

***PHLOMIS NISSOLII* L.'NİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

Nagehan BAYIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OCAK 2014
ANKARA**

Nagehan BAYIN tarafından hazırlanan “*PHLOMIS NISSOLII* L.’NİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Leyla AÇIK

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Mecit VURAL

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof.Dr. Leyla AÇIK

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof.Dr. Sibel SÜMER

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2014

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nagehan BAYIN

**PHLOMIS NISSOLII L.'NİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Nagehan BAYIN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2014**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde yetişen *Phlomis nissolii* L. türünün 7 patojen mikroorganizma ve 3 maya üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi, antioksidan aktivitesi ve DNA üzerine etkisinin belirlenmesidir. Çalışmada *P. nissolii* türünün etanol, metanol ve su özütleri kullanıldı. Bitki özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) yöntemi ile belirlendi. Özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri için *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) bakteri türleri ile *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) ve *Candida krusei* (34135) maya türleri kullanıldı. MİK değerlerine göre *P. nissolii*'nin etanol özütünün en etkili olduğu bakteriler *B. cereus* ve *B. subtilis* metanol özütünün en etkili olduğu bakteriler ise *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* olduğu belirlendi. Su özütünün bakteriler üzerinde etkisi gözlenmedi.

P. nissolii'nin DPPH radikal süpürücü etkisi bakımından en etkili özüt metanol özütü olmasına rağmen, pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'ye göre daha

düşük olduğu bulundu. Özütlerin toplam fenolik miktarı için 760 nm’de okunan absorbans değerleri galik asit standart grafiği kullanılarak hesaplandı. Metanol özütünün en yüksek toplam fenolik miktara sahip olduğu bulundu. *P. nissolii*’nin metanol özütünün pBR322 plazmit DNA üzerine etkisi agaroz jel elektroforez yöntemiyle incelendi. Metanol özütünün konsantrasyona ve inkübasyon süresine bağlı olarak DNA’ya etki gösterdiği tespit edildi.

Bilim Kodu	: 203.1.104
Anahtar Kelimeler	: <i>Phlomis nissolii</i>, antimikrobiyal, antioksidan, DNA etkileşimi
Sayfa Adedi	: 61
Tez Yöneticisi	: Prof. Dr. Leyla Açık

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF***PHLOMIS NISSOLII* L.****(M.Sc. Thesis)****Nagehan BAYIN****GAZİ UNIVERSITY****GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES****January 2014****ABSTRACT**

The main purpose of this study is to determining antimicrobial activity effects of *Phlomis nissolii* L. species on the 7 pathogen microorganism and 3 yeast, antioxidant activity and effects on the DNA. In this study, ethanol, methanol and water extract of *P. nissolii* species was used. While determining antimicrobial activity of plant extract agar well diffusion technique was used. Extracted's antimicrobial effects tested on *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) bacterial and *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) and *Candida krusei* (34135) yeasts. According to MIK values, it has been observed that minimum effect concentration of *P. nissolii* ethanol extract on *B.cereus* and *B. subtilis* is 12,5mg/mL. Minimum effect concentration of *P. nissolii* methanol extract on *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bacterials is 12,5mg/mL. However, water extract has no effect on bacterials.

Although *P. nissolii*'s DPPH in terms of radical scavenging effect the most effective extract is methanol, BHT which is used by positive control is higher than methanol. Absorbans value of extracts's total phenolic value at 760 nm is determined by using gallic acid standard graphics technique. It is observed that

methanol extract has the highest total phenolic value. Effects of *P.nissolii*'s methanol extract's on pBR322 plasmid DNA is identified by using agarose gel electrophoresis technique.

Science Code	: 203.1.104
Key Words	: <i>Phlomis nissolii</i> , antimicrobial, antioxidant, DNA interaction
Page Number	: 61
Supervisor	: Prof. Dr. Leyla Açık

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK’a,

Çalışmamda kullandığım bitkiyi bana temin ve teşhis eden Öğr. Gör. Bilal ŞAHİN’e

Tez savunma jürimde bulunarak tezin değerlendirilmesinde önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Sibel SÜMER ve Sayın Prof. Dr. Mecit VURAL’a

Yüksek Lisans süresince bana destek olan değerli hocam Araş. Gör. Betül AYDIN ve Fatma DEMİR’e sevgili arkadaşlarım Özlem KILIÇ, Burcu BALI, Hossien SOLTANZADE ve Merve ÜSTÜNDAĞ’a

Bu süreçte yanımda olan ve benim bugünlere gelmemi sağlayan ailem: Selahattin BAYIN, Kevser BAYIN, Burcu BAYIN ve Eşef DEMİR’e

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Tıbbi Bitkiler.....	4
2.2. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler	5
2.2.1. Terpenler ve terpenoidler.....	6
2.2.2. Fenolik bileşikler	7
2.2.3. Alkaloidler	8
2.4. <i>Phlomis</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgiler	9
2.5. <i>Phlomis nissolii</i> L.....	11
2.6. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi	16
2.6.1. Antioksidan aktivite.....	16
2.6.2. Antimikrobiyal aktivite.....	18
2.6.3. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar.....	20
2.6.4. DNA'ya bağlanma ve kesme aktivitesi	23
3. MATERYAL METOT.....	25

Sayfa

3.1. Materyaller	25
3.1.1. Bitkisel materyal	25
3.1.2. Mikroorganizmalar	25
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler	25
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	26
3.2. Metotlar	26
3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması	26
3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi	26
3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi	28
3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi	29
4. DENEYSEL BULGULAR	30
4.1. Özütlerin % Verimleri	30
4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri	30
4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi	30
4.2.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) sonuçları	38
4.3. Antioksidan Sonuçları	39
4.3.1. DPPH sonuçları	39
4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini	42
4.4. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	60

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan <i>P. nissolii</i> türünün özüt verimliliği.....	30
Çizelge 4.2. <i>P. nissolii</i> 'nin etanol özütlerinin agar kuyucuk difüzyon (akd) yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları antimikrobiyal zon çapları (mm).....	31
Çizelge 4.3. <i>P. nissolii</i> 'nin metanol özütlerinin agar kuyucuk difüzyon (akd) yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları antimikrobiyal zon çapları (mm).....	34
Çizelge 4.4. <i>P. nissolii</i> etanol ve metanol özütlerinin MİK değerleri (mg/mL).....	38
Çizelge 4.5. <i>P. nissolii</i> özütlerinin DPPH Süpürücü Etki Değerleri (%).....	40
Çizelge 4.6. <i>P. nissolii</i> özütlerinin IC50 değerleri (µg/mL).....	41
Çizelge 4.7. <i>P. nissolii</i> özütlerinin 760 nm'de okunan absorbans değerleri (µg/mL).....	42

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>P. nissolii</i> 'nin kromozom fotoğrafı	12
Şekil 2.2. <i>P. nissolii</i> 'nin habitus şekli ve çiçek yapısı	13
Şekil 2.3. <i>P. nissolii</i> 'nin taban yaprak şekli	14
Şekil 2.4. <i>P. nissolii</i> 'nin ülkemizdeki yayılış alanı.	15
Şekil 4.1. <i>P. nissolii</i> özütlerinin DPPH süpürücü etki % inhibisyonu	40
Şekil 4.2. Özütlerin ve standardın (BHT), DPPH süpürücü aktivitelerinin IC ₅₀ değerleri	41
Şekil 4.3. Gallik asit standart grafiği.....	43
Şekil 4.4. <i>P. nissolii</i> özütlerinin fenolik içerik miktarı	43

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Phlomis nissolii</i> L.	11
Resim 4.1. <i>P. nissolii</i> 'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	32
Resim 4.2. <i>P. nissolii</i> 'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	32
Resim 4.3. <i>P. nissolii</i> 'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	32
Resim 4.4. <i>P. nissolii</i> 'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	33
Resim 4.5. <i>P. nissolii</i> 'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	33
Resim 4.6. <i>P. nissolii</i> 'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	33
Resim 4.7. <i>P. nissolii</i> 'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	35
Resim 4.8. <i>P. nissolii</i> 'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	35
Resim 4.9. <i>P. nissolii</i> 'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>B. subtilis</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	35
Resim 4.10. <i>P. nissolii</i> 'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	36
Resim 4.11. <i>P. nissolii</i> 'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	36
Resim 4.12. <i>P. nissolii</i> 'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>B. cereus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	36
Resim 4.13. <i>P. nissolii</i> 'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün <i>P.aeruginosa</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	37

Resim	Sayfa
Resim 4.14. <i>P. nissolii</i> 'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün <i>P.aeruginosa</i> üzerine antimikrobiyal etkisi	37
Resim 4.15. Kontrol (P), metanol özütü (1-9), 24 saat inkübasyon.....	44
Resim 4.16. Kontrol (P), metanol özütü (1-7), 48 saat inkübasyon.....	45
Resim 4.17. Kontrol (P), metanol özütü (1-7), 72 saat inkübasyon.....	45
Resim 4.18. Kontrol (P), metanol özütü (1-6), 120 saat inkübasyon.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

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

Kısaltmalar	Açıklama
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anizol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Tolüen
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	Difenilpikrilhidrazil
MİK	Minumum İnhibisyon Konsantrasyon
TAE	Tris Asetat EDTA

1. GİRİŞ

Ülkemizde bitkisel zenginlik, üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizmin yüksek olmasından ileri gelmektedir [1].

Tohumlu bitkiler, Türkiye’de ve dünyada en iyi bilinen bitki grubu olup aynı zamanda en gelişmiş bitki grubudur. Türkiye’de tanımlanmış tohumlu bitki türü sayısı günümüzde 10000 civarındadır. Türlerin %34’ü (3925) endemiktir [2]. Bitkilerin 1/3’ünün aromatik bitkilerden oluştuğu ve 650 kadarının halk hekimliğinde tedavi amaçlı olarak kullanıldığı rapor edilmiştir [3, 4].

Tıbbi bitkiler tarih öncesi çağlardan beri geleneksel sağlık hizmeti sistemlerinde ve dünya nüfusunun büyük çoğunluğu için hala en önemli sağlık hizmeti kaynağı olarak kullanılmaktadır. Tahminlere göre insanların %70-80’i onların temel sağlık hizmeti ihtiyaçlarını karşılayan geleneksel bitkisel ilaçlara güvenmektedir [5].

Türkiye bitkisel çeşitlilik yönünden oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ülkemizin mevcut bitki potansiyelinin çeşitli endüstri sahalarında kullanımı önemli miktardadır. Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de son yıllarda doğal zenginliklerin yavaş yavaş tükenmesi ve ekonomik olarak girilen çıkmazlar, doğal ürünlerin çok amaçlı kullanılmalarını zorunlu kılmıştır [6]. Yeni geliştirilen ilaçların neredeyse yarısının doğal kaynakları esas alması, yürütülen çalışmaları doğaya yönlendirmektedir [7].

