



**ORNITHOGALUM SIGMOIDEUM
FREYN ET SINT' İN BAZI FARMASOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Meltemnur UYANIK

**Yüksek Lisans Tezi
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin Selvi
Mart - 2021**

Her hakkı saklıdır.

**T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ORNITHOGALUM SIGMOIDEUM FREYN ET SINT.'İN BAZI
FARMASOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Meltemnur UYANIK

**TOKAT
Mart - 2021**

Her hakkı saklıdır.

TEZ BEYANI

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

Meltemnur UYANIK

25 Şubat 2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORNITHOGALUM SIGMOIDEUM FREYN ET SINT.'İN BAZI FARMASOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Meltemnur UYANIK

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI:Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin Selvi)

Bu çalışmada *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.'in antioksidan, antibakteriyal ve DNA koruyucu aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan literatür taramasında bu iki bitki ile ilgili biyoaktif bileşiklere yönelik çalışma mevcut değildir. Bu sebepten ötürü bu türün rizom, çiçek ve yaprak kısımlarının su ve metanol özütleri elde edilerek biyolojik aktivitelerine bakılmıştır. Elde edilen özütlerin antioksidan değerleri yüksek değeri gösterirken, aynı şekilde elde edilen özütlerin oksidan değerlerinin de yüksek olduğu saptanmıştır. Yine bu tür üzerinde yapılan antibakteriyal aktivite açısından *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı etkili olmadığı gözlemlenmiştir. DNA koruyucu aktivite açısından bakıldığında en etkili çiçek kısmının su özütü olmak üzere tüm özütlerde oksidatif nedenli hasarlardan DNA'yı koruduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak oksidan ve DNA koruyucu özellikte aktif bileşiklere sahip olduğu ortaya konulmuştur.

2021,50 SAYFA

ANAHTAR KELİMELE: DNA, Antioksidan, Antibakteriyal, *Stenotrophomonas maltophilia*

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION THE PHARMASOTICAL PROPERTIES OF ORNITHOGALUM SIGMOIDEUM FREYN ET SINT.

Meltemnur UYANIK

TOKAT GAZIOSMANPAŞA UNIVERSITY GRADUATE EDUCATION
INSTITUTE

BIOLOGY DEPARTMENT

(Thesis Advisor: Assistant Prof. Dr. Bedrettin SELVİ)

In this study, *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. The antioxidant, antimicrobial and DNA protective activity of Sint. has been investigated. There is no study on bioactive compounds related to these two plants in the literature review. For this reason, the biological activities of the rhizome, flower and leaf parts of this species were obtained by obtaining water and methanol extracts. While the antioxadant values of the extracts showed high value, it was determined that the oxidant values of the extracts obtained in the same way were also high. Again, it was observed that it was not effective against *Stenotrophomonas maltophilia* bacteria in terms of antibacterial activity on this species. In terms of DNA protective activity, it has been determined that the most effective flower part is water extract, protecting DNA from oxidative damage in all extracts. As a result, it has been demonstrated that it has oxidant and DNA protective active compounds.

2021, 50 SAYFA

KEY WORDS: *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. DNA, Antioxidant, Antimicrobial, *Stenotrophomonas maltophilia*.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin bazı farmasotik özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi ve Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarların da yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca tüm bilgi, tecrübe, sabır ve desteğinin benden esirgemeyen, tezimde büyük emeği olan ve kendisiyle çalışmaktan gurur ve mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ'ye, tez çalışmam sürecinde bana yol gösteren, deneyim ve bilgisini paylaşan değerli hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a, gönüllü olarak yardım eden bana çoğu şeyi öğreten dostum Nahide Kübra ZANBAK'a, benden ilgisini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen değerli meslektaş dostlarım Tuğba DOĞRUER ve Merve GÜNDOĞDU'ya ayrıca Gaziantep'te benden bilgilerini esirgemeyen; Mesut ÇAY, Bekir ÇAKMAK, İslam ŞAHBUDAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Yüksek Lisans dönemim boyunca destek olan ve her daim yanımda olan Eşim Mehmet UYANIK'a benden maddi manevi desteğini esirgemeyen bana cesaret veren canım babam Bülent DAĞLI'ya, canım annem Emine DAĞLI'ya, benden dualarını esirgemeyen ailem Mustafa Kemal, Neriman ve Emriye DAĞLI'ya canım kardeşlerim Mehmet, Tuğçe ve Semina DAĞLI'ya ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Meltemnur UYANIK

ŞUBAT-2021

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Sakarca (<i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint.) Bitkisinin Özellikleri	3
2.2.Serbest Radikaller	7
2.3.Serbest Radikal Kaynakları	9
2.3.1. Endojen kaynaklar.....	9
2.3.2. Eksojen kaynaklar	10
2.4.Serbest Radikallerin Faydaları	10
2.5.Serbest Radikallerin Zararları	11
2.5.1. Lipitler	11
2.5.2. Proteinler	11
2.5.3. DNA	12
2.5.4. Karbonhidratlar	12
2.6.Reaktif Oksijen Türleri.....	12
2.7.Antioksidanlar	14
2.7.1. Endojen antioksidanlar	16
2.7.2. Eksojen antioksidanlar	16
2.8.Antioksidanların Gruplandırılması.....	16
2.9.Antimikrobiyal Aktivite	17
2.9.1. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 'nın genel özellikleri.....	18
2.9.2. Antibakteriyal duyarlılığın belirlenmesi	19
2.9.3. Disk difüzyon test.....	19
2.9.4. DNA koruyucu aktivite	19
3. MATERYAL ve METOD	21
3.1. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint.'un Toplanması ve Teşhisi.....	21
3.2. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn Et Sint. Bitkisinin Özütünün Elde Edilmesi	

.....	21
3.2.1. Kullanılan materyaller.....	22
3.2.2. Metod	21
3.3. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod	24
3.3.1. Total antioksidan seviye (TAS) ile antioksidan aktive belirlenmesi	24
3.3.2. Total oksidan seviye (TOS) ile antioksidan aktive belirlenmesi.....	25
3.4. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod	26
3.5. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod	27
3.5.1. Kontrol ve <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. bitkisinin özütlerinin hazırlanması	28
4. BULGULAR	29
4.1.Özüt Verimi.....	29
4.2. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin TAS, TOS ve OSI Aktivite Bulguları.....	29
4.3. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Antibakteriyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi.....	31
4.4. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	34
6. KAYNAKÇA	36
7. ÖZGEÇMİŞ	39

KISALTMALAR

KISALTMALAR	AÇIKLAMA
CAT	Kalataz
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Mg	Miligram
ml	Mililitre
Mm	Milimetre
µl	Mikro litre
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
<i>O. sigmoideum</i>	<i>Orginothum sigmoideum</i>
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
<i>S.maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye
UV	Ultraviyole ışın
VIS	Görünür ışın

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Türkiye’deki Yayılış Alanı	4
Şekil 2.2. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Genel Görünüşü	5
Şekil 2.3. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Toprakdan Çıkarıldıktan Sonraki Genel Görünüşü	5
Şekil 2.4. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Çiçek Kısmı Kurutulmuş Hali	6
Şekil 2.5. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Yaprak Kısmının Kurutulmuş Hali	6
Şekil 2.6. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Rizom Kısmı Kurutulmuş Hali	7
Şekil 3.1. Özütleme İşlemi İçin Kullanılan Basınçlı Ekstraksiyon Cihazı	23
Şekil 3.2. Elde Edilen Özütler	23
Şekil 3.3. Disk Difüzyon Yöntemi	27
Şekil 3.4. Agaroz Jel Elektroforezi	28
Şekil 4.1. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin Disk Difüzyon Sonucu	32
Şekil 4.2. Bitki Özütlerini Jel Görüntüsü (Sırasıyla Rizom; Metanol, Çiçek; Metanol, Yaprak; Metanol, Rizom; Su, Yaprak; Su)	33

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Sistematikteki yeri	4
Çizelge 2.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	8
Çizelge 2.3. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	9
Çizelge 2.4. Antioksidanların Sınıflandırılması	15
Çizelge 4.1. Özüt Verim Hesaplaması	29
Çizelge 4.2. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri	29
Çizelge 4.3. TOS(Total Oksidan Seviye) Değerleri.....	30
Çizelge 4.4 TAS(Total Antioksidan Seviye) Değerleri	30
Çizelge 4.5. <i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint. Bitkisinin Antibakteriyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi.....	31

1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın başlangıcından beri, barınma ve ısınma gibi pek çok alanda kullanılmıştır. İnsanlar ve bitkiler arasında ki bu ilişki yapılan arkeolojik çalışmalarla belgelenmiştir. İnsanlık hem beslenmek hem de hastalıklara şifa bulmak amacıyla bitkilerden yararlanmıştır. (Koçyiğit, M. 2005).

Dünya da bitki ve insan arasında ki bağın kesinliğine ilk kez, Kuzey Irak Şanidar Mağarası'nda 1957-1961 yılları arasında ki kazı çalışmalarında bir şamana ait olduğu ön görülen mezarda, kanarya otu, civanperçemi, gül hatmi, mor sümbül, peygamber çiçeği ve Efedra gibi bitki çeşitlerinin varlığı kabul edilmiştir. (Lewin, R. 2000) Anadolu'ya baktığımızda Hattuşaş'ta ki Hitit tabletlerinde bulunan; mazı, hardal, meyan, sarımsak, üzerlik, adamotu, badem, söğüt ve zeytinin yazılıp kayda geçirildiği reçetelerin bitkilerin tıbbi amaçla kullanıldığının en eski yazılı kayıtlarıdır. (Kan Y, Arslan N. 2001). Tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısı git gide arttığı görülmektedir. Mezopotamya Uygarlığı döneminde bilinen tıbbi bitki türü sayısı 250 kadar, fakat Arap-Fars uygarlığı döneminde bilinen bitki türü sayısı 4.000 civarındaydı. 19. yy'dan itibaren literatürlere geçen tıbbi amaçlı kullanılan bitki türü sayısı 13.000'e ulaşmıştır (Tan, A. 1992).

