

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Onopordum anaticum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig ENDEMİK TÜRÜNÜN  
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ,  
ANTİBAKTERİYAL VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gülten TAŞDELEN**

**Anabilim Dalı: BİYOLOJİ**

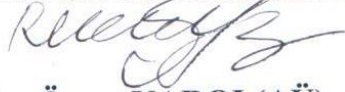
**Program: BOTANİK**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV**

**Temmuz 2013**

## YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 111461004 nolu öğrencisi Gülten TAŞDELEN tarafından hazırlanan “*Onopordum anaticum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig Endemik Türünün Antioksidan Aktivitesi, Antibakteriyal Ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV(PAÜ)**  
(Jüri Başkanı) 

**Jüri Üyesi :Prof.Dr. Ömer VAROL(AÜ)** 

**Jüri Üyesi :Doç.Dr.Yeşim KARA (PAÜ)** 

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 07/08/2013 tarih ve ..26/10.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü**  
**Prof. Dr. Nuri KOLSUZ**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza:



Öğrenci Adı Soyadı: Gülten TAŞDELEN

## ÖNSÖZ

*Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig Endemik Türünün Antioksidan Aktivitesi, Antibakteriyal ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmamda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Ramazan MAMADOV’a teşekkürlerimi sunarım. Tür teşislerimi yapan Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK hocama, sitotoksik çalışmalarına imkan veren Doç. Dr. Serdar DÜŞEN’e, antibakteriyal çalışmamda emeği geçen Doç. Dr. Vildan CANER’e, antikanser çalışmalarda yardımlarından dolayı Doç. Dr. Hakan AKÇA’ya ve tez çalışmalarım süresince verdikleri destekten dolayı Pamukkale Üniversitesi bölüm hocalarıma, arkadaşım Çiğdem AYDIN ve Hülya METİN’e, arazi çalışmalarında yardımlarından dolayı Hesna YAKA ve Özgür GÜL’e teşekkürlerimi sunarım. Manevi olarak yanımda olan Mustafa YAŞAR’a, ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı’na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2013

Gülten TAŞDELEN

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xi</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Yurdumuz da Endemizm ve Endemik Bitkiler .....	2
1.2. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri.....	3
1.3. <i>Onopordum</i> Cinsinin Genel Özellikleri .....	4
1.4. <i>Onopordum anatolicum</i> Türünün Taksonomik Bilgileri .....	5
1.5. <i>Onopordum</i> Türlerinin Kimyasal Özellikleri .....	5
1.5.1. Terpenler .....	5
1.5.2. Flavonoidler .....	11
1.6. Antioksidanlar .....	18
1.6.1. Serbest radikaller.....	19
1.6.2. Serbest radikallerin oluşumu.....	20
1.6.3. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri .....	20
1.6.4. Serbest radikallerin etkileri .....	20
1.6.5. Antioksidan etki tipleri.....	24
1.6.6. Antioksidan savunma sistemleri .....	25
1.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	30
1.7.1. Toplam fenol miktar tayini(Folin-ciocalteu yöntemi) .....	31
1.7.2. Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini.....	31
1.7.3. DPPH Süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi.....	31
1.7.4. Tiyobarbitürik asit metodu (TBA) .....	32
1.7.5. Demir-tiyosiyonat metodu .....	32
1.7.6. $\beta$ -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite).....	32
1.8. Antimikrobiyal Maddeler .....	33
1.9. <i>Onopordum</i> ile Yapılan Çalışmalar.....	34
1.10. Çalışmanın Amacı .....	37
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>37</b>
2.1. Materyal .....	37
2.1.1. Bitkisel Materyal.....	37
2.2. Yöntemler .....	40
2.2.1. Antioksidan aktivite analiz yöntemleri .....	40
2.2. Sitotoksik Yöntemler.....	42
2.3. Ekstraktların Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi .....	44
2.4. Antibakteriyal Aktivite Tayin Metodu .....	45
2.4.1 Çalışmada Kullanılan Bakteri Türleri .....	45
2.4.2. Broth Mikrodilüsyon yöntemi.....	45
<b>3.BULGULAR</b> .....	<b>48</b>
3.1 Antioksidant Bulguları .....	48
3.2. Sitotoksik Aktivite (Brine Shrimp Letalite Testi) Bulguları .....	51
3.3. Ekstraktın Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkisinin Bulguları.....	52
3.4. Antibakteriyal Aktivite Bulguları.....	52
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>53</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>57</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>62</b>

## **KISALTMALAR**

**ROP** : Reaktif Oksijen Partikülleri

**DNA** : Deoksiribonükleik asit

**O<sub>2</sub>-** : Oksijen peroksit

**•HO** : Hidroksil radikali

**DPPH** : 1,1 –difenil-2- pikril hidraliz

**BHA** : Büttilleşmiş Hidroksi Anisol

**BHT** : Büttilleşmiş Hidroksi Toluen

**DMSO** : Dimetil sülfooksit

**NB** : Nutrient Borth

**MIC** : Minimal inhibitör konsantrasyonunu

**MBC** : Minimal bakteriyal konsantrasyon

## SEMBOL LİSTESİ

**<sup>0</sup>C** : Santigrat derece

**gr** : Gram

**Gr (+)** : Gram pozitif

**Gr (-)** : Gram negatif

**M** : Molarite

**mg** : Miligram

**ml** : Mililitre

**mm** : Milimetre

**µg** : Mikrogram

**µl** : Mikrolitre

**%** : Yüzde

**nm**: Nanometre

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

<b>1.1:</b> Terpenlerin Genel Yapıları .....	6
<b>1.2:</b> Antosiyanidin yapıları .....	13
<b>1.3:</b> Flavon yapıları .....	16
<b>1.4:</b> Isoflavon yapıları .....	17
<b>1.5:</b> Başlıca Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) ve Oluşum Yolları .....	20
<b>1.6 :</b> Serbest radikallerin sebep olduğu bazı hastalıkla .....	22
<b>3.1:</b> Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde Mikatari Sonuçları.....	49
<b>3.2:</b> Brine Shrimp Letalite Testi Bulgular .....	51
<b>3.3:</b> Bakterilerin MIC (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MBC (minimal bakteriyal konsantrasyon) değerleri .....	52



## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

1.1: İzopren	6
1.2: Asiklik Monoterpenle	7
1.3: Asiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri	7
1.4: Monosiklik Monoterpenler	7
1.5: Monosiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri	8
1.6: Bisiklik Monoterpenler	8
1.7: Seskiterpenler	8
1.8: Farnesol	9
1.9 : Nerolidol	9
1.10: Fitol	10
1.11: Uçucu Yağlardaki Çeşitli Aromatik Bileşikler	11
1.12: Flavonoid yapısı	12
1.13: Antosiyanidin çekirdeği	13
1.14: Antosiyanin çekirdeği	14
1.15: Proantosiyanidin yapıları	14
1.16: Flavanon Yapısı	15
1.17 : Flavon Yapısı	15
1.18 : Flavanol Yapısı	16
1.19 : İzoflavon Yapısı	17
1.20 : DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu	32
2.1 : Tohumların Araziden Toplanması	38
2.2 : Toplanan Tohumlar ve Toz Haline Getirilmiş Hali	39
2.3: Su Banyosu, Rotary Evaporatör Freeze Dryer Liyofilizasyon Cihazları	40
2.4: $\beta$ -karoten-linoleik asitin uygulanması	41
2.5 : DPPH Deneyi	42
2.6: <i>Artemia salina</i> Yumurtaları ve Tüplere Ek	43
2.7: Pastör Pipet Yardımıyla <i>Artemia salina</i> Nauplii Sayımı	44
2.8: H1299Kanser Hücrelerinin Playtlere Ekimi	45
2.9 : Elyza Okuyucu Dos Mark Cihazı	47

<b>2.10:</b> İkinci Playte Ekim İşlemi .....	47
<b>3.1:</b> 3 $\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>O.anatolicum</i> hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği (Kontrol E;etanol,Kontrol M; metanol, Kontrol B; benzen, Kontrol A; aseton) .....	48
<b>3.2:</b> $\beta$ _karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%).....	48
<b>3.3:</b> DPPH yöntemi ile hazırlanan <i>O.anatolicum</i> etanol, metanol, benzen, asetonlu ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri .....	49
<b>3.4:</b> <i>O.anatolicum</i> etanol, metanol, benzen, asetonlu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı(GAE) .....	49
<b>3.5:</b> Gallik asit kalibrasyon eğrisi .....	50
<b>3.6:</b> 24 Saat Sonunda Farklı Konsantrelerdeki Ölüm Yüzdeleri .....	51
<b>3.7:</b> Ekstraktların Kanser Hücreleri Üzerindeki Farklı Konsantrelerdeki Sitotoksik Etkisi .....	52

## ÖZET

### ***Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig ENDEMİK TÜRÜNÜN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ, ANTİBAKTERİYAL VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışmada, Denizli ilinde yayılış gösteren endemik *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss & Heldr. ex Eig türüne ait tohumların etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan, sitotoksik, antikanserojen ve antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde DPPH ve  $\beta$ -karoten-Linoleik asit yöntemleri kullanılmıştır. En yüksek antioksidan aktivite (%77) metanollü çözücü ile elde edilen ekstraktta görülmüştür. Ekstraktların en düşük antioksidan aktivitesi asetondur (%5). Antioksidan etki yönünden kuvvetliliği içerdiği fenolik madde miktarına bağlıdır. Bu amaçla Folin-Ciocalteu yöntemiyle yapılan deneyde *O. anatolicum* toplam fenolik madde içeriği mg/ml gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Bu değerler göre içeriğinde en fazla fenolik madde içeren metanol (14,9) ve az fenolik madde içeren benzendir (5,53). DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlara baktığımızda ortamdaki serbest radikallerin süpürme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Tüm özütlerin derişiminin artmasıyla, serbest radikal giderim aktivitesi de artmaktadır. Antibakteriyal aktivite araştırması kapsamında yapılan çalışmamızda Broth Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen, *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis* gram negatif bakteriler ile *Staphylococcus warneri* ve *Staphylococcus haemolyticus* gram pozitif bakterilerde bulunan MIC (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MBC (minimal bakteriyal konsantrasyon) değerleri hesaplanmıştır. *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri genel olarak değerlendirildiğinde ise; Gram negatif bakteriler için antibakteriyal etkinliğin etanol solüsyonu içeren ekstraktlarda daha yüksek olduğu, ancak Gram pozitif bakteriler için ise antibakteriyal etkinliğin metanol solüsyonu içeren ekstraktlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sitotoksik etki Brine Shrimp (*Artemia salina*) yöntemine göre ethanol ile hazırlanmış ekstraktta 500  $\mu$ g/ml ve üstü konsantrasyonlar yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Methanol ile hazırlanmış ekstraktta 50  $\mu$ g/ml ve daha üstü konsantrasyonlar sitotoksik etkiye sahiptir. H1299 kanser hücreleri %10 FCS içeren RPMI1640 besi ortamı içersinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstraktı (1000, 500, 250, 125, 67,5, 32, 16, 8,4,2,1,0,5, 0,2, 0,1  $\mu$ g/mL) 0.2 mikronluk filtrelerden geçirilerek steril edildikten sonra kanser hücre hatlarına 72 saat süresince maruz bırakılmış ve sonuçlara bakılmıştır. H1299 kanser hücrelerinde 500  $\mu$ g/ml ve üstü konsantrasyonlar için etkisi olduğu gözlenmiştir. 500  $\mu$ g/ml ve üstü konsantrasyonlar da H1299 akciğer kanser hücrelerinde canlı hücrelerde azalmalar gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig , Antioksidan, H1299 kanser hücreleri, Sitotoksik Etki, Antibakteriyal Etki

## ABSTRACT

### THE RESEARCH OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND, ANTIBACTERIAL AND CYTOTOXIC EFFECTS OF THE ENDEMIC FAMILY OF *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig

In this research, antioxidant, cytotoxic, anticarcinogenic and antibacterial activities of ethanol, methanol, acetone and benzen extracts of some endemic *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig seeds which are in Denizli were examined. DPPH and  $\beta$ -carotene-Linoleic acid methods were used in order to determine the antioxidant activity. The highest antioxidant activity (77%) was seen in the extract which is obtained by using methanol catalyst. The lowest activity of antioxidant of the extracts is acetone (5%). In terms of impact, the strength of antioxidant depends on the phenolic amount of it. For that purpose, *O. anatolicum* total phenolic content was calculated in terms of mg/ml gallic acid in the experiment performed by using Folin-Ciocalteu method. According to these values, the highest amount of phenolic compounds are in methanol (14,9) and the lowest amount of phenolic compounds are in benzen (5,53). According to the results of the experiment performed by using DPPH method, it is obvious that the free radicals in the environment has the ability of sweep. The increase in the concentration of all extracts leads to an increase in the activity of elimination of free radical. In the study under antibacterial activity research, MIC (Minimal Inhibitor Concentration) and MBC (Minimal Bacterial Concentration) values in *Staphylococcus haemolyticus* gram positive bacteria and *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis* gram negative bacteria were calculated. According to the values, in the gram (-) bacteria as the group included ethanol extract was observed better than the group included methanol extract. It was determined that it is less efficient in the gram (+) bacteria. 500  $\mu$ g/ml and higher values of concentrations which were prepared with ethanol based on the Brine Shrimp (*Artemia salina*) method have high cytotoxic effect. 500  $\mu$ g/ml and high values of concentration which were prepared with methanol have also high cytotoxic effect. H1299 cancer cells in RPMI1640 nutrient environment which includes 10% FCS, after the herb extract (1000, 500, 250, 125, 67,5, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1  $\mu$ g/mL) which was prepared in different concentrations was sterilized by using 0.2 micron filter, it was exposed in to the cell lines for 72 hours and the results were determined. It was observed that it had effects on H1299 cancer cells for H1299 and more concentrations. In the concentrations of H1299 and more than H1299, there is decrease in the amount of alive cells for lung cancer.

**KeyWords:** *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex Eig, Antioxidant, H1299 cancer cells, cytotoxic effect, antibacterial effect

## 1. GİRİŞ

Doğadaki tüm hayvanlar, bitkiler ve insanlar bir dengenin ürünüdürler. Mitolojide bitkiler tanrıların insana verdiği en değerli armağan olarak ele alınmıştır. Tüm bitkiler insanın hizmetindedir ve insanın varoluşundan itibaren bitkilerle olan ilişkisi başlamıştır (Gezgin, 2006). İnsanlar pek çok ihtiyaçlarını karşıladığı dağları, tepeleri, çayırları, otlakları, yamaçları ve dereleri daima birer tabii eczane olarak görmüştür. İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır (Koçyiğit, 2005).

Yüzyıllardan beri süregelen insan ve bitki arasındaki bağ sonucunda, günümüzde tüm dünyanın önemini kabul ettiği ve ciddi araştırmaların yapıldığı etnobotanik bilim dalı doğmuştur (Koçyiğit, 2005). Etnobotanik bilgi birikimi, deneme yanılma yoluyla edinilmiş ve uzun bir zaman süreci sonucunda nesilden nesle aktarılarak günümüze kadar ulaşan çok değerli bilgileri yansıtan içerikleri ile bitkilerin bilimsel olarak değerlendirilmelerine önemli katkıda bulunmaktadır. “Tıbbi bitkilerle tedavi “ anlamına gelen “Fitoterapi” terimi ise ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc (1870-1955) tarafından kullanılmıştır. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte insanlar doğal ürünlere daha çok yönelmişler, buna bağlı olarak hastalıkların tedavisinde de tıbbi bitkileri kullanmayı daha güvenli bulmuşlardır. Özellikle 1990’lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmaktadır. Bu çalışmalar ne kadar çok olsa da yeterli olmamaktadır, çünkü ülkemiz geniş bir floraya, çok fazla bitki çeşitliliğine sahiptir.

Ilıman kuşak içerisinde bulunan Türkiye ise, sahip olduğu bitki çeşitliliği açısından kendisini çevreleyen birçok ülkeden daha zengindir ve farklı olan özellikleri ile dikkati çeker. Türkiye’de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, Avrupa kıtasının tümünde yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına yakındır. Ülkemiz mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça zengin bir floraya sahiptir. Floramızın bu kadar zengin olmasının başlıca sebepleri olarak; Türkiye’nin birbirinden hem iklim hem de bitki örtüsü yönünden, dolayısıyla floristik yapısı bakımından farklı üç bitki coğrafya bölgesinin kesiştiği bir konumda olması (Bunlar: Kuzey Anadolu’da

Avrupa-Sibirya, Batı ve Güney Anadolu'da Akdeniz, İç ve Güney Doğu Anadolu'da yer alan İran-Turan bitki coğrafyası bölgeleridir), Anadolu'nun Avrupa ve Asya kıtası arasında köprü konumunda olması ve buna bağlı olarak iki kıta arasında karşılıklı bitki göçleri ile çeşitliliğin artması, birçok cins ve seksiyonun farklılaşma merkezinin Anadolu oluşuyla, edafik (topraksal) faktörlerin oldukça çeşitlilik göstermesi sayılabilir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Ayrıca ülkemiz sadece flora zenginliği olarak değil endemik tür zenginliği bakımından da çok önemli bir yerdedir (Ekim, 1990). Endemik bitkiler sınırlı yayılış alanına sahip bitkilerdir. Türkiye florasındaki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alttürü ve 390 varyeteyi dâhil ettiğimizde endemik takson sayısı 3778'e çıkmaktadır (Erik ve Tarıkahya, 2004).

### **1.1. Yurdumuz da Endemizm ve Endemik Bitkiler**

Yurdumuz, Orta Doğu ve Avrupa ülkeleri içinde hem tür sayısı hem de endemik tür bakımından en zengin ülkelerden biridir. Bunun nedenleri;

1. İklimsel çeşitlilikler.
2. Topoğrafik çeşitlilikler.
3. Jeolojik ve jeomorfolojik çeşitlilikle deniz, göl ve akarsu gibi farklı sucul ortam çeşitlilikleri.
4. 0-5000 m'ler arasında değişen yükseklik farklılıkları, 3 farklı bitki coğrafyası bölgesinin birleştiği yerde olması.
5. Anadolu diyagoneli sınır kabul edilirse, doğusu ve batısı arasında ekolojik farklılıklar bulunması ve bu durumun floristik farklılıklara da yansımalarıdır (Kaya ve Aksakal, 2005).

Endemik bitki türleri bakımından zengin olan bölgeler Akdeniz, İç Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgeleridir (Ekim vd., 2000; Erik ve Tarıkahya, 2004). Yurdumuzda toplam endemizm oranı ise %33,5'dir (Kaya ve Aksakal, 2005). Türkiye endemik türler açısından zengin olduğu gibi endemik cinsler (genera) açısından da zengin sayılır. Bir tür ile temsil edilen ve endemik olan cinsler: *Kalidiopsis* ve *Cyathobasis* (Chenopodiaceae), *Phryna* ve *Thurya* (Caryophyllaceae), *Physocardamum* ve *Tchihatchewia* (Cruciferae), *Nephelochloa* ve *Pseudophleum* (Buğdaygiller-

Gramineae), *Dorystoechas* (Labiatae), *Sartoria* (Leguminosae), *Crenosciadium* ve *Ekimia* (Umbelliferae) (Davis, 1965-1988; Güner vd. 2000).