Günümüzde, sentetik ilaçların ilaç endüstrisinde önemli bir payı olmakla birlikte, doğal ilaç etken maddeleri ve doğal bileşiklerden yola çıkılarak üretilen ilaçlar, kullanılmakta olan ilaçların yaklaşık %50’sini oluşturmaktadır [8].

Tıbbi bitkilerden elde edilen antimikrobiyal ajanlar, zengin bir kaynak oluşturmaktadır [9]. Birçok antimikrobiyal birleşim olmasına rağmen mikroorganizmalar bu tür ilaçlara karşı direnç geliştirmektedir. 1970'lerin başında hemen hemen tüm mikrobiyal enfeksiyonlar, çeşitli antimikrobiyal ajanlar sayesinde tedavi edilmiştir. Geleneksel antibiyotiklere karşı direnci olan patojenlerin, sık görülen mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılması medikal problemlere neden olmuştur. Bu problemlerin önlenmesi amacıyla, yeni antimikrobiyal ajanların bulunmasına önem verilmiştir [10].

Aromatik ve tıbbi bitkilerden elde edilen kaynakların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmaktadır. Bitkilerin sahip olduğu bu aktiviteler hücrel oksidasyon reaksiyonları ile insan vücudunu korumaktadır. Bu nedenle antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi için tıbbi bitkiler üzerinde araştırma yapmak önemlidir [11].

Bu çalışmada Türkiye'de yetişen endemik bir tür olan *Phlomis nissolii*'nin antimikrobiyal aktivitesi, antioksidan aktivitesi ve DNA ile etkileşimi araştırılmıştır. *P. nissolii*'nin daha önce antimikrobiyal aktivite ve DNA ile etkileşim çalışması yapılmamıştır. Fakat uçucu yağlar, glikozitler ve flavonoidler gibi antioksidan çalışmaları yapılmıştır.

P. nissolii özütlerinin insan patojeni bakteri ve maya mikroorganizmaları üzerindeki etkilerinin araştırılarak ileride antimikrobiyal ajan olarak kullanılması, özütlerin serbest radikal süpürücü etkileri ve toplam fenolik içerikleri açısından antioksidan etkisi ve özütlerin DNA ile etkileşimlerinin tespit edilerek antikanser ajan olarak kullanılma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

P. nissolii'nin etanol, metanol ve su özütü elde edilerek *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), ve *Pseudomonas aureginosa* (ATCC 27853) bakterilerine ve *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) ve *Candida*

krusei (ATCC 34135) mayalarına karşı antimikrobiyal etkileri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Özütlere üzerinde etkili mikroorganizmaların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) araştırılmıştır. Özütlere serbest radikal süpürücü etkileri DPPH yöntemi, toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edilmiştir. Metanol özütü ile pBR322 plazmit DNA arasındaki etkileşiminin belirlenmesinde agaroz jel elektroforez yöntemi uygulanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tıbbi Bitkiler

Dünyada 250-500 bin arasında bitki türünün olduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan sadece %1-10 arasındaki türler, insanlar ve diğer hayvanlar tarafından besin olarak kullanılmaktadır [12]. Geleneksel olarak kullanılan 20000'den fazla bitki türü vardır ve bunlar yeni ilaçlar için potansiyel kaynaklardır [13].

Ülkemizde ticari değeri olan aromatik bitkiler *Asteraceae* (*Compositae*), *Apiaceae* (*Umbelliferae*), *Lamiaceae* (*Labiatae*), *Solanaceae*, *Lauraceae*, *Fabaceae* (*Leguminosae*), *Rutaceae* ve *Ranunculaceae* familyalarına aittir. *Asteraceae* (*Compositae*), *Apiaceae* (*Umbelliferae*) ve *Lamiaceae* (*Labiatae*) tıbbi-aromatik bitkiler açısından zengin familyalar arasında ilk sıralarda yer almaktadır [14].

Compositae familyasına ait *Scolymus hispanicus* L. türünün köklerinden idrar söktürücü ilaç elde edilmektedir. *Leguminosae* familyasına ait *Astragalus* L. cinsinin bazı türlerinden elde edilen kitre zamlı ilaç ve tekstil sanayiinde oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. *Glycyrrhiza glabra* L. (Meyan) türünün köklerinden elde edilen meyan balı eczacılıkta kullanılmaktadır. *Lamiaceae* familyasından *Origanum onites* L. (İzmir Kekiği), *Thymus* L. (Kekik) ve *Mentha x piperita* L. (Nane) baharat olarak tüketilmektedir. *Salvia* L. üyeleri farmakolojik açıdan önemli uçucu bir yağ (sineol) içerir [15].

Bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanılması insanlık tarihi kadar eskidir [12]. Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır [16, 17, 18]. Bitkilerin yaprak, çiçek, tohum, kabuk gibi kısımları içlerindeki etkili bileşikler nedeniyle drog olarak hastalıkları iyileştirmede kullanılmaktadır [7, 19].

Bitkilerin kendilerine özgü renk, koku ve tatlarının oluşmasında biyolojik aktif maddeler olan fitokimyasallar etkili bir role sahiptir [20]. Tükettiğimiz sebze, meyva ve tahıllarda yaklaşık 8000 farklı fitokimyasal bulunmaktadır [21]. Bilimsel araştırmaların ve kromatografik analiz yöntemlerinin ilerlemesiyle bitkisel drogların etken maddelerinin fitokimyasal özelliklerinden, özellikle de toplam sekonder metabolitler veya içeriklerindeki kimyasal bileşiklerden kaynaklandığı tespit edilmiştir [9, 22].

Yıllardır sürdürülmekte olan çalışmalar sonucunda bitkilerdeki bu maddelerden bazıları saflaştırılmış, böylece fitokimyasalların saf elde edilerek kullanılması tartışmaya yol açmıştır [23]. Fitokimyasal ajanların izole edilerek kullanıldığında mı yoksa doğal şekliyle besinlerle tüketildiğinde mi daha etkili olduğu önemli bir sorudur. İzole edilen fitokimyasallar ya aktivite kaybetmekte ya da besinlerdeki doğal şekli gibi hareket etmemektedir. Besinlerdeki doğal ve dengeli fitokimyasal karışımın etkinlikten sorumlu olduğu tespit edilmiştir [21].

Kimyasal preparatların üretimi hız kazanmış ve doğal olanlarından vazgeçilmeye başlanmıştır. Ancak, zaman içinde tek bir kimyasal maddeyi ve bazı dolgu maddelerini içeren sentetik preparatların olumsuz yan etkilerinin ortaya çıkmasıyla birlikte yeniden ve hızla doğal bitkisel ürünlere dönüş başlamıştır [22].

2.2. Bitkilerde Bulunan ve Biyolojik Aktivite Gösteren Bileşikler

Tıbbi bitkiler biyomoleküllerin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır [20]. Bitkilerin içermiş olduğu kimyasal maddeler oluşum bakımından primer ve sekonder bileşikler olmak üzere ikiye ayrılır [24]. Primer bileşikler, bitki büyüme ve gelişiminde doğrudan görev alan, insan ve diğer canlıların beslenmesi için gerekli bileşiklerdir. En önemlileri karbonhidratlar, proteinler, lipitler, mineraller ve vitaminlerdir [24, 25].

Sekonder bileşikler, bitki büyüme ve gelişiminde doğrudan etkili olmayan bileşikler olup, bitkilere dolaylı faydalar sağlar [24]. Bitkiler sekonder metabolitler olarak ifade edilen, hastalık ve zararlılar gibi biyotik ya da kuraklık, tuzluluk, UV gibi abiyotik stres faktörlerine karşı korunmalarında etkileri olan bileşikleri içermektedir [26]. Bitkiler yaklaşık 100000 farklı tipte sekonder bileşikler üretir [25]. Bitki sekonder bileşiklerinin ana tipleri, terpenler ve terpenoidler, flavonoidleri içeren fenolikler ve alkaloidlerdir [24, 25].

2.2.1. Terpenler ve terpenoidler

Terpen ve terpenoidler, 30000'den fazla yağda çözünen çeşitli gruplardan oluşan bileşiklerdir [27, 28]. Bu bileşiklerin büyüklüğü ve karmaşıklığı büyük ölçüde değişir, fakat hepsi yapıtaşı olan izoprenlerden oluşmaktadır. İzopren birimleri çeşitli sayılarda birleşerek farklı yapıları meydana getirmektedir. Bu bileşiklerden bazıları gül ve lavanta özü gibi hoş kokuludur ve tozlaşma için böcekleri çiçeklere çekmektedir [25].

Terpen ve terpenoidlerin en az yarısı bitkiler tarafından sentezlenmektedir. Bu bileşikler klorofilin yan zinciri olan fitoller, karotenoid pigmentleri, hücre zarının fitosterollerini ve giberellin gibi bitki hormonlarını içeren primer metabolitleri bulundurmaktadır [28].

Terpenler aromatik uçucu yağlar, turpentinler ve reçineler gibi terpenoid karışımlar ticari olarak yararlı ürün yelpazesinin temelini oluşturmaktadır. Terpenlerin büyük çoğunluğu bitkinin büyüme ve gelişimi için gerekli olmayan sekonder metabolit olarak sınıflandırılır, fakat koruma veya iletişim de ekolojik bir işleve sahip olduğu tahmin edilmektedir [28].

2.2.2. Fenolik bileşikler

Fenolikler bitkiler aleminin genelinde bulunur. Bugüne kadar yaklaşık 10000 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir [27]. Fenolik sekonder metabolitler, kumarin ve lignanları içeren basit fenilpropanoidleri, flavonoidleri ve taninler gibi yüksek molekül ağırlığına sahip polifenollerini içermektedir [29].

Fenolik türevi birçok bileşiklerin çeşitli şekilde karıştırılması ile fenolik yapı bloğu oluşmaktadır. Bu bileşikler yapısı gereği güneşten gelen ultraviyole ışınları emme yeteneğine sahiptir. Böylece bitkiyi genetik hasardan korumaktadır [30]. Fenolik sekonder metabolitlerin birçoğu patojen etkileşimi, abiyotik strese karşı koruyucu ve lignin gibi yapısal bileşenlerin oluşumunda da görev almaktadır [29]. Lignin olarak bilinen fenolik polimer, oduna gücünü verir aynı zamanda mikrobiyal saldırılara karşı direnç oluşturmaktadır [30].

