



**VERBASCUM ARMENUM BOISS. ET KOTSCHY VAR. ARMENUM BOISS.
ET KOTSCHY BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

Özlem KILIÇ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2019

Özlem KILIÇ tarafından hazırlanan “*VERBASCUM ARMENUM* BOISS. ET KOTSCHY VAR. *ARMENUM* BOISS. ET KOTSCHY BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman/Başkan: Prof. Dr. Leyla AÇIK

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Elif Burcu BALI

Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 16/09/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Özlem KILIÇ

20/08/2019

VERBASCUM ARMENUM BOISS. ET KOTSCHY VAR. ARMENUM BOISS. ET
KOTSCHY BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem KILIÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2019

ÖZET

Bu çalışmada ülkemiz için endemik olan *Verbascum armenum* BOISS. ET KOTSCHY var. *armenum* BOISS. ET KOTSCHY bitkisinin biyolojik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır. Bitkinin metanol ve etanol özütleri üzerinde antimikrobiyal, antifungal, antioksidan aktivite ve DNA ile etkileşim çalışmaları yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için agar difüzyon ve MİK yöntemleri kullanılmıştır. Metanol ve etanol özütlerinin 100 mg/ml ve 200 mg/ml'lik iki farklı konsantrasyonları hazırlanmıştır. Çalışma sonucunda, metanol ve etanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakteri suşları üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. İki özüt de çalışmada kullanılan mayalar üzerinde etki göstermemiştir. Özütlerin antioksidan etkileri 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali süpürücü aktivite ve Folin-Ciocalteu reaktifli fenolik içerik tayiniyle *in vitro* olarak incelenmiştir. Metanol özütü için IC50 değeri 50,15±3,08 µg/ml, etanol özütü için 58,52±0,88 µg/ml olarak ölçülmüştür. *V. armenum* bitkisinin toplam fenolik madde içeriği etanol özütü için; 97,87±4,40 µg GAE/mg olduğu, metanol özütü için 80,75±2,64 µg GAE/mg olarak hesaplanmıştır. Bitkinin pBR322 plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir. Konsantrasyon farkına ve inkübasyon süresine bağlı olarak, DNA'yı kesme şeklinde etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak *V. armenum* bitkisinin yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu ve DNA üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmada kullandığımız bu bitki potansiyel ilaç kategorisinde değerlendirilebilir.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar : Moleküler biyoloji, *V. armenum* var. *armenum*, antimikrobiyal
Kelimeler etki, antioksidan etki, DNA etkileşimi
Sayfa Adedi : 70
Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

BIOLOGICAL ACTIVITY OF *VERBASCUM ARMENUM* BOISS. ET KOTSCHY VAR.*ARMENUM* BOISS. ET KOTSCHY

(M. Sc. Thesis)

Özlem KILIÇ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

September 2019

ABSTRACT

The aim of this study is researching the biological activity of endemic plant *Verbascum armenum* Boiss. & Kotschy var. *armenum*. Agar well diffusion and minimum inhibition concentration (MIC) methods were used to evaluate antimicrobial effects. Two different concentrations -100 mg/ml and 200 mg/ml- were prepared for the methanol and ethanol extracts. Both methanol and ethanol extract of two concentrations were shown antimicrobial activity against *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883. But the extracts had not any antimicrobial activity against tested candidal strains. The extracts were subjected for *in vitro* antioxidant activity evaluation by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity and total phenolic contents. According to the results, the methanol extract (IC₅₀: 50,15±3,08 µg/ml) and ethanol extract (IC₅₀: 58,52±0,88 µg/ml). Total phenolic contents of the ethanol and methanol extract were found to be 97,87±4,40 and 80,75±2,64 µg GAE/mg respectively. Agarose gel electrophoresis were used to analyze interaction of methanol extract of plant and pBR322 plasmid DNA. Methanol extracts showed effects on DNA depending on concentration. Consequently this study inferred that *V. armenum* has a valuable antioxidant capacity and effect on DNA thus it can be considered as a potential drug.

Science Code : 20326

Key Words : Molecular biology, *V. armenum* var. *armenum*, antimicrobial effect, antioxidant effect, DNA interaction

Page Number : 70

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması sürecinde her türlü yardımını benden esirgemeyen, beni sabırla destekleyen, bilgisi ve tecrübesi ile bana yol gösteren kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a çok teşekkür ederim. Yüksek Lisans süresince bana destek olan değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Betül AYDIN'a, Bil. Uzmanı Nagehan BAYIN'a, Bil. Uzmanı Merve ÜSTÜNDAĞ'a ve Bil. Uzmanı Nigar TAŞDEMİROĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu zorlu süreçte her daim yanımda olan aileme çok teşekkür ederim.

Son olarak da her türlü zor şartlar altında çalışarak bize bitki temin eden merhum Dr. Faik Ahmet KARAVELİOĞULLARI'na teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
HARİTALARIN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi	5
2.2. <i>Scrophulariaceae</i> Familyası Genel Özellikleri	10
2.2.1. <i>Verbascum</i> cinsi hakkında genel bilgiler	10
2.2.2. <i>Verbascum</i> cinsi ile yapılan etnobotanik çalışmalar	12
2.3. Çalışmada Kullanılan Bitki <i>Verbascum armenum</i> Boiss. et Kotschy var. <i>armenum</i> Boiss. et Kotschy	14
2.4. Bitkide Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler	15
2.4.1. Glikozitler	15
2.4.2. Alkaloidler	16
2.4.3. Terpenler	16
2.4.4. Uçucu yağlar	16
2.4.5. Fenolik bileşikler	17

	Sayfa
2.5. Antimikrobiyal Aktivite	18
2.5.1. Antimikrobiyal aktivite araştırılmasında kullanılan mikroorganizmalar	22
2.6. Antioksidan Aktivite	29
2.7. DNA Etkileşimi	31
3. MATERYAL METOT	37
3.1. Materyaller	37
3.1.1. Bitkisel materyal	37
3.1.2. Mikroorganizmalar	39
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler	40
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	40
3.2. Metotlar	40
3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması	40
3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi	41
3.2.3. Bitki özütlerin antioksidan etkilerinin belirlenmesi	43
3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi	44
4. DENEYSEL BULGULAR	45
4.1. Özütlerin % Verimleri	45
4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri	45
4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi	45
4.2.2. Özütlerin minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) ve minimum bakteriyel konsantrasyon (MBK) değerleri	51
4.3. Antioksidan Sonuçları	52
4.3.1. DPPH radikalini süpürücü etki	52
4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini	53
4.4. DNA Etkileşimi	54

5.SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	70

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Ülkemizde kullanılan tıbbi bitkiler.....	8
Çizelge 2.2. Türkiye florasında belirlenen endemik taksonların cinslere göre dağılımı	11
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan <i>V. armenum</i> bitkisinin özüt verimliliği	45
Çizelge 4.2. <i>V. armenum</i> bitkisinin metanol özütünün agar difüzyon yöntemi ile çalışılmasıyla elde edilen inhibisyon zon çapları (mm cinsinden ölçüm)....	46
Çizelge 4.3. <i>V. armenum</i> bitkisinin etanol özütünün agar difüzyon yöntemi ile çalışılmasıyla elde edilen inhibisyon zon çapları (mm)	48
Çizelge 4.4. <i>V. armenum</i> 'un etanol ve metanol özütlerinin MİK değerleri (mg/ml)	51
Çizelge 4.5. <i>V. armenum</i> 'un etanol ve metanol özütlerinin MBK değerleri (mg/ml) ...	51
Çizelge 4.6. <i>V. armenum</i> özütlerinin radikal etki değerleri (% inhibisyon)	52
Çizelge 4.7. <i>V. armenum</i> özütlerinin IC50 değerleri (µg/ml)	52
Çizelge 4.8. <i>V. armenum</i> özütlerinin GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (µg GAE/mg özüt)	53

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Antibiyotiklerin keşif süreci	18
Şekil 2.2. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları.....	19
Şekil 2.3. Antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları	20
Şekil 2.4. Antifungal ilaçların etki mekanizması.....	21
Şekil 2.5. DNA'nın Watson-Crick baz eşleşmesi modeli.....	32
Şekil 2.6. DNA madde bağlanma şekilleri	34
Şekil 4.1. Özütlere ve BHT'nin DPPH süpürücü aktivitelerinin IC ₅₀ değerleri (µg/ml)	53
Şekil 4.2. Bitki özütlere fenolik içerik miktarları (µg GAE/mg özütle)	54

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Verbascum armenum</i> Boiss. & Kotschy var. <i>armenum</i> arazi fotoğrafı	14
Resim 2.2. <i>B. subtilis</i> bakterisinin SEM görüntüsü.....	22
Resim 2.3. <i>E. coli</i> bakterisinin SEM ve TEM görüntüsü.....	23
Resim 2.4. <i>S. aureus</i> 'un ışık mikroskobu görüntüsü ve SEM görüntüsü	24
Resim 2.5. Solunum epitelyum silleri üzerine yapışmış <i>P. aeruginosa</i> bakterilerinin SEM görüntüsü	25
Resim 2.6. <i>K. pneumoniae</i> bakterisinin Mac Conkey agar petrisi üzerindeki kolonileri	27
Resim 2.7. <i>C. albicans</i> mayasının SEM görüntüsü.....	28
Resim 3.1. <i>Verbascum armenum</i> subsp. <i>armenum</i>	38
Resim 3.2. <i>Verbascum armenum</i> subsp. <i>armenum</i> bitkisinin kök ve yapraklarının kurutulmuş herbaryum örneği	38
Resim 3.3. <i>Verbascum armenum</i> subsp. <i>armenum</i> bitkisinin çiçeklerinin kurutulmuş herbaryum örneği	39
Resim 4.1. <i>Verbascum armenum</i> bitkisinin metanol özütlerinin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdıkları inhibisyon zonları.....	49
Resim 4.2. <i>Verbascum armenum</i> bitkisinin etanol özütlerinin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdıkları inhibisyon zonları.....	50
Resim 4.3. Bitki özütü ve plazmit DNA inkübasyonunun agaroz jel elektroforezi.....	55

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 2.1. Türkiye florasında belirlenen 2900 endemik taksona ait 9677 lokasyonun dağılımı.....	9
Harita 3.1. Türkiye endemik bitkilerinin bölge, bölüm ve kareleme sistemine göre dağılımı	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

g	Gram
mbar	Milibar
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

Açıklamalar

BHT	Bütillenmiş Hidroksi Tolüen
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	Difenilpikrilhidrazil
FDA	Food and Drug Administration
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
TAE	Tris asetat EDTA
WHO	World Health Organization

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler, hemen hemen tüm toplumlarda ilaç olarak kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda geleneksel tıptan yararlanma küresel ölçekte artmıştır. Gelişmekte olan fakir ülkeler kadar, alışlagelmiş sağlık hizmetlerinden faydalanan gelişmiş ülkelerde de geleneksel tıp kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü yayınladığı verilerde, dünya nüfusunun yaklaşık yüzde %80'inin bitkisel tıptan yararlandığını belirtmektedir (Tadeg ve diğerleri, 2005).

Şifalı bitkilerin bu denli rağbet görmesinin birden fazla nedeni bulunmaktadır. Doğal kaynaklı olmayan ilaçlar, insan vücudunda istenmeyen ve tahmin edilemeyen bazı yan etkilere neden olmaktadır. Bitkisel kaynaklı ilaçların çok eski dönemlerden itibaren kullanılıyor olması, yan etkileri hakkında detaylı bilgiye ulaşmamızı sağlamıştır. Ayrıca bitkisel drogların birden çok etkisi bulunurken, yapay ilaçlar genel olarak tek tip bir etki göstermektedir. Bu durum sentetik ilaçlardan yeterli verim almayı engellemektedir (Ertürk ve Demirbağ, 2003).

Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü özellikleri, 1926 yılından itibaren laboratuarlarda araştırılmaya başlanmıştır (Vonderbank,1949). Antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler ise 1930'lu yıllarda saflaştırılmıştır. Antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmasından sonra enfeksiyon hastalıklarının tamamen ortadan kalkacağı düşünülmüştür. Fakat ilerleyen süreçte gelişigüzel kullanılan antibiyotikler, patojen bakterilerin direnç kazanmasına neden olmuştur. Çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin varlığı, halihazırda kullanılan ilaçların etkilerini sınırlandırmakta ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde başarısızlığa neden olmaktadır. Ayrıca antibiyotiklere dirençli yeni suşların ortaya çıkması, yeni hastalıkları da beraberinde getirmiştir. Metisilin dirençli stafilokoklar, makrolit ve penisilin dirençli pnömokoklar, vankomisin dirençli enterokoklar ve çoklu ilaç direncine sahip Gram negatif bakteriler; antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalara örnek olarak gösterilebilir (Sibanda ve Okoh, 2007).

Bilim adamları antibiyotiklere direnç kazanan bakterilere karşı, tıbbi bitkilerden yeni antimikrobiyal ajanlar bulmaya yönelmişlerdir (Al-Bayati ve Sulaiman, 2007). Yapılan çalışmalarla çeşitli tıbbi bitkilerin kök, yaprak, tohum, çiçek gibi parçalarının

antimikrobiyal özellikleri belgelenmiştir (Vaghasiya, Sumitra ve Chanda, 2007). Yüksek yapılı bitkiler, farklı biyolojik aktiviteye sahip binlerce kimyasal madde üretirler. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal aktiviteli bileşikler klinik olarak önem arz etmektedir. Bu bileşiklerin bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisinin günümüzde kullanılan antibiyotiklerden farklı bir mekanizma ile sağlandığı düşünülmektedir (Eloff, 1988). Ayrıca medikal olarak kullanılan modern ilaçların %50'sinden fazlası doğal ürünlerden üretilmiştir (Kuddus ve diğerleri, 2013).

Gıdaların işlenmesi ve paketlenmesi sırasında serbest radikaller lipid oksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid oksidasyonları yiyeceklerin bozulmasının en önemli sebeplerden biri olarak görülmektedir. Bu yan etkiyi ortadan kaldırmak için sentetik antioksidanlardan faydalanılmaktadır. Kullanımı yaygın olan sentetik antioksidan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ile yapılan çalışmalarda, BHT'nin farelerde akciğer hasarına, karaciğer nekrozuna, kanamadan kaynaklı ölüme, neoplaziye neden olduğu gösterilmiştir (Candan ve Sökmen, 2004). Bu gibi nedenlerle sentetik antioksidanların kullanılması yasalarla kısıtlandırılmıştır (Albayrak, Aksoy ve Hamzaoglu, 2008). Bitkiler birçok doğal antioksidan aktiviteye sahip bileşik içermektedir. Lipid oksidasyonunu bitkilerin doğal antioksidan bileşikleriyle önleme amaçlı araştırmalar yapılmaktadır.

Meyve, kök ve yapraklardan elde edilen bazı doğal bileşiklerin düzenleyici ksenobiyotik etkisinin bulunduğu *in vivo* ve *in vitro* deneylerle gösterilmiştir (Tsukagoshi, Ohashi 1974). Bu bileşiklerin antimutajenik ve antikarsinojenik etkilerini tanımlamak ve karakterize etmek, insanlarda kanser gelişimini azaltan önemli bir strateji olarak görülmektedir. Bitkilerden elde edilen bazı biyoaktif bileşikler ve onların türevlerinin karsinogenezi başlangıç aşamasında, gelişim aşamasında ve yayılım fazında da inhibe ettiği deneysel çalışmalarda gözlenmiştir. Yapılan araştırmalar bitki ikincil metabolitlerinin, kimyasalların zararlı etkilerini önleyici aktivitesinin altını çizmektedir (Horn ve Vargas, 2003).

Hastalıkların tedavisinde halk arasında kullanılan bitkiler ile ilgili araştırmalar yapmak büyük önem arz etmektedir. İnsanlar üzerinde binlerce yıldır denenerek elde edilen bilgiler bilim adamlarına yol göstermektedir. Tıbbi kullanımı ile ilgili herhangi bir verinin olmadığı bitkilerde etken madde aramak yerine, halkın hastalık tedavisinde kullandığı

bitkilere çalışmalarda öncelik vermek daha verimli sonuçlara ulaşmayı sağlayacaktır (Sadıkoğlu,1998).

Bu tez çalışmasında ülkemiz için endemik olan *Verbascum armenum* var. *armenum* bitkisinin biyolojik aktivitesini araştırmak amaçlanmıştır. Literatürde bu bitki türü üzerine yapılmış herhangi bir biyolojik aktivite çalışması bulunamamıştır. Bu nedenle bitkinin antimikrobiyal, antioksidan etkisi ve DNA ile etkileşimin incelenmesi amaçlanmıştır. Metanol ve etanol özütlerinin *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterileri ve *Candida tropicalis* NRRL Y-1296, *Candida krusei* ATCC 62586, *Candida albicans* ATCC 1021 mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki, agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Mikroorganizmalar üzerinde etkili olan özütlerin, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri çalışılmıştır. Antioksidan etkileri ise 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali süpürücü aktivitesi ve Folin-Ciocalteu reaktifli fenolik içerik tayini yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır. Agaroz jel elektroforezi yöntemi metanol özütü ile plazmid DNA arasındaki etkileşiminin belirlenmesi için kullanılmıştır.

2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tıbbi Bitkilerin Tarihçesi

Bitkilerin sınıflandırmasında; familyaları, içerdikleri etken maddeleri, kullanım alanları, farmakolojik etkileri göz önünde bulundurulmaktadır. Etken maddeye göre yapılan gruplandırma ise en sık kullanılan sınıflandırmadır. Dünya genelinde modern ve geleneksel tıp kapsamında 50 000 – 70 000 civarında bitki türünün kullanıldığı bilinmektedir (Korkmaz ve Karakurt, 2014).

Bitkilerin tıbbi kullanımına dair en eski kanıtlara, Hakkari'nin 40 km güneyindeki Shanidar Mağarası'nda yapılan ve 50 000 yıl öncesinde yaşayan ilk Neanderthal insanın mezarında yapılan araştırmalarla ulaşılmıştır. Mezarda bulunan çiçek demetleri ve bitki parçaları ile yapılan polen analizleri sonucunda bu bitkilerin bölgede halen kullanılan tıbbi bitkilerle aynı oldukları saptanmıştır. M.Ö. 3000 yıllarında yazılan Asur ve Sümer tabletlerinde bahsedilen tıbbi bitkilerin, günümüzde kullanılan tıbbi bitkilerle aynı oldukları görülmektedir. Benzer bir durum M.Ö. 1500 yıllarında yazılan Hitit tabletlerinde de saptanmıştır (Mat, 2010: 1).

M.Ö. 1550 yılları civarında yazıldığı düşünülen, ve bir mumyanın bacakları arasında bulunmuş olan Eber papirüslerindeki bilgiler Antik Mısır Dönemi'ndeki tıbbi bitkilerin kullanımı hakkında bilgi vermektedir. Yaklaşık 800 adet bitkiden bahseden belgede, ayinler esnasında ve mumyalama işleminde bitkilerin kullanımlarından bahsedilmekte, açık yaraların üzerine küflü ekmek konulması önerilmektedir. Yaklaşık olarak iki bin beş yüz yıl sonra bu uygulamanın doğruluğu, Sir Alexandar Fleming tarafından 1928'de tesadüf eseri küflü ekmeğin kuvvetli bir antibiyotik olduğunun keşfedilmesi ile kanıtlanmıştır (Baydar, 2006: 8). Firavunların mezarı olan piramitlerin yapımı sırasında çalışmış işçilerin mikrobiyal kaynaklı hastalıklardan korunmak için sarımsak, soğan tükettiği bilinmektedir (Asımgil, 2009: 7). 150'ye yakın kitabı bulunan Hipokrat kitaplarında 400 bitkiden bahsetmektedir. Antik Yunan Uygarlığı Dönemi ve İslam Uygarlığı dönemi arasında kalan uzun zaman dilimi tıp dünyası için karanlık çağ olarak kabul edilmektedir. İslam ülkelerinde 9. yüzyılda tıp mektepleri açılmış 10. yüzyılda ise İslam İlimler Akademisi kurulmaya başlanmıştır (Baydar, 2006: 9).

Bu dönemde yaşamış ünlü bilim adamları Biruni ve İbn-i Sina'dır. 973'te Türkmenistan'da doğan Biruni çeşitli dallarda 100'den fazla kitap yazmıştır. 'Al-Saydalafi al-Tıp' isimli kitabında 200 civarı bitkisel kaynaklı ilaçta ismi bulunmaktadır. İbn-i Sina 980 yılında Buhara'da doğmuştur. 100'e yakın eser vermiştir. Bu eserlerden biri olan 'Tıp Kanunu' isimli yazdığı eserde 800 civarı bitkisel ve hayvansal ilaçtan bahsetmiş, ilaçların hazırlanma ve kullanım aşamalarını açıklamıştır. Bu kitap 17. yüzyıla kadar Avrupa'daki tıp okullarında temel referans kitabı olarak okutulmuştur (Asımgil, 2009: 10).

Uygur Tıbbı, hastalıklarla mücadele anlamında derin tecrübeye sahip çalışkan Uygur halkının bilgeliğinin bilimsel bir özetidir. Geleneksel Çin tıbbı içinde, Uygur tıbbı zengin pratik deneyimi ve eşsiz teşhis-tedavi yöntemleri ile bir hazine olarak betimlenir. Uygur tıbbının köklü bir geçmişi vardır. Kayıtlarda 1000'den fazla Uygur tıbbi bitkisi vardır ve bunların yaklaşık 450 tanesi sıklıkla kullanılmaktadır. Birçok Uygur ilacı bitkilerden yapılmaktadır. Uygur insanları, gül, lavanta, vanilya, aspir, kişniş, hindiba, karanfil, kakule gibi aromatik bitkileri kullanmakta mahirlerdir. Yüksek oranda uçucu yağ veya reçine içeren bitkilere aromatik bitki denilmektedir ve bu bitkiler ilaç olarak, baharat olarak, sağlık ve kozmetik amaçlı, güve kovucu olarak, tazeleyici ve hava temizleyici olarak kullanılmaktadır. Uygur halkı bu bitkileri çok eski zamanlardan beri kullanmaktadır (Zhao ve diğerleri, 2017).

Selçuklu Devleti Dönemi'nde tam teşekküllü sağlık tesisleri kurulmuştur. Bu tesislerin en güzel örneği Kayseri'de kurulan Gevher Nesibe Sultan Şifaiyesi'dir. Selçuklu ordularında kullanılan seyyar hastane sistemi insan sağlığına verilen önemin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Osmanlı Devleti Dönemi'nde de hekimlik sahasında gelişmeler kaydetmiştir. Fatih Sultan Mehmed'in öğretmenliğini de yapmış olan Akşemseddin, tıbbi bitkilerle de ilgilenmiş ayrıca hekimlik yapmıştır. İstanbul'un fethi akabinde Fatih Sultan Mehmet Külliyesi bünyesine ilk olarak darüşşifa inşa edilmiş, tıp medreseleri Kanuni Sultan Süleyman idaresi ile geçen zamanlarda ise gelişmiştir (Asımgil, 2010: 11).