## 1.2. Asteraceae Familyasının Genel Özellikleri

Asteraceae (papatyagiller) familyasının, tür bakımından en zengin familya olduğunu Türkiye Florası kitabının 5. cildinden çıkarmak olasıdır. Tek yıllık ve çok yıllık otsular veya bazen çalı şeklinde olan bazıları latisifer (= süt boruları) içeren entomofil (= entomogam) bitkilerdir. Yaprakları alternat veya bazen karşılıklı, stipulsuz, tam kenarlı, değişik şekillerde parçalı olup, nadiren hepsi tabandadır. Çiçek birimleri (kapitula), çok sayıda çiçekten oluşur, nadiren tek çiçeklidir. Çiçekler sapsızdır ve çok sıralı fillariler (brakteler)'den oluşan koruyucu bir involukrum sarılı kapitulumda toplanmıştır (Seçmen ve ark., 1998; Doğan ve ark., 1999).

Çiçekler ya erdişi veya tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçeklerde kaliks ya papus ya halka veya pul biçimindedir ya da yoktur. Ovaryum alt durumlu (inferior), iki karpelden meydana gelmiş tek ovüllü, meyve tipi akendir, tepesinde bazen bir papus, bazen kaliks artığı bulunur (Tanker ve ark., 1998). Ekonomiye büyük oranda katkıda bulunmaktadır. Familya, gıda bitkileri, hammadde kaynakları, medikal ve ilaç bitkileri, körpe ve sulu bitkileri, yabani zararlı otları ve zehirli bitkileri içermektedir. Bu familyadan bal gibi yiyecek maddeleri elde edilir, familya türleri ilaç sanayisinde kullanılır; ayrıca birçok türü de süs bitkisi olarak yetiştirilir (Erdtman, 1966; Heywood, 1971; Rowley ve ark., 1981).

En çok endemik tür Asteraceae familyasında bulunmaktadır. 126 cinsten 40'ı endemik tür içerir. 1132 türün 430'u endemiktir. Endemizm oranı %38'dir (Kaya ve Aksakal, 2005).

### 1.3. *Onopordum* Cinsinin Genel Özellikleri

*Onopordum* Asteraceae ailesine ait ilginç bir cinstir ve bu sınıfın türleri, gıda olarak ve çeşitli ülkelerin genel tıbbında kullanılır. Papatyagiller familyasından; 30-120 cm boylarında, dik, güçlü ve dikensiz gövdeli, ancak üstlerde dallanan; tabanda rozet, yukarıda almaşık dizilişli, dişli ve dikenli kenarlı, alt yüzleri genellikle pamuksu, sivri mızraksı yaprakları olan; temmuz-ekim aylarında, 2-2.5 cm çapında kömeçler halinde leylak rengi çiçekler açan, beyazımsı kazık köklü, çok yıllık, otsu bir bitkidir. Ömrü iki yıllıktır. Çiçeklenme dönemi 6-8 aylardır. Habitatı kayalık yamaç, çalılık, temizlenmiş orman, yol kenarı, tarlalardır. 600-2600 yükseklikte bulunur. Cinsin genel dağılımı; Orta Asya, Batı Avrupa, Kuzey Amerika'dır. Türkiye dağılımı ise Doğu Anadolu, Kuzey Anadolu, Güney ve Güneybatı Anadolu'dur. *Onopordum* cinsinin temsilcileri Avrupa (özellikle Akdeniz bölgesinde), Kuzey Afrika, Kanarya Adaları, Kafkasya, Güneybatı ve Orta Asya, Irak, yetişmektedir. Bu bitkinin o bölgelerdeki yaşam alanları kumlu, taşlı, açık alanlar ve çöplük alanlarında yetişirler. Coğrafi kökene bağlı olarak *Onopordum* gruplarının kombine nükleer ve plastid moleküler yaklaşım vasıtasıyla iki ana yaşam formu tespit edilmiştir. Onlar Avustralya ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgelerinde süs bitkisi olarak ortaya çıkmaktadır. *Onopordum* L. dünya üzerinde 38 türü bulunmaktadır. Türkiye'de var olan türler ise; *Onopordum polycephalum* Boiss, *O. turcicum* Danin, *O. candidum* Nab, *O. armenum* Grossh, *O. heteraeanthum* C.A.Mey, *O. illyricum* L., *O. carduchorum* Bornm. Et Breauverd, *O. boissieri* Danin, *O. myriacanthum* Boiss, *Onopordum bracteatum* varyete *bracteatum* Boiss. et Heldr, *Onopordum bracteatum* varyete *arachnoideum* Boiss. et Heldr , *O. caricum* Hub.-Mor, *O. davisii* Rech.f., *O. tauricum* Willd., *O. sibthorpiantum* Boiss. et Heldr, *O. anatolicum* (Boiss.) Boiss & Heldr. ex Eig , *O. acanthium* L, *O. sirsangense* Rech. Fil. bulunmaktadır.

Ülkemizde kendiliğinden yetişen iki yıllık otsu bir bitkidir. Yüksekliği 30-1000 cm arasında değişen bu bitkinin derin dişli dikenli ve soluk yeşil renkli yaprakları, mor renkli küçük çiçeklerden oluşan sık başçıkları vardır. Meyvelerinin ucunda beyaz renkli bir tüy demeti bulunur. Anavatanı'nın Afrika olduğu düşünülürken bugün yayılım gösterdiği coğrafya Akdeniz'dir. Marmara Bölgesi ve Ege Bölgesinde de yaygın olarak gözlenmektedir. Ülkemizdeki endemik türler ise, *O. davisii*, *O. polycephalum*, *O. boissier*, *O. caricum* ve *O. anatolicum*'dur. (Davis, 1965). 1300 metre yüksekliğe kadar olan kırlarda, meralarda, yol kenarlarında, kültür



alanlarında, bağlarda, bahçelerde bulunur. Halk arasında akkız, deve kengeri, kengel, kıbbun, meryemana diken, sütlü kengel, şevkülmeriyem, uslu kenger, kasna, eşek diken, kenger otu, köygöçüren gibi yöresel isimlerle bilinir. *O. anatolicum* İstanbul Fenerbahçe (A2), Afyon Karakuyu (B3), Ankara Tuz Gölü (B4), Nevşehir Acıgöl (B5), Maraş Elbistan (B6), Burdur (C3), Denizli (C2) yayılış göstermektedir (Davis, 1965).

#### **1.4. *Onopordum anatolicum* Türünün Taksonomik Bilgileri**

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Asteridae

Order: Asterales

Familya: Asteraceae

Genus: *Onopordum*

Species: *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss & Heldr. ex Eig

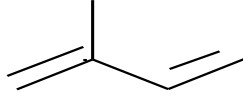
#### **1.5. *Onopordum* Türlerinin Kimyasal Özellikleri**

*Onopordum acanthium* L. un yapraklarından sesquiterpene lactonları (arctiopicrin ve onopordopicrin) (Nauka, 1993) tohumlarından triterpenoidler (Amyrin-Acetate ve lupeol acetate) izole edilmiştir (Ul'chenko ve ark., 1979). Kimyasal olarak araştırılan *Onopordum*'un çeşitli türlerinde flavonoidler, lignanlar (Cardona ve ark., 1992) ve sesquiterpen laktonlar (Lazari ve ark., 1998) en önemli bileşenler olarak saptanmıştır.

##### **1.5.1. Terpenler**

Terpenler, doğal ürünlerin en yaygın gruplarından biridir. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken, gıdalarda da aroma bileşenleri olarak önemlidirler. Örneğin turunçgiller, tarçın ve diğer baharat aromaları birkaç terpen ile karakterize edilir. Terpenler hücrelerde mikrozomal lipid peroksidasyonunu ve dokularda

yoğunlaşmış oksidatif stresi önlemektedir. Limonene ve citral (her ikisi de limonda bulunur), camphor, pinene (çam ağaçları), eugenol (karanfil), anethol, thymol, geraniol (gül) ve menthol en yaygın bilinen terpenlerdir. Kimyasal anlamda terpenler, yapısı çeşitli fakat belli sayıda izopren birimlerine sahip olan bir moleküller grubu olarak tanımlanır (methylbuta-1,3-diene, hemiterpen olarak isimlendirilen 5 karbonlu atomdur). (Şekil 1.1)



Şekil 1.1: İzopren Yapısı

Terpenlerin çoğu hidrokarbonlardır; ancak alkoller, ketonlar veya aldehitler gibi oksijen içeren bileşiklerde olabilirler. Bu türevler çoğunlukla terpenoids olarak adlandırılırlar. Mono- ve sesquiterpenler esansiyel yağların temel bileşenleridir. Diğer terpenler ise reçine, mum ve kauçuğun ana bileşenleridirler (Tablo 1.1).

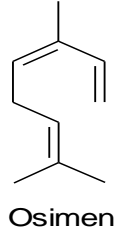
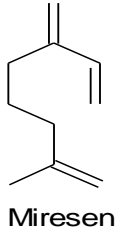
Tablo 1.1: Terpenlerin Genel Yapıları

	Terpenler	İzopren Ünitesi	Karbon atomu
1	Monoterpenler	2	10
2	Sesquiterpenler	3	15
3	Diterpenler	4	20
4	Sesterpenler	5	25
5	Triterpenler	6	30
6	Karotenoidler	8	40
7	Kauçuk	>100	>500

#### 1.5.1.1. Monoterpenler (C10)

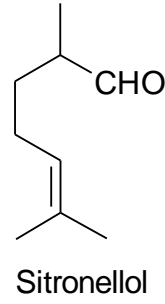
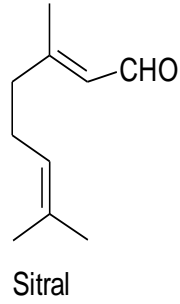
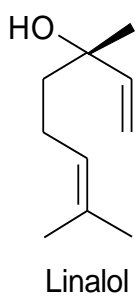
Bugün uçucu yağlarda 150'den fazla monoterpen bulunmuştur. Monoterpenler başlıca 3 grup altında toplanabilir.

a) Asiklik monoterpenler üç çift bağ içerirler: (Şekil 1.2: Asiklik Monoterpenler)



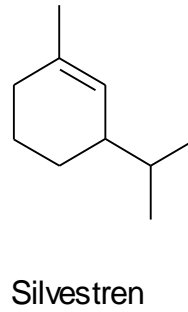
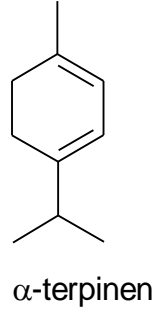
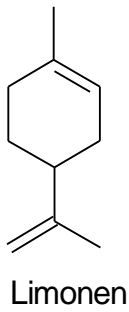
Şekil 1.2: Asiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

Asiklik monoterpenerin alkol, ester veya aldehit grubu taşıyan oksijenli türevleri bulunur (Şekil 1.3: Asiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri).



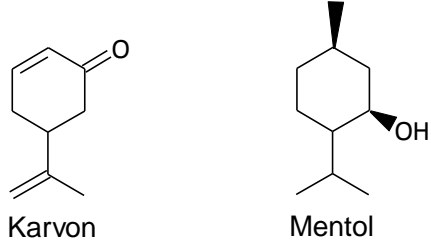
Şekil 1.3: Asiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

**b)** Monosiklik monoterpenerde iki çift bağ bulunur: (Şekil 1.4: Monosiklik Monoterpenler)



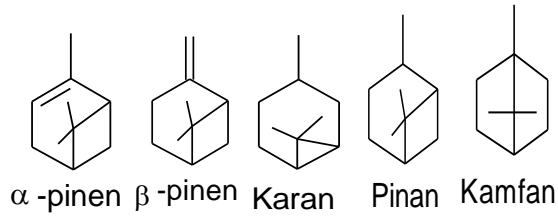
Şekil 1.4: Monosiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

Monosiklik monoterpenerin oksijenli türevleri alkol, ester, keton, epoksit ve peroksit grubu taşıyabilirler: (Şekil 1.5: Monosiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri)



Şekil 1.5: Monosiklik Monoterpenlerin Oksijenli Türevleri (Ceylan, 1987)

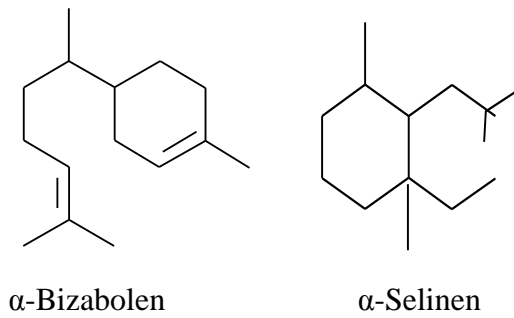
c) Bisiklik monoterpenler bir çift bağ içerirler: (Şekil 1.6: Bisiklik Monoterpenler)



Şekil 1.6: Bisiklik Monoterpenler (Ceylan, 1987)

### 1.5.1.2. Seskiterpen (C15)

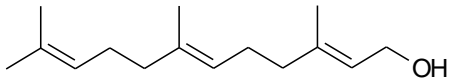
Bunlar da asiklik, monosiklik, bisiklik ve trisiklik seskiterpenler olarak alt gruplara ayrılır. Bugün uçucu yağlarda 1000 kadar seskiterpen bağlantılı türevler bulunmaktadır. Seskiterpenlere örnek olarak Bisabolol, Kamazulen, Farnesol verilebilir. Seskiterpenler, asiklik, monosiklik ve bisiklik yapıda olabilir (Şekil 1.7: Seskiterpenler).



Şekil 1.7: Seskiterpenler (Ceylan, 1987)

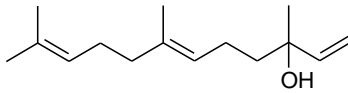
Seskiterpenlerin genel formülü  $C_{15}H_{24}$  olmakla yapısında üç molekül izopren bulunmaktadır. Yaklaşık 3000 civarında seskiterpen ve seskiterponoid bileşeni bilinmektedir. Monoterpenler gibi seskiterpenler de asilik ve siklik yapılarda olmakla, bitki eterik yağ ve balzamlarında bulunur. Bunlardan büyük çoğunluğu antibakteriyal etkiye sahip olduğu için parfümeriyada kullanılmaktadır.

Asiklik seskiterpenlere örnek farnesol ve nerolidolu gösterebiliriz. Farnesol bir çok bitkide (o cümleden, inci çiçeğinin çiçeklerinde) bulunmakla, aromatik komponentler ve kokuları fikse eden maddeler gibi parfümeride kullanılır.



Şekil 1.8: Farnesol

Nerolidol çoklu miktarlarda portakal (%50) eterik yağlarında ve peru balzamında bulunmaktadır. Nerolidol aroma maddesi olarak gıda sanayide ve parfümeride fiksatorlerin yapısında geniş şekilde kullanılır. Sanayide Nerolidol linaloldan elde etmiş olurlar (Bahtenko ve ark., 2008).



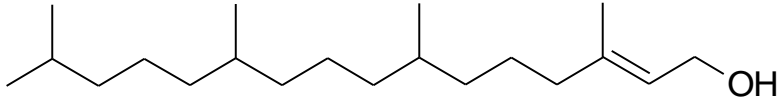
Şekil 1.9: Nerolidol

### 1.5.1.3. Diterpenler (C20) ve Triterpenler (C30)

Terpenik ve aromatik maddelerin oksijensiz yada oksijenli türevlerinden bir çoğu uçucu yağda karışım halinde bulunmaktadır. Oksijensiz olanlar çoğunlukla kolay uçucudurlar. Uçucu yağlar düşük sıcaklıklarda bile sıvı halde kalabilirler. Oksijenli türevleri ise daha az uçucudurlar ve uçucu yağ soğutulduğunda bir çoğu çökerek oksijensiz bileşiklerden ayrılırlar. Bazı uçucu yağlarda çöken kısmına stearopten, “bu koşullarda sıvı halde kalan kısmına da elaopten” adı verilir. Uçucu yağlara fraksiyonlu destilasyon uygulandığında ilk ele geçen fraksiyonlar elaoptenden oluşan oksijensiz bileşiklerdir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler

uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını verirler. Uçucu yağlarda asıl önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevlerdir.

Di ( $C_{20}H_{32}$ ) ve triterpenlerin ( $C_{30}H_{48}$ ) genel formülleri uzun zamandan beri bilinmektedir. Önemli olan ise bu maddelerin açık şekilde yapılarını belirlemek ve bunların insan vücuduna iyi veya kötü anlamda etki yapabilme mekanizmasını öğrenmektir. Bazı önemli diterpenler alkol ve ve fenolik yapıda olmakla birlikte doğal ortamda bunlara serbest halde rastlanmaz. Bazıları, klorofilin yapısında bulunabilmektedirler. Diterpenlerden fitol ve farnesolun sentetik analogları bilinmektedir (Şekil 1.10: Fitol).

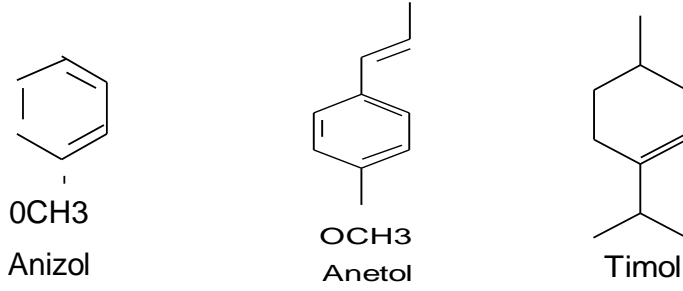


Şekil 1.10: Fitol

Porsuk (*Taxus*) bitkisinin kabuğundan alınan ve düşük dozlarda kanser hastalığının tedavisinde kullanılan ilacın yapısında diterpenoitler bulunmaktadır. Söz konusu bu bitkisel ilaç taksol olarak bilinmekle rahim ve meme kanserinde kullanılmaktadır. Taksolun özelliği onun yapısında bulunan ve çok az bitkisel ilaçta rastlanabilen oksatan fragmenttir. Hazırda taksol yalnız porsuk bitkisinin kabuklarından değil, aynı zamanda biyoteknolojik yöntemlerle de üretilmektedir. Adi porsuk (*T. baccata*) bitkisinin kültür ortamında *in vitro* çoğaltmakla taksolüretici kallus hatları bulunmuştur. Ferbol diterpenoid memeli hayvanlarda kanser hücrelerinin bölünmesini durdurur (Bahtenko ve ark., 2008).

#### 1.5.1.4. Aromatik Özelliklerine Göre Terpenler

Aromatik maddeler, terpenlerden sonra uçucu yağlarda bulunan önemli bileşik grubudur. Benzen, propilbenzen veya p-simen yapısında olabilirler, asit, alkol, ester, aldehit, keton, fenol ve eter gibi organik fonksiyonel gruplar taşıyabilirler. Uçucu yağların tat ve koku açısından çok önemli, belirgin bazı fizyolojik etkilere sahip, kısmını oluştururlar. Tat ve koku sanayinde önemli birçok bileşiğin sentezinde de kullanılırlar (Şekil 1.11: Uçucu Yağlardaki Çeşitli Aromatik Bileşikler).



Şekil 1.11: Uçucu Yağlardaki Çeşitli Aromatik Bileşikler (Ceylan, 1987)

### 1.5.1.5. Farmakolojik Etkilerine Göre Terpenler

Uçucu yağlar farmakolojik etkilerine göre de gruplandırılırlar. Farmokolojik etkilerine göre de uçucu yağlar antiromatizmal, öksürük kesici, idrar söktürücü, iltihap azaltan, dezenfektan vs. gibi gruplandırmaya tabi tutulurlar (Ceylan, 1987).