Flavonoidler gibi fenolik bileşikler bitkiler aleminde çok sık görülmektedir ve yaklaşık 3000 flavonoid madde ile tanımlanmıştır. Flavonoidler anti-inflamatuar, anti-alerjik, anti-viral, anti-aging ve anti-kanserojen aktivite göstermektedir. Antosiyanin pigmenti içeren flavonoidler, çiçek ve meyvelerde tozlaşma ve yayılmayı sağlayan hayvanlara etki etmektedir. Flavonoid pigmentlerin varlığı birçok çiçek ve meyvelere turuncu, pembe ve kırmızı renkleri vermektedir. Üzüm ve kırmızı şaraptaki antosiyanin, soğan ve sarımsakta bulunan ve bir flavonoid olan kuersetin antioksidan ve anti-histamin etki için bir besin olarak kullanılmaktadır [30].

Flavonoidler, fosfatidil inozitol (PIP) yoluyla inflamasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerin aktivitelerini, hormonların fizyolojik etkileri dışında zararlı etkiler oluşturmalarını ve hücrelerde mikrozomal lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını önleyebildikleri saptanmıştır. Flavonoidlerin gerektiğinde PIP'i baskılamak suretiyle hücresel proliferasyonu kontrol altına alabildikleri ve kalpte uyarı ileti sisteminin düzenlenmesine olumlu etkileri görülmektedir [20].

2.2.3. Alkaloitler

Alkaloitler azot ihtiva eden düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Bitki türlerinin yaklaşık %20'sinde bulunan yapılardır. En biyoaktif metabolitlerdir ve yaklaşık olarak 12000 bileşenden oluşmaktadır [27, 29]. Bitkinin en fazla yaprak, kök, rizom, kabuk ve tohumunda alkaloit bulunmaktadır [31].

Alkalolitlerin tümü yüksek dozda toksiktir. Bazı alkaloitler ise sinir sistemini etkileyerek psikoaktif etki oluşturmaktadır. Kafein, çay ve kahvedeki etken madde, çikolatadaki teobromin ve tütündeki nikotin düşük dozlarda insanın sinir sistemini uyarmaktadır. Kinin gibi alkaloitler tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Kininler kan yoluyla taşınan mikroorganizmanın neden olduğu sıtmanın kontrol edilmesine yardımcı olmaktadır [25].

Alkaloitler, özellikle ilaç olarak kullanılan bitkilerin en önemli sekonder metabolitlerinden birisidir. Alkaloitler kan yoluyla hücre ve dokulara temas ederek hücre zarı ve enzimler üzerinden etkisini göstermektedir [31].

2.3. *Lamiaceae* (*Labiatae*) Familyasının Genel Özellikleri

Lamiaceae familyası Kuzey Yarımküre'de ve özellikle Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren bir veya çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır [19]. Bu familyada 200 cins ve 3300 tür bitki yer alır [32].

Türkiye *Lamiaceae* familyasının önemli bir gen merkezi konumunda olup, bu familyaya ait 45 cins, 546 tür ve 731 takson bulunmaktadır. Ülkemizdeki endemizm oranı %44,2 olan bu familya, Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası konumundadır [33, 34].

Lamiaceae familyası kimyasal içerik yönünden oldukça zengindir. Familya üyeleri bu özellikleri ve güzel görünüşleri sayesinde baharat ve süs bitkisi olarak kullanılmaktadır [15]. Uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayinde önemlidir [35]. Uçucu yağın ana bileşenlerinin timol ve karvakrol olması, bitkiye kendi kokusunu veren ve antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir [36]. Karvakrol'un çeşitli farmakolojik etkilere sahip bir bileşik olduğu bilinmektedir. Bu etkiler anti-viral, analjezik, anti-enflamatuvar, ekspektoran, anti-astmatik, tonik, anti-helmentik olarak sıralanabilir [37].

Lamiaceae familyasına ait cinsler, terpen (mono, di, triterpenler), flavonoid, iridoid ve tanen içerikleri nedeniyle önemli fizyolojik aktivitelere sahip bitkilerle temsil edilmektedir [38].

2.4. *Phlomis* Cinsi Hakkında Genel Bilgiler

Phlomis (*Lamiaceae*) cinsi dünyada yaklaşık 100 türle temsil edilmektedir [39, 40]. Çoğunlukla Orta Asya, İran, Türkiye ve Akdeniz'de yayılış göstermektedir [41]. *Phlomis* L. (*Lamiaceae*) cinsi Türkiye'de yaygın bulunan bir türdür. Türkiye Florasında 34 türle temsil edilmektedir ve bunların 21'i endemiktir [42, 43]. *Phlomis* türlerinin bazıları Türkiye'de uyarıcı ve tonik olarak kullanılır [41, 44] ve bölgesel olarak "Çalba" ve "Şalba" olarak bilinir [41, 42].

Phlomis cinsi üyelerinden *P. aurea* Mısır'da antidiabetik olarak kullanılmıştır. *P. spinidens* alerji tedavisinde kullanılmaktadır. *P. rotata* Çin'de geleneksel olarak kan akışını hızlandırıcı, anti-inflamator ve ağrı dindirici özelliği ile bilinmektedir. *P. fruticosa*'nın yaprakları demlenerek kuvvetlendirici ve güçlendirici içecek olarak tüketilmektedir. Ayrıca bu bitki İtalya'da yaraların üzerine iyileştirici lapa olarak geleneksel tedavi amacıyla kullanılmaktadır [15].

Phlomis cinsine ait bitkilerin iridoid, flavonoid, fenilpropanoid, feniletanoid, monoterpen, lignan, neolignan, diterpenoid ve alkaloidlerden oluşan glikozitlerin farklı sınıflarını içerdiği görülmüştür. İridoid glikoziti bu cinste bulunan bir maddedir [40].

Phlomis cinsinin flavonoid özelliklerine bakılan çalışmalarda cins üyeleri arasında flavonların flavonollere göre daha yaygın olduğu görülmüştür [41]. Fenolik asit ile ilgili olarak, *Verbascoside* (*Acteoside*) ve forsithozit B dahil olmak üzere kafeik asit türevleri geniş yelpazede birçok türde tespit edilmiştir [40].

Phlomis cinsi üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, temel bileşenlerinin feniletanoid glikozitler, iridoid glikozitler ve flavonoidler olduğunu göstermiştir. *Phlomis* türlerinden izole edilen feniletanoid glikozitlerin çoğu sitotoksik, sitostatik ve antioksidan gibi önemli biyolojik aktivite sergilemektedir [45].

Phlomis türleri bitkisel ilaç olarak Dioscorides Pedanius (Yunanlı hekim ve farmakoloji bilgini) tarafından tanımlanmıştır. Yaraların lokal tedavisinde veya solunum yolu hastalıklarında bitkisel ilaç olarak etnofarmakolojide *Phlomis* türleri kullanılmaktadır [39]. *Phlomis* türleri bir dizi ülser ve hemaroid tedavisinde ve antidiyareik, analjezik, tonik, uyarıcı olarak halk hekimliğinde kullanılmaktadır [39, 40, 45].

Phlomis'in farmakolojik ve biyolojik etkileri hakkında az sayıda veri bulunmaktadır. Bazı çalışmalar anti-enflamatuvar, bağışıklık-baskılayıcı, anti-mutajenik, ağrı kesici, ateş düşürücü, serbest radikal, anti-sıtma ve anti-mikrobiyal gibi çeşitli etkinlikler göstermiştir [39, 40]. Özellikle *Phlomis* türlerinden izole edilen bazı fenil-propanoid ve iridoid glikozitinin anti-enflamatuvar ve ağrı kesici etkisi bilinmektedir [46, 47].

2.5. *Phlomis nissolii* L.

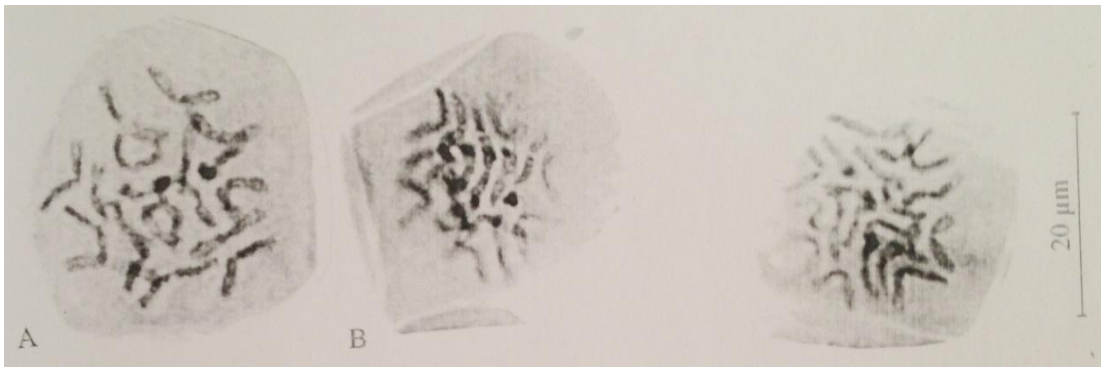


Resim 2.1. *Phlomis nissolii* L. (Foto: Öğr. Gör. Bilal ŞAHİN)

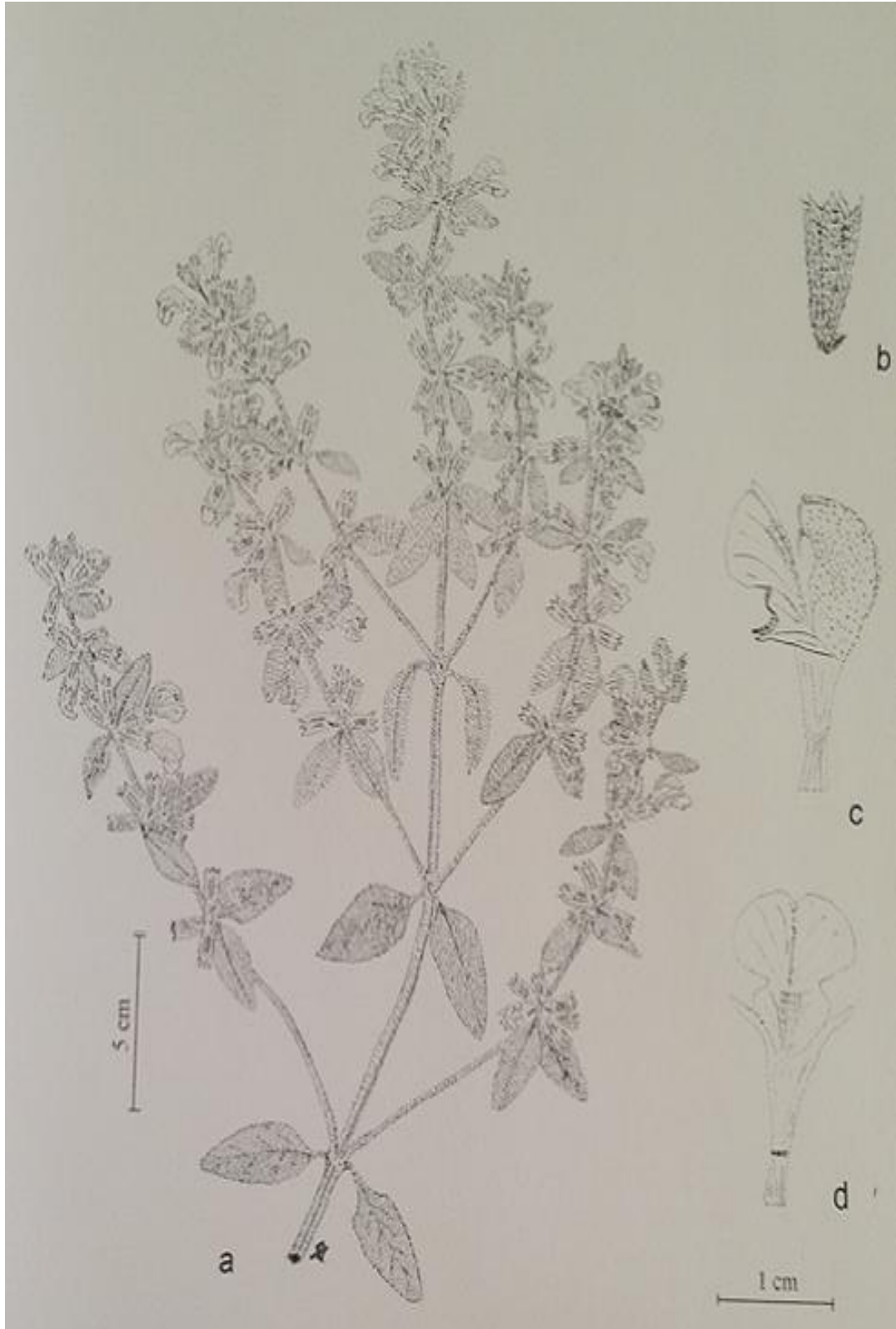
Phlomis L. cinsinin sistematikteki yeri şu şekildedir [15].