Bilimin ilerlemesi ile bitkilerin şifalı etkilerinin kaynağı olan etken bileşikler üzerinde çalışmalar artmıştır. Bu alandaki ilk keşif Alman eczacı Wilhelm Sertürner tarafından 1805 yılında gerçekleşmiştir. Sertürner afyondan morfini saflaştırmıştır. Zamanla kinin, kodein, striknin, digitoksin gibi başka etken bileşikler keşfedilmiştir ve hastalıkların tedavisinde yeni bir çığır açılmıştır. Öncelikle bu bileşiklerin kimyasal yapıları aydınlatılmış ve

sentezlenmiştir. Kimyasal yapı ve fizyolojik etki arasındaki kuvvetli bağın anlaşılması benzer etkileri gösterebilecek yeni bileşiklerin sentezinin yolunu açmıştır. Bu süreç sonunda günümüz ilaç endüstrisi, etken maddelerinin ve etkilerinin bilindiği, hızlı üretilen sentetik ilaç üretimi üzerine yoğunlaşmıştır. Fakat morfin, digitoksin gibi bazı etken maddeler hala bitkilerden elde edilmektedir (Mat, 2010: 1).

Dünya Sağlık Örgütü, 91 ülkenin tıbbi bitkilerinin araştırılması sonucunda yayınlanmış olan bilgileri derlemiştir. Elde ettiği sonuca göre dünya üzerinde 20 000 kadar bitki tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Fakat bu sayının yalnızca 500 kadarının üretimi tarımsal kaynaklıdır. (Kırbağ ve Zengin, 2006). FAO'nun tahminlerine göre ise tıbbi bitkilerin sayısı 50 000'e ulaşmıştır ki bu rakam dünya üzerindeki tüm bitkilerin % 18,9'una tekabül etmektedir (Safaa ve diğerleri, 2015).

Dünya Sağlık Örgütü kaynaklı bir araştırma sonuçları baz alındığında, kullanılmakta olan ve ticareti yapılmakta olan bitki kaynaklı ilaçların sayısının 1900 civarında olduğu görülmektedir. WHO dünya nüfusunun % 80'inin, Afrika nüfusunun ise % 95'inin tıbbi bitkileri kullanarak tedavi olduklarını tahmin etmektedir (Başer, 1995).

Son 30 yılda dünya çapındaki geleneksel tıp piyasası, bitkisel ürünler ile hatırı sayılır bir büyüme göstermiştir. Tıbbi bitkilerin ihracatının hızla artması bu bitkilere küresel bir ilginin olduğunu kanıtlamaktadır. Uluslararası bitkisel ürün satışlarının 2002'de 60 milyon dolar seviyesine ulaştığı tahmin edilmektedir (Başer, 1995). Ülkemizdeki kullanılan tıbbi bitkiler Çizelge 2.1'de verilmiştir (Doğan ve Avcı, 2018). Buna göre en çok kullanılan tıbbi bitkiler, ısırgan otu, anason, nane, kekik, adaçayı, ökseotu, biberiye, kuşburnu, tarçın vb. gibi bitkilerken, en çok tıbbi bitki kullanılan hastalıklara ise örnek olarak soğuk algınlığı, böbrek hastalıkları, hazımsızlık, stres ve şeker hastalığını verebiliriz.

Çizelge 2.1. Ülkemizde kullanılan tıbbi bitkiler (Doğan ve Avcı, 2018)

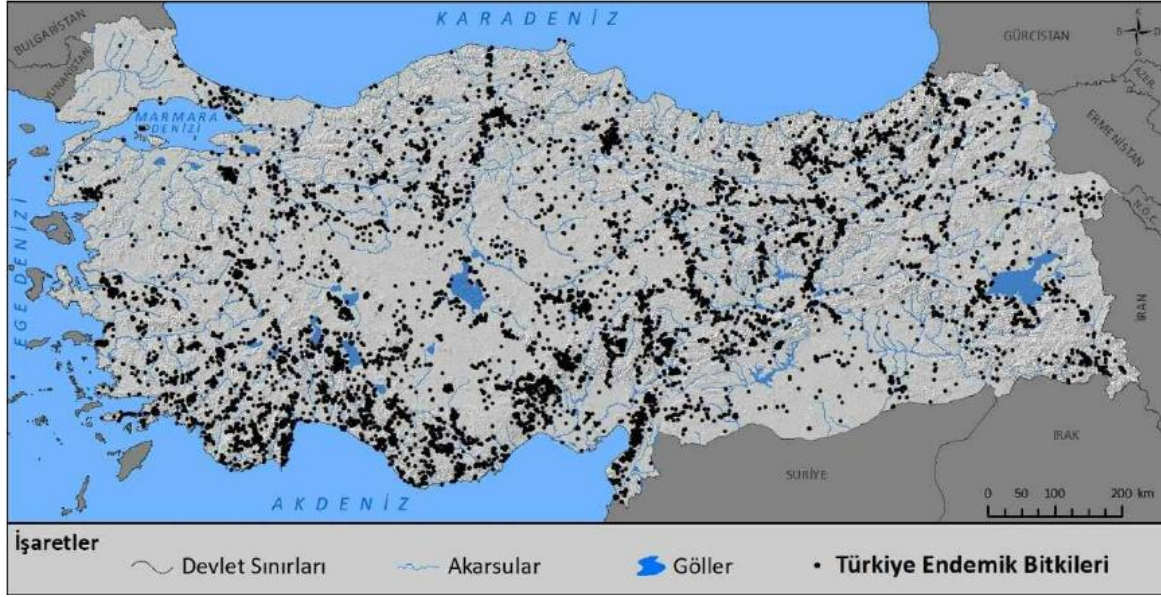
Ülkemizde bazı hastalıklarda kullanılan bitkiler	
Hastalıklar	Bitki türleri
Böbrek hastalıkları	Altınotu, atkuyruğu, ayrıkotu
Hazımsızlık	Anason, dereotu, kimyon, papatya, rezene, zencefil
Kalp rahatsızlıkları	Aliç, ökseotu
Kanserden korunma	Isırganotu, kırmızıbiber, ökseotu
Karaciğer rahatsızlıkları	Enginar, kurtpençesi, zerdeçal
Menopoz	Adaçayı, anason, papatya, tarçın
Prostat büyümesi	Yeşilçay, zerdaçal, ısırganotu kökü
Romatizma ağrıları	Anason, biberiye, karanfil, kekik, lavanta, melisa, papatya
Safra kesesi rahatsızlıkları	Altınotu, civanperçemi, kara hindiba, pelinotu, zerdaçal
Stres, depresyon ve kaygı	Anason, kantaron, lavanta, melisa, papatya, rezene
Unutkanlık	Adaçayı, biberiye, yeşilçay, zencefil
Uyku bozuklukları	Anason, çuha çiçeği, kediotu, melisa, papatya, rezene
Yorgunluk	Adaçayı, biberiye, meyankökü, kakule, kekik, kuşburnu
Kolestrol yüksekliği	Biberiye, kekik, kuşburnu, üzüm çekirdeği, yeşil çay
Glukoz yüksekliği	Kudretnarı, mahlep, tarçın,

Türkiye, bünyesinde bulundurduğu bitki çeşitliliği açısından hayli zengin bir floraya ev sahipliği yapmaktadır. Bu zenginliğin nedenleri, Türkiye'nin üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede yer alması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü vazifesi yapması, pek çok cins ve seksiyonun orjin ve farklılaşma merkezlerinin Anadolu olması, fitocoğrafik ve ekolojik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek olması sayılabilir (Tan, 1992).

Türkiye Florası 174 familyaya ait 1251 cins ve 12 000'den fazla tür ve tür altı taksonu içermektedir. 'Flora of Turkey and the East Aegean Islands' kitabının 9. cildinde bulunan bu rakamlara her geçen gün yeni tür sayıları eklenmektedir. Kitabın 10. cildi 1988 yılında yayınlanmıştır. 2000 yılında yayınlanan 11 ciltten sonra da Aralık 2016 tarihi ile listeye 1196 yeni tür ilave edilmiştir (Özhatay ve Kültür, 2017).

Tüm Avrupa kıtasının toplam 12 000 bitki taksonu içerdiği düşünülürse ülkemizdeki flora zenginliği dikkat çekici bir seviyededir (Şenkul ve Kaya, 2017).

Ülkemizin endemizm oranı da çok yüksektir. Bütün Avrupa ülkelerinde toplam endemik takson sayısı yaklaşık 2750'dir. Ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt türü ve 390 varyete ilave edildiğinde toplam endemik takson sayısı 3750'den fazla bir rakama ulaşmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Ülkemizdeki endemik taksonların ve lokasyonlarının dağılımı Harita 2.1'de gösterilmiştir.



Harita 2.1. Türkiye florasında yer alan 2900 endemik taksonun bulunduğu 9677 lokasyonun dağılımı (Şenkul ve Kaya, 2017)

Türkiye’de tıbbi olarak kullanılmakta bulunan bitkilerin kesin sayısı net olarak bilinmemekle birlikte, 500 kadar olduğu düşünülmektedir. Bu sayının yaklaşık olarak 200 tanesinin tıbbi ve aromatik bitki niteliğinde olduğu ve ihraç edilebileceği belirtilmektedir (Baytop, 1999).

Türkiye’deki zengin flora ve kültürel çeşitliliğe rağmen, etnobotanik bilgi çalışmaları kısıtlı sayıdadır. Anadolu’daki halk tıbbının belgelenmesi ile ilgili en kapsamlı ve sistematik araştırmalar Türk ve Japon bilim adamlarının birlikte çalışması ile 1986 ve 1994 yılları arasında yürütülmüştür (Özüdoğru ve diğerleri 2011).

Ülkemizde ticari önemi bulunan tıbbi bitkiler *Solanaceae*, *Asteraceae* (*Compositae*), *Lamiaceae* (*Labiatae*), *Ranunculaceae*, *Lauraceae*, *Fabaceae* (*Leguminosae*), *Apiaceae* (*Umbelliferae*), *Rutaceae* familyalarına aittir. Tıbbi ve aromatik bitkiler açısından en zengin olan familyalar ise *Apiaceae* (*Umbelliferae*), *Asteraceae* (*Compositae*), ve *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyalarıdır (Baytop, 1999).

2.2. *Scrophulariaceae* Familyası Genel Özellikleri

Dünya genelinde 200'den fazla cinsi ve 3000 kadar türü ile en geniş familyalardan biri olan *Scrophulariaceae* familyası kozmopolit bir familya olup ilk olarak Jussieu tarafından tanımlanmıştır. *Scrophulariaceae* familyası içerisinde bulunan cinsler Kuzey Yarıküre'nin ılıman yerleşim bölgelerinde geniş yayılım göstermektedir. Familyada yer alan *Verbascum* cinsine ait türler, doğal olarak Avrasya'nın birçok bölgesinde yetişmektedir. Ülkemizde *Scrophulariaceae* familyasına ait 30 cins ve 466 tür bulunmaktadır (Seçmen ve diğerleri, 1998).

Scrophulariaceae familyasına ait bitkiler tek veya çok yıllık olabildiği gibi, otsu, çalı veya ağaç formunda olabilirler. Genellikle ototrof olmakla birlikte, yarı parazit veya nadir de olsa tam parazit olan türleri de bulunmaktadır. İnternal floem bulundurmamaktadırlar. (Davis, 1978; Seçmen ve diğerleri, 1998).

2.2.1. *Verbascum* cinsi hakkında genel bilgiler

Verbascum cinsinin sistemikteki yeri şu şekildedir (Davis,1978):

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta (Kapalı Tohumlular)
Sınıf	: Magnoliopsida (Dikotiledonlar)
Takım	: Scrophulariales
Familya	: <i>Scrophulariaceae</i>
Cins	: <i>Verbascum</i>
Tür	: <i>Verbascum armenum</i> Boiss. et Kotschy
Alt tür	: <i>Verbascum armenum</i> Boiss. et Kotschy var. <i>armenum</i> Boiss. et Kotschy

Gen merkezi; bir cinsin dünya üzerinde ilk kez ortaya çıktığı yer olarak kabul edilmektedir. Bitkiler gen merkezlerinden, kendileri için uygun olan dünyanın diğer bölgelerine yayılmaktadırlar. Dünyadaki önemli gen merkezlerinin başında Doğu Asya gelmektedir. *Verbascum* cinsinin gen merkezi ise Türkiye'dir. *Verbascum* dünyada 360 takson yurdumuzda ise 235 tür ve 126 hibridle temsil edilmektedir. Bu taksonlardan 198'i

endemiktir (Kaynak ve diğerleri, 2006). Çizelge 2.2’de Türkiye’deki cinsler arasında endemizm oranının en yüksek olduğu cinsin *Verbascum* cinsi olduğu görülmektedir.

Çizelge 2.2. Türkiye florasında bulunan endemik bitki taksonlarının cinslere göre dağılımı (Şenkul ve Kaya, 2017)

Cins	Tür Sayısı	Cins Lokasyon Sayısı	Cins	Tür Sayısı	Cins Lokasyon Sayısı
<i>Verbascum</i>	174	498	<i>Onosma</i>	46	189
<i>Astragalus</i>	145	455	<i>Campanula</i>	56	153
<i>Centaurea</i>	87	274	<i>Stachys</i>	43	150
<i>Salvia</i>	46	240	<i>Silene</i>	53	148
<i>Alyssum</i>	55	217	<i>Veronica</i>	35	146
<i>Galium</i>	54	209	<i>Scrophularia</i>	35	125
<i>Allium</i>	60	193	<i>Hieracium</i>	59	117
<i>Minuartia</i>	34	112	<i>Achillea</i>	25	107
<i>Asperula</i>	26	112	<i>Dianthus</i>	33	103
<i>Crocus</i>	31	110	<i>Sideritis</i>	37	101

Verbascum cinsi dünyada Kuzey Yarım Küre’nin ılıman kuşağı boyunca yayılış göstermekte olup, birçok türü açık ve kuru alanlarda yetişmektedir. Ülkemizdeki endemik taksonlar daha çok Güney Anadolu ile İç-Doğu Anadolu geçit bölgelerinde bulunmaktadır. Özel habitat seçicilikleri yoktur. Sahil kumları veya tuzlu bataklıklardan, yüksek dağ çayırlıklarına kadar (0-3000 m arası) geniş bir yayılım alanları mevcuttur. Genellikle bol güneşli, açık ve kuru yerlerde daha boldur. Çok farklı kayaç ve topraklar üzerinde yayılış göstermektedir. Cinsin türlerinin habitatları incelendiğinde bunların sıcağa ve soğuğa karşı oldukça dayanıklı oldukları göze çarpmaktadır Bu bilgiler doğrultusunda bitkinin geniş ekolojik hoşgörülülüğü olduğu görülmektedir (Yüce, 2003).

Verbascum türleri yaklaşık 1,5 m’ye kadar boylanabilen, bir, iki veya çok yıllık otsu, nadiren çalı biçiminde bitkiler olup; alternan veya nadiren opozit, basit veya parçalı yapraklı, taban yaprakları rozet oluşturmuştur. Bitki çıplak, guddeli veya guddesiz tüylü, basit veya dallanmış tüylüdür. Çiçekler uçta rasemoz, spika veya panikula durumundadır. Kaliks eşit veya nadiren eşit bölünmemiştir. Korolla sarı, nadir olarak menekşe veya mor, kahverengi veya sarımsı veya mavimsi yeşildir, aktinomorf veya bazen zigomorftur. Stamenler 4 veya 5 tane olup bazen stamenlerin 1’i verimsiz 4’ü verimlidir. Filamentler ince, uzun, yumuşak tüylü, sarımsı veya mor menekşe renkli tüyler ile kaplı, veya nadiren

çıplaktır, hepsi eşit veya öndeki iki tanesi daha uzun ve daha incedir. Arkadaki 2 veya 3 stamenin anterleri her zaman reniform ve enine ortadan bağlıdır. Öndeki 2 stamen benzer veya boyu eninden uzun, boyuna bağlı, aşağı doğru ilerleyici veya nadiren meyilli bağlıdır. Stillus tek, basit ip şeklinde veya hemen hemen çomak şeklinde, stigma yarı küremsi obovat veya spatulattır. Kapsüller, septumlar boyunca yarılan, küremsi, oblong-ovoid veya silindirikdir. Tohumlar çok sayıda, küçük, Türkiye’de bulunan türlerde ters koni veya prizma şekilde, enine çukurludur (Davis, 1978).

Verbascum cinsi halk arasında sığırkuyruğu, sığırcık kuyruğu, kuzukulağı, yılan yastığı, balık bitkisi gibi isimlerle tanınmaktadır (Karavelioğulları 2004).

2.2.2. *Verbascum* türleri ile yapılan etnobotanik çalışmalar

Özüdoğru ve diğerleri (2011), 300 kişi ile yüz yüze bilgi toplama yöntemi ile yaptıkları etnobotanik çalışmada Sivas ve Yozgat’tan toplanan *Verbascum speciosum*, *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium*, *Verbascum vulcanicum* var. *vulcanicum* türlerinin rahim iltihabına, nefes darlığına, saç dökülmesine, kaşıntıya karşı iyileştirici etkisinin olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca bu bitkilerin yaprakları boya maddesi olarak da kullanılmaktadır.

Safaa ve diğerleri (2015), yaptıkları etnofarmakolojik araştırmada aktarlardan, geleneksel şifacılarından, köy halkından bilgi toplamışlardır. *Verbascum cedreti* Boiss kök ve yapraklarının dekoksasyon yöntemi ile kullanıldığında kabızlık, iltihap, öksürük ve soğuk algınlığını tedavi ettiği bilgisine ulaşılmıştır. Ayrıca bitkiden zehirlenme durumlarında panzehir olarak yararlanıldığı bildirilmiştir. *Verbascum libanoticum* yapraklarının ve çiçekli parçalarının, deri ülserlerine, hemoroide, akciğer hastalıklarına iyi geldiği bilgisine ulaşılmıştır.

Tuzlacı ve Erol (1999), yaptıkları etnobotanik çalışmada *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* ve *Verbascum chrysochaete* türlerinin ekzema, romatizma, kulak ağrısı, menstrüal ağrı ve hemoroid tedavisinde kullanıldığı bilgisine ulaşmışlardır.

Amenta ve diğerleri (2000), *Verbascum sinuatum* bitkisi ile yapılan çalışmada dekoksasyon yöntemi kullanılmıştır. Bitki %10’luk alkol-su çözeltisi içinde kaynatılmış ve süzölmüştür.

Bu ekstre ile sedef hastalarının hastalık nedeni ile etkilenmiş bölgeleri günde 2-3 defa 3-6 sürecinde ovulmuş ve ilk 20-25 gün içerisinde iyileşme belirtileri gözlenmiştir.

Kozan ve diğerleri (2011), *Aspiculuris tetraptera* paraziti ile enfekte olmuş ratlar ile yapılan *in vivo* araştırmada, *Verbascum mucronatum*, *Verbascum salviifolium*, *Verbascum latisepalum*, *Verbascum dudleyanum*, *Verbascum pterocalycinum* var. *mutense*, *Verbascum lasianthum*'un metanol ekstreleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda bu bitkilerin *A. tetraptera* üzerinde antihelmintik etkisinin olduğu bulunmuştur.

Pardo (2004), Yapılan çalışmada *V. virgatum*'un etanol ekstresinden izole edilen iridoid glikozitlerin arpa (*Hordeum vulgare*) tohumlarının çimlenmesini engellediği bulunmuştur.

Korkmaz ve Karakurt (2014), yaptıkları etnobotanik çalışmada Kelkit aktarlarında satılan ve halkın tıbbi amaçlarla kullandığı bitkileri ilçede bulunan iki aktarla ve ilçede yaşayan vatandaşlarla görüşerek belirlemişlerdir. Bu çalışma verilerine göre *Verbascum armenum* türü yöre halkı tarafından sığırkuyruğu adı ile bilinmektedir. Dal, gövde ve çiçekleri tıbbi amaçla çayı demlenerek kullanılmaktadır. Bitki iltihap kurutucu ve balgam söktürücüdür. Astım ve bronşit tedavisinde kullanılmakta, migrene ve baş ağrısına iyi gelmektedir.

Verbascum türlerinin kullanım alanları

Çok eski zamanlardan beri sığırkuyruğu tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Yaprakları ve çiçeklerinin astım, bronşit, kuru öksürük, boğmacalı öksürük, verem ve ses kısıklığı gibi solunum sistemi hastalıklarına karşı balgam söktürücü ve rahatlatıcı bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Tyler, 1993).

Sığırkuyruğunun balgam söktürücü özelliğinin içerdiği saponinlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Tyler, 1993) Bitkinin diüretik olduğu ve üriner sistem üzerine anti-inflamatuvar ve rahatlatıcı bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. Çiçeklerinden üretilen yağ; kulak ağrıları için ayrıca haricen uygulama ile ekzema ve diğer tip iltihaplı deri rahatsızlıklarına karşı kullanılmaktadır (Yarnell, 1997).

Sığırkuyruğunun kanamayı durdurucu özelliği bulunmaktadır. Ayrıca hemoroid ve ishal tedavisinde kullanılmaktadır. Zatürre, ateş, alerji, migren, tümör oluşumu, boğaz hastalıkları, tonsilit, deri hastalıkları, nezle ve kolit için yerel ilaç olarak kullanılmaktadır.

Tavuk embriyolarındaki nezleye karşı antiviral etkisinin olduğu belirtilmiştir (Camper ve Turker, 2002).

Türkiye’de yaygın olan *V. sinuatum* türü gibi bazı sığırkuyruğu türlerinin tohumları taşıdıkları bir saponinden dolayı, balıklar için zehirlidir. Bu bitkinin tohumları biraz et ile ezilerek balıklara yem olarak atıldığında uyuşmuş balıklar el ile toplanmaktadır (Baytop, 1999).

2.3. Çalışmada Kullanılan Bitki *Verbascum armenum* Boiss. et Kotschy var. *armenum* Boiss. et Kotschy

İki yıllık, ot yapılı bu bitkinin çiçeklenme dönemi haziran ağustos ayları arasındır. Habitatı; nehir kenarları, otlaklar, *Pinus nigra* ormanlarıdır. İran-Turan elementi içinde bulunan bitki endemiktir ve 1600-2600 m yükseklikte yayılış göstermektedir. Resim 2.1.’de bitkinin arazideki fotoğrafı görülmektedir.



