, 1–8.
- Akpınar, K., Yildirim, N., O., Yaylı, N., Terzioğlu, S. ve Yaylı, N. (2009). Volatile Constituents of the Flowers and Leaves-Stems of three *Doronicum* taxa from Turkey. *Asian J. Chem.*, 21(2), 1225–1229.
- Alakbarov, F.U. (2001). Medicinal plants used in medieval Azerbaijan phytotherapy. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 1(3), 35–49.
- Aleem M., Khan, M. I., Usmani, Q. I. ve A. Ahmad. (2020). Review on *Darunaj-aqrabi* (*Doronicum hookeri* CB Clarke): an Unexplored Medicinal Plant of Unani System of Medicine. *J. AYUSH Ayurveda, Yoga, Unani, Siddha Homeopath*, 9(2), 41–52.
- Alghamdi, B. A., Al-Johani, I., Al-Shamrani, J. M., Alshamrani, H. M., Al-Otaibi, B. G., Master, K. A. ve Yusof, N. Y. (2023). Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(4), 103604. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103604>.
- Aliyazicioğlu R., Korkmaz N., Akkaya Ş. ve Şener, S. O. (2018). *Dactylorhiza osmanica*'nın toprak üstü kısımlarında antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz inhibitör aktivitelerinin araştırılması. *Fırat Med. J.*, 23, 50–57.
- Alvarez, M. A. (2016). *Plant Biotechnology for Health: From Secondary Metabolites to Molecular Farming*, Springer International Publishing.
- Anand, S., Arasakumari, M., Prabu, P. ve Amalraj, A. J. (2016). Anti-diabetic and aldose reductase inhibitory potential of *Psidium guajava* by in vitro analysis. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 8(9), 271–276.
- Athipornchai, N. J. (2018). Tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of Orchid (*Dendrobium spp.*). *South African Journal of Botany*, 119, 188-192.

- Awuchi, C.G. ve Morya, S. (2023). Herbs of Asteraceae Family. In *Harvesting Food from Weeds* (eds P. Gupta, N. Chhikara and A. Panghal).
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Belgüzar, S., Y. Yanar ve Y. Aysan. (2016). Intensity of bacterial wilt disease of tomato in Tokat and identification of disease agent (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *JAFAG*, 33, 34-40.
- Berlett, B.S. ve Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313-20316.
- Berberoğlu, Z. ve Hocaoglu, Ç. (2021). Küresel Sağlık Sorunu ‘Obezite’: Güncel Bir Gözden Geçirme, *Mnisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3): 543-552.
- Bhagavathy, S., Sumathi, P. ve Bell, I. J. S. (2011). Green algae *Chlorococcum humicola* - a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1), S1-S7.
- Bhuiyan, A. K. M., Sakib, N., Pakpour, A. H., Griffiths, M. D. ve Mamun, M. A. (2021). COVID-19-related suicides in Bangladesh due to lockdown and economic factors: case study evidence from media reports. *International Journal of Mental Health and Addiction*, 19(6), 2110-2115.
- Bild, W., Ciobica, A., Padurariu, M. ve Bild, V. (2013). The interdependence of the reactive species of oxygen, nitrogen, and carbon. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 69, 147-154.
- Blok, K. I., Gyllenhaal, C., Lowe, L. (2015). Kanserin önlenmesi ve tedavisi için geniş spektrumlu bütünleştirici bir yaklaşım tasarlamak. *Seminars in Cancer Biology*, 35, S276-S304.
- Bollam, R., Yassin, M. ve Phan, T. (2021). Detection of *Enterococcus hirae* in a case of acute osteomyelitis, *Radiology Case Reports*, 16(9), Pages 2366-2369, ISSN 1930-0433, <https://doi.org/10.1016/j.radcr.2021.06.016>.
- Borah, A., Paw, M., Gogoi, R., Loying, R., Sarma, N., Munda, S., . . . Lal, M. (2019). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, anti-microbial and in-vitro cytotoxic efficacy of essential oil of *Curcuma caesia* Roxb. leaves: An endangered medicinal plant of North East India. *Industrial Crops and Products*, 129, 448-454.

- Bordoloi, C., Kumar, S., Barbhuiya, A. M., Kushari, S., Kalita, J. M., Sahu, B. P. ve Laloo, D. (2023). Herbal medicine used for wound healing by the tribes of the North Eastern states of India: a comprehensive review. *Journal of Herbal Medicine*, 41, 100697.
- Bose, B., Choudhury, H., Tandon, P. ve Kumaria, S. (2017). Studies on secondary metabolite profiling, anti-inflammatory potential, in vitro photoprotective and skin-aging related enzyme inhibitory activities of *Malaxis acuminata*, a threatened orchid of nutraceutical importance. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 686-695.
- Bozkir, B., Acet, T., Özcan, K. (2022). Investigation of the effects of different extraction methods on some biological activities of *Dactylorhiza romana* subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taubenheim. *South African Journal of Botany*, 149, 347-354.
- Breen, A.P. ve Murphy, J.A. (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology & Medicine*, 18, 1033-1077.
- Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R. ve Swaminathan, B. (2000). Salmonella nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 2465–2467.
- Brewer, M.S. (2011). Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 221-247.
- Bui-Xuan, D., Tang, D. Y. Y., Chew, K. W., Nguyen, T. D. P., Ho, H. L., Tran, T. N. T., . . . Nguyen-Sy, T. (2022). Green biorefinery: Microalgae-bacteria microbiome on tolerance investigations in plants. *Journal of Biotechnology*, 343, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.12.002>.
- Buranasinsup, S., Wiratsudakul, A., Chantong, B., Maklon, K., Suwanpakdee, S., Jiemtaweewoon, S. ve Sakcamduang, W. (2023). Prevalence and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from veterinary staff, pets, and pet owners in Thailand. *Journal of Infection and Public Health*, 16(Supplement 1), 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.11.006>.
- Burke, K. E. (2009). Chapter 8 - Prevention and Treatment of Aging Skin with Topical Antioxidants, Editor(s): Nava Dayan, In Personal Care & Cosmetic Technology, Skin Aging Handbook, William Andrew Publishing, Pages 149-176, ISBN 9780815515845, <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-1584-5.50012-0>.

- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. ve Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74, 2157–2184.
- Casas-Grajales, S. ve Muriel, P. (2015). Antioxidants in liver health. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 6, 59-72.
- Cejas, D., Francisco, M., Alan, E., Micaela, F., Cecilia, O., María, V., . . . Marcela, R. (2022). Emergence and clonal expansion of *Klebsiella pneumoniae* ST307, simultaneously producing KPC-3 and NDM-1. *Revista Argentina de Microbiología*, ISSN 0325-7541.
- Chai, L. Y. A., Denning, D. W. ve Warn, P. (2010). *Candida tropicalis* in human disease. *Critical Reviews in Microbiology*, 36(4), 282-298.
- Ciccio, A. ve Elledge, S. J. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Molecular Cell*, 40(2), 179-204.
- Cicek, A. C., Duzgun, A. O., Saral, A. ve Sandalli, C. (2014). Determination of a novel integron-located variant (blaOXA-320) of Class D β -lactamase in *Proteus mirabilis*. *Journal of Basic Microbiology*, 54(10), 1030-5.
- Commoner, B., Townsend, J. ve Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials, *Nature*, 174, 689–691.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. ve Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17, 1195-1214.
- Cowan, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Review*, 12(4), 564-582.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M. V., Martí-Álvarez, P. J., Bills, G., Vicente, M. F. ve Basilio, A., . . . Rivas, C. L. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382.
- Dalar, A., Guo, Y., Esim, N., Bengu, A. S. ve Konczak, I. (2015). Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, *Dactylorhiza chuhensis* Renz&Taub. - in vitro investigations. *Journal of Herbal Medicine*, 5, 77–85.
- Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H. ve Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum* L.) kabuğunun in vitro antidiyabetik, antienflamatuar, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Akademik Gıda*, 17(1), 61-71.
- Denisow-Pietrzyk, M., Pietrzyk, L. ve Denisow, B. (2019). Asteraceae species as potential environmental factors of allergy. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04146-w>.