Alem	: <i>Plantae</i>
Şube	: <i>Magnoliophyta</i> (Kapalı Tohumlular)
Sınıf	: <i>Magnolipsida</i> (Dikotiledon)
Takım	: <i>Asterales</i>
Familya	: <i>Lamiaceae</i>
Cins	: <i>Phlomis</i>
Tür	: <i>Phlomis nissolii</i> L.

P. nissolii çok yıllık, salgı tüysüz otsu bitkidir. Gövde dallıdır ve 130 cm uzunluğuna ulaşmaktadır. Step, kireçli veya taşlık alanlar, *Pinus* sp. ve *Juniperus* sp. orman açıklıkları ve yol kenarları yetiştirme ortamlarıdır. Yetiştirme yükseltisi 0-1600m'dir. Çiçeklenme zamanı Haziran-Ağustos aylarındadır. Türü tehlike altında olmayıp yaygın bulunan bir türdür ve endemik değildir. Yayılışı Türkiye, Lübnan ve Suriye'dir [35]. Türkiye'deki yayılışı Ege Bölgesi (O. Kızılırmak ve Konya Bölümü), Akdeniz Bölgesi (O. Fırat Bölümü)'dir ve Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Akdeniz elementidir. Türkçe adı Öbek Çalba'dır [41]. *P. nissolii*'nin kromozom sayısı $2n:20$ 'dir ve Şekil 2.1'de gösterilmiştir [35].



Şekil 2.1. *P. nissolii*'nin kromozom fotoğrafı [35].

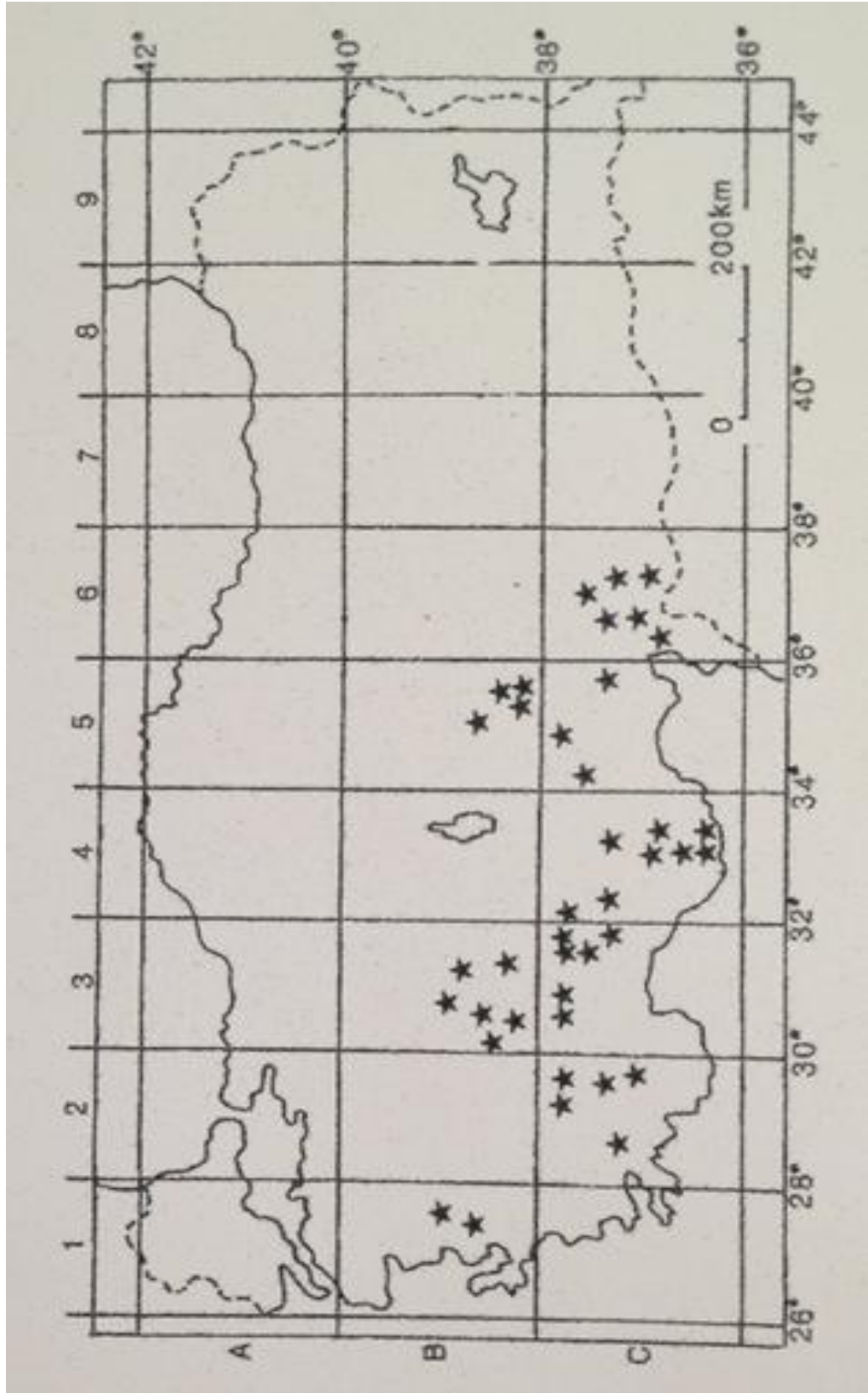


Şekil 2.2. *P. nissolii*'nin habitus şekli ve çiçek yapısı [35].

a)Habitus b)Kaliks c)Korolla yandan görünüm d)Korolla alt dudağı



Şekil 2.3. *P. nissolii*'nin taban yaprak şekli [35].



Şekil 2.4. *P. nissolii*'nin ülkemizdeki yayılış alanı [35].

2.6. Bitkilerin Biyolojik Aktivitesi

2.6.1. Antioksidan aktivite

Moleküllerin çoğu çift elektronlu, az sayıdaki molekül ise tek elektronludur. Tek yani eşleşmemiş elektronu olan bu moleküller, bulabilecekleri herhangi bir molekül ile etkileşime girerek bu molekülden elektron alır ya da ona bir elektron verir. Başka moleküller ile kolay bir şekilde elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere "serbest radikaller", "oksidan moleküller" ya da "reaktif oksijen türleri" denir [48].

Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için, reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur [49]. Biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller toksik etkilere neden olur ve vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir [49, 50]. Çevresel faktörler (örneğin iyonlaştırıcı radyasyon), vücuda alınan çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku travmaları ve diğer patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olur [49].

Vücudumuzda oluşabilen radikallerin sayısı yüzlerce farklı tür olmasına rağmen, bu radikaller arasında süperoksit, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve hidroksil radikali en önemlilerini oluşturmaktadır [49].

Organizmada aşırı miktarda üretilen oksidan maddeler nükleik asit, lipidler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlarla etkileşerek hücre hasarı ve ölümüne sebep olmaktadır [51, 52]. Oksidasyon süreci tüm organizmalar için çok önemlidir. Antioksidan korumanın dengesiz mekanizması ve serbest radikallerde oksijenin kontrolsüz üretimi kanser, diyabet ve kronik kalp hastalıkları ile sonuçlanmaktadır [53].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bunlar ‘antioksidan savunma sistemleri’ ya da kısaca ‘antioksidanlar’ olarak bilinirler. Bu moleküller, serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu vererek, bu radikalleri kendilerine bağlayarak ya da onları daha zayıf bir moleküle çevirerek radikal hasarını önlerler [54].

Oksidatif stresin olumsuz etkilerine karşı kullanılan antioksidan maddeler, doğal antioksidanlar ve ilaçlar olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır. Doğal antioksidanlar organizmadaki bazı enzimler, mikro ve makro moleküllerden oluşur. Çeşitli reaksiyonlarda görevli süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, hidroperoksidaz, sitokrom C oksidaz gibi enzimler antioksidan özelliktedir. Bunun dışında serulaplazmin, transferrin, ferritin, hemoglobin, myoglobin gibi protein yapısındaki makromoleküller ve E vitamini, C vitamini ve tiol içeren bileşikler, glikoz, bilirubin gibi mikromoleküller antioksidan özelliğe sahiptir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucu pineal bezden salınan melatonin hormonunun kuvvetli bir antioksidan olduğu gözlenmiştir [55].

Bitki özlerinin antioksidan aktivitesi onların polifenolik içeriklerinden nitelik kazanmıştır. Bu nedenle polifenoliklerin yüksek düzeylerini içeren bitkiler doğal antioksidan olarak büyük önem taşımaktadır [53].

Yirmi birinci yüzyıla girerken reaktif oksijen biyokimyası bir disiplin olarak olgunlaşmış ve biyomedikal bilimler arasındaki önemi anlaşılmıştır. Günümüzde hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca günümüzde, ROS’nin homeostazı devam ettirmeye yardımcı normal ve sağlıklı dokuların hücrelerinde kontrollü bir şekilde olduğu kabul görmeye başlamıştır [56].