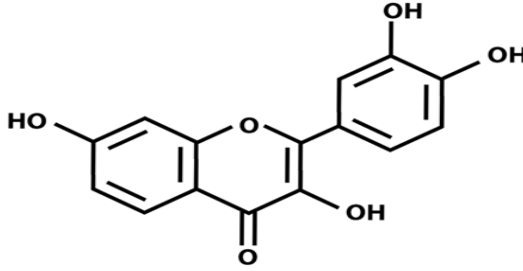
### 1.5.2. Flavonoidler

Flavonoidler bitkiler tarafından sentezlenen düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşiklerin bir sınıfını oluştururlar (Jaakola, 2003). Bu maddelerin milyar yıldır bitkiler aleminde var oldukları sanılır (Middleton ve ark., 2000; Ren ve ark., 2003). Bu sınıf 8000' den daha fazla flavonoid bileşikleri içerir (Rice ve ark., 2003). Flavonoidler çiçekli bitkilere renk veren maddelerdir (Kumar ve Sinha., 2004). Flavonoidler bir kaç bitkisel olmayan kaynağa da sahiptirler. Satyridae, Lycaenidae ve Papilionidae familyalarındaki kelebeklerin kanat ve gövdelerindeki renkleri oluştururlar (Rice ve ark., 2003). Flavonoidler aynı zamanda insan sağlığı üzerinde önem teşkil eden bileşenlerin en yaygın gruplarından birisidir (Kumar ve Sinha., 2004). Tıp alanında; iltihap önleyici, antialerjik, tümör oluşumunu önleyici, antiviral, şeker hastalığını önleyici, damar koruyucu, antioksidan (Forgacs ve Cserhati, 2002). antimikrobiyal ve enzim inhibe edici (Hurst, 2002) olarak kullanılmaktadır. Flavonoidler yapılarında 4 pozisyonunda bir karbonil (C=O) ve 5 (ya da 3) pozisyonunda bir hidroksil (OH) grubu içerdiğinden metallerle kompleks yapma yeteneklerine sahiptirler (Watson ve Preedy, 2004). Metal iyonları ile flavonoidlerin etkileşimi biyolojik olarak önemli bir aşamadır (Hajji ve ark., 2006). Bu etkileşim flavonoidlerin bazı biyolojik ve antioksidan özelliklerini değiştirebilir (De Souza ve

ark., 2005). Flavonoidler, glikozidler gibi canlı hücrelerde ortaya çıkarak, sıcak asit ve enzimler ile, aglikon ve şekere parçalanabilirler (Burak ve Çimen, 1999).

### 1.5.2.1. Flavonoidler'in Genel Yapısı

Flavonoidler, aromatik oksijen içeren bitkilerin; kök, gövde, yaprak, kabuk ve çiçeklerinde bulunan heterosiklik yapılardır. Kimyasal olarak 2-fenil-1,4-benzopiron sistemler olarak bilinirler (Şekil 1.12) (Kumar ve Sinha., 2004; Hajji ve ark., 2006). Flavonoidler 15 karbon atomu üzerinde oluşmuş yapılardır. Yapı üçlü bir karbon köprüsü ile bağlı olan iki fenil halkasından oluşur (Iwashina, 2000) (Şekil 1.12: Flavonoid yapısı).



Şekil 1.12: Flavonoid yapısı

### 1.5.2.3. Flavonoidler'in Sınıflandırılması

Flavonoidler C halkası etrafındaki çeşitliliklere göre başlıca 7 sınıfa ayrılabilir (Miller ve Larrea, 2002). Antosiyanidinler, antosiyaninler, proantosiyanidinler, flavanonlar, flavonlar, flavonoller, isoflavonlar olarak sınıflandırılabilirler (Iwashina, 2000).

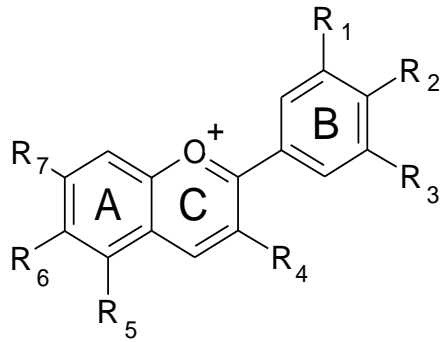
#### 1.5.2.3.1. Antosiyanidinler

Flavonoidlerin bu sınıfını oluşturan antosiyanidinler C halkasında –OH grubuna sahiptirler (Şekil1.13) (Hajji ve ark., 2006). Antosiyanidin sınıfını oluşturan flavonoidlerin yapısı A ve B halkalarındaki H, OH ve OCH<sub>3</sub> gruplarının varlığıyla çeşitlenir (Tablo 1.2) (Hurst, 2002; Miller ve Larrea, 2002).



Tablo 1.2. Antosiyanidin yapıları.

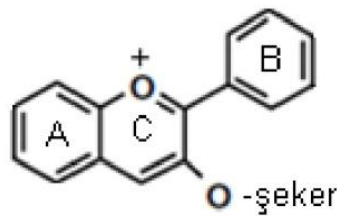
Antosiyanidin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Siyanidin	H	OH
Delphinidin	OH	OH
Malvidin	OC	OC
	H <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>
Pelargonidin	H	H
Petunidin	OC	OH
	H <sub>3</sub>	
Peonidin	OC	H
	H <sub>3</sub>	



Antosiyanidin çekirdeği

Şekil 1.13: Antosiyanidin çekirdeği

Yunanca' dan anthos, bir çiçek ve kyanos koyu mavi anlamına gelen antosiyaninler kimyasal olarak flavan'a benzer flavonoidlerdir. Temel yapının farklı hidroksillenmiş pozisyonlarında bağlanmış bir ya da daha fazla şeker molekülü ile ve 2 pozisyonunda (C6-C3-C6) ikinci bir aromatik B halkası taşıyan halka ile bir 15 karbon dizilişine dayanır (Şekil 1.14).



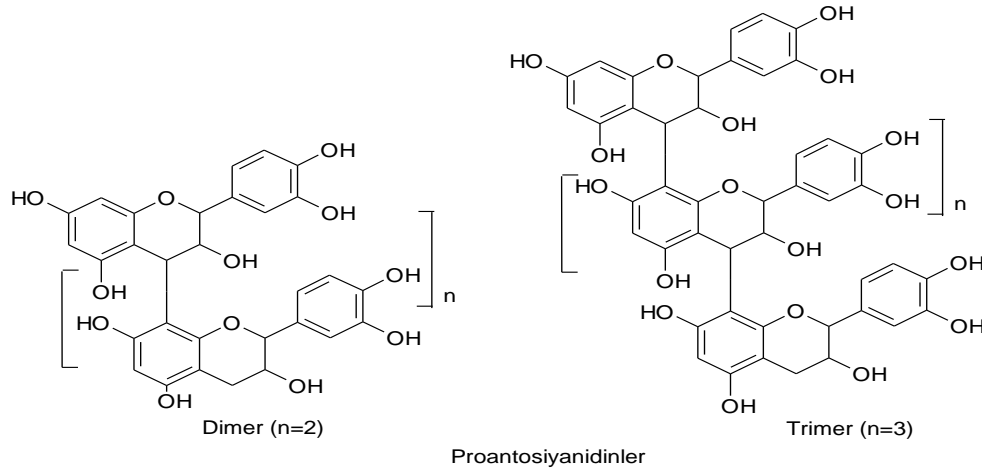
Şekil 1.14: Antosiyanin çekirdeği

Antosiyanin içeren bitkilerdeki renklerin geniş çeşitlilikleri; hidroksil gruplarının sayısına, metoksilasyon derecesine, monosakkaritlerin sayısına ve bağlanma

pozisyonlarına, karboksilik asitlerin sayısına, monosakkaritlerin açillenmiş türevlerine ve biyolojik çevrenin pH' na bağlıdır (Vargas ve ark., 2000)

### 1.5.2.3.2. Proantosiyanidinler

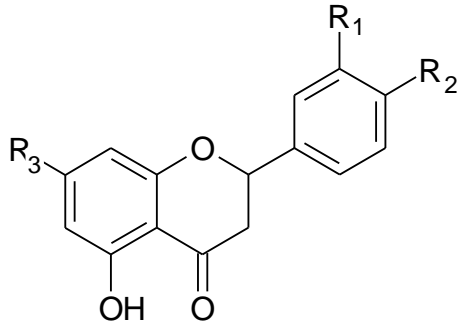
Proantosiyanidinler çoklu antosiyanidin benzeri yapılardan oluşan oligomer ya da polimerlerdir (Şekil 1.15). Proantosiyanidinler “kondenze tanninler” olarak da adlandırılır. Polimerizasyon derecesi 2 ile 48 birim aralığında olabilir. Elma (*Malus domestica*), kakao (*Theobroma cacao*), üzüm (*Vitis vinifera* L.) (Manach ve Donovan., 2004). Fasulye (*Phaseolus vulgaris*), kayısı (*Armeniaca vulgaris* Lam.), kiraz (*Prunus avium*), şeftali (*Prunus persica*), kırmızı şarap, yeşil çay (*Camellia sinensis*), böğürtlen (*Rubus caesius*) ve bunun gibi birçok ürün proantosiyanidinleri içerir (Lakhanpal, ve Rai.,2007) (Şekil 1.15: Proantosiyanidin yapıları).



Şekil 1.15: Proantosiyanidin yapıları

### 1.5.2.3.3. Flavanonlar

Flavanonlar C halkasında doymamış bir karbon - karbon bağına sahiptirler (Miller ve Larrea, 2002). Aglikon ve glikozitler olarak doğada bulunurlar (Iwashina, 2000). Flavonoidlerin başlıca çeşidini oluşturan flavanonlar turunçgillerde (*Citrus*) bulunur. Bunun yanında diğer gıdalarda da düşük oranlarda bulunabilirler. Hesperetin, naringenin ve eriodicytol aglikon flavanonlarındandır. Çoğu flavonoidler gibi flavanonlar glikozitleri halinde meyve ve bitkilerde mevcuttur. Portakal temel glikozitler olarak hesperidin ve narirutin içerir. Greyfurttaki başlıca flavanon ise naringindir (Manach ve Donovan., 2004).

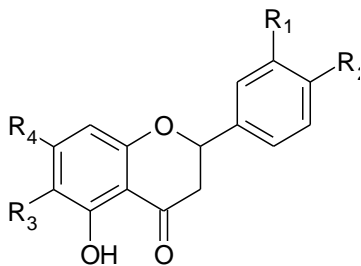


Flavanon çekirdeği

Şekil 1.16: Flavanon Yapısı

#### 1.5.2.3.4. Flavonlar

Flavonlar A ve B halkasında –OH, OCH<sub>3</sub> ve şeker gruplarına sahiptirler (Iwashina,2000). Aynı zamanda da yapılarında 3 pozisyonunda bir hidrojen içerirler (Hurst, 2002). Flavonlar flavonoidlerin diğer sınıflarından çok daha az bulunurlar. Flavonların önemli diyetel kaynakları biberiye, maydanoz, kereviz ve turunçgillerden türetilmiş olan esansiyel yağlardır (Manach ve Donovan., 2004). Boyacı sumacı (*Cotinus coggygia*)’ndan elde edilen bir flavon olan fisetin tekstil ve deri endüstrisinde sarı kahverengi renk aralığındaki boyar maddeler olarak kullanılmıştır (Kumar ve Sinha, 2004; Dölen, 1992). Muhabbet çiçeği (*Reseda luteola*) ve boyacı katırtırnağı (*Genista tinctoria* L.)’ndan elde edilen en önemli flavonlardan olan luteolin ise antibakteriyel ve iltihaplanmayı önleyici özelliklere sahip olduğu bilinen sarı boyar maddelerden en önemlisidir (Cardon, 2007; Dölen, 1992). Örneğin apigenin flavonununda iltihaplanmayı tedavi edici özelliği bilinmektedir (Watson ve Preedy, 2004). Tablo 1.3’ de bazı flavon yapıları verilmiştir (Hurst, 2002).



Flavon çekirdeği

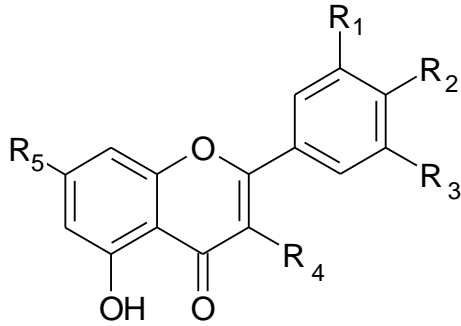
Şekil1.17: Flavon Yapısı

Tablo 1.3: Flavon yapıları.

Flavon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Apigenin	OH	H	H	OH
Baicalcin	H	H	OH	OH
Chrysin	H	H	H	OH
Genkwanin	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>
Luteolin	OH	OH	H	OH

### 1.5.2.3.5. Flavonollar

Flavonollar 3 pozisyonunda bir hidroksil grubuna (R<sub>4</sub>) bağlanmış flavonlardır. Quercetin ve kempferol flavonolları ağırlıklı olarak soğan, lâhana, brokoli, elma, kiraz, dut, çay ve kırmızı şarapta bulunur (Watson ve Preedy, 2004). Örneğin asparegus (*Delphinium zalil*) çiçeklerinden elde edilen isorhamnetin ve quercetin glikozitleri elyafı sarı renge boyar. (Iwashina, 2000). Flavonollerin renk haslıkları flavonlardan daha fazladır (Kumar ve Sinha, 2004).



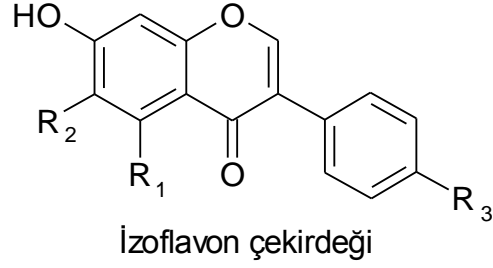
Flavonol çekirdeği

Şekil1.18: Flavonol Yapısı

### 1.5.2.3.6. Izoflavonlar

Isoflavonoidler olarak da adlandırılan izoflavonlar yapı olarak flavonlara oldukça benzerdirler. Flavonlardan farklılıkları B halkasının C halkasında pozisyon 2' ye değil de pozisyon 3' e bağlanmış olmasıdır (Şekil 1.19) (Iwashina, 2000). Bakliyatlar farmakolojik açıdan önem teşkil edebilen izoflavonlarca zengindirler (Yáñez ve ark.,

2007) Tablo 1.4' de bazı izoflavon yapıları verilmiştir (Hurst, 2002) (Şekil 1.19: İzoflavon Yapısı).



Şekil 1.19: İzoflavon Yapısı

Tablo 1.4: İzoflavon yapıları.

Isoflavon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
	O					
Biochanin	H	H	OCH <sub>3</sub>	-	-	-
Daidzein	H	H	OH	-	-	-
Formononetin	H	H	OCH <sub>3</sub>	-	-	-
	O					
Genistein	H	H	OH	-	-	-
Glycitein	H	OCH <sub>3</sub>	OH	-	-	-
Daidzin	-	-	-	H	H	H
Genistin	-	-	-	OH	H	H
Glisitin	-	-	-	H	OCH <sub>3</sub>	H

#### 1.5.2.4. Lignanlar

Lignanlar, bitkiler aleminde yaklaşık 90 familyada hatta kahve ve çayda bile saptanan, önemli biyolojik aktivitelere sahip doğal ürünlerdir, fenilpropanoit (C6.C3) ünitesinin 8-8' (P-P') konumlarından bağlanması ile meydana gelmektedirler. Lignanlar fitohormon olarak yoğun bir ilgi çekmekte olup diyet de fazla alman lignanların meme ve kolon kanseri ve koroner kalp hastalıkları riskini azalttığı bildirilmiştir (Massanet ve ark., 1989; Lewis ve Davin.; 1999; Heidonen ve ark., 2003) *Linum usitatissimum*'dan izole edilen lignan sekoizolarisirezinol diglukozittir (SDG) ve pinorezinoldiglukozittir (Thompson, 2007). Bunlardan SDG memeli lignanları olarak bilinen enterodiol ve enterolaktonun prekürsörüdür.

Yapılan bir çalışmada genç filiz ve genç keten meyvelerinde %90'dan fazla monoglukozitler bulunmakta daha olgun meyvelerde diglukozit oranı %30'a ulaşmaktadır. Tohum da ise özellikle diglukozitler bulunur. Total siyanogenetik

glukozit miktarının yaklaşık 2/3'ünü linustatin, 1/3'ünü ise neolinustatin oluşturmaktadır. Büyüme sürecinde, monoglukozitlerin yapraklarda yüksek oranda olmasına karşılık kökte ve gövdede bulunmadığı ispatlanmıştır (Frehner ve ark., 1990; Niedzwiedz-Siegien, 1998).

Keten tohumundan yağ elde edildikten sonra kalan ve besin olarak kullanılan un içerisinde siyanogenetik glukozitlerin varlığı tespit edilmiştir. Siyanogenetik glukozitler antinutritional faktörler olarak bilinmektedirler. Bu bileşiklerin uzaklaştırılması için bulunan yöntemde, alkol-amonyak-su-hekzan kullanılarak iki aşamalı solvan ekstraksiyonu yapılmaktadır. Böylece siyanogenetik glukozitlerin çoğu keten tohumundan uzaklaştırılır (Wanasundra, 1993).

## **1.6. Antioksidanlar**

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek vücudun onlardan etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Serbest radikallerin seksen farklı hastalığa neden olabileceği söylenmekte, enfeksiyon dışı olan bu hastalıkların başında kalp ve beyin damarlarının tıkanmasına bağlı hastalıklar, kanserler ve artrit gelmektedir.

Antioksidanlar hepimizin bildiği vitamin C, vitamin E ve A vitamininin öncü maddesi olan betakaroten, bitki ve sebzelerin genelde renkli maddelerini oluşturan flavonoidler ve bunlardan elektron alan selenyum, çinko gibi maddelerdir. Serbest radikaller, en dış yörüngede bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır. Serbest radikal yaratan kaynaklar radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir.

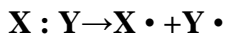
Genelde oksijen, hidrojen ve hidroksi tipinde olan bu serbest radikaller elektron açıklarını elektron verme özelliği yüksek olan antioksidanlardan sağlarlarsa bir başka biyomolekülü indirgememiş olurlar ya da serbest radikaller tarafından etkilenmiş biyomoleküller, antioksidanlardan elektron alarak yenilenebilir.

Teorik olarak mümkün görünse de antioksidanların vücudun tüm bölümlerine mesela beyin, omurilik sıvısına, kemik iliği veya bazı dokulara, kanda bulunduğu konsantrasyonda girmesi mümkün değildir. Bunun yanı sıra, antioksidanlar elektron aldıklarında bu elektronları verebilecekleri başka akseptörlerinde yanlarında bulunması gerekir. Belki bu nedenle doğal olarak alınan birbirine benzer ve bir arada bulunan antioksidanlar ilaç gibi alınan saf ve bir tip antioksidanlardan daha değerlidir. Antioksidanlar açısından zengin olan beslenme alışkanlıklarında bazı hastalıkların az görünmesi söz konusudur. Fransızlarda kalp hastalığının, Güneydoğu Asya'da yaşayanlarda meme kanserinin az bulunması gibi.