Bitkilerin iyileştirici olarak kullanılması insanlığın başına dayanır. Günümüzde araştırmalar sonucunda bitkilerin insanlar üzerinde bildiğimizden daha fazla tedavi sağladığı görülmektedir. (Ceylan, A. 1995.; Baytop, T. 1999; Kathe, Hannef ve Heym, 2003). Sebzeler ve meyvelerde fazla oranda antioksidan bulunur. C vitamini, E vitamini ve karotenoidler dışında ki bazı antioksidanlar gıda bileşiği olarak bulunur. (WangH, ve ark. ,1996)

Gıdalarda doğal olarak bulunan ve besin yoluyla alınan fonksiyonel özelliğe sahip biyoaktif bileşenlerin hastalıkların korunması ve tedavisinde kullanılması son yüzyılda üzerinde sıklıkla durulan bir konudur. İlaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde tıbbi ve hoş kokulu bitkilerin kullanılması tüm dünyada ilgi çekmektedir. Farklı bitki ekstraktları uçucu yağlar ve bunların türevleri, antibakteriyal, antioksidan aktiviteleri ve farklı gıdalara da uygulanması bilim insanlarınca incelenmiştir. Farklı sınıfta fenolik bileşikler içeren bitki ekstraktlarının antibakteriyal özellikleri hakkında fazla miktarda sonuç ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, pek çok çalışma fenolik bileşiklerin hidroksibenzoik asit türevleri gibi bazı sınıflarının antibakteriyal etkinliğinden bahsetmişlerdir. (Gatto et al 2011).

Sakarca bitkisi Giresun ilinde, halk arasında gıda olarak tüketilen yabani bitkilerin en başındadır. Bölgede halk arasında “Sakarca” (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.) olarak tanılan bitki, Nisan-Temmuz aylarında çiçeklenir, başta Giresun merkez olmak üzere, Bulancak, Piraziz, Keşap'ta ve birçok ilçesinde ki fındık tarlalarında yoğun olarak yetişir. Bitkinin toprak altı ve üstü tüm kısımları pişirilerek sureti ile tüketilir. Sakarca bitkisinin diğer türlerinin yaprak ve rizom kısmından alınan özütlerinin antimikrobik, antioksidan ve serbest radikal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir.

Türkiye'de bazı yabani bitkilerle yapılan araştırmalar genellikle bölgesel ve etnobotanik çalışmalardır. Yabani bitkilerin tüketilebilir türlerden elde edilen Antioksidan,

Antibakteriyal ve DNA Koruyucu Aktivitesi üzerine yapılan araştırmalar az sayıda olup, bu çalışmanın amacı Giresun ilinin Bulancak ilçesinde bazı bölgelerinde ki sakarca bitkisi ekstraktlarının, Antioksidan, Antibakteriyal ve DNA Koruyucu Aktivitesi ierini tespit etmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.Sakarca (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.) Bitkisinin Özellikleri

Ülkemizde Sakarca, Çökülce, Çiğdem, Akyıldız otu gibi isimlerle tanılan, *Liliaceae* familyasının bir üyesi olan Sakarca bitkisinin üç tanesi endemik toplam 25 türü bulunur. 20-30 cm boylarında, soğanlı, çok yıllık, otsu bir bitkidir. (şekil 1.) Ormanlık alanlar, fındık bahçeleri, tepelik araziler gibi birçok ortamda doğal olarak yetişmektedir. Sakarca bitkisi bahar ve kış ayında neme ihtiyaç duyar, yaz aylarında ve kuraklıklarda tolerans gösterebilen çok hızlı yayılan bir bitkidir. Serin ve sabah güneşi gören alanlarda daha fazla yetişmektedir. Çiçeklenmesi genellikle Mart-Haziran aylarını kapsar. Eylül ve Kasım ayları arasında da yetişen sakarca bitkisi bu aylarda çiçeklenme durumu yaşamamaktadır. Sadece yeşil aksamı ve rizom kısımları bu aylarda yetişir çiçek açmazlar.

Anadolu'nun bazı bölgelerinde Sakarca, Konya yöresinde Akyıldız olarak bilinmektedir. Kurutulmuş Akyıldız rizomunun yumruları toz hale getirilir. Salep yerine dondurma üretiminde kullanılır. Bu bitkinin rizom kısımları müsila taşıdığı için dondurmaya kıvam vermektedir.

Sakarca bitkisinin ilk olarak gıda ve tedavi amaçlı kullanıldığı İncil de yazılı olarak yer almaktadır. Ekmek pişirmek amacıyla tahılla karıştırılıp tüketildiği ve zehirli maddelerin etkisini yok etmek amacıyla çiçeklerinin kaynatıldığından bahsedilmektedir. Rizomları, Dioskorides döneminden itibaren çıban açıcı ve kusturucu olarak kullanılmaktadır.

Sakarca yumruları fazla miktarda iğne şeklinde kristaller ve az miktarda, küçük taneler halinde (çapları 18-28 mikron) nişasta taşıması nedeniyle başka bitkisel droglardan mikroskopik analiz sonucunda basitçe ayrılabilir.

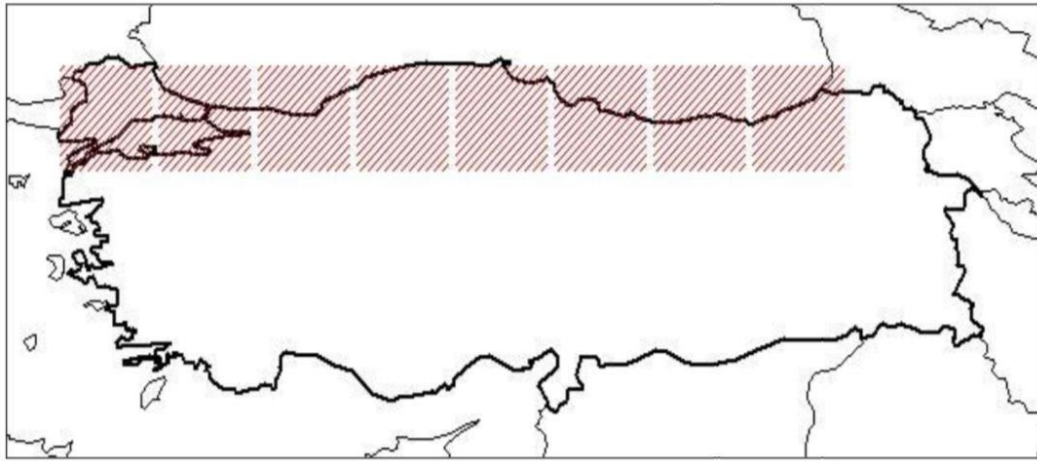
Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nde sebze olarak tüketilen Sakarca'nın bazı Farmasotik özellikleri incelenmiştir.

Çizelge 2.1. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Sistematikteki Yeri

Alem	Plantae
Bölüm	<i>Spermatophyta</i>
Sınıf	<i>Monocotyledonae</i>
Takım	<i>Liliales</i>
Aile	<i>Liliaceae</i>
Cins	<i>Ornithogalum</i>
Tür	<i>Ornithogalum sigmoideum</i> Freyn et Sint.

Çalışma materyali olarak Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryum laboratuvarında muhafaza edilen *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.'in örneklerinin rizomları ve değişik gelişim evrelerindeki çiçek tomurcukları, 2018-2019 yılları arasında, Giresun-Bulancak'tan çiçeklenme zamanı olan Mart-Mayıs aylarında toplandı (**şekil 2.**) ve kurutmak suretiyle saklandı. (**şekil 4, şekil 5, şekil 6**) Sakarca, *O. sigmoideum* L. (*Liliaceae*) ve benzer türlerin taze yumrusudur. 20- 30 cm boylarında, otsu, çiçekleri beyaz ve çok yıllık bir bitki türüdür. (**Şekil 3**)

Sakarca rizomları ilk çağlardan bu zamana kadar kusturucu ve çıban açıcı olarak da kullanılmaktadır. Taze veya pişmiş rizom çıban üzerine sarıldığında çıbanın açılmasını sağlamaktadır. Yüksek dozda tüketildiğinde zehirli etki gösterebilir.



Şekil 2.1. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Türkiye'deki Yayılış Alanı



Şekil 2.2. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Genel Görünüşü



Şekil 2.2. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Toprakdan Çıkarıldıktan Sonra ki Genel Görünüşü



Şekil 2.3. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Çiçek Kısmı Kurutulmuş Hali



Şekil 2.4. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Yaprak Kısmı Kurutulmuş Hali



Şekil 2.5. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Rizom Kısmı Kurutulmuş Hali

2.2. Serbest Radikaller

Oksijen, enerji üretimi için kullanılırsa, reaktif oksijen türlerini ve reaktif nitrojen türlerinin oluşmasına neden olur. Serbest radikaller, vücudumuzun oksijen kullandığı anda mitokondri tarafından üretilir. Bu enerji üretiminden sonra serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerin yapılarında farklılık oluşturabilir. (Shinde ve ark. 2012). Serbest radikaller mitokondriden başka endojen ve eksojen kaynaklardan da üretilmektedir. Üretilen serbest radikallerin hem yararları hem de zararları mevcuttur.

Serbest radikaller az yoğunlukta ise yararlı etkileri bilinmektedir. Az yoğunluktaki serbest radikaller enfeksiyonla mücadele, kanser hücrelerinin yok edilmesi gibi hücrel sinyallerin aktivasyonunda rol oynamaktadır.