Gıda sanayinde yağların ve yağ içeren diğer ürünlerin korunması ve raf ömrünün uzatılması için genellikle bütillendirilmişhidroksitoluen (BHT) ve bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA) kullanılmaktadır. Ancak yapılan araştırmalar bu bileşiklerin toksiditesinden bahsederek, onların karsinojenik olma riskini ortaya koymaktadır. Bu sebeple, tüketiciler doğal tarımsal ürünlere yönelmiş ve işlenmiş gıdalarda da sağlık, kalite ve güvenlik arayışlarını ön plana çıkarmıştır [57].

Doğal biyoaktif bileşiklerle ilgilenen özellikle farmasötik ve gıda endüstrilerinden gelen talep üzerine, doğal bileşiklerin antioksidan aktiviteleri araştırmacılar tarafından yoğun şekilde çalışılmaktadır [57].

Geniş bir çeşitlilik ve dağılım gösteren bitkisel kaynaklar hem vücutta, hem de işlenmiş gıdalarda meydana gelen oksidatif hasara karşı koruma sağlayabilecek daha güvenilir ve daha sağlıklı antioksidanlar sunabilir. Bu yüzden de araştırmacılar doğal kaynaklardan elde edilebilen yüksek antioksidan aktiviteli özütleri sentetik antioksidanların yerine kullanmayı hedeflemektedirler [57].

2.6.2. Antimikrobiyal aktivite

Sentetik katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki istenmeyen etkilerinden dolayı bitkilerin çeşitli özütleri ve esansiyel yağları üzerine yapılan araştırmalarda ciddi bir artış olmuştur [58]. Bitkisel yağlar ve özütler, yıllardır çok çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Ham ve işlenmiş gıda koruma, ilaç, alternatif tıp ve doğal terapiler dahil olmak üzere birçok uygulamanın temelini oluşturmaktadır [59, 60].

Antimikrobiyal maddeler, çok az yoğunlukta dahi mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli, ikincil metabolitlerdir. Bunlar, mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici “bakteriostatik” veya “fungustatik” olabildikleri gibi; mikroorganizmanın ölümüne sebep olan “bakterisit” ve “fungisit” gibi maddeler de olabilirler [61].

Dünya'nın farklı bölgelerinde tıbbi bitkilerin antimikrobiyal özellikleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Sonuçlar yüksek yapılı bitkilerin yeni antimikrobiyal ajanlar için potansiyel bir kaynak olduğunu göstermektedir. Bitkilerdeki antimikrobiyal bileşikler böylece bakteriyel büyümeyi engellemektedir [60].

Toprağa, suya, havaya ve canlılara olumsuz etkisi olmayan zararsız doğal bitki özütlerinden elde edilen maddeleri kullanarak patojen fungusa karşı etkili olan bitki türleri ve bu türlerin içerdikleri etken maddelerin tespit edilmesi, dünyada tüm ülkelerin yoğun bir şekilde üzerinde çalıştığı biyolojik mücadele yöntemlerinden birisidir [6].

Antibiyotiklerin dünyadaki yaygın kullanımı, enfeksiyon hastalıklarının tedavisindeki en önemli sorun olan antibiyotiklere dirençli mikroorganizma enfeksiyonlarını ortaya çıkarmaktadır. Son on yılda eski antibakteriyel ve antifungal ilaçlara karşı, birçok ikili antibiyotik dirençli mikroorganizma, klinik olarak izole edilerek antibiyotiklerin mücadelesinin kolay olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle sürekli olarak etki alanı geniş ve güçlü antibiyotiklerin üretimi, yeni mikroorganizma tiplerinin araştırılması önem kazanmıştır [62].

Farmasötik endüstrisi son 30 yılda birçok yeni antibiyotik üretilmesine rağmen mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direnci artmıştır. Terapötik ajan haline getirilmiş bakterilerin ilaçlara karşı direnç elde etme özellikleri vardır. Bu nedenle antibiyotik kullanımını kontrol etmek için sentetik veya doğal yeni ilaçların geliştirilmesinde direncin genetik mekanizmasının iyi anlaşılması gerekmektedir. Hedef hastalığa uygun ve etkili antimikrobiyal ilaçlar geliştirilmelidir [63].

2.6.3. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

Bakteriler:

Bacillus cereus

B. cereus bakterisi aerop, gram pozitif, kapsülsüz ve hareketli bir bakteri olup sporları toprakta ve suda yaygın olarak bulunmaktadır. *B. cereus* geniş spektrumlu laktamaz üretir. Bu nedenle penisilin, ampisilin, trimetoprim ve sefalosporinlere dirençlidir [64]. *B. cereus* iki farklı toksin oluşturur. Bunlardan biri enterotoksindir ve diyare ile sonuçlanmaktadır. Diğeri ise emetik toksindir ve kusma ile sonuçlanmaktadır [65, 66].

Bacillus subtilis

B. subtilis bakterisi aerop, gram pozitif, hareketli, sporları oval ve subterminal olup, kapsülsüzdür. Ön zenginleştirme yapılmayan besiyerinde üreyebilme özelliğine sahiptir. Toprak kökenli bir bakteridir. *B. subtilis*, insanlarda düşük derecede patojeniteye sahip olup, “subtilisin” adı verilen proteolitik enzim üretmektedir. Subtilisin, düşük toksijenik özelliğe sahip olmakla beraber sürekli maruz kalındığında, alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir [67]. Bunun dışında besin zehirlenmesi, doku veya göz içerisinde girerek göz yangıları, sepsis gibi hastalıklara yol açabilir [68].

Enterococcus faecalis

E. faecalis üst solunum yolunda ve ince bağırsakta az miktarda, kalın bağırsakta çok miktarda bulunmaktadır [66]. Normal yaşam ortamları insan ve hayvanların bağırsakları olan enterokoklar besinlerde de (peynir, salam, sosis) bulunmaktadır. Fırsatçı patojen olarak patojeniteleri sınırlıdır. Hastane enfeksiyonlarında karışık flora kapsamında etken olarak sıklıkla izole edilir. En korkutucu enterokok enfeksiyonu endokardittir [69]. Enterokok enfeksiyonları için antibiyotik tedavisi,

klirik olarak uygun konsantrasyonda bakteri olmadığı için karmaşıktır. Henüz bu organizmalara karşı bakterisidal etkisi olan antibiyotik kombinasyonları kanıtlanamamıştır [66].

Escherichia coli

E. coli gram negatif düzgün omak  eklinededir [69]. Doğal yaşam ortamı insan ve hayvan bağırsaklarıdır [66, 69]. Bu nedenle *E.coli* su ve besinlerdeki fekal kirlenmenin g ostergesidir. İnsanlarda bakteri enfeksiyonlarının en sık rastlanan etkenidir. Ayrıca kolesistit, apandisit, peritonit, ameliyat sonrası yara enfeksiyonları ve sepsisemiler de en önemli *E. coli* enfeksiyonları arasında yer almaktadır [69]. Neonatal menenjit ve gastroenterit dışında birçok enfeksiyonu endojendir. Bireylerin normal mikrobiyal florasına, konak savunmanın tehlikeye d  mesi ile enfeksiyon yerle mektedir [66].

Staphylococcus aureus

S. aureus bakterisi k   k, yuvarlak, oval  ekliili, gram pozitif koklardır. *S. aureus*’ un birincil yerleşim yeri deri ve mukozalardır [69, 70]. Toksin  retimi, dokunun doğrudan imhası ve işgali hastalığa neden olmaktadır. Bazı stafilokok hastalıkların klinik belirtileri, özellikle toksin faaliyetleri nedeniyle doku yıkımı ve organizmaların çoğalması ile abse oluşumu da dahil çeşitli hastalıklara yol açmaktadır [66]. *S. aureus* toksik  ok sendromu, solunum sistemi enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit, besin zehirlenmesi, pnömoni, sepsisemi gibi hastalıklara yol açmaktadır [66, 69, 70].

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa gram negatif omak  ekliili bir bakteridir. Doğada yaygın olarak bulunurlar. Toprakta, yüzey sularında, okyanuslarda, bitkilerde ve az sayıda insan ve hayvanların bağırsaklarında bulunurlar. Bağışıklık sistem bozuklukları olan kişilerde enfeksiyonlara neden olur. En önemli enfeksiyonları pnömoni, yanık yara

enfeksiyonları, ameliyat sonrası yara enfeksiyonları, kronik piyelonefrit, endokardit, sepsisemi, malign dış kulak iltihabıdır [69].

Mayalar:

Candida albicans

Candida cinsi 4-6 µm çapında, tek hücreli, tomurcuklanarak çoğalan, gerçek veya yalancı hifler oluşturabilen maya morfolojisinde mantarlar olup, yaklaşık 200 civarında tür ile temsil edilmektedir [71]. *Candida* enfeksiyonlarının %75'inden *C. albicans* sorumludur [72]. *Candida* türleri doğada yaygın olarak bulunur. Memelilerde, başta gastrointestinal sistem olmak üzere tüm mukokutanöz yüzeylerde normal flora olarak *Candida* türleri bulunmaktadır [71, 73]. *C. albicans* enfeksiyonu (kandidiyazis) sağlıklı bireylerde çok sık görülmez. Kandidiyazis yüzeysel (örneğin oral ve vajinal pamukçuk ve kronik mukokutanöz kandidiyazis) ve derin (örneğin miyokardit ve sepsisemi) olarak ayrılmakta ve klinik sorun teşkil etmektedir [72, 73].

Candida tropicalis

Candida tropicalis, kandideminin %4-24'ünden sorumlu diploit ascomycetes mantarlarıdır. Dünya çapında sağlıklı insanların sindirim yollarında ve ciltte bulunmaktadır [74]. *C. tropicalis* akut lösemi ve kemik iliği nakli olanlarda, invaziv kandidiyazisin en sık nedeni olarak gözlenmektedir [75].

Candida krusei

Candida krusei, diğer *Candida* 'ların aksine oval formda ve uzun pirinç tanesi şeklinde hücrelerdir. Atmosfer, meyve, kanalizasyon, toprak, gıda, şarap ve bira gibi doğal yaşam ortamı çok çeşitlilik göstermektedir. Genel olarak *C. krusei* çeşitli hasta gruplarının ve sağlıklı bireylerin mukozal yüzeylerinden izole edilmiştir. *C. krusei*'nin sık gözlenen klinik bulgusu tehlikeli hastalıklarda özellikle lösemi hastalarında fungemianın oluşmasıdır [76].

2.6.4. DNA'ya bağlanma ve kesme aktivitesi

Sağlık bilimlerindeki yenilikler, yaşam kalitesini geliştirmek ve hastalık tedavisinde çarpıcı değişikliklerle sonuçlanmıştır. İlaç harcamaları 1990'ların sonlarından bu yana sağlık sisteminin diğer önemli bileşenlerinden daha hızlı büyümüştür. Sonuç olarak artan sağlık maliyetleri ve yeni tıbbi teknolojilerin geliştirilmesi, hem sağlık sektöründe önemli bir katılımcı hem de sağlık teknolojilerinin gelişmesinde önemli bir kaynak olarak ilaç endüstrisi üzerinde odaklanılmıştır [77].