- Devi, S., Goyal, S., Dhiman, A. ve Singla, S. (2023). Antioxidants and Antibacterial Potential of Extracts of Rhizome of *Doronicum hookeri*. *Research & Review: Drugs and Drugs Development*, 5, 40-52. <https://doi.org/10.46610/RRDDD.2023.v05i02.005>.
- Dinçer, Y. ve Akçay, T. (2000). DNA Hasarı, *Türk Biyokimya Dergisi*, 25(2), 73-79.
- Dionysia, T., Işıl, T., Gökhan, K., Gökay, M.B., Vaso, Z. ve Athanasia, P. (2021). Sistem biyolojisi yaklaşımıyla kanser önleyici biyolojik aktiviteye sahip doğal ürünlerin madenciliği. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 9993518.
- Satyajit, D. S., Zahid, L., Alexander, I. G. (Ed.) (2006). Doğal Ürünler İzolasyonu; Springer Science ve Business Media: Berlin/Heidelberg, Almanya.
- Edmondson, J.R. (1975). *Doronicum L. (Asteraceae). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 5, pp. 137-145.*
- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Al-Mana, F. A., Mahmoud, E. A., El-Abedin T. K. A. Z., . . . Ekiert, H. (2019). Phenolic Compounds of *Catalpa speciosa*, *Taxus cuspidata*, and *Magnolia acuminata* have Antioxidant and Anticancer Activity. *Molecules*, 24(3), 412.
- Eliopoulos, G. M. (1992). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. *The Journal of Infectious Diseases*, 280(6).
- Elshafie, H. S., Camele, I. ve Mohamed, A. A. (2023). Bitkisel Kökenli İkincil Metabolitlerin Biyolojik, Tarımsal ve Farmasötik Özellikleri Üzerine Kapsamlı Bir İnceleme. *Uluslararası Journal of Molecular Sciences*, 24, 3266. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
- Endemik hastalık olarak piyojenik karaciğer apsesi, Tayvan. *Acil Enfeksiyon Hastalıkları*, 2008, 14, 1592-600.
- Erarslan, Z. B. ve Kultur, S. (2023). *Doronicum* Cinsinin Taksonomisi, Geleneksel Kullanımı ve Terapötik Önemi: Derleme. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 6(2), 208–244
- Erdoğan, A. ve Everest, A. (2013). Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2, 27-32.
- Erlund, I., Koli, R., Alfthan, G., Marniemi, J., Puukka, P., Mustonen, P., ... Jula, A. (2008). Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(2), 323-331.

- Evans, M. D. ve Cooke, M. S. (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, 26, 533-542.
- Ewers, C., Janssen, T., Kiessling, S., Philipp, H. C. ve Wieler L. H. (2004). Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Veterinary Microbiology*, 104, 91-101.
- Fang, Y. Z., Yang, S. ve Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4).
- Fatmi, M. ve Schaad, N. W. (2002). Survival of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in infected tomato stems under natural field conditions in California, Ohio and Morocco. *Plant Pathology*, 51, 149-154.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. (2014). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları, *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Fernandez, A. I. (2003). Systematics of Eurasian and North African *Doronicum* (Asteraceae: Senecioneae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 90(3), 319-389.
- Fernandez, A. I. ve Feliner, G. N. (2011). A multivariate approach to assess the taxonomic utility of morphometric characters in *Doronicum* (Asteraceae, Senecioneae). *Folia Geobotanica*, 36, 423-444.
- Fisher, L., Ianiro, T., Lau, F., Wang, H. ve Daggy, B. (2015). Synergistic effects of phenolic mixtures in human cell models of aging. *The FASEB Journal*, 29, 608-36.
- Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60, 59-84.
- Gomberg, M. (1900). An instance of trivalent carbon: triphenylmethyl. *Journal of the American Chemical Society*, 22, 757-771. DOI: 10.1021/ja02049a006.
- Guru, A., Dwivedi, P., Kaur, P. ve Pandey, D. K. (2021). Exploring the role of elicitors in enhancing medicinal values of plants under in vitro condition. *South African Journal of Botany*, (In press).
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M. T. (2012). Türkiye bitkileri listesi. *Damarlı Bitkiler, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, 262.
- Güven, A. ve Gürsul, I. (2014). Bitki Doku Kültürlerinde Sekonder Metabolit Sentezi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, GIDA, 39 (5): 299-306
- Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, 9, 1-32.

- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52, 253-265
- Harborne, J. B. ve Williams, C. A. (2002). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Helbock, H. J., Beckman, K. B. ve Ames, B. N. (1999). 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-Hydroxy-guanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol*, 300, 156-166.
- Hossain, M. M. (2011). Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances-An overview. *Fitoterapia*, 82, 102-140.
- Ievy, S., Islam, M. S., Sobur, M. A., Talukder, M., Rahman, M. B. ve Rahman, M. T. (2020). Molecular detection of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) for the first time in layer farms in Bangladesh and their antibiotic resistance patterns. *Microorganisms*, 8(7), 1021.
- Ikeuchi, S., Bui, H.T., Sassa-O'brien, Y., Niwa, T., Okumura, M., Hara-Kudo, Y., . . . Hayashidani, H. (2023). Development of detection methods by multiplex real-time PCR for highly pathogenic *Yersinia enterocolitica*, low pathogenic *Yersinia enterocolitica*, and *Yersinia pseudotuberculosis* based on SYBR Green and TaqMan probes, *Journal of Microbiological Methods*, Volume 211, 106779, ISSN 0167-7012, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106779>.
- Islam, M. S., Nayeem, M. M. H., Sobur, M. A., Ievy, S., Islam, M. A., Rahman, S., . . . Rahman, M. T. (2021). Virulence determinants and multidrug resistance of *Escherichia coli* isolated from migratory birds. *Antibiotics*, 10(2), 190.
- Iwu, M. M., Duncan, A. R. ve Okunji, C. O. (1999). New Antimicrobials of Plant Origin. In J. Janick (Ed.), (457-62). Alexandria, VA: ASHS Press.
- Jaganjac, M., Milkovic, J., Zarkovic, N. ve Zarkovic, K. (2022). Oxidative stress and regeneration. *Free Radical Biology and Medicine*, 0891-5849.
- Jeppesen, D. K., Bohr, V. A. ve Stevnsner, T. (2011). DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Progress in Neurobiology*, 94(2), 166-200.
- Jiang, J. ve Xiong, Y. L. (2016). Et ürünlerinin sağlık yararlarını ve kalitesini teşvik etmek için gıda ve yem katkı maddeleri olarak doğal antioksidanlar: Bir inceleme. *Et Bilimi*, 120, 107–117.
- Jiang, S., Wang, M., Jiang, L., Xie, Q., Yuan, H., Yang, Y., . . . Wang, W. (2021). The medicinal uses of the genus *Bletilla* in traditional Chinese medicine: A phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 280, 114263.

- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S.Y., Alwasel, S.H., Nepovimova, E., Kuca, K. ve Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*, 97(10), 2499-2574. doi: 10.1007/s00204-023-03562-9.
- Kahraman, A., Serteser, M. ve Köken, T. (2002). Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 1-8.
- Karou, D., Nadembega, W. M. C., Ouattara, L., Ilboudo, D.P., Canini, A., Nikiema, J.B. ve Traore, A.S. (2007). African Ethnopharmacology and New Drug Discovery. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(1), 61-69.
- Kelesidis, T., Humphries, R., Uslan, D. Z. ve Pegues, D. A. (2011). Daptomycin Nonsusceptible Enterococci: An Emerging Challenge for Clinicians. *Clinical Infectious Diseases*, 52(2), 228–234. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq113>.
- Keto-Timonen, R., Pöntinen, A., Aalto-Araneda, M. ve Korkeala, H. (2018). Growth of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains at Different Temperatures, pH Values, and NaCl and Ethanol Concentrations. *Journal of Food Protection*, 81(1), 142-149. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-223>.
- Kiziltas, H., Goren, A.C., Alwasel, S.H. ve Gulcin, İ. (2022). Sahlep (*Dactylorhiza osmanica*): Phytochemical Analyses by LC-HRMS, Molecular Docking, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibition Profiles. *Molecules*, 27(20), 6907. doi:10.3390/molecules27206907.
- Kladar, N. V., Anačkov, G. T., Rat, M. M., Srđenović, B. U., Grujić, N. N., Šefer, E. I. ve Božin, B. N. (2015), Biochemical Characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G.Don subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: Phytochemical Screening, Chemotaxonomy, and Antioxidant Properties. *Chemistry & Biodiversity*, 12, 419-431. doi:10.1002/cbdv.201400174.
- Kotiloğlu, D., Acet, T. ve Özcan, K. (2020). Phytochemical profile and biological activity of a therapeutic orchid from Anatolia: *Dactylorhiza romana* subsp. *georgica*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 3310–3318.
- Kreutz, K. (2009). *Türkiye Orkideleri*. İstanbul: Rota Yayınları.
- Kumar, A. ve Sharma, S. S. (2010). NF-κB inhibitory action of resveratrol: A probable mechanism of neuroprotection in experimental diabetic neuropathy. *Biochem. Biophys. Res Commun.*, 394(2), 360–365.
- Kumari, S., Nazir, F., Maheshwari, C., Kaur, H., Gupta, R., Siddique, K. H. M. ve Khan, M. I. R. (2023). Plant hormones and secondary metabolites under

- environmental stresses: Enlightening defense molecules. *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108238. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108238>.
- Kuyucu, N. (2007). Antibiyotik direnci, *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, 1, 33-38.
- Kürek, N. (2007). *Denizli ve çevresinde yayılış gösteren Eryngium cinsine ait (Eryngium campestre L., E. creticum Lam., E. thorifolium Boiss.) saf ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi*. Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi. <https://hdl.handle.net/11499/1370>
- Lai, P. K. ve Roy, J. (2004). Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. *Current medicinal chemistry*, 11(11), 1451-1460.
- Lam, J. C. ve Stokes, W. (2023). The Golden Grapes of Wrath – *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Clinical Review. *The American Journal of Medicine*, 136(1), 19-26. doi:10.1016/j.amjmed.2022.09.017.
- Lelis, F. V., Czajkowski, R., Souza, R., Ribeiro, D. ve Wolf, J. (2014). Studies on the colonization of axenically grown tomato plants by a GFP tagged strain of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 139, 53-66.
- Leong, S. S., Korel, F. ve King, J. H. (2023). *Bacillus cereus*: A review of “fried rice syndrome” causative agents. *Microbial Pathogenesis*, 185, 106418. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106418>.
- Lev, E. (2002). Reconstructed materia medica of the Medieval and Ottoman al-Sham. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(2-3), 167-179.
- Lev, E. (2015). Botanical view of the use of plants in medieval medicine in the Eastern Mediterranean according to the Cairo Genizah. *Israel Journal of Plant Sciences*, 62(1-2), 122-140.
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li ve Yin, H. (2021). The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12824. <https://doi.org/10.3390/ijms222312824>.
- Louro, R. O. ve Crichton, R. R. (2013). *Practical approaches to biological inorganic chemistry*. Amsterdam, Oxford: Elsevier.
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.* Dec 5;224:164-75.doi:10. 1016/j.cbi. 2014. 10.016. Epub 2014 Oct 28. PMID: 25452175.
- MacCari, R., Corso, A. D., Giglio, M., Moschini, R., Mura, U. ve Ottan, R. (2011). In vitro evaluation of 5-arylidene-2-thioxo-4-thiazolidinones active as aldose reductase inhibitors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, 21(1), 200–203.

- Mansoor, S., Ali Wani, O., Lone, J.K., Manhas, S., Kour, N., Alam, P., . . . Ahmad, P. (2022). Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. *Antioxidants*, 11(2), 225. <https://doi.org/10.3390/antiox11020225>.
- Marshall, H. S., Richmond, P., Nissen, M., Lambert, S., Booy, R., Reynolds, G. ve Scully, I. L. (2015). Group A Streptococcal Carriage and Seroepidemiology in Children up to 10 Years of Age in Australia. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 34(8), 831–838.
- Martin, J. M., Green, M., Barbadora, K. A. ve Wald, E. R. (2004). Group A streptococci among school-aged children: clinical characteristics and the carrier state. *Pediatrics*, 114(5), 1212–1219.
- Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I., Radosevic, N. (2005). Helichrysum italicum Esansiyel Yağı ve Terpen ve Terpenoid Fraksiyonlarının Bileşimi ve Antimikrobiyal Aktivitesi. *Chemistry of Natural Compounds*, 41, 35–40. <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0069-z>
- Maurya, D. K., Salvi, V. P. ve Nair, C. K. (2005). Radiation protection of DNA by ferulic acid under in vitro and in vivo conditions. *Mol Cell Biochem.*, 280(1-2), 209-217. doi: 10.1007/s11010-005-0170-4
- Mikaili, P., Sharifi, M., Shayegh, J., Sarahroodi, S. (2012). A Review on pharmacognotic and pharmaceutical terms originated from islamic sources. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2(4), 3235-3241.
- Milligan, J. R. ve Ward, J. F. (1994). Yield of single-strand breaks due to attack on DNA by scavenger-derived radicals. *Radiation Research*, 137, 295-299.
- Min, D., Brooks, B., Wong, J. R., Salomon, R., Bao, W., Harrisberg, B., . . . McLennan, S. V. (2012). Alterations in monocyte CD16 in association with diabetes complications. *Mediators Inflamm.*, 2012, ID–649083.
- Miser-Salihoglu, E., Akaydin, G., Caliskan-Can, E. ve Yardim-Akaydin, S. (2013). Evaluation of antioxidant activity of various herbal folk medicine. *J. Nutr. Food Sci.*, 3, 222.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., . . . Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- Musumeci, T. ve Puglisi, G. (2013). Antimicrobial agents. University of Catania, Italy: Woodhead Publishing Limited.

