T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Herniaria glabra L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

ŞEBNEM ÜZMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. SERPİL UĞRAŞ

DÜZCE, 2019

T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Herniaria glabra L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Şebnem ÜZMEZ tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ
Düzce Üniversitesi _____

Doç. Dr. Ersin ORHAN
Düzce Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Ümran ALAN
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi _____

Tez Savunma Tarihi: 09/08/2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

9 Ağustos 2019

Şebnem Üzmez

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ'a da şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve yardımlarından dolayı arkadaşlarım Elif Sine AKSOY, Ayşe UZUN, Sultan ÜLGER, Bora KARAGÜL, Ertuğrul KAYA, Mesut ÖZDİNÇER, Pınar AYDIN ve Merve CAN'a, ayrıca bitkilerin temin edilmesini sağlayan Utku SARI ve bitki tanımlanmasını sağlayan Düzce Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji bölümü'nde görevli Dr. Öğr. Üyesi Didem AMBARLI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

9 Ağustos 2019 **Şebnem Üzmez**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**

ÇİZELGE LİSTESİ ..... **viii**

KISALTMALAR ..... **ix**

SİMGELER ..... **x**

ÖZET ..... **xi**

ABSTRACT ..... **xii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. BİYOLOJİK AKTİVİTE **2**

1.1.1. Antimikrobiyal Aktivite **2**

1.1.1.1. Antimikrobiyal Etki Tayin Yöntemleri *5*

1.1.2. Antioksidan Aktivite **6**

1.1.2.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri *12*

1.1.2.2. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi *13*

1.1.3. Fenolik Aktivite **14**

1.2. *Herniaria glabra* L. **16**

1.3. ÇALIŞMANIN AMACI **17**

2. MATERYAL VE YÖNTEM **18**

2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN *Herniaria glabra* L. **18**

2.1.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması **18**

2.1.2. Ekstraktların Yüzde Verim Hesabı **20**

2.2. ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ **21**

2.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ **22**

2.4. FENOLİK İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ **23**

3. BULGULAR **25**

3.1. EKSTRAKLARIN YÜZDE VERİM HESAPLAMALARI **25**

3.2. ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTE ANALİZİ **25**

3.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ **28**

3.3.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi **28**

3.4. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ **29**

3.4.1. Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile Toplam Fenolik Bileşen Analizi **29**

4. TARTIŞMA **30**

5. SONUÇ VE ÖNERİLER **34**

6. KAYNAKÇA 36
ÖZGEÇMİŞ 44

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Antimikrobiyal Etki Mekanizması 3
Şekil 1.2. Disk difüzyon yöntemi 6
Şekil 1.3. Agar kuyu difüzyon yöntemi 6
Şekil 1.4. Lipit peroksidasyonu 10
Şekil 1.5. DPPH reaktifinin kimyasal yapısı 13
Şekil 1.6. DPPH radikalinin kimyasal yapısı ve A-H ile reaksiyonu 14
Şekil 1.7. Flavonoidin kimyasal yapısı 15
Şekil 1.8. *Herniaria glabra* L. 17
Şekil 2.1. Bolu bölgesinden alınan *Herniaria glabra L.* 18
Şekil 2.2. Bitki süzme işlemi 19
Şekil 2.3. Bitki ekstraktı 19
Şekil 2.4. Bitki evapore işlemi 20
Şekil 2.5. Bitki ekstraktları a) Etanol b) Hekzan c) Aseton 20
Şekil 2.6. Gallik asit standart grafiği 23
Şekil 3.1.Antibakteriyal aktivite sonuçları 27
Şekil 3.2. Antibakteriyal aktivite sonuçları (devamı) 27
Şekil 3.3. Bitki ekstraktlarının ve standardın DPPH radikal giderme aktiviteleri. 28

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Serbest radikaller 8
Çizelge 1.2. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar 9
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri 22
Çizelge 3.1. Bitki ekstraktlarının yüzde verim değerleri 25
Çizelge 3.2. Bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi. 26
Çizelge 3.3. *H. glabra* L. bitki ekstraklarının toplam fenolik bileşen içerikleri. 29

KISALTMALAR

A	Aseton
ABTS	2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6sülfonik asit)
AH	Antioksidan
AMM	Antimikrobiyal maddeler
ATCC	Amerikan tipi kültür koleksiyonu
ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Bütillendirilmiş hidroksianisol
CFU	Koloni oluşturma birimi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
E	Etanol
FCR	Folin- Ciocalteu reaktifi
FRAP	Ferrik indirgeyici antioksidan güç
GADPH	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenez
GAE	Gallik asit ekivalenti
GC	Gaz kromatografisi
H	Hekzan
HAT	Hidrojen atom transferi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC_{50}	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
M.Ö.	Milattan önce
MDR	Çoklu ilaç direnci
NA	Nutrient agar
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NAG	N-asetil glukozamin
NAM	N-asetil muramik asit
NB	Nütrient broth
NCCLS	Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü
NK	Negatif kontrol
NMR	Nükleer manyetik rezonans
ORAC	Oksijen radikali absorplama kapasitesi
PK	Pozitif kontrol
PUFA	Poli doymamış yağ asitleri
RNA	Ribo nükleik asit
ROS	Radikal oksijen türleri
SET	Singlet elektron transferi
TEAC	Troloks eşdeğer antioksidan kapasite
TOSC	Toplam oksiradikal söndürme kapasitesi
TRAP	Toplam radikal yakalayıcıc parametre

SİMGELER

α	Alfa
β	Beta
°C	Santigrat derece
g	Gram
kg	Kilogram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
mg	Miligram
rpm	Dakikadaki devir sayısı
µg	Mikrogram
w	Ağırlık
%	Yüzde

ÖZET

Herniaria glabra L. BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Şebnem ÜZMEZ
Düzce Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Serpil UĞRAŞ
Ağustos 2019, 43 sayfa

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı binlerce yıl geçmişe dayanmaktadır. Özellikle hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin fazla olması bu maddeleri ihtiva eden tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır. Türkiye'nin hemen her bölgesinde doğal olarak yetişen *Herniaria glabra* L. mesane kaslarını gevşetme özelliğine sahip olması sebebiyle, halk arasında; mesane kramplarının tedavisinde, böbrekler ve mesanedeki taş ve kumların düşürülmesinde, bununla birlikte, iltihapları önleyici, idrar yolarını dezenfekte edici, idrar söktürücü, ve kasık yırtılmasına karşı tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Tüm bu özellikleri nedeniyle *H. glabra* özellikle farmakolojik çalışmalarda önem arz etmektedir. Bu bağlamda, bu çalışmada başlıca hedefimiz, *H. glabra* bitkisinin antibakteriyal, antioksidan ve fenolik bileşiklerinin tayinini kapsayan biyolojik karakteristiklerinin aydınlatılmasıdır. Bu çalışma kapsamında öncelikle aseton, etanol ve hekzan kullanılarak bitkiden elde edilen ekstraktların *Enterobacter cloaceae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimirium* ATCC 14028, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomanas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 bakterilerine karşı agar kuyu difüzyon metodu ile antibakteriyal aktivite tayini ve DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal giderme metodu ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve son olarak Slinkard ve Singleton'un metoduna göre toplam fenolik bileşen analizlerinin yapılmasıdır. Bu çalışmaların sonucunda, en yüksek verime sahip olan aseton ektraktının (% 2,4476) en yüksek fenolik içeriğe (6,25 ± 0,0012 µg/ml) sahip olduğu ve DPPH radikal süpürücü (20,5610 µg/ml) aktivitesinin etanol ve hekzan ektratlarından yüksek olduğu gözlenmiştir. Etanol, hekzan ve aseton ekstraklarından herbiri *K. pneumoniae* bakterisine karşı aktivite gösterdiği ve diğer bakterilere karşı aktivitesi olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyal aktivite, Antioksidan aktivite, Ekstraksiyon, Fenolik bileşen, *Herniaria glabra*.

ABSTRACT

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Herniaria glabra L.* PLANT

Şebnem ÜZMEZ
Düzce University
Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry
Master's Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serpil UĞRAŞ
August 2019, 43 pages

The therapeutic use of plants dates back thousands of years. In particular, the high side effects of synthetic substances used in the treatment of diseases have increased the importance of medicinal plants containing these substances. *Herniaria glabra* L. that grow naturally in almost every region of Turkey; is used in the treatment of bladder cramps, reducing the stones and sands in the kidneys and bladder because it has the ability to relax bladder muscles among the public; in addition to this, it is used for anti-inflammation, disinfecting the urinary tract, diuretic, and for treatment of groin rupture. Because of all these features, *H. glabra* is especially important in pharmacological studies. In this context, our main objective in this study is to elucidate the biological characteristics of *H. glabra* including determination of antibacterial, antioxidant and phenolic compounds. In this study, firstly extracts obtained from the plant by using acetone, ethanol and hexane, *Enterobacter cloaceae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimirium* ATCC 14028, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomanas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 35218 and *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 by agar well diffusion method and antibacterial activity determination by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) free radical removal method and antioxidant activities and finally, total phenolic component analysis according to Slinkard and Singleton method. As a result of these studies, the highest yield of acetone extract (2,4476 %) had the highest phenolic content (6.25 ± 0.0012 µg / ml) and DPPH radical scavenging (20.5610 µg / ml) activity of ethanol and higher than hexane extracts. Ethanol, hexane and acetone extracts were found to have activity against *K. pneumoniae* bacteria and no activity against other bacteria.

Keywords: Antibacterial activity, Antioxidant activity, Extraction, Phenolic component, *Herniaria glabra*.

1. GİRİŞ

Hayatın vazgeçilmez temel kaynağı olan bitkiler, insanlar tarafından tıbbi ve aromatik özellikleri sayesinde günümüze kadar hem besin hem de ilaç olarak kullanılmıştır [1]-[5]. Tıbbi ve aromatik bitkiler terimleri birlikte kullanılmakla beraber tıbbi bitkiler; hastalıkları önlemek, iyileştirmek veya sağlıklı bir hayat sürdürebilmek için ilaç olarak kullanılırken aromatik bitkiler; çeşitli özler üreten bitkiler olup, özelikle beslenme ve kozmetikte tat ve koku vermeleri için kullanılmaktadır [3], [6]. İnsanlık tarafından ilk başlarda iç güdüsel olarak bulunan bitkisel çözümler zamanla ekolojik ve biyolojik faktörlerden yararlanılarak geliştirilmiştir [1]-[5].

Dünyanın birçok yerinde yazılı ve hiyeroglif kaynaklar aracılığıyla birçok bitkinin fitoterapik ve aromaterapik olarak sağlık amaçlı kullanılmış olduğuna rastlanmaktadır. 60.000 yıl öncesinde yaşamış olan Neandertaller, Irak bölgesindeki "hollyhock" bitkisini antioksidan ve antimikrobiyal etkisi için kullanmışlardır [1]. Eski Mısır'da yapılan kazılar sonucunda M.Ö. 2500 yıllarında cesetlerin bozulmadan saklanabilmesi için bazı bitki ekstrakları kullanılmıştır. Ayrıca birçok kutsal kitapta şifa kaynağı olan bitkilere yer verilmiştir. Anadoluda bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı çok eski tarihlere kadar uzanmaktadır. Hitit dönemine ait olan reçete formüllerinde bazı kayıtlı bitki isimlerine rastlanıldığı bildirilmektedir [7]. Mezopotamya Uygarlığı döneminde 250 civarında bitkisel ilaç kullanılmıştır. Helenistik dönemde ise bilinen 600 kadar tıbbi bitki varken Arap-Fars Uygarlığı döneminde bu rakam yaklaşık 4.000'e kadar yükselmiştir [2].

18. yüzyıla kadar tıbbi bitkilerin yarısına yakını toz, infüzyon, dekoksiyon gibi doğal yöntemlerle kullanılırken, 1970'lerde kimya sektöründeki gelişmeler, sosyal ve politik değişimlerin sonucu olarak ilaçlarda sentetik maddeler yer almaya başlaması ile bu oranın % 5'e kadar düşmesine neden olmuştur [6], [8], [9]. Günümüzde ise sentetik ve kimyasal içerikli ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması tıbbi ve aromatik bitkilerin tedavideki önemini arttırmış ve modern tıp uygulamalarında önemli hale getirmiştir. [8], [10] ve 19. yüzyıl başlarında bilinen tıbbi bitki miktarı 13.000 sayısına ulaşmıştır [2].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların yaklaşık % 80'i bitkisel kaynaklı geleneksel ilaçlara yönelmektedir [11]. Tıbbi bitkilerin, içerdikleri etken maddeler bakımında geniş bir kullanım alanına sahip olduğu bilinmektedir [12]. Dünya üzerinde 750.000-1.000.000 arasında bitki türünün 500.000 kadarı tanımlanıp isimlendirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütünün 91 ülkede yaptığı araştırmalar sonucunda tedavi amaçlı ve baharat olarak kullanılan bitki sayısı yaklaşık 20.000'dir [13].

Türkiye florası, içerdiği tür sayısı ve endemik türler açısından dünyada önemli bir yere sahiptir. Tüm Avrupa'da var olan bitki türü sayısı 12.000 iken Türkiye'de bu sayı 9.000 civarında olup, 3.000 kadarı endemiktir. 500-1.000 civarında bitki tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Yaklaşık 200 tıbbi ve aromatik bitki ihraç potansiyeline sahiptir [11].

Günümüzde farmakolojik olarak üretilen ilaçların etken maddelerinin en az % 25 kadarı bitkilerden elde edilmektedir [14], [15]. Bitki etken maddelerinin ilaç olarak kullanılmasının başlıca sebepleri; düşük maliyetli olması, yan etkilerinin olmaması, toksik etkilerinin azlığı ve doğal olarak elde edilmesidir [11]. Pek çok bitki farklı etki mekanizmalarına sahip aktif kimyasal bileşenler içermektedir [3]. Bitkilerde bulunan flavonoidler, alkaloidler, uçucu yağlar, terpenoidler, taninler, berberinler, kininler ve emetinler gibi sekonder bileşikler birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır [4], [5], [11]. Bu bitkisel bileşenler, bitkilerin tomurcuk, yaprak, sap, dallar, tohumlar, meyve, kök, kabuk, salgı hücreleri, epidermal hücreleri ve trikomları gibi bitki organlarından sentezlenebilmektedir [14], [15]. Bitkiler üzerinde yapılan çalışmaların artması neticesinde uzmanlar, bu bitkisel bileşenlerin güçlü antioksidan ve antimikrobiyal etki gibi farklı biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Bitkinin türü, konsantrasyonu ve hedef mikroorganizma türü gibi etkenler, bitkinin biyolojik aktivitesini belirleyici etmenlerin başında gelmektedir [7].

Bu bağlamda, Dünya 'Doğaya dönüş', 'Yeşil Dalga' ve 'Yeşil Devrim' gibi sloganlarla günümüzde doğanın ve bitkisel ürünlerin önemine dikkat çekmekte ve bilim dünyası çalışmalarını bu yönde arttırmaktadır [10].

Özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı bitkisel etken madde arayışı, günümüzde popüler, bir o kadar da zorunlu konular içerisinde yer almaktadır. Araştırmacılar, 1928 yılında Alexander Fleming tarafından bilim dünyasında bir çığır açan dünyanın bilinen ilk antibiyotiği olarak literatürdeki yerini alan penisilinin keşfinden bu yana,

mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarına karşı farklı etki mekanizmasına sahip yeni antibiyotik ilaçlar üretmek amacıyla çalışmaktadır. Ancak mikroorganizmalar zamanla özellikle sentetik ilaçlara karşı direnç göstermekte olup, ilaçların kullanım ömürlerini kısıtlamaktadır. Ve buna bağlı olarak Dünya genelinde enfeksiyona bağlı hastalıklar ve ölümler artış göstermektedir. Amerikan Mikrobiyoloji Derneği'nin 2016'da yayımladığı rapora göre, dirençli bakterilere karşı çözüm olarak görülen kolistin antibiyotiğine bile direnç gösteren bakteriler bulunmaktadır [16]. Bu nedenle mevcut antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalara karşı yeni nesil antimikrobiyal maddeler keşfedilmesi ve etkilerinin araştırılmasını zorunlu hale gelmektedir. Özellikle yeni nesil ilaç tasarımında bitkiler içerdikleri aktif bileşenler dahilinde önemli bir yer teşkil etmektedir [11]. Yapılan çalışmalar sonucunda; bitkilerin tedavi edici etkilerinin sahip oldukları çok sayıda bileşenin sinerjik etkisinden kaynaklandığı ve bu sayede bitkilerin tek bir antibiyotikle inhibe edilemeyen patojenlere karşı etkili olduğu saptanmıştır [7]. İçerdikleri bu etken maddelerin türüne ve miktarına bağlı olarak çeşitli biyolojik aktivite özellikleri göstermektedirler [17].

1.1. BİYOLOJİK AKTİVİTE

Fenolik bileşikler, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite de dahil olmak üzere birçok biyolojik aktiviteye sahip bitki sekonder metabolitleridir [18]. Son zamanlarda araştırmacılar, bitkilerin biyolojik aktivite çalışmaları üzerine odaklanmışlardır [19], [20].

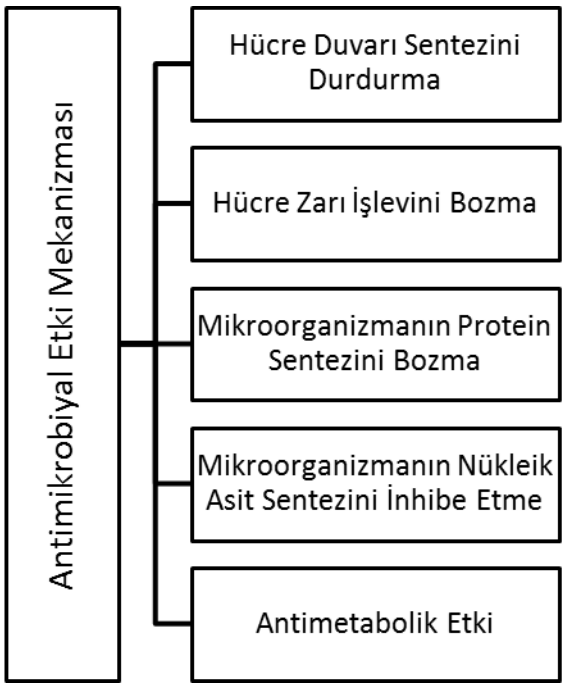
Antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerik özelliklerine bakılarak bitkilerin biyolojik aktivite özellikleri değerlendirilmektedir.

1.1.1. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal maddeler (AMM), mikroorganizmaları öldüren (mikrobisid etki) veya onların gelişimini engelleyen (mikrobiyostatik etki) kimyasal maddelerdir [21], [22]. Antimikrobiyal maddelerde bulunması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Bakteriler prokaryot, memeliler ökaryot hücre yapısına sahiptir. Bu sebeple prokaryot hücrede bulunup ökaryot hücre yapısında bulunmayan bir molekülü inhibe etmeyi hedefleyen antimikrobiyal maddeler iyi bir seçici toksisiteye sahiptir. Antimikrobiyal maddelerin etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısına bağlı olarak dar veya geniş spektrumlu olarak adlandırılmaktadır. Mikroorganizma üzerinde etkili ve kalıcı bir sonuç

elde edebilmek için dar spekrumlu antimikrobiyal maddeler seçilmelidir. Çok geniş spektrumlu AMM'ler bakteri florasındaki ekolojik dengeyi etkilemektedir [21].

Antimikrobiyal etkiye sahip maddeler, mikrobiyal organizmalara karşı doğrudan veya dolaylı olmak üzere 5 farklı yolla etki etmektedir [1]. Etki mekanizması Şekil 1.1'de verilmektedir.



Şekil 1.1. Antimikrobiyal etki mekanizması.

i. Hücre Duvarı Sentezininin İnhibisyonu; bakterinin bölünmesini ve çoğalmasını sağlayan hücre duvarı sağlam yapısı sayesinde bakteriyi içinde bulunduğu ozmotik basınçtan koyarak, bakteriye şeklini vermektedir. Hücre duvarı, hücreyi saran bir tabaka halindeki peptidoglikan, N-asetil Glukozamin (NAG) ve N-asetil Muramik Asitten (NAM) oluşan bir glikan zincirlerinin birbirlerine peptidbağları ile çapraz bağlanması ile oluşmaktadır [23]. Peptidoglikan tabaka Gram (+) bakterilerde kalın ve sağlam, Gram (-) bakterilerde daha ince ve esnek yapıdadır. Hücre duvarının sentezi beş basamakta gerçekleşmektedir. Hücre duvarının oluşumunu engelleyen antimikrobiyal ajanlar, peptidoglikan sentezindeki çeşitli basamaklarını engelleyerek gerçekleştirmektedir [24].

ii. Hücre Zarının İşlevini Bozanlar; mikroorganizmalar için gerekli maddeler, hücre zarı sayesinde difüzyonla hücre içine alınmaktadır. Antibakteriyel maddeler gelişimini tamamlayan bakterinin hücre zarında bulunan fosfolipidlerin fosfat kısmıyla birleşerek, antibiyotiklerin lipofilik kısmını hücre zarı lipitlerine yerleştirerek yapıyı bozmaktadır.

Hücre zarı yapısının bozulması ve hücre zarı geçirgenliğinin artması ile sitoplazma içerisinde bulunan aminoasitler, nükleotitler, potasyum gibi küçük moleküllü bileşiklerin dışarı çıkması mikroorganizmanın ölümüne neden olmaktadır.

iii. Mikroorganizmanın Protein Sentezini Bozma; bu tip antimikrobiyal maddeler, bakterilerin ribozomları ile birleşerek mRNA'nın sorumlu olduğu protein sentezini inhibe etmektedirler. Bu antimikrobiyaller, aminoasitlerin aktivasyonunu inhibe etme, mRNA'nın ribozoma bağlanmasını engelleme, peptidil transferaz enziminin aktivitesini azaltarak peptid bağlarının oluşmasını engelleme ve mRNA üzerinde üzerindeki kodların tRNA tarafından yanlış okunmasına sebep olmak gibi etkilerle protein sentezinin oluşumuna engel olmaktadır.

iv. Mikroorganizmanın Nükleik Asit Sentezini İnhibe Etme; bu tip antimikrobik etki gösteren maddeler, DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) sentezini ya da DNA'ya bağlı RNA (Ribo Nükleik Asit) polimeraz enziminin β alt birmine bağlanarak mRNA sentezini bozmaktadırlar.

v. Antimetabolitler; bu antimikrobiyaller bakterilerin metabolizmaları için gerekli olan bazı maddelerin sentezini engellemektedirler [25].

Sentetik ilaçlara dirençli enfeksiyonlardaki artış, antimikrobikrobiyal etkiye sahip bitkisel kaynakların araştırılmasını arttırıcı yönde olmuştur. Araştırmacılar uzun yıllardır bitkilerin antimikrobiyal etkileri üzerine birçok araştırma yapmışlardır [13]. Bu araştırmalar aktif bileşenlerin izolasyonu ve doğrudan kullanımına ya da yarı sentetik ilaçların geliştirilmesine imkan sağlamıştır [26].

Nastro ve arkadaşları altı bitkiden; *Helichrysum italicum* G. Don (çiçekler), *Hieracium pilosella* L. (yapraklar), *Lonicera caprifolium* L. (bitki), *Nepeta cataria* L. (bitki), *Phytolacca dodecandra* L. (yapraklar) ve *Plantago lanceolata* L. (yapraklar) elde edilen ektraktların Gram (+) ve Gram (-) bakteri ve fungal organizmalara karşı etkili olduğunu gözlemlemiştir. Antimikrobiyal aktivitenin avonoid ve terpenlerden kaynaklandığını göstermiştir [27]. Assem El-Shazly ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Mısır Sinai Peninsula bölgesinden toplanan *Tanacetum santolinoides* bitkisinden elde edilen ekstrakların *E. coli*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans*'a karşı güçlü bir etki gösterdiği test edilmiştir [28]. Al-Howiriny ise *Salvia lenigera* bitkisi ile çalışmıştır. Bu bitkiden elde edilen uçucu yağ ekstrelerinin *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans* ve *Candida vaginalis*

mikroorganizmaları üzerinde iyi inhibisyon etkileri gözlemlemiş olup *Esherichia coli* ve *Psedudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı inhibisyon etkisi olmadığını ortaya koymuştur [29]. Sartoratto ve arkadaşları sekiz farklı bitkiden; *Mentha piperita* L., *M. Spicata* L., *Thymus vulgaris L., Origanum vulgare* L., *O. applii* L., *Aloysia triphylla* L., *O. gratissimum* L., *Ocimum basilicum* L. Bitkilerinden elde edilen uçucu yağların 11 farklı mikroorganizma üzerinde inhibe edici edici etkisi olduğu belirlenmiştir [30]. X. Zhang ve arkadaşları *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) bitkisi yağı ile çalışmıştır. *In vitro* antimikrobiyal tarama sonucunda, *M. Alternifolia*'dan elde edilen uçucu yağın minimum inhibe edici konsantrasyonunun *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Penicillium italicum*, Wiseum mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve gıda, tarım ve ilaç endüstrisinde doğal bir koruyucu bileşen olarak kullanılabilir olduğunu tespit etmişlerdir [31].

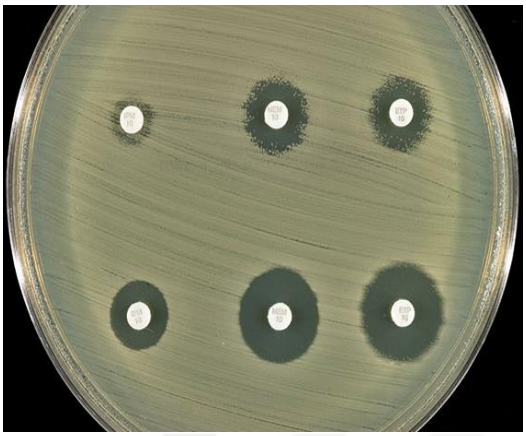
Yapılan çalışmalar göstermektedir ki bitkiler, içerdikleri etken maddelerin miktarına ve çeşidine bağlı olarak etki alanları değişkenlik göstermektedir [14]. Bitkilerin mikrobisid ve mikrobiyostatik etkilerini belirlemek için antimikrobiyal etki tayin yöntemleri kullanılmaktadır.

1.1.1.1. *Antimikrobiyal etki tayin yöntemleri*

Ekstraktların antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için çeşitli *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır [32]. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, modern biyoloji biliminde önemli bir tekniktir ve bazı mikrobik suşların farklı antimikrobiyal maddelere karşı direncini belirlemek için kullanılmaktadır [33]. Bu sayede maddenin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı belirlenmektedir. Antimikrobiyal aktivite belirlemek için literatürde en çok kullanılan yöntemler Agar Disk Difüzyon ve Kuyu Difüzyon Teknikleridir [32].

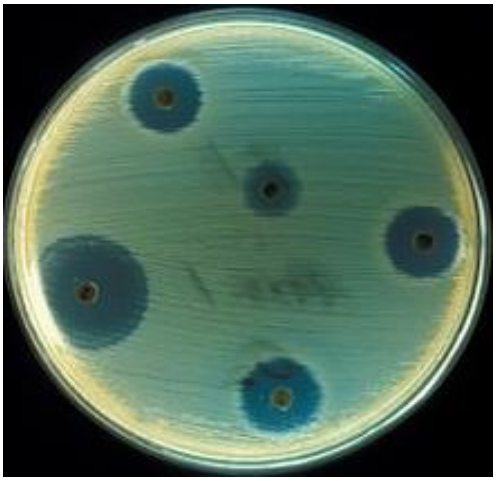
Agar Disk Difüzyon Yöntemi; 1940 yılında Bauer, Kirby, Sherris ve Truck tarafından geliştirilmiştir. Klinik ve Laboratuvar Ulusal Komitesi (NCCLS) tarafından kabul edilen ve günümüzde hala yaygın olarak kullanılan prosedür, Kirby-Bauer testi olarak bilinmektedir [33]. Bitki ekstraktlarını antimikrobiyal aktivite açısından test etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [34]. 6 mm'lik sterilize edilmiş filtre kağıdı diskleri, istenilen konsantrasyondaki bitki ekstraktı ile doyurulmaktadır. Emprenye edilmiş diskler daha sonra test organizmaları ile önceden inokule edilmiş (1×10^8 CFU/ml bakteri) uygun bir katı besiyeri yüzeyine yerleştirilmektedir. Test mikroorganizmasına bağlı olarak

optimum sıcaklık ve sürede inkübe edilmektedir ve mikroorganizma büyümesinin gerçekleşmediği bölgenin çapı Şekil 1.2'de görüldüğü gibi mm olarak ölçülmektedir [23], [33].



Şekil 1.2. Agar Disk difüzyon yöntemi.

Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi; Agar disk difüzyon testinde de olduğu gibi mikroorganizmaların gelişemediği zone çapını test etmektir. Şekil 1.3'te sabit hacimli standart bir inokulum konsantrasyonu, uygun bir agar besiyeri yüzeyine eşit şekilde yayılmaktadır. 6-8 mm çapında bir kuyu açılır ve içerisine konsantrasyonu belli test edilecek bitki ekstraktı eklendikten sonra test mikroorganizmasına bağlı olarak optimum sıcaklık ve sürede inkübe edilmektedir [33], [35], [36].



Şekil 1.3. Agar kuyu difüzyon yöntemi.

1.1.2. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, farklı moleküllerin oksidasyonunu inhibe eden moleküllerdir [37]. Tüketilen antioksidan bileşiklerin çoğu bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Kepekli

tahıllar, meyveler ve sebzeler doğal olarak oluşan antioksidanların birincil kaynaklarıdır. C vitamini, E vitamini, karotenler, fenolik asitler, fitalat ve fitoöstrojenler gibi bitki kaynaklı gıda antioksidanları olmalarının yanısıra hastalık riskini azaltma potansiyeline sahiptir. Antioksidanlar fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip çeşitli bileşenler içermekte olup insan sağlığı üzerinde önemli rol oynamaktadır. Bilimsel kaynaklara göre antioksidanların, kanser ve kalp hastalığı dahil olmak üzere birçok kronik hastalık riskini azalttığı görülmektedir [38].

Antioksidanların temel özelliği serbest radikalleri yakalayabilmesidir [38], [39]. Serbest radikaller eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküllerdir. Elektriksel yüklerine göre anyonik, katyonik veya nötral özellik göstermektedir [39], [40].