Serbest radikaller dış orbitalinde tek veya birden fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom ya da moleküller diye tanımlanır. (Bast ve ark. 1991; Halliwell ve Gutteridge, 1985; Nawar, 1996). Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurduğundan sebep maddelerle daha kolay reaksiyonda bulunabilirler. Elektronlarını çiftler şeklinde (eşlenik) bulunduran atomlar ya da moleküller ise kararlı yapıya sahip oldukları için, diğer

moleküller ile etkileşime girme eğilimleri serbest radikaller gibi fazla değildir. Bu sebeple kararlı yapıdaki, eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve başka maddelerle radikallerden daha güçsüz şekilde reaksiyona giren moleküller non-radikallerin altında adlandırılabilir. (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Valko ve ark.2007). Serbest radikaller oksijen (Çizelge 1) ve nitrojen olarak ikiye ayrılır. (Çizelge 2). Oksijen kaynaklılar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklılar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılır. (Halliwell ve Gutteridge,1999; Valko ve ark. 2007).

Reaktif oksijen türleri arasında süper oksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$), ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikalleri gösterilebilir. Reaktif nitrojen türlerini nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) oluşturur. Reaktif oksijen türleri ve RNS diğer non-radikal reaktif türlere basit olarak dönüşebilir. Genellikle oksidanlar olarak isimlendirilen hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipid peroksit ($LOOH$) ise serbest radikaller olarak gösterilmezler. Bu oksidan türleri patolojik ve fizyolojik durumlarda canlılar tarafından üretilir ve canlı organizmada basitlikle serbest radikal reaksiyonlarına sebep olabilirler. (Fang ve ark. 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark. 2007).

Çizelge 2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

RADİKALLER		NONRADİKALLER	
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksit	$OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\cdot}$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil	HO_2	Ozon	O_3
Lipidperoksil	$LOO^{\cdot}$		

Çizelge 2.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

RADİKALLER		NONRADİKALLER	
Nitrik Oksit	$\text{NO}^\cdot$	Nitrik Asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	NO_2	Nitroksil Katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojentetroksid	N_2O_4
		Dinitrojentioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	ONOO^-
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitrilklorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

2.3. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal kaynakları serbest radikaller organizmada endojen ve eksojen kaynaklar tarafından oluşturulabilir. Serbest radikaller hücrelerde ve çevrede devamlı olarak üretilir. (Ali ve ark.1996;Bagchi ve Puri,1998;Cadenas,1989;Nagendrappa, 2005;Pham-Huy ve ark. 2008; Sarma ve ark. 2010; Sen ve ark. 2010).

2.3.1. Endojen kaynaklar

- Mitokondride aerobik solunum esnasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler serbest radikalleri ek ürün olarak üretirler.
- Sitokinler yangı durumunda serbest bırakılır ve sonuç olarak nötrofiller ve makrofajlar serbest radikalleri üretmeye başlar.
- Serbest radikaller lipid peroksidasyonu, ksantinoksidaz ve mitokondriyel sitokromoksidaz gibi farklı kaynaklardan oluşabilir.

- Serbest radikaller düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması sayesinde üretilirler.
- Otooksidasyon reaksiyonları esnasında ksantinoksidaz (XO) ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sisteminde oluşan elektron kaçaklarından meydana gelebilir.
- Beyinsel stres ya da beden yorgunluğundan kaynaklanan stres toksik yan ürün olarak serbest radikal üretebilir. Ek olarak kortizol ve kateşolamin gibi hormonlar vücutta strese neden olabilirler. Ayrıca bu hormonlarda serbest radikallere dönüşebilirler.
- İmmun sistem hücreleri patojenlere cevap olarak ROS ve oksi- radikaller üretebilir.

2.3.2. Eksojen kaynaklar

- UV ışınlar, X-rays, gamma ışınları, mikrodalga ışınları,
- Pişirme sırasında organik maddelerin yakılması,
- Orman yangınları, volkanik faaliyetler,
- Asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen benzeri hava kirleticiler,
- Temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları benzeri kimyasallar,
- Kloroform ve diğer trihalometanlar benzeri su kirletici maddeler,
- Alkol ve sigara tüketimi, sigara dumanı, egzoz dumanı, eksojen kaynaklı serbest radikal üretimine neden olabilir.

2.4. Serbest Radikallerin Faydaları

Az yoğunluklarda olduklarında ROS ve RNS'nin faydalı etkilerinden bahsedilebilir. Pek çok hücrel cevaba karşı normal fizyolojik bir fonksiyon olarak pek çok hücrede $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve NO üretiminden bahsedilebilir. Reaktif oksijen türleri ve RNS'nin bazı faydalı faaliyetleri arasında fagositoz vasıtasıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini yok etme, sitokrom p450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonda mitojenik sonuçlara sebep olma sayılabilir.

Reaktif oksijen türleri hücrede çözünerek guanilat siklaz aktivitesinin düzene girmesinde ve gen transkripsiyonu gibi hayatsal faaliyetlerde kullanılır. Endotel hücreleri tarafından kullanılan NO lökosit adezyonu, platelet agregasyonu, anjiogenesis, trombozis ve damar düz kaslarının kan basıncını düzenlemesinde önemlidir. Süperoksit ve H₂O₂ ikinci haberciler gibi hareket edebilir. Ama serbest radikallerin birikimi çoğaldıkça zararlı etkileri gün yüzüne çıkabilir. (Devasagayam ve ark.2004;Droge,2002;Fang ve ark.2002;Lander, 1997; Schreck ve Baeuerle,1991;Valko ve ark. 2007).

2.5. Serbest Radikallerin Zararları

2.5.1. Lipitler

Serbest radikaller, lipitler ile etkileşime girdiğinde şekil alan lipit peroksidasyonu yüksek derecede zararlı etkilere neden olabilir. Lipit peroksidasyonu, toksik ek ürünlerin fazla miktarda üretilmesine neden olur ve üretilen bu ek ürünler ikinci haberciler gibi hareket eder ve üretildiği çevreden uzak bölgelerde sonuçlarını gösterir. Lipit peroksidasyonundan kaynaklanan hasar, hücrenin fonksiyonu için oldukça zararlı etkiye neden olur. (Devasagayam ve ark.2003).

2.5.2. Proteinler

Serbest radikaller proteinleri direkt etkilerken proteinlerin etkilenme süresini amino asit içerikleri belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha fazla reaktiviteye sahip olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerle kolayca etkileşime girer. (Devasagayam ve ark. 2003). Serbest radikaller, yapısal proteinlerin fonksiyonunu ve enzim aktivitesini engelleyerek pek çok proteinin hasarlanmasına sebep oluyor olabilir. Reaktif oksijen türleri ve RNS'nin sebep olduğu protein oksidasyonu sonucunda, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler ortaya çıkar. Ortaya çıkanlar ile geçiş metal iyonlarının etkileşimi sonunda radikallerde ortaya çıkabilir. Ayrıca oksitlenmiş proteinlerin pek çoğu, fonksiyonel olarak doğada inaktiftir ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Ama zamanla aşamalı olarak az miktar birikebilir. Sonuçta farklı farklı hastalıklardan ziyade yaşlılık ile ilişkili hasarlara da neden olur. (Devasagayam ve ark. 2004; Sarma ve ark. 2010).

2.5.3. DNA

Reaktif oksijen türleri ve RNS, DNA ile etkileşimde bulunarak oksidatif hasara neden olur. DNA, OH. gibi serbest radikallerle birlikte basitçe hasara sebep olunabilir. Bu serbest radikaller DNA ile etkileşime girerek şeker parçasından hidrojen atomlarının kaybolmasına ya da ilavesine neden olabilir. Ayrıca, pirimidinin C4-C5 çift bağı hidroksil radikalının saldırısına karşı oldukça güçsüzdür. Saldırılarından sonra timin glikol, urasil glikol, üre kalıntısı, 5-hidroksideoksiüridin, 5-hidroksideoksisitidin ve hidantoin gibi oksidatif pirimidin hasar ürünleri ortaya çıkar. Ayrıca pürinlerde, hidroksil radikal saldırısına karşı oldukça güçsüzdür. Bu tip saldırılan sonucunda 8-hidroksi deoksiguanozin ve 8-hidroksi deoksiadenozin formamidopirimidin ürünlerinin oluşumuna sebep olur. Serbest radikal saldırıları ek olarak polisentetaz enziminin (ADP-riboz) aktivasyonuna sebep olur. Bu enzimin aktivasyonu programlanmış hücrenin yok olmasına ve DNA'sının parçalanmasına neden olur. Bu tip işlemler sonucunda, elektron taşıma zincir fonksiyonlarını bozarak NAD⁺ seviyelerini hücresel düzeyde tüketir (Devasagayam ve ark.2004;Fang ve ark., 2002;Kuraoka ve ark., 2001; Sarma ve ark., 2010).

2.5.4. Karbonhidratlar

Hidroksil benzeri serbest radikaller, karbonhidratlarla etkileşime girer ve karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu eksilterek merkezi karbon olan radikal üretirler. Bu üretilenler Hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde kırılmaya neden olur. (Devasagayam ve ark.2004).

2.6. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile organik moleküllerin oluşumunda oldukça önemlidir. (Pham-Huy ve ark. 2008). Ek olarak hücrelerde ortaya çıkan metabolik reaksiyonlar için şart olan oksijenin %90'ı mitokondride oksidatif fosforilasyon esnasında kullanılır (Cankurtaran, 2005). Kullanılan oksijenin %1-3'ü mitokondrilerde ROS'a evrilir (Muller ve ark. 2004).

Oksijen farklı olayların etkisiyle ya da yüksek yoğunlukta bulunduğu bölgelerde toksik olan reaktif oksijen türevleri (ROS) denen serbest radikal kaynağı, (süperoksit(O₂'⁻) radikali, hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil (OH) radikali, hipokloröz asit (HOCl), singlet oksijen (O₂) elde edebilmekte ve bu organizma için oldukça tehlike arz edebilmektedir (Mandal ve ark. 2009).

1- Radikaller:

- ✓ Süperoksit radikali (O_2^-)
- ✓ Alkoksil radikal (LO^-)
- ✓ Peroksil radikal (LOO^-)

2- Radikal olmayanlar:

- ✓ Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- ✓ Lipithidroperoksit (LOOH)
- ✓ Hipoklorik asit (HOCL)

3- Singlet oksijen olarak sınıflandırılır (Çavdar ve ark., 1997).