Bitkisel ürünler genellikle meme kanseri (%12), karaciğer hastalıkları (%21), HIV (%22), astım (%24) ve romatolojik bozuklukları (%26) da içeren kronik tıbbi durumları olan hastalar tarafından kullanılmaktadır. Sentetik ilaç üretimindeki kalite ve standartlarda, bitkisel ilaç üreten firmaların sayısı da giderek artmaktadır [38].

Bitkisel ilaçlarla tedavi, tıpkı bir takım kimyasal ilaçlarda olduğu gibidir. Yani hangi dozda alındığı ve doğru kullanımı önemlidir. Bunun için şifalı bitkinin tüketim miktarı doğru olarak araştırılmalıdır. Bitkisel ilaçlar yüksek hassasiyete, zehirlenmeye veya bazı diğer yan etkilere neden olabilir. WHO tarafından şifalı bitkilerle tedavinin 5000'in üzerinde yan etki oluşturduğuna dair rapor mevcuttur [38].

Deoksiribonükleik asit (DNA) hücre işlevi için gerekli olan tüm genetik bilgiyi içerdiğinden yaşam sürecinde merkezi bir role sahiptir. Bununla birlikte DNA molekülü çeşitli şartlar altında özellikle bazı moleküllerin etkileşimi ile hasara eğilimlidir ve canlı organizmalarda çeşitli patolojik değişimlere yol açmaktadır [78].

Genler, transkripsiyon ve translasyon ile hücrenin tüm biyokimyasal reaksiyonlarını düzenlemektedir. DNA replikasyonu ve gen ifadesi hücrenin hayatta kalabilmesinden sorumludur [10]. Çoğu antitümör ilacı da hedef hücresindeki DNA'ya zarar vererek işlev yapar yani doğrudan DNA'ya bağlanır ve DNA hasarına neden olur. Bu şekilde replikasyonu ve DNA sentezini inhibe edebilir [79].

Araştırmacılar ilaç-DNA etkileşimlerini çözmek için, anti-kanser ve antibiyotik ilaçlar için hedef olan DNA replikasyon orijini ve transkripsiyon çalışmaktadır. İlaç bağlanması DNA’da çift veya tek iplik sonlarında meydana gelen kırılmaların neden olduğu yapısal ve işlevsel değişikliklere, bunun sonucunda transkripsiyon ve replikasyon sırasında DNA’nın zarar görmesine neden olmaktadır. Bu sorunu engellemek için ilaçlar DNA odaklı tasarlanmalıdır [10].

Yeni ve daha etkili ilaçların rasyonel tasarımı ve yapısı için DNA’ya küçük moleküllerin bağlanmasının keşfinde, özgün DNA dizilerine bağlanan ve proteinleri tanıyan DNA hedeflenmiştir. Küçük moleküllerin DNA’ya bağlanması ile ilgili üç etkileşim vardır. 1. Elektrostatik etkileşimde moleküller DNA zincirinin fosfat grupları tarafından tutulur. 2. İnterkalasyon bağlanmada moleküller DNA’nın çift sarmal yapısında baz çiftleri arasına girmektedir. 3. Oluk bağlamada moleküller çift sarmal DNA’nın küçük ve büyük oluklarına hareket etmektedir [78].

3. MATERİYAL METOT

3.1. Materyaller

3.1.1. Bitkisel materyal

Çalışmada kullanılan BŞ5359 kodlu *Phlomis nissolii* L. türü Öğr. Gör. Bilal Şahin tarafından 28.06.2011 tarihinde, Malatya, Darende, Yeniköy-Horhor Köyleri arasında, 1800-2000m yükseklikte kayalık bozkırlardan toplanmıştır.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Araştırmada *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus fecalis* (ATCC 29212) ve *Pseudomonas aureginosa* (ATCC 27853) olmak üzere 7 adet patojen mikroorganizma ve *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) ve *Candida krusei* (34135) olmak üzere 3 maya kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler

Nutrient agar (Merck), Nutrient broth (Merck), Saboroud dekstrozu agar (Merck), Sodyum klorür (Merck), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma), Galik asit (Sigma), Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Sigma), Folin reaktifi (Merck), Etanol (Merck), Metanol (Merck), Distile su, Sodyum karbonat (Na₂CO₃) (Merck), Agaroz (Sigma), Tris Asetat EDTA (TAE) (Sigma), Brom fenol blue (Merck), Etidyum bromür (Merck).

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Evaporotör, blender, otoklav, etüv, spektrofotometre, hassas terazi, terazi, mikrodalga fırın, manyetik karıştırıcı, yatay elektroforez, güç kaynağı, derin dondurucu, eliza cihazı, ısıtmalı karıştırıcı, vortex, mikrosantrifüj, pipetler, pipet uçları, petri kapları, şırınga filtreleri, şırıngalar, ependorf, balon joje, beher, cam şişe, öze, drigalsky öze, steril cerrahi eldiven, buzdolabı (+4).

3.2. Metotlar

3.2.1. Bitki özütlerinin hazırlanması

Araştırmada kullanılan *Phlomis nissolii* bitkisi serin ve rutubetsiz bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkisel materyal blender yardımıyla toz hale getirilmiştir. Bitki numunesinin on katı kadar çözücü eklenmiştir. Alkol bir hafta, su bir gün karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kurutma kağıdı ile süzildükten sonra evaporotörde 45°C’de 70 mbar basınç aralığında çözücüsünden ayrılmış ve katı özüt elde edilmiştir. Özüt miktarının belirlenmesi ile % verim hesaplanmıştır.

3.2.2. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

Besiyerlerinin hazırlanması

Çalışmada bakterilerinin gelişmesi için Nutrient agar ve Nutrient broth kullanılmıştır. Nutrient agar’dan 28 gr alınıp 1000 mL saf su içinde karıştırarak çözülmesi sağlanmıştır. Besiyerleri hazırlandıktan sonra 121°C’de, 1.5 Atm basınçta, 15 dakika steril edilmiştir. Steril petri kaplarına yaklaşık 25 mL olacak şekilde dökülmüş, katılaştıktan sonra buzdolabında saklanmıştır. Nutrient broth 8 gr alınmış 1000 mL saf su içinde karıştırarak çözülmesi sağlanmıştır. Kapaklı tüplere 5 mL konularak steril edilmiş ve buzdolabında saklanmıştır.

Bitki özütlerinin konsantrasyonlarının hesaplanması

Antimikrobiyal aktivite tayininde özüt 25, 50 ve 100 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. 25 mg/mL'den 0,08 gr, 50 mg/mL'den 0,16 gr ve 100 mg/mL'den 0,32 gr tartılıp 3,2 mL %100 dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Özütler 0,22 µm milipor filtreden geçirilerek steril tüplere aktarılmıştır ve +4'te muhafaza edilmiştir. DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çalışmada kullanılan bakteriler ve mayalar stok kültürlerin aktifleştirilmesiyle elde edilmiştir. Aktifleştirmede bakteriler için Nutrient agar, mayalar için Saboroud dekstroza agar kullanılarak hazırlanan besiyerlerine ekilerek etüvde bakteriler 37°C'de 24 saat, mayalar 30°C'de 48 saat beklemeye bırakılmıştır. %0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltisi hazırlanarak, besiyerlerinde tek koloni düşen mikroorganizmalar öze yardımıyla çözeltilmeye alınmıştır. Mikroorganizma süspansiyonu 0,5'lik McFarland standardına göre ayarlanmıştır.

Agar kuyucuk yönteminde 0,5 McFarland standardına göre ayarlanan mikroorganizma süspansiyonlarından 100 µL alınarak besiyerine drigalski özesiyle petrilere yayılmıştır. 6 mm çapındaki delgeç ile besiyerlerinin belirli noktalarında kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklara farklı konsantrasyondaki bitki ekstraktlarından konulmuştur. İki saat buzdolabında bekletilerek bakteriler 37°C'lik etüve, mayalar 30°C'lik etüve konulmuş ve inkübasyondan sonra oluşan zonların çapları mm olarak ölçülmüştür. Bu çalışma her bir özüt için üç kere tekrarlanmış, elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Negatif kontrol olarak bitki özütlerini çözdiğimiz DMSO kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite için antibiyotik disklerden kloramfenikol ve ampisilin kullanılmıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemi

Katı besiyerinden %0,9 NaCl'ye öze yardımıyla ekilen bakteriler 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Özütler 100 mg/mL konsantrasyondan başlayarak 8 konsantrasyon DMSO ile seyreltilmiştir. 96 kuyucuk içeren mikropalakların her bir kuyucuğuna 96 µL nutrient broth, seyrelttiğimiz özütlerden 100 µL ve son olarak 5 µL mikroorganizma eklenerek son hacim 200 µL olacak şekilde ayarlanmıştır. Pozitif kontrol olarak 195 µL besiyeri, 5 µL mikroorganizma konulmuştur.

Etüve konmadan önce plakların üstü kapatılarak 300 rpm'de 20 sn çalkalama yapılmış ve 600 nm'de okuma yapılmıştır. İnkübasyon sonucu etüvden alınan mikropalakların tekrar 600 nm'de okuması yapılmıştır ve etüv öncesi ve sonrası değerler kıyaslanmıştır. MİK değeri büyümenin olmadığı en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmıştır.

3.2.3. Bitki özütlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi

Bitki özütlerinin hazırlanması

Bitki özütleri 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve toplam fenolik içerik tayininde kullanılmak üzere 1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bitki özütleri antioksidan aktivite deneyleri için kendi çözücülerinde hazırlanmıştır.

DPPH yöntemi

Bitki özütlerinin serbest radikal süpürücü etkileri için %0,004 DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti 0,004 gr DPPH tartılıp 100 mL metanolde çözülerek hazırlanmıştır. Deneyde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan özütlerden 1 mL, %0,004'lük DPPH çözeltisinden de 1 mL alınarak karanlıkta 30 dk bekletilmiştir.

Örnekler UV spektrofotometrede 517 nm’de ölçülerek okunan absorbans değeri, kontrol olarak kullanılan örneğe (1 mL çözücü + 1 mL DPPH) karşı değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT) kullanılmıştır. DPPH’nin % inhibisyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

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

Toplam fenolik içerik miktar tayini

Çalışmada 1 mg/mL konsantrasyonda bitki özütleri ve gallik asit hazırlanmıştır. Deneyde 100 µL özüt üzerine 200 µL %50’lik Folin-Ciocalteau reaktifi ilave edilerek 3 dakika bekletilmiştir. Son olarak 1 mL %2’lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda örnekler UV spektrofotometrede 760 nm’de ölçüm yapılmıştır. Standart gallik asit grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak µg gallik asite eşdeğer mg özüt miktarı belirlenmiştir.