Serbest radikaller hücre içerisinde üç farklı şekilde oluşmaktadır:

Elektron Transferi; Radikal özelliğe sahip olmayan bir moleküle elektron eklenmesi ya da çıkarılması ile serbest radikal meydana gelmektedir (Denklem 1.1) ve (Denklem 1.2).

$$A_2 + e^{\cdot -} \longrightarrow A_2^{-\cdot} \quad (1.1)$$

$$AH_2 \longrightarrow AH_2^{+\cdot} + e^- \quad (1.2)$$

Homolitik Parçalanma; Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve 500-600 °C gibi yüksek sıcaklıklar kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Bağların kırılması ile kovalent bağ yapısına sahip iki elektrondan her biri farklı atomlar üzerinde kalarak homolitik yıkım meydana getirmektedir (Denklem 1.3).

$$A{:}B \longrightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot} \quad (1.3)$$

Heterolitik Parçalanma; Radikal özellikte olmayan bir molekülün bir elektron kaybetmesiyle ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesiyle kovalet bağı oluşturan elektronların ikisi de atomlardan sadece biri üzerinde kalmaktadır. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması ile zıt yüklü iyon çiftleri oluşmaktadır (Denklem 1.4) [41].

$$A{:}B \longrightarrow A^+ + B^- \quad (1.4)$$

Metabolizmada oluşabilen serbest radikaller Çizelge 1.1'de verilmektedir.

Çizelge 1.1. Serbest radikaller [42].

Hidrojen Radikali	$H^{\cdot}$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit Radikali	$O_2^{\cdot}$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil Radikali	$OH^{\cdot}$	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikali
Hidrojen Peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet Oksijen	$_1O_2$	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Peroksil Radikali	$ROO^{\cdot-}$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipitlere lokalize olma yeteneği
Perhidrooksil Radikali	$H_2O^{\cdot}$	Lipitlerle hızlı çözünerek lipit peroksidasyonunu artırmaktadır.
Triklorimetil Radikali	CCl_3	Karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil Radikali	$RS^{\cdot}$	Sülfürlü ve çiftleşmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksi Radikali	$RO^{\cdot}$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen metabolit
Azot monoksit	NO	L-argininden *in vivo* üretilir
Azot dioksit	NO_2	NO'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Metabolik olaylar sonucunda, hücre içerisinde oluşan serbest radikaller, soluduğumuz havadaki moleküler oksijen (O_2) ile etkileşime girerek serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadır [43]. Serbest radikallerin; moleküler oksijenin metabolik reaksiyonlar sonucunda indirgenmesi ile oluşan hidroksil, süper oksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi farklı yapıları mevcuttur. Moleküler oksijen (O_2), yapısı gereği reaktif oksijen türleri (ROS) yapısına ulaşma eğilimindedir [39].

Hücre içerisinde oluşan bu ROS'leri ortadan kaldırmak veya inhibe edebilmek için antioksidanlara gerek duyulmaktadır [39]. Metabolik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri kirli hava, virüsler, sigara dumanı, radyasyon, herbisit, bozulmuş gıda gibi durumlarda artış göstermektedir [43]. Yeterli antioksidan olmadığı ve antioksidanların etki edebileceğinden daha fazla ROS meydana gelmesi durumu oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stresin yani serbest oksijen radikallerinin kanser, kalp-damar hastalıkları, sinir hastalıkları, Alzheimer hastalığı, hafif bilişsel bozukluk, Parkinson hastalığı, alkole bağlı karaciğer hastalığı, ülseratif kolit, yaşlanma ve ateroskleroz gibi birçok hastalığa sebep olduğu bilinmektedir [39], [44], [45]. Serbest radikallerin sebep olduğu rahatsızlıklar Çizelge 1.2'de verilmektedir.

Çizelge 1.2. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar [43]

Hastalık Adı	Hastalık Adı
Kardiyovasküler sistem patolojisi	Yetiskin solunum stresi solunumu
Aterosklerozis (Damar sertligi)	Radyosyon hasarları
Beyindeki düzensizlikler	Zedelenme (reperfusyon)
Anoksia	Deri bozuklukları
Nöral lipofuskinosis	Solar radyasyon zehirlenmesi
Alzhemier hastalığı	Bloom sendromu
Parkinson hastalığı	Olusan zararlı (toksit) maddeler
Down sendromu	Zenobiyotikler
Multiple selerosis	Metal iyonları (Hg, Fe, Cu)
Kronik granülomatöz	Sitositatikler (blomyein)
Diabetes Mellitus	Kanser
Inflamatory (ateşli) düzensizlikler	İdoyopatik hemokromatosis
Astım	Talesemi
Romatizmal artirit	Akciger düzensizlikleri
Demir yüklenmesi	Asbestosis

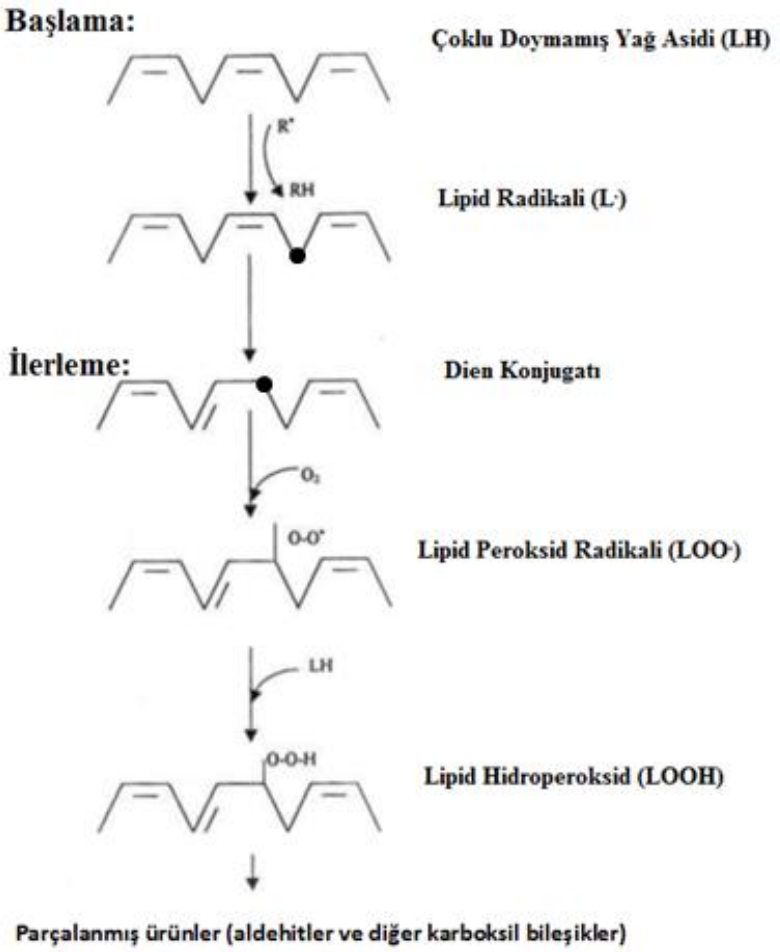
Yüksek miktarda oluşan reaktif serbest radikal ve oksijen türleri [38], nükleik asitleri, proteinleri, lipidleri veya DNA'yı okside edebilmekte ve dejeneratif hastalığı başlatabilmektedir [42].

Serbest Radikallerin Metabolizmadaki Etki Mekanizması:

Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi; lipidler, serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre zarında poli doymamış yağ asitleri (PUFA) ve kolestreroller ile kolayca etkileşime girerek peroksidasyon ürünü oluşturmaktadırlar. Lipit peroksidasyonu olarak bilinen PUFA'nın oksidatif hasarı yıkıcı özelliğer sahiptir, çünkü kendi kendini sürdüren bir zincir reaksiyonu olarak ileyerek hücre ve dokular üzerinde hasar oluşturmaktadır. Bu olay 'Lipit Peroksidasyonu' olarak da adlandırılmaktadır [46]. Lipid peroksidasyonunun oluşumu, serbest radikalin yağ asidindeki bir hidrojen atomunu koparması sonucunda yağ asidinin lipit radikaline (L•) dönüşmesi ile başlamaktadır. (L•) kararsız yapıda oluşundan dolayı değişikliğe uğrayarak konjuge dienler oluşturmaktadır. Oluşan konjuge dienler oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksit radikalini(LOO•) oluşturmaktadır. Oluşan bu radikaller hücre zarındaki poli doymamış yağ asitleri(PUFA) ile etkileşime girerek tekrardan lipit radikalinin oluşumunu arttırmaktadır [47]. Açığa çıkan H atomları ile de lipit peroksite dönüşmaktedir. Reaksiyon, lipit peroksidasyonu sonunda meydana gelen lipit hidroperoksitlerinin (LOOH) aldehit ve başka karbonil bileşilklerine dönüşmesi ile son bulmaktadır [47], [48]. Oluşan aldehitler ve diğer yapılar inhibe edilmekte ya da hücrenin başka bir bölgesine

zarar vererek birçok hastalığın oluşumune sebep olmaktadır [41], [42].

Lipit peroksidasyonun zincir şeklinde kendini katalizleyerek [42] devam eden reaksiyonu Şekil 1.4'te gösterilmektedir [41], [49].



Şekil 1.4. Lipit peroksidasyonu.

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda Malondialdehit meydana gelmektedir [39].

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi; proteinler, serbest radikallere karşı lipitlerden daha az hassastır. Serbest radikaller proteinlere saldırarak aminoasitlerin modifikasyonuna sebep olmaktadırlar. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenmeleri proteinleri oluşturan amino asitlerin dizilimlerine bağlıdır. Proteinlerdeki karbonil gruplarının çoğalması serbest radikallerin etkisini hızlandırmaktadır [50]. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenerek sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana getirmektedir [41]. Bunun sonucunda protein yapısı bozulmakta ve

fonsiyonlarını yerine getirememektedir.

Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi; serbest radikallerin etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelmekte ve bu ürünler çeşitli patalojik hastalıkların sürecinde rol oynamaktadır [42]. Bağ dokusunda bulunan mukopolisakkarit yapısına sahip hyalüronik asit, H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ radikali tarafından parçalanarak eklem hastalıklarına sebep olmaktadır. Hyalüronik asit gözün humor vitreususunda da bulunmaktadır ve serbest radikallerlerin etkisiyle katarakt oluşumuna neden olmaktadır [51].

Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve DNA'ya Etkisi; radyasyonun etkisiyle hücrede oluşan serbest radikaller O_2 molekülü ile oksidatif stresin oluşumuna sebep olmaktadır. Hidroksil radikalleri, DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz fosfatlarla etkileşerek hücrede mutasyon gerçekleştirmektedir. Bunun sonucunda DNA bazları modifiye olarak nükleotidlerin fosfodiester bağlarının kopmasına sebep olmaktadır [42]. Mitokondriyal DNA, mitokondriyal solunum zincirlerine yakın olması nedeniyle ROS'un yol açtığı hasara karşı daha hassastır. Bir hidroksil radikali, DNA zincirinin hem pürin hem de pirimidin moleküllerinin hasar görmesine neden olur. Genetik materyalin çoklu modifikasyonu mutagenez, karsinogenez ve yaşlanmaya yol açmaktadır [52].

Reaktif oksijen metabolitlerinin aşırı miktarlarda üretimi, hücre harabiyeti oluşturabilmektedir [41].

Hidrojen peroksit, hem glikolitik yolun ve hem de oksidatif fosforilasyon yolunu etkilerken adenozin trifosfat (ATP) sentezini de inhibe etmektedir. Hidrojen peroksidin, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GADPH) üzerine etkisi ve bunun neticesinde GADPH kofaktörü olan Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NAD) konsantrasyonun da azalmasının sonucunda ATP sentezini bozmaktadır. Hidrojen peroksidin bu etkisinin DNA onarımında rol oynayan poliadenozin difosfat riboz polimeraz enziminin aktivasyonunun sonucu olarak geliştiği bilinmektedir. Aktifleşen ADP-riboz-polimeraz enzimi substratı olan NAD'ın çok kullanılmasıyla konsantrasyonda azalma olur. NAD konsantrasyonunda oluşan bu azalma ve pH azalması aynı anda olduğunda glikolitik yolun inhibisyonuna neden olmaktadır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında bile birçok hücrede DNA hasarı gerçekleşmektedir. DNA hasarında hidrojen peroksitin yanısıra süperoksit ve hidroksil radikali de rol oynamaktadır [41], [53].

Hücre içerisinde oluşan serbest radikalleri inhibe edici antioksidan özelliğe sahip doğal ürünler üzerinde birçok farklı çalışma yapılmıştır. Wu ve arkadaşlarının hünnap bitkisi ile yaptıkları çalışmada bitkinin yaprak ektraktlarının antioksidan maddeye sahip olduğunu ve antioksidan kapasitesinin, bitkinin yetiştirilen bölge ve hasat zamanı ile değişkenlik gösterdiğini belirlemişlerdir [54]. Bir diğer Hünnap bitkisi çalışması yapan Shen ve arkadaşları bitkinin meyve kısımlarının da antioksidan madde içerdiğini ve karaciğer hasarlarına karşı koruyucu etkisini keşfetmişlerdir [55]. Ahn ve arkadaşları biberiye, brokoli filizi ve turunçgil gibi doğal bitki ekstraktlarının yüksek oleik asit içeriğine sahip ayçiçeği yağı üzerindeki antioksidan etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda ekstraktların ayçiçeği yağının lipit oksidasyonunu engellediği tespit edilmiştir [56]. Gülçin ve arkadaşları Kahramanmaraştan temin edilen misk adaçayı (*Salvia sclarea* L.) ile yaptıkları çalışma sonucunda bitkinin kloroform ve aseton ekstrelerinin biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir. Bitkini kloroform ekstraktının aseton ekstraktına göre daha çok antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve ayrıca her iki ektraktın da α-tokoferolden daha fazla antioksidan aktivite özelliğine sahip olduğu gözlenmiştir [57]. Çanakkale bölgesinde yetişen 28 farklı tıbbi ve aromatik bitkinin metanol ekstraklarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri inceleyen Kırca ve arkadaşları, bitki örneğinin antioksidan aktivitenin belirlenmesinde Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) ve 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy (DPPH) yöntemleri kullanılmışlardı. İncelenen bitkiler arasında sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), sandal ağacı (*Arbutus andrachne*) ve karaçalı (*Paliurus spina-christii*) bitkilerinin doğal antioksidan kaynağı olduklarını bulmuşlardır [58]. Devi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kullandıkları Terminalia arjuna bitkisinin serbest radikalleri süpürücü etkisiyle hücreleri koruyarak ülser yarasının iyileşmesinde oldukça iyi bir etki gösterdiğini belirlemişlerdir [59].

1.1.2.1. *Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri*

Bitkisel gıda örneklerinin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan birçok yöntem mevcuttur [60]. Literatürde antioksidan aktivite analizleri, kimyasal reaksiyon mekanizmalarına göre Hidrojen Atom Transferi (HAT) esasına dayalı ve Singlet Elektron Transferi (SET) esasına dayalı reaksiyonlar olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır [40].

HAT temelli yöntemlerin çoğu, azo bileşiklerin bozunumu ile açığa çıkan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabeti esasına dayanmaktadır. Çözücü ve pH etkisine bağlı olmaksızın kısa sürede gerçekleştirilebilmektedir [40], [60].