Resim 2.1. *Verbascum armenum* Boiss. & Kotschy var. *armenum* arazi fotoğrafı (Behçet ve Yazar, 2019)

Dal, gövde ve çiçekleri tıbbi amaçla çayı demlenerek kullanılmaktadır. Bitki iltihap kurutucudur bu nedenle astım, bronşit gibi hastalıklarda balgam söktürücü etkisi bulunmaktadır. Apse, çiban gibi yaralara, migren ve baş ağrısına iyi geldiği bilinmektedir (Korkmaz ve Karakurt, 2014).

2.4. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler

Organizmalarda değişime uğrayan bileşenlere metabolit denilmektedir. Bitkilerde metabolitler birincil ve ikincil metabolitler olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil metabolitler örneğin proteinler, karbonhidratlar, nükleotidler tüm hücrelerde bulunmaktadır ve değişik fonksiyonlara sahiptir. İkincil metabolitler bitkinin tüm hücrelerinde bulunmaz ve hayati fonksiyona sahip değildir. Şu anda 100 000'in üzerinde ikincil metabolit tanımlanmıştır ve bu sayının artması beklenmektedir. İkincil metabolit sayısının bir milyonun üzerinde olduğu düşünülmektedir (Mammadov, 2014: 1).

Birincil metabolitler bitkiler alemindeki tüm bireylerde bulunurken ikincil metabolitler her bitkide bulunmaz. İkincil metabolitler sadece belli tür ya da yakın türlerde bulunmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008: 285).

Yüksek bitkilerde, çeşitli bilimsel ve teknolojik uygulamaların ham maddesi olarak kullanılan alkaloid, terpen, fenolik bileşik, glikozitler gibi organik kimyasallar bulunmaktadır. Fitokimyasallar olarak adlandırılan doğal bitki ürünleri birçok endüstride sektörü içinde doğrudan ya da dolaylı olarak işlev görmektedir. Özellikle yağlar, doğal plastikler, taninler yapışkanlar, bal mumu, bazı doğal boyalar, saponinler ilaçların kaynağı olarak kullanılmaktadır. Günümüzde ilaç endüstrisinde yararlanılan önem arz eden bitki bileşikleri salisin, morfin ve taxoldür (Mammadov, 2014: 1). İkincil metabolitler glikozitler, alkaloidler, terpenler, uçucu yağlar, fenolik bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır.

2.4.1. Glikozitler

Glikozitler bir veya birden fazla şeker molekülü ve şeker olmayan bir gruptan oluşmaktadır. Enzim veya asitlerin etkisi ile glikozitler bahsedilen alt birimlerine ayrılabilir. Glikozitlerin şeker kısmı maddenin suda çözünürlüğünü artırırken, tedavi edici etki şeker olmayan kısımda gözlenmektedir. Bitkilerde bulunan glikozitlerin birçoğunda tedavi edici etki bulunmadığı düşünülmektedir. Buna karşın kalp kuvvetlendirici olarak kullanılan yüksük otu yaprağı glikozitlerinin (digitalin gibi) yüksek farmakolojik etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Baytop, 1999: 20, 22).

2.4.2. Alkaloidler

Yapılarında azot bulunduran bazik bileşiklere alkaloid denilmektedir. Genellikle renksizdirler ve katı halde bulunurlar. Asitler ile tuz oluştururlar ve tuzları suda çözünür. Alman eczacı Sertürner tarafından 1803 yılında elde edilmiş olan morfin bitkilerden elde edilen ilk alkaloidtir. Alkaloidler küçük dozlarda kuvvetli şekilde etki gösteren bileşiklerdir. Güncel olarak tıbbi alanda birçok alkaloid (kodein, morfin, atropin, kokoin vs.) kullanılmaktadır (Baytop, 1999: 20, 22).

2.4.3. Terpenler

Terpenler ya da terpenoitler, ikincil metabolitlerin en geniş sınıfını oluşturur. Terpenler genellikle suda çözünmez. Biyosentezleri glikolitik ara ürünler üzerinden gerçekleşir. Bitkiler tarafından sentezlenen farklı terpen bileşiklerinin birçoğunun bitkinin savunmasında işlev gördüğü düşünülmektedir. Toksik etkiye sahip terpenler bitkiyle beslenen birçok memeli ve böcekler üzerinde caydırıcı etki yapmaktadır. Örneğin, krizantem (*Chrysanthemum*) türlerinin yaprak ve çiçeklerinde üretilen piretroitler olarak bilinen monoterpen esterler böcek öldürücü aktivite göstermektedir. Memeliler üzerinde çok az seviyede toksisite göstermeleri sebebiyle, doğal ve sentetik piretroitler ticari olarak satılan böcek öldürücülerin yapısında kullanılmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008: 287).

2.4.4. Uçucu yağlar

Uçucu yağlar terpenlerden yapılmış karışımlardır. Suda çözünmeyen, organik çözücülerde kolaylıkla çözünebilen maddelerdir. Genel olarak sıvı haldedir ve kuvvetli kokuya sahiptir. Çiçek ve meyvelerde bol miktarda bulunur; su buharı distilasyonu, organik çözücülerde çözme ve sıkma yolu ile elde edilebilirler (Baytop, 1999: 22).

Doğada bulunan 300 civarı bitki familyasının yaklaşık üçte birinde uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağ miktarları en fazla olan familyalar; *Rutaceae*, *Pinaceae*, *Laureaceae*, *Apiaceae* (*Umbelliferae*), *Asteraceae* (*Compositae*), *Piperaceae*, *Chenopodiaceae*, *Verbenaceae*, *Irriaceae*, *Myrtaceae*, *Laminaceae* (*Labiatae*), *Brassicaceae*, *Zingiberaceae* ve *Ranunculaceae*'dir. Bazı familyalar uçucu yağ kaynağı olarak önemli bir değere sahiptir. Örneğin *Labiatae* familyasında bulunan *Thymus*,

Lavandula, *Melissa*, *Mentha* türleri değerli uçucu yağlara sahiptir ve birçok Akdeniz ve Avrupa ülkesinde üretimi yapılmaktadır (Ceylan, 1996).

Bugüne kadar 2000'den fazla kimyasal maddenin uçucu yağlarda bulunduğu tesbit edilmiştir. Bu maddelerden en çok önem arz edenleri terpenler fenilpropanlardır. Ayrıca azot ve kükürt gibi uçucu maddeleri su buharında taşıyan birçok bileşen bulunmuştur. Farklı fizyolojik etki mekanizmalarında rol oynamaları nedeni ile bu maddeler tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Ceylan, 1987).

2.4.5. Fenolik bileşikler

Birçok bitkinin yapısında, fenol grubu aromatik halkasında işlevsel bir hidroksil grup içeren kimyasallar taşıyan ikincil metabolitler bulunmaktadır. Bu metabolitler fenolik bileşikler olarak adlandırılırlar ve bitkilerde yaklaşık 10 000 çeşit fenolik bileşik bulunmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008: 290).

Bitkilerde bulunan fenolik maddeler fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik bileşikler bitkilerden yapılmış pek çok gıdanın aromasının ve tadının oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Özellikle gıdalarda tadılan acılık ve burukluğun kaynağıdır. Flavonoidlerin karbon iskelet yapısı, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesiyle oluşmuş ve 15 karbon atomu içeren difenilpropan (C6-C3-C6) yapısındadır. Yaklaşık 6500 farklı flavonoid bilinmektedir. Flavonoidlerle bazıları bitkilerde renk maddesi olarak görev yapmaktadır. Örneğin antosiyaninler doğal renk maddeleridir ve sebzeler ve meyvelerin mor, pembe, mavi, kırmızı, renklerinin oluşmasından sorumludur (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

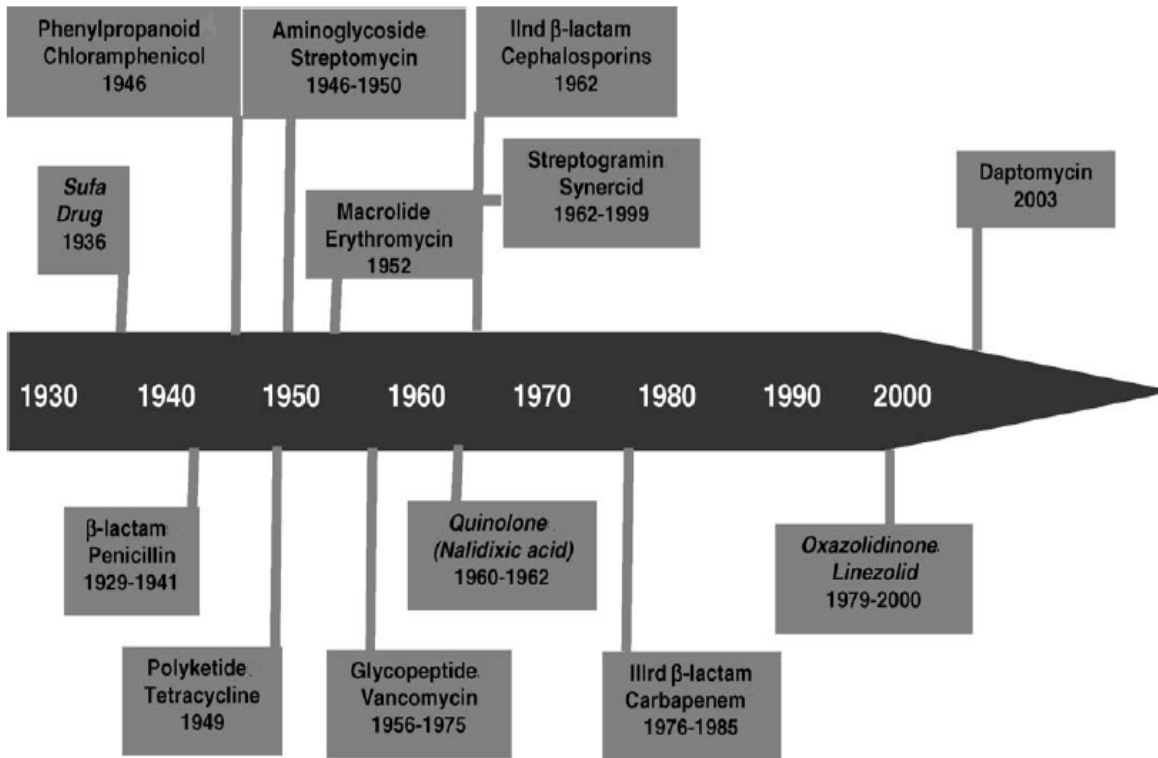
Tanenler fenol yapısındaki katı bileşiklerdir ve suda çözünürler. Bitkiler aleminde çok yaygın bulunan tanenler özellikle kabuklarda bulunmaktadır. Meşe mazısı ve meşe palamudu tanen bakımından çok zengindir. Tedavi ve deri sanayinde kullanılan tanen, bu bitkilerden elde edilir. Tanenler antiseptik özelliğe sahiptirler (Baytop, 1999).

Uzakdoğu ülkelerinde sıklıkla tüketilen ve yüksek tanen içeriğine sahip olan yeşil çayın mide tümörlerinin oluşumunu engellediği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda tanenlerin antimutajen madde olduğu

gösterilmiştir. Antimutajenik ve antikanserojen etkinin antioksidan etki nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Ergezer ve Çam, 2008).

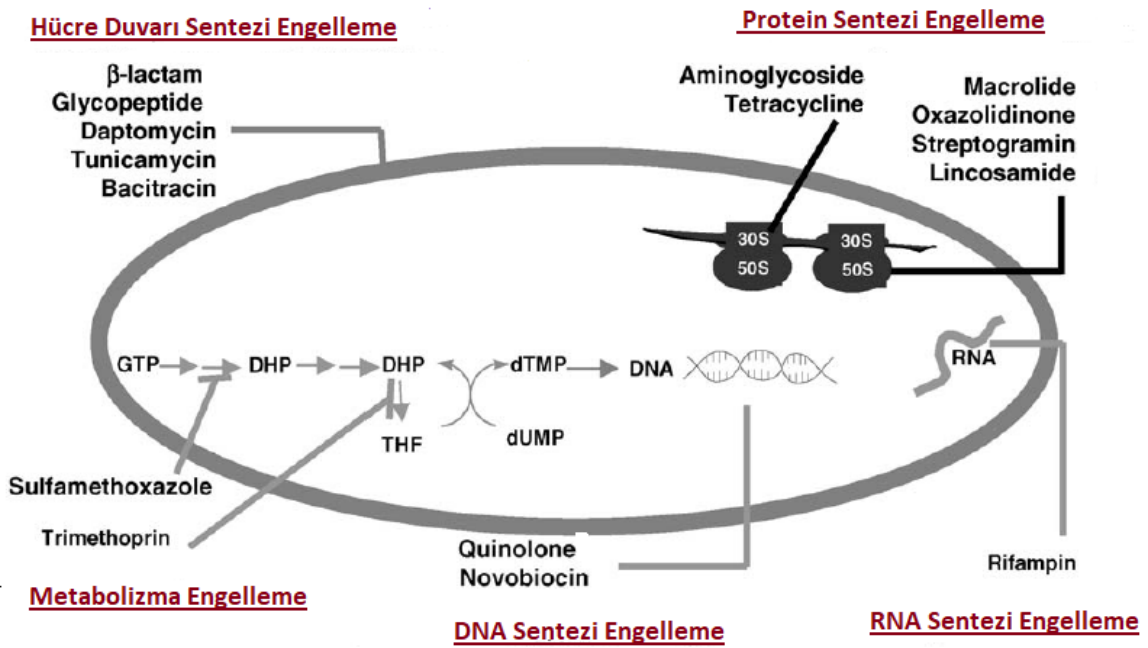
2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobial madde canlılar tarafından üretilen ve seyreltik çözeltilerde dahi bakterisit ve bakteristatik etki gösteren maddelerdir. 1929 yılında Alexander Fleming tarafından ilk kez mikroorganizmaların çoğalmasını önleyen madde olan penisilin bulunmuştur. Boris Ernst Chain, Howard Walter Florey ve arkadaşları 1939-1940 yılları arasında *Penicillium notatum* kültüründen penisilini saf olarak elde etmeyi başarmışlardır. Tedavi alanında penisilin büyük başarı elde etmiştir ve diğer antibiyotikler üzerindeki araştırmalar hızlanmıştır (Baytop, 1986: 20). Antibiyotiklerin 1929 yılında keşfi ile başlayıp günümüzde de devam etmekte olan keşif süreci Şekil 2.1’de şematize edilmiştir. Normal karakterlerle isimleri yazılanlar doğal kaynaklı antibiyotikler, italik karakterlerle yazılanlar sentetik kaynaklı antibiyotikler olarak yazılmıştır.



Şekil 2.1. Antibiyotiklerin keşif süreci (Singh ve Barret, 2005)

Antimikrobiyallerin çoğu mikroorganizmalar için önemli mekanizmaları etkilemektedir. Hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotiklere; penisilinler, sefalosporinler, vankomisin, hücre zarı fonksiyonunu engelleyen antibiyotiklere; amfoterisin, azoleler, protein sentezini engelleyen antibiyotiklere; aminoglikositler, tetrasiklinler, makrolidler, nükleik asit sentezini engelleyen antibiyotiklere; quinoloneler, sülfonamidler, trimetoprim örnek olarak verilebilir. Ancak antibiyotik ilaçların tam olarak kesin etki mekanizması bilinmemektedir (Boxtel, 2007). Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına Şekil 2.2’de yer verilmiştir.



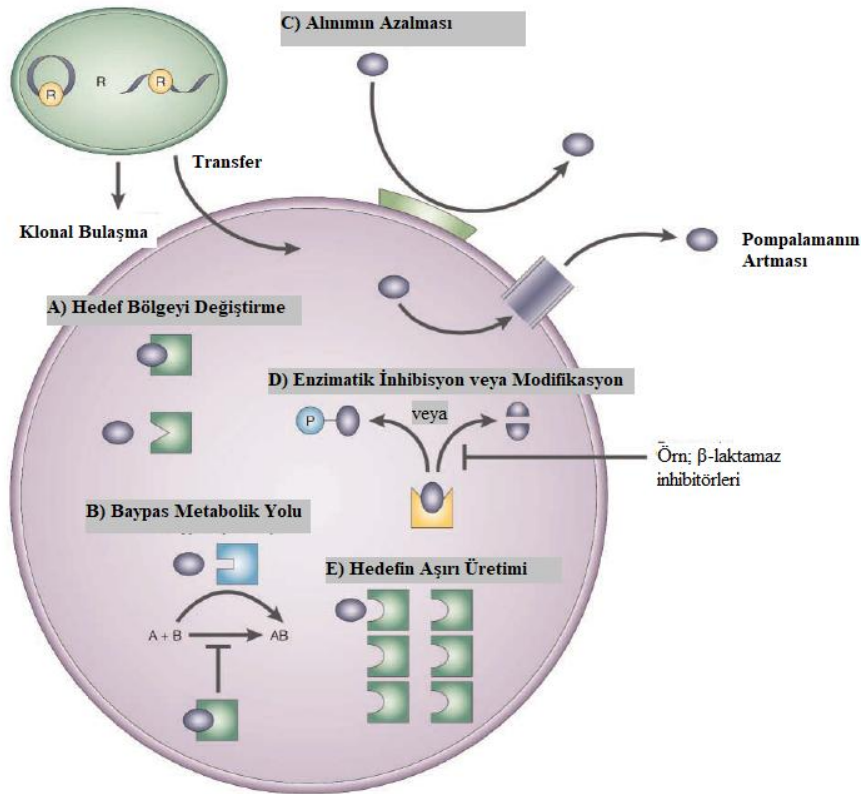
Şekil 2.2. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları (Singh ve Barret, 2005)

Doğada tabii olarak yetişen bazı bitkilerden elde edilen özütlerin ve uçucu yağlarının, bakterilerde olduğu gibi, mayalar üzerinde de antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (Toroğlu ve Çenet 2006). İlk çağlardan beri insanlar sıklıkla karşılaşılan hastalıkları geleneksel tıpla tedavi etmişlerdir. Örneğin; ayı üzümü (*Arctostaphylos uvaursi*) ve yabanmersini suyu (*Vaccinium macrocarpon*) üriner sistem enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanırken, bazı bitki türleri; oğul otu, (*Melissa officinalis*), sarımsak (*Allium sativum*) gibi türler geniş spektrumlu antimikrobiyal ajan olarak belirtilmişlerdir (Rios ve Recio, 2005).

Ayrıca gıdaların içeriğinde yer alan birçok bileşen antimikrobiyal etkiye sahiptir. Örneğin baharatlarda bulunan lupulon, eugenol, allil izotiyosiyanat, humulon, timol gibi maddelerin

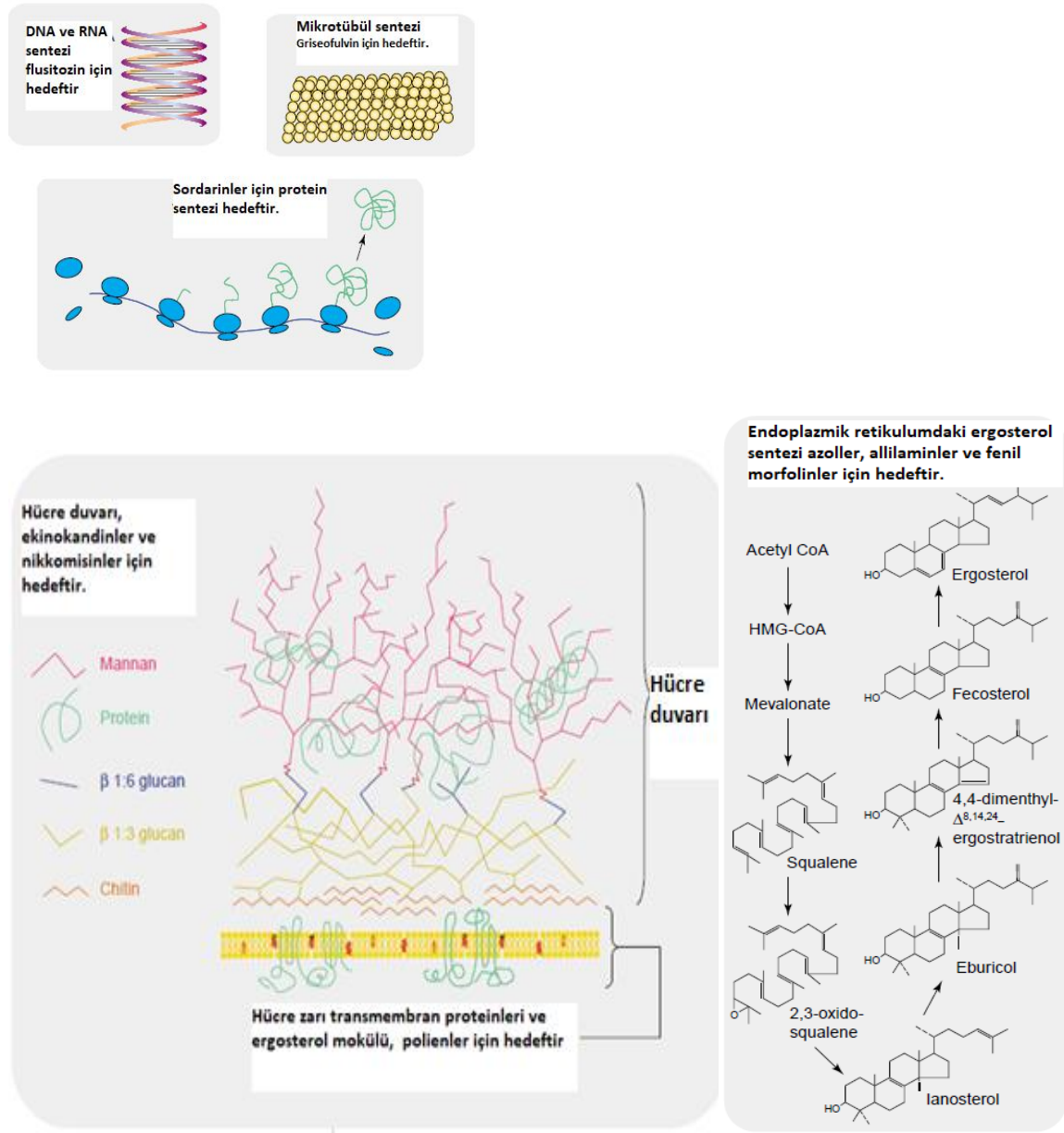
antimikrobiyal etki göstermeleri baharatların birçoğunu Gram (+) bakteriler ve küf mantarlarına karşı antiseptik özellik göstermelerine neden olmuştur (Coşkun, 2006).