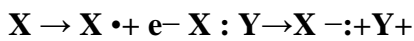
### 1.6.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklaşmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektronlardan dolayı reaktif oksijen parçalarıyla reaksiyona girerek serbest radikalleri oluşturur ve bu olayda vücut hücrelerinde devamlı oluşur. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir:

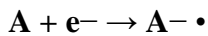
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi,



2. Normal bir molekülde tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturan her iki elektron oluşturan atomların birinde kalır böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküler şeklinde olabilirler. Cu, Fe, Mn ve Mo gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar.

### 1.6.2. Serbest radikallerin oluşumu

- (1) İyonize radyasyon, UV, çevre kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, aşırı egzersiz sırasında.
- (2) Enfeksiyonların neden olduğu reaksiyonlarda, fagositler tarafından hücre içine alınan bakteri ve diğer canlıların öldürülmesi amacıyla.
- (3) Normal hücre metabolizması esnasındaki oksijen içeren biyokimyasal reaksiyonlarda serbest radikaller oluşur.

### 1.6.3. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Canlılarda oksijen tek değerlikli indirgenmesi ile önce süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) bunun dismutasyonu ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Bu iki bileşik ortamdan temizlenmezse, hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) ve singlet oksijen ( $O_2$ ) üretirler.

**Tablo 1.5 :** Başlıca Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) ve Oluşum Yolları

$O-O + 1e \rightarrow O-O$ Doğal oksijen	$\rightarrow$	$O-O$ süperoksit	$O-O + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ Peroksit	$\rightarrow$	$H_2O_2$ Hidrojen peroksit
$O-O + 2e \rightarrow O-O$ Doğal oksijen	$\rightarrow$	$O-O$ Peroksit	$O + H^+ \rightarrow \cdot OH$ Oksijen atomu	$\rightarrow$	$\cdot OH$ Hidroksil Radikali
$O-O + 1e^- \rightarrow O-O$ Süperoksit	$\rightarrow$	$O-O$ Peroksit	$O + 2H^+ \rightarrow H_2O$ Oksijen atomu	$\rightarrow$	$H_2O$ Su

Oksijen elektronları öyle bir şekilde dağılmışlardır ki, bu elektronlardan iki tanesi eşleşmiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir diradikal olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Oksijen radikal olmayan maddelerle daha yavaş reaksiyona girer. En son suya indirgenir.

### 1.6.4. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller hücrelerin tüm bileşiklerine etki ederler. Yani proteinler lipidler, karbonhidratlar, enzimler, nükleik asitler ve DNA üzerinde önemli etkileri vardır. Mitokondrideki aerobik solunumu bozulur. Hücrenin potasyum kaybını trombosit



agregasyonunu artırır. Serbest radikallerin bu etkileri aşağıdaki başlıklar altında incelenebilir (Konukoğlu, 2000).

#### **1.6.4.1. Proteinlere etkileri**

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için, triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Papain, gliseraldehit 3 fosfat, dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için yukarıdaki aminoasitlere bağlı olan enzimler serbest radikallere maruz kaldıklarında, inhibe olurlar. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu immünglobülin G (IgG) ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin 3 boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Buna göre; serum proteinlerinde, kataraktlı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan sinovial sıvılarındaki IgG'lerinde serbest radikal hasarı saptanmıştır (Konukoğlu, 2000).

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinlerin hücrel lokalizasyonuna radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişir (Konukoğlu, 2000).

#### **1.6.4.2. Nükleik asit ve DNA'ya etkileri**

Radyasyon ile hücre içinde enerji depolanması sonucu; serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyon ile akışkan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek, hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite büyük oranda nükleik asit modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlar ile kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek, hücre çekirdeğine ulaşır ve DNA hasarına hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA serbest radikallerden kolayca zarar görebilir (Konukoğlu, 2000).

#### **1.6.4.3. Membran lipidlerine etkileri (lipid peroksidasyonu)**

Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve membranda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Lipit peroksidasyonu sonucu karbonil ve alkenler gibi hücrelere zararlı birçok bileşiğin oluşmasına yol açar. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve alkoksil radikali lipid

peroksidasyonunu başlatan radikallerdir. Demir iyonlarının lipid peroksidasyonunda önemli bir rolü vardır (Kneepkens, 1994).

Yağ asidinin (LH) oksidasyonu metilen karbonundan H atomunun çıkarılması ile başlar ve yağ asidi radikali oluşur. İlerleme aşamasında yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenerek peroksil radikalini oluşturur. Lipidperoksil radikalleri zincir reaksiyonlarının başlatıcılarıdır. Bunlar diğer çoklu doymamış yağ asidi moleküllerinden H atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar. Ortamda bulunan demir ve bakır tuzları lipid hidroperoksitlerinin yıkımını hızlandırmakta olup oluşan peroksi ve alkoksi radikalleri lipid peroksidasyonlarını uyarırlar (Kneepkens, 1994).

Serbest radikallerin bu hasarları çeşitli hastalıklara sebebiyet vermektedir. Serbest radikallerin bu etkileri antioksidanların ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu olayın başlıca substratı doymamış yağ asitleridir ve doymamış yağ asitlerince zengin olan beyin, serbest radikal hasarına karşı çok duyarlıdır (Konukoğlu, 2000).

#### 1.6.4.4. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hidrojen peroksit, peroksitler ve oksialdehitler meydana gelirler. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar (Konukoğlu, 2000).

**Tablo 1.6 :** Serbest radikallerin sebep olduğu bazı hastalıklar

Hastalık İsimleri	Etkilenme şekli
Aterosklerozis (Damar sertliği)	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
<b>Beyindeki düzensizlikler</b>	
Anoksin	Kandaki oksijen azlığı
Nötral lipofuskinosis	Hücrelerdeki yapısal bozukluklar
Parkinson hastalığı	Hücrelerdeki yapısal bozukluklar
Alzheimer hastalığı	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ ,

	HClO üretimi
Down Sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Multiple selerosis	Hücrelerdeki yapısal bozukluklar
Kronik granümatöz hastalık	Antioksidan sistemdeki gen hatası
Diabetes Mellitus	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
<b>İnflamatory (ateşli) düzensizlikler</b>	
Astım	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O^{-2}$ , $H_2O_2$ üretimi
Romatizmal artirit	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O^{-2}$ , $H_2O_2$ üretimi
Demir yüklenmesi	
İdiyopatik hemokromatosis	Geçiş metalleinden oksijene elektron transferi sonucu
Talasemia	Geçiş metalleinden oksijene elektron transferi
<b>Akciğer düzensizlikleri</b>	
Asbestosis	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O^{-2}$ , $H_2O_2$ üretimi
Yetişkin solunum stresi sendromu	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O^{-2}$ , $H_2O_2$ üretimi
Radyasyon hasarları	
Zedelenme (reperfusyon)	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
<b>Deri bozuklukları</b>	

Solar radyasyon zehirlenmesi	Yüksek veya düşük radyasyon enerjisi ile doku hasarı
Bloom sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
<b>Oluşan zararlı (toksik) maddeler</b>	
Zenobiyotikler	İlaç ve toksin kullanımında
Metal iyonları (Hg, Fe, Cu, etc.)	Geçiş metallere oksijene elektron transferi
Sitositotikler (blomyein)	İlaç ve toksin kullanımında
Kanser	

### 1.6.5. Antioksidan etki tipleri

Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etkilerini aşağıdaki yollarla gösterirler:

(1) Süpürücü (Scavenging) etki gösterenler; yeni radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olanları daha az zararlı hale getirirler.

(2) Giderici (Quencher) etki gösterenler; oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndürürler.

(3) Zincir kırıcı (Chain breaking) etki gösterenler; zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinden kırarak oksidan etkiyi durdururlar.

(4) Tamir edici (Repair) etki gösterenler; bu grupta DNA tamir enzimleri metiyonin, sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Tüm organizmada oksidan ve antioksidan yapılar arasında bir denge vardır. Hücrelerin sağlıklı bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri, oksidan ve antioksidan moleküller arasındaki dengeye bağlıdır.

Oksidanların düzeyinde meydana gelen artışların veya antioksidanların sistemindeki yetersizliğin, başta kalp hastalıkları ve kanser olmak üzere göz, kas ve akciğer hastalıklarının oluşumunda çok büyük bir etkiye sahip oldukları anlaşılmıştır.

### **1.6.6. Antioksidan savunma sistemleri**

Reaktif oksijen veya nitrojen türlerini oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar 'antioksidanlar' olarak bilinirler.

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Antioksidanlar hücrenin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler. Canlılar, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği zararı önlemek için değişik savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır. Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları şunlardır:

- 1-Reaktif oksijen türlerinin (serbest oksijen radikalleri) enzimatik reaksiyonlar aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi,
- 2-Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,
- 3-Metal iyonlarının bağlanması ve böylece serbest radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
- 4-Peroksitlerin ayrışmasını sağlayarak başlangıç radikallerinin yeniden dönüşmesinin engellenmesi,
- 5-Aktif radikaller tarafından süregelen hidrojen uzaklaştırmayı engellemek için zincir kırıcı,
- 6-Serbest radikallerin bağladığı organik moleküllerin hasar sonrası tamiri ve temizlenmesi (Özkan, 2007). Antioksidan savunma sistemleri endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

#### **1.6.6.1. Endojen (doğal) antioksidanlar**

1- Enzimler

- a) Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- b) Süperoksid dismutaz
- c) Katalaz
- d) Glutasyon-S-transferaz
- e) Hidroperoksidaz

2- Enzim olmayanlar

- a) Lipid fazda bulunanlar
  - E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)
  - $\beta$ -karoten

b) Sıvı fazda (Hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar.

-C vitamini (Askorbik asit)

-A vitamini (retinol)

-Melatonin

-Ürat

-Sistein

-Seruloplazmin

-Trasferin

-Laktoferrin

-Miyogloblin

-Hemogloblin

-Ferritin

-Metionin

-Albumin

-Bilirubin

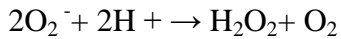
-Glutasyon

#### **1.6.6.1.1. Enzimler**

Bunlar süpürücü etki gösterirler yeni radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz, mitokondrial sitokromoksidaz, glutasyon, S-transferaz ve hidroperoksidaz (Konukoğlu, 2000).

#### **1.6.6.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD)**

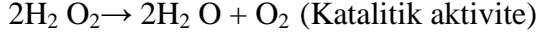
Bu enzim süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak detoksifiye eder. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dur. SOD'lar aşağıdaki reaksiyonu katalizleyen metaloenzimlerin bir ailesidir (Konukoğlu, 2000; Allen, 1995).



SOD'un Cu/Zn, Fe veya Mn içeren izoenzimleri vardır. Bu izoenzimler bitki hücrelerinin çeşitli kompartımanlarında bulunur. Bütün bitkilerin kloroplastlarında Cu/Zn-SOD bulunurken Fe-SOD bazı türlerin kloroplastlarında bulunur. Mn-SOD izoenzimi fotoinhibitör şartları altında fotooksidasyondan koruma sağlamada Cu/Zn-SOD'dan daha az etkilidir (Konukoğlu, 2000; Allen, 1995).

### 1.6.6.1.3. Katalaz

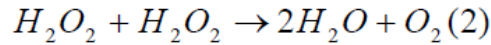
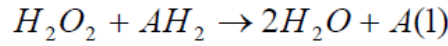
Katalaz enzimi neredeyse aerobik hücrelerin peroksizomlarında mevcut olup serbest radikalleri oluşturmaksızın hidrojen peroksidi moleküler hidrojen ve suya dönüştürerek hidrojen peroksidin zararlı etkisinden hücreyi korur. Yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunu sağlar.



Peroksidaz aktivitesine sahip olmasına ek olarak bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak; diğerini de oksijen veya elektron alıcısı olarak kullanabilir.

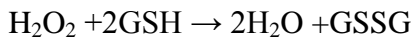
Kan, kemik iliği, mukoz membran, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunmaktadır.

Beynin katalaz aktivitesi oldukça düşüktür. Katalaz hidrojen perokside karşı rölatif olarak düşük aktivite gösterir. Fizyolojik koşullarda hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasındaki rolü önemli değildir. Düşük hızlarda hidrojen peroksidin oluştuğu durumlarda ya da yüksek elektron alıcısı derişimlerin de peroksidatif tepkime ile hidrojen peroksid oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (Chaudere ve Ferrari-Iliou, 1999).



### 1.6.6.1.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Düşük konsantrasyonlarda oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunu sağlar. GSH-Px bu reaksiyonu katalizler.

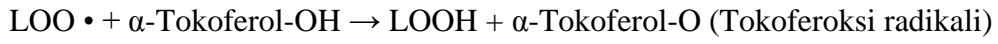


Katalaz ve GSH-Px süperoksit radikali tarafından inhibe edilirken, SOD hidrojen peroksit tarafından inhibe edilir (Chaudere ve Ferrari-Iliou, 1999).

### 1.6.6.1.5. E Vitamini (Tokoferol)

Tokoferol yapısında olup farklı izomerleri vardır.  $\alpha$ -Tokoferol,  $\beta$ -Tokoferol,  $\gamma$ -Tokoferol,  $\delta$ -Tokoferol geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivitesi en büyük olan  $\alpha$ -Tokoferoldür. Yapısında bulunan

fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. En yüksek vitamin E konsantrasyonu mitokondri ve mikrozoimler gibi membranca zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan vitamin E hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır. Bir molekül vitamin E 100 molekül yağ asidinin peroksidasyonunu önleyebilir. Vitamin E oksijenperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $\bullet HO$ ), singlet oksijen ( $O_2$ ), lipid peroksil ( $LOO\bullet$ ) radikallerini ve diğer radikalleri temizler. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir (Halliwell, 1995).



Oluşan tokoferoksi radikali ( $\alpha$ -tokoferol-O) stabildir ve kendi kendine peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır (Halliwell, 1995).

E vitamini bitkisel yağlarda, hayvan etlerinde, kuruyemişte, keten tohumunda bulunur. Diyetle yağda çözülmüş olarak bulunur. Yağın sindirimi sırasında açığa çıkar ve pasif difüzyonla emilir (Halliwell, 1995).

Hayvanlarda yapılan deneylerde vitamin E kas distrofisi kendiliğinden düşük bazı hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Vitamin E eksikliği ayrıca hayvanlarda türden türe değişik rahatsızlıklar ortaya çıkarmıştır. Örneğin erkek farelerde kısırılık, dişi farelerde düşük, civcivlerin damarlarında yapı bozukluğu gibi sorunlar görülebilir. Vücudun bütün dokularında bulunur. Vitamin E eksikliği, kas yorgunluğu ve zayıflığı, vitamin E fazlalığı ise hipertansiyon ve bağırsak kramplarına yol açar.

E vitamini vücutta oksijenin en iyi şekilde kullanılmasına yardım eder. Yaşlanmaya karşı etkilidir. Kalp rahatsızlıklarına karşı etkilidir, cildin elastikiyetini korur.

#### **1.6.6.1.6. C Vitamini (Askorbik Asit)**

Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir ketolaktondur. Yapısı karbohidratlardan heksozlara benzer. Heksoik asidin laktonudur. Hayvanların çoğu C vitamini sentezini kendisi yapabilir fakat insanlar yapamazlar.



C vitamini vücutta hidroksilasyon reaksiyonları, demir emilimi antioksidan olarak görev alır. Kollojen sentezi için gereklidir. Kollojen glisin (%33), prolin (%10), hidroksprolin (%10), hidroksilizin (%5)'den oluşur. C vitamini kollojen yapısında yer alan hidroksprolin sentezini sağlayan prolin hidroksilazdaki demirin indirgenmesinde görev alır. Hidroksilasyon bozukluğunda; kırık, dentin, kemiklerdeki intrasekiler bağ doku proteinlerinin sentezi bozulur. C vitamini eksikliğinde; kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbit hastalığı oluşur, yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur, diş eti kanamaları olur, kapiler damarların zedelenmesine bağlı petesi ve ekimozlar görülür. Çocuklarda C vitamini eksikliği sonucu Barlow hastalığı görülür, kurbağa ayağı pozisyonu görülür, diş etleri şişer ve kanar.

C vitamini hayvansal besinlerde bulunmakla beraber en çok yabancı gül tohumu, limongiller, kuş üzümünde bulunur. Taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal greyfurt, turuncgillerde, çiğ lahana, domates ve şalgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir (Halliwell, 1995).

#### **1.6.6.1.7. A Vitamini (Retinol)**

15 C'lu doymamış zincirli bir alkoldür. Alkol olduğu için genellikle ester oluşturur, yüksek karbonlu yağ asitleri ile esterleşmiş durumdadır. Bunlar hava oksijeni, sıcaklık, ışık etkisi, katalizörler gibi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklıdır (Halliwell, 1995).

Bu vitaminin özellikle göz sağlığı, cilt ve bağışıklık sistemi üzerinde önemli olduğu bilinmektedir. Büyüme döneminde çok gerekli olan bu vitamin, hamilelik ve emzirme dönemleri için de önem taşımaktadır. Hücrelerin yeniden yapılanmasında rol oynamaktadır (Halliwell, 1995).

Doğal A vitamini kaynakları; süt ürünleri, ciğer, balık ve yumurtadır. Günlük doz olarak, kadınlar için 600 mikrogram, erkekler için 700 mikrogram olarak belirlenmektedir. Bir porsiyon ciğerde günlük dozun sekiz katı bulunmaktadır (Halliwell, 1995).

#### **1.6.6.1.8. $\beta$ -Karoten (Pro-vitamin A)**

Oksitlenmeye karşı etkili olan bu vitamin, vücudu değişik kanser çeşitlerine karşı korur. Ayrıca vücut tarafından A vitaminine dönüştürülebilir. Bunun gerçekleşmesi için vücudun lipit, E vitamini, çinko ve selenyuma ihtiyacı vardır.

Doğal beta karoten kaynakları; yeşil, turuncu ve kırmızı sebzeler ve meyvelerdir. Bunlar arasında havuç, acı biber, kabak, ıspanak, kayısı, kavun ilk sıradadır (Halliwell, 1995).

#### **1.6.6.2. Eksojen antioksidanlar (ilaçlar)**

- 1-Ksantin oksidaz inhibitörleri
- 2-NADPH oksidaz inhibitörleri
- 3-Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4-Trolox-C (E vitamini analogu)
- 5-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler
- 6-Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları
- 7-Demir redoks döngüsünün inhibitörleri
- 8-Nötrofil adezyon inhibitörleri
- 9-Sitokinler
- 10-Barbitüratlar
- 11-Demir şelatörleri

#### **1.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri**

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

- a) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
- b) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT-esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT-esaslı yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur.

ET esaslı yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zaman da reaksiyonu takip etmek için prob olarak kullanılır) ile redoks reaksiyonunu içerir. HAT ve ET esaslı yöntemler bir örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye dönüktür. HAT analiz yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılıdır. ET esaslı analiz yöntemleri:

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü,
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- f) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir.

Çalışmalarda en fazla kullanılan yöntemler ise:

- Toplam fenol miktar tayini (folin-ciocaltaeu assay)
- Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini
- DPPH ile serbest radikal süpürücü etki tayini
- Demir-tiyosiyonat metodu
- Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)
- $\beta$ -Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (total antioksidan aktivite)

### **1.7.1. Toplam fenol miktar tayini (Folin-ciocalteu yöntemi)**

Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır (Singleton ve ark.,1965). Fenolik bileşikler, Folin-Ciocalteu reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturur ve oluşan mor-menekşe renkli kompleksin 700 nm’de maksimum absorbansının ölçümüdür.