HAT analiz yöntemleri;

a. ORAC: Oksijen Radikali Absorplama Kapasitesi Yöntemi
b. Toplam Radikal Yakalayıcı Parametre (TRAP) Yöntemi
c. Krosin Veya Beta Karoten Ağartma Yöntemi
d. Toplam Oksiradikal Söndürme Kapasite (TOSC) Yöntemi [61]

SET temelli yöntemler ise antioksidanın indirgeme yeteneğini renk değişimi ile ölçmektedir. Çözücü, pH değişimine bağlı olarak daha yavaş gerçekleştirilmektedir [40], [60].

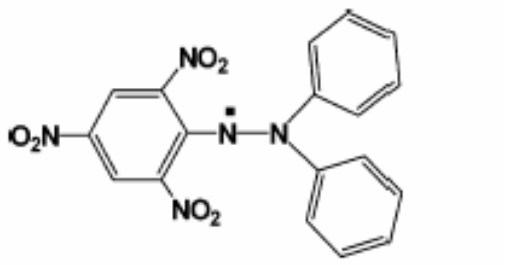
SET analiz yöntemleri;

a. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC Veya ABTS) Yöntemi
b. Demir İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Yöntemi
c. Cu (II) Kullanılan Toplam Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi
d. DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi
e. CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi [61].

Bitkilerin radikal süpürücü aktivitesinin ölçülmesinde DPPH yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır.

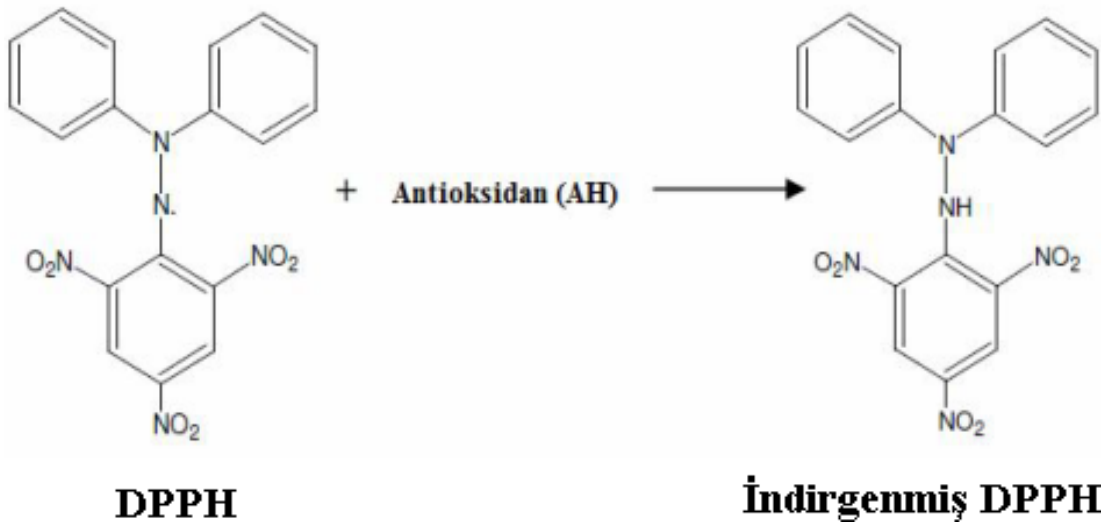
1.1.2.2. *DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi*

Bu yöntem ilk olarak 1958 yılında Blois tarafından 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin (Şekil 1.5) antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğini önermesi ile ortaya çıkmıştır [62]. Sonrasında Brand-Williams ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yöntem 1998 yılında Sanches ve arkadaşları tarafından değiştirilerek kullanılmaya başlanmıştır [60].



Şekil 1.5. DPPH reaktifinin kimyasal yapısı [40].

DPPH radikal süpürme kapasitesi doğal ekstraklarının antioksidan kapasitesini ölçmede çok sık kullanılan yöntemlerden biridir. DPPH (2,2-difenil-l-pikrilhidrazil), hidrojen atomu verebilen bileşiklerle tepkimeye girebilen kararlı bir organik nitrojen radikalidir [60] ve 517 nm'de maksimum absorbans oluşturmaktadır [63]. Koyu mor renkli olan DPPH radikalinin, antioksidan madde tarafından proton transferi ile indirgenmesi (Şekil 1.6) sonucunda rengi açılmakta ve 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olmaktadır [60]. Başlangıç DPPH konsantrasyonu yarıya indiği durumdaki antioksidan konsantrasyonu EC_{50} olarak ifade edilmektedir [63].



Şekil 1.6. DPPH radikalinin kimyasal yapısı ve A-H ile reaksiyonu [63].

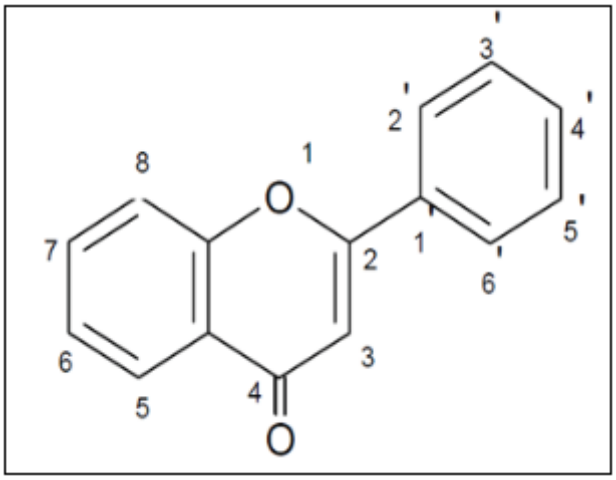
1.1.3. Fenolik Aktivite

Bitkiler, patojen ve böcek saldırılarına, UV radyasyonuna, yaralanma gibi ekolojik ve fizyolojik etkilere karşı savunma mekanizması olarak fenolik aktiviteye sahip bileşikler sentezlemektedir. Bitki hücresinde az miktarda sentezlenen bu bileşikler bitkinin türüne bağlı olarak iklim, yetiştirme koşullarına göre farklı özellikte ve konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bitkilerin renk, koku ve tat gibi özelliklerinde de önemli rol oynamaktadır [64]-[66].

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubunun (‑OH) bağlı olduğu benzen halkası içeren sekonder metabolitler olarak bilinmektedir [64], [66], [67]. Moleküldeki fenol sayısına bağlı olarak basit fenoller veya polifenoller şeklinde adlandırılmaktadır [65]. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki grupta toplanmaktadır. Fenolik asitler yaygın olarak antioksidan özelliği göstermekte ve bitki taç kısmında bulunmaktadır [21]. Polifenollerin en büyük kısmını oluşturan flovonoidler

Şekil 1.7'de verilmiştir. Düşük molekül ağırlığına sahiptirler ve bitkilerdeki kırmızı, yeşil, turuncu pigmentlerden sorumlu olan yapılardır [66].

Fenolik bileşenler üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucunda serbest radikalleri süpürücü, enzimatik aktiviteyi düzenleyici, hücre proliferasyonunu inhibe edici antioksidan etki gösterdikleri belirlenmiştir [68]. Etki mekanizmaları serbest radikalleri bağlama, metallerle şelat oluşturmaları ve lipoksijenaz enzimini inhibe etme özellikleri antioksidan içeriği ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir [40], [69]. Düzenli olarak tüketildiklerinde kardiyovasküler sistem ve kanser üzerinde olumlu etkiye sahip oldukları belirlenmiştir [70]-[72].



Şekil 1.7. Flavonoidin kimyasal yapısı.

Bitkilerin toplam fenolik aktivitesinin belirlenmesinde en yaygın yöntem olan Folin-Ciocalteau Reaktifi yöntemi tungsten ve molibden oksitlerinden oluşan bir karışımın kimyasal oksidasyon reaksiyonuna dayanmaktadır ve bu sebeple antioksidan yöntemi olarak düşünülmektedir. SET analiz yöntemlerinden biri olan FCR analizinin reaksiyon denklemi Mo (VI) (sarı) + e- (AH'dan) → Mo (V) (mavi) şeklinde gösterilmektedir [72]-[74].

Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile toplam fenol analizi yönteminin temel prensibi, fenolik bileşiklerin bazik ortamda FC ayracını indirgeyip kendilerinin yükseltgenmesine dayananmaktadır. FCR bu reaksiyonda yüksektgeyici bileşen olarak görev almaktadır. Redoks reaksiyonu sonucunda indirgenmiş FCR'nin oluşturduğu mavi rengin fotometrik olarak ölçülmesiyle toplam fenolik bileşik miktarları hesaplanmaktadır [75].

Fenolik içeriğe sahip doğal ürünler üzerinde birçok farklı çalışma yapılmıştır. Çakmak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Medicago rigidula* L. metanol ekstresinin antioksidan kapasitesi, fenolik bileşimi ve enzim inhibisyon aktivitesinin değerlendirilmiştir. *M. rigidula* bitkisinin kateşin, sinnamik asit, klorojenik asit, gallik asit ve sirinjik asit gibi fenolik bileşenler içerdiği belirlenmiştir. 79,61 mg GAE/g total fenolik ve 27,38 µg QE/g flavonoit içeriğine sahip bitkinin iyi bir antioksidan ve enzim inhibisyon kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Bu da *M. rigidula* bitkisinin gıda ve ilaç endüstrisi için etken madde olarak kullanılabileceğini göstermektedir [76].

Saral ve arkadaşları, *Vinca major* subsp. *hirsuta*'nın fenolik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi üzerinde çalışmışlardır. Bitkinin yaprak, çiçek ve sap olmak üzere üç ana bölümü incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda bitkinin yaprak kısmının en yüksek antioksidan aktiviteye ve en yüksek fenolik bileşen içeriğe sahip olduğu gözlenmiştir [77].

1.2. *Herniaria glabra* L.

Herniaria glabra L. bitkisi çok ya da iki yıllık bir bitkidir (Şekil 1.8). Caryophyllaceae familyasında yer alan bitki, 5-18 cm boylarındadır. Bitki Temmuz ve Ağustos aylarında çiçek açmaktadır. Çok küçük ve yapraklarla aynı renlere sahip çiçekler hermafrodit (hem erkek hem de dişi üreme organı bulunduran bitki) özelliğe sahip olup, yapraklar üzerinde 8-10 adet kümeleşmiş halde bulunmaktadır. Bitki tohumları Ağustos ayında olgunlaşmaktadır. Membranöz yapraklar eliptik ya da ovaldir yapıya sahiptirler. Parlak yeşil renkli yapraklar kış aylarında bronz rengine dönmektedir. Yaprakları misk kokuludur. Kökler daima yatay olarak büyümekte ve böylece bitkiyi 3 cm'lik bir genişliğe ulaştırabilmektedir [78].

Hem nemli hem kuru ortamlarda görülmektedir. Güneşli bölgeleri tercih etmesinin yanı sıra yarı gölge ortam şartlarında da yetişmektedir. Zorlu ortam şartlarına, don ve kuraklık gibi, dayanıklıdır. Kumlu, killi ve tınlı topraklarda yetişmeye elverişlidir [79].

Bitki geniş bir yetişme ortamına sahiptir. Bu ülkeler; Afrika (Cezayir, Mısır, Libya, Fas, Tunus), Asya (Ermenistan, Azerbaycan, Gürcistan, Çin, Japonya, Kazakistan, Kırgızistan, Tacikistan, Özbekistan, Moğolistan, Rusya, Afganistan, İran, Irak, Filistin, Lübnan, Türkiye), Avrupa (Belarus, Estonya, Letonya, Litvanya, Rusya Federasyonu, Ukrayna, Avusturya, Belçika, Çekya, Almanya, Macaristan, Hollanda, Polonya,

Slovakya, İsviçre, Danimarka, İsveç, İngiltere, Arnavutluk, Bosna Hersek, Bulgaristan, Hırvatistan, Yunanistan, İtalya, Makedonya, Karadağ, Romanya , Sırbistan, Slovenya, Fransa, Portekiz, İspanya) ve Kuzey Amerika (Kanada ve ABD)'da görülmektedir [78], [80].



Şekil 1.8. *Herniaria glabra* L. [81].

1.3. ÇALIŞMANIN AMACI

Herniaria glabra L. bitkisinin uzun yıllardır geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanımı, bitkinin farmakolojik özelliklerinin önemine dikkat çekmektedir. Bu çalışmada Bolu ve çevresinde yaygın olarak yetişen *H. glabra* bitkisinin etken madde eldesi amacıyla hekzan, etanol ve aseton çözücüleri kullanılarak bitki ekstraktlarının elde edilmesi ve bu ekstrakların; Gram (+) ve Gram (-) özellikteki 12 adet patojen bakteriye karşı kuyu difüzyon tekniği ile antimiktobiyal aktivitelerinin, FCR yöntemi kullanılarak fenolik içeriklerinin ve DPPH radikal giderme yöntemi kullanılarak antioksidan aktivitesinin belirlenmesi hedeflenmektedir. Yapılan bu çalışmada ülkemizde doğal olarak yetişen ve tıbbi özellikleri olan bitkilerden biri olan *Herniaria glabra* L. bitkisinin biyolojik aktivitesi aydınlatılması planlanmaktadır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN *Herniaria glabra* L.

Çalışmada kullanılan *Herniaria glabra* L. bitkisi (Şekil 2.1) 2018 yılının ekim ayında Bolu'nun Kıbrısçık ilçesinden tedarik edilmiştir. Bitki, Düzce Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümü Dr. Ögr. Üyesi Didem AMBARLI tarafından tanımlanmıştır.



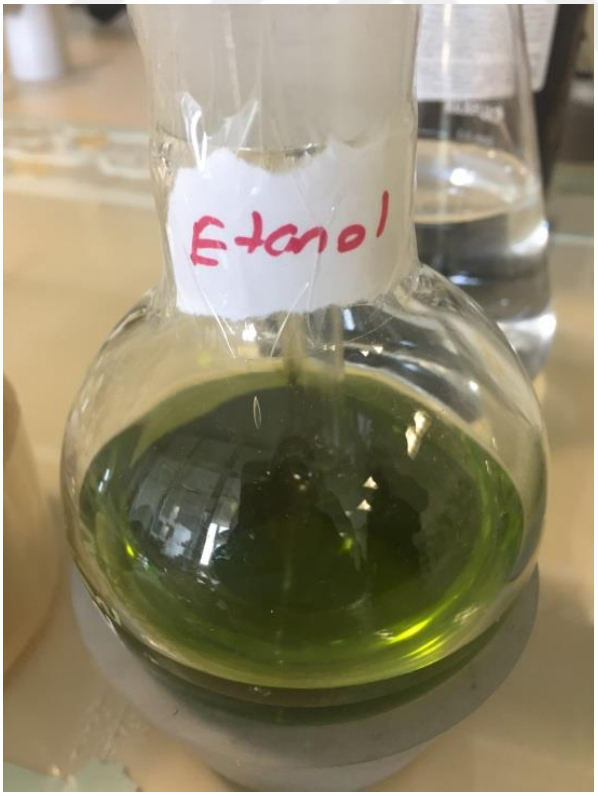
Şekil 2.1. Bolu bölgesinden alınan *Herniaria glabra* L.

2.1.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Bu çalışmada taze olarak temin edilen *Herniaria glabra* L. bitkisi 40 ^{o}C'nin altındaki kurutma fırınında kurutulmuş ve kurutulan bitki öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki etanol, hekzan ve aseton çözücüleri ile 1:15 oranında karıştırılmış ve ağızları kapalı erlenler içerisinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca 150-170 rpm'de su banyosu içerisinde ekstraksiyon edilmiştir. 24 saat sonunda, her bir ekstraktın dört kat süzgeç kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Soğuk süzme işlemi sonrasında süzgeç kağıdında kalan bitki kalıntıları Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'te verilmiştir.