Antimikrobiyal ajanlar bakterileri bakteriyostatik ya da bakterisidal etkiler ile kontrol altına alırken, bakteriler de farklı mekanizmalarla bu ajanlara karşı direnç göstermektedirler. Bu direnç mekanizmaları genel olarak 5 ana başlıkta toplanmaktadır. a) Bir plazmit ya da transpozon sayesinde yeni gen kazanan bir bakteri, antibiyotiğin etkilediği aktif hedef bölgesinin şeklini değiştirmektedir. Bunun sonucunda aktif bölgeye bağlanamayan antimikrobiyal ajan işlevsiz kalmaktadır. b) İnhibibe edici adımlar baypas edilebilir. c) Bakteriler zar geçirgenliğini azaltarak, ya da hücre zarındaki pompa mekanizmalarını kullanarak, hücre içine giren antimikrobiyal madde konsantrasyonunu azaltabilir. d) Bazı bakteriler ilacı inaktif hale getirebilirler. Örneğin beta laktamaz üreterek penisilini yok ederler. e) Bazen de antimikrobiyal maddenin etkilediği hedef enzim bakteri tarafından aşırı üretilir (Coates ve diğerleri, 2002). Direnç mekanizmaları Şekil 2.3’de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları (Coates ve diğerleri, 2002)

Antifungal ilaçların mantarları etkilemede kullandıkları bazı mekanizmalar vardır. Griseofulvinler, hücre aktivitesinde rol oynayan hücre iskeleti elemanı mikrotübül oluşumunu engellerler. Flusitozinler, RNA ile etkileşime girip erken zincir sonlanmasına neden olur ve DNA sentezini engellerler. Polien antifungallardan olan Amfoterisin B, mantar membranındaki ana sterol olan ergosterole bağlanır. Bunun sonucunda hücre içeriğinin dışarıya sızmasına neden olacak şekilde membran işlevi bozulur. Antifungal azoller; ergosterol sentez mekanizmasındaki ara basamakların dönüşümünü engelleyerek etki gösterirler (Odds ve diğerleri, 2003). Şekil 2.4’de antifungal mekanizma gösterilmiştir.



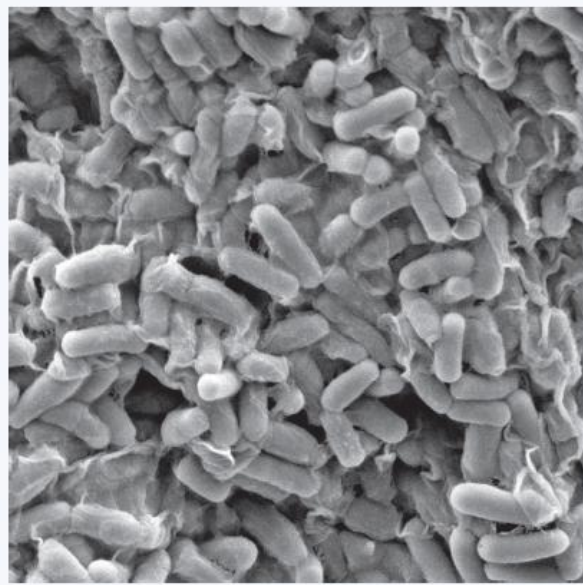
Şekil 2.4. Antifungal ilaçların etki mekanizması (Odds ve diğerleri, 2003)

2.5.1. Antimikrobiyal aktivitenin araştırılmasında kullanılan mikroorganizmalar

Bakteriler

Bacillus subtilis

Toz, toprak, gübre, bitki, su ve sütte sporları bol bulunan bu bakteri yaklaşık 1,5-3 µm boyunda, 0,5-0,8 µm eninde, tek tek veya zincir oluşturmuş çomak şeklindedir. Resim 2.2’de bakterinin şekli SEM fotoğrafı ile net bir şekilde görülmektedir. Gram (+), kapsülsüz ve sporları oval şekilde subterminaldir. Kapsüllü ve uzun zincir oluşturabilen varyantları bulunabilir. Oda sıcaklığında, basit besiyeri varlığında rahatlıkla üreyebilirler. Aerob olan bu tür hızlı üremesi ile besiyeri yüzeyini zar gibi kaplar. Bakterinin genel beslenme biçimi saprofitlik olmasına rağmen, göz ile teması ile panoftalmi, iridosiklit gibi göz iltihaplarına neden olabilir (Bilgehan, 1990: 274-275).



Resim 2.2. *B. subtilis* bakterisinin SEM görüntüsü (Kovacs, 2019)

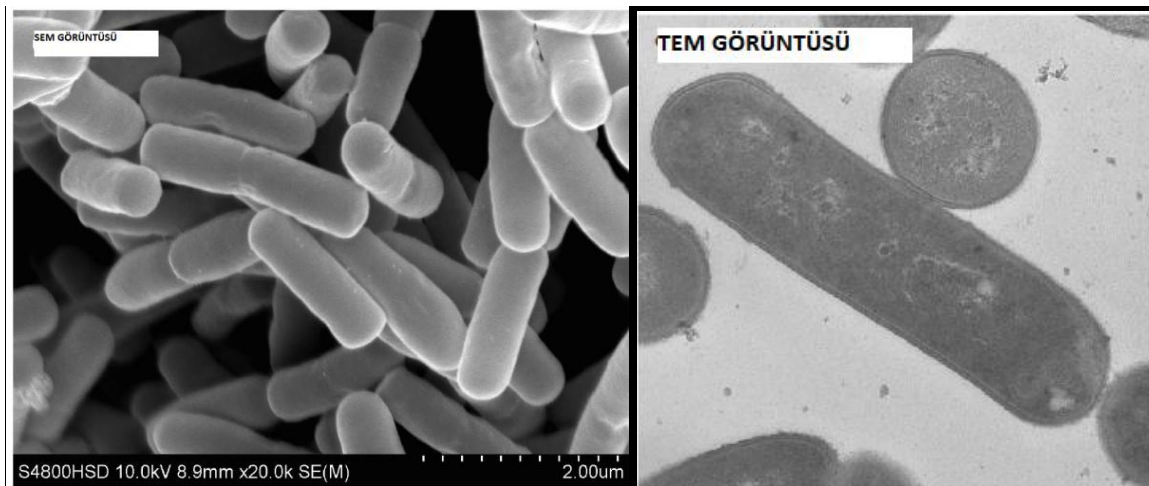
Bacillus cereus

B. subtilis gibi toz, toprak, su, süt ve süt tozunda yaygın bulunan, sporlu aerob bir bakteridir. Uzun veya kısa zincirler oluşturan çomak şekilli bu bakteri yaklaşık 3-5µm boy ve 1-1,2 µm enindedir. Kapsülsüz sporları santral veya subterminal konumludur ve oval

şekillidir. Gram (+) olan türün ortalama üreme ısısı 28-35 °C ise de, 10-48 °C arasında da üreyebilir. 1-2 gün gibi kısa sürelerde iyileşebilen besin zehirlenmelerine neden olurlar. Besin zehirlenmesi haricinde nadiren enfeksiyon yaparlar. Ancak bağışıklığı zayıflamış bireylerde fırsatçı patojen olarak apseler, sellülit, göz içi enfeksiyonları, menenjit, akciğer ve böbrek enfeksiyonları, osteomyelit, idrar yolları enfeksiyonları, endokardit gibi hastalıklara sebep olduğu bildirilmiştir (Bilgehan, 1990: 275-276).

Escherichia coli

Doğal yaşam alanı insan ve hayvanların bağırsakları olan bu bakteri, içme sularındaki ve besinlerdeki fekal kirlenmenin bir göstergesidir. Gram (-) bir bakteridir. Çomak şeklindeki bu bakteri laktozu fermente edebilir. Bağırsakta normal flora elemanı iken vücudun başka organlarına ulaştıklarında enfeksiyonlara neden olurlar. *Escherichia coli* en sık idrar yolu enfeksiyonlarına neden olur. Alt üriner sistemi organlarında; üretrit, sistit, üretrosistit böbreklerde ise; sistopiyelit, piyelonefrit gibi enfeksiyonlara neden olabilir. Akut idrar yolu enfeksiyonlarının % 70-80'inde; kronik idrar yolu enfeksiyonlarının % 40-50'sinde sebep *E. coli*'dir. Nozokomiyal sepsislerin yaklaşık % 15'inin etkeni *E. coli*'dir. Ayrıca safra kesesi ve safra yolları enfeksiyonlarına apandisit, peritonite, erken ve yeni doğan bebeklerde menenjitte neden olduğu bildirilmiştir (Kayser, Bienz, Eckert, ve Zinkernagel, 2002: 291-292). Resim 2.3'de bakterinin SEM ve TEM fotoğrafları görülmektedir.

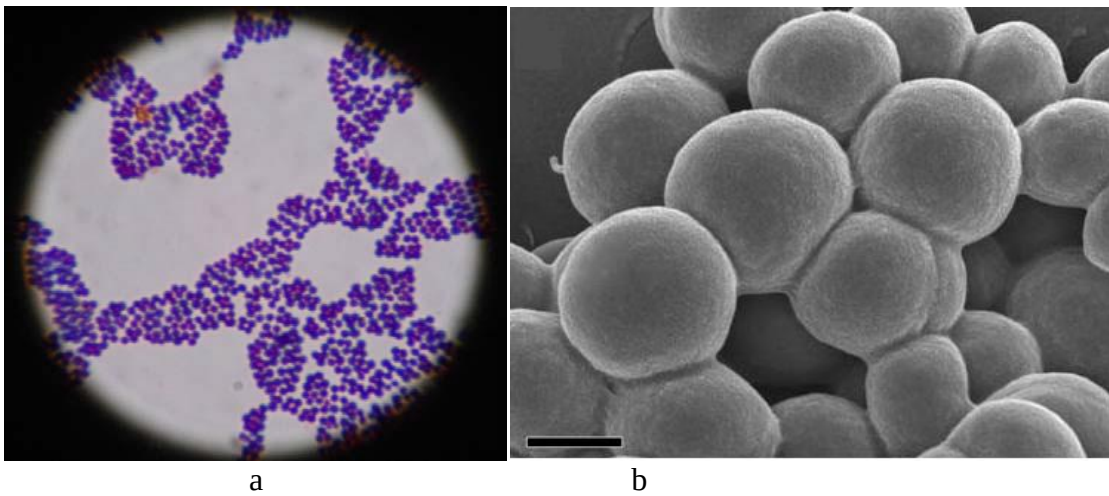


Resim 2.3. *E. coli* bakterisinin SEM ve TEM görüntüsü (Lv ve diğerleri, 2014)

Staphylococcus aureus

Bu tür, Gram (+), yuvarlak veya oval şeklindedir. Hücre bölünmesi farklı düzlemlerde gerçekleştiği için hücreler preparatlarda üzüm salkımı şeklinde bir arada görülürler. Resim 2.4'deki ışık mikroskobu fotoğrafında üzüm salkımı görüntüsü net olarak görülürken, SEM fotoğrafında ise kok hücre şekli fark edilmektedir. Fakültatif anaerob olan bu tür en basit besiyerlerinde ve optimum 37 °C sıcaklıkta üreyebilir. *Staphylococcus aureus* genellikle iltihaplı lokal enfeksiyonlara neden olur. Yara enfeksiyonları, sinüzit, orta kulak iltihabı, grip sonrası pnömoni, kalp ameliyatlarından sonra özellikle yapay kapakçık takılmasından sonra oluşan endokardit, bu türün neden olduğu hastalıklara örnek olarak verilebilir. Ayrıca *S. aureus* enterotoksini ile kontamine besinlerin yenilmesinden birkaç saat sonra kişilerde kusma ve diyare ile kendini gösteren besin zehirlenmelerine neden olmaktadır (Kayser ve diğerleri, 2002: 222, 224).

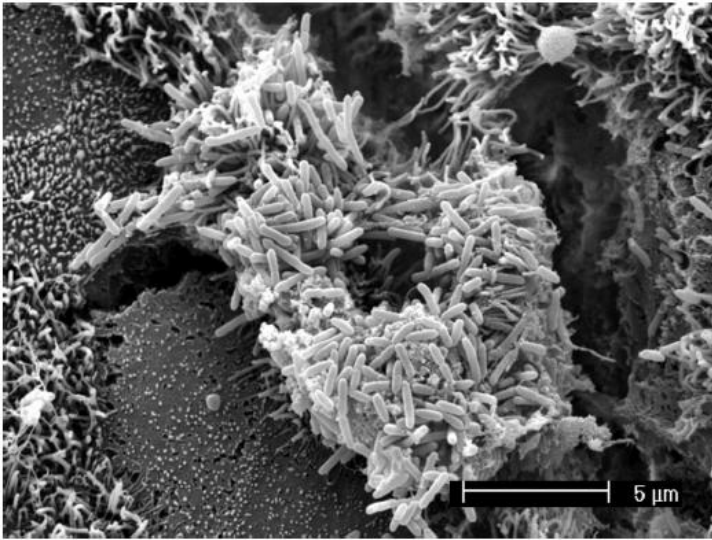
S. aureus hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir bakteriyel etkindir. İnsanın burun mukozası ve nazofarinks bakterinin doğal florasıdır. Normal popülasyonlarda %20-40 oranında, hastane çalışanlarında ise %30-90 oranında burun mukoza taşıyıcılığı bildirilmiştir. Hastane enfeksiyonları etkenleri arasında *S. aureus*'un özellikle metisiline dirençli suşları en sık rastlanan etkindir. En önemli kaynağı hastane personeli ve bu suşlarla enfekte olmuş diğer hastalardır (Mert ve diğerleri, 1996).



Resim 2.4. a) *S. aureus*'un ışık mikroskobu görüntüsü (Joshi ve diğerleri, 2014)
b) *S. aureus*'un SEM görüntüsü (Mei ve diğerleri, 2014)

Pseudomonas aeruginosa

Gram (-), spor oluşturmeyen, aerobik, basil bir bakteridir. Resim 2.5’de basil hücre yapısı net olarak gözlenmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* pyosiyenin adlı genelde yeşil renkli, suda çözünmeyen bir pigment üretmektedir. Bu bakteri çok rahat üreyebilir. Dış ortamda, suda, dezenfektan maddelerin içinde dahi üreyebilmesi nedeniyle önemli bir hastane enfeksiyonu etkenidir. Ayrıca antibiyotik direnci bulunmaktadır. Hastanedeki yoğun bakım ünitelerinde yatan, daha önce antibiyotik tedavisi almış hastalarda, yanık hastalarında, kateteri olanlarda, ventilatör tedavisi alanlarda enfeksiyona neden olmaktadır. Bu kişilerde, yaralara, üriner enfeksiyonlara, pnömoni ve bakteriyemiye neden olmaktadır. Bu bakteri kirli havuzlardan bulaşarak yüzücü kulağı denilen kulak enfeksiyonlarına ayrıca diyabetiklerde malign otitis eksterna denilen ağır bir kulak enfeksiyonuna neden olabilir. Kontakt lens kullanan kişilerde ise keratit etkeni olabilmektedir (Kiraz, 2011: 931,933).



Resim 2.5. Solunum epitelyum silleri üzerine yapışmış *P. aeruginosa* bakterilerinin SEM görüntüsü (Woodworth, 2008)

Enterococcus faecalis

Enterokoklar, dikok halinde ya da kısa zincir oluşturacak şekilde bulunan Gram (+) bakterilerdir. Fakültatif anaerob olup, katalaz (-)’dir. Optimum üreme sıcaklığı 35 °C olan tür 10-45 °C arasında üreyebilir. Zenginleştirilmiş besiyerinde iyi ürer. *Enterococcus* cinsinde 16 tür yer almakla birlikte insanda en sık enfeksiyon oluşturan iki tür *E. faecalis* ve *E. faecium*’dur. Enterekok enfeksiyonlarının % 85-90’ından sorumlu olan tür *E.*

faecalis'tir. Normal gastrointestinal florada yer alan enterokoklar sıklıkla hastane enfeksiyonuna neden olmaktadır. En sık üriner yol hastalıklarına ve bakteriyemiye sebep olurlar. Kateterizasyon ve çeşitli ürolojik işlemler hastalığın oluşmasında etkindir. Enterokok kaynaklı endokarditler sıklıkla prostetik kalp kapağı olan yaşlı hastalarda görülür. (Kiraz, 2011: 815)

Enterokoklar yaygın kullanılan birçok antibiyotiğe karşı dirençli oldukları için tedavide kullanılan antibiyotikler sınırlıdır. Penisilinler, aminoglikozidler ve glikopeptidler kullanılmaktadır. Bakteri öldürücü etki elde etmek için bir beta-laktam veya glikopeptid gibi hücre duvarı üzerinde etkili antibiyotikle birlikte, aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombinasyonu tercih edilir. Yeni saptanan enterokok suşlarda bu belirtilen antimikrobiyal maddelere karşı direnç geliştiği gözlenmiştir ve bu durum hastalıkların tedavisinde problem teşkil etmektedir (Meriç, Rüzgar, Gündeş ve Willke, 2004).

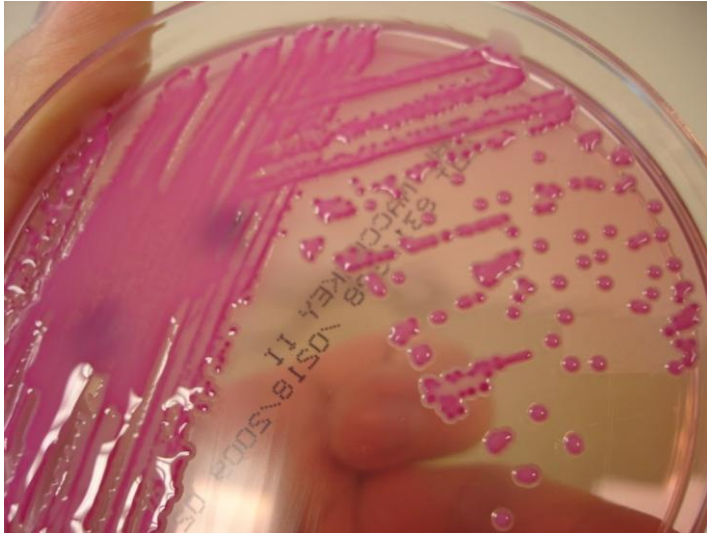
Salmonella typhimurium

Salmonella bakterileri, sporsuz, kapsülsüz, çomak şeklinde, yaklaşık olarak 2-5 µm boyutunda 0,7-1,5 µm eninde Gram (-) birçok besiyerinde kolaylıkla üreyebilen bakterilerdir. Aerob ve fakültatif anaerobtur. Optimum üreme sıcaklığı 37 °C olmakla birlikte 20-40 °C arasında da üreyebilirler. *Salmonella typhimurium* insanlarda tifoya neden olan *Salmonella* türlerinden biridir. *Salmonella* farelerde yaşamaktadır bu nedenle fare dışkılarının besinlerle karışması bu hastalığın epidemiyolojisinde rol oynar. *Salmonella* bakterilerinin antibiyotiklere direnç kazanmış türleri, hastanelerde yuvalanmakta ve başta prematüre ve yeni doğan kliniklerinde olmak üzere tüm hastanede salgınlara neden olmaktadır (Bilgehan, 1990: 24, 34).

Klebsiella pneumoniae

Kapsüllü, çomak şeklinde, hareketsiz, Gram (-) bir bakteridir. Resim 2.6'de petride oluşturduğu koloniler görülmektedir. İnsanda bronşit, lobüler pnömoni, otitis media, sinüzit, beyin ve diğer dokularda apseler, menenjit, sepsisemi, idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilir. Bakteriyel pnömonilerin %2'sinden *Klebsiella pneumoniae* sorumludur. 40 yaş üstü ve iki yaş altı bireylerde vücut direncinin azalması neticesinde, viral üst solunum yolu enfeksiyonları akabinde bu tip pnömoniler görülür. Ayrıca *K. pneumoniae* piyelit,

sistit, piyelonefrit gibi idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olmaktadır. Özellikle beyin cerrahisi uygulanmış hastalarda *K. pneumoniae* menenjitisi sık rastlanan bir komplikasyondur. *K. pneumoniae* önemli bir hastane enfeksiyonu etkenidir. Tıbbi ve cerrahi müdahaleler sonrasında, bu bakteri sepsisemi, akciğer enfeksiyonu, ameliyat yarasının cerrahilenmesi gibi komplikasyonlara neden olmaktadır. Bu komplikasyonlar bazı hastaların ölümüne sebep olmaktadır (Kiraz, 2011: 915).



Resim 2.6. *K. pneumoniae* bakterisinin Mac Conkey agar petrisi üzerindeki kolonileri (Baban, 2017)

Mayalar

Candida albicans

Candida cinsi mayalar ökaryotik, tomurcuklanarak veya ikiye bölünerek çoğalan, tek hücreli, yaklaşık 3-4 µm boyutlarda, yuvarlak veya oval şekillidir. Resim 2.7’de *Candida albicans* mayasının SEM görüntüsü verilmiştir. *Candida* türleri arasında en sık enfeksiyonlara neden olan tür *Candida albicans*’tır. *Candida* türleri geniş yayılım göstermekte olup, toprakta, suda, bitki ve hayvanlarda bulunabilirler. İnsanlarda hastalıklara neden olan mayaların ise çoğunlukla endojen kaynaklı olduğu bildirilmiştir. İnsandan insana bulaşma çok sık rastlanmamaktadır. *Candida* enfeksiyonları, mukoza enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları ve sistemik ve fırsatçı enfeksiyonlar olarak sınıflandırılabilir (Bilgehan, 1990: 53). Ayrıca el tırnaklarında şekil bozukluğu ve renk

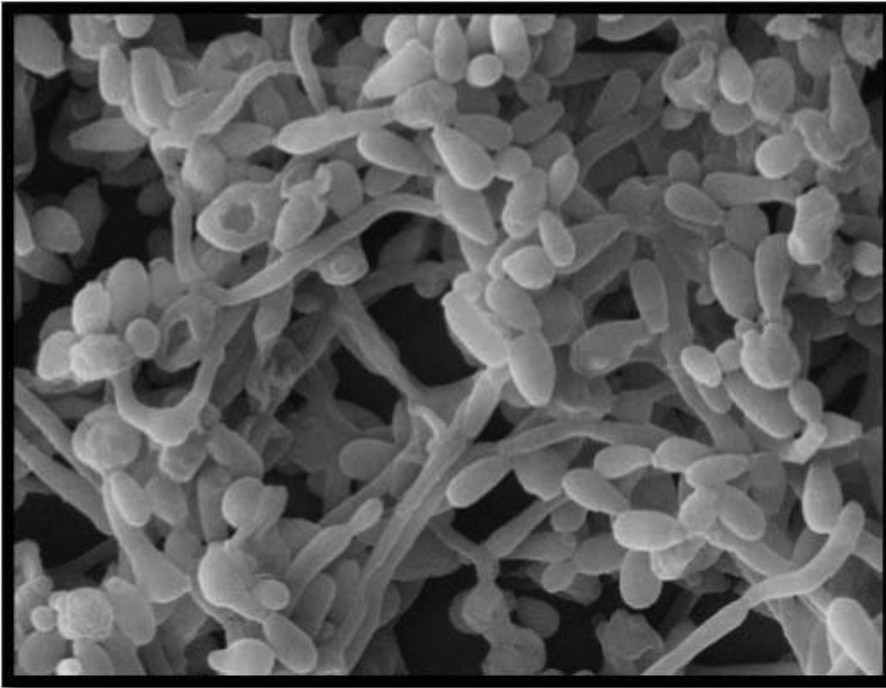
değişikli olarak tanımlanan onikoliz durumuna en çok *C. albicans* neden olmaktadır (Azimi ve diğerleri, 1995).