- Naczka, M. ve Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.
- Nakamura, T., Ishikawa, K., Matsuo, T., Kawai, F., Uehara, Y. ve Mori, N. (2021). Enterococcus hirae bacteremia associated with acute pyelonephritis in a patient with alcoholic cirrhosis: a case report and literature review. *BMC Infect Dis.* Sep 23;21(1):999. doi: 10.1186/s12879-021-06707-2. PMID: 34556047; PMCID: PMC8461981.
- Naveen, Y. P., Urooj, A. ve Byrappa, K. (2021). A review on medicinal plants evaluated for anti-diabetic potential in clinical trials: Present status and future perspective. *Journal of Herbal Medicine*, 28, 100436.
- Nawar, W. W. (1996). Lipids. *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker.
- Nebrigić, V., Kljakić, C. A., Zengin, G., Terzić, M., Mašković, P. ve Radojković, M. (2023). Effects of extraction and drying techniques on the chemical composition and biological activities of Helichrysum italicum. *Process Biochemistry*, 130, 96-104. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.04.002>.
- Nohutçu, L., Tunçtürk, M. ve Tunçtürk, R. (2019). Yabani Bitkiler ve Sürdürülebilirlik, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(2), 142-151.
- Nostro, A., Bisignano, G., Cannatelli, M. A., Crisafi, G., Germanò, M. P. ve Vittorio Alonzo, V. (2001). Effects of Helichrysum italicum extract on growth and enzymatic activity of Staphylococcus aureus. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 517–520. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00336-3](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00336-3).
- Nostro, M., Cannatelli, M. A., Crisafi, G., Musolino, A. D., Procopio, F. ve Alonzo, V. (2004). Helichrysum italicum ekstraktı ile Streptococcus mutans'ın hidrofobiklik modifikasyonları, in vitro yapışması ve hücrel toplanması. *Uygulamalı Mikrobiyolojide Mektuplar*, 38(5), 423–427. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01509.x>
- Oliver, J., Wadu, E. M., Pierse, N., Moreland, N. J., Williamson, D. A. ve Baker, M. G. (2018). Group A Streptococcus pharyngitis and pharyngeal carriage: A meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(3), e0006335.
- Orhan, D., Özçelik, B., Hoşbaş, S. ve Vural, M. (2012). Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology*, 36, 672-686.

- O'Toole, R. F., Leong, K. W. C., Cumming, V. ve Van Hal, S. J. (2023). Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and the emergence of new sequence types associated with hospital infection. *Research in Microbiology*, 174(4), 104046. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104046>.
- Ozcan, K. (2020). Antibacterial, antioxidant and enzyme inhibition activity capacities of *Doronicum macrolepis* (FREYN&SINT): An endemic plant from Turkey. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(1), 95-100.
- Ozcan, K. ve Acet, T. (2018). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the five different solvent extracts of *Centaurea pulcherrima* var. *freynii* from Turkey. *Fresen Environ Bull.*, 27(6), 4047-4051.
- Ökmen, G., Arslan, K. ve Tekin, R. (2023). *Inula viscosa* L. (Asteraceae): A study on its antimicrobial and antioxidant activities, chromatographic fingerprinting profile. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10(4), 525-534. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1272860>
- Özcan, K. (2021). Determination of biological activity of *Carduus lanuginosus*: an endemic plant in Turkey. *International Journal of Environmental Health Research*, 31, 45–53.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336. <https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545>
- Özden, S. (2006). Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması. Yayınlanmamış doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Paine, J. A., Shipton, Kaliforniya, Chaggar, S., Howells, R. M., Kennedy, M. J. ve Vernon, G. (2005). Artan pro-vitamin A içeriği yoluyla Altın Pirincin besin değerinin artırılması. *Nat. Biyoteknoloji*, 23, 482–487.
- Păltinean, R., Ielciu, I., Vlase, L., Mocan, A., Gheldiu, A., Babotă, M., . . . Crișan, G. (2017). Histo-anatomical researches, polyphenolic profile and biological activities of the aerial parts and tubers of *Dactylorhiza maculata* L. SOÓ. (Orchidaceae). *Digital Camera*, 15, 19.
- Pasternak, J. J. (2005). *An Introduction to Human Molecular Genetics, Second Edition*. Wiley-IEEE.

- Peritore-Galve, F. C., Tancos, M. A. ve Smart, C. D. (2021). Bacterial canker of tomato: revisiting a global and economically damaging seedborne pathogen. *Plant Dis. PDIS*08201732FE. doi:10.1094/pdis-08-20-1732-fe.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6, 1–5.
- Pinholt, M., Østergaard, C., Arpi, M., Bruun, N. E., Schønheyder, H. C., Gradel, K. O., . . . Knudsen, J. D. (2014). Incidence, clinical characteristics and 30-day mortality of enterococcal bacteraemia in Denmark 2006–2009: a population-based cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(2), 145-151. doi:10.1111/1469-0691.12236.
- Poljsak, B., Kovač, V., Milisav, I. (2021). Antioxidants, Food Processing and Health. *Antioxidants*, 10(3):433. <https://doi.org/10.3390/antiox10030433>
- Radi, R. (2013). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant, *J. Biol. Chem.*, 288, 26464–26472.
- Rahman, M. T., Sobur, M. A., Islam, M. S., Ievy, S., Hossain, M. J., El Zowalaty, M. E., . . . Ashour, H. M. (2020). Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. *Microorganisms*, 8(9), 1405.
- Ramesh, C. H. ve Pattar, M. G. (2010). Antimicrobial properties, antioxidant activity and bioactive compounds from six wild edible mushrooms of western ghats of Karnataka, India. *Pharmacognosy research*, 2(2), 107.
- Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free Radic. Antiox.*, 4, 2–7.
- Rao, S., Linke, L., Magnuson, R., Jauch, L. ve Hyatt, D. (2022). Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* collected from livestock, poultry and humans. *One Health*, 15, 2352-7714.
- Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A.F. ve Subramaniam, S. (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chem.*, 131, 441–448.
- Razdan, M. K. ve A. K. Mattoo. (Eds.) (2007). *Genetic Improvement of Solanaceous Crops: Tomato*, 2. Science Publishers, Inc., Enfield, NH.
- Richards, M. J., Edwards, J. R., Culver, D. H. ve Gaynes R. P. (2000). Nosocomial Infections in Combined Medical-Surgical Intensive Care Units in the United States. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 21(8), 510-515. doi:10.1086/501795.

- Riso, P., Visioli, F., Erba, D., Testolin, G. ve Porrini, M. (2004). Lycopene and vitamin C concentrations increase in plasma and lymphocytes after tomato intake. Effects on cellular antioxidant protection. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(10), 1350-1358.
- Roig, J. T. (1965). *Diccionario de Nombres Vulgares Cubanos*. Tercera edición. Editorial Científico Técnica, La Habana.
- Rykaczewski, M., Krauze-Baranowska, M., Żuchowski, J., Krychowiak-Maśnicka, M., Fikowicz-Krośko, J. ve Królicka, A. (2019). Phytochemical analysis of *Brasolia*, *Elleanthus*, and *Sobralia*. Three genera of orchids with antibacterial potential against *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry Letters*, 30, 245-253.
- Saleem, H., Ahmad, I., Zengin, G., Mahomoodally, F. M., Khan, K. R., Ahsan, H. F., . . . Ahemad, N. (2019). Comparative secondary metabolites profiling and biological activities of aerial, stem and root parts of *Salvadora oleoides decne* (Salvadoraceae). *Natural Product Research*. DOI: 10.1080/14786419.2018.1564299.
- Salehi, B., Valussi, M., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Leal, A. L. A. B., Coutinho, H. D. M., . . . Sharifi-Rad, J. (2018). Tagetes spp. essential oils and other extracts: Chemical characterization and biological activity. *Molecules*, 23(11), 2847.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C. ve Ramsey, C. (2005). Dietary polyphenols and prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287–306.
- Semchyshyn, H. M. ve Lozinska, L. M. (2012). Fructose protects baker's yeast against peroxide stress: potential role of catalase and superoxide dismutase. *FEMS Yeast Research*, 12, 761–773.
- Shinde, A., Ganu, J. ve Naik, P. (2012). Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. *Journal of Dental and Allied Science*, 1(2), 63-66.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291–295.
- Silva, N. C. C. ve Fernandes, J. A. (2010). Biological Properties of Medicinal Plants: A Review of Their Antimicrobial Activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16(3), 402-413.
- Singh, L., Singh, B., Kewlani, P., Belwal, T., Bhatt, I.D., Nandi, S.K. ve Bisht, A.K. (2022). Process optimization and bioactive compounds quantification from