3.2.4. Bitki özütlerinde DNA etkileşiminin belirlenmesi

P. nissoli’nin metanol özütü DMSO’da çözülerek 100 mg/mL konsantrasyonda hazırlanarak pBR322 plazmid DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Metanol özütü 100 mg/mL’den başlayarak seri dilüsyonlar yapılmış ve pBR322 plazmid DNA ile 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. 24, 48, 72 ve 120 saat sonunda agaroz jel elektroforezi ile bantlar gözlenmiştir. Kontrol olarak metanol özütü ile etkileşime sokulmamış pBR322 plazmid DNA kullanılmıştır ve ilk kuyucuğa konularak karşılaştırma yapılmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Özütlerin % Verimleri

Bitki ve çözücü karışımının evaporatörde uçurulması ile elde edilen özütün yüzde verimleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Çizelge 4.1’e bakıldığında % verim etanol için %5,02 metanol için %9 su için %19,9 olarak bulunmuştur. En yüksek verimin su özütüne ait olduğu görülmektedir.

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

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan *P. nissolii* türünün özüt verimliliği

Özütler	% Verim (g/g)
Etanol	%5,02
Metanol	%9
Su	%19,9

4.2. Özütlerin Antimikrobiyal Etkileri

4.2.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

P. nissolii türünden elde edilen özütlerin 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL konsantrasyonlarda agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Negatif kontrol olarak %100’lük DMSO kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak bakteriler için ampisilin ve kloramfenikol, mayalar için ketokonazol kullanılmıştır. Etanol, metanol ve su özütlerine karşı mikroorganizmaların oluşturduğu zon çapları Çizelge 4.2.-4.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2'ye bakıldığında 25 mg/mL etanol özütünün *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları 10 ± 0 mm olarak hesaplanmıştır. 50mg/ml etanol özütünün *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları *B. cereus*'un $11,3\pm 0,57$ mm, *B. subtilis*'in $12,3\pm 0,57$ mm olarak hesaplanmıştır. 100 mg/ml etanol özütünün *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde etki görülmüştür ve zon çapları *B. cereus*'un 14 ± 0 mm, *B. subtilis*'in 15 ± 0 mm olarak hesaplanmıştır. Etanol özütünün mayalar üzerinde etkisi görülmemiştir. Etanol özütünün antimikrobiyal aktiviteleri Resim 4.1.-4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *P. nissolii*'nin etanol özütlerinin agar kuyucuk difüzyon (akd) yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları antimikrobiyal zon çapları (mm). Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)

Konsantrasyon Mikroorganizma	25 mg/mL	50 mg/mL	100 mg/mL	DMSO	Amp	C	Keto
<i>B. cereus</i>	10±0	11,3±0,57	14±0	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	10±0	12,3±0,57	15±0	-	23±1	21±0	-
<i>E. coli</i> 25922				-	18±0	25±0	-
<i>E. coli</i> 35218				-	-	8±0	-
<i>S. aureus</i>				-	44±1	24±1	-
<i>P. aeruginosa</i>				-	60±0	34±0	-
<i>E. faecalis</i>				-	27±0	20±0	-
<i>C. albicans</i>				-	-	-	11±1
<i>C. tropicalis</i>				-	-	-	18±1
<i>C. krusei</i>				-	-	-	33±0



Resim 4.1. *P. nissolii*'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.2. *P. nissolii*'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.3. *P. nissolii*'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.4. *P. nissolii*'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.5. *P. nissolii*'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.6. *P. nissolii*'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi

Çizelge 4.3'e bakıldığında 25 mg/mL metanol özütünün *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları *B. cereus*'un $11,3\pm0,57$ mm, *B. subtilis*'in 13 ± 0 mm, *P. aeruginosa*'nın 11 ± 0 mm olarak hesaplanmıştır. 50 mg/ml metanol özütünün *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları *B. cereus* ve *B. subtilis*'in 13 ± 0 mm, *P. aeruginosa*'nın $12,3\pm0,57$ mm olarak hesaplanmıştır. 100 mg/ml metanol özütünün *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde etkisi görülmüştür ve zon çapları *B. cereus*'un $13,3\pm0,57$ mm, *B. subtilis*'in $14,3\pm0,57$ mm, *P. aeruginosa*'nın 13 ± 0 mm olarak hesaplanmıştır. Metanol özütünün mayalar üzerinde etkisi görülmemiştir. Metanol özütünün antimikrobiyal aktiviteleri Resim 4.7.-4.14'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. *P. nissolii*'nin metanol özütlerinin agar kuyucuk difüzyon (akd) yöntemiyle patojen mikroorganizmalara karşı oluşturdukları antimikrobiyal zon çapları (mm). Bakteriler için pozitif kontrol: Ampisilin (Amp) ve Kloramfenikol (C); mayalar için pozitif kontrol: Ketokonazol (Keto). Negatif kontrol: DMSO (%100)

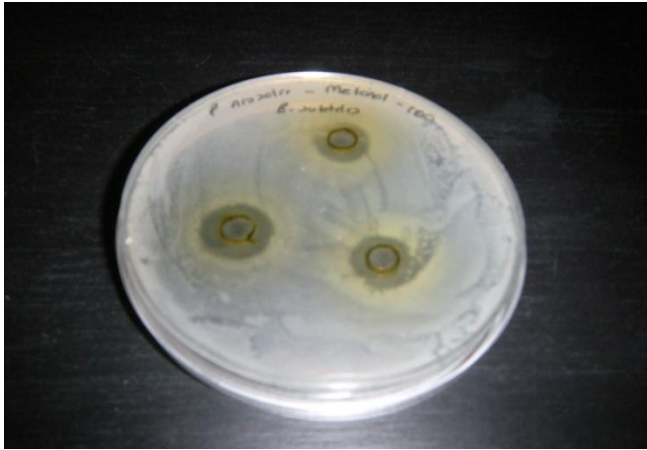
Konsantrasyon Mikroorganizma	25 mg/mL	50 mg/mL	100 mg/mL	DMSO	Amp	C	Keto
<i>B. cereus</i>	$11,3\pm0,57$	13 ± 0	$13,3\pm0,57$	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	13 ± 0	13 ± 0	$14,3\pm0,57$	-	23 ± 1	21 ± 0	-
<i>E. coli</i> 25922				-	18 ± 0	25 ± 0	-
<i>E. coli</i> 35218				-	-	8 ± 0	-
<i>S. aureus</i>				-	44 ± 1	24 ± 1	-
<i>P. aeruginosa</i>	11 ± 0	$12,3\pm0,57$	13 ± 0	-	60 ± 0	34 ± 0	-
<i>E. faecalis</i>				-	27 ± 0	20 ± 0	-
<i>C. albicans</i>				-	-	-	11 ± 1
<i>C. tropicalis</i>				-	-	-	18 ± 1
<i>C. krusei</i>				-	-	-	33 ± 0



Resim 4.7. *P. nissolii*'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.8. *P. nissolii*'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



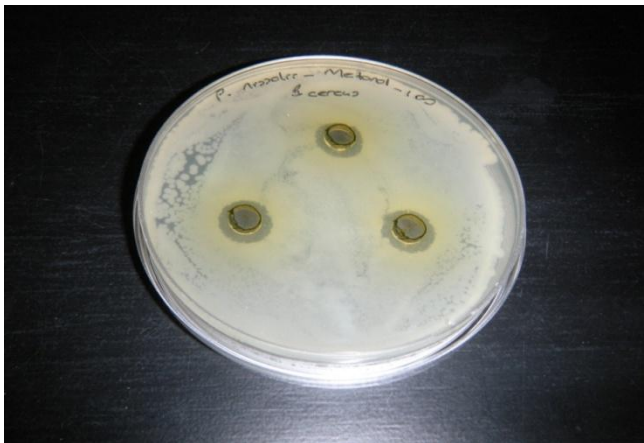
Resim 4.9. *P. nissolii*'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *B. subtilis* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.10. *P. nissolii*'nin 25 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.11. *P. nissolii*'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.12. *P. nissolii*'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.13. *P. nissolii*'nin 50 mg/mL konsantrasyondaki metanol özütünün *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi



Resim 4.14. *P. nissolii*'nin 100 mg/mL konsantrasyondaki etanol özütünün *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi

P. nissolii su özütünün hiçbir konsantrasyonu bakteri ve mayalar üzerinde etkili olmamıştır.

Sonuç olarak etanol ve metanol özütlerinin bakterilere karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinin konsantrasyona bağlı artış gösterdiği görülmüştür. *P. nissolii*'nin özütleri arasında en yüksek antimikrobiyal etkinin metanol özütüne ait olduğu görülmüştür. Etanol, metanol ve su özütleri kullanılan patojen mayalar üzerinde hiçbir etki göstermemiştir.

4.2.2. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) sonuçları

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonucuna göre özütlerin etki gösterdiği bakterilere MİK deneyi uygulanmıştır. Deney sonuçları Çizelge 4.5'de gösterilmiştir. *P. nissolii*'nin etanol ve metanol özütlerinde 100 mg/mL konsantrasyondan başlanarak seyreltme yapılmıştır. *P. nissolii*'nin etanol özütü için *B. cereus* ve *B. subtilis* için MİK değeri 12,5 mg/mL olarak belirlenmiştir. *P. nissolii*'nin metanol özütü için *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* için MİK değeri 12,5 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. *P. nissolii* etanol ve metanol özütlerinin MİK değerleri (mg/mL)

Özütlerin MİK değerleri Mikroorganizmalar	Etanol Özütü	Metanol Özütü
<i>B. cereus</i>	12,5	12,5
<i>B. subtilis</i>	12,5	12,5
<i>P. aeruginosa</i>		12,5