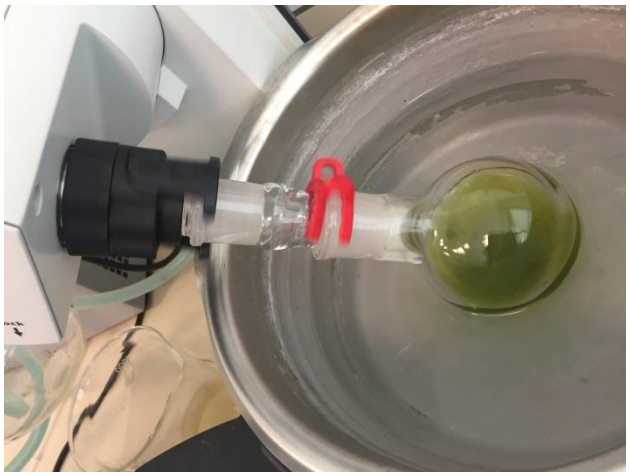


Şekil 2.2. Bitki süzme işlemi.



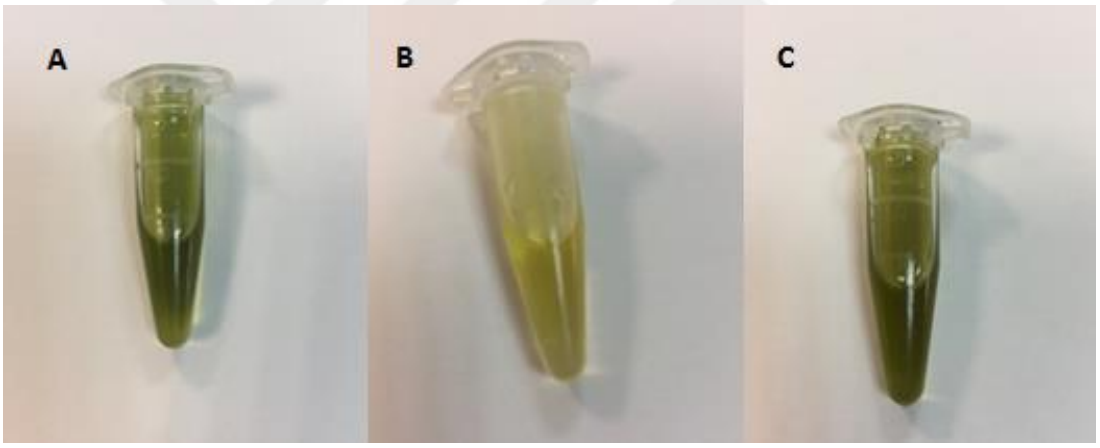
Şekil 2.3. Bitki ekstraktı.

Süzüntünün evaporasyon işlemi yaklaşık 30 ^{o}C'de 80-150 rpm'de, vakum altında yapılmıştır. İşlem Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4. Bitki evapore işlemi.

Evaporasyon sonrası elde edilen ekstraktların miktarlarının belirlenmesinin ardından Dimetil Sülfoksit (DMSO, Merck)'de çözülmüştür. Çalışmada kullanılmak üzere +4 ºC sıcaklıkta saklanmıştır [82]. Çözünen ekstraktlar Şekil 2.5'te verilmektedir.



Şekil 2.5. Bitki ekstraktları a) Etanol b) Hekzan c) Aseton.

2.1.2. Ekstraktların Yüzde Verim Hesabı

Ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktlarınverimi Denklem (2.1)'deki % verim formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \ Verim = [(w_2 - w_1)/w_0]x100 \quad (2.1)$$

w_0 = Kurutulmuş bitki örneğinin ilk ağırlığı,

w_1 = Kabın ağırlığı,

w_2 = Evaporasyondan sonra geriye kalan ekstraktın ve kabın ağırlığını ifade etmektedir [83].

2.2. ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

Herniaria glabra L. bitkisine ait bitki ekstraktlarının antibakteriyal aktivite tayini agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır [70]. İlk olarak test mikroorganizmaları Nutrient Broth (NB) besiyerinde inoküle edilmiş ve çalkalamalı su banyosunda 37 ^{o}C'de 16-18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda mikroorganizma kültürlerinin UV spektrofotometresinde (Mapada) 620 nm dalgaboyundaki absorbansları ölçülmüş ve kültürler yaklaşık 1×10^{7}-1×10^{8} CFU/ml olacak şekilde steril dH_2O ile seyreltilmiştir. Seyreltilen NB besiyeri içerikli mikroorganizmadan 100 µl örnek alınarak eküvyon çubuğu ile petrilere yayılması sağlanmıştır. Ardından mikroorganizma içerikli Nutrient Agar (NA) besiyeri üzerine kuyu açılarak herbir kuyuya hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarından 100'er µl eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak antibiyotik (Streptomisin, 10 µg/disk) ve negatif kontrol olarak DMSO kullanılmış ve çalışmalar çift tekrarlı olarak yapılmıştır [84].

Antimikrobiyal aktivite testi çalışmalarında kullanılan mikroorganizmalar, Düzce Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC) kaynağına göre Çizelge 2.1'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteriler, NB ya da NA besiyerleri kullanılarak 16-18 saat 37 °C'de büyütülmüştür [85], [86].

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve bazı özellikleri [87].

Mikroorganizma	Kaynak	Türü	Zararları
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	Gram (+)	İnsanlarda menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit ve bakteriyemi gibi hastalıklara neden olabilir [88].
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	Gram (+)	Gıdalarda besin zehirlenmelerine yol açar. Çıban, sivilce, zatürree, menenjit gibi çok sayıda sistem ve organ enfeksiyonlarına neden olur. Kemoterapide kullanılan maddelerin birçoğuna karşı direnç kazanmıştır [89].
Staphylococcus epidermidis	ATCC 12228	Gram (+)	İntravasküler cihazlarla ilişkili enfeksiyonlara neden olur ancak aynı zamanda yaygın olarak protez eklemlerinde, kateterlerde ve büyük yaralarda da görülür. Ayrıca septisemi ve endokarditde *S. epidermidis* ile ilişkili hastalıklardır [90].
Salmonella typhimirium	ATCC 14028	Gram (-)	Et, süt, yumurta ve bunların türevlerine bulaşarak bulantı ve kusma ile başlayan enfeksiyonlara neden olur. Çeşitli yollardan vücuda geçerek bağırsaklardan kana geçebilir, böbrek, eklem, kemik, karaciğer, safra yolları ile farklı bölgelere yerleşebilir, yangı ve abselere neden olabilir [88].
Proteus vulgaris	ATCC 13315	Gram (-)	İnsanlarda genellikle idrar yolları ve böbrek enfeksiyonlarına neden olur [89].
Yersinia pseudotuberculosis	ATCC 911	Gram (-)	Hayvanlarda ve insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olur [91].
Pseudomanas aeruginosa	ATCC 27853	Gram (-)	Uygun şartlar altında yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, göz enfeksiyonları ve bronşit gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır [89].
Enterobacter cloaceae	ATCC 13047	Gram (-)	Literatür, bakteriyemi, menenjit, kan dolaşımı enfeksiyonu, sepsis, idrar yolu enfeksiyonu, septikemi, yara enfeksiyonu, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, santral sinir sistemi ve gastrointestinal sistem tanımlarıyla doludur [92].
Escherichia coli	ATCC 35218	Gram (-)	İnce bağırsağa yerleştiğinde diyare, kalın bağırsağa yerleştiğinde dizanteriye neden olur. Bazı suşların toksini kana geçerek hemolitik üremik sendroma neden olur, böbreklerde ve kırmızı kan hücrelerinde hasara yol açar [88].
Klebsiella pneumoniae	ATCC 13883	Gram (-)	İnsanların % 5 inin bağırsak florasında ve üst solunum yolu florasında yaşayabildiği için kolaylıkla hastalıklara neden olabilir [89].
Listeria monocytogenes	ATCC 7644	Gram (+)	Çiğ sebze, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, iyi pişmemiş kırmızı et, tavuk, ve balık tüketen insanlarda enfeksiyona neden olabilir [88].
Bacillus subtilis	ATCC 6633	Gram (+)	Bakterinin doğrudan doku ve göz içerisine girmesi sonucunda göz yangıları meydana getirebilir. Besin zehirlenmesine yol açtığı düşünülmektedir [89].

2.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada DPPH radikali giderme aktivite tayini DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali kullanılarak yapılmıştır [62]. DPPH radikalinin metanol çözeltisi kullanılarak bitki ekstraktlarının 20-100 µg/ml konsantrasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerden 750 µl'si alınarak üzerlerine 1500 µl DPPH çözeltisi eklenmiş ve 30. dakika sonunda spektrofotometrede 517 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak 750 µl metanol ile 1500 µl DPPH karışımı, kör olarak metanol çözeltisi, pozitif kontrol (standart) olarak ise Bütil hidroksianisol (BHA, 2-14 µg/ml,

Aldrich) kullanılmıştır [71]. Çalışmalar iki kez tekrarlanmıştır.

DPPH radikal giderme aktivitesi Denklem (2.2) kullanılarak hesaplanmıştır.

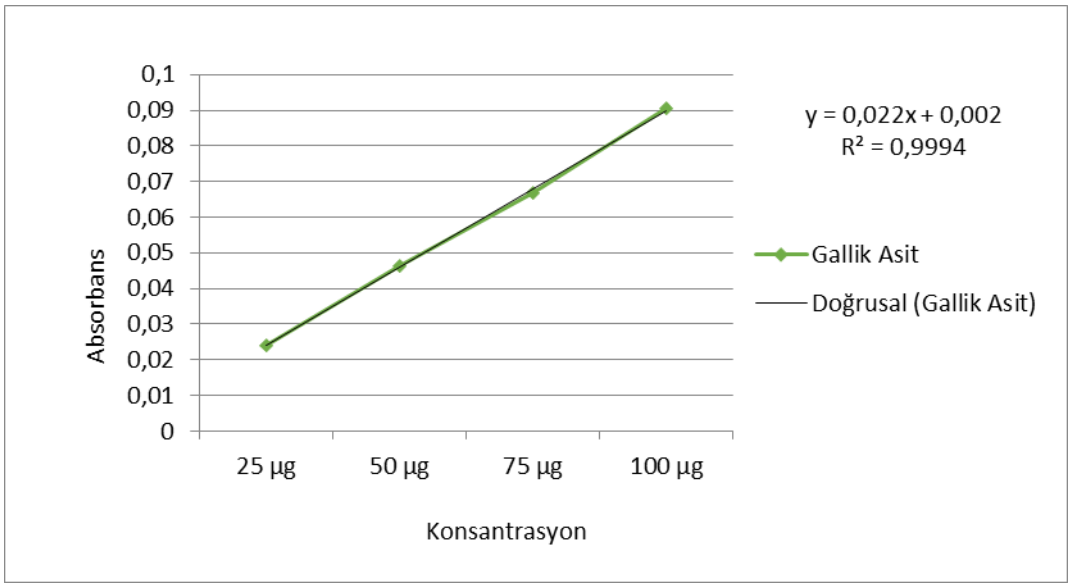
$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (2.2)$$

A_0= Negatif Kontrolün Absorbans Değeri,

A_1= Standart ve Numunenin Absorbans Değeri [71].

2.4. FENOLİK İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Herniaria glabra L. bitkisinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşen miktarının belirlenmesinde SET tabanlı Folin-Ciocalteu reaktifi yöntemi kullanılmıştır Gallik asit standardına karşılık gelen toplam fenolik bileşik miktarı belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan ekstraktların gallik asit standardına karşılık gelen fenolik bileşen miktarları Şekil 2.6'da verilen gallik asit standart grafiği ile belirlenmiştir [93].



Şekil 2.6. Gallik asit standart grafiği.

1:1 oranında (25 mg gallik asit 25 ml dH_2O'da çözüldü) hazırlanan stok çözeltisinden farklı konsantrasyonlara sahip (25-100 µg/ml) çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltilerden ve bitki ekstraktlarından alınan 0,1 ml örnek üzerine 4,5 ml dH_2O eklenmiştir. Üzerine 0,1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve 3 dakika beklendikten sonra sırasıyla % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 0,3 ml eklenerek karıştırılmıştır. İki saat boyunca oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletildikten sonra 760 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Kör numune benzer şekilde hazırlanmış olup numune ve standar çözelti

yerine 0,1 ml dH_2O eklenmiştir [74]. Çalışmalar çift tekrarlı olarak yapılmıştır. Estraktların fenolik madde miktarları standart gallik asit grafiğinden (Şekil 2.6) elde edilen oranlara göre gallik asit eş değeri olarak hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

Yapılan çalışmalar sonucunda, *Herniaria glabra* L. bitkisinin etanol, hekzan ve aseton çözücülerinin ekstrakları hazırlanmış, elde edilen üç ekstraktın sırasıyla yüzde verim oranları, antibakteriyal aktivite özellikleri, antioksidan aktivite özellikleri ve toplam fenol içerikleri belirlenmiştir.

3.1. EKSTRAKLARIN YÜZDE VERİM HESAPLAMALARI

Bitki ekstraktların % verim hesaplamaları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Verimler w/w şeklinde gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Bitki ekstraktlarının yüzde verim değerleri.

Bitki Örnekleri	Ekstrakt	% Ekstrakt Verimi (w/w)
Herniaria glabra L.	Hekzan	0,6000
	Etanol	2,0762
	Aseton	2,4476

En yüksek verimin bitkinin, aseton ekstraktında (% 2,4476), en düşük verimin ise hekzan ekstraktında (% 0,6000) olduğu belirlenmiştir.