Canlı metabolizmasında oksidasyonun oluşması oldukça normaldir. Normal şartlarda canlıların vücudunda oksidanlar ve antioksidanlar dengededirler. Bunun sonucunda oksidan maddelerin fazla oluşması veya antioksidan maddelerin azalması sonunda oksidan madde lehine kayar. Oksidan oranının yükselmesi canlılar için çok önemlidir. Eğer oksidan düzeyi artarsa kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal hastalıklar, solunumsal hastalıklar, boşaltım bozuklukları, kanser, diyabet, yaşlanma, spermde fonksiyon bozukluğu ve infertilite benzeri çoğu hastalıklara neden olabilmektedir. Görüldüğü gibi bu hastalıklar oksidan maddelerinin seviyesiyle direkt olarak ilişkidir. Hastalıkların önlenmesi için oksidan maddelerinin antioksidanlar ile birlikte bir uyum içerisinde olması sağlanmalıdır.

Serbest radikaller hücrelere ve dokulara birçok farklı hasar verebilmektedir. Bu hasarları ele alırsak aşağıdaki gibi maddeleyebiliriz.

- DNA'nın yapısının bozulması,
- Nükleotit yapılı koenzimlerin parçalanması,
- Lipit peroksidasyonu zar yapısı ve özelliklerinin bozularak değişmesi,
- Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki bozularak değişimler,
- Protein ve lipitlerle bağlantılar yapması,
- Zar proteinlerinin bozulması,
- Seroid ve yaş pigmenti olarak adlandırılan bazı maddelerin birikmesi,
- Proteinlerin hasar alması ve protein döngüsünde ki artış,
- Tiollere bağımlı enzimlerin özellik ve yapıların bozularak değişmesi, hücrenin ortamının tiol/disülfid oranının farklılaşması,

- Kollajen ve elastin benzeri uzun soluklu proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının zarara uğrayarak kapillerdeaterofibrotik farklılıkların oluşması,
- Mukopolisakkaritlerin yıkımı olarak sıralanabilir (Zhang ve ark. 2005).

2.7 Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını önlemek, bu maddelerin sebep olduğu hasarları engellemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” denilir. Antioksidanlar, radikallerle hızlı bir şekilde etkileşime girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini engelleyen maddelerdir. Antioksidanların rolleri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkıda bulunmak olarak sıralanabilir.

Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyip hücre hasarını önleyebilen maddelerdir. İnsan vücudunda ki oksidan insanlarda doğal olarak üretilebilir veya dışarıdan ek olarak alınırlar. Endojen ve eksojen antioksidanlar serbest radikal süpürücü olarak hareket ederler. Bu sebeple savunma sisteminin etkisini artırarak hastalık oluşma olasılığı azaltırlar. Antioksidanlar, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu etki gösterirler.

Antioksidanlar endojen ve eksojen temelli olabilirler. Endojen kökenli antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılır. Eksojen kökenli antioksidanlar, vitaminler ve ilaç antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (Aydemir ve ark.2009).

Çizelge 2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

ANTIÖKSİDANLARIN SINIFLANDIRILMASI			
ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR		EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
ENZİMATİK	NONENZİMATİK	VİTAMİN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN ANTIÖKSİDANLAR
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ	GLUTATYON	α -TOKOFEROL (VİTAMİN E)	KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİ
KATALAZ	MELATONİN	β -KAROTEN (VİTAMİN A)	NADPH OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİ
GLUTATYON PEROKSİDAZ	ÜRİK ASİT	ASKORBİK ASİT (VİTAMİN C)	REKOMBİNANT SÜPEROKSİT DİSMUTAZ
GLUTATYON REDÜKTAZ	BİLİRUBİN	FOLİK ASİT (VİTAMİN B9)	TROLOX-C
	KOENZİM Q10		NONENZİMATİK SERBEST RADİKAL TOPLAYICILAR
	SELENYUM		
	SERULOPLAZMİN VE TRANSFERRİN		

2.7.1 Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik olarak 2'ye ayrılabilirler.

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksitdismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutatyonperoksidaz (GPx) ve Glutatyonredüktaz (GR) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır.

Nonenzimatik Antioksidanlar

Nonenzimatik antioksidanlar arasında glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir

2.7.2 Eksojen antioksidanlar

Eksojen kaynaklı antioksidanları, vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olarak ikiye ayırabiliriz.

Vitamin Eksojen Antioksidanlar

α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9) dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlardan bazılarıdır.

İlaç Olarak Kullanılan Antioksidanlar

Ksantinoksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kal- siyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar), Rekombinant süperoksit dis mutaz, Trolox-C (vitamin E analogu), Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), Nötrofil adezyon inhibitörleri, Sitokinler (TNF ve IL-1), Barbitüratlar, Demir şelatörleri örnek olarak verilebilir.

2.8. Antioksidanların Gruplandırılması

4 farklı gruba ayrılırlar. Bunlar:

1. Yapılarına göre:

a. Enzimatik antioksidanlar

- b. Enzim dışı antioksidanlar
- 2. Kaynaklarına göre:
 - a. Endojen antioksidanlar
 - b. Eksojen antioksidanlar
- 3. Çözünürlüklerine göre:
 - a. Sıvı faz (non-membranöz)
 - b. Lipit faz (membranöz)
- 4. Yerleşimlerine göre:
 - a. Hücre içinde bulunanlar
 - b. Plazma ve diğer hücre dışı sıvılarda bulunanlar (Yalçın; 1998).

2.9. Antimikrobiyal Aktivite

Bitkilerin insan sağlığı için önemli etkileri 1900'lü yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Bilim insanları ilaç kullanımından ziyade antimikrobiyal özelliklere sahip bitkilerinde tedavi amaçlı kullanılabilirliğini saptamışlardır. Ayrıca ek olarak ilaç dirençliğini indirmek için antibiyotiklerle bitkilerin birlikte kullanılmasının hastalıklara karşı etkili olduğunu açıklamışlardır.

Antibiyotiklere direnç gösteren bakteri gruplarında ilaç dirençliği artış göstermekte ve yayılmaktadır. Bu sebeple ilaçlara ek olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmiş ve yöresel bitkilerde antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal etkisi olan bitkiler kullanılan antibiyotiklerden farklı mekanizmalarla bakterileri inhibe edebildiği için direnç geliştiren bakteri türlerini kontrol altına alabilmektedirler (Keleş, 2000; Abascal ve Yarnell, 2002; Onbaşlı ve ark. 2011; Toroğlu ve Çenet, 2006).

Antibiyotikler, bakteriler ve mantarlarla üretilen başka bakterilerin üremesini engelleyen (bakteriyostatik) ya da onları yok eden (bakterisidal) doğal maddelerdir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler antibiyotiklere örnek olarak verilebilir. Antibiyotiklerle benzer etkide bulunan, fakat yapay şekilde sentezlenen kimyasal bileşiklerse kemoterapötik ajanlar olarak adlandırılmaktadır. Sülfonamidler, kinonlar, imidazoller örnek olarak verilebilir. Bazı

antibiyotikler ya da türevleri kimyasal manüplasyonlarla sentezlenebilmektedir (semi-sentetik antibiyotikler). Bu sebeple, bu terimler arasındaki sınır her zaman kesin olarak belli olmayabilir. Antimikrobiyal kelimesi ise antibiyotik ve kemoterapötik terimlerinin ikisini de içinde bulundurur (Saran ve Karahan, 2010).

Antimikrobiyalleri başka ilaçlardan ayıran en belirgin özellik, etkilerinin verildikleri konağa değil, patojen mikroorganizmalara yönelik olmasıdır (Köksal, 2010). Konağa zarar vermeksizin mikroorganizmaların üremelerinin inhibe edilmesi diye adlandırılan seçici toksisite, mikroorganizma ile insanlardaki yapı ve metabolizma farklılıklarının ortaya çıkarılmasıyla elde edilir. Örnek olarak penisilinler ve sefalosporinler, peptidoglikan sentezini inhibe etmesi nedeni ile bakteri üremesini inhibe edip insan hücrelerinin üremesini etkileyemedikleri için aktif antibakteriyal ajanlardır (Lewinson, 2008).

2.9.1. *Stenotrophomonas maltophilia*' nın genel özellikleri

Gram-negatif, non-fermantatif ve aerobik bir basil olmasıyla beraber fırsattan istifade eden bir patojen bakteridir. *Stenotrophomonas maltophilia* başka bakterilere göre boyut olarak küçüktür. Boyut oranı olarak 0.7-1.8 x 0.4-0.7 µm civarındadır. Doğa da fazla bulunmasıyla beraber *S. maltophilia* oksidaz negatif katalaz pozitif özellik göstermektedir. Hareket eden polar kamçıları bulunmaktadır. Mac-Conkeyagar üzerinde renkli pigmentli, birleşmiş topluluklar şeklinde üremektedirler. Bu bakteri genellikle yetişkin olanların orofarinksleri ile balgamlarından izole edilebildiği gibi bulunduğumuz ortamlardan da tecrit edilebilir (Dülger ve Berktaş, 2007). Çevresel ortamlarda oldukça yaygındır. Ayrıca kanalizasyon, toprak, su, bitkilerden ve hayvansal kaynaklardan tecrit edilebilir. Hastanelerde de genel olarak bulunur (Senol, 2004). Ek olarak bu bakterinin musluk suyu, çiğ süt, dondurulmuş balık, kanalizasyon atıkları, hayvanların ve insanların dışkılarında da ürediği görülmüştür (Pages ve ark. 2008). *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi yara iltihaplarına ve üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olur (Dülger ve Berktaş, 2007).

Bu bakterinin iltihaplarının en belirgin klinik tablosu pnömoni şeklindedir. Devamı olarak ta kan dolaşım iltihapları ile beraber ufak ihtimalle idrar yolu ve yara yeri iltihapları şeklinde takip edebilir (Denton ve Kerr, 1998).