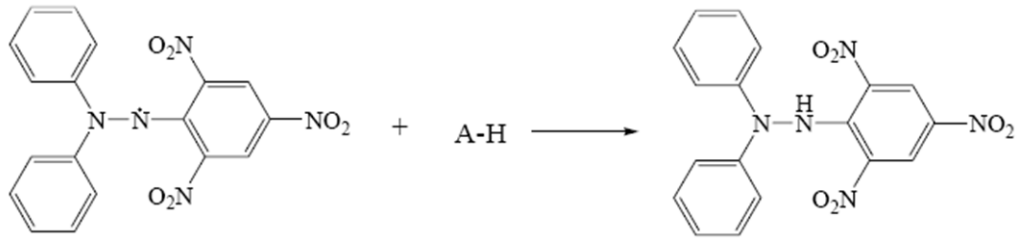
### **1.7.2. Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini**

BHT ve çalışmada elde edilen ekstraların lipit peroksidasyonuna karşı etkileri, yağlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek suyun iletkenliğinin değişmesi prensibine göre çalışan Ransimat cihazı ile test edilmesidir (Tunalıer ve ark., 2004).

### **1.7.3. DPPH Süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi**

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin (Şekil 1.20) antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin

önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (Brand-Williams ve ark.,1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır. Yöntemin esası; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm’de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir. Antioksidan etkinliği araştırılmak istenen bitkisel ekstraların DPPH radikalini temizleyici etkisi ve bu ekstraların DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm’de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blois, 1958).



Şekil 1.20 : DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu

#### 1.7.4. Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)

Hazırlanan örnek ekstresine trikloroasetik asit (TCA) ve tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltileri ilave edilerek karıştırılıp, 532 nm’de spektrofotometrede absorbansı okunma esasına dayanmaktadır.

#### 1.7.5. Demir-tiyosiyonat metodu

Uygun çözücü içerisinde hazırlanan örnek çözelti üzerine amonyum tiyosiyonat çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışım üzerine (0.1 ml %3.5’lik) hidroklorik asit çözeltisi içerisinde hazırlanmış ( $2 \times 10^{-2}$  M) demir iki klorür çözeltisi konulup bir süre sonunda 500 nm’de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur.

#### 1.7.6. $\beta$ -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite)

$\beta$ -Karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntem. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır.

Reaksiyon sonunda çözültide  $\beta$ -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbansı 470 nm’de UV–spektrofotometrede kaydedilerek sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir (Wettasinghe ve Shaididi, 1999).



### 1.8. Antimikrobiyal Maddeler

Antibiyotiğ in 1940’larda keşfinden sonra, bitkisel maddelerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımında düş üş gözlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite açısından bakteriyel ve fungal kaynaklı antibiyotiklere daha çok güvenildiğ i için bitkisel ürünlerin çok az bir kısmı antimikrobiyal madde olarak tercih edilmiştir (Cowan, 1999).

Antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlarda bile etkili olup çok az toksik olmalıdır. Böyle bir etkinin ortaya çıkabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden çok mikroorganizmalar seçilmelidir. Prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekölü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; sefalosporinler, sülfonamidler) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptir. Virüsler konak hücreye entegre olduklarından, konağ a zarar vermeden virüsü etkilemek olanaksızdır. Virüslere etkili ilaçların seçici toksisitesinden hiç söz edilemez. Mantarlarda ökaryot hücre yapısındadır ve memeli hücrelerine benzerler. Bu nedenle antimikrobiyal maddeler için seçici toksisiteden söz edilemez (Akyüz, 2007).

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları etken mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçlarına göre, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı temelde iki farklı yöntem (Dilüsyon ve Difüzyon Yöntemi) ile belirlenebilir (Akyüz, 2007). Antibiyotik duyarlılık testleri içinden en sık kullanılanlar:

1. Disk difüzyon testleri

2. Dilüsyon testleri 28

2.1. Agar dilüsyon testleri (katı besiyerinde sulandırım testi)

## 2.2. Broth dilüsyon testleri

### a. Makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemi

### b. Mikrodilüsyon testleri

## 3. Gradient strip testleri (E-test)

## 4. Otomatize yöntemler

## 5. Moleküler yöntemler

**1) Dilüsyon Yöntemi:** Bu teknik antimikrobiyal ilaçların MİK (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MLK (minimal letal konsantrasyonlu) değerlerini belirlemede yardımcı olur. Bu amaçla, Mueller-Hinton buyyonunda antimikrobiyal ilacın 2 veya 10 katlı dilusyonları yapılarak gittikçe azalan yoğunlukta ilaç içeren dilusyonları elde edilir. Üzerlerine, izole edilen test mikroorganizmanın 24-48 saatlik sıvı besiyeri kültüründen 0.1 ml miktarında ekilir ve iyice karıştırıldıktan sonra 24-48 saat 37 °C' de inkube edilir. Tüplerdeki üreme gözle değerlendirilir. Böylece üremenin olmadığı son dilusyon MİK değeri olarak kabul edilir. Ancak, bu noktanın kesin olması için, testin ikili paralel yapılması uygundur. Eğer, süre yetersiz ise uygun bir süre yine inkubasyonda tutulabilir (Akyüz, 2007).

**2) Difüzyon Yöntemi:** Kirby-Bauer yöntemi olarak da bilinen bu teknikte, test mikroorganizmanın 6-8 saatlik buyyon kültüründen (hafif bulanık) Mueller-Hinton agar plaklarına 0.1-0.2 ml miktarında ekilir ve bir baget'le iyice yayılır (steril swab'ta aynı amaç için kullanılabilir). Agarın yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5-10 dk), agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonda değişik antibiyotikleri içeren diskler yerleştirilir ve 24-48 saat inkube edilir. Bu sürenin sonunda diskler etrafındaki inhibisyon zonları kompas veya cetvelle ölçülür ve standart zon tablosu ile karşılaştırılarak duyarlı (S), indermediate (İ) ve duyarsız (R) olarak değerlendirme yapılır.

Disk difüzyon yöntemi az masraflı, az zahmetli ve kolay uygulanırlığı yanı sıra, bir petri kutusunda 5-6 antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlemek ve en etkili olan ilacı saptamak mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir (Akyüz, 2007).

## 1.9. *Onopordum* ile Yapılan Çalışmalar

*Onopordum* Asteraceae ailesine ait ilginç bir cinstir ve bu cinsin türleri, gıda olarak ve çeşitli ülkelerin genel tıbbında kullanılır. Scotch thistle (*Onopordum acanthium*

L.) bakterisit (bakteri öldürücü), kardiyotonik (kalp kuvvetlendirici), hemostatik (kan kesici) ve antihipotensiv ajanı olarak tıbbi uygulamalarda kullanılır (*Plant Resources of the USSR* (Nauka, 1993; Kortikov ve Kortikov, 1995). *Onopordum* cinsinin bitkileri tedavilerde onların antibakteriyal, hemostatik ve hipotensiv özellikleri için geleneksel olarak kullanılmaktadır. *Onopordum acanthium*'un taze ekstraktları deri kanserlerinin tedavisi için bölgesel olarak kullanılmaktadır (Negri, 1943). Gene aynı şekilde *Onopordum acanthium*'un çiçekleri geleneksel olarak Bulgaristan'da kardiyovasküler hastalıklarda, idrar söktürücü olarak, ürogenital hastalıklarda ve mide salgısını tetikleyici olarak kullanılmaktadır (Kiselova ve ark., 2006). *Onopordum acanthium* L. un yapraklarından sesquiterpene lactonları (arctiopicrin ve onopordopicrin) tohumlarından triterpenoidler (Amyrin-Acetate ve lupeol acetate) izole edilmiştir (Kiselova ve ark., 1979). Kimyasal olarak araştırılan *Onopordum*'un çeşitli türlerinde flavonoidler, lignanlar (Cardona ve ark., 1992) ve sesquiterpen laktonlar (Lazari ve ark., 1998) en önemli bileşenler olarak saptanmıştır. Farklı *Onopordum* türlerinin suyu; kanserli ülserler, yüz kanseri ve diğer kanserlere karşı etkin olduğu kabul edilmiştir.

Antibiyotik direncinin gelişiminden dolayı özellikle mikrobiyal ajanlara karşı sentetik ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilere ilgi sürekli olarak artmaktadır. *Onopordum*'un bazı türleri dünyada ve Türkiye'de geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de *Onopordum tauricum* tohumları böbrek rahatsızlıklarının tedavisi için kullanılmaktadır. *Onopordum acanthium*'un çiçekli dalları idrar söktürücü (diyüretik) ve ateş düşürücü (antipiretik) kökleri ise idrar söktürücü, ateş düşürücü, iştah açıcı olarak ve karın ağrısı için kullanılmaktadır. *Onopordum*'un bazı türleri antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösterir (Csupor-Loeffler ve ark., 2009).

Kardiyovasküler sistemin aktivitesini düzenleyen zayıf kan sirkülasyonu için etkin olan ve canlandırıcı etki sergileyen Cardiodoran damlalarının hazırlanmasının temeli *Onopordum*'dur. Çeşitli kanser tiplerinin tedavisi için Ürdün geleneksel tıpında kullanılan *O. acanthium*'un sulu ekstraktı farklı tümör hedeflerine karşı sitotoksikite üretmek için ve hem in vivo hem de in vitroda doğal öldürücü hücrelerin aktivitesinin büyümesi için etkindir. Ayrıca deri kanserlerinin lokal tedavisi için *O. acanthiumun* taze ekstraktlarının kullanımı rapor edilmiştir. *O. alexandrinumun* havada kalan kısımları balgam söktürücü olarak, yara iyileştirici olarak ve cüzzam

tedavisi için mısırlı köylüler tarafından kullanılmaktadır. Kıbrıs'da *O. bracteatum* böbrek ve sindirim rahatsızlıkları için faydalı iken Türkiye'de geleneksel tıpta *O. anatolicum*'un tohumlarının dekoksasyonu ile elde edilen çay üretral rahatsızlıklar için kullanılmaktadır. *O. macracanthumun* etanol ekstraktları murin endotelial hücrelerde azot oksit ve TFN  $\alpha$ 'nın engellenmesini sağlar (Brutti ve ark., 2012).

Lübnanda *O. cynarocephalum* ve Lucania ve Sardunya Adaları'nda *O. illyricum* sebze olarak tüketilirler. Geleneksel tıpta bütün bitkinin çayı ya da kaynatılarak hazırlanan özü hazmı kolaylaştırıcı, öksürük kesici ve safra hastalıklarında kullanılmaktadır. Çiçek başlarının demlenmesi ya da kaynatılarak hazırlanan özü eksantematik deri yıkaması için ve ateş düşürücü (antipiritik) olarak sıtma ateşinin tedavisinde kullanılmaktadır. Lübnanın geleneksel tıpında kullanılan *O. cynarocephalum* sulu ekstraktının kolon kanserine koruma ve apoptozu baskılayan özellik göstermiştir.

Gerçel 2010 yılında yaptığı çalışmada Eskişehir'den topladığı *Onopordum acanthium* L. bitkisini sıvı yakıt üretiminde kullanılabilirliğini araştırmıştır. *Onopordum acanthium* L. bitkisinin kurutulup parçalanması ve prolizi sonucunda elde edilen sıvı yakıt üzerindeki kromatografik ve spektroskopik çalışmalarla bu bitkinin yakıt ve kimyasal hammadde olarak kullanılabilceği sonucunu elde etmiştir (Gerçel, 2010).

Nahad El-Najjar ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada in vitro ve in vivo modelleri kullanarak kolon kanserine karşı *Onopordum cynarocephalum*'un su ekstraktının olası kemopreventif özelliklerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda *O. cynarocephalum*'un anti kolon kanseri etkilerine sahip bir bitki olduğunu önermişlerdir (Nahad El-Najjar ve ark., 2010).

A. Z. Khalilova ve arkadaşları 2004 yılında yaptıkları çalışma da Ufa'dan (Rusya) topladıkları *Onopordum acanthium*'un çiçek yumrusunun kloroformla (CHCl<sub>3</sub>, tri kolar metan) ekstraksiyonu ile triterpen taraxasteryl acetate izole edilmiştir (Khalilova ve ark., 2004).

Braca ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Sicilya'dan topladıkları *Onopordum illyricum*'un çiçeklerini kurutarak *n*-hekzan, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>-MeOH (9:1), ve MeOH çözücülerıyla ekstraksiyona tabi tutarak ekstraktlar elde etmişlerdir. Araştırmanın



sonucunda CHCl<sub>3</sub> ekstraktında; onopordopicrin, carmanin, 4-*epi*-carmanin, elemacarmanin, bileşenlerini ayrıca lignan olarak arctigenin ve flavonoid olarak acacetin gibi daha önceden bilinen bileşenlerin yanında iki yeni sesquiterpen ve bir yeni neolignan türevini tespit etmişlerdir (Braca ve ark., 1999)

Khalilov ve arkadaşları 2009 yılında yayınladıkları çalışmalarında Rusya'nın çeşitli bölümlerinden topladıkları *Onopordum acanthium* L. bitkisinin tohumlarından yeni biyolojik olarak aktif bileşenlerden olan fenilproponoid glikoziti izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada *Onopordum acanthium* L. çekirdeklerinden ilk kez izole edilen 2-[3'-methoxy,4-O-β-D-galactopyranos-1-yl]benzyl]-3-(3'',4''-dimethoxybenzyl)-4-hydroxybutyriacid bileşeninin yapısı PMR ve <sup>13</sup>C NMR kullanılarak belirlenmiştir (Khalilov ve ark., 2009)

İvanova ve çalışma arkadaşları Bulgaristan'daki 23 tıbbi bitkinin sulu ekstraktlarının polifenol içeriklerinin ve in vitro antioksidan aktivitesi arasındaki korelasyonu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda bu çalışmadaki bitkilerden biri olan *Onopordum acanthium* L.'nin antioksidan aktivitesini 0.44mM TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) toplam fenol içeriğini ise 121.28μM QE (quercetin equivalents) olarak tespit etmişlerdir (Ivanova ve ark., 2006).

## 1.10. Çalışmanın Amacı

Tez kapsamında ülkemizde yetişen endemik türlerden olan *Onopordum anatolicum* (Boiss.) Boiss & Heldr. ex Eig antioksidan, antibakteriyal aktiviteleri ve sitotoksik etkileri üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Bitkisel Materyal

Arazi çalışmaları kapsamında projede yer alan türün alternatif lokaliteleri ilgili kaynaklar taranarak tespit edilmiştir ve bu türün tohum dönemleri, yayılış gösterdikleri lokaliteler, habitatları ve yükseklikleri doğrultusunda bir arazi çalışması planı hazırlanmıştır. Bu arazi planı sayesinde tohumlar doğru zaman ve lokalitelerden toplanmıştır. Denizli ve Muğla il merkezinde 500 m yüksekliğe kadar olan yerlerden toplanmıştır (Şekil 2.1). Arazi çalışmaları sırasında farklı

lokalitelerden toplamak suretiyle 1,5-2 kg. tohum toplanmıştır. Bu işlemler yapıldığı zaman ekolojik dengenin bozulmaması ve endemik türlerin tahrip edilmemesi durumuna özen gösterilmiştir.



şekil 2.1: Tohumların Araziden Toplanması

Tohumlar toz haline getirilerek ezildi, analize hazır hale getirilmiştir.



Şekil 2.2: Toplanan Tohumlar ve Toz Haline Getirilmiş Hali

Toz halinde olan tohumlar, su banyosu cihazı kullanılarak ( $55^{\circ}\text{C}$ ) renk açılıncaya kadar (yaklaşık 4–6 saat) çeşitli çözücülerin (metanol, etanol, aseton ve benzen) ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Her bir örnek için 800-1200 gr tohum ve 20 ml. çözücü kullanılmıştır (Feresin vd. 2000). Elde edilen karışım filtre edilerek süzölmüş ve çözeltilinin yapısındaki çözücü madde rotary evaporatörde  $50^{\circ}\text{C}$ 'de uçurulmuştur. Her bir ekstrenin yapısındaki su Freeze Dryer makinesinde dondurularak çekilmiştir (Şekil 2.3). Ekstreler aktivite (antioksidan ve histolojik çalışmalarda) tayini çalışmalarında kullanılmak üzere  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.3: Su Banyosu, Rotary Evaporatör ve Freeze Dryer Liyafilizasyon Cihazları

## 2.2.Yöntemler

### 2.2.1. Antioksidan aktivite analiz yöntemleri

#### 2.2.1.1. Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi  $\beta$ -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Miller, 1991).  $\beta$ -karoten çözeltisi, 2 mg  $\beta$ -karotenin 10 ml kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mililitresine, 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween 20 ilave edilmiştir. Kloroform rotary evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra 100 ml destile su ile karıştırılmıştır. Bu emülsiyonunun 4.8 mililitresi 0.2 mg örnek içeren 0.2 ml ekstrakt çözeltileri bulunan test tüplerine ilave edilmiştir. Kontrol için test tüpüne ekstrakt yerine 0.2 ml çözücü (metanol, etanol, aseton ve benzen) konulmuştur. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbanları 470 nm'de ölçülmüştür. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakılarak,  $\beta$ -karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilmiştir (120 dakika). Toplam antioksidan aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA: [ 1 - (A_0 - A_t / A_0^0 - A_t^0) ] \times 100$$



Burada, AA antioksidan aktivite,  $A_0$  örneğin ilk absorbansı,  $A_t$  kontrolün ilk absorbansı,  $A_{0^o}$  örneğin 120 dk sonraki absorbansı,  $A_{t^o}$  kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır (Amin ve ark., 2006).



Şekil 2.4:  $\beta$ -karoten-linoleik asitin uygulanması

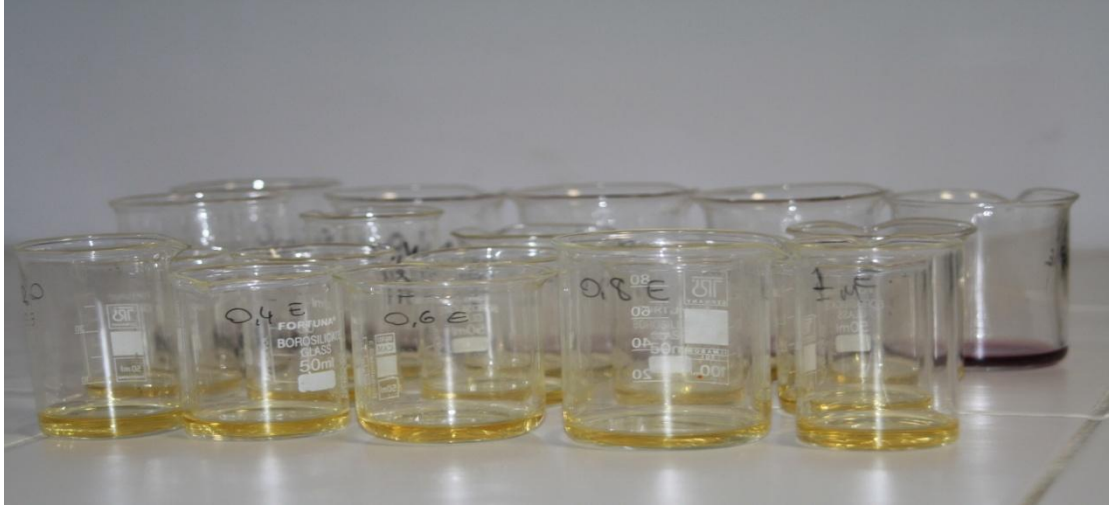
#### 2.2.1.2. Serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Wu ve ark., 2006). DPPH'in %0.004'lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 ml'si, ekstraktların 1 ml (0.2-1.0 mg)'si ile karıştırıldı ve 30 dakikalık karanlık ortam oda sıcaklığında inkübasyonu sonrasında, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçülmüştür. Özütlerin absorbans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır:

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

Burada;  $A_0$  kontrolün absorbansı ve  $A_1$  örneğin absorbansıdır (Duh ve Yen, 1997).