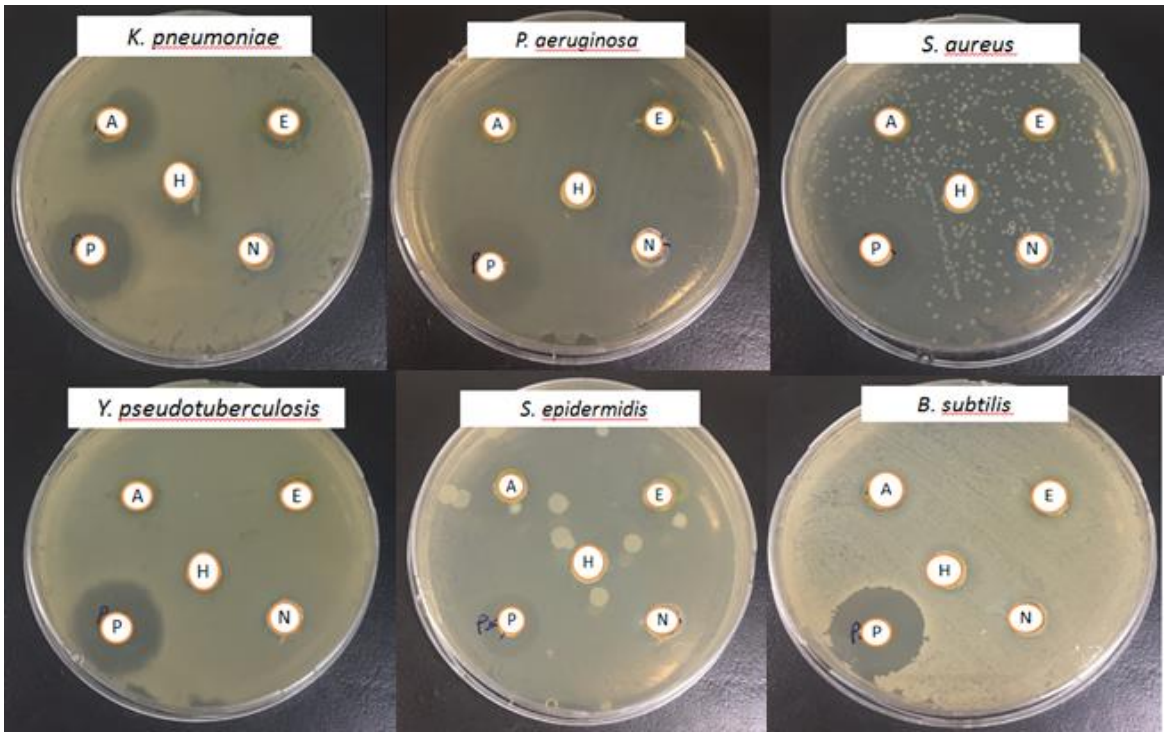
3.2. ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTE ANALİZİ

Bitki ekstraklarının agar kuyu difüzyon yöntemi ile antibakteriyal aktiviteleri test edilmiştir. Bitki ekstraktlarının bakterilere karşı gösterdikleri Pozitif Kontrol (PK) ve Negatif Kontrol (NK) etkileri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

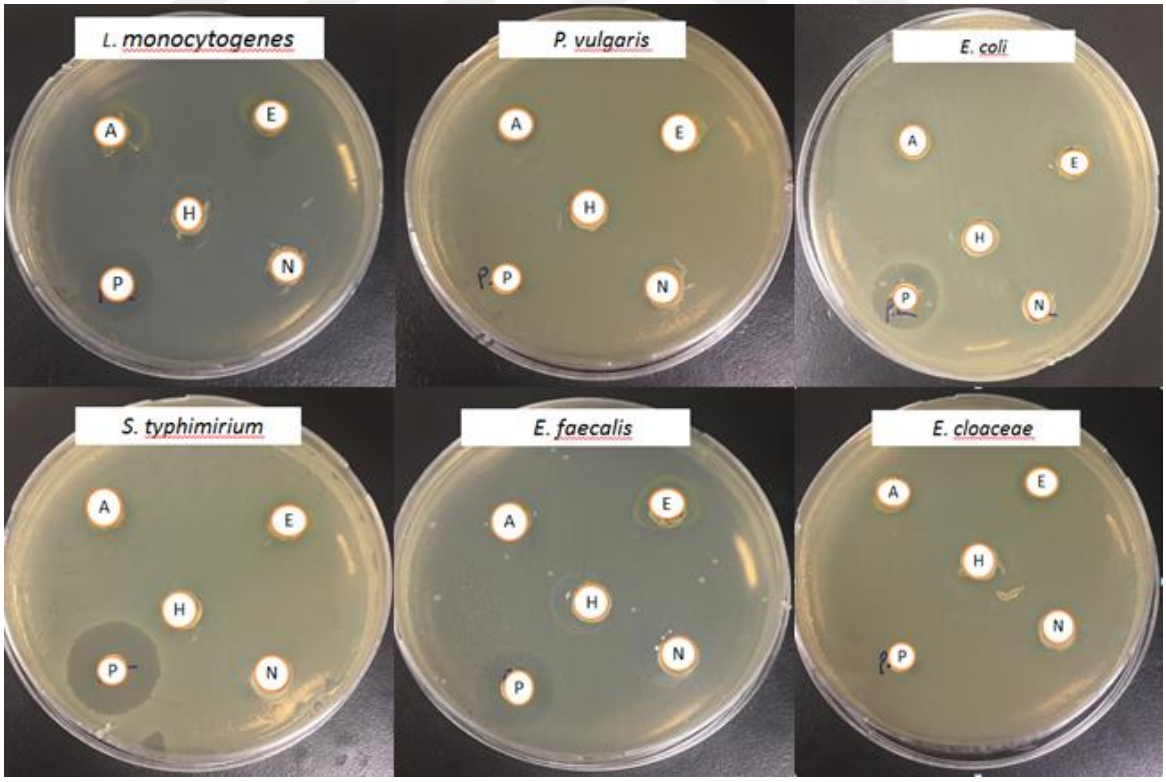
Çizelge 3.2. Bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine etkisi.

Mikroorganizma	Ekstrakt / İnhibisyon zonu (mm)				
	Etanol	Aseton	Hekzan	P.K.	N.K.
E. faecalis	-	-	-	15,5	-
S. typhimirium	-	-	-	20,5	-
K. pneumoniae	13,0	15,5	11,5	23,5	-
E. coli	-	-	-	16,5	-
P. vulgaris	-	-	-	-	-
L. monocytogenes	-	-	-	14,5	-
Y. pseudotuberculosis	-	-	-	22,5	-
P. aeruginosa	-	-	-	24,5	-
S. epidermidis	-	-	-	15,0	-
S. aureus	-	-	-	16,0	-
E. cloaceae	-	-	-	-	-
B. subtilis	-	-	-	20,0	-

H. glabra bitkisinin etanol, aseton ve hekzan ekstraktlarının bazı mikroorganizmalara karşı antibakteriyal aktiviteleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’ de verilmiştir.



Şekil 3.1. Antibakteriyal aktivite sonuçları. Aseton [A], Etanol [E], Hekzan [H], Streptomisin [P], DMSO [N].



Şekil 3.2. Antibakteriyal aktivite sonuçları (devamı). Aseton ekstraktı [A], Etanol ekstraktı [E], Hekzan ekstraktı [H], Streptomisin [P], N. K. [N].

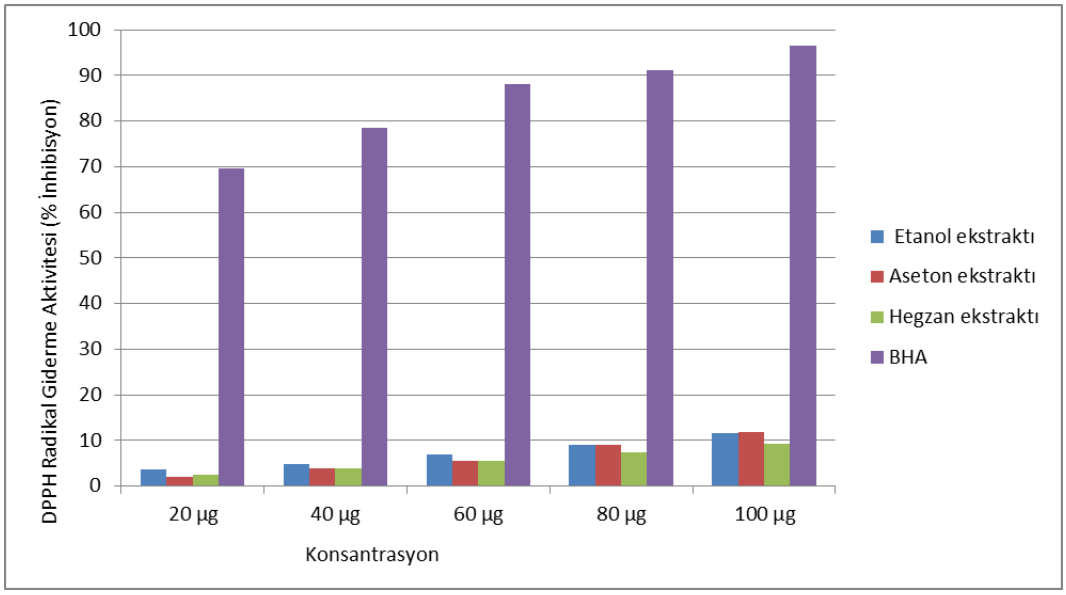
Herbir ekstraktın *K. pneumoniae* bakterisine karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *H. glabra* bitkisinin etanol, hekzan ve aseton ektraktlarının *E. faecalis, S. typhimirium, S. epidermidis, P. vulgaris, Y. pseudotuberculosis, S. aureus, P. aeruginosa, B. subtilis, E. coli* ve *L. monocytogenes* bakterilerine karşı antibakteriyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. *P. vulgaris* ve *E. cloaceae* bakterilerine karşı bitki ekstraktlarının aktivite göstermediği gözlenmiştir.

3.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ

3.3.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

Çalışma yapılan *H. glabra* bitkisinin, hekzan, etanol ve aseton ekstraktlarının DPPH radikal giderme aktiviteleri inhibisyon yüzdesi (%) olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'nın DPPH radikal giderme aktivitesi ile karşılaştırılmıştır.

Test edilen bitkinin DPPH radikal giderme aktivitesi ve standart olarak kullanılan BHA ile karşılaştırılması Şekil 3.3'te % inhibisyon olarak gösterilmektedir. Tüm bitkilerin kontrole karşı DPPH radikal giderme aktiviteleri inhibisyon yüzdesi (%) olarak değerlendirildiğinde kontrol ve bitki ekstraktların aktivite sıralamasının; BHA> Aseton > Etanol> Hekzan şeklinde olduğu görülmektedir. İnhibisyon yüzdesi (%) verilerine göre; standart BHA'ya en yakın DPPH radikal giderme aktivitesi *H. glabra* bitkisinin aseton ekstraktında görülmüştür.



Şekil 3.3. Bitki ekstraktlarının ve standardın DPPH radikal giderme aktiviteleri.

Bitki ekstraklarının ve BHA'nın DPPH inhibisyon yüzdesi (%) grafikleri kullanılarak IC_{50} değeri 20-100 µg/ml konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Hekzan ekstraktının 28,9343 µg/ml, etanol ekstraktının 24,1101 µg/ml, aseton ekstraktının 20,5610 µg/ml, BHA kontrol 4,3695 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Yüzde inhibisyon (%) değerlerine göre BHA'nın DPPH radikal giderme aktivitesine en yakın IC_{50} değeri değeri, aseton ekstraktında 20,5610 µg/ml olarak görülmüştür. Standart olarak kullanılan BHA'ya en uzak IC_{50} değeri ise *H. glabra* bitkisinin hekzan ekstraktında 28,9343 µg/ml olarak belirlenmiştir.

3.4. TOPLAM FENOLİK BİLEŞEN ANALİZİ

3.4.1. Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile Toplam Fenolik Bileşen Analizi

Bitki ekstratlarının toplam fenolik bileşen miktarları Folin-Ciocalteau kimyasal indirgeme metodu ile belirlenmiş olup Gallik asit ekivalenti (GAE, µg/ml) olarak ifade edilmiştir.

*Herniaria glabra L.*bitkisi için hekzan ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği 1,72 ± 0,0031 µg/ml; etanol ekstraktı için 5,96 ± 0,0280 µg/ml; aseton ekstraktı için 6,25 ± 0,0012 µg/ml şeklinde belirlenmiştir. Bitki ekstraklarının fenolik bileşen içeriklerinin sırasıyla aseton ekstraktı > etanol ekstraktı > hekzan ekstraktı şeklinde olduğu belirlenmiştir. Bitkilerin toplam fenolik bileşen içerikleri Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. *H. glabra* L. bitki ekstraklarının toplam fenolik bileşen içerikleri.

Bitki	Hekzan Ekstraktı (µg/ml)	Etanol Ekstraktı (µg/ml)	Aseton Ekstraktı (µg/ml)
Herniaria glabra L.	1,72 ± 0,0031	5,96 ± 0,0280	6,25 ± 0,0012

4. TARTIŞMA

Bitkilerin içerdikleri kimyasal bileşenler, bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilebilmekte ve kronik birçok hastalığın riskini azaltmaktatadır. Bitkilerin çok çeşitli farmakolojik etkilere sahip olmaları çeşitli alanlarda kullanım olanağı sunmaktadır. Günümüze kadar 5000'in üzerinde farklı bitki türünün tanımlandığı tahmin edilmektedir. Bununla beraber tanımlanmayı bekleyen birçok bitki türü için çalışmalar devam etmektedir [94].

Herniaria bitki türleri kanın saflaştırılması, dolaşım bozuklukları, vasküler bozukluklar, kan basıncını, diüretik, eklem ve kemik ağrıları, solunum koşulları ve solunum bozuklukları, nörit, nöral nezle ve idrar yolu gibi birçok hastalığın tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda *H. glabra*'nın saponinler I-VII (aglikonlar medicagen, gypsogen, 16-hidroksi-medicagen), flavonoidler ve hidroksikoumarinler: umbelliferone, herniarin, fenolik asit, tanen yağı, herniar, asidon, yağ hirsuta fenolikler, flavonoidler, flavonoller ve saponinler içermekte olduğunu göstermektedir [78]. Yapılan bir çalışmada *H. glabra* bitkisinden yeni bir asetilenmiş triterpen saponin izole edilmiştir. GC, GC-MS, FAR-MS analizi ve 2D NMR tekniklerinin kullanılarak yapısı;

28-0-{β-D-glucopyranosyl-(1⟶3)-α-L-rhamnopyronasyl-(1⟶2)-[β-D-glucopyranosyl-(1⟶3)]-4-acetyl-β-D-fucopyranosyl(1⟶)}-medicagenicacid-3-0-β-D-glucuronide

olarak açıklanmıştır [95].

Fitokimyasal analizler ve farmakolojik çalışmalar, *H. glabra* bitkisinin triterpen saponinler içerdiğini ortaya çıkarmaktadır. Triterpen saponinlerin toplamının UV spektrofotometrisi ile escin cinsinden kantitatif analizine yönelik bir yöntem geliştirilmiştir. Saponin ekstraksiyonunun koşulları incelenmiştir. Saponinlerin ve 325 nm'de konsantre sülfürik asit etkileşimi ile elde edilen renkli ürünün optik yoğunluğu, saponinlerin toplamının hesaplanmasında kullanılmıştır. *H. glabra* bitkisindeki triterpenik saponinlerin toplamının escin cinsinden içeriği % 16,52 ± 0,60 'dır [96].

H. glabra saponinlerinin antihipertansif etkisi, furosemidinkine kıyasla sıçanlarda incelenmiştir. Hipertansif sıçanlar, 200 mg / Kgbw dozajında *Herniaria glabra* saponinler

ile tedavi edilmiştir. Tedavi hem sistolik hem de diyastolik kan basınçlarında progresif bir düşüşe neden olmuştur. Bir aylık tedaviden sonra, basınç 187,60 / 119,10 mmHg'ya karşı 141,60 / 90,40 mmHg'ya düşmüştür [P <0,001]. *Herniaria glabra* saponinleri kalp atış hızını değiştirmemiştir [97].

H. glabra bitkisinin Polonya, Çekya, Avusturya, Macaristan ve Balkanlarda resmi olarak bulunduğundan bahsedilmektedir [98].

Kozachok ve ark., *H. glabra* bitkisinin geleneksel olarak kullanımının böbrek ve mesane taşları, gutlar, idrar kesesi enfeksiyonları, diyabet, fıtıklar, hipertansiyon, kardiyak dekompansasyon ve romatizma tedavisinde etkili olduğunu, harici olarak kullanımının antiseptik ve cilt yumuşatıcı olarak etki gösterdiğini belirlemişlerdir. [78,98].

Bitki çiçek açtığı zamanda kullanırsa, astrenjan (dokuları sıkıştıran yahut daraltan ilaç), balgam söktürücü olarak da etkili olduğu belirtilmektedir [37].