Candida krusei

Candida krusei oval formda ve uzun pirinç tanesi şeklinde bir maya hücresidir. Doğal ortamı çok çeşitli olup, atmosferde, kanalizasyonda, meyvelerde, gıdalarda, şarap ve birada bulunabilir. Genellikle *C. krusei* çeşitli hastalıklara yakalanmış gruplarının ayrıca sağlıklı bireylerin mukoza yüzeylerinden izole edilmektedir. *C. krusei* özellikle lösemi hastalarında fungemiya neden olmaktadır (Samaranayake ve Samaranayake, 1994).

Candida tropicalis

Candida tropicalis, *Candida* enfeksiyonlarının %4-24'ünden sorumlu 2n kromozumlu mayalardır. Sağlıklı insanların sindirim yollarında ve ciltte bulunmaktadır (Desnos-Ollivier ve diğerleri, 2008). *C. tropicalis* akut lösemi hastalarında ve kemik iliği nakli olan bireylerde invaziv kandidiyazisin en çok rastlanan etkeni olarak bildirilmiştir (Kothavade ve diğerleri, 2010).



Resim 2.7. *C. albicans* mayasının SEM görüntüsü (Sardi ve diğerleri, 2013)

2.6. Antioksidan Aktivite

Bileşikler iki veya daha çok elementin arasında kimyasal bağ kurulması sonucunda oluşur. Elektronların çiftlenmiş durumda olması bileşiğin de kararlı olmasını sağlar. Kararsız moleküllerde elektronların çiftlenmemiş şekilde bulunduğu ve daha reaktif olduğu görülür. Bir veya daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektron içeren element veya bileşiklere “serbest radikaller” denir. Başka bir elementten elektron alan serbest radikal kararlı yapı kazanırken elektronunu aldığı element serbest radikale dönüşür. Bu şekilde başlayan bir zincir reaksiyonlar dizisi en çok hücre zarı olmak üzere; hücrenin birçok yapısının büyük zarar görmesine neden olur. Hücre zarından elektron çalan serbest radikaller kararlı hale geçerken, hücre zarının dolayısıyla da hücrenin yapısı bozulur (Gökpınar ve diğerleri, 2006).

Oksijen hayatımız için çok önemli bir molekül olmakla birlikte reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle oksidasyon olayına hayatımızda sürekli rastlanmaktadır. Reaktif oksijen türleri metabolizma için zararlı bir dizi reaksiyonu başlatmaktadır. Serbest radikaller oksijenin kullanıldığı solunum sonucunda açığa çıktığı gibi, sigara, çevre kirliliği, yağlı ve sağlıklı beslenme, alkol, radyasyon, ilaç kullanımı, böcek ilaçları ile de oluşabilmektedir (Gökpınar ve diğerleri, 2006).

Vücudumuzda antioksidan sistemler, doğal yollarla açığa çıkan serbest radikalleri ortadan kaldırdıkları için organizmada sitotoksite gözlenmemektedir. Fakat serbest radikallerin daha fazla üretildiği durumda bazı patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. Bu patolojik durumlar oksidatif stres olarak da adlandırılmaktadır. Oksidatif stresin, lipid peroksidasyonu, kanser, arterosklerozis, enzim aktivasyonu ve inaktivasyonu, böbrek bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, katarakt, immun sistem bozukluğu, sıtma, DNA hasarı gibi birçok olumsuz duruma sebep olduğu saptanmıştır (Gök ve diğerleri, 2006).

Serbest radikaller radyasyon veya kimyasal maddeler nedeni ile oluşabildiği gibi hücrenin normal metabolik faaliyetlerinin yan ürünü olarak da oluşabilmektedir. Bu yan ürünlere süperoksit anyonları (O_2^- , $O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) gibi mutajenler örnek verilebilir. Bu mutajenler, hücrenin proteinlerine, DNA'sına zarar

verebilmekte ve hücrenin ölümüne bile neden olabilecek sorunlara yol açmaktadır (Kazanç, 1997).

Serbest radikal oluşumunu engelleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanmıştır (Arıdurdu ve Arabacı, 2013). Antioksidan maddeler, doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Doğal antioksidanlara, enzimler (katalaz-CAT, superoksit dismutaz-SOD, hidroksiperoksidaz, glutation peroksidaz-GP, glutation redüktaz, sitokrom-C-oksidadz,), makromoleküller (transferrin, haptoglobilin, seruloplazmin, ferritin, myoglobin,) ve mikromoleküller (tokoferoller, C-vitamini, β -karoten, A-vitamini, E-vitamini, thiol içerenler, metionin, kaptopril, ubiguinon glutation (GSH), N-asetil sistein,) örnek gösterilebilir (Hilmi, 1994).

Antioksidanların serbest radikalleri etkisizleştirme mekanizmaları genel olarak dört başlık altında toplanmaktadır. 1-Süpürme etkisi (Scavenging): Serbest radikalleri etkisi daha zayıf olan yeni bir moleküle dönüştürerek etkisiz hale getirir. Mikromoleküller ve antioksidan enzimler bu mekanizmayı kullanırlar. 2-Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen ilave ederek inaktif etmesine denir. Vitaminler, mannitol timetazidin ve flavanoidlerin etkisi bu yöndedir. 3-Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Ağır mineraller, serüloplazmin, hemoglobin, oksidanları kendi üzerlerine bağlar ve inaktif hale getirirler. 4-Onarma etkisi (Repair): Serbest radikaller tarafından hasara uğramış olan biyolojik molekülü onarırlar (Gökpınar ve diğerleri, 2006).

Sağlıklı bir hücrede mitokondriyal sitokrom sistemi organelleri serbest radikallerden korumaktadır. Fakat bu sistemin verimli bir şekilde çalışmadığı durumlarda doğal enzimler işlev görür. Enzimler tarafından etkisizleştirilemeyen serbest radikaller hücre zarındaki lipidlerle etkileşime girerek 'lipid peroksidasyonuna' neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu, hücre zarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından alkoller, peroksitler, aldehitler gibi çeşitli maddelere yıkılması reaksiyonuna verilen isimlendirmedir. Bu durumun sonucunda ortaya çıkan biyoaktif aldehitler hücre hasarına sebep olmaktadır (Benzer ve Ozan, 2003).

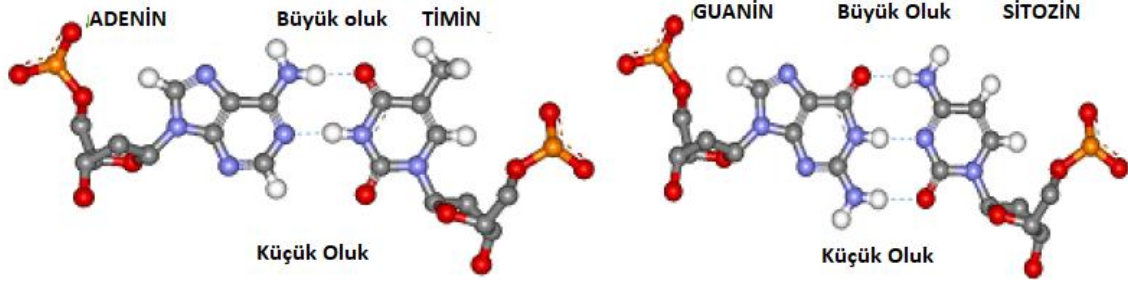
Yeterli miktarda Vitamin E ve Vitamin C gibi antioksidan vitaminlerin lipid peroksidasyonu esnasında ortamda bulunması hücresel hasarı önleyebilmektedir. Vitamin

E (tokoferoller), Vitamin C (askorbik asit), karotenoidler, bioflavonoidler bitkilerde ve alglerde bulunan antioksidanlardandır (Kazanç, 1997).

Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları başta olmak üzere tüm dokularında meydana gelmektedir. Bitkisel kaynaklı bazı antioksidanlar; karotenoidler, fenoller, flavonoidler, glutatyonin ve endojen metabolitlerdir (Arıdurdu ve Arabacı, 2013). Doğal antioksidan içerdiği bilinen bazı bitkilere; yeşil çay, kakao ürünleri, baharat ve otlar, yağlı tohumlar, soğan, sarımsak, havuç, tahıllar, kereviz, maydanoz, baklagiller, keten tohumu, domates, biber, keçiyoynuzu, hardal tohumu, turunçgiller, elma kabuğu, meyan kökü, yarfıstığı, tahılların tohum kabukları, soya proteini, soğan kabuğu örnek olarak verilebilir. Bu bitkilerdeki bazı kimyasal bileşikler antioksidan etkiyi oluşturmaktadır. Bu b Örneğin; amino asitler, karotenoidler, fenolik bileşikler, organik asitler, melanoidler, sülfidler, indoller, glukonatlar, terpenler, fitatlar, ligninler, izotiyosiyanatlar, kumarinler. Bu bileşikler serbest radikallerin neden olduğu olumsuz değışiklere karşı bloklayıcı ve baskılayıcı olarak etki etmektedir (Velioğlu, 2000).

2.7. DNA Etkileşimi

Deoksiribo Nükleik Asit yani DNA önemli biyolojik rolü olan bir moleküldür. Bir hücrenin içerdiği toplam DNA'ya genom denir. Genom her organizma için eşsizdir ve organizmanın yaşamı için gereken bilgiyi ihtiva eder. DNA içerisinde bulunan genler protein kodlanmasından sorumludur (Shaikh ve Jayaram, 2005). DNA molekülü çift zincirli sarmal yapıdadır ve her zincir Adenin, Timin, Sitozin ve Guanin olarak adlandırılan dört nükleotidin bileşiminden oluşur. Zincir içerisinde bu nükleotidler birbirlerine fosfodiester bağları ile bağlıdır. Karşılıklı zincirler ise Adenin ve Timin arasında ikili, Guanin ve Sitozin arasında üçlü olmak üzere hidrojen bağları ile bağlanmıştır. İki zincirin birbirine yaklaştıkları bölgeye küçük oluk, birbirinden uzakta oldukları bölgeye büyük oluk denir. (Sirajuddin ve diğerleri, 2013). Şekil 2.5'de karşılıklı zincirlerde bulunan Adenin ve Timin arasındaki ikili hidrojen bağları, Sitozin ve Guanin arasındaki üçlü hidrojen bağları şematize edilmiş, büyük oluk ve küçük oluk bölgeleri belirtilmiştir.



Şekil 2.5. DNA'nın Watson-Crick baz eşleşmesi modeli (Shaikh ve Jayaram, 2006)

DNA doğrudan ya da dolaylı yünden hücrenin yapısını ve yaşamsal faaliyetlerini kontrol eder. Bu önemli özelliği nedeni ile DNA'nın moleküler yapısı ve işlevsel mekanizmaları aydınlatıldıktan sonra, DNA antibiyotiklerden kanser ilaçlarına kadar geniş yelpazedeki ilaç moleküllerinin hedefi haline gelmiştir (Rehman ve diğerleri, 2015).

DNA'nın hücrede transkripsiyon ve replikasyon olmak üzere iki önemli görevi vardır. Transkripsiyon; DNA'daki bilginin RNA molekülüne aktarılması olarak tanımlanır. RNA'daki bu bilgi hücre içinde ribozomlar yardımı ile protein sentezinin gerçekleşmesini sağlar. Replikasyon ise DNA'nın kendini eşlemesidir. Replikasyon ve transkripsiyon işlemleri canlının hayatsal faaliyetlerinin sağlıklı bir şekilde gerçekleştirmesi için çok önemlidir. DNA transkripsiyona ve replikasyona bir sinyal alması sonrasında başlar. Genellikle düzenleyici bir proteinin DNA'nın özel bir bölgesine bağlanması sinyal işlevi görmektedir. Bu nedenle eğer başka küçük bir molekül bu proteinlerin bağlanma özelliklerini ve gücünü taklit ederse; bu maddeler tarafından DNA'nın fonksiyonları azaltılabilir veya artırılabilir (Shaikh ve Jayaram, 2006).

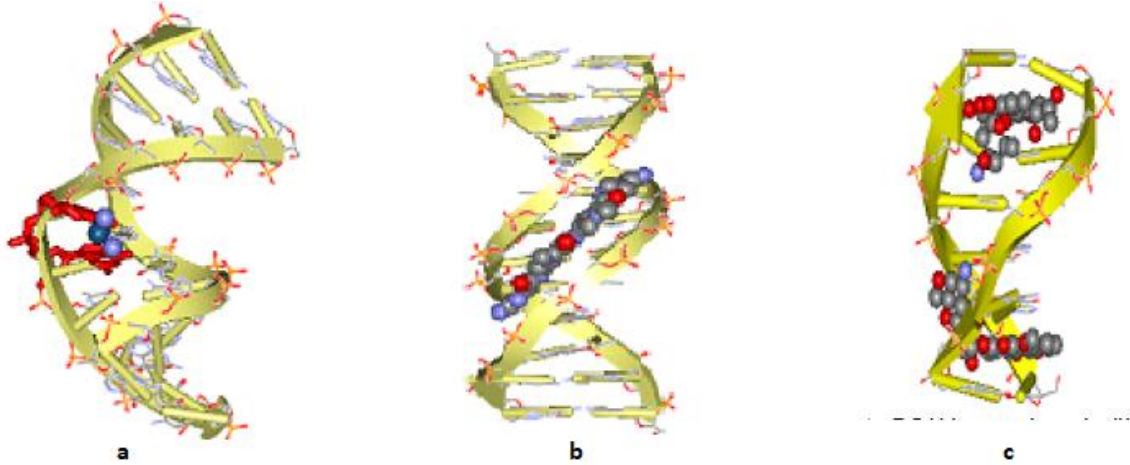
Doğal veya sentetik küçük moleküller bir hastalığın tedavisinde ya da kontrol altına alınmasında, DNA fonksiyonlarını artırarak veya azaltarak etki göstermeleri nedeniyle ilaç olarak kullanılabilir. Bu maddelerin DNA ile etkileşimi sonrasında, hücrede ihtiyaç duyulandan fazla miktarda protein üretilir ya da DNA eşlenmesi indüklenebilir. DNA inhibisyonu protein sentezini veya replikasyonu kısıtlayabilir. Ayrıca hücre ölümüne neden olabilir. Genellikle antikanser ve antibiyotik ilaçlar DNA fonksiyonlarını inhibe etme yönünde etki gösterirler. İlaç-DNA etkileşimlerinin araştırılması, ilaçların tedavi edici işlevlerinin moleküler mekanizmasının aydınlatılması ve bununla birlikte DNA-hedefli yeni ilaç tasarımlarının geliştirilmesi için çok önemlidir (Lia ve diğerleri, 2005).

Son yıllarda kanser hastalığının çok fazla yayılması ve milyonlarca insanın bu hastalık sonucunda hayatlarını kaybetmesi, kanser önleme araştırmalarının artmasına neden olmuştur (Muti ve Muti, 2018). DNA ile küçük moleküller arasındaki etkileşim araştırmalarına, bu maddelerin ilaç olarak kullanılabilmeleri potansiyelleri nedeni ile ağırlık verilmiştir. Antikanser ilaçları DNA ile üç farklı yolla etkileşir. 1) Transkripsiyon faktörlerinin ve polimerazların kontrolü ile: Burada ilaçlar DNA'ya bağlanan proteinler ile etkileşime girer. 2) Transkripsiyon aktivitesini engelleyecek şekilde RNA molekülüne bağlanarak etkileşir. 3) Küçük moleküllerin DNA sarmalına doğrudan bağlanması ile etkileşebilir (Sirajuddin ve diğerleri, 2013).

DNA ve küçük moleküller arasındaki etkileşimler kovalent etkileşimler ve kovalent olmayan etkileşimler olmak üzere ikiye ayrılır (Rehman ve diğerleri, 2015). DNA ile bazı maddeler, alkilleme veya zincir içi ve zincirler arası çapraz bağlanma yöntemi ile kovalent bir şekilde eklenti yaparlar. Kovalent bağlantılar geri dönüşümsüz ve kalıcıdırlar. Bu nedenle DNA aktivitesinin engellenmesine ve hücrenin ölümüne neden olurlar. Bu tarz bağlanmaların avantajı yüksek bağlanma kuvvetidir. Ayrıca büyük eklentiler DNA'nın yapısal omurgasının şeklini değiştirmekte, böylelikle transkripsiyon ve replikasyon işlemleri zarar görmektedir (Sirajuddin ve diğerleri, 2013).

Cis- platin [cis-dichlorodiammineplatinum(II)] DNA bazlarındaki azotla, kloro grupları arasında zincir içi veya zincirler arası çapraz bağlanmalar yapan ünlü bir kanser ilacıdır. Kovalent bağlanan moleküllere alkilleyici ajanlar da denmektedir. Çünkü bu moleküller DNA'ya eklenti yaparken bir alkil grubu eklemektedirler. Alkilleyici ajanlar kanser hücrelerini öldürürken DNA'ya önemli ölçüde zarar verirler. DNA'daki Guanin bazı ile etkileşime girer veya DNA molekülüne metil veya diğer alkil grupları eklemektedirler. Bunun sonucunda DNA doğru baz eşlenmelerini yapamamaktadır. Ayrıca alkilenmiş bazları, yenisi ile değiştirmeye çalışan tamir enzimleri nedeni ile DNA parçalanmış bir hal almaktadır. Bunun yanı sıra alkilleme ajanları nedeni ile DNA kendi atomları arasında çapraz bağlanmalar yapmaktadır. Bu çapraz bağlanmalar sonrasında DNA'nın tek zincirinin replikasyon ve transkripsiyon için kalıp olması engellenmekte ve hücre bu fonksiyonları yerine getiremediği için ölmektedir. Alkilleyici ajanlar ilave olarak yanlış baz eşleşme kaynaklı mutasyonlara neden olmaktadır. Bu olay sonucu da hücre apoptozize gönderilmektedir. Alkilleyici ajanlar en eski ve günümüzde de birçok kanser tipi için kullanılan antikanser ilaçlarıdır (Sirajuddin ve diğerleri, 2013).

Kovalent olmayan bağlanmalar kovalent olanlara göre daha az sitotoksik kabul edilir. Bu bağlanmalar daha çok DNA'nın yapısı üzerinde değişikliklere yol açarlar ayrıca DNA zincir kırıklarına da neden olabilirler. DNA'nın topoizomeraz gibi proteinlerle olan etkileşimlerine müdahale etmektedir. Bu etkilerin sonucunda gen ifadesi değişmektedir. Ayrıca mitokondriyal DNA'yı ve onun işlevlerini de etkilemektedir. Kovalent olmayan bağlanmalar geri dönüşümlüdür. Kovalent olmayan bağlantıların üç çeşidi vardır. 1) Elektrostatik bağlanma: DNA'nın negatif yüklü fosfat omurgası ile pozitif yüklü uçları olan küçük moleküller arasında gerçekleşir. 2) Oluk bağlanma: DNA üzerindeki büyük ve küçük oluklara maddeler hidrojen bağları ya da van der Waals etkileşimlerini ile bağlanırlar. 3) İnterkalasyon: Küçük moleküllerin nükleik asit baz çiftlerinin arasına girmesi ile oluşur (Rehman ve diğerleri, 2015). DNA ve maddelerin bağlanma çeşitleri Şekil 2.6'da şematize edilmiştir.



Şekil 2.6. DNA madde bağlanma şekilleri a) DNA'nın cis-platin ile kovalent bağ yapması b) DNA'nın küçük oluğa bağlanan netropsin ile etkileşimi c) DNA'nın interkalasyon yapan aktinomisin D ile olan etkileşimi (Shaikh ve Jayaram, 2006).

Bitkilerdeki bazı fenolik bileşikler böceklere ve mantarlara karşı doğal savunma aracıdır. Aktif furanokumarinler DNA'nın yapısına girip pirimidin bazları ile bağlanabilmektedirler. Bunun sonucunda transkripsiyon ve replikasyon faaliyetleri duran hücreler ölmektedir. Bu özelliğe sahip furanokumarinler kereviz, yabani havuç, maydanoz gibi türleri içeren *Umbelliferae* familyasında bulunmaktadırlar. Strese mazur kaldığında bitki bu bileşikleri normalden 100 kat daha fazla üretmekte ve hastalıklı ya da stres altında büyütülmüş kereviz bitkisine dokunan kişinin derisinde kızarıklar oluşmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008: 291-292).