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/ml olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır.



Şekil 2.5: DPPH Deneyi

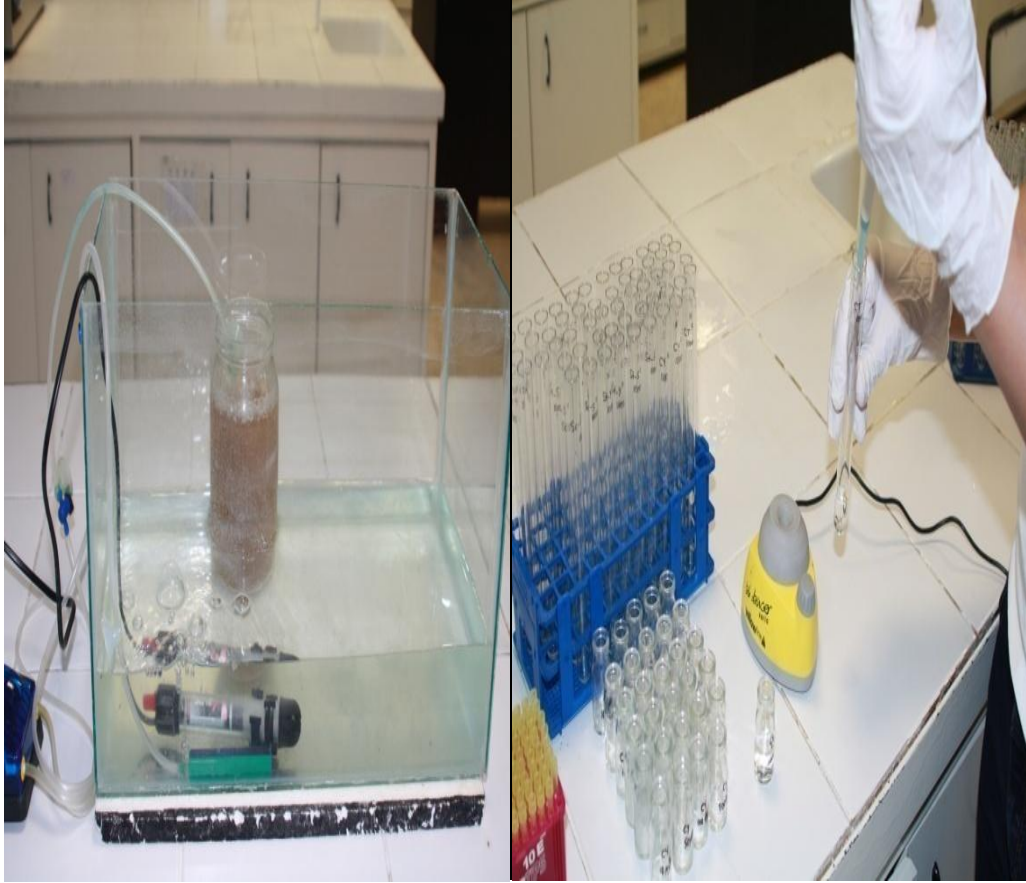
### 2.2.1.3. Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Ekstraktlar içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine (Tekeli, 2008) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde 0.4 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 0.5 ml örnek, 2.5 ml Folin Ciocalteu reaktifi (%10'luk, suda) ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 750 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg olarak gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

## 2.2. Sitotoksik Yöntemler

Sitotoksitite yönteminde *Onopordum anaticum*'un metanol ve ethanolde çözülmüş ekstraktları kullanılmıştır. *Artemia salina* yumurtaları (10 mg) 500 ml deniz suyunda, pH 7–8 ve 28°C olacak şekilde ışık altında inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra olgunlaşan *Artemia* larvaları (nauplii) pastör pipet yardımıyla toplandı. On adet nauplii pastör pipet yardımıyla seçildi ve 4.5 ml deniz suyu içeren tüpe alındı. Her bir tüpe 0.5 ml bitki ekstratı da eklendikten sonra nauplii'ler ışık altında ve oda sıcaklığında 24 saat bekletildi. Süre sonunda yaşayan nauplii'ler sayılıp

kaydedildi. Beş farklı konsantrasyonda (10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, ve 1000 µg/ml) deney üç tekrarlı yapıldı. Bitki ekstraktı olmayan (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan nauplii'ler ile deney grubu karşılaştırıldı. Bütün uygulamalar için standart hata ve % ölüm oranı hesaplandı.



Şekil 2.6: *Artemia salina* Yumurtaları ve Tüplere Ekimi



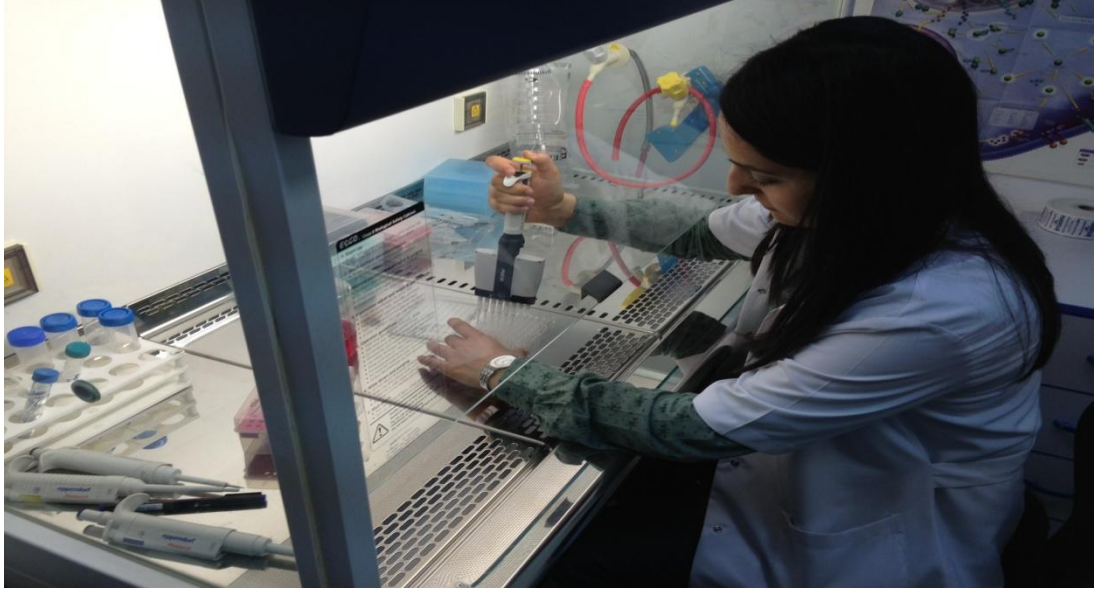
Şekil 2.7: Pastör Pipet Yardımıyla *Artemia salina* Nauplii Sayımı

### 2.3. Ekstraktların Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi

H1299 kanser hücreleri %10 FCS içeren RPMI1640 besi ortamı içerisinde 37 °C, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nem içeren ortamda inkübe edildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstraktları (1000, 500, 250, 125, 67,5, 32, 16, 8,4,2,1,0,5, 0,2, 0,1 µg/mL) 0.2 mikronluk filtrelerden geçirilerek steril edildikten sonra kanser hücre hatlarına 72 saat süresince maruz bırakıldı. Bitki ekstraktları uygulanmadan 1 gün önce kanser hücreleri 5x10<sup>3</sup>/well konsantrasyonunda 96 kuyucuklu plate'lere ekildi ve %10 Fetal bovin serum içeren RPMI 1640 besi ortamında 37°C, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nem içeren ortamda 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda bitki özütleri kanser hücreleri üzerine her konsantrasyondan 3 kontrollü olmak üzere uygulandı ve 72 saat 37°C, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nem içeren ortamda inkübasyona bırakıldı.

Kontrol grubu hücrelere herhangi bir ekstraktı uygulanmadı ve 72. saatin sonunda sitotoksikite ölçen bir kit ile (CytotoxGlo<sup>®</sup> kit, Promega, Madison, WI, USA) luminometrik olarak test edilerek sonuçlar değerlendirilip % sağ kalım oranları hesaplanmıştır.





Şekil 2.8: H1299 Kanser Hücrelerinin Playtlere Ekimi

## 2.4. Antibakteriyal Aktivite Tayin Metodu

### 2.4.1 Çalışmada Kullanılan Bakteri Türleri

Araştırmamız kapsamında bitki ekstraktlarının antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi amacı ile *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Salmonella Enteritidis* Faj Tip 4 (PT4) (klinik izolat) olmak üzere 2 adet Gram negatif bakteri ile *Staphylococcus warneri* (ATCC 27836) ve *Staphylococcus haemolyticus* (ATCC 29970) olmak üzere 2 adet Gram pozitif bakteri kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm bakteriyalizolatların stok kültürlerinden steril Mueller-Hinton (MH) sıvı besiyerine pasajlar yapıldı ve hazırlanan bu taze kültürler çalışmada kullanıldı.

### 2.4.2. Broth Mikrodilüsyon yöntemi

Bakteri kültürlerinin hazırlanmasında; antibakteriyal aktivitenin belirlenmesinde Broth Mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla yukarıda belirtilen bakteri kültürlerinin her birinin konsantrasyonu  $OD_{600}=1$  olacak şekilde ayarlandı ve Broth Mikrodilüsyon yönteminde konsantrasyonları ayarlanan bakteri kültürleri kullanıldı. Bitki ekstratlarının hazırlanması için; Çalışmada antioksidan aktivitesi yüksek olan etanol ve metanollü ekstraktlar ayrı ayrı 300 mg tartıldı ve 1 ml %99.9 dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözülerek stok çözeltiler hazırlandı.

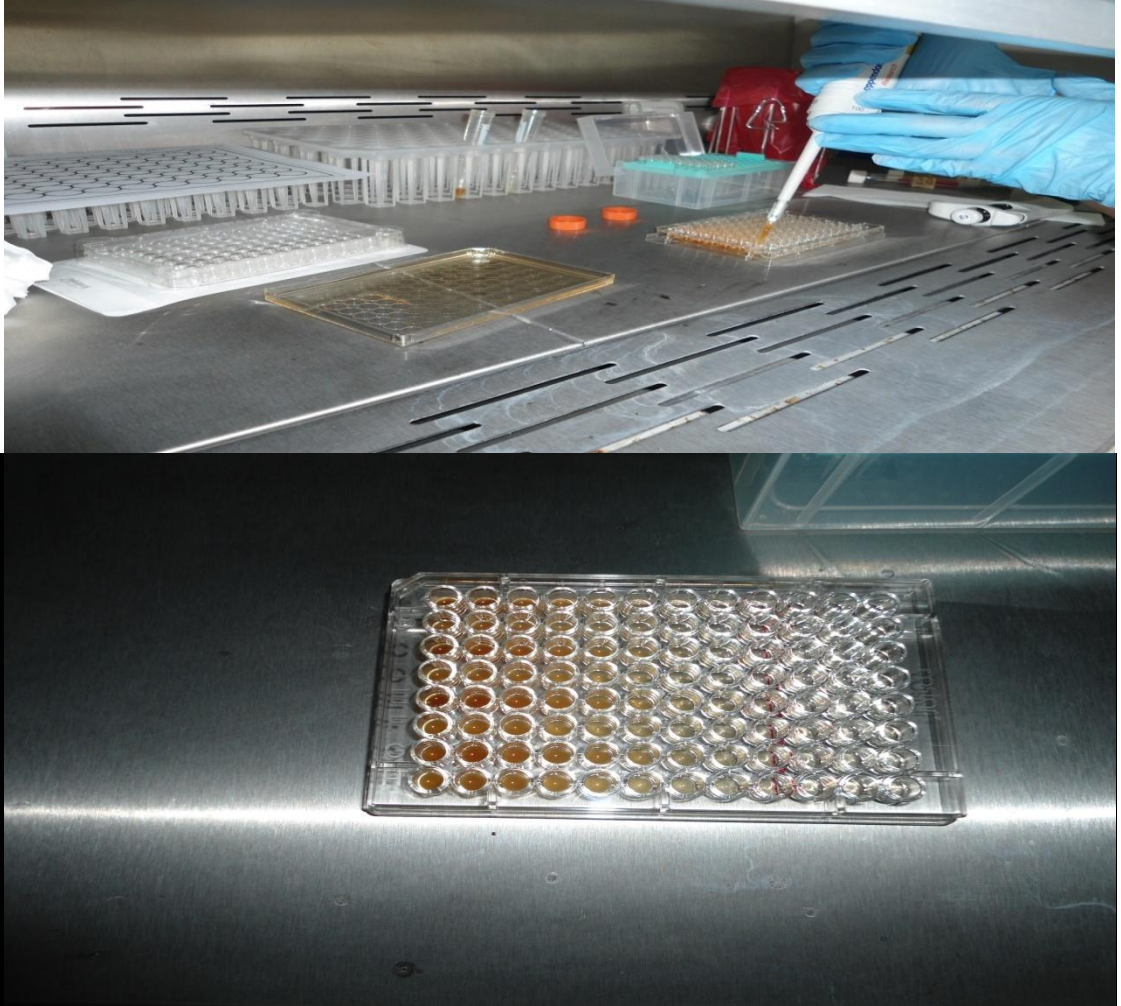
Broth Mikrodilüsyon yönteminde Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MIC) ve Minimal Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) değerlerinin belirlenmesi amacıyla 96 kuyulu mikroyeşiller kullanıldı ve yöntemin her aşaması Biyogüvenlik Düzeyi II olan steril çalışma kabini içinde gerçekleştirildi.

Bitki ekstraktlarından hazırlanan stokların son derece yoğun ve bulanık olması nedeniyle brotmikrodilüsyon tekniği tercih edildi ve her bir ekstrakt için 2 paralel mikroyeşil hazırlandı. Öncelikle her bir ekstraktın stok solüsyonundan 100 mg/ml - 0.19 mg/ml arası seri dilüsyonları yapıldı. Kısaca, mikroyeşilin tüm kuyularına öncelikle 100 µl MH broth eklendi. İlk kuyuya yukarıda tanımlandığı şekilde hazırlanan her bir ekstrakt stokundan 100 µl eklendi ve mikropipet yardımı ile homojenize edildi. Bu karışımdan 100 µl alınarak 2. kuyuya aktarıldı ve mikropipet ucu değiştirilerek bu karışım homojenize edildi ve 100 µl alınarak 3. kuyuya aktarıldı. Homojenizasyon işlemine mikroyeşilin 10. kuyusuna kadar yukarıda tanımlandığı şekilde devam edildi. Internal kontroller olarak, mikroyeşilin 11. kuyusuna 100 µl MH broth ve 12. kuyusuna da 100 µl DMSO ilave edildi. Hazırlanan bu 1. yeşil ELISA okuyucunda (Dok Mark) 610 nm dalga boyunda okutuldu. İkinci mikroyeşil içinde aynı işlemler uygulandı. Ancak, okuma yapmadan önce ilk 10 kuyuya her bir bakteri kültüründen 100 µl eklendi. Bu yeşil 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, ELISA okuyucunda (Dok Mark) 610 nm dalga boyunda okutuldu.

Bakteri kültürünün eklenmediği ve eklendiği OD<sub>610</sub> değerleri karşılaştırıldı ve dramatik düşüşün gözlemlendiği mikroyeşil kuyusundaki ekstraktkonsantrasyon değeri, MIC değeri olarak kabul edildi. MIC değeri ve MIC değerinden daha yüksek konsantrasyonlardaki kuyulardan (en az 2 kuyu) 100 µl örnekler alınarak MH agar ekimleri yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, bakterinin üremesinin gözlemlenmediği en düşük konsantrasyon MBC olarak belirlendi.



Şekil 2.9: Elyza Okuyucu Dos Mark Cihazı

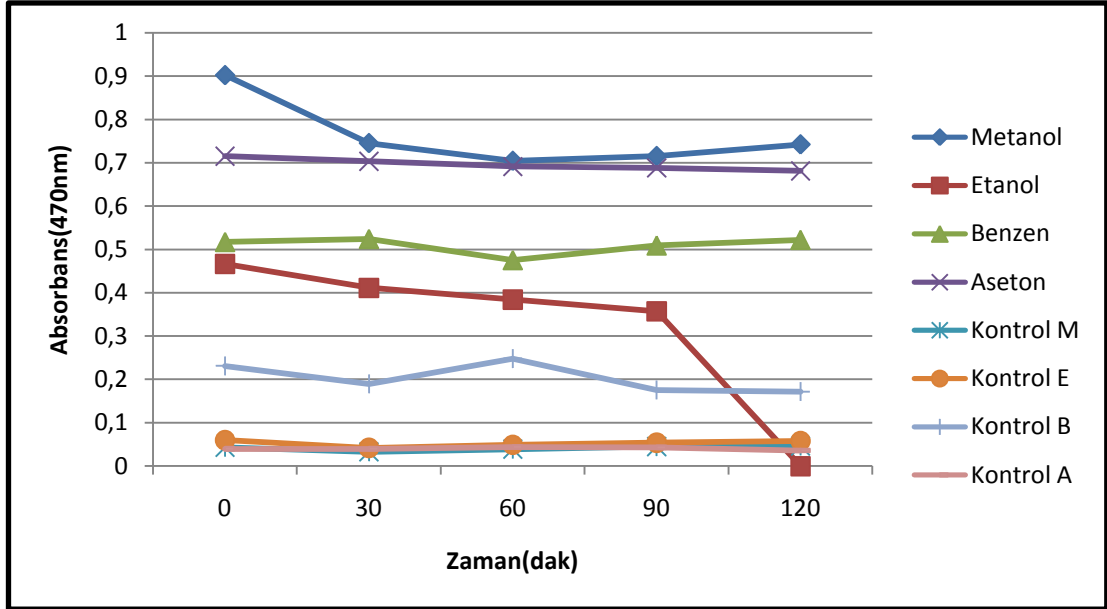


Şekil 2. 10: İkinci Playte Ekim İşlemi

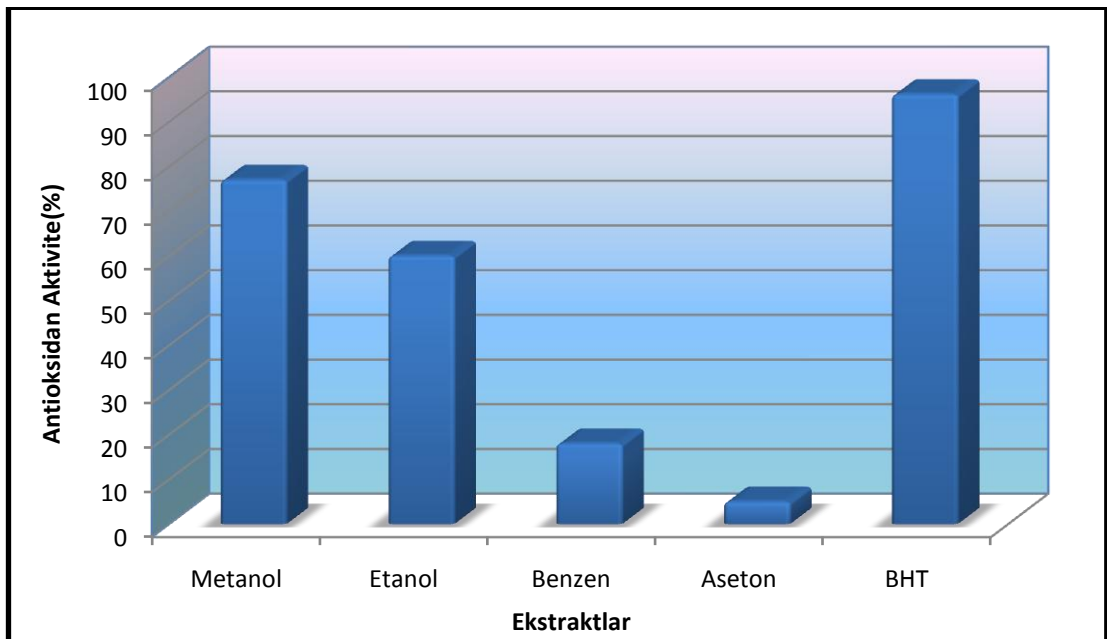
### 3. BULGULAR

#### 3.1 Antioksidan Bulguları

$\beta$ \_karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerine bakıldığında en yüksek % antioksidan aktivite metanolde, en düşük aktivite ise asetonadır (Şekil: 3.2).