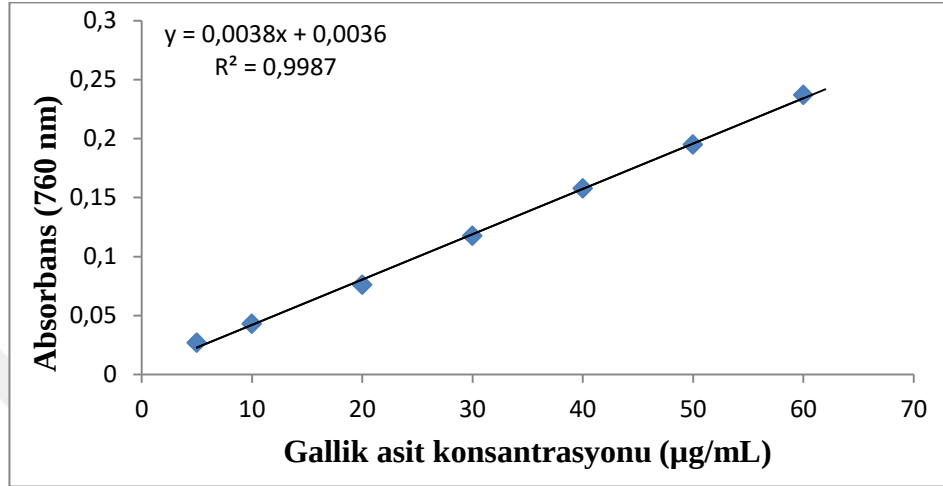
- Dactylorhiza hatagirea* tuber for alleviating glycemic and oxidative stress. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 26, 100352.
- Skof, S., Álvarez, I., Pachschröll, C. ve Schneeweiss, G. M. (2019). Phylogeny and biogeography of the narrowly endemic *Doronicum cataractarum* (Asteraceae) from the eastern European Alps: Pleistocene origin from Alpine ancestors rather than Tertiary relic with southwest Asian affinity. *Plant Systematics and Evolution*, 305(2), 139-149.
- Skulachev, V. P. (2012). Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 28(2), 283–289.
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Steer A. C., Lamagni T., Curtis N. ve Carapetis J. R. (2012). Invasive group A streptococcal disease: epidemiology, pathogenesis and management. *Drugs*, 72(9), 1213–1227.
- Stojković, D., Petrović, J., Soković, M., Glamočlija, J., Kukić-Marković, J. ve Petrović, S. (2013). In situ antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, p-coumaric acid and rutin, using food systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13), 3205-3208.
- Sukhikh, S., Noskova, S., Ivanova, S., Skrypnik, L., Pungin, A., Ulrikh, E. ve Chupakhin, E. (2021). Study of the properties of in vitro *Dactylorhiza maculata* (L.) soo (family orchidaceae) extracts. *Plants*, 10, 1–12.
- Sun, Y., Anwar, A., Razzaq, A., Liang, X. ve Siddique, M. (2022). Asymmetric role of renewable energy, green innovation, and globalization in deriving environmental sustainability: Evidence from top-10 polluted countries. *Renewable Energy*, 185, 280-290.
- Sun, Y., Feng, J., Tan, Y., Zhou, L., Lan, T. ve Ma, J. (2022). Genomic and biological characterization of vB_PvuS_Pm34, a novel lytic bacteriophage that infects *Proteus vulgaris*. *Genomics*, 0888-7543.
- Suzuki, T., Miyamae, Y. ve Ishida, I. (1991). Variation of colony morphology and chromosomal rearrangement in *Candida tropicalis* pK233. *Journal of General Microbiology*, 137(1), 161-167.
- Swanson, S. J., Snider, C., Braden, C. R., Boxrud, D., Wünschmann, A., Rudroff, J. A. ve Smith, K. E. (2007). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype

- Typhimurium associated with pet rodents. *New England Journal of Medicine*, 356(1), 21-28.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*, 119, 6, 3-10.
- Thangapazham, R. L., Sharma, A. ve Maheshwari, R. K. (2006). Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. *The AAPS Journal*, 8(3), E443.
- Tiring, G., Satar, S. ve Özkaya, O. (2021). Sekonder Metabolitler. Bursa Uludag Üniv, *Ziraat Fak. Dergisi*, 35(1), 203 – 215,
- Topcu, Ş. ve Çölkeçen, H. (2015). Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoreaktörlerde Üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2, 9–29.
- Trevizan, J., Soto, E., Parra, F., Bustos, L. ve Parra, C. (2020). Antioxidant activity of nine medicinal plants with commercial potential. *Idesia (Chile)*, 38, 53–58.
- URL 1: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000012446-2023-12?page=1>
- URL 2: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=4823
- URL 3 : <https://botany.cz>
- URL4: <https://media.addgene.org/snapgene-media/v1.7.9-0-g88a3305/sequences/222046/51c2cfab-a3b4-4d62-98df-0c77ec21164e/addgene-plasmid-50005-sequence-222046-map.png>
- URL 5: <https://www.worldfloraonline.org/>
- Verma, N. ve Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4), 105-113.
- Verma, S., Singh, A. ve Mishra, A. (2016). Gallic acid: Molecular rival of cancer. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35, 473–485.
- Vestena, A. S., Meirelles, G. D. C., Zuanazzi, J. A. ve Poserl, G. L. (2023). Taxonomic significance of coumarins in species from the subfamily Mutisioideae, Asteraceae. *Phytochemistry Reviews*, 22, 85–112. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09828-x>.
- Wang, J., Fang, X., Ge, L., Cao, F., Zhao, L., Wang, Z. ve Xiao, W. (2018). Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol. *PLoS One*, 13, 1–12.
- Wang, N. S. (2017). Summary of Sites on pUC19. *Department of Chemical & Biomolecular Engineering, University of Maryland*.