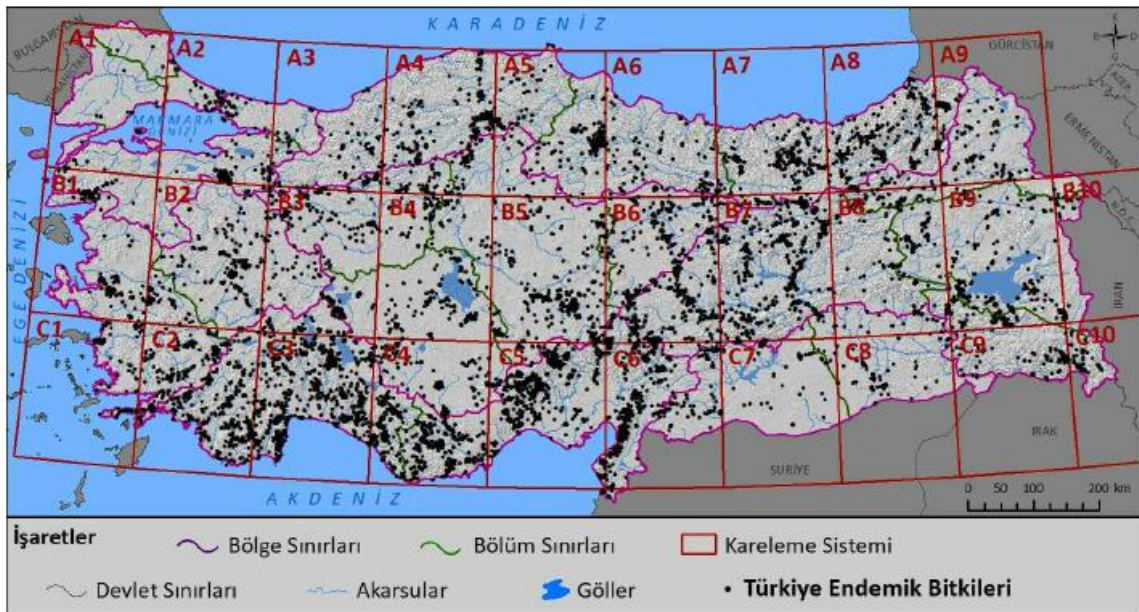
Serbest radikaller sağlıklı hücelere saldırarak kansere neden olabilirler. Eşlenmemiş elektronlara sahip olan bu maddeler kararlı hale gelebilmek için diğ  er moleküllerden elektron ele geçirirler. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu etkileyerek ve DNA üzerinde farklı etkilerde bulunarak DNA hasarını engelleyen doğal bileşiklerdir. Bazı antioksidanların DNA ilaç etkileşimleri üzerinde etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmaya göre kemoterapi esnasında antioksidan desteği almanın, DNA'ya bağlanma yönünden birbirleri ile benzer mekanizmalara sahip oldukları için, ilaçtan istenilen sonucu almayı azalttığı bulunmuştur (Muti ve Muti, 2018).

3. MATERİYAL METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Bitkisel materyal

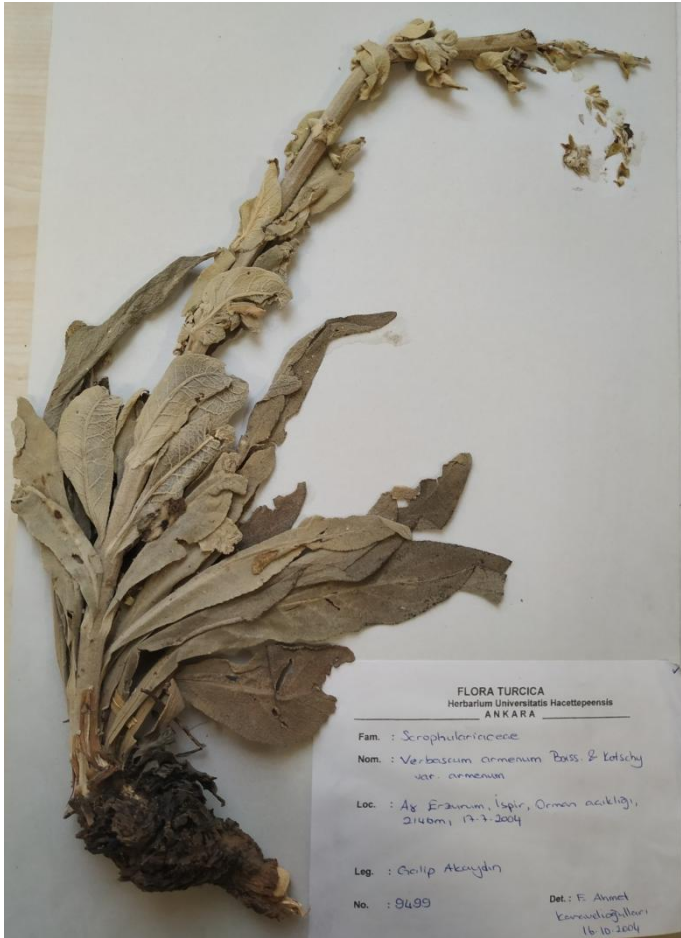
Çalışmada kullanılan *Verbascum armenum* Boiss. et Kotschy var. *armenum* Boiss. et Kotschy bitkisi Muş'a 60 km. yakındaki Esentepe bölgesinden, 1300-1200 m yükseklikten 21.06.2012 tarihinde Yrd. Doç. Dr. Ahmet Faik Karavelioğulları tarafından toplanmış ve teşhisi yapılmıştır. Bitkinin doğal habitatından bir fotoğraf Resim 3.1'de verilmiştir. Resim 3.2'de Gazi Üniversitesi Herbaryumu'nda bulunan bitkinin gövde ve yapraklarının kurutulmuş örneğinin fotoğrafı görülmektedir. Resim 3.3'de ise bitkinin çiçeklerinin kurutulmuş örnek fotoğrafı görülmektedir. Bitkinin toplandığı konum bölge, bölüm ve kareleme sistemine göre Harita 3.1'de görüldüğü üzere B8 bölgesindedir.



Harita 3.1. Türkiye endemik bitkilerinin bölge, bölüm ve kareleme sistemine göre dağılımı (Şenkul ve Kaya, 2017)



Resim 3.1. *Verbascum armenum* subsp. *armenum* (Behçet ve Yapar, 2019)



Resim 3.2. *Verbascum armenum* subsp. *armenum* bitkisinin kök ve yapraklarının kurutulmuş herbaryum örneği



Resim 3.3 *Verbascum armenum* subsp. *armenum* bitkisinin çiçeklerinin kurutulmuş herbaryum örneği

3.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Araştırmada *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, , *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterileri ve *Candida tropicalis* NRRL Y-1296, *Candida albicans* ATCC 1021ve *Candida krusei* ATCC 62586 mayaları kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, Dimetil sülfoksit (DMSO), Nutrient agar (Merck), Saboroud dekstrozu agar (Merck), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma), Nutrient broth (Merck), Sodyum klorür (Merck), (Sigma), Gallik asit (Sigma), Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Sigma), Etidyum bromür (Merck) Folin reaktifi (Merck), Metanol (Merck), Distile su, (Merck), Agaroz (Sigma), Etanol (Merck), Tris Asetat EDTA (TAE) (Sigma), Brom fenol blue (Merck), Sodyum karbonat (Na_2CO_3) şeklindedir.

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve aletler; şırıngalar, petri kapları (90x15mm) (LP Italiana), mikropipet uçları (LP Italiana), jel görüntüleme cihazı (Biometra), mikrosantrifüj tüpleri (LP Italiana), şırınga ucu filtre (0,45 μm) (Sartorius), erlen, beher, mezür, cam şişe, drigalski spatülü, halka uçlu öze, pamuk, 10 cc şırınga, 96 kuyucuklu mikrolaka, farklı hacimlerde mikropipetler, otoklav, etüv, kit saklama dolabı (+4 °C) (Sanyo), güç kaynağı, steril kabin, santrifüj, yatay elektroforez sistemi, vorteks, lateks eldiven, mikrodalga fırın (Vestel) şeklindedir.

3.2. Metotlar

3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması

Araştırmada kullanılan *V.armenum* bitkisi öncelikle kurutulması için rutubetsiz ve serin bir ortamda bekletilmiştir. Kurutulan bitki materyal blender kullanılarak toz hale getirilmiştir. Toz haline gelmiş olan bitki tartılmış ve bitki ağırlığının on katı kadar çözücü eklenmiştir. Çözücü olarak metanol ve etanol seçilmiştir. Çözelti bir hafta, karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bir haftanın sonucunda çözelti kurutma kâğıdı ile süzölmüş sonrasında evaporatörde 45 °C'de 70 mbar basınç aralığında çözücüsünden ayrılmıştır. Bu işlemin sonucunda bitkinin katı özütü elde edilmiştir. Özüt miktarının tartılması ile % verim hesaplanmıştır.

3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

Besiyerlerinin hazırlanması

Çalışmamızda bakterilerinin gelişmesi için Nutrient agar ve Nutrient broth kullanılmıştır. Nutrient agar'dan 28 gr alınıp 1000 ml saf su içinde karıştırılmış ve çözülmesi sağlanmıştır. Besiyerleri belirtilen şekilde hazırlandıktan sonra 121 °C'de, 1,5 atm basınçta, 15 dakika steril edilmiştir. Steril petri kaplarına yaklaşık olarak 25 ml olacak şekilde dökülmüş, besiyerinin katılaşması beklendikten sonra +4 °C'deki buzdolabına kaldırılmıştır. Nutrient broth 8 gr tartılmış üzerine 1000 ml saf su eklenerek karıştırılarak çözünmesi sağlanmıştır. 5 ml'lik kapaklı tüplere sıvı besiyerleri eklenmiş ve steril edilmiştir. Sıvı besiyerleri de +4 °C'deki buzdolabına kaldırılmış ve saklanmıştır.

Bitki özütlerinin konsantrasyonlarının hesaplanması

Antimikrobiyal etki tayini için metanol ve etanol özütlerinin her biri 100 mg/ml ve 200 mg/ml yoğunlukta olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözdürülmüştür. Sterilizasyonu sağlamak için özütler antimikrobiyal etki deneylerinde kullanılmadan önce 0,45 µm çapındaki filtrelerden geçirilmiştir. DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır. DMSO içinde çözülerek hazırlanan özütler koyu renkli ve kapaklı şişelerin içerisinde antimikrobiyal etki deneyleri yapılncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanılmıştır.

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmamızda kullanılan bakteriler ve mayalar stok kültürlerin aktiveleştirilmesiyle elde edilmiştir. Aktifleştirme esnasında bakteriler için Nutrient agar, mayalar için Saboroud dekstroz agar kullanılarak daha önceden hazırlanan besiyerlerine ekilmiştir. Ekim yapılmış besiyerleri etüve kaldırılmış, bakteriler 37 °C'de 24 saat, mayalar 30 °C'de 48 saat süreyle beklemeye bırakılmıştır. %0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltisi hazırlanmış, bekleme süresi bitiminde etüvden çıkarılan besiyerlerindeki tek koloni düşmüş bölgelerinden mikroorganizmalar öze yardımı ile alınmış ve çözeltiye eklenmiştir. Mikroorganizma konsantrasyonu 0,5'lik McFarland standardına göre ayarlanmıştır.

Agar kuyucuk yöntemi uygulanırken, 0,5 McFarland standardına göre ayarlanan mikroorganizma süspansiyonlarından 100 µl alınarak katı besiyerlerine ilave edilmiş ve drigalski özesiyle petrilere yayılmıştır. Steril edilmiş olan 6 mm çapındaki delgeç ile besiyerlerinde belirli aralıklarla kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış bitki özütlerinden eklenmiştir. İşlem sonrası petriler iki saat buzdolabında bekletilerek bakteriler 37 °C’lik etüve, mayalar 30 °C’lik etüve kaldırılmıştır. Bakteriler için 24 saatlik, mayalar için 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda oluşan zonların çapları mm olarak ölçülmüştür. Bu işlem metanol ve etanol özütleri için üç kere tekrarlanmış, elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Negatif kontrol olarak bitki özütlerinin çözücüsü olan DMSO kullanılmıştır. Bakteriler için kloramfenikol ve ampisilin; mayalar için ketakanazol pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerinin belirlenmesi

Mikroorganizma kültürleri serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland standardına göre hazırlanmıştır. Özütler 200 mg/ml konsantrasyondan başlayarak içerisinde sıvı besiyeri bulunan 96 kuyulu mikropklarda her bir kuyuda konsantrasyon yarıya düşecek şekilde 8 konsantrasyon olacak şekilde seyreltilmiştir. 0,5 McFarland standardına göre ayarlanan mikroorganizmalar 1/10 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve her kuyuya 5 µl mikroorganizma süspansiyonundan eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak besiyeri ve mikroorganizma; negatif kontrol olarak da DMSO kullanılmıştır. Mikropkların üstü kapatılmış ve bakteriler için 37 °C’de 24 saat; mayalar için ise 30 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sonucunda her bir kuyucuktan 10 µl alınarak katı besiyerine damlatma ekim yapılmış ve besiyerleri tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Mikroorganizma gelişiminin azaldığı en düşük konsantrasyon minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri; mikroorganizma gelişiminin tamamen durduğu en düşük konsantrasyon ise bakteriler için minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK), mayalar için minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) olarak kaydedilmiştir.

3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi

Bitki özütlerinin hazırlanması

Bitkinin antioksidan etkilerinin saptanması için 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ve toplam fenolik içerik tayini yöntemi çalışılmıştır. Bunun için öncelikle bitkinin metanol ve etanol özütü 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır.

DPPH yöntemi

Bitki özütlerinin serbest radikal süpürücü etkisini belirlemek için % 0,004 DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlanmıştır. Çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan özütlerden 1 ml, % 0,004'lük DPPH çözeltisinden de 1 ml alınarak karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir.

Örnekler UV spektrofotometrede 517 nm'de ölçülerek okunan absorbans değeri, kontrol olarak kullanılan örnek (1ml çözücü+1ml DPPH) baz alınarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır. DPPH'nin % inhibisyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

Toplam fenolik içerik miktar tayini

Çalışmada 1 mg/ml konsantrasyondaki bitki özütleri ve gallik asit hazırlanmıştır. Deneyde 100 µl özüt üzerine 200 µl %50'lik Folin-Ciocalteau reaktifi eklenerek 3 dakika beklenilmiştir. Son olarak 1 ml %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda UV spektrofotometrede 760 nm'de ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar standart gallik asit grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak µg gallik asite eşdeğer mg özüt miktarı olarak hesaplanmıştır.

3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi

V. armenum metanol özütü DMSO içerisinde 20 mg/ml konsantrasyonda hazırlanarak plazmit DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Metanol özütü 20 mg/ml'den başlayarak 7 konsantrasyon seyreltilip plazmid DNA ile 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda agaroz jel elektroforezi ile bantlar gözlenmiştir. Agaroz jel elektroforezi saflaştırılmış protein ve nükleik asitlerin, elektriksel bir alanda molekül ağırlığı ve yüklerine göre hareket etmesi ilkesine dayanır. Küçük moleküller jel üzerinde daha hızlı ve rahat ilerledikleri için büyük moleküllerle göre daha ilerde konumlanırlar. Moleküller yüklerine göre pozitif (anod) veya negatif (katod) kutuba yönelir. DNA negatif yüklü bir molekül olduğu için pozitif yöne doğru ilerler. Kontrol olarak metanol özütü ile etkileşime sokulmamış plazmid DNA kullanılmıştır ve ilk kuyucuğa eklenerek karşılaştırılmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Özütlerin % Verimleri

Çalışmada kullanılan *V. armenum* bitkisinden elde edilen metanol ve etanol özütünün yüzde verimleri aşağıdaki gibi hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Çizelge 4.1'e bakıldığında % verim metanol için %12,08 etanol için ise % 6,42 olarak bulunmuştur. Metanol özütünün veriminin daha yüksek olduğu görülmektedir.

$$\text{Yüzde Verim (\%)} = \frac{\text{Ekstraksiyon sonrası elde edilen özüt} \times 100}{\text{Başlangıçta tartılan bitki miktarı}}$$

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan *V. armenum* bitkisinin özüt verimliliği

Özüt çözücüsü	% Verim
Metanol	12,08
Etanol	6,42

4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri

4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmada kullanılan *V. armenum* bitkisinden elde edilen metanol ve etanol özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin saptanması agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Çalışmada bitkinin 100 ve 200 mg/ml konsantrasyonları kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak %100'lük DMSO kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak bakteriler için ampisilin ve kloramfenikol, mayalar için ketokonazol kullanılmıştır. Metanol ve etanol özütlerinin mikroorganizmalara karşı oluşturdukları zon çapları Çizelge 4.2'de ve Çizelge 4.3'te; özütlerin antimikrobiyal etkilerini belirten zon çapları Resim 4.1'de ve Resim 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *V. armenum* bitkisinin metanol özütünün agar difüzyon yöntemi ile çalışılmasıyla elde edilen inhibisyon zon çapları (mm)

Mikroorganizma	<i>Verbascum armenum</i> 100 mg/ml	<i>Verbascum armenum</i> 200 mg/ml	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>B. cereus</i> NRRL B-3711	11,00±1,00	11,66±2,88	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	12,33±1,03	14,83±1,60	-	23±1	21±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	18±0	25±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-	8±0	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	11,33±0,81	14,33±0,57	-	44±1	24±1	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	60±0	34±0	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	27±0	20±0	-
<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 13883	13,80±1,92	16,00±1,54	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 1021	-	-	-	-	-	11±1
<i>C. tropicalis</i> NRRL Y-1296	-	-	-	-	-	18±1
<i>C. krusei</i> ATCC 62586	-	-	-	-	-	33±0

*Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)

Çizelge 4.2'ye bakıldığında *V.armenum*'un metanol özütünün 100 mg/ml'lik ve 200 mg/ml'lik konsantrasyonlarında *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 ve *K.pneumoniae* ATCC 13883 bakteri suşları üzerinde etkisi görülmüştür. 100 mg/ml'lik metanol özütü konsantrasyon için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 11 ± 1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $12,33\pm1,03$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $11,33\pm0,81$ mm ve *K.pneumoniae* ATCC 13883'ün $13,8\pm1,92$ mm olarak ölçülmüştür. 200 mg/ml'lik metanol özütü konsantrasyon için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in $11,66\pm2,88$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $14,83\pm1,60$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $14,33\pm0,57$ mm ve *K.pneumoniae* ATCC 13883'ün $16\pm1,54$ mm olarak ölçülmüştür.

Verbascum armenum bitkisinin metanol özütünün çalışmada kullanılan mayalar üzerinde antifungal etkisinin olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.3'ye bakıldığında *V.armenum*'un etanol özütünün 100 mg/ml'lik ve 200 mg/ml'lik konsantrasyonlarında *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakteri suşları üzerinde etkisi görülmüştür. 100 mg/ml'lik etanol özütü konsantrasyon için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in $10,66\pm0,57$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $9,5\pm0,54$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $11,33\pm1,75$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $11,5\pm0,54$ mm olarak ölçülmüştür. 200 mg/ml'lik etanol özütü konsantrasyon için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in 12 ± 1 mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $10,22\pm0,66$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $13,83\pm1,32$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $13\pm1,41$ mm olarak ölçülmüştür.

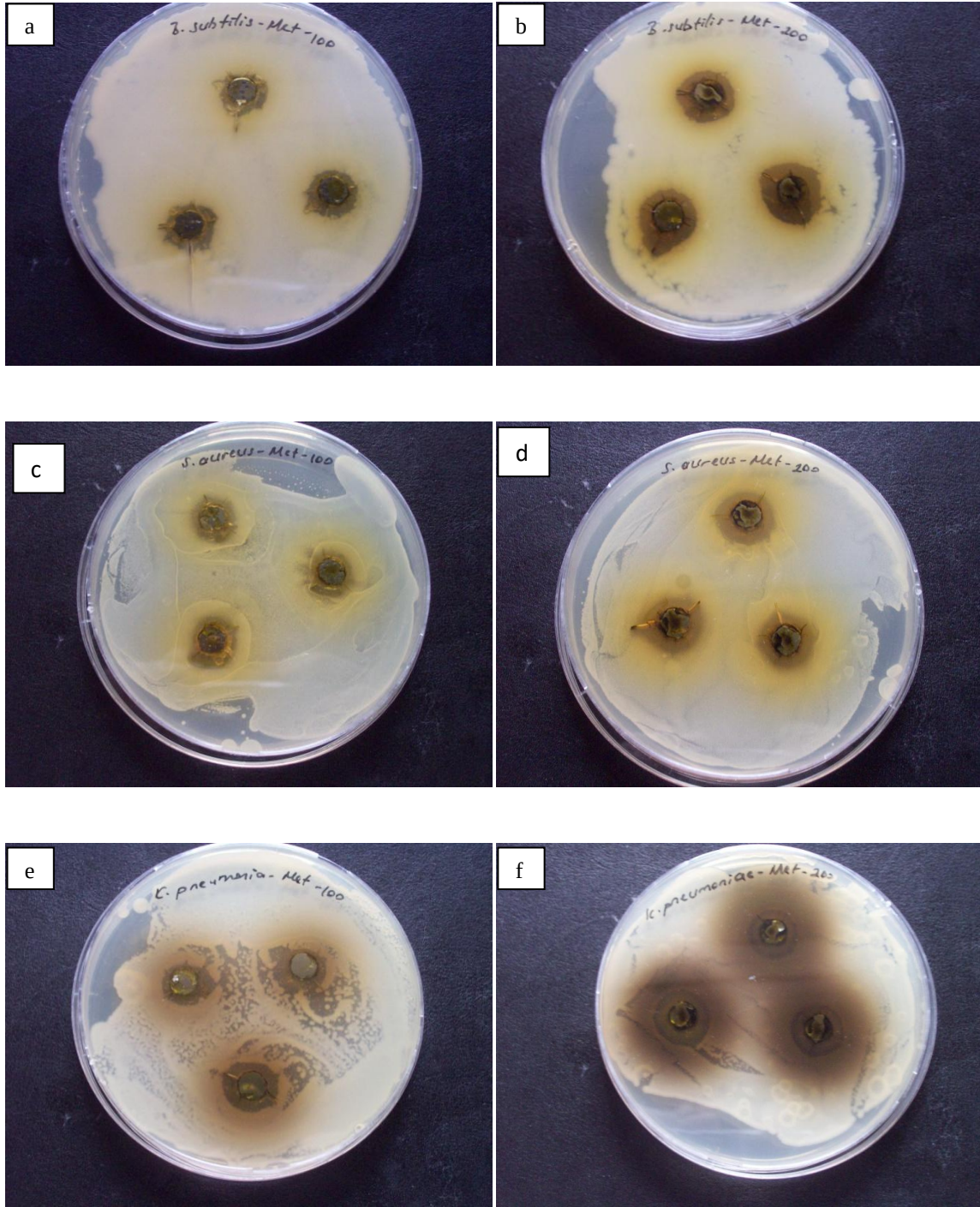
V. armenum bitkisinin etanol özütünün çalışmada kullanılan mayalar üzerinde antifungal etkisinin olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak *V. armenum* etanol ve metanol özütlerinin bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, metanol özütünün etanol özütüne göre daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Metanol özüt zonları Resim 4.1'de, etanol özüt zonları Resim 4.2'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan özütler patojen mayalar üzerinde etki göstermemiştir.