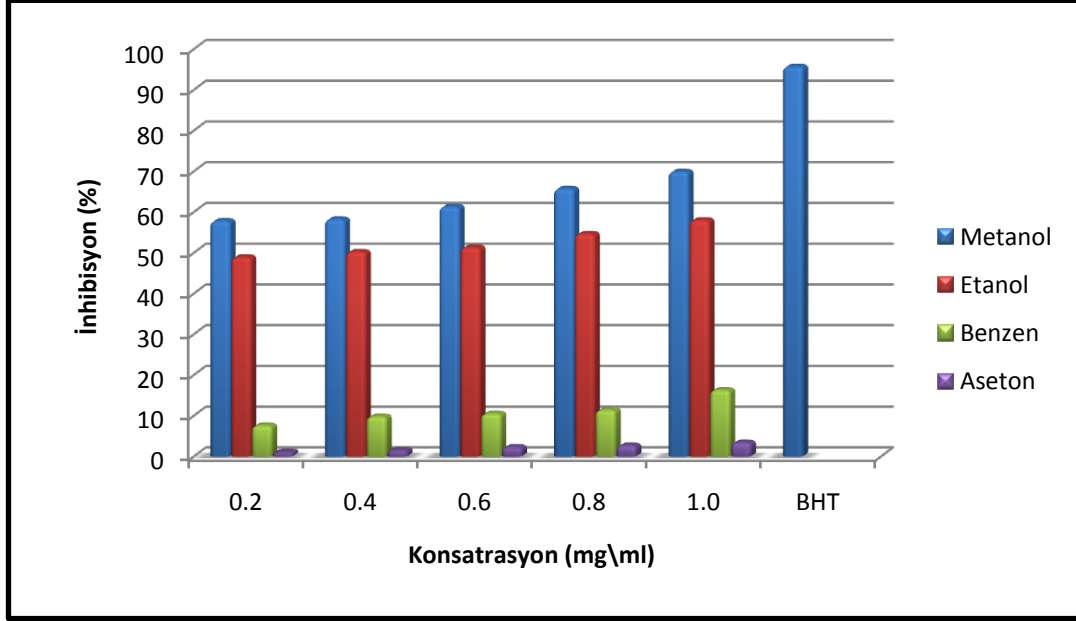


Şekil 3.1:  $3\beta$ -Karoten-Linoleik asit yönteminde *O. anatolicum* hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği (Kontrol E; etanol, Kontrol M; metanol, Kontrol B; benzin, Kontrol A; aseton).

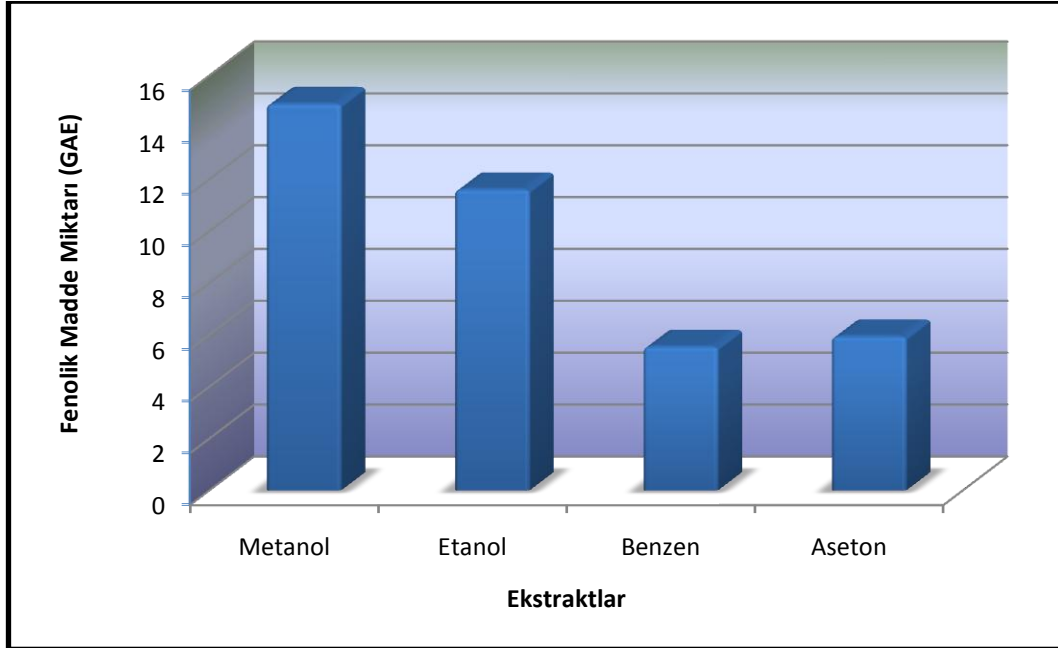


Şekil 3.2:  $\beta$ \_karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%)

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Wu ve ark.,2006). Beş farklı derişimdeki ve standart serbest radikal giderim aktiviteleri Şekil 3.3, 3.4'de verilmiştir.

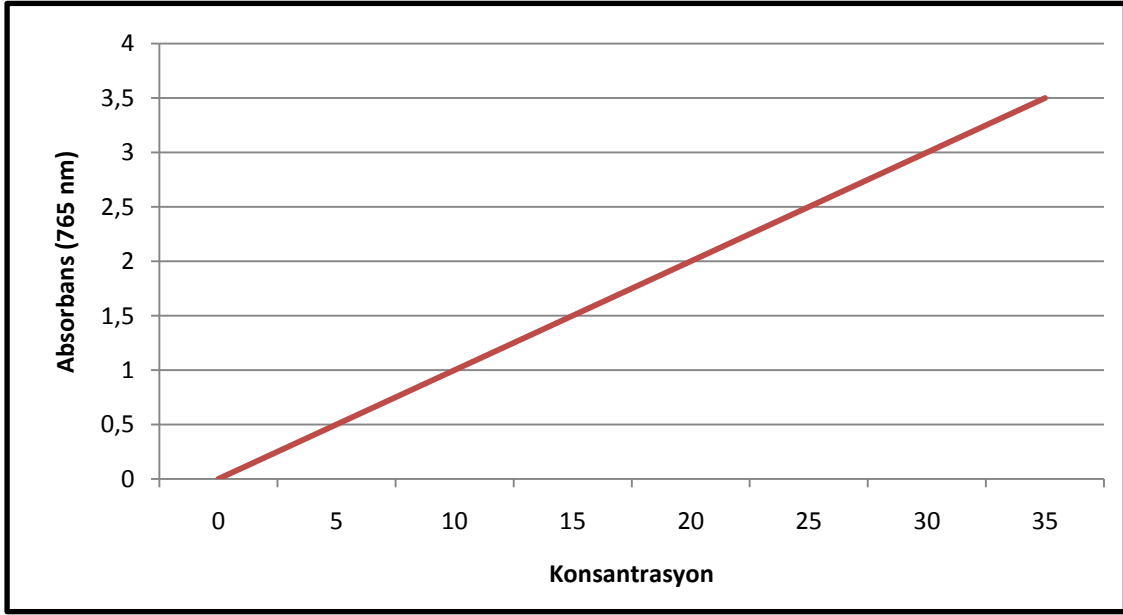


Şekil 3.3: DPPH yöntemi ile hazırlanan *O. anatolicum* etanol, metanol, benzen, asetonlu ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri



Şekil 3.4: *O. anatolicum* etanol, metanol, benzen, asetonlu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı (GAE)

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine (Tekeli, 2008), standart olarak kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmış (Şekil: 3.5) ve tüm toplam fenolik bileşik miktarı tayinlerinde bu grafik kullanıldı. Tüm ekstraların Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak elde edilen toplam fenolik bileşik miktarı değerleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.5: Gallik asit kalibrasyon eğrisi

$$(y = 0.099x + 0.097, R^2 = 0.987)$$

Tablo 3.1: Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

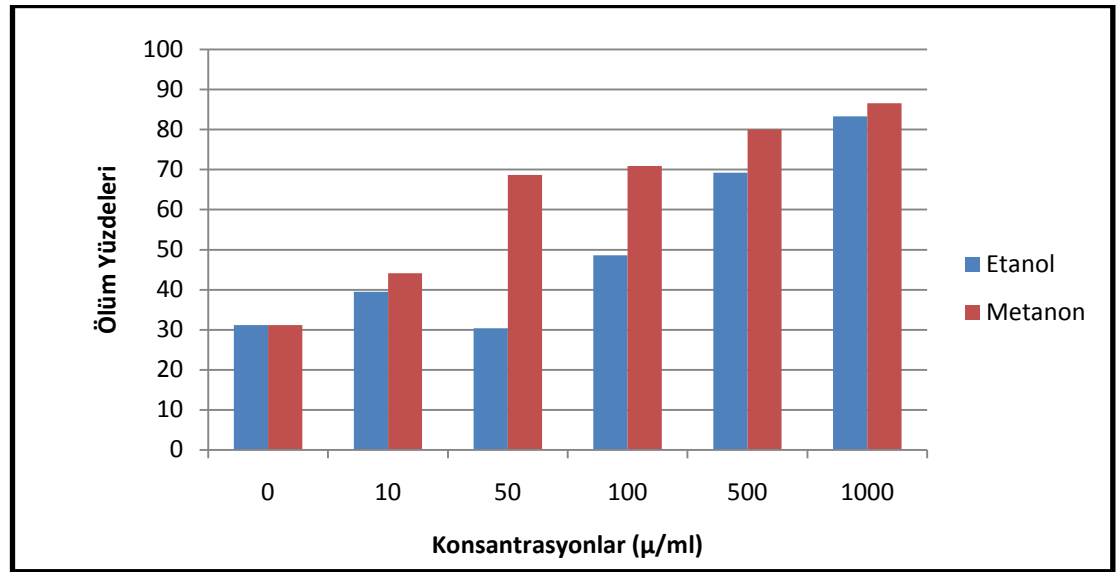
	Antioksidan Aktivite	Toplam Fenolik Madde Miktarı
Aseton	5	5,93
Metanol	77	14,9
Etanol	60	11,6
Benzen	18	5,53
BHT	96,14	

### 3.2. Sitotoksik Aktivite (Brine Shrimp Letalite Testi) Bulguları

Brine Shrimp Letalite testi bitki ekstralarının sitotoksik özelliklerini test etmek için hızlı, ucuz, kolay ve güvenilir bir yöntemdir (McLaughlin ve ark., 1993). Beş farklı konsantradaki Brine Shrimp Letalite test bulguları tablo 3.2’de verilmiştir. Ölüm yüzdeleri şekil 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.2: Brine Shrimp Letalite Testi Bulguları

Bitki Kısımı	Ekstrakt	Konsantrasyonlar ( $\mu\text{g/ml}$ )						LC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )
		0	10	50	100	500	1000	
Tohum	Etanol	31.2	39.5	30.4	48.6	69.2	83.3	417.775
Tohum	Metanol	31.2	44.1	68.7	70.9	80	86.6	64.405

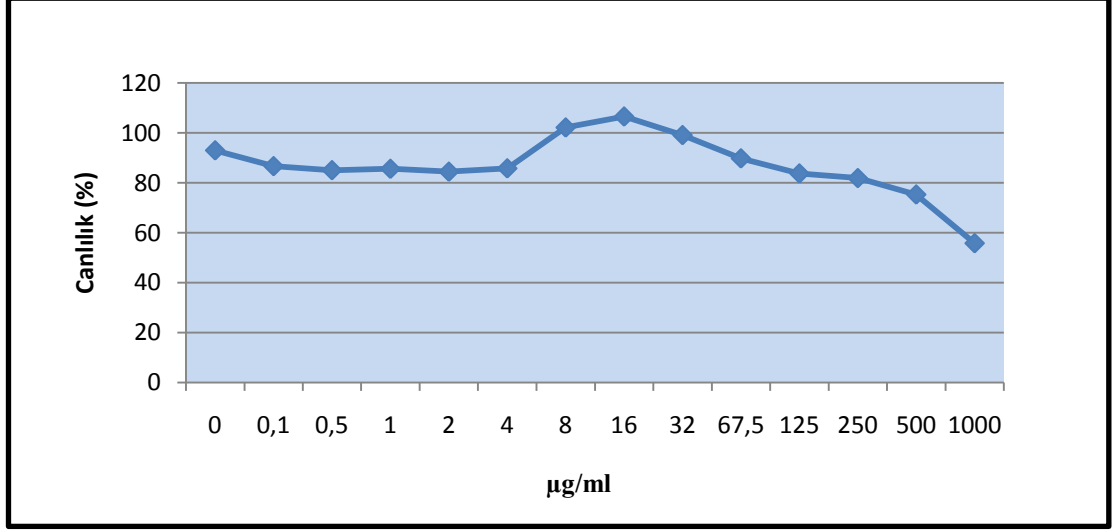


Şekil 3.6: 24 Saat sonunda farklı konsantrlerdeki ölüm yüzdeleri



### 3.3. Ekstraktın Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkisinin Bulguları

Akciğer kanser hücreleri üzerinde, ekstraktların farklı konsantrlerdeki sitotoksik etkisi şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7: Ekstraktların kanser hücreleri üzerindeki farklı konsantrlerdeki sitotoksik etkisi

### 3.4. Antibakteriyel Aktivite Bulguları

Antibakteriyel maddeler; bakterilerin gelişmesini durdurucu veya onları öldürücü ajanlardır. Bu maddeler çok geniş bir grup olup bunlara antibiyotikler, dezenfektanlar, antiseptikler vb. dahildir. Antibiyotikler, canlılar tarafından meydana getirilen ve çok seyreltik çözeltilerde bile bazı bakterilerin üremelerini durduran veya onları öldüren bileşiklerdir (Temiz, 2000). Çalışmamızda antibakteriyel olarak düşündüğümüz *O. anaticum* metanollü ve etanollü ekstraktının MIC ve MBC değerleri verilmiştir (Tablo: 3.3).



Tablo 3.3: Bakterilerin MIC (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MBC (minimal bakteriyal konsantrasyon) değerleri

	Bakteriler	MIC(mg/ml)	MBC(mg/ml)
Metanol Solüsyonu İçeren Ekstrakt	<i>E. coli</i>	6,25	50
	<i>S. Enteritidis</i>	12,5	50
	<i>S. warneri</i>	25	>50
	<i>S. haemolyticus</i>	50	50
Etanol Solüsyonu İçeren Ekstrakt	<i>E. coli</i>	3,125	25
	<i>S. Enteritidis</i>	12,5	25
	<i>S. warneri</i>	50	>50
	<i>S. haemolyticus</i>	50	>50

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

*O. anatolicum* bitkisinin etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri,  $\beta$ -karoten-linoleik asit model sistemiyle belirlendi. Bu sistem, (Serbest linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksitli ürünlerinin  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk gideriminin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır) herhangi bir antioksidan bulunmadığında  $\beta$ -karotenin renginin hızla açılması esasına dayanır. Sisteme antioksidan içerikli ekstraktların ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötrale edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da  $\beta$ -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbanası daha yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir. En yüksek antioksidan aktivite tablo 3.1’de görüldüğü gibi (%77) metanollü çözücü ile elde edilen ekstraktında görülmüştür. Ekstraktların en düşük antioksidan aktivitesi asetonundur (%5). Aynı bitkilerden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının birbirlerinden çok farklı antioksidan aktivite göstermesinin sebebi olarak çözücülerin polariteleri gösterilebilir. Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Dolayısıyla bir maddenin antioksidan etki yönünden

kuvvetliliği içerdiği fenolik madde miktarına bağlıdır. Bu amaçla Folin-Ciocalteu yöntemiyle yapılan deneyde Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Yapılan çalışma sonucuyla da fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidan aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz. Fakat toplam antioksidan aktivitenin her zaman fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, ancak antioksidan aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğu söyleyebiliriz. *O. anatolicum* toplam fenolik madde içeriği mg/ml gallik asit cinsinden hesaplanmıştır (şekil 3.4). Bu değerler göre içeriğinde en fazla fenolik madde içeren metanol (14,9) ve az fenolik madde içeren benzindir (5,53). Üzerinde çalıştığımız *O. anatolicum* ise BHT'ye göre nispeten daha zayıf olmasına rağmen yinede güçlü bir antioksidan aktivite etkisi göstermektedir. Bu kanıya varmak için DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlara baktığımızda ortamdaki serbest radikallerin süpürme yeteneğine sahip olduğunu görüyoruz. Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içerisindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini verebilmelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna bağlıdır (Fukumoto ve Mazza, 2000). 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 517 nm de dalga boyu maksimumuna sahiptir ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde serbest radikal olarak kullanılmaktadır (Yen ve ark., 2005). *O. anatolicum* 1 mg/ml'lik hazırlanan ekstraktlar arasında en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi metanollü ekstraktında (% 69.84) bulunmuştur. En düşük serbest radikal giderim aktivitesi asetonlu ekstraktında (% 3.4) görülmüştür. Tüm özütlerin derişimin artmasıyla, serbest radikal giderim aktivitesi artmaktadır (şekil 3.3). Bileşenlerin indirgeme kapasitesi onun antioksidan yönünden aktivitesini belirleyebilir. Bu değerler bakıldığında *O. anatolicum* sentetik antioksidanla kıyaslandığın da antioksidan aktivite göstermektedir.

Brine Shrimp (*Artemia salina*) yöntemi birçok durumda oldukça iyi bir korelasyon analizi yapmak ve bitki ekstrelerinin sitotoksik özelliklerini test etmek için hızlı, ucuz, kolay ve güvenilir bir yöntemdir (McLaughlin ve ark., 1993). Bu nedenle elde edilen ekstrelerin potansiyel sitotoksik aktivitelerinin kontrolü için uygulanan Brine Shrimp (*Artemia salina*) yöntemi daha göre *O. anatolicum* etanol ve metanol ekstraktları ile hazırlanan 5 ayrı konsantrasyondaki sitotoksik sonuçları Tablo 3.2' de verilmiştir. 10 ve 1000 µg/ml arası konsantrasyonlarda sitotoksik özellik (LC50 etanollü ekstrakt için 417.775, metanol için 64.405'dür) göstermiştir.