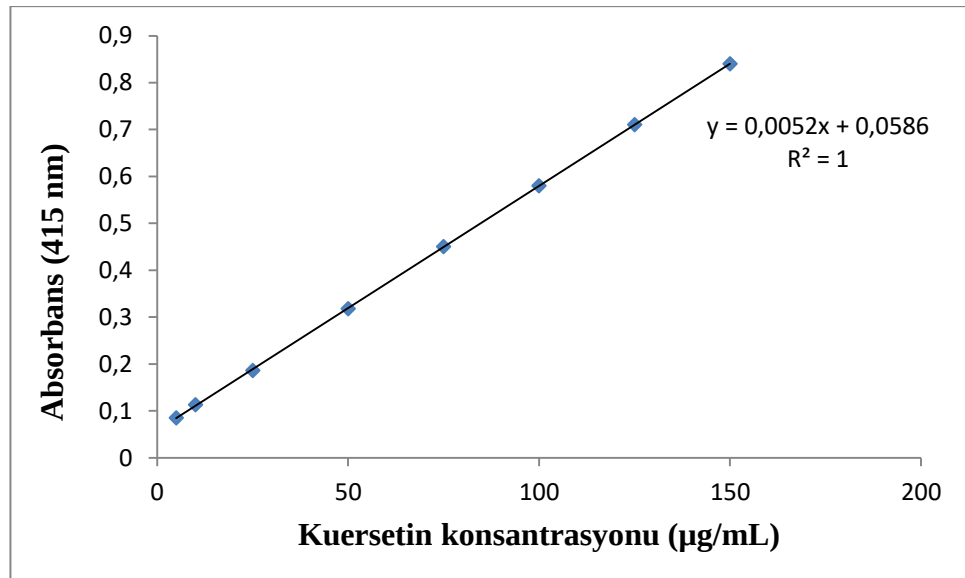
- Yang, L., Wen, K-S., Ruan, X., Zhao, Y-X., Wei, F., Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, 23(4), 762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Yıldırım, A., Şen, A., Tuysuz, M., Birteksöz Tan, A. S., Şenkardeş, İ. ve Bitiş, L. (2022). In vitro investigation of antimicrobial, enzyme inhibitory and free radical scavenging activities of *Inula salicina* L. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 6(3), 389-395. <https://doi.org/10.31015/jaefs.2022.3.7>.
- Yüce, A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları, *Klinik Dergisi*, 14(2), 41-46.
- Zafar, F., Asif, H. M., Shaheen, G., Ghauri, A. O., Rajpoot, S. R., Tasleem, M. W., . . . Nazar, H. (2023). A comprehensive review on medicinal plants possessing antioxidant potential. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 50, 205–217.
- Zengin, G., Mahoomodally, M. F., Sinan, K. I., Bakar, K., Jugreet, S., Yildiztugay, E., . . . Caprioli, G. (2022). A comparative study of chemical profiling and biological effects of *Doronicum orientale* extracts. *Chemistry & Biodiversity*, 19(4), 1-11.
- Zengin, G., Yıldıztugay, E., Nilofar., Bouyahya, A., Çavuşoğlu, H., Gevrenova, R. ve Zheleva-Dimitrova, D. (2023). *Inula sarana*'nın UHPLC-HRMS Profilleri ve Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Karşılaştırmalı Bir Çalışma Farklı Ekstraktlar ve Beta-Siklodekstrin Kompleksi: Yeni Uygulamalar için Etkili Bilgiler. *Antioxidants*, 12(10), 1842. <https://doi.org/10.3390/antiox12101842>.
- Zilberberg, M. D., Chen, J., Mody, S. H., Ramsey, A. M. ve Shorr, A. F. (2010). Imipenem resistance of *Pseudomonas* in pneumonia: a systematic literature review. *BMC Pulmonary Medicine*, 10(1), 1-11.
- Zuza-Alves, D. L., Silva-Rocha, W. P. ve Chaves, G. M. (2017). An update on *Candida tropicalis* based on basic and clinical approaches. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1927.

EKLER

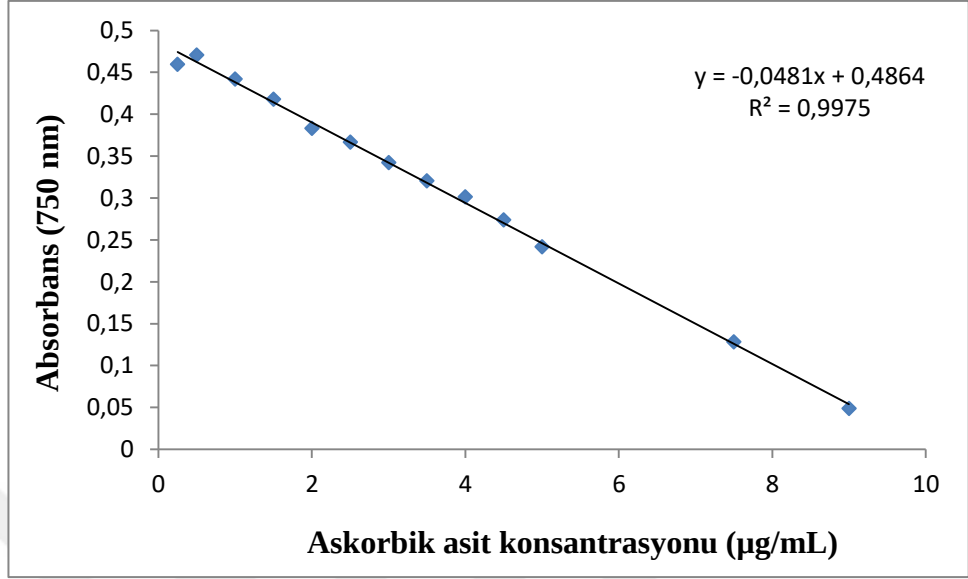
EK 1. Fenolik madde tayini için gallik asit standart grafiği



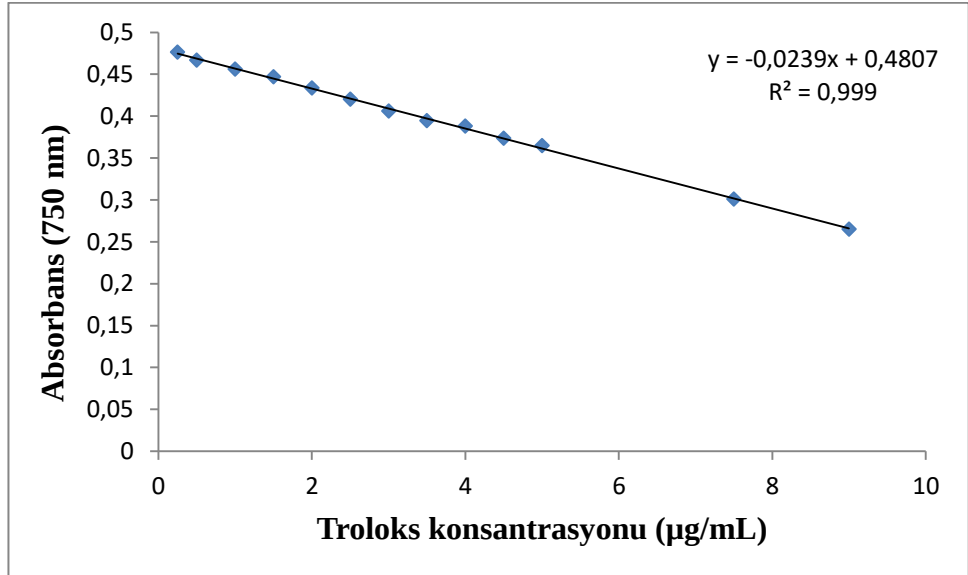
EK 2. Flavonoid madde tayini için kuersetin standart grafiği