4.3. Antioksidan Sonuçları

4.3.1. DPPH sonuçları

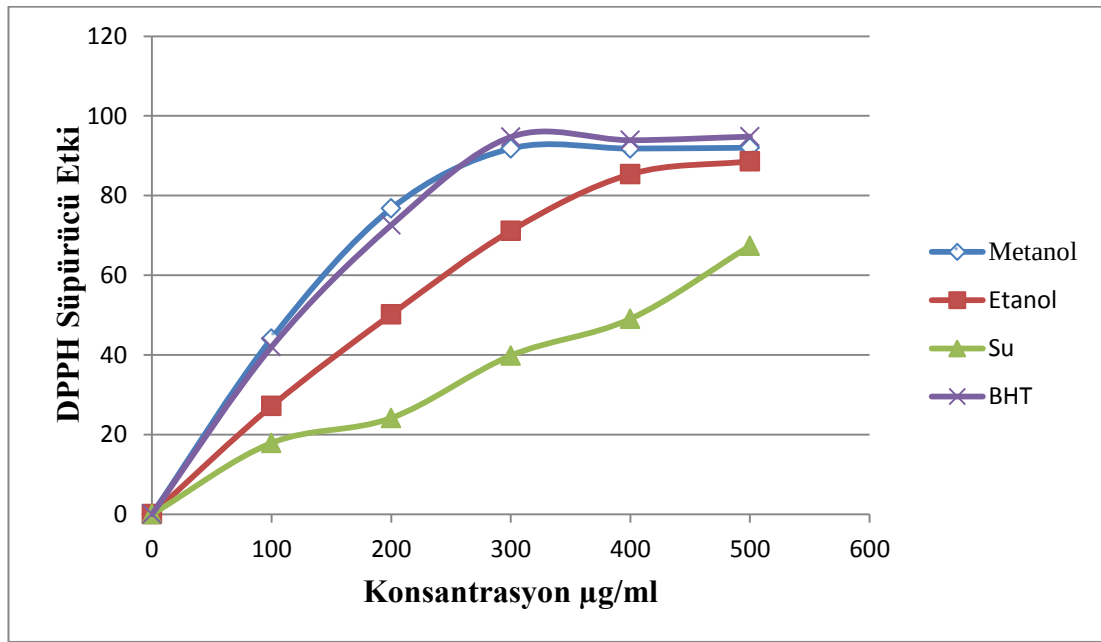
Ekstrelerin serbest radikal süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile çalışılmıştır. Çalışmada *P. nissolii*'nin etanol, metanol ve su özütlerinden 100-500 µg/mL aralığında konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Özütlerin ve BHT'nin 517 nm'de okunan absorbans değerleri, %İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$ formülü ile hesaplanan DPPH süpürücü etkileri Çizelge 4.6'da ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

P. nissolii'nin etanol özütünün radikal süpürücü etkileri 100 µg/mL'de %27,15±8,55, 200 µg/mL'de %50,15±1,90, 300 µg/mL'de %71,16±1,45, 400 µg/mL'de %85,36±1,01 ve 500 µg/mL'de %88,6±1,21 olarak bulunmuştur. *P. nissolii*'nin metanol özütünün radikal süpürücü etkileri 100 µg/mL'de %44,1±3,05, 200 µg/mL'de %76,73±2,55, 300 µg/mL'de %91,8±0,56, 400 µg/mL'de %91,8±1,30 ve 500 µg/mL'de %92±0,95 olarak bulunmuştur. *P. nissolii*'nin su özütünün radikal süpürücü etkileri 100 µg/mL'de %17,9±6,36, 200 µg/mL'de %24,16±0,37, 300 µg/mL'de %73,09±3,51, 400 µg/mL'de %49,06±2,83 ve 500 µg/mL'de %67,36±1,19 olarak bulunmuştur. Bütilendirilmiş Hidroksi Toluen(BHT)'nin radikal süpürücü etkisi 100 µg/mL'de %42,03±3,08, 200 µg/mL'de %72,56±2,74, 300 µg/mL'de %94,7±0,62, 400 µg/mL'de %93,9±0,43 ve 500 µg/mL'de %94,8±0,56 olarak bulunmuştur.

P. nissolii radikal süpürücü etkileri karşılaştırıldığı zaman en yüksek etkinin metanol özütünde gözlenmiştir. Pozitif kontrol olan BHT'den daha yüksek bir etki göstermemiştir, fakat etkilerin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5. *P. nissolii* özütlerinin DPPH Süpürücü Etki Değerleri (%)

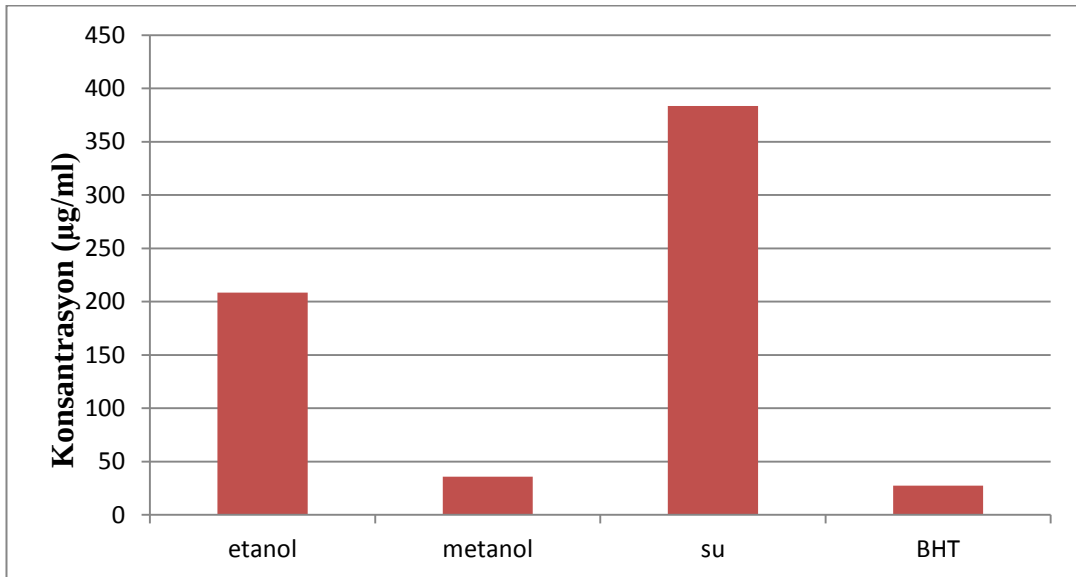
Konsantrasyon Ekstreler	100 µg/mL	200 µg/mL	300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL
Etanol	27,15±8,55	50,15±1,90	71,16±1,45	85,36±1,01	88,6±1,21
Metanol	44,1±3,05	76,73±2,55	91,8±0,56	91,8±1,30	92±0,95
Su	17,9±6,36	24,16±0,37	39,83±0,77	49,06±2,83	67,36±1,19
BHT	42,03±3,08	72,56±2,74	94,7±0,62	93,9±0,43	94,8±0,56

Şekil 4.1. *P. nissolii* özütlerinin DPPH süpürücü etki % inhibisyonu

IC₅₀ değeri özütün veya standardın serbest radikali süpürdüğü % inhibisyon değerinin yarısına karşılık gelen konsantrasyon değeri olarak belirlenmiştir. Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan etkiyi göstermektedir. Çizelge 4.7’de özütlerin IC₅₀ değerleri görülmektedir. Şekil 4.2’de özütlerin standarda göre IC₅₀ değerlerinin daha yüksek olduğu dolayısıyla DPPH süpürücü aktivitelerinin standarda göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Özütlerin ve standardın DPPH süpürücü aktivitesi en yüksekten en düşüğe sırasıyla şu şekildedir: BHT (IC₅₀: 27,5±0,2 µg/mL) > Metanol özütü (IC₅₀: 35,91±0,8 µg/mL) > Etanol özütü (IC₅₀: 208,41±1,01 µg/mL) > Su özütü (IC₅₀: 383,55±2,55 µg/mL).

Çizelge 4.6. *P. nissolii* özütlerinin IC₅₀ değerleri (µg/mL)

Özütler	Etanol	Metanol	Su	BHT
IC ₅₀ Değerleri	208,41±1,01	35,91±0,8	383,55±2,55	27,5±0,2



Şekil 4.2. Özütlerin ve standardın (BHT), DPPH süpürücü aktivitelerinin IC₅₀ değerleri

4.3.2. Toplam fenolik içerik tayini

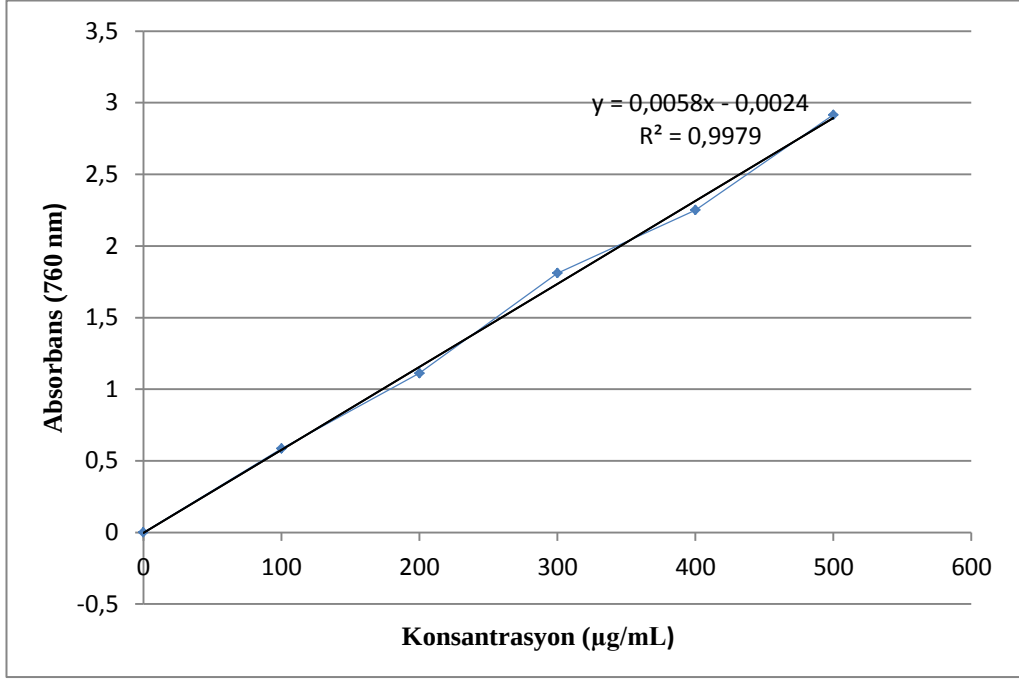
Toplam fenolik içerik tayininde kontrol olarak gallik asit kullanılmış ve standart grafik elde edilmiştir. Bitki özütlerinin toplam fenolik içeriklerinin miktarı (μg), standart grafik yardımıyla denklemleri kullanılarak gallik asite eşdeğer (mg) özütleri hesaplanmıştır. Özütlerin 760 nm’de okunan absorbans değerleri Çizelge 4.7’de, gallik asit standart grafiği Şekil 4.2’de ve özütlerin gallik asit eşdeğerleri (μg GAE / mg özüt) grafiği Şekil 4.3’de gösterilmiştir.

P. nissolii’nin toplam fenolik içerik tayininde etanol özütü absorbans değeri $0,235\pm 3,05$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, metanol özütü absorbans değeri $0,317\pm 2,55$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve su özütü absorbans değeri $137\pm 0,56$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunmuştur. Etanol, metanol ve su özütlerinden en fazla fenolik içeriğin metanol özütüne ait olduğu görülmüştür.