Ancak etanol için 500 µg/ml'deki 24 saatteki ölüm yüzdesi 69.2 iken metanol için %80'dir. 1000 µg/ml de etanol için %83.3 iken metanol için % 86.6'dır. Ayrıca metanollü ekstraktta 50 µg/ml de % 68.7 ve 100 µg/ml de % 70.9'dur. Sonuç olarak etanol ile hazırlanmış ekstraktta 500 µg/ml ve üstü konsantrasyonlar yüksek sitotoksik etkiye sahiptir. Methanol ile hazırlanmış ekstraktta 50 µg/ml ve daha üstü konsantrasyonlar sitotoksik etkiye sahiptir. İstatistiksel hesaplamalar sonucu bulunan LC50 değerleride bunun kanıtıdır. LC50 düşük olan metanol içeren ekstraktın ölüm yüzdesi daha fazladır. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında etanol ve methanol ile hazırlanan ekstraktın sitotoksik etkisi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak sitotoksik aktivitenin belirlenmesinde geçerli bir yöntem olan Brine Shrimp (*Artemia salina*) letalite testinin *O. anatolicum* özütlerinde etkili olduğu saptanmıştır.

Kanser dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Kanser tedavisinde, doğal ürünlerden elde edilen yeni tedaviler yararlanabilir. Doğal ürünler kanser tedavisi için kullanılan mevcut ilaç ajanların çoğu için bir temel oluşturmak adına hizmet etmektedir. Daha etkili ve daha az toksik antikanser ilaçların geliştirilmesi gerektiğini, farmakolojik olarak aktif bileşikler yeni kaynaklar keşfetmek için araştırmalara yol açmıştır. Doğal ürünler kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Antikanser ilaçları geliştirmek için iyi bir aday olabilirler. Bitkilerden izole edilen taksol ve vinkristin gibi birçok kemoterapötik ilaçlar, anti-kanser bileşikleri keşfetmede önemli bir potansiyel olmuştur. Bu nedenle, bitkisel kaynaklı yeni antikanser tedaviler için aktif bileşikler umut verici olabilirler. Özellikle endemik bitki kaynaklarından ilaç geliştirme programları, hala yeni sitotoksik ajanlar keşfetmek için önemli bir araç olmaya devam etmektedir. Bu nedenle *O. anatolicum* daha öncelerden anti-kanser özelliği çalışılmadığı için bu çalışmada bulduğumuz sonuç literatüre ilk defa girecektir. Daha önceleri yapılan anti-kanser çalışmaları yerli halkın deneyerek kullanarak bulunduğu etnobotanik çalışmalardır. Biz bu çalışmada H1299 hücre hattını kullanarak sıfır ve yetmişikinci saatteki sitotoksik özelliğine bakılmıştır. *O. anatolicum* sitotoksik H1299 hücre çizgileri (IC50 = 268.65 ug / ml) şekil 3.8'de görüldüğü gibi 500 µg/ml ve üstü konsantrasyonlar için etkisi olduğu gözlenmiştir. 500 µg/ml ve üstü konsantrasyonlar da H1299 akciğer kanser hücrelerinde canlı hücrelerde azalmalar gözlenmiştir. Bu çalışma ışığı altında etki gösteren konsantrasyon ve üstü konsantrasyonlar için çalışmamız birçok çalışmaya

yol göstericidir ve sitotoksiklerin geliştirilmesine yönelik teşvik olabileceğini göstermektedir.

2011 yılında yapılan bir çalışmada Aysel Uğur ve arkadaşları ilk kez endemik *Onopordum caricumun* kimyasal bileşimini ve antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda *O. caricumun* kloroform ve etanol ekstraktlarının çok dirençli *S. maltophilia*, *S. aureus* ve bazı staphylococci mikroorganizmalarının gelişimini engellemede büyük başarı sağladığı görülmüştür (Uğur ve ark., 2011). Bu çalışmadan yola çıkarak biz araştırmamız kapsamında yapılan antibakteriyal çalışmamızda Broth Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen, çalışmamızda *O. anaticum* bitki ekstraktlarının Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyal aktiviteleri incelenmiş ve elde edilen MIC ve MBC değerleri tablo 3.4’de verilmiştir. Etanol içeren ekstraktlar da *E. coli* için MIC değeri 3,125 iken metanol içeren ekstraktta 6,25’tir. *S. Enteritidis* etanol içeren ekstraktlarda 12,5 iken metanol içeren ekstraktta 12,5’tir. Gram (+) bakterilerinde ise her iki ekstraktta *S. haemolyticus* 50 iken, *S.warneri* etanolde 50, metanolde 25 bulunmuştur. Genel olarak değerlendirildiğinde ise; Gram negatif bakteriler için antibakteriyal etkinliğin etanol solüsyonu içeren ekstraktlarda daha yüksek olduğu, ancak Gram pozitif bakteriler için ise antibakteriyal etkinliğin metanol solüsyonu içeren ekstraktlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak çalıştığımız *O. anaticum* bitkisi üzerine yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz bu çalışmanın bundan sonra yapılacak birçok çalışmaya yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

**AKYÜZ**, E. 2007. *Polygonumbistorta* ssp. *carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antibakteriyal Aktiviteleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon, 97 ss.

**ALLEN**, P. 1995. Soft-Tissue Accumulation Of Lead In The Blue Tilapia, *Oreochromis Aureus* (Steindachner), And The Modifying Effects Of Cadmium And Mercury, Department Of Zoology, NationalUniversity Of Singapore, 50 (3):193-208.

**BAHTENKO**, E., **KURAPOV**, P. 2008. Mnogoobrazniyevtorichnix metabolit ovvıssi chrastenyi.Izdatelstvo Pedagogiceskiy Gosudarstvennyy Universitet Vologda, pp 5-96.

**BURAK**, M., **ÇİMEN**, Y. 1999. Flavonoids and their antioxidant properties. *T. Klin. J. Med. Sci.*, 19, 296-304.

**BRUTTI**, C. B., **PARDO**, M. F., **CAFFINI**, N. O., **NATALUCCI**, C. L. 2012. *Onopordum acanthium* L. (Asteraceae) flowers as coagulatingagentforcheesemaking LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY; 45; 2; 172-179.

**CARDON**, D. 2007. Natural dyes - sources, tradition, technologyandscience. Archetype Publications Ltd., London.

**CEYLAN**, A. 1987. Tıbbi Bitkiler II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:481, 1-22 ss.

**CHAUDERE**, J., **FERRARI-ILIOU**, R. 1999. Intracellular antioxidants: from chemical tobio chemical mechanisms, *Food Chem. Toxicol*, 37 (9-10): 949-62.

**CSUPOR-LOEFFLER**, B., **HAJDU**, Z., **RETHY**, B., **ZUPKO**, I., **MATHE**, I., **REDEI**, T., **FALKAY**, G., **HOHMANN**, J. 2009. Antiproliferative Activity of Hungarian Asteraceae Species against Human Cancer Cell Lines. Part II; *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, (23)8: 1109-1115.

**COWAN**, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinic Microbiol. Rev*, 564-582.

- DAVIS, P. H.** 1965-1988. Flora of Turkey and the East Aegean Island, Vol: 1-10, Edinburgh: Edinburgh University Press.
- DE SOUZA, R. F. V., DE GIOVANI, W. F.** 2005. Synthesis, spectra and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *SpectrochimicaActaPartA*, 61, 1985-1990.
- DOĞAN, C., SORKUN, K.** 1999. Pollenanalysis of honeysfrom Central, Easternand Southeastern Anatolia in Turkey. Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering Series A, 28.
- DÖLEN, E.** 1992. Tekstil tarihi: Dünyada ve Türkiye’ de tekstil teknolojisinin ve sanayiinin tarihsel gelişimi. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Yayınları No:92/1, Matbaa Eğitimi Bölümü Yayın No:6, İstanbul.
- EKİM, T.** 1990. Bitkiler, Türkiye’nin Biyolojik Zenginlikleri Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını, Ankara, ss.
- ERDTMAN, G.** 1966. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms (An introduction of palynology revise dedition), Hanerphthb. Co. New York.
- ERİK, S., TARIKAHYA, B.** 2004. Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç*, 17:139-163.
- FREHNER, M., SCALET, M., CONN, E. E.** 1990. "Pattern of the Cyanide-Potential in Developing Fruits " *Plant Physiol.*, 94,28-34.
- FORGACS, E., CSERHATI, T.** 2002. Thin-layer chromatography of natural pigments: new advances. *J. Liq. Chrom. &Rel. Technol.*, 25(10&11): 1521-1541.
- HALLIWELL, B.** 1995. How ToCharacterize An Antioxidant: An Update. *Biochemistry Society Symposium* 61,73-101.
- HAJJI, H. E., NKHILI, E., TOMAO, V., DANGLES, O.** 2006. Interactions of quercetin with iron and copperions: complexation and autoxidation. *reeRadical Research*, 40 (3), March, 303-320.
- HARBORNE, J. B.** 2000. Arsenal forsurvival: secondary plant products, *Taxon*, Vol.49, pp. 435-449.
- HEIDONEN, S. M. ve ark.,**2003. "Theoccurence of new mamalian lignan precursors in wholegrains" *Phyto chemistry and Biology of Lignans*, April 3-6 Bornheim-Walderberg (Germany) pp. 82.

- HEYWOOD, V. H.** 1971. Systematics survey of Old World Umbelliferae. In: Heywood, V. H. (ed.) *The Biology and Chemistry of the Umbelliferae*, London: Academic Press, pp. 31-41.
- HURST, W. J.** 2002. *Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals*. CRC Press., U.S.A., pp .
- JAAKOLA, L.** 2003. *Flavonoid Biosynthesis in Bilberry (Vaccinium myrtillus L.)*. Academic Dissertation, the Faculty of Science, University of Oulu, Oulu, Finland, pp 14.
- KAYA, Y., AKSAKAL, Ö.** 2005. Endemik Bitkilerin Dünya ve Türkiye'deki Dağılımı, *Erzincan Eğitim Fakültesi Dergisi*, 7 (1):85-98.
- KHALILOVA, A. Z., LITVINOV, I. A., BESKROVNYI, D. V., GUBAIDULLIN, A. T. E. R., SHAKUROVA, I. R., NURIEV, L. M., KHALILOV, U. M.** 2004. Isolation And Crystal Structure Of Taraxasteryl Acetate From *Onopordum acanthium* *Chemistry of Natural Compounds, Vol. 40, No. 3*.
- KOÇYİĞİT, M.** 2005. *Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 122 ss.
- KISELOVA, Y., IVANOVA, D., CHERVENKOV, T., GEROVA, D., GALUNSKA, B., YANKOVA, T.** 2006. Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs; *PHYTOTHERAPY RESEARCH*; (20)11: 961-965.
- KNEEPKENS FRANK, C. M., LEPAGE, G., ROY, C. C.** 1994. The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation, *Free Radic Biol Med.*, 17(2): 127-60.
- KONUKOĞLU, D.** 2000. *Biyokimya*. Nobel tıp kitabevi, İstanbul, 123 ss.
- KUMAR, J. K., SINHA, A. K.** 2004. Resurgence of natural colourants: A holistic view. *Natural Product Letters*, 18(1), 59-84.
- LAKHANPAL, P., RAI, D. K.** 2007. Quercetin: A versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2).
- LEWIS, N. G., DAVIN, B. D.** 1999. *Lignans: Biosynthesis and Function*. Elsevier Science, Oxford, p. 639-712.
- LWASHINA, T.** 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, 113, 287-299.

- MANACH, C., DONOVAN, J. L.** 2004. Pharma cokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radical Research*, 38(8): 771-785.
- MASSANET, G. M., PANDO, E., RODRIUGEZ-LUIS, F., ZUBIA, E.** 1989."Lignans" A Reviewv. *Fitoterapia*, 60,3-35.
- MCLAUGHLIN, J. L., CHANG, C. J., AND SMITH, D. L.,** 1993. Simple bench-top bioassays (brine shrimp and potato discs) for the discovery of plant antitumour compounds. In: *Human Medicinal Agents from Plants*. Kinghorn, A. D. And Balandrin, M. F. (Eds.), *ACS Symposium 534*, American Chemical Society, Washington, D. C.: 112-137.
- MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T. C.** 2000. Theeffects of plant flavonoids on mammali ancels: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4): 673-751.
- MILLER, N. J., LARREA, M. B. R.** 2002. Flavonoidsandotherplantphenols in the diet: their significance as antioxidants. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 12, 39-51.
- NIEDZWIEDZ-SIEGIEN, I.** 1998. "Cyanogenic Glucosides in *Linum usitatissimum*". *Phytochem.*,49(1), 59-63.
- ÖZKAN, G.** 2007. Türkiye’de Lamiaceae Familyasına ait Baharat veya Çeşni olarak Kullanılan Bazı Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Konya.
- REN, W., QIAU, Z., WANG, H., ZHU, L., ZHANG, L.** 2003. Flavonoids: promis inganti cancer agents. *Medicinal Research Reviews, China*, 23(4): 519-534.
- RICE - EVANS, C. A., PACKER, L.** 2003. Flavonoids in healthanddiseasessecond editionrevised and expanded. Marcel Dekker, Inc.,NewYork, U.S.A, pp 43.
- ROWLEY, J. R.,. DAHL, A. O., ROWLEY, J. S.** 1981. Substructure in exines of *Artemisiavulgaris* (Asteraceae). *Review of Palaeo botany and Palynology*, 35: 1-38.
- SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., LEBLEBİCİ, E.** 1998. Tohumlu Bitkiler Sistematığı. E.Ü.F.F. Kitaplar Serisi No: 116, Bornova-İzmir, ss.
- SEIGLER, D. S.** 1998. Plantsecondary metabolism, Boston, KluwerAcademic.



- SUI, M., XIONG, X., KRAFT, A. S., FAN, W.**2006. Combination of gemcitabin eantagoniz esanti tumor activity of paclitaxel through prevention of mitoticarrest and apoptosis, *Cancer Biol Ther.*, Vol.5, No.8, pp.1015-21
- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M.** 1998. *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders kitapları No.78 Ankara, ss.
- TEMİZ, A.** 2000. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Hatipoğlu Yay., Ankara.
- THOMPSON, L. U., RICKARD, S. E., ORCHESON, L., SEIDEL, J.** 1996. "Flaxseed and Its Lignanand Oil Components Reduce Mammary Tumor Growth at a Late Stage of Carcinogenesis", *Carcinogenesis*, 17,1373-1376.
- WANASUNDRA, P. K. J. P. D., AMAROWICZ, R., KARA, M. T., SHAHIDI, F.** 1993. "Removal of Cyanogenic Glycosides of Flaxseed Meal" *Food Chemistry*, 48, 263-266.
- UĞUR, A.,SARAÇ. N., DURU. M.E.;** 2011; Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Endemic *Onopordum caricum*, *Middle-East Journal of Scientific Research*; 8(3): 594-598.
- WATSON,R. R., PREEDY, V. R.** 2004.Nutrition and heart disease causation and prevention. CRC Press., U.S.A., pp .
- VARGAS, F.D.,JIMÉNEZ, A. R., LÓPEZ, O. P.** 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, andbetalains-characteristics, biosynthesis, processing, andstability.*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
- YÁÑEZ, J.A.,ANDREWS, P. K., DAVIES, N. M.** 2007. Methods of analysis and separation of chiral flavonoids. *Journal of Chromatography B*, 848, 159-181.
- YEN, W.,CHANG, L., DUH, P.** 2005. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate, *LWT*, 38: 193–200.

## ÖZGEÇMİŞ

04/11/1982 tarihli Ankara doğumluyum. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladım. 2000-2002 yıllarında Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Meslek YO Protez-Ortez Bölümünü bitirdim. Halen 2003 Aralık ayından tarihinden bu yana Pamukkale Üniversitesi Fizik Tedavi Anabilim Dalı’nda Sağlık Teknikeri olarak görev yapmaktayım. 2003 yılında girdiğim Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2009 yılında mezun oldum. 2011 yılında Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisansa başladım. Halen yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim. Ayrıca Pedogolojik Formasyon Sertifikası, Temel İlk Yardım Eğitmenliği sertifikası, Temel İngilizce, Bilgisayar İşletmenliği sertifikaları aldım.



### **Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan SCI Index’li makaleler**

1-Ozgen M, Güngen G, Sarsan A, Ardıç F, Çalışkan S, Sabir N, **Taşdelen G**, Baydemir C. Determination of the position on which the median nerve compression is at the lowest in carpal tunnel syndrome and clinical effectiveness of custom splint application. Rheumatol Int. 2010 Mar 20. , 2010

### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler**

1-Mammadov R., Metin H.,Özay C., **Taşdelen G.**, Aydın Ç.; “Histological Effect Of *Silybum marianum* (L) Gaertner Seed Extracts On The Stomach Mucosa In Rats” Bitki Hücresinin Biyolojisi ve Biyoteknolojisi Uluslararası Kongre, Minisk\Belarus pp.222,13-15 Şubat 2013

2-Mammadov R., **Taşdelen G.** Studing of infiuence extracts endemically a kind of Turkey *Crataegus aronia* var. *dentata* on liever regeneration” it is included in the program of XIV International sciendifically-practical conference “Moderm

technologies of agricultural production”, Grodno (Belarus), pp.214-217, 18-20 May 2011

**3-Mammadov R., Metin H., Taşdelen G., Aydın Ç., Yarım E.** *Onopordum tauricum* Wild.: Extracts on the effects of hepatocyte replication and chemical composition. “1<sup>st</sup> Symposium Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET2011)”, Denizli, 12-15 September 2011.

**4-Mammadov, R., Taşdelen, G., Şahin, B., Ferhat, İ.** Investigation for the effect of extracts isolated from *Crataegus monogyna* Jacq. species on replication of rat hepatocytes. IV International Conference ‘**Extraction of the Organic Compounds ICDC -2010**’, September 20-24, Voronej, Rusya- 2010

**5-Mammadov, R., Taşdelen, G., Sahin B.** Investigation for the effect of extracts isolated from *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark. species on replication of rat hepatocytes. VII International symposium on phenolic connections October 19-22, 2009. Moscova, Russia

#### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler**

**1-Taşdelen G., Taşdemir E., Armağan G., Mammadov R.** *Silybum marianum* antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, İzmir.

**2- Mammadov R., Taşdelen G.,Şahin B.,Crataegus monogyna** (Alıç) Türünde İzole Edilen Ekstraktların Karaciğer Hepatosit Replikasyonu Üzerinde Etkilerin Araştırılması. 20.Ulusal Biyoloji Kongresi,21-25 Haziran 2010, Denizli,

**3-Taşdelen, G., Ertunç, Y.,Ferhat, İ., Mammadov, R.** Denizli yöresinde yayılış Gösteren *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark. (Alıç) Türünden İzole Edilen ekstraktların karaciğerin hepatosit replikasyonu üzerinde etkilerinin araştırılması. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, 2008, Trabzon.

## **Kongreler**

- 1.** III. Ulusal Protez-Ortez Kongresi, 13-15 Kasım 2001, Ankara
- 2.** 5. Ulusal Protez-Ortez Kongresi, 28 Eylül- 2 Ekim 2005, Antalya
- 3.** 6. Ulusal Protez-Ortez Kongresi, 17-20 Ekim 2007, Ankara
- 4.** 19. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2008, Trabzon
- 5.** 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül 2012, İzmir
- 6.** 8. Ulusal Protez-Ortez Kongresi, 26-29 Ekim 2012, Antalya