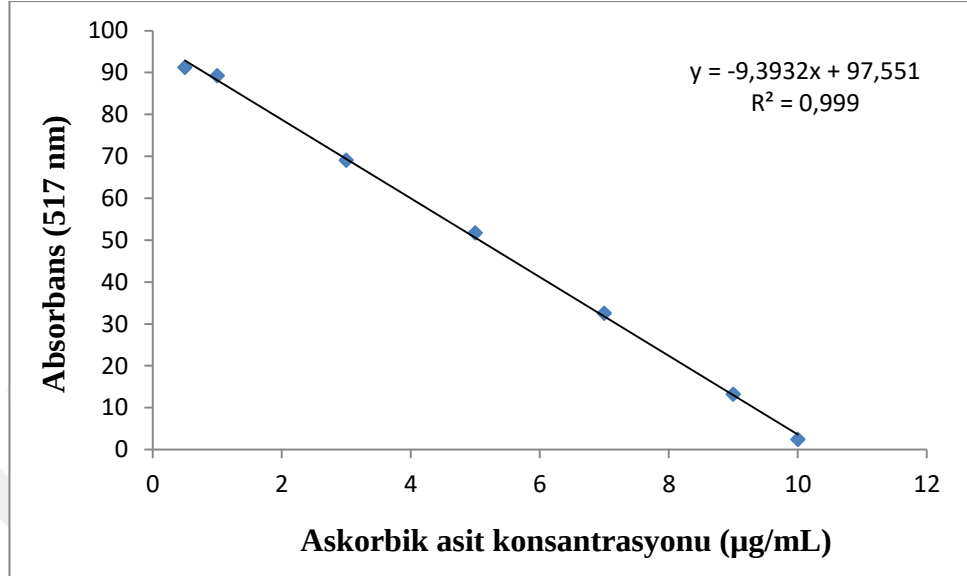
EK 3. ABTS için askorbik asit standart grafiği



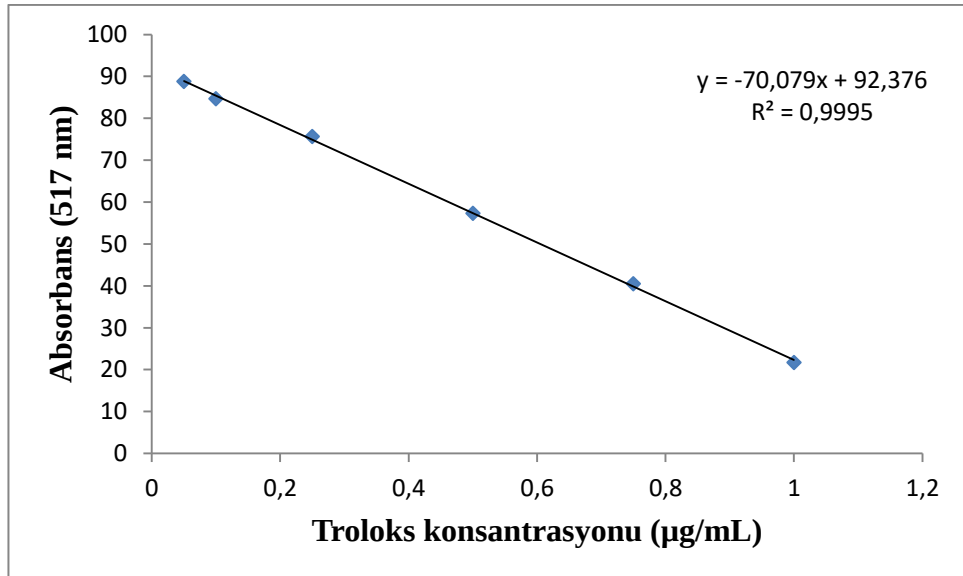
EK 4. ABTS için troloks standart grafiği



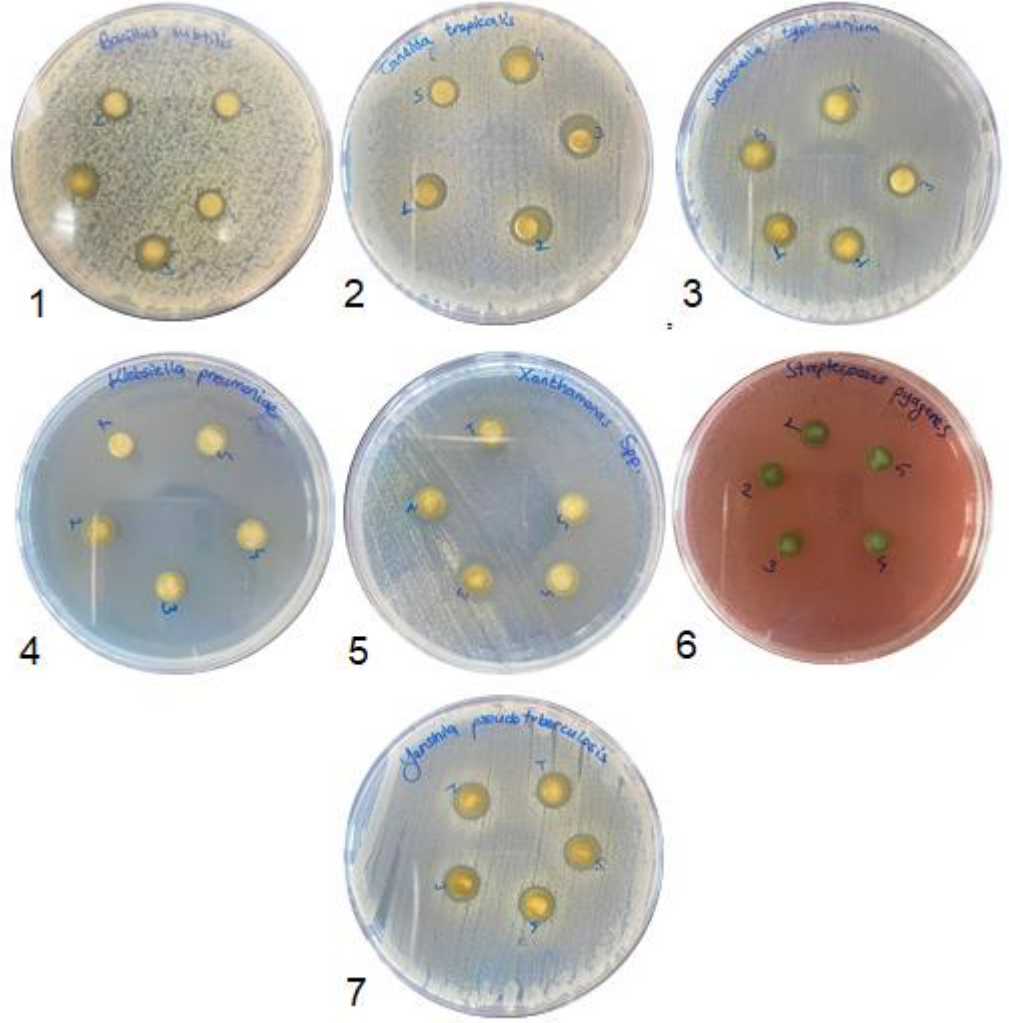
EK 5. DPPH için askorbik asit standart grafiği