H. glabra bitkisinden elde edilen herniarinin, semilooper larvalarına karşı yüksek böcek öldürücü aktivite ile birlikte ağır yıkma etkisi sergilediği bilinmektedir [78].

Yapılan bir çalışmada *Herniaria glabra* bitkisinin % 0.29 flavonoid ve % 0.34 fenolik asit içerdiğini göstermiştir Üç flavonoid (izotretit, luteolin ve rutin), iki fenolik asit (kafeik ve klorojenik asit) ve dokuz amino asit (alanin, asparaginik asit, glutaminik asit, glisin, histidin, izolösin, lösin, fenilalanin ve treonin) tanımlanmıştır [99].

Herniaria glabra'nın flavonollerin içeriği 6,9 mg QG / g, fenolik asitler 10,2 iridoidler 11,8 mg LA / g ve ana fenoliklerin toplamı 28,8 mg / g olarak bulunmuştur. *Herniaria glabra* ekstresi içeren birçok tıbbi bitki ekstraktının etkileri, bakteriyel sağkalım ve doku kolonizasyonu ve üropatojenik *Escherichia coli*'nin biyofilm oluşumunda rol oynayan virülans faktörlerine karşı incelenmiştir. Sonuçlar, antibakteriyal aktivitelerdeki incelenen ekstreler arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. *Herniaria glabra* ekstreleri, en yüksek büyüme inhibitör etkilerini gösterdiği rapor edilmiştir [100].

Kimyasal antiskalantlar, genellikle endüstrideki en büyük sorunlardan biri olan ölçek tortularını kontrol etmek için kullanılmaktadır. Bu ürünlerden bazıları çevreye zararlı veya insanlar için toksik olabilmektedir. Bu nedenle çevre dostu antiskalantlar büyük önem kazanmaktadır. Bitki özleri, yeni yeşil antiskalant ajanları olarak kullanılabilmektedir. Yapılan çalışmada, *H.* glabra'nın sulu çözeltisi infüzyonla elde edilmiştir. *H. glabra,* geleneksel ilaçta ürolitiyaziyi tedavi etmek veya önlemek için kullanılmaktadır. *H. glabra*'nın $CaCO_3$ oluşumuna karşı özellikleri kronoamperometri ve

hızlı kontrollü yağış yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Polar bileşikleri içermeyen bir fraksiyon verecek şekilde, *H. glabra*'nın sulu çözeltisini ayırmak için n-bütanol çözeltisi kullanılmıştır. Sonuçlar, ham *H. glabra* çözeltisine kıyasla n-butanol fraksiyonu için $CaCO_3$ çökelmesine karşı daha iyi bir inhibisyon etkinliği gösterdiği bildirilmiştir [101].

Herniaria glabra L. *(Caryophyllaceae)* bitki özlerinin fitokimyasal olarak araştırılması, bilinen maltol türevi ve benzil gentiobiosid'in tanımlanmasına ve izole edilmesiyle açığa çıkmıştır. Yapıların tanımlanması, geniş 1D ve 2D NMR spektroskopik analizleri ve ayrıca HRESIMS verileriyle oluşturulmuştur. *Herniaria* cinsinde ve *Caryophylaceae* familyasında ilk kez apiorutin maddesi bulunmuştur. Bu maddeye ek olarak, apiorutin, rutin, narsisin ve licoagrosid B'nin antioksidan etkileri, *in vitro* peroksinit kaynaklı oksidatif strese maruz kalan insan kan plazmasında değerlendirilmiştir. İzolatlar kısmen kan oksidatifini ve kan plazması proteinlerini azaltmasının yanı sıra, kan plazmasının enzimatik olmayan antioksidan kapasitesini arttırırıken plazma lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır. İncelenen maddelerin periferik kan mononükleer hücrelerine karşı sitotoksisitesi bulunmamıştır [102].

Fitoligandlar, çoklu ilaç direnci (MDR), *Salmonella typhi, Staphylococcus aureus* ve *Vibrio kolera* üzerinde araştırılmıştır. Bu ligandların ilaç hedeflerine karşı inhibe edici özellikleri, moleküler yerleştirme ile incelenmiştir. *Herniaria glabra* kaynaklı Herniarin, *Vibrio kolera*'nın dfrA1'sine karşı en iyi yol olarak tanımlanmıştır [103].

Herniaria hirsuta L., *Herniaria glabra* L. ve *Herniaria fontanesii* J. Gay infüzyonları, safra diskinezisinde, (üro) böbrek taşı tedavisinde veya bir idrar söktürücü olarak iyi bilinmektedir. *H. glabra* ve *H. hirsuta* içerebilen *Herniariae herba,* Avrupa'da ürolojik bir ilaç olarak bilinmektedir. Çalışmada, standart bir *H. hirsuta* kaynağının koleltiatusa karşı etkinliğinin araştırılması ve genotoksisitesinin değerlendirilmiştir. *H. hirsuta*'nın ekstraktında bulunan flavonoid ve saponin değerleri HPLC-UV metodu ile doğrulanmıştır. *H. hirsuta*'nın bir kaynağının köpeklerin safra kesesinde kolesterol düşürücü etkisinini belirlemek için geliştirlen yöntem ile, *H. hirsuta* özütünün uzun süre kullanımı, köpeklerin safralarında kolesterol düşürücü bir etki ile sonuçlanmıştır. Bu farmakolojik etki safra kesesi taşlarının oluşumunu önlediği ve mevcut safra kesesi taşlarının çözülmesine katkıda bulunabileceği için, *H. hirsuta*'nın standart bir kaynağının insan hastalarda safra kesesi taşlarının tedavisinde olumlu bir etkisi olabileceği gösterilmiştir [104].

Bununla birlikte *Herniaria* türlerine ait bitkiler üzerine pek çok farklı alanda çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Fakat *Herniaria glabra* L. bitkisi üzerinde antibakteriyal, antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerik üzerine çok fazla çalışma yapılmadığı gözlenmiştir. Bu bağlamda yaptığımız bu çalışma ile literatüre katkı sağlanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada Bolu bölgesinde yetişen *Herniaria glabra L*. bitkisinin biyolojik aktivitesi incelenmiştir.

1. *Herniaria glabra* L. bitkisine ait ektraktlardan Aseton ekstraktı (% 2,4476) > Etanol Ekstraktı (% 2,0762) > Hekzan ekstraktı (% 0,6000) şeklinde verim sağlanmıştır.

2. Antibakteriyalal test sonuçlarına göre ekstraktlardan herbiri *K. pneumoniae* bakterisine karşı aktivite gösterdiği bulunmuştur.

3. *H. glabra* L. bitkisinin etanol, hekzan ve aseton ekstraktlarının *E. faecalis, S. typhimirium, S. epidermidis, Y. pseudotuberculosis, S. aureus, P. aeruginosa, B. subtilis, E. coli* ve *L. monocytogenes* bakterilerine karşı antibakteriyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

4. *P. vulgaris* ve *E. Cloaceae* bakterilerine karşı bitki ekstraktlarının yanı sıra pozitif kontrol olarak kullanılan Streptomisinin de aktivite göstermediği gözlenmiştir.

5. DPPH radikal süpürücü etkisi, hekzan ekstraktının 28,9343 µg/ml, etanol ekstraktının 24,1101 µg/ml, aseton ekstraktının 20,5610 µg/ml olarak bulunmuştur.

6. Yüzde inhibisyon (%) değerlerine göre BHA'nın DPPH radikal giderme aktivitesine en yakın IC_{50} değeri değeri, aseton ekstraktında 20,5610 µg/ml olarak görülmüştür.

7. Standart olarak kullanılan BHA'ya en uzak IC_{50} değeri ise *H. glabra* bitkisinin hekzan ekstraktında 28,9343 µg/ml olarak belirlenmiştir.

8. *Herniaria glabra* L. bitkisi için hekzan ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği 1,72 ± 0,0031 µg/ml; etanol ekstraktı için 5,96 ± 0,0280 µg/ml; aseton ekstraktı için 6,25 ± 0,0012 µg/ml şeklinde bulunmuştur.

9. Bitki ekstraklarının fenolik bileşen içeriklerinin sırasıyla aseton ekstraktı (6,25 ± 0,0012) > etanol ekstraktı (5,96 ± 0,0280) > hekzan ekstraktı (1,72 ± 0,0031) şeklinde olduğu belirlenmiştir.
10. Antibakteriyal, antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşen içeriklerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda bitkinin zayıf antibakteriyal, antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.
11. Bitkinin toplam fenolik bileşen ve antioksidan aktvite sonuçları karşılaştırıldığında aralarında korelasyon olduğu belirlenmiştir.
12. Bu çalışmaya ek olarak bitki içerisindeki etken madde izole edilerek daha spesifik ve etkili sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKÇA

[1] A. E. Erdoğan ve A. Everest, "Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri," *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, c. 6, ss. 27-32, 2013.

[2] P. İli, "Bazı tıbbi bitkilerin kimyasal içerikleri ve hayvanlara etkileri," Yüksek lisans tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 2003.

[3] D. Yeşilbağ, "Fitobiyotikler," *Journal of Research in Veterinary Medicine*, c. 26, ss. 33-39, 2007.

[4] H. J. D. Dorman and S. G. Deans, "Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils," *Journal of Applied Microbiology*, c. 88, ss. 308-316, 2000.

[5] M. Lis-Balchin and S. G. Deans, "Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes," *Journal of Applied Microbiology*, c. 82, ss. 759–762, 1997.

[6] B. Şahin, "Farklı ekim zamanlarında yetiştirilen bazı tibbi bitkilerin verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi," Yüksek lisans tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2013.

[7] E. Faydaoğlu ve M. S. Sürücüoğlu, "Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları," *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 6, ss. 233-265, 2013.

[8] Y. Sıcak, Ö. F. Çolak, V. İlhan, E. Sevindik ve N. Alkan, "Köyceğiz yöresinde halk arasında yaygın olarak kullanılan bazı tıbbi ve aromatik bitkiler," A*nadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, c. 4, ss. 70-77, 2013.

[9] E. Bayram, S. Kırıcı, S. Tansı, G. Yılmaz, O. Arabacı, S. Kızıl ve İ.Telci, "Tibbi ve aromatik bitkiler üretiminin arttirilmasi olanaklari," *TMMOB, Ziraat Mühendisleri Odası 7. Teknik Kongresi*, Ankara, Türkiye, 2010.

[10] M. M. Bayramoğlu ve D. Toksoy, "Aktarlar ve tıbbi bitki ticareti üzerine bir araştırma (Doğu Karadeniz Bölgesi örneği)," *Orman Mühendisliği Dergisi*, c. 4, ss. 34-39, 2008.

[11] İ. Berber, C. Avşar, N. Çine, N. Bozkurt ve E. Elmas, "Sinop'da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraklarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi," *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, c. 3, ss. 10-16, 2013.

[12] M. Korkmaz and E. Karakurt, "Medicinal plants sold in the herbal markets in Kelkit (Gümüşhane)," *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 18, ss. 60-80, 2014.

[13] E. Çelik ve G. Y. Çelik, "Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri," *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, c. 5, ss. 1-6, 2007.

[14] K. Karasu ve E. Öztürk, "Tıbbi ve aromatik bitkilerin kanatlılarda antioksidan ve antimikrobiyal etkileri," *Türk Tarim Ve Doğa Bilimleri Dergisi*, c. 2, ss. 1766-1772, 2014.

[15] B. F. M. T. Andrade, L. N. Barbosa, I.S. Probst and A. F. Junior, "Antimicrobial activity of essential oils," *Journal of Essential Oil Research*, c. 26, ss. 34-40, 2014.

[16] R. M. Koerner, "Long-term geotextile degradation mechanisms and exposed lifetime predictions," *Geotextiles*, c.1, ss. 217-236, 2016.

[17] M. Bayaz, "Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri," *Akademik Gıda*, c. 12, ss. 45-53, 2014.

[18] B. D. Oliveira, A. C. Rodrigues, B. M. I. Cardoso, A. L. C. C. Ramos, M. C. Bertoldi, J. G.Taylor, L. R. Cunha and U. M. Pinto, "Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of Rubus rosaefolius phenolic extract," *Industrial Crops and Products*, c. 84, ss. 59-66, 2016.

[19] M. Balouiri, M. Sadiki andS. K. Ibnsouda, "Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review," *Journal of Pharmaceutical Analysis*, c. 6, ss. 71-79, 2016.

[20] A. Guschin, P. Ryzhikh, T. Rumyantseva, M.Gomberg and M.Unemo, "Treatment efficacy, treatment failures and selection of macrolide resistance in patients with high load of Mycoplasma genitalium during treatment of male urethritis with josamycin," *BMC Infectious Diseases*, c. 15, ss. 1-7, 2015.

[21] E. Akyüz, "*Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarinin kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri," Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dali, Fen Bilimler Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye, 2007.

[22] Y. Cag, H. Caskurlu, Y. Fan, B. Cao and H. Vahaboglu, "Resistance mechanisms," *Annals of Translational Medicine*, c. 4, ss. 1-8, 2016.

[23] G. F. Brooks, J. S. Butel, S. A. Morse, J. Melnick and A. Bergs, *Medical Microbiology*, 22. baskı, New York, ABD: Mc Graw Hill, 2001, ss. 63.

[24] Z. Gülay, "Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller," *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, c. 17, ss. 192-204, 2003.

[25] L. B. Rise and R. A. Bonoma, *Genetic and Biochemical Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents*, 4. baskı, Baltimore, England: Williams & Wilkins,1996, ss. 453-501.

[26] R. Singh, "Medicinal plants: A review," *Journal of Plant Sciences*, c. 3, ss. 50-55, 2015.

[27] A. Nostro, M. P. Germano, V. D'Angelo, A. Marino and M. A. Cannatelli, "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity," *Letters in Applied Microbiology*, c. 30, ss. 379-384, 2000.

[28] A. El-Shazly, G. Dorai and M. Wink, "Composition and Antimicrobial activity of essential oil and hexane-ether extract of tanacetum santolinoides (dc.) feinbr. and fertig," *Naturforsch*, c. 57, ss. 620-623, 2002.

[29] T. A. Al-Howiriny, "Composition and antimicrobial activity of esential oil of *Salvia lanigera*," *Pakistan Journal of Biological Sciences*, c. 6, ss. 133-135, 2003.

[30] A. Sartoratto, A. L. M. Machado, C. Delarmelina, G. M. Figueira, M. C. T. Duarte and V. L. G. Rehder, "Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil," *Brazilian Journal of Microbiology,* c. 35, ss. 275-280, 2004.

[31] X. Zhang, Y. Guo, L. Guo, H. Jiang and Q. Ji, "*In vitro* evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Melaleuca alternifolia essential oil," *Hindawi BioMed Research International,* c. 2018, ss. 1-8, 2018.

[32] U. Abbasoğlu, "Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri," *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences,* c. 22, ss. 111-118, 1996.

[33] K. Das, R. K. S. Tiwari and D. K. Shrivastava, "Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends," *Journal of Medicinal Plants Research,* c. 42, ss. 104-111, 2010.

[34] A.Ergene, P. Güler, S. Tan, S. Mirici, E. Hamzaoğlu and A. Duran, "Antibacterial and antifungal activity of Heracleum sphondylium subsp. artvinense," *African Journal of Biotechnology,* c. 5, ss. 1087-1089, 2006.

[35] C. Valgas, S. M. Souza, E. F. A. Smânia, and A. Smânia, "Screening methods to determine antibacterial activity of natural products," *Brazilian Journal of Microbiology,* c. 38, ss. 369-380, 2007.