Çizelge 4.3. *V. armenum* bitkisinin etanol özütünün agar difüzyon yöntemi ile çalışılmasıyla elde edilen inhibisyon zon çapları (mm)

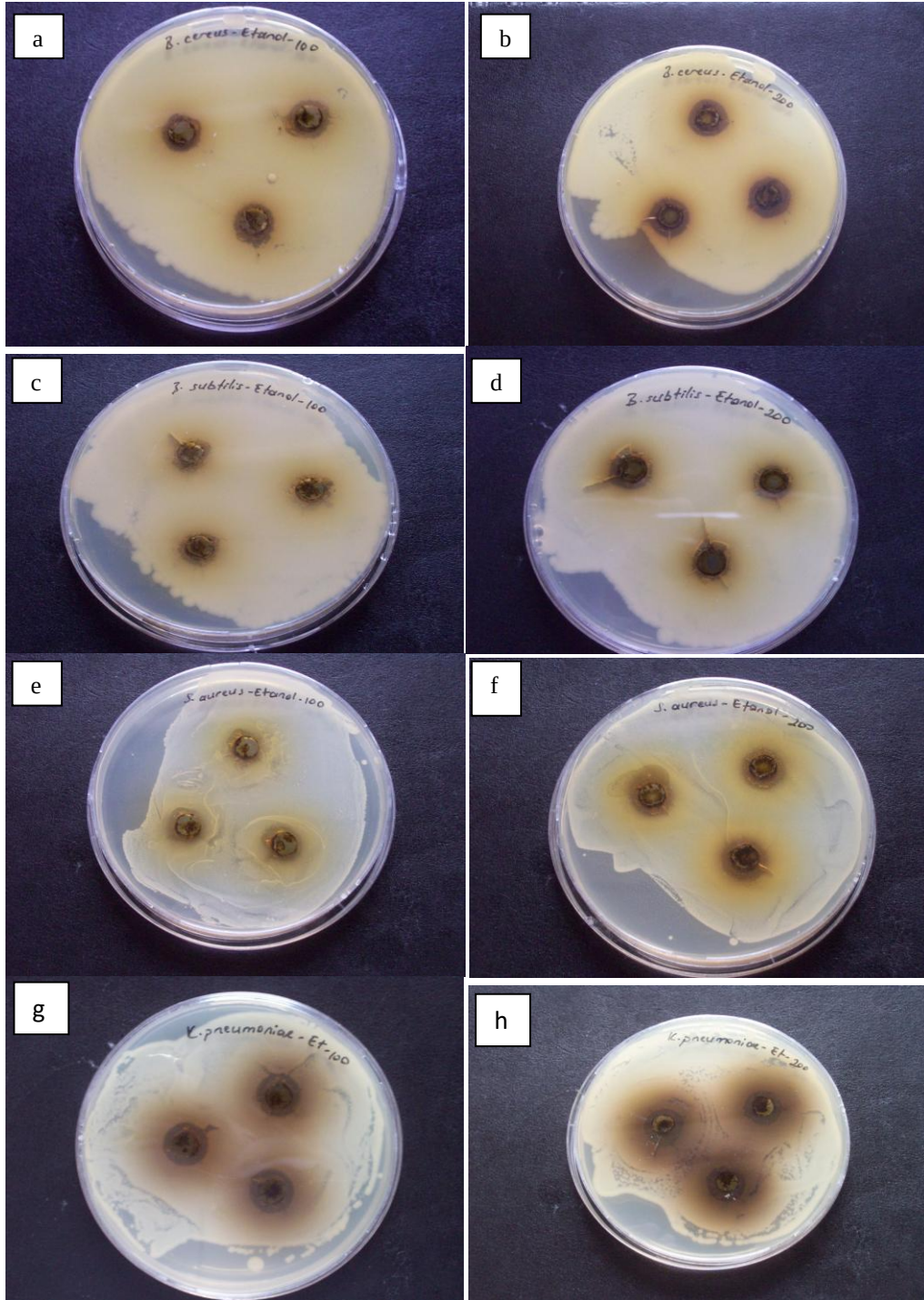
Mikroorganizma	Verbascum 100 (mg/ml)	Verbascum 200 (mg/ml)	DMSO	Amp*	C*	Keto*
<i>B. cereus</i> NRRL B-3711	10,66±0,57	12,00±1,00	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	9,50±0,54	10,22±0,66	-	23±1	21±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	18±0	25±0	-
<i>E. coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-	8±0	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	11,33±1,75	13,00±1,00	-	44±1	24±1	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	60±0	34±0	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	27±0	20±0	-
<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 13883	11,50±0,54	13,00±1,41	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 1021	-	-	-	-	-	11±1
<i>C. tropicalis</i> NRRL Y-1296	-	-	-	-	-	18±1
<i>C. krusei</i> ATCC 62586	-	-	-	-	-	33±0

*Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)



Resim 4.1. *Verbascum armenum* bitkisinin metanol özütlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları (mm)

- (a) 100 mg/ml metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi,
- (b) 200 mg/ml metanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi,
- (c) 100 mg/ml metanol özütünün *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi,
- (d) 200 mg/ml metanol özütünün *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi,
- (e) 100 mg/ml metanol özütünün *K. pneumoniae* ATCC 1388 üzerine etkisi,
- (f) 200 mg/ml metanol özütünün *K. pneumoniae* ATCC 1388 üzerine etkisi,



Resim 4.2. *Verbascum armenicum* bitkisinin etanol özütlerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonları (mm)

- (a) 100 mg/ml etanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi,
- (b) 200 mg/ml etanol özütünün *B. cereus* NRRL B-3711 üzerine etkisi,
- (c) 100 mg/ml etanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi,
- (d) 200 mg/ml etanol özütünün *B. subtilis* ATCC 6633 üzerine etkisi,
- (e) 100 mg/ml etanol özütünün *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi,
- (f) 200 mg/ml etanol özütünün *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi,
- (g) 100 mg/ml etanol özütünün *K.pneumoniae* ATCC 1388 üzerine etkisi,
- (h) 200 mg/ml etanol özütünün *K.pneumoniae* ATCC 1388 üzerine etkisi,

4.2.2. Özütlerin minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonucuna göre özütlerin etki gösterdiği bakterilere MİK deneyi uygulanmıştır. *V. armenum*'e ait metanol ve etanol özütlerine 200 mg/ml konsantrasyondan başlanarak seyreltme yapılmıştır. *Verbascum armenum*'un minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) sonuçları Çizelge 4.4'de, minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) sonuçları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. *V. armenum* 'un etanol ve metanol özütlerinin MİK değerleri (mg/ml)

Mikroorganizma	Metanol	Etanol
<i>B. cereus</i> NRRL B-3711	6,250	3,125
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6,250	6,250
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,250	6,250
<i>K.pneumoniae</i>	25,000	12,500

Çizelge 4.5. *V. armenum* 'un etanol ve metanol özütlerinin MBK değerleri (mg/ml)

Mikroorganizma	Metanol	Etanol
<i>B. cereus</i> NRRL B-3711	6,250	3,125
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6,250	6,250
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12,500	25,000
<i>K.pneumoniae</i>	25,000	50,000

Hem MİK hem MBK değerlerine bakıldığı zaman etanol ve metanol özütlerinin her ikisinin de düşük konsantrasyonda bile (3,125 mg/ml) *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisi üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

4.3. Antioksidan Sonuçları

4.3.1. DPPH radikali süpürücü etki

Özütlerin antioksidan aktiviteleri süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada *Verbascum armenum*'un metanol, etanol özütlerinden 20-100 µg/ml aralığında farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Özütlerin ve BHT'nin 517 nm'de okunan absorban değerleri;

% İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$ formülü ile bulunmuştur. Metanol ve etanol özütlerinin 20-100 µg/ml konsantrasyon aralığında ölçülen % inhibisyon değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. IC50 değeri ise Çizelge 4.7'de ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

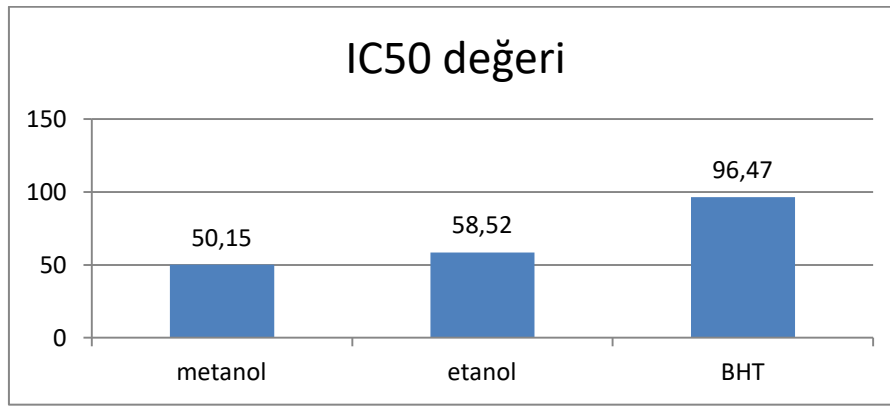
Çizelge 4.6. *V. armenum* bitkisinin özütlerinin radikal etki değerleri (% inhibisyon)

Konsantrasyon Özüt	20 µg/mL	40 µg/mL	60 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL
Metanol	20,74±3,93	41,75±2,36	59,42±4,54	78,71±4,86	91,78±0,76
Etanol	13,71±0,88	29,29±0,99	55,86±1,62	72,82±0,71	85,14±2,20

Çizelge 4.7. *V. armenum* özütlerinin IC50 değerleri (µg/ml)

Özütler	Metanol	Etanol	BHT
IC50 Değerleri	50,15±3,08	58,52±0,88	96,47±0,32

IC₅₀ değeri özütün veya standardın serbest radikali süpürdüğü % inhibisyon değerinin yarısına karşılık gelen derişim değeri olarak bilinmektedir. IC₅₀ değerinin düşük olması antioksidan etkinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çizelge 4.7'ye göre bitkinin metanol özütünün de etanol özütünün de IC₅₀ değerlerinin kontrol BHT'ye göre daha düşük olduğu görülmektedir. Özütler kendi arasında karşılaştırıldığında metanol özütünün daha düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu görülmüştür. Özütlerin ve standardın DPPH süpürücü aktivitesi en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla şu şekildedir: Metanol özütü (IC₅₀: 50,15±µg/ml) > etanol özütü (IC₅₀: 58,52±0,88 µg/ml) > BHT (IC₅₀: 96,47±032 µg/ml)



Şekil 4.1. Özütlerin ve BHT' nin DPPH süpürücü aktivitelerinin IC₅₀ değerleri (µg/ml)

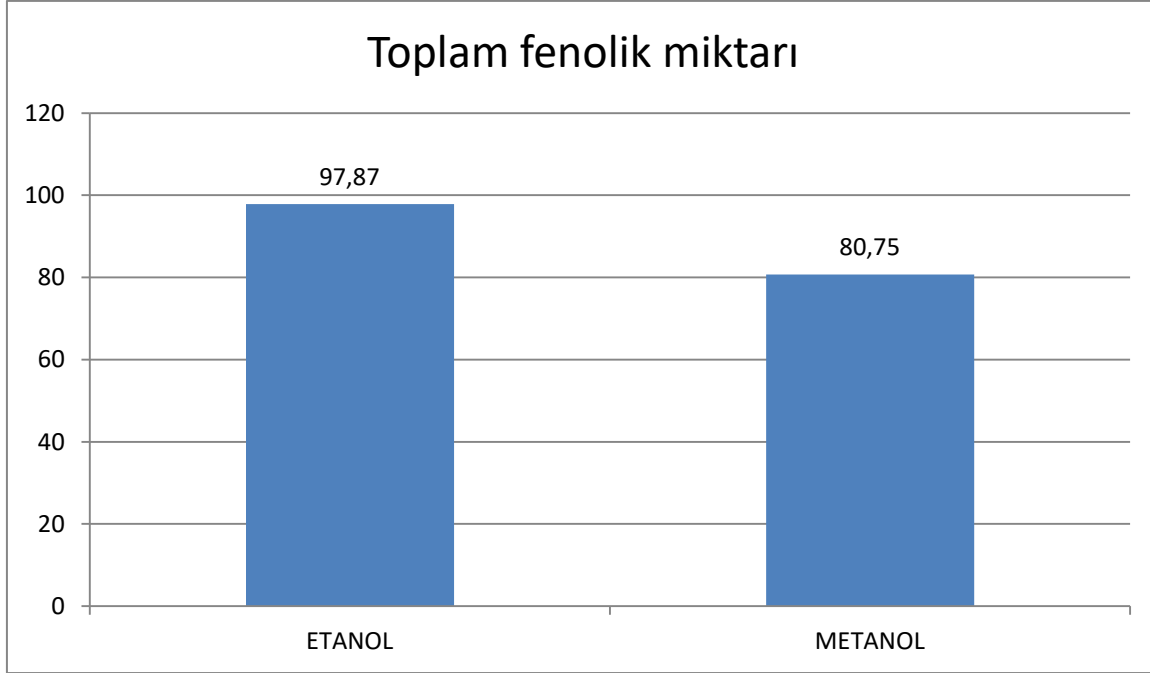
4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini

Toplam fenolik içerik tayininde kontrol olarak gallik asit kullanılmış ve standart grafik elde edilmiştir. Bitki özütlerinin toplam fenolik içeriklerinin miktarı (µg), standart grafik yardımıyla elde edilen denklem kullanılarak gallik asite eşdeğer fenolik madde miktarı cinsinden hesaplanmıştır. Özütlerin toplam fenolik madde miktarları (µg GAE/mg özüt) Çizelge 4.8 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. *V. armenum* özütlerinin GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik madde miktarı değerleri (µg GAE/mg özüt)

Özütler	Etanol	Metanol
Toplam fenolik madde değerleri	97,87±4,40	80,75±2,64

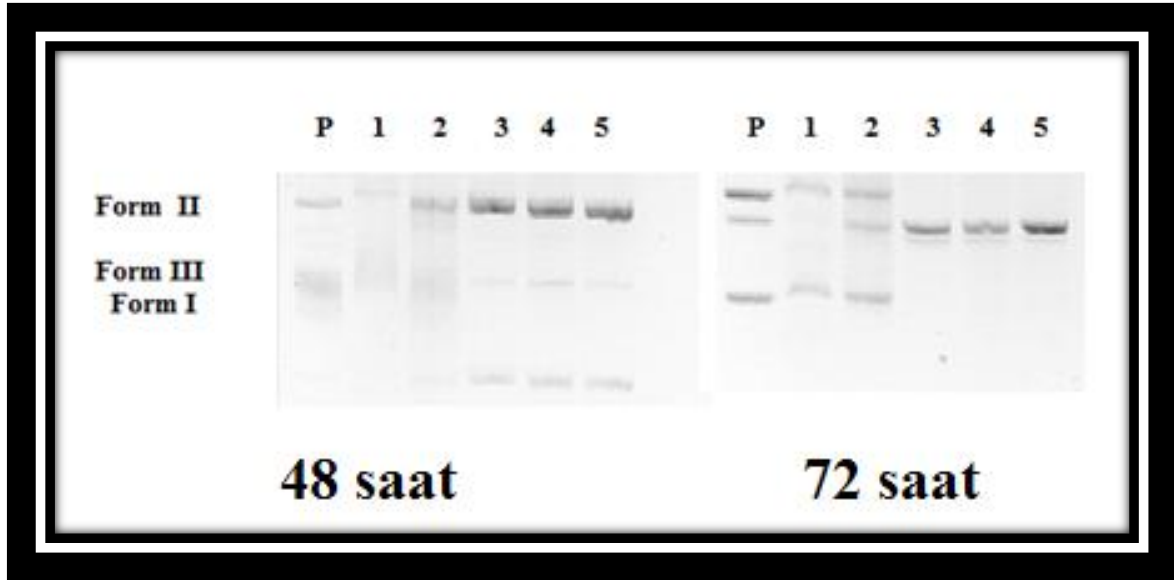
V. armenum bitkisinin etanol özütünün toplam fenolik madde içeriğinin $97,87 \pm 4,40$ μg GAE/mg olduğu, metanol özütünün toplam fenolik madde içeriğinin ise $80,75 \pm 2,64$ μg GAE/mg olduğu hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre etanol özütünün toplam fenolik madde miktarının metanol özütünden daha fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2. Bitki özütlerinin fenolik içerik miktarları (μg GAE/mg özüt)

4.4. DNA Etkileşimi

20, 10, 5, 2,5 ve 1,25 mg/mL'lik bitki özütü plazmit DNA ile 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Etkileri gözlemek için DNA-madde karışımı agaroz jelde 2 saat yürütülerek DNA görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır (Resim 4.3). Resimden de gözleneceği gibi 48 saatte en yüksek iki konsantrasyonda form I gözlenmezken sonraki azalan konsantrasyonlarda gözlenmiştir. Ayrıca tüm konsantrasyonlarda form II DNA da gözlenmiştir. Bantların yoğunluğu bakımından incelendiğinde kontrole göre form II DNA'nın konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Form I, supersarmal plazmit DNA'yı Form II açık halkasal plazmit DNA'yı ve form III de doğrusal DNA'yı gösterir. Doğrusal DNA'nın gözlenmesi bitki özütünün DNA'da çift sarmal kırılmasına neden olduğunun göstergesidir. DNA'nın daha fazla inkübasyonu da doğrusal DNA varlığında artışa neden olmuştur.



Resim 4.3. Bitki özütü ve plazmit DNA inkübasyonunun agaroz jel elektroforezi. P:Kontrol plazmit DNA, 1-5, DNA ile etkileşime sokulan özütün artan konsantrasyondan azalan konsantrasyona doğru etkilerini göstermektedir (20, 10, 5, 2,5 ve 1,25 mg/ml'lik bitki özütü- plazmit DNA)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Verbascum armenum BOISS ET KOTSCHY var. *armenum* BOISS ET KOTSCHY bitkisinin metanol ve etanol özütlerinin 100 mg/ml ve 200 mg/ml'lik konsantrasyonları hazırlanarak antimikrobial aktivite çalışması yapılmıştır. Deneylerde agar difüzyon ve MİK yöntemleri kullanılmıştır. Hazırlanan özütlerden, metanol özütünün 100 mg/ml'lik ve 200 mg/ml'lik konsantrasyonlarında, ayrıca etanol özütünün 100 mg/mL'lik ve 200 mg/ml'lik konsantrasyonlarında *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakteri suşları üzerinde ortak olarak etkili olduğu görülmüştür.

Metanol özütünün 100 mg/ml'lik konsantrasyonundaki zon çapları sırası ile *B. cereus* NRRL B-3711'in $11,00 \pm 1,00$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $12,33 \pm 1,03$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $11,33 \pm 0,81$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $13,80 \pm 1,92$ mm olarak ölçülmüştür. 200 mg/ml'lik metanol özütü konsantrasyonu için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in $11,66 \pm 2,88$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $14,83 \pm 1,60$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $14,33 \pm 0,57$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $16,00 \pm 1,54$ mm olarak ölçülmüştür.

Etanol özütünün 100 mg/ml'lik konsantrasyonundaki zon çapları sırası ile, *B. cereus* NRRL B-3711'in $10,66 \pm 0,57$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $9,50 \pm 0,54$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $11,33 \pm 1,75$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $11,50 \pm 0,54$ mm olarak ölçülmüştür. 200 mg/ml'lik etanol özütü konsantrasyonu için zon çapları sırasıyla *B. cereus* NRRL B-3711'in $12,00 \pm 1,00$ mm, *B. subtilis* ATCC 6633'ün $10,22 \pm 0,66$ mm, *S. aureus* ATCC 25923'ün $13,83 \pm 1,32$ mm ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'ün $13 \pm 1,41$ mm olarak ölçülmüştür. Kullanılan her iki özütte de en yüksek etkinin *K. pneumoniae* ATCC bakterisine karşı olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Özütlerin zon çaplarının birbirine yakın değerlerde olduğu görülmektedir. Fakat metanol özütünün daha etkili olduğu sonuçlara göre söylenebilir. Zon çapları arasındaki bu fark, çözücüsü birbirinden farklı olan ikincil metabolitlerin varlığına işaret etmekte olabilir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak, bakterilerin zon çaplarında artış olduğu görülmüştür. Fakat oransal olarak doğrusal bir artışın olmadığı söylenebilir.

Bakterilerin MİK değerleri metanol özütünde *B. cereus* ve *B. subtilis* için 6,25 mg/ml *S. aureus* için 12,50 mg/ml ve *K. pneumoniae* için 25 mg/ml olduğu bulunmuştur. Etanol özütü için ise *B. cereus* için 3,125 mg/ml, *B. subtilis* için 6,25 mg/ml *S. aureus* için 25 mg/ml ve *K. pneumoniae* için 50 mg/ml olarak ölçülmüştür.

Zon çapları açısından en yüksek etkinin *K. pneumoniae* üzerinde olduğu gözlenirken MİK değeri diğer bakterilere göre daha yüksektir. Bu nedenle etkinin doz bağımlı olduğu söylenebilir. *B. cereus* üzerindeki etkinin ise etanol ve metanol özütleri için 3,125 gibi düşük konsantrasyonlarda dahi mevcut olduğu görülmüştür.

B. subtilis ve *B. cereus* bakterileri için MİK değeri ve MBK değerlerinin aynı olduğu, *S. aureus* bakterisinin MBK değerlerinin MİK değerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* bakterisi için, metanol özütünün MİK ve MBK değerinin aynı olduğu, etanol özütünün ise daha yüksek bir MBK değerinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Turker ve Camper 2002, *Verbascum thapsus* L. bitkisinin metanol, etanol ve su ekstraktlarının antimikrobial etkisini *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerinde disk difüzyon yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Özütlerin *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'e karşı etkili olduğu gözlenmiştir.

Dülger ve diğerleri 2002, ülkemiz için endemik olan *Verbascum olympicum* Boiss., *Verbascum prusianum* Boiss., ve *Verbascum bombyciferum* Boiss. bitkilerinin metanol ekstraktlarını disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobial ve antifungal özellikleri yönünden araştırmışlardır. Yapılan çalışmada bu 3 türün de *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella thyphi* gibi Gram (-) bakterileri etkilemediği gözlenirken, Gram (+) olan *Micrococcus luteus*, *Corynebacterium xerosis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, ve *Mycobacterium smegmatis* bakterilerinde antimikrobial etki gözlenmiştir. Ayrıca *Candida albicans* üzerinde de antifungal özellik gözlenmiştir.

Dülger ve Gönüz 2002, ülkemiz için endemik *Verbascum gypsicola* türü ile yapılan çalışmada metanol ekstresi kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile yapılan çalışma

sonucunda bitkinin *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* , gibi Gram (-) bakterileri etkilemediği gözlenirken, Gram (+) olan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis* üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen dikkat çekici verilere göre, *Verbascum gypsicola*'nın *Bacillus cereus* üzerindeki etkisi standart antibiyotikler olan penicillin G (10 ünite), ampicillin (10mg), cefotaxime (30mg)'den daha fazladır. *Staphylococcus aureus* üzerindeki etkisi ise penicillin G (10 ünite), ampicillin (10mg), cefotaxime (30mg), vancomycin (30mg)'den daha fazladır. *Verbascum gypsicola*'nın çalışmada kullanılan *Candida albicans*, *Kluyveromyces fragilis*, *Rhodotorula rubra* mayaları üzerinde antifungal özelliğinin bulunduğu gösterilmiştir.