EK 6. DPPH için troloks standart grafiği

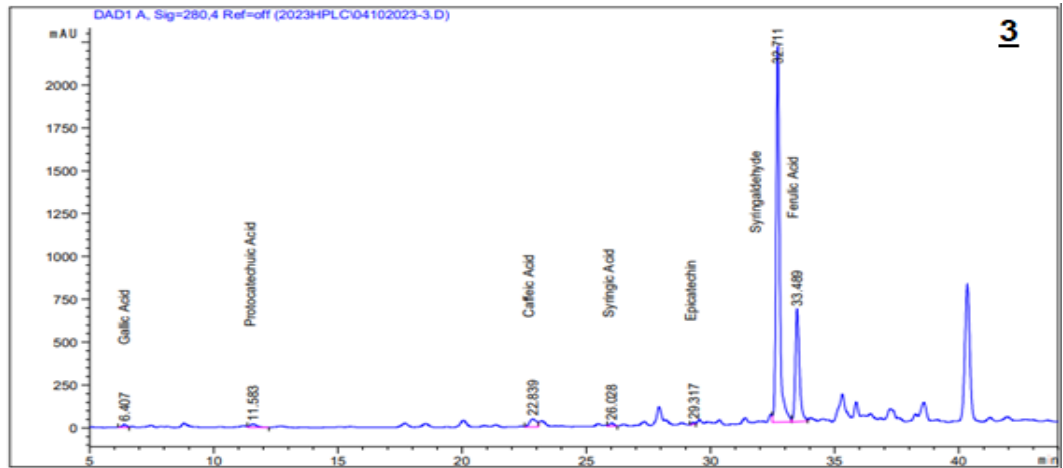
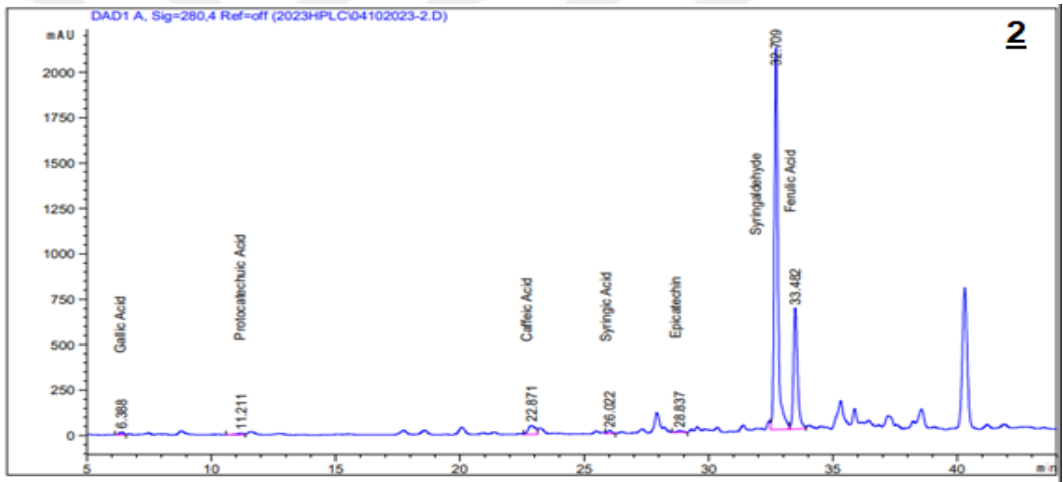
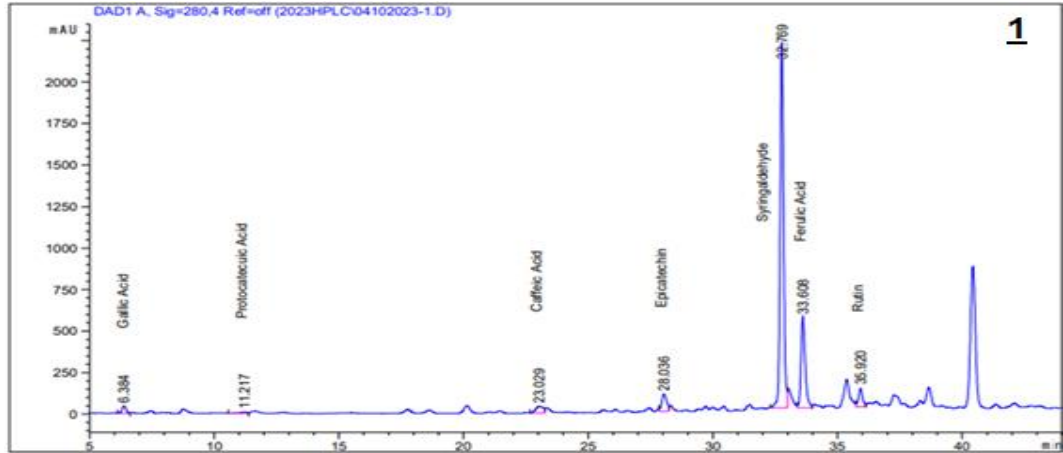


EK 7. Disk d fuzyon test sonu ları

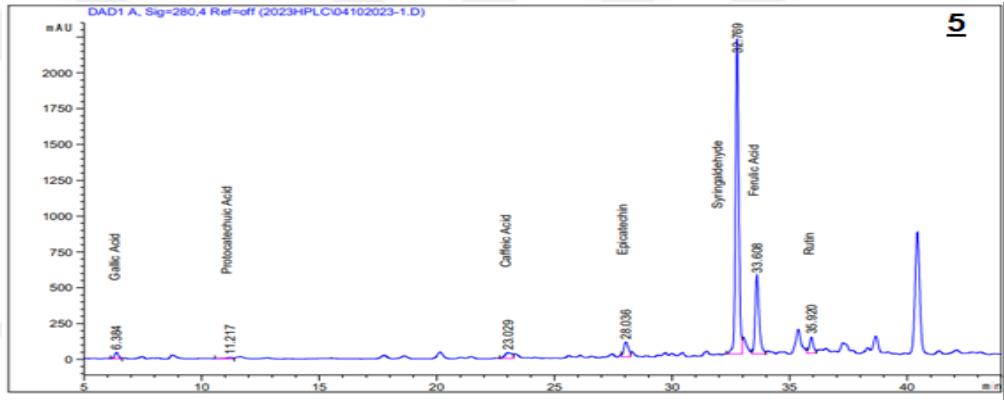
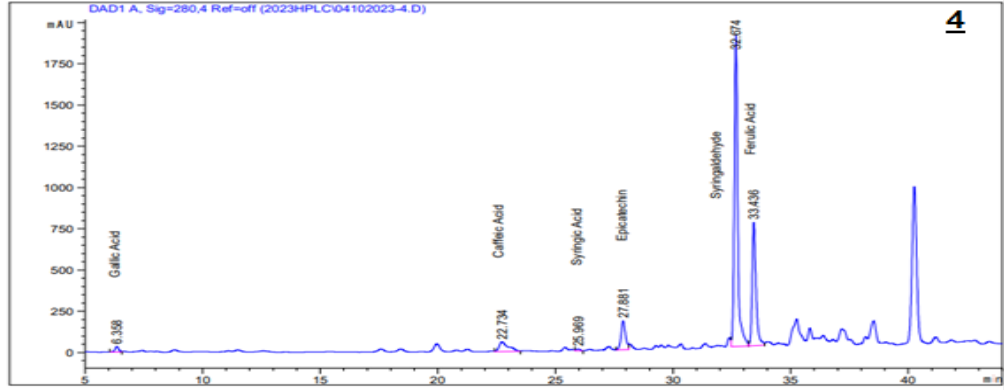


1- *B. subtilis*, 2- *C. tropicalis*, 3- *S. typhimurium*, 4- *K. pneumoniae*, 5- *X. spp.*, 6- *S. pyogenes*, 7- *Y. pseudotuberculosis*

EK 8. HPLC analiz sonuçlarına ait pikler



EK 9. HPLC analiz sonuçlarına ait pikler (EK 8. devamı)



1-24h, 2-24h+30'US, 3-24h+60'US, 4-30'US, 5-60'US.

ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini İsmet Kayıbov Okulu'nda tamamladı. 2017 yılında Azərbaycan Devlet Pedagoji Üniversitesi, Biyoloji ve Biyoloji Kimya Fakültesinin, Biyoloji Öğretmenlik Bölümü'nden mezun oldu. 2021 senesinde Gümüşhane Üniversitesi, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü'nde Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı'nda Lisans Üstü eğitimine başladı.