2.9.2. Antibakteriyal duyarlılığın belirlenmesi

In vitro Antibakteriyal duyarlılığın belirlenmesinde; broth makrodilasyon, broth mikrodilasyon, agar dilasyon, E-testi, disk difüzyon gibi benzeri yöntemler kullanılmaktadır (Yıldırım, 2010). Bunlar dilasyon (Seyreltme) yöntemleri ve difüzyon (Yayılım) yöntemi olarak ikiye ayrılır.

Dilasyon yönteminde kural sıvı ya da katı besiyerleri içinde antimikrobiklerin belirli seyreltmeleri yapılarak mikroorganizmalarla karşılaştırılmasının yapılmasıdır (Bilgehan, 2004).

Difüzyon Yöntemleri katı besiyerine uygulanır. Burada en belirgin kaide plak besiyerine ekilen mikroorganizmaların, besiyerine konulan disklerdeki, besiyerlerine açılmış çukurlardaki ya da cam ve porselen gibi silindirlerin, etrafına yayılmakta olan Antibakteriyal maddeler ile birlikte çoğalmaları olarak açıklanabilir. Antibakteriyal maddenin mikroorganizmaya olan tesirinin derecesi oluşan üreme önlenim zonlarının ölçülmesiyle belli olur (Bilgehan, 2004).

2.9.3. Disk difüzyon testi

Disk difüzyon testi Antibakteriyal aktivite belirlenmesinde fazlaca kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde, denenilen mikroorganizma ile mikroorganizma ilave inokule edilmiş katı besiyerinde bulunan disk ya da kuyucuğa antibakteriyal madde eklenir. Devamında besiyerde antibakteriyal maddenin antibakteriyal etkisini belirleyebilmek için, maddenin oluşturduğu aktiviteye bağlı meydana gelen inhibisyon zon çapları hesaplanarak ekstratın antibakteriyal etkisi saptanmaktadır. Böylece, normal yollarla hastalık oluşturan mikroorganizmalarda antibiyotik hassasiyetinin belirlenebilmesinde kullanılmaktadır (Şahin, 2006; Madigan ve Martinko, 2010).

2.9.4. DNA koruyucu aktivite

Güneş ışınları dünyaya ulaştığı esnada Stratosfer tabakasının tahrip olmasıyla güneşten gelen UV ışınları canlılar üstünde olumlu olmayan etkilere yol açtığı bilim insanlarınca kanıtlanmıştır. Bu ışınlar insanlar üzerinde çeşitli hastalıklara yol açmıştır. Deri kanseri, deri yaşlanması gibi hastalıklar örnek olarak gösterilebilir. Aslında insan derisinin genetik özellikleri sayesinde UV ışınlarıyla VIS ışınlarının zararlarını vücudumuz üzerinde ki etkisini azaltacak bir seri mekanizma bulundurur ancak Ultraviyole ışınlarına fazla maruz kaldığı için hücresel antioksidanların sayısında ki azalmaya bağlı olarak, sonuçta da ROS neden olduğu Ultraviyole kaynaklı oksidatif DNA hasarına sebep olur. UV ışınları dışında ki

serbest radikaller de DNA tahribatına sebep olur. Serbest radikal türü olan H_2O_2 , guanini, 8 hidroksi guanine dönüştürmesi sonucu da DNA’da tahribata neden olur (Gutteridge, 1984). Bu sebeple DNA tahribatını kontrol altında tutabilmek için bitki ve bitki türlerinden faydaniılmaktadır. Ek olarak daha önce bilinmeyen bileşikler araştırılarak tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilmiş ekstrelerden kapsamlı çalışmaların yapıldığı bilinmektedir (Feig ve ark. 1994). Buna ek olarak da antioksidanların, ultraviyole ışınlarının negatif etkilerine karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca, enzimatik ile enzimatik olmayan antioksidanların bölgesel yerlere (deri üzerinde) uygulanmasının cilt üzerinde UV ışınlarının olumlu olmayan etkilerinden korunmaya karşı etkili olduğu bilinmektedir (Tepe ve ark. 2011).



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. 'ın Toplanması ve Teşhisi

Çalışmada kullanılan bitki Giresun ili çevresinde Mart ve Haziran ayında çiçeklenme döneminde yaşadığı habitattan toplanmıştır. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Bedrettin SELVİ tarafından teşhis edilmiştir. Teşhis edilen bitkinin sağlıklı yaprak, rizom ve çiçek kısımları herbaryum tekniklerine uygun biçimde preslenip kurutulmuştur.

3.2. Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint Bitkisinin Özütünün Elde Edilmesi

3.2.1 . Kullanılan materyaller

- ✓ Distile su
- ✓ Metanol
- ✓ Filtre kağıdı
- ✓ Hassas terazi
- ✓ Havan
- ✓ -40 dereceli dondurucu
- ✓ Otoglav
- ✓ Liyofilizatör
- ✓ Evaporatör
- ✓ Basınçlı Ekstraksiyon Cihazı

3.2.2. Metod

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. bitkisinin özütünün elde etmek için bitkilerin yaprak, rizom ve çiçek kısımları havan ile tozu çıkarıldı. Ekstre çıkarma işlemi için çözücü kullanılarak basınç uygulandı. Özüt çıkarmada kullanılan çözücüler su, metanol olarak belirlendi ve özütleme işlemi bu solventler ile gerçekleştirildi. Elde edilen özütler deney başlayana kadar +4 °C' de muhafaza edilmiştir (Gülaçtı ve ark.2007).

Basınçlı solven tekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen işlemde *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkilerinin öğütülen yaprak, çiçek ve rizom kısımları hassas terazide 9 gr olacak şekilde tartıldı. Tartılan kısımlar yağlı kağıda konularak Soxthern cihazının tüplerinin içine yerleştirildi, 5.1 bar basınçta, 2 saat sürecek şekilde 9 grama 150 ml distile su eklenerek ayarlandı ve özüt işlemi gerçekleşti. Diğer solventler içinde aynı işlem tekrarlandı. Hepsinde süresi bitince içindeki sıvı petri kaplarına koyularak sıvı kısmının buharlaşması beklendi. Çünkü, içerisindeki maddenin kolayca buharlaşarak ekstrelerin daha erken zamanda elde edilmesini sağlamaktır.

Bu çalışmada antioksidan aktivite belirlenmesinde çalışılacak bitki *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisidir. Bu bitkilerin yeşil, çiçek ve rizom kısımlarının 2 farklı çözücü (distile su, metanol) ile ekstreleri elde edilmiş bitkilerin özüt miktarı sırası ile;

- ✓ Sakarca bitkisinin yeşil kısmından elde edilen ekstreler;

Distile su: 0,988 mg

Metanol: 50 mg

- ✓ Sakarca bitkisinin çiçek kısmından elde edilen ekstreler;

Distile su: 0,998 mg

Metanol: 50 mg

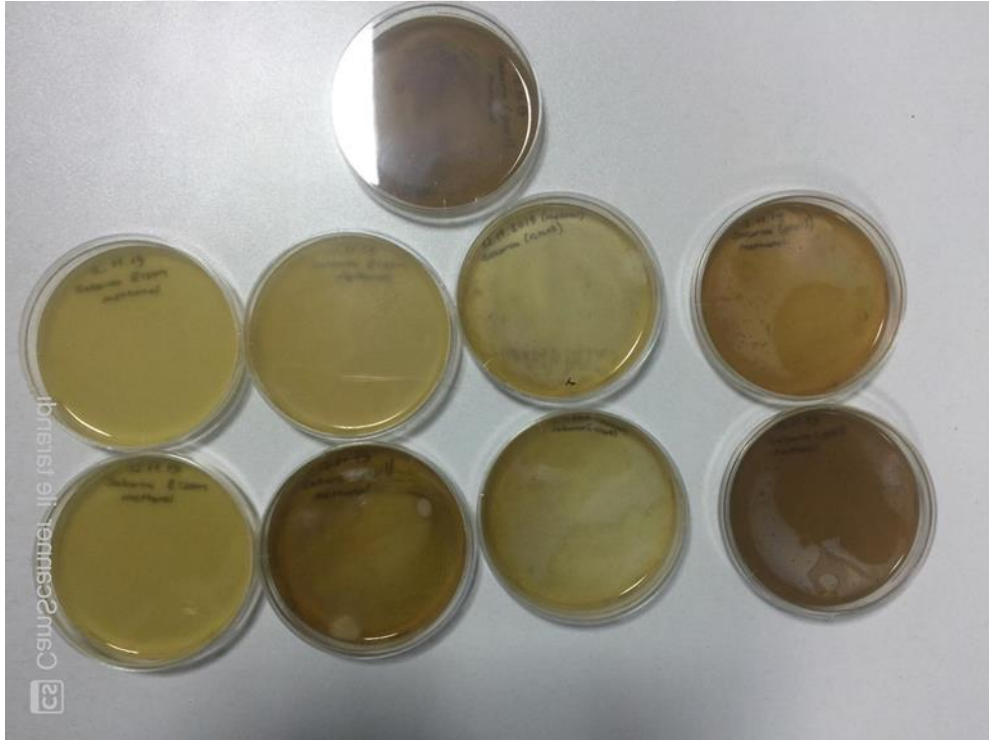
- ✓ Sakarca bitkisinin rizom kısmından elde edilen ekstreler;

Distile su: 2,519 mg

Metanol: 50 mg



Şekil 3.1. Özütleme İşlemi İçin Kullanılan Basınçlı Ekstraksiyon Cihazı



Şekil 3.2. Elde Edilen Özütler

3.3. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod

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

ROS fizyolojik ve metabolik süreçler sonunda oluşur. Oksidatif reaksiyonların zararlı kısımları, enzimatik veya enzimatik olmayan aktivitelerle organizmadan uzaklaştırılır. Belli şartlarda, oksidanların artması veya antioksidanlardaki azalmaya engel olunamaz. Bunun sonucunda 100'ün üzerinde hastalık meydana gelebilir. Antioksidan moleküller yararlı olmayan reaksiyonları durdurur veya engeller.