Tadeg ve diğerleri 2004, geleneksel olarak deri hastalıklarına karşı iyileştirici bir etkisinin olduğu düşünülen *Verbascum sinaiticum*'un yaprakları kullanılarak hazırlanan metanol özütü ile yapılan çalışmada bu özütün *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa*, üzerinde kuvvetli bir antimikrobial etkisinin olduğu gözlenmiştir.

Buruk ve diğerleri 2005, medikal kullanımı üzerine herhangi bir bilginin bulunmadığı endemik *Verbascum varians* var. *trapezunticum* türü ile yaptıkları çalışmada yaprakların su ekstresinin *B. catarrhalis* üzerine antimikrobial etkisinin olduğunu, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* üzerine ise antifungal özelliğinin olduğunu göstermişlerdir.

Senatore ve diğerleri 2007, *Verbascum sinuatum*'un metanol ekstresi ile Müller-Hinton broth dilüsyon metodu kullanılarak bitkinin antimikrobial aktivitesi araştırılmıştır. Özütün Gram (+) olan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* bakterileri ile Gram (-) olan *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Citrobacter diversus*, *Proteus mirabilis* bakterileri üzerinde antimikrobial etkisinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca MİK değerlerinin karşılaştırılması ile Gram (+) bakterilerin özüte karşı daha duyarlılığı olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Barboura ve diğerleri 2004, Lübnan'da bulunan ve medikal kullanımının olduğu söylenen *Verbascum leptostychnum* bitkisinin çiçeklerinden metanol ekstresi elde edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobial aktivite araştırılmıştır ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteria*, *Proteus sp.*,

Salmonella enteritidis, *Salmonella typhi*, *Streptococcus faecalis*, bakterileri üzerinde etki gözlenmiştir. Ayrıca *Candida albicans* üzerinde de antifungal özellik bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan *Verbascum armenum* var. *armenum* bitkisinin diğer *Verbascum* türlerine göre antimikrobiyal etkisinin daha düşük seviyede olduğu söylenebilir. Kullanılan mayalarda etkisinin olmaması nedeni ile de antifungal özelliğinin olmadığı görülmektedir.

Antimikrobial etkisi çok az olan *V. armenum* 'un etanol ve metanol özütlerinin antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü yöntemi ile ve toplam fenolik miktar tayini ile yapılmıştır. Metanol özütü için IC50 değeri $50,15 \pm 3,08$, etanol özütü için $58,52 \pm 0,88$ olarak ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak kullandığımız sentetik antioksidan BHT'nin IC50 değeri ise $96,47 \pm 0,32$ 'dir. Bu sonuçlara göre *V. armenum* 'un serbest radikal süpürücü etkisinin BHT ile kıyaslandığında yaklaşık olarak iki katı fazla olduğu görülmektedir. Bitkinin bu özelliği BHT'nin yan etkilerine karşı doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği düşüncesini doğurmaktadır.

Dalar ve diğerleri 2014, *V. cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* 'un yapraklarının asitlendirilmiş etanol özütü ile yapılan antioksidan aktivite deneyinde folin yöntemi kullanılarak toplam fenolik madde miktarı (GAE/g DW) $39,38 \pm 19,50$ olarak bulunmuştur.

Dalar ve diğerleri 2018, *V. cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* 'un gövde ve çiçeklerinin asitlendirilmiş etanol özütü çıkartılmıştır. Folin yöntemi ile yapılan çalışmada gövdenin ve çiçeklerin toplam fenolik madde miktarları sırasıyla, $76,5 \pm 2,0$ ve $68,3 \pm 1,2$ (mg GAE/g DW) olarak bulunmuştur. Aynı özütlerle yapılan enzim engelleme aktivitesi deneyinde IC50 değeri, gövdede ve çiçeklerde sırasıyla, $1,81 \pm 0,03$ ve $0,46 \pm 0,05$ (mg/ml) olarak hesaplanmıştır.

Dalar ve Konczak 2012, endemik *Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *cheiranthifolium* Boiss. bitkisinin hidrofilik ekstresi ile yapılmış olan çalışmada bitkinin kök, yaprak ve çiçeklerinin toplam fenolik miktarına bakılmıştır. Çalışma sonucunda kökte $20,2 \pm 0,6$ (mg GAE/gDW), yaprakta $33,1 \pm 0,4$ (mg GAE/gDW) ve çiçekte $30,5 \pm 0,3$ (mg GAE/gDW) toplam fenolik madde bulunmuştur. En çok fenolik maddenin yapraklarda olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Akdemir 2004, *Verbascum lasianthum* türünün kökü kullanılarak elde edilen metanol ekstresinden, 3 iridoid glikozit, 8-*O*-acethylharpagide, harpagoside, 6-*O*-vanilloylajugol, ayrıca 2 feniletanoit glikozit; verbascoside ve poliumoside izole edilmiştir. Bu glikozitler kullanılarak DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite deneyi yapılmış ve bu maddelerin yüksek bir antioksidan kapasitelerinin olduğu bulunmuştur.

Tepe ve diğerleri 2006, endemik *Verbascum viedemannianum* bitkisinin metanol ekstresini kullanarak DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite çalışması yapmışlardır. IC50 değeri 117 (mg/ml) $\pm$ 0,56 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, antimikrobial etkisi çok az olan *V. armenum*'un etanol ve metanol özütlerinin antioksidan aktivitesi BHT'den yüksek bulunmuştur. Ayrıca fenolik içeriği de kontrole göre fazla olan bitkinin DNA üzerine de kesim etkisi belirlenmiştir. Kaynak taramasında *Verbascum* türleri ile yapılan DNA etkileşim araştırmalarına tastlanmamıştır. Bu nedenle de çalışmamız yenilikçi bir yaklaşım sergilemektedir. Halk arasında diğer türleri de tıbbi bitki olarak kullanılan çalışmamızda kullanılan bu bitkinin potansiyel ilaç olma ihtimali vardır.

KAYNAKLAR

- Akdemir, Z., Tatlı, İ., Bedir, E. and Khan, I. (2003). Antioxidant Flavonoids From *Verbascum salviifolium* Boiss. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28, 71-75.
- Al-Bayati, A. and Sulaiman, D. (2008). In Vitro Antimicrobial Activity of *Salvadora persica* L. Extracts Against Some Isolated Oral Pathogens in Iraq. *Turkish Journal of Biology*, 32, 57-62.
- Albayrak, S., Aksoy, A. and Hamzaoglu, E. (2008). Determination of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Turkish Endemic *Salvia halophila* Hedge. *Turkish Journal of Biology*, 32, 265-270.
- Amenta, R., Camardab, L., Di Stefanob, U., Lentinia, F. and Venzaa, F. (2000). Traditional Medicine as a Source of New Therapeutic Agents Against Psoriasis. *Fitoterapia*, 71, 13-20.
- Arıdur, R. ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze Otu (*Salvia officinalis*) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17(2), 241-246
- Asımgil, A. (2009). *Şifalı Bitkiler*. (19. Baskı). İstanbul: Timaş Yayınları, 10-11.
- Azimi, J., Aktan, G. ve Uzun, M. (1995). Tırnak Enfeksiyonu Etkeni Olan Mayalar ve Antifungal Maddelere Duyarlılıkları. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 9 (1), 63-69.
- Barboura, E., Al Sharifa, M., Sagheriana, V., Habrea, A., Talhoukb, R. and Talhouk, S. (2004). Screening of Selected Indigenous Plants of Lebanon for Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 1-7.
- Başer, K. H. C. (1995). Tıbbi Bitkiler, *Bilim ve Teknik*, 331, 76-79.
- Baydar, S. N. (2006). *Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. Modern Tıp Alternatif Tıp İle Elele*. (1.Baskı). Ankara: Palme Yayınevi, 8- 9.
- Baytop, T. (1986). *Farmakognozi*. (4. Baskı). İstanbul: Eczacılık Fakültesi Yayınları, 20.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün*.(2. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp, 20-22.
- Behçet, L. and Yapar, Y. (2019). Important Plants at the Matan Mountain (Bingöl/Turkey) Flora with Regard to Beekeeping. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 149-159.
- Benzer, F. ve Ozan, S. T. (2003). *Fasciola hepatica* Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 657-661.

- Bilgehan, H. (1990). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. (6. Basım). İzmir: Barış Yayınları, 24-34.
- Boxtel, C. (2007). *İlaç Yararları ve Riskleri*. Ankara: TEB Yayınları, 83.
- Buruk, K., Sökmen, A., Aydın, F. and Ertürk, M. (2003). Antimicrobial Activity of Some Endemic Plants Growing in the Eastern Sea Region, Turkey. *Fitoterapia*, 77, 388–391.
- Camper, N. D. and Turker, A. (2002). Biological activity of common mullein, a medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 117-125.
- Candan, F. and Sökmen, A. (2004). Effects of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on Lipid Peroxidation and Free Radical Scavenging Activity. *Phytotherapy Research*, 18, 84–86.
- Ceylan, A. (1987). *Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler)*, İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları. 481, 188.
- Ceylan, A. (1996). *Tıbbi bitkiler II*. İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 481, 15.
- Coates, A., Hu, Y., Bax, R. and Page, C. (2002). The Future Challenges Facing the Development of New Antimicrobial Drugs. *Nature Reviews*, 1, 895-910.
- Coşkun F. (2006). Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 27-33.
- Dalar, A. and Konczak, I. (2012). Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: Antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. *Journal of Herbal Medicine*, 2 (4), 126-135.
- Dalar, A., Bengü, A. and Allahverdiyev, O. (2018). Analysis of Phytochemical Composition and Biological Activities of *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* Stem and Flowers. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(3), 233-242.
- Dalar, A., Guo, Y. and Konczak, I. (2014). Phenolic Composition and Potential Anti-inflammatory Properties of *Verbascum cheiranthifolium* var. *cheiranthifolium* leaf. *Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 195-200.
- Davis, P. H. (1978). *Scrophulariaceae*. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press, 458-603.
- Davis, P. H. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: University Press, 190-192
- Doğan, Ö. ve Avcı, A. (2018). Bitkilerle Tedavi ve İlaç Etkileşimleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Public Health-Special Topics*. 4 (1), 49-54.

- Dülger, B., Kırmızı S., Arslan, H. and Güleriyüz, G. (2002). Antimicrobial Activity of Three Endemic *Verbascum* Species. *Pharmaceutical Biology*, 40 (8), 587–589.
- Dülger, B. and Gönüz, A.(2004). Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Salvia*, and *Stachys* Species. *Pharmaceutical Biology*, 42 (4–5), 301–304.
- Eloff, J. (1988). Which Extractand Should Be Used for the Screening and Isolation of a Antimicrobial Components from Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 60, 1-8.
- Ergezer, H. ve Çam, M. (2008 21-23 Mayıs). *Tanenler: Sınıflandırma, Yapıları ve Sağlık Üzerine Etkileri*. Türkiye 10. Gıda Kongresinde sunuldu. Erzurum
- Ertürk Ö. ve Demirbağ, Z. (2003). *Scorzonare mollis* Bieb (Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Ekoloji ve Çevre Dergisi*, 47 (12), 27-31.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- Gök, V., Kayacier, A. ve Telli, R. (2006). Hayvansal ve Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antioksidanlar. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 35-40 .
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek E., Göksan, T. ve Durmaz, Y.(2006). Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. 23, 85-89.
- Hilmi, Ş. (1994). Oksidanlar ve Antioksidanlar. *Türkiye Hastane Tıp Dergisi*, 48 (1-2), 44-49.
- Horn R. C. and Vargas, V. M. F. (2003). Antimutagenic Activity of Extracts of Natural Substances in the Salmonella/Microsome Assay. *Mutagenesis*, 18, 113-118.
- İnternet: Baban, S. (July, 2017). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Klebsiella* species Isolated from Urinary TractInfection.Web:https://www.researchgate.net/publication/319130439_Prevalence_and_Antimicrobial_Susceptibility_of_Extended_Spectrum_Beta_Lactamase_Producing_Klebsiella_pneumonia_isolated_from_Urinary_Tract_Infection_Producing_Klebsiella_pneumoniae_isolated_from_Urinary_Tract_Infection adresinden 4 Ağustos 2019’da alınmıştır.
- İnternet: Shaikh, S. and Jayaram, B. (January, 2006). DNA Drug Interaction. Web: <http://www.scfbio-iitd.res.in/doc/preddicta.pdf> adresinden 23 Temmuz 2019’da alınmıştır.
- Joshi, L., Tiwari, A., Devkota, S., Khatiwada, S., Paudyal, S. and Pan, K. (2014). Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Dairy Farms of Pokhara, Nepal. *International Journal of Veterinary Science*, 3(2), 87-90. *Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 195-200.

- Karavelioğulları, F. A. (2004). Türkiye *Verbascum* 'ları A Grubu Revizyonu, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. s:6.
- Kaynak, G., Daşkın, R., Yılmaz, Ö. and Erdoğan, E. (2006). *Verbascum yurtkuraianum*, a New Species from Northwest Anatolia, Turkey. *Annales Botanici Fennici*, 43, 456-459.
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert J. ve Zienkernagel R., M. (2002). *Tıbbi Mikrobiyoloji*. (9. Baskıdan Çeviri). (çev. Küçüker, M., Tümbay, E., Anđ, Ö., ve Erturan, Z.) İstanbul: Nobel, 222-224, 291-292.
- Kazanç, M. B. (1997). Antioksidan Vitaminler. *Sendrom*. Temmuz, 14-22.
- Kırbağ S. ve Zengin, F. (2006). Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* 16(2), 77-80.
- Korkmaz M. ve Karakurt, E. (2014). Kelkit (Gümüşhane) Aktarlarında Satılan Tıbbi Bitkiler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(3), 60-80.
- Kothavade, J. Kura, M., Valand, A. and Panthaki, M. (2010). *Candida tropicalis*: It's Prevalence, Pathogenicity and Increasing Resistance to Fluconazole. *Journal of Medical Microbiology*, 59, 873–880.
- Kovacs, A. (2019). *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 27(8), 724-725.
- Kozan, E., Tatlı, İ., Kahraman, Ç., Küpeli, E. and Akdemir Z. (2011). The in Vivo Anthelmintic Efficacy of Some *Verbascum* Species Growing in Turkey. *Experimental Parasitology*. 129, 211–214.
- Kuddus, M., Farhana Rumi, F., Haque, M., Hassan M. and Rashid M. (2013). Assessment of Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Properties of Fruits of *Melocanna baccifera* (roxb.) kurz. *Turkish Journal of Pharmecutical Sciences*, 10(2), 185-192.
- Lia, N., Maa, Y., Yanga, C., Guoc, L. and Yanga, X. (2005). Interaction of Anticancer Drug Mitoxantrone with DNA Analyzed by Electrochemical and Spectroscopic Methods. *Biophysical Chemistry*, 116, 199 – 205.
- Lv, Y., Wang, J., Gao, H., Wang, Z., Dong, N., Ma, Q. and Shan, A. (2014). Antimicrobial Properties and Membrane-Active Mechanism of a Potential α -Helical Antimicrobial Derived from Cathelicidin PMAP-36. *Plos One*, 9(1), 86364.
- Mammadov, R. (2014). *Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler*. (1. Baskı). Ankara: Nobel, 1.
- Mat, A. (2010). *Bitkiden İlaca Hepsinin Bir Öyküsü Var*. (1. Baskı). İstanbul: Pharma Vision, 1.

- Mei, L., Zhang, L., Zhang, Y., Lu, Z., Luo, Y., Zhao, Y. and Li, C. (2014). Multivalent Polymer–Au nanocomposites with Cationic Surfaces Displaying Enhanced Antimicrobial Activity. *Polymer Chemistry*, 5, 3038–3044.
- Meriç, M., Rüzgar, M., Gündeş, S. ve Willke A. (2004). Hastanede Yatan Hastalardan İzole Edilen Enterekok Türleri ve Antibiyotiklere Direnç Durumu. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 18(3), 141-144.
- Mert, A., Köksal, F., Ayar, E., Köksal, S., Tabak F., Eroğlu, C., Sağlam, S. ve Öztürk R. (1996). Cerrahpaşa Kliniklerinde *Staphylococcus aureus* Burun Taşıyıcılık Oranı ve Antibiyotik Duyarlılığı. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 10 (4), 380-384.
- Muti, M. and Muti, M. (2018). Electrochemical Monitoring of the Interaction Between Anticancer Drug and DNA in the Presence of Antioxidant. *Talanta*, 178, 1033-1039.
- Nizamlıoğlu, N. ve Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 20-35.
- Odds, F., Brown, A. and Gow, N. (2003). Antifungal Agents: Mechanisms of Action. *Trends in Microbiology*, 11(6), 272-279.
- Özhatay, N., Kültür, Ş. and Gürdal, B. (2017). Check-list of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey VIII. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 47 (1), 31-46.
- Özüdoğru, B., Akaydın, S., Erik, S. and Yeşilada, E. (2011). Inferences from an Ethnobotanical Field Expedition in the Selected Locations of Sivas and Yozgat Provinces (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 85– 98.
- Pardo, F., Perich F., Torres, R. and Monache, F. (2004). Plant Iridoid Glycosides and Phytogrowth-inhibitory Activity of *Verbascum virgatum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 367–370.
- Rehman, S., Sarwar, T., Husain, M., Ishqi, H. and Tabish, M. (2015). Studying Non-Covalent Drug–DNA Interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 576, 49–60.
- Rios J. L. and Reico M.C. (2005). Medical Plants and Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*.100, 80-84.
- Sadıkoğlu, N. (1998). *Cumhuriyet Dönemi Türk Etnobotanik Arastırmalar Arsivi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 75.
- Safaa, B., Chalak L.,Dalleh H. and Arold N. (2015). Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants Used in Traditional Medicine by the Communities of Mount Hermon, Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 139-156
- Samaranayake, H. and Samaranayake, L.P. (1994). *Candida krusei*: Biology, Epidemiology, Pathogenicity and Clinical Manifestations of an Emerging Pathogen. *Journal of Medical Microbiology*, 41, 295-310.

- Sardi, J., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida A. and Mendes Giannini M. (2013). *Candida* Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Options. *Journal of Medical Microbiology*, 62, 10–24.
- Seçmen, Ö., Gemici Y., Görk G., Bekat L. ve Leblebici E.(1998). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*. (5. Baskı). İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 283-284.
- Senatore, F., Rigano, D., Formisano C., Grassia A., Basile, A. and Sergio Sorbo, S. (2007). Phytogrowth-inhibitory and Antibacterial Activity of *Verbascum sinuatum*. *Fitoterapia*, 78, 244–247.
- Sibanda, T. and Okoh A. I. (2007). The Challenges of Overcoming Antibiotic Resistance: Plant Extracts as Potential Sources of Antimicrobial and Resistance Modifying Agents . *African Journal of Biotechnology*, 6(25), 2886-2896.
- Singh, S. and Barrett, J. (2006). Empirical Antibacterial Drug Discovery-Foundation in Natural Products. *Biochemical Pharmacology*, 71, 1006-1015.
- Sirajuddin, M., Ali, S. and Badshah, A. (2013). Drug–DNA Interactions and Their Study by UV–Visible, Fluorescence Spectroscopies and Cyclic Voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1–19.
- Şenkul, Ç. ve Kaya, S. (2017). Türkiye’de Endemik Bitkilerin Coğrafi Dağılışı. *Türkiye Coğrafya Dergisi*, 69, 109-120.
- Tadeg H., Mohammed E., Asres K. and Gebre-Mariam T. (2005). Antimicrobial Activities of Some Selected Traditional Ethiopian Medicinal Plants Used in the Treatment of Skin Disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (1–2), 168-175.
- Taiz, L. ve Zeiger, E. (2008). *Bitki Fizyolojisi*. (3. Baskıdan Çeviri). (Çev. Türkan, İ.) . Ankara: Palme Yayıncılık, 285-292.
- Tan, A. (1992). Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2, 50 – 64.
- Tepe, B., Akpulat, H., Sökmen, M., Daferera, D., Yumrutaş, Ö., Aydın, E., Polissiou, M. and Sökmen A. (2006). Screening of the Antioxidative and Antimicrobial Properties of the Essential Oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, 97, 719–724.
- Toroğlu, S. ve Çenet M. (2006). Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12.
- Tsukagoshi, S. and Ohashi F. (1974). Protein-bound Polysaccharide Preparation, PS-K, Effective Against Mouse Sarcoma 180 and Rat Ascites Hepatoma AH-13 by Oral Use. *Gann Japanese Journal of Cancer Research*, 65, 557-558.
- Turker, U. ve Camper, A. (2002). Biological Activity of Common Mullein, a Medicinal Plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 117–125.

- Tuzlacı E. and Erol M.K. (1999). Turkish Folk Medicinal Plants. Part II: Eğirdir Isparta. *Fitoterapia* (70), 593-610.
- Tyler, V. E. (1993). *The Honest Herbal*. New York: Pharmaceutical Products Press, 219, 220.
- Vaghasiya Y., Sumitra V. and Chanda S. (2007). Screening of Methanol and Acetone Extracts of Fourteen Indian Medicinal Plants for Antimicrobial Activity. *Turkish Journal of Biology*, 31, 243-248.
- Velioğlu, S. (2000). Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda*, 25(3), 167-176.
- Vonderbank, H. (1949). Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose, *Pharmazie*, 4, 198-207.
- Woodworth, B., Tamashiro, E., Bhargave, G., Cohen, N. and Palmer, J. (2008). An *in vitro* Model of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms on Viable Airway Epithelial Cell Monolayers. *American Journal of Rhinology*, 22(3), 235-238.
- Yarnell, E. (1997). Medicinal herbs for otitis media. *Alternative and Complimentary Therapies*, 3, 350-354.
- Yüce, E. (2003). *Verbascum diversifolium* Hub.-Mor. ve *Verbascum birandianum* Hochst. (Scrophulariaceae) Türlerinin Taksonomik Yönden Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ. 25.
- Zhao, L., Tian, S., Wen, E. and Upur, H. (2017). An Ethnopharmacological Study of Aromatic Uyghur Medicinal Plants in Xinjiang, China. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1114–1130.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KILIÇ, Özlem
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 18.01.1986, Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (505)701 07 82
 e-mail : ozlemklc2406@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Fen Bilimleri	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Biyoloji	2010
Lise	Kırıkkale Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-Halen	MEB	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-

Hobiler

Kitap okumak, doğa yürüyüşü yapmak, tiyatroya gitmek.



GAZİ GELECEKTİR..