[36] R. Benabbou, A. Zihler, M. Desbiens, E. Kheadr, M. Subirade and I. Fliss, "Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a combination of chitosan and divergicin M35," *Canadian Journal of Microbiology,* c. 55, ss. 347-355, 2009.

[37] G. Akaydın, E. Özmen ve B. Özüdoğru, "Ballıkayalar vadisi (Gebze-Kocaeli)'nin florası," *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, c. 18, ss. 279-289, 2006.

[38] H. E. Miller, F. Rigelhof, L. Marquart, A. Prakash, and M. Kanter, "Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables," *Cereal Foods World*, c. 45, ss. 59-63, 2000.

[39] S. E. Soares, "Ácidos fenólicos como antioxidantes," *Revista de Nutriçao*, c. 15, ss. 71-81, 2002.

[40] K. Bush, "New b-Lactamases in gram-negative bacteria: diversity and ımpact on the selection of antimicrobial therapy," *Antımıcrobıal Resıstance,* c. 32, ss. 1-5, 2001.

[41] M. M. Döğer, "Ispit'in (Trachystemon orientalis (L.) G. Don) antioksidan aktivitesi," Doktora tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2010.

[42] E. Bektaş, "*Cotinus coggygria* (Scop.) bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi," Yüksek lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye, 2011.

[43] B. Özenç, "*Fumaria officinalis*'un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi," Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2011.

[44] M. N. Alam, N. J. Bristi and M.Rafiquzzaman, "Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity," *Saudi Pharmaceutical Journal,* c. 21, ss. 143-152, 2013.

[45] V. L. Kinnula ve J. D. Crapo, "Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors," *Free Radical Biology and Medicine*, c. 36, ss. 718-744, 2004.

[46] S. B. Nimse and D. Pal, "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms," *Royal Society Of Chemistry Advances*, c. 5, ss. 27986-28006, 2015.

[47] A. W. Girotti, "Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems," *Journal of Lipid Research*, c. 39, ss. 1529- 1542, 1998.

[48] P. Green, S. Glozman, L. Weiner and E. Yavin, "Enhanced free radical scavenging and decreased lipid peroxidation in the rat fetal brain after treatment with ethyl docosahexaenoate," *Biochimica et Biophysica Acta*, c. 1532, ss. 203-212, 2001.

[49] P. Evelson, M. Travacio, M. Repetto, J. Escobar, S. Llesuy and E. A. Lissi, "Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, c. 388, ss. 261–266, 2001.

[50] M. Skiba, A. Pedrycz and B. Cichacz, "Reactıve oxygen radicals – the therapeutic effectiveness of antioxidants," *Polish Hyperbaric Research*, c. 54, 2016.

[51] Ö. Bardakçı, "Bazi sentetik antioksidanlarin 2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin araştirilmasi," Yüksek lisans tezi, Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 2017.

[52] P. Poprac, K. Jomova, M. Simunkova, V. Kollar, C. J. Rhodes, M. Valko, "Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases," *Trends in Pharmacological Science*, c. 38, ss. 592-607, 2017.

[53] A. C. M. Filho and R. Meneghini, "Protection of mammalian cells by o-phenanthroline from lethal and DNA-damaging effects produced by active oxygen species," *Biochimica Biophysica Acta*, c. 847, ss. 82-89, 1985.

[54] C. S. Wu, Q.H. Gao, X. D. Guo, J. G. Yu ve M. Wang, "Effect of ripening stage on physicochemical properties and antioxidant profiles of a promising table fruit 'pear-jujube' (Zizyphus jujuba Mill.)," *Scientia Horticulturae*, c. 148, ss. 177–184, 2012.

[55] C. F. Chen, J. F. Lee, D. Wang, C. Y. Shen, K. L. Shen ve M. H. Lin,"Water Extract of Zizyphus Jujube Attenuates Ischemia/Reperfusion–Induced Liver Injury in Rats (PP106)," *Transplantation Proceedings*, c. 42, ss. 741-743, 2010.

[56] J. H. Ahn,Y.P. Kim, E. M. Seo, Y. K. Choi ve H. S. Kim, "Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil," *Journal of Food Engineering*, c. 84, ss. 327-334, 2008.

[57] İ. Gülçin, M. T. Uğuz, M. Oktay, Ş. Beydemir ve Ö. İ. Küfrevioğlu, "Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.)," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, c. 28, ss. 25-33, 2004.

[58] A. Kırca ve E. Arslan, "Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey," *International Journal of Food Science and Technology*, c. 43, ss. 2038-2046, 2008.

[59] R. S. Devi, S. Narayan, G. Vani, P. Srinivasan, K. V. Mohan, K. E. Sabitha ve C. S. S. Devi, "Ulcer protective effect of terminalia arjuna on gastric mucosal defensive mechanism in experimental rats," *Phytotherapy Research*, c. 21, ss. 762-767, 2007.

[60] O. T. Okan, H. Varlıbaş ve M. Öz, İ. Deniz, "Antioksidan analiz yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler," *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, c. 13, ss. 48-59, 2013.

[61] S. Albayrak, O. Sağdiç ve A. Aksoy, "Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler," *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* c. 26, ss. 401-409, 2010.

[62] A. Ardağ, "Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması," Yüksek lisans tezi, Analitik Anabilim Dalı, Fen Bilimler Enstitüsü, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 2008.

[63] R. Yavaşer, "Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması," Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 2011.

[64] B. B. Uyar, M. G. Karadağ, N. Şanlıer ve S. Günyel, "Toplumumuzda sıklıkla kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde miktarlarının saptanması," *Gıda,* c. 38, ss. 23-29, 2013.

[65] A. Khoddami, M. A. Wilkes and T. H. Roberts, "Techniques for Analysis of plant phenolic compounds," *Molecules*, c. 18, ss. 2328-2375, 2013.

[66] E. Atak ve M. E. Uslu, "Fenolik bileşikler, ekstraksiyon metotları ve analiz yöntemleri," *MCBÜ Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, c. 3, ss. 1-10, 2018.

[67] N. Güleşçi ve İ. Aygül, "Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler," *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, c. 5, ss. 1-21, 2016.

[68] C. Manach, A. Scalbert, C., C. Rémésy and Liliana Jime´nez, "Polyphenols: food sources and bioavailability," *The American Journal of Clinical Nutrition*, c.79 , ss.727-747 , 2004.

[69] A. P. Cemeroğlu ve B. S. Cemeroğlu, "Sağlık açısından gıda fenolikleri," *Gıda Teknolojisi,* c. 3, ss. 52-55, 1998.

[70] I. Ignat, I. Volf and V. I. Popa, "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables," *Food Chemistry,* c. 126, ss. 1821-1835, 2011.

[71] H. Birman, "Bitkisel flavonoid bileşiklerinin biyoaktiviteleri ve muhtemel etki mekanizmaları," *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, c. 75, ss.46-49, 2012.

[72] S. Yaşar, F. Demir ve Y. Karatepe, "Bazı maki türlerinin kimyasal içeriği ve fenolik ekstraktifleri üzerine araştırmalar," *Türkiye Ormancılık Dergisi*, c. 17, ss. 187-193, 2016.

[73] D. Gupta, "Methods for determination of antioxidant capacity: A review," *International Journal of Pharmaceutical Sciences Research*, c. 6, ss. 546–566, 2015.

[74] R. L. Prior, X. Wu and K. Schaich, "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* c. 53, ss. 4290–4302, 2005.

[75] A. R. Selçuk, “Galvinoksil radikal bazlı spektrofotometrik antioksidan aktivite tayin yöntemi ve yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlerle kıyaslanması,” Yüksek lisans tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye, 2012.

[76] Y. S. Çakmak, G. Zengin, B. Eskin, K. Yıldırım, M. Topal, G. H. Aydın, E. Ünlü, M. Baydemir ve K. Erten, “*Medicago rigidula* (L.) ALL.’nın antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ve fenolik bileşiminin incelenmesi,” *Marmara Pharmaceutical Journal*, c. 21, ss. 522-529, 2007.

[77] Ö. Saral, H. Şahin ve M. Karaköse, “*Vinca major subsp. hirsuta*’nın antioksidan aktivitesinin ve RP-HPLC-UV ile fenolik bileşenlerinin belirlenmesi,” *Orman Fakültesi Dergisi*, c. 16, ss. 124-131, 2015.

[78] A. E. Al-Snafi, “Pharmacological importance of *Hernıarıa glabra* and *Herniaria hirsuta* - A review,” *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 5, ss. 2167-2175, 2018.

[79] G. Akaydın, G. Çalışkan ve E. B. Yılmaz, “Beşkayalar vadisi (Gölcük-Kocaeli)’nin florası,” *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, c. 18, ss. 459-469, 2006.

[80] G. Fanny, “Plante à fleurs : famille des Caryophyllaceae,” Canton de Genève Corp., Cenevre, İsviçre, 2014.

[81] K. Ghédira and P. Goetz, “*Herniaire*: *Herniaria glabra* L. (*Caryophyllaceae*),” *Phytothérapie*, c. 15, ss. 300-303, 2017.

[82] S. Ağaoğlu, N. Dostbil ve S. Alemdar, “The antibacterial efficiency of some herbs used in herby cheese,” *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, c. 16, ss. 39-41, 2005.

[83] S. Dagdelen, T. Bilenler, G. Durmaz, I. Gokbulut, A. A. Hayaloglu and I. Karabulut, “Volatile composition, antioxidant and antimicrobial activities of herbal plants used in the manufacture of van herby (otlu) cheese,” *Journal of Food Processing and Preservation*, c. 38, ss. 1716-1725, 2014.

[84] B. B. Sokmen, S. Ugras, H. Y. Sarikaya, H. I. Ugras and R. Yanardag, “Antibacterial, antiurease and antioxidant activities of some Arylidene barbiturates,” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, c. 171, ss. 2030-2039, 2013.

[85] D. Rimek, B. Fehse and P. Göpel, “Evaluation of Mueller-Hinton-agar as a simple medium for the germ tube production of Candida albicans and Candida dubliniensis,” *The Authors Journal Compilation*, c. 51, ss. 205-208, 2007.

[86] S. Chanda, K. Rakholiya, K. Dholakia and Y. Baravalia, “Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa* L. and *Colocasia esculenta* L.,” *Turkish Journal of Biology*, c. 37, ss. 81-91, 2013.

[87] S. Ülger, “Hakkari' de yetişen bazı bitkilerin toplam fenolik bileşen içeriklerinin ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi,” Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, Türkiye, 2017

[88] D. Ayvaz Bektaş, "Doğu Karadeniz Bölgesinde yetişen bazı bitki türlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi, "Yüksek lisans tezi, Kimya Ana Bilim Dalı, Giresun Üniversitesi, Giresun, Türkiye, 2013.

[89] H. Öztürk, "Jurınea consanguınea'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi," Yüksek lisans tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trakya Üniversitesi, Edirne, Türkiye, 2009.

[90] S. Philips, P. Patel, E. Dixon and K. A. Gonzalez, "An exploration of a honey-ginger supplement as an antimicrobial agent," Journal of Emerging Investigators, c.1, ss. 1-4, 2016.

[91] R. Laukkanen-Ninios, X. Didelot, K. A. Jolley, G. Morelli, V. Sangal, P. Kristo, Ca. Brehony, P. F. M. Imori, H. Fukushima, A. Siitonen, G. Tseneva, E. Voskressenskaya, J. P. Falcao, H. Korkeala, M. C. J. Maiden, C. Mazzoni, E. Carniel, M. Skurnik and M. Achtman, "Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocussequence typin," Environmental Microbiology, c. 13, sayı. 12, ss 3114-27, 2011.

[92] Y. Haryani, R. Tunung, L. C. Chai, H. Y. Lee, S. Y. Tang and R. Son, "Characterization of Enterobacter cloacae ısolated from street foods," *ASEAN Food Journal*, c. 15, sayı. 1, ss. 57-64, 2008.

[93] O. T. Okan, H. Varlıbaş, M. Öz ve İ. Deniz, "Antioksidan analiz yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler," *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, c. 13, sayı. 1, ss. 48-59, 2013.

[94] A. Özmen, "Aydın bölgesinde yetişen bazı endemik bitkilerden elde edilen ekstraktların sitotoksik aktivitelerinin belirlenmesi," Doktora tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın Ünversitesi , Aydın, Türkiye, 2008.

[95] H. Schröder, M. S. Zsilavecgz, G. Reznicek, J. Cart, J. Jurenitsch and E. Haslinger, "Triterpene saponin from *Herniaria glabra*," *Phytochemistry*, c. 34, ss. 1609-1613, 1993.

[96] E. M. Hakim, I. Y. Kaukhova, V. V. Sorokin and S.A. Minina, "The development technique of quantitative definition saponins in the grass *Herniaria glabra* L.," *Medicine Pharmacy*, c. 28, ss. 235-239, 2014.

[97] H. Rhiouani, B. Lyoussi, A. Settaf, Y. Cherrah ve M. Hassar, "Antihypertensive effect of *Herniaria glabra* saponins in the spontaneously hypertensive rat," *Annales pharmaceutiques françaises*, c. 59, ss. 211-214, 2001.

[98] S. Mahmoudi, M. Khali, A. Benkhaled, K. Benamirouche ve I. Baiti, "Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. varieties," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, c. 6, ss. 239–245, 2016.

[99] Z. Males, K. H. Pilepic, M. Crkvenčić ve F. Herenda, "Investigation of flavonoids, phenolicacids and amino acids of smooth rupturewort - *Herniaria glabra* L.," *Farmaceutski glasnik*, c. 69, ss. 673-684, 2013.

[100] D. Wojnicz, A. Z. Kucharska, A. S. Łetowska, M. Kicia ve D. T.Goska, "Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*," *Urological Research*, c. 40, ss. 683-697, 2012.

[101] O. Horner, H. C. Charpentier, X. Cachet, H. Perrot, J. Lédion, D. Gelus, N. Pécoul, M. Litaudon ve F. Roussi, "Antiscalant properties of *Herniaria glabra* aqueous solution," *Desalination*, c. 409, ss. 157-162, 2017.

[102] S. Kozachok, Ł. Pecio, J. K. Czepas, S. Marchyshyn, P. Nowak, J. Mołdoch ve W. Oleszek, "γ-Pyrone compounds: flavonoids and maltol glucoside derivatives from *Herniaria glabra* L. collected in the Ternopil region of the Ukraine," *Phytochemistry*, c. 152, ss. 213–222, 2018.

[103] S. Skariyachan, N. Jayaprakash, N. Bharadwaj ve R. Narayanappa, "Exploring insights for virulent gene inhibition of multidrug resistant *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, and *Staphylococcus areus* by potential phytoligands via in silico screening," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, c. 32, ss. 1379-1395, 2014.

[104] I. V. Dooren, M. E. A. Faouzi, K. Foubert, M. Theunis, L. Pieters, Y. Cherrah ve S. Apers, "Cholesterol lowering effect in the gall bladder of dogs by a standardized decoction of *Herniaria hirsuta* L.," *Journal of Ethnopharmacology*, c. 169, ss. 69-75, 2015.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Şebnem Üzmez

Doğum Tarihi ve Yeri : 01. 01. 1989- Akçakoca

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : uzmezsebnem@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya	Düzce Üniversitesi	2019
Lisans	Kimya	Celal Bayar Üniversitesi	2013
Lise	Matematik-Fen	Akçakoca (Y.D.A.) Lisesi	2007