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. bitkisinin yaprak, rizom ve çiçek ekstreleri, satışı kitlerle antioksidan kapasitesinin belirlenmesini sağlamak için kullanılmaktadır. Örnekteki antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürerek 660 nm absorbanstaki değişim örneğin TAS'ini belirtir. Trolox olarak adlandırılan bu test E vitamini benzeri ile kalibre edilir. Örnek olarak, kan serumu, plazma, üre, doku homojenatı hücre lizatı, meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir. Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TAS Assay Kit kullanılmıştır.

TAS ile antioksidan aktive belirlenmesinde; TAS assay kit, *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin yaprak, rizom ve çiçek özütleri, Spektrofotometre, Eliza plate kullanılmıştır.

TAS ile antioksidan aktive belirlenmesi için aşağıda belirtilen metod kullanılmıştır.

- Bir eliza plate alınır ve Reagent 1'den 200 µl alınır ve kuyucuğa eklenir.
- Üzerine 12 µl bitki örneği konulur. 660nm'de absorbans ölçümü yapılır (Örneğin birinci absorbansı)
- Üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edildi. 5 dk 37 °C'de inkübe edilir.
- Inkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbans alınır. (Örneğin ikinci absorbansı)

Hesaplaması için;

$\Delta Abs_{std\ 1}$: std1'in ikinci absorbansı- std1'in birinci absorbansı

$\Delta Abs_{std\ 2}$: std2'in ikinci absorbansı- std2'in birinci absorbansı

$\Delta Örnek_{abs}$: Örneğin ikinci absorbansı- örneğin birinci absorbansı

SONUÇ: $[\Delta\text{abs std1}-\Delta\text{abs örnek}] / [\Delta\text{abs std1}-\Delta\text{abs std2}]$

TAS: $(1,153-\Delta\text{örnek})$

0,267

formülleri kullanılır.

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

Metabolik ve fizyolojik süreçlerde, nitrojen türleri ile birlikte reaktif oksijen üretilir. Üretilen reaktif oksijen enzimatik veya non-enzimatik süreçler ile uzaklaştırılır. Belli şartlarda, oksidanlardaki artma veya antioksidanlardaki azalma, önlenemediği için, 100 üzerinde hastalık ortaya çıkması olasıdır. Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları bastırır veya engeller. Bu metodun amacı, araştırılacak olan örneklerin oksidan miktarını belirlemektir. Örnekte belirtilen oksidanlar, demir iyonu şelat kompleksini demir iyonuna oksitler. Oksitlenme reaksiyonu, ortamda bulunan arttırıcı moleküllerle uzatılır. Demir iyonu, asidik bir ortamdaki pigment birlikte renkli bir kompleks oluşturur. Elde edilen rengin şiddeti, spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir ayrıca örnekte ki bulunan oksidan molekül miktarı ile paraleldir. Bu yapılan test, H₂O₂ ile kalibre edilir. Absorbans değeride örnekte bulunan oksidan değerini göstermektedir. Bulunan sonuçlar ise µmol H₂O₂ Equiv./L ile kıyaslanarak total oksidan seviye değeri belirlenir (Tarpey MM. ve ark. 2004).

Örnek olarak, plazma, kan serumu, hücre lizatı, üre, doku homojenatı meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir. Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit kullanıldı.

TOS ile antioksidan aktive belirlenmesinde, TOS assay kit, *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin yaprak,

rizom ve çiçek özütleri, Spektrofotometre, Eliza plate kullanılmıştır.

TOS ile antioksidan aktive belirlenmesi için kullanılan metodlar maddeler halinde belirtilmiştir.

- Eliza plate alınır. ve kuyucuğa ilk olarak 200µl Reagent 1 konulur.
- Üzerine 30µl örnek eklenir. 530nm’de ilk absorbans alındı(örneğin birinci absorbansı).
- Ölçümden sonra 10µl Reagent 2 eklenir.
- Oda sıcaklığında 10 dk veya 37°C’de 5 dk bekletilir
- 530nm’de ikinci absorbans alınır.

- Aynı işlemler standart 2 için de tekrarlanır.

Hesaplaması için;

$\Delta Abs_{std\ 2}$: std2'in ikinci absorbansı- std2'in birinci absorbansı

$\Delta \text{Örneks}$: Örneğin ikinci absorbansı- örneğin birinci absorbansı

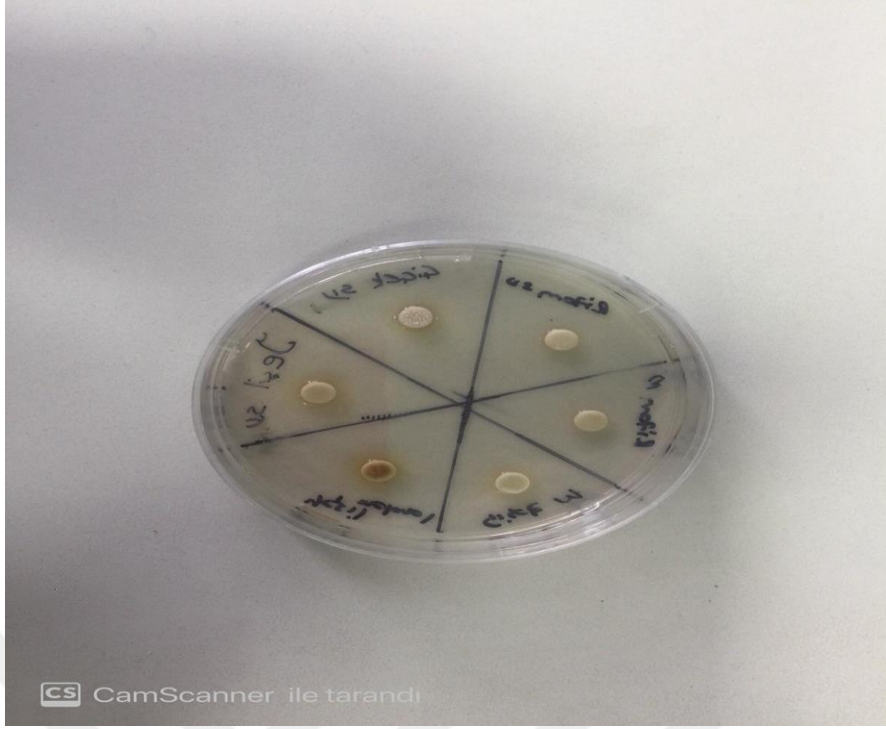
SONUÇ: $(\Delta \text{ örnek} / 0.2017) \times 20 = \text{standart 2 değeri}$

formülleri kullanılır.

3.4. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. Bitkisinin özütlerinin antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntem maddeler halinde belirtilmiştir.

- Eldesi yapılan özütler, 50mg ekstrakt için 1ml solvent (su) içerisinde çözündürülür.
- Karışımların homojenize olması için vorteks cihazı kullanılır.
- 6mm çapındaki steril blank (boş) diskler 20µl emdirilir.
- Özütlerin emdirildiği disklerden solventlerin uzaklaştırılması için bir gün boyunca oda sıcaklığında bekletilir.
- Daha önce besiyerlerinde üreme kontrolleri yapılan *Stenotrophomonas maltophilia* belli miktar kullanılarak tek tek SF içerisinde 0.5 Baryum Sülfat Bulanıklık Standardı baz alınarak Mcfarland cihazında belirlemeler yapılır.
- Süspanse hale getirilerek vortekslen bu süspansyonlar steril eküvyon yardımı ile alınan örnek Mueller-Hintonagar yüzeyine 100 µl inoküle edilip disk difüzyon için kullanılmak amacı ile ekimi gerçekleştirilir.
- Özüt emdirilmiş diskler steril bir pens ile agar yüzeyine yerleştirilir.
- İşlem esnasında oluşacak zonların net biçimde ölçülebilmesi için disklerin arasında 22mm, petri kabı kenarından ise 14mm uzaklıkta olmasına önem gösterilir.
- Besiyerleri 24 saat süreyle $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilir.
- İnkübasyonun tamamlandıktan sonra ortaya çıkan zonların çapları cetvel yardımı ile ölçülür.



Şekil 3.3. Disk Difüzyon Yöntemi

3.5. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler ve Metod

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. bitkisinin özütlerinin DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesinde, H₂O₂, % 1.5'lik agaroz jel, Pbr322 DNA (vivantis), UV traslüminatör (DNR-IS), jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MİNİBIS Pro), distile su kullanılmıştır.

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. bitkisinin özütlerinin DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesinde alt tarafta yazılan yöntemler kullanılmıştır. DNA koruyucu aktivite testi için *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin yaprak, rizom ve çiçek özütlerinden % 0.1' lik stok derişimi sağlamak için 0.1 mg tartılıp üzerine de 100 µl DMSO eklenerek çözülmesi sağlanmıştır. Özütlerin, tamamının çözünmesi sağladıktan sonra seyreltme işlemi uygulanmıştır. %0.1' lik *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin yaprak, rizom ve çiçek özütü çözeltilerinden 1/10 oranında derişimini azaltma işlemi yapılmıştır. Bunun için 5 µl özütün üzerine 4 µl distile su eklenmiştir. Çalışmada bu oran kullanılmıştır.

3.5.1. Kontrol ve *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin özütlerinin hazırlanması

K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)

K2: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl) + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

RM: Plazmit DNA (3µl) + RizomMetanol özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

ÇM: Plazmit DNA (3µl) + Çiçek Metanol özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

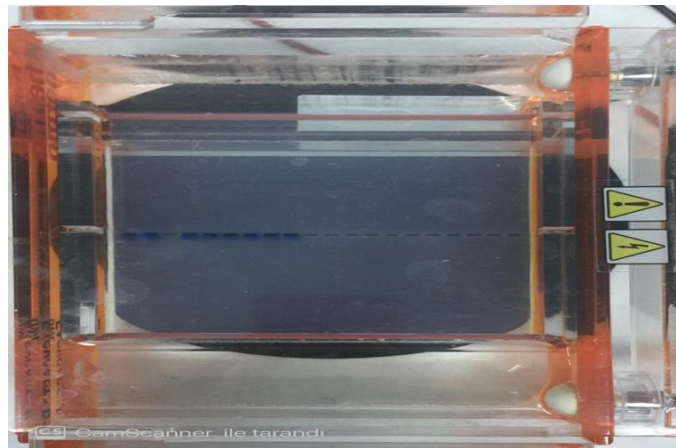
YM: Plazmit DNA (3 µl) + Yeşil Metanol özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

RS: Plazmit DNA (3µl) + Rizom Su özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

ÇS: Plazmit DNA (3µl) + Çiçek Su özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

YS: Plazmit DNA (3µl) + Yeşil Su özütü 5µl + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

Kontroller haricindeki tüplere *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. bitkisinin yeşil, rizom ve çiçek özütlerinden 5.0 µl eklenerek tüplerin içerisine 1.0 µl %30'luk H₂O₂ ve 3.0 µl pBR322 plazmid DNA' sı (172 ng.µl) eklenmiştir. Özütlerin olduğu tüpler, 1'inci ve 4'üncü tüpler ile beraber 5 dk süreyle ultra viyole ışınlarına maruz bıraktıktan sonra 2.0 µl yükleme tamponu eklenerek % 1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Işık kaynağı olarak da oda sıcaklığında 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör (DNR-IS) cihazı kullanılmıştır. 110 dakika, 100 Voltluk % 1.5'lik agaroz jel elektroforezi (**şekil 10**) uygulamasından sonra jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenmiştir ve sonunda fotoğrafları elde edilmiştir. Bu çalışmada kontrol olarak, UV ve H₂O₂ uygulaması yapılmamış pBR322 plazmid DNA'sı kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Agoroz Jel Elektroforezi

4.BULGULAR

4.1. Özüt Verimi

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint. bitkisinin yaprak, rizom ve çiçek kısımlarının su, metanol, özütleri Soxhlet cihazı ile elde edilmiştir. Özüt verimi sırasıyla %23 ve %18 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Özüt Verim Hesaplaması

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

4.2 *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlerinin TAS, TOS ve OSI Aktivite Bulguları

OSI (Oksidatif Stres İndeksi) oksidatif stres seviyesini gösteren bir indikatördür. TAS ve TOS değerleri hesaplandıktan sonra OSI hesaplaması yapılır. Formülü $OSI = (TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / (TAS, \mu\text{mol Trolox equivalent/L})$ şeklindedir (Ulas ve ark. 2013).

Çizelge 4.2. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri

TAS REFERANS DEĞERLERİ ($\mu\text{mol Trolox equivalent/L}$)		
>2.0		Çok İyi
1,45	2,0	Normal
1,2	1,45	Normal Kabul Edilebilir
1	1,1	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

TOS REFERANS DEĞERLERİ (μmol H ₂ O ₂ equivalent/L)		
<5.0		Çok İyi
8	5	Normal Kabul Edilebilir
12	8	Yüksek Oksidan Seviye
>12		Çok Yüksek Oksidan Seviye

Çizelge 4.3. TOS (Total Oksidan Seviye) Değerleri

	RİZOM METHANOL	ÇİÇEK METHONOL	YEŞİL METHANOL	RİZOM SU	ÇİÇEK SU	YEŞİL SU
TOS	14.17947	56.02379	22.70699	58.70104	33.51512	38.96876
1\2	13.98116	34.50669	16.65884	31.73029	20.82300	23.99603
1\4	8.92414	20.82300	11.79970	19.63311	14.77441	16.46008

Çizelge 4.4. TAS (Total Antioksidan Seviye) Değerleri

	RİZOM METHANOL	ÇİÇEK METHANOL	YEŞİL METHANOL	RİZOM SU	ÇİÇEK SU	YEŞİL SU
TAS	4.40823	4.56928	4.32584	4.27715	4.30711	4.28838
1/2	4.22097	4.21722	4.28464	4.24344	4.26591	3.97752
1\4	3.21348	4.08988	4.20973	4.01498	4.17602	3.26217

Çizelge 4.5. *Ornithogalum sigmaideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Antibakteriyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi

ÖZÜT	TAS	TOS	OSI
Çiçek Su	4.307	33.515	7.781
Çiçek Metanol	4.569	56.023	12.261
Yaprak Su	4.288	38.968	9.087
Yaprak Metanol	4.325	22.706	5.249
Rizom Su	4.277	58.701	13.724
RizomMetanol	4.408	14.179	3,216

4.3. *Ornithogalum sigmaideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Antibakteriyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi

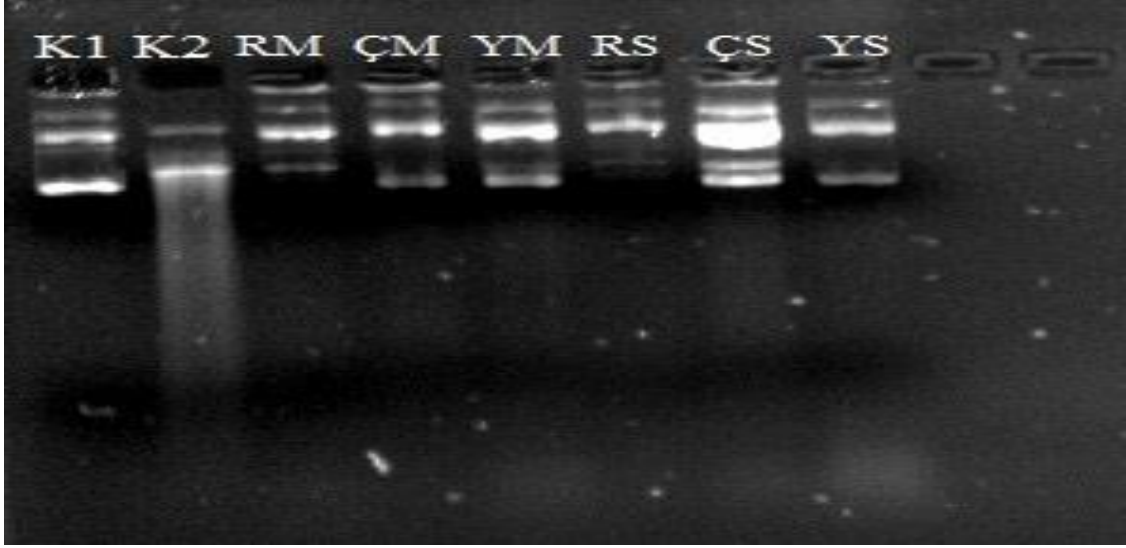
Ornithogalum sigmaideum Freyn et Sint. bitkisinin özütlerinin *Stenotrophomonas maltophilia* suşları üzerinde disk difüzyon test sonuçları, disklerin etrafında oluşan zonlar üzerinden değerlendirmeye alınmıştır. Plaklar, gözden 30 cm uzakta olacak şekilde tutulur, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta olarak belirlenir, MHA plakları yansıyan ışık ile beraber koyu renkli zeminde gözlemlenerek diskin çevresindeki zon çapları cetvel yardımıyla (mm) ölçülür. Fakat zon oluşmadığı için ölçülecek değer bulunmamaktadır. Aşağıdaki fotoğrafta da görülmektedir.



Şekil 4.1. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin Özütlерinin Disk Difüzyon Sonucu

4.4. *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. Bitkisinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitki özütlерinin DNA koruyucu aktivitesi, pBR322 plazmid DNA'sı kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmada, DNA üzerinde hasara neden olan H₂O₂ ve UV ışınlarının bulunduğu ortamda özütlерin DNA tahribatına engel olma yeteneği değerlendirilmiştir. Bitkinin yaprak, çiçek ve rizom kısımlarından elde edilen özütlерin hepsinin jel dökümantasyon sistemine yüklenmesi sonunda DNA'yı ultra viyole ve H₂O₂ 'in DNA üzerindeki zararına neden olan etkilerine karşı koruculuğu aşağıda belirtilen bantlar şeklindedir.



Şekil 4.2. Bitki Özütlерinin Jel Görüntüsü (Sırasıyla Rizom; Metanol, Çiçek; Metanol, Yaprak; Metanol, Rizom; Su, Çiçek; Su, Yaprak; Su)

Ornithogalum sigmoideum Freyn et Sint bitkisinin DNA koruyucu aktivite sonuçlarına bakıldığında en etkili çiçek kısmı su özütünde olmak üzere tüm özütlerde oksidatif nedenli hasarlardan DNA'yı koruduğu tespit edilmektedir.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler ilaç etken maddelerinin büyük bölümü için temel kaynaktır. Bazı hastalıklara karşı doğrudan tüketilen bitkisel tedavi insanlık çağının başlangıcı kadar eskidir. Hastalıklara karşı bitkisel ilaç kullanımı günümüzde de önemini yitirmemiştir. Hatta yeni ilaç geliştirme araştırmalarında önemli yer tutmaktadır. Ülkemizin bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olması bu açıdan büyük bir avantaj sağlamaktadır.

Dünya üzerinde toplam 422.000 bitki türü vardır. Bunlardan 52.885 tanesi tıbbi aromatik bitkilerdir. Avrupa'nın sahip olduğu bitki türü 12.000'e yakındır. Sadece Türkiye florasında 10.000'in üzerinde bitki çeşidi bulunmaktadır. Türkiye florasının 1/3'ünü tıbbi-aromatik bitkiler oluşturmaktadır. Avrupa ülkelerine kaydedilmiş olan endemik bitki türünün toplamı 2750 civarındayken bu sayı Türkiye'de tek başına 3000'i bulmaktadır.

Ornithogalum cinsi ile ilgili yapılan literatür araştırmasında bu cins ile ilgili çok kısıtlı çalışma olduğu görülmüştür. Bu cinsin *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. türü araştırma için seçilmiş olup, farklı özütler elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu etkinlikleri olup olmadığı araştırılmıştır.

Ornithogalum sigmoideum üzerine Kaynak ve ark'larının 2017'de yapmış oldukları araştırmada amip'lerin kistleri ve trofozoitleri üzerine in vitro amoebisidal aktiviteleri araştırılmış ve sonuç olarak kontrollü koşullar altında *O. sigmoideum* bitkisinden elde edilen özütlerin *Acanthamoeba* enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif ya da kombine tedavi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

O.sigmoideum bitkisi üzerinde bağırgan (2014)'nın yaptığı çalışmada uçucu yağ ve kloroform ekstraktının gc-ms analizlerini incelemiştir. Araştırmanın sonucu olarak *O.sigmoideum* bitkisinde elde edilen uçucu yağ ve kloroform ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin sınırlı olduğu ve uçucu yağ bakımından ele alındığında sadece kök kısmının pozitif bir bakteriye karşı bir aktivite gösterdiği görülmüştür. Özüt olarak ise sadece çiçek özütünden test edilen 3 suşa karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüş fakat diğer 4 özüt üzerinde antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır.

Bizim araştırmamızda bakteri olarak doğal dirençli olan ve hastane enfeksiyonu etkeni olan *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı antibakteriyel etki araştırılmış ancak herhangi bir etkinlik saptanamamıştır.

O.sigmoideum bitkisi üzerinde Heves(2018)'in yaptığı araştırmada bitkinin antioksidan aktivitesini incelemiştir. Araştırma sonucunda bitkide antioksidan aktiviteye rastlanmış ve *O.sigmoideum* bitkisinden doğal antioksidan kaynağı olarak faydalanılabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda *O.sigmoideum* bitkisinin yaprak, çiçek ve rizom kısımlarından elde edilen metanol ve su ekstrelerinin TOS ve TAS aktiviteleri "Rell Assay Diagnostic" kitleri ile belirlenmiştir. TAS (Total Antioksidan Seviye) değerlerine baktığımızda rizom, yaprak ve çiçek özütlerinin hepsinde yüksek miktarda antioksidan etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

TOS (Total Oksidan Seviye) değerlerine bakıldığında ise rizom metanol özütünde yüksek oksidan potansiyeli saptanırken diğer kısımlarının *O.sigmoideum* bitkisinin DNA koruyucu aktivitesi incelendiğinde genel olarak koruyucu etkinlik görölmekle beraber en etkili koruyucu etkinlik çiçek su özütünde saptanmıştır. DNA koruyuculuğu potansiyeline sahip olan sakarca bitkisinin çiçek su özütü ileri kapsamda ki çalışmalarla beraber kozmetik sektöründe güneş kremi olarak kullanılması için farmakolojik inceleme ve araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Özütün etken bileşiğinin tanımlanması ve bu bileşiğin kozmetik sektöründe de kullanılabilmesi için çalışmamızın DNA koruyucu aktivite sonuçları ön çalışma niteliğindedir.

Bitki üzerinde yapılan incelemede rizom, yaprak ve çiçek kısımlarında su ve metanol ekstrasyonlarının antibikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Araştırmada disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı inhibisyon etkisinin var olup olmadığı incelenmiştir. Ayrıca bu bakteriye karşı kullanılabilecek yeni bir etken madde ya da ilaç potansiyelinin ölçümü de araştırılmıştır. Sonuç olarak bu bitkinin *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı herhangi bir zon ölçümü yapılamadığından bitkinin bu bakteri üzerinde bir etkinliği olmadığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak *O.sigmoideum* bitkisinin çeşitli kısımlarının farklı çözücülerle elde edilen özütlerin antibakteriyel, antioksidan ve DNA koruyucu etkinlikleri araştırılmış ve potansiyel biyoaktiviteleri saptanmıştır. *O. sigmoideum* bitkisi ile ilgili temel bir araştırma olup daha sonra yapılacak ileri çalışmalar için önemli veriler sunacağı kanaatindeyiz.

6.KAYNAKLAR

- Abascal, K. Ve Yamell, E., “Herbs and Drug Resistance, Potential of Botanical in Drug Resistant Microbes”. *Alternative & Complementary Therapies* 1, 237-241, 2002.
- Ali ATMM, Al-Swayeh OA, Al-Rashed RS, ve ark. 1996. Role of oxygen-derived free radicals on gastric mucosal injury induced by ischemiareperfusion. *Saudi J Gastroenterol.* 2(1), 19-28.
- Aydemir, B., Sarı, K., Aradağ, E., 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Vet J.* 2: 56-60 s.
- Bağırhan M. 2014 *Ornithogalum sigmoideum* bitkisinin uçucu yağ ve kloroform ekstraktının GC-MS analizi. Yüksek Lisans tezi, Giresun Üniversitesi fen bilimleri enstitüsü
- Bast A, Haenen G, Goelmen JA. 1991. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J Med.* 91(3 Suppl 3): 2-13.
- Baytop, T. 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, II. Baskı ISBN: 975-420-021- 1.İstanbul, 480s.
- Bilgehan, H., 2004. Klinik Mikrobiyoloji Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi 4. Baskı, 145-153 s, İzmir.
- Cankurtaran M. 2005. Yaşlılık, yaşlanma mekizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri. 7. Ulusal iç hastalıkları kongresi, kongre kitapçığı. 1-5
- Ceylan, A. 1995. Tıbbi Bitkiler I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları III. Basım No:312. Bornova/İzmir.
- Denton,M., Kerr, K.G., 1998. Microbiological and Clinical Aaspects of Infection Associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews*, 57-80
- Devasagayam TPA, Boloor KK, Ramsarma T. 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J. Biochem. Biophys.* 40(5), 300-308.
- Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, ve ark. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 52, 794-804
- Dülger, D., Berktaş, M., 2007. *Stenotrophomonas maltophilia* şuslarının klinik önemi. *Van Tıp Dergisi*, 14(3), 90-5.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 18(10), 872-879.

- Gatto M A, Ippolito A, Linsalata V, Casciaro N A, Nigro F, Vanadia S & Di Venere D (2011). Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 61(1), 72-82.
- Gülaçtı, T., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., Uluben, A., 2007. A new flavone From antioxidant extract of *Pistacia terebinthus* L. *Food Chemistry*, 103: 816-822.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press. 10-121
- Heves M.D. 2008 Akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum*, Freyn et Sint.) 'ın antioksidan aktivitesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- İsmailoğlu I. 2007 *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.'da sitoembriyolojik ve sitokimyasal çalışmalar. Doktora tezi, Marmara üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Kan Y, Arslan N. 2001. *Datura stramonium* L'nin botanik varyetelerinin farklı organlarının total alkaloid miktarları ve verimi yönünden karşılaştırılması. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 30: 1-11.
- Kaynak B. 2017 *Ornithogalum sigmoideum* ve *Trachystemon orientalis* in *Acanthamoeba castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerine in vitro amoebisidal aktivitelerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ordu üniversitesi fen bilimleri enstitüsü
- Koçyiğit, M. 2005. Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Kuraoka I, Robins P, Masutani C, ve ark. 2001. Oxygen free radical damage to DNA. Translesion synthesis by human DNA polymerase eta and resistance to exonuclease action at cyclopurine deoxynucleoside residues. *J Biol Chem*. 276(52), 49283-49288
- Lewin, R. 2000. *Modern İnsanın Kökeni*, TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7. basım, TÜBİTAK, Ankara
- Madigon, T.M. and Martinko, M.J., 2010. *Mikroorganizmaların biyolojisi*. 11th ed, Cumhuriyet Çökmüş, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Onbaşılı, D., Altuner, E.M ve Çelik, G.Y., 2011. “*Mnium marginatum* özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi”, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 11(2): 205-208.
- Pages, D., Rose, J., Conrod, S., Cuine, S., Carrier, P., Heulin, T., Achouak, W., 2008. Heavy metal tolerance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS ONE*. 3(2), 15-39 s.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huyc C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 4(2), 89-96.
- Senol, E., 2004. *Stenotrophomonas maltophilia* : the significance and role as a nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infections*. 57(1): 1-7 s.

- Saran, B., Karahan, Z.C., 2010. Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. Turk Ural Sem, 1:216-20.
- Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK. 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharm Sci Res. 1(3), 185-192.
- Shinde A, Ganu J, Naik P. 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review. J Dental Allied Sciences. 1(2), 63-66
- Şahin, E., 2006. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 4-5 s.
- Tan, A. 1992. Türkiye’de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. J. of AARI, 2: 50-64
- Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. Am J Physiol, Regul Integr Comp Physiol 2004;286(3): R431–44.
- Toroğlu, S. ve Çenet, M., 2006. “Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler, KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2): 12-19.
- Ulas T., Büyükhatipoğlu H., Kirhan I., Dal M.S., Ulas S, Demir M.E., Eren M.A., Ucar M., Hazar A., Kürkcüoğlu Ğ.C., Aksoy N., 2013. Evaluation of oxidative stress parameters and metabolic activities of nurses working day and night shifts. Rev Esc Enferm USP, Vol. 47(2), 471-6.
- Valko M, Leibfritz D, Moncola J, ve ark. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 39, 44-84.
- Yılmaz N, Deveci M, Dede Ö & Şekeroğlu N (2004). Ordu ve Giresun illerinde doğal olarak yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin tespiti, kullanılma alanları ve yetiştirme koşullarının belirlenmesi. Üçüncü Milli Fındık Şurası (Bildiri kitabı), 10- 14 Ekim 2004, Sayfa: 432-447, Giresun.
- Zhang, Y., Chen, Z., Girwin, M., Wong, T., 2005. Remifentanyl mimics cardioprotective activation in open chest of rats. Acta Pharmacology, 200: 446-500 s.
- Wang H, Cao GH and Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. J. Agric. Food Chem. 44: 701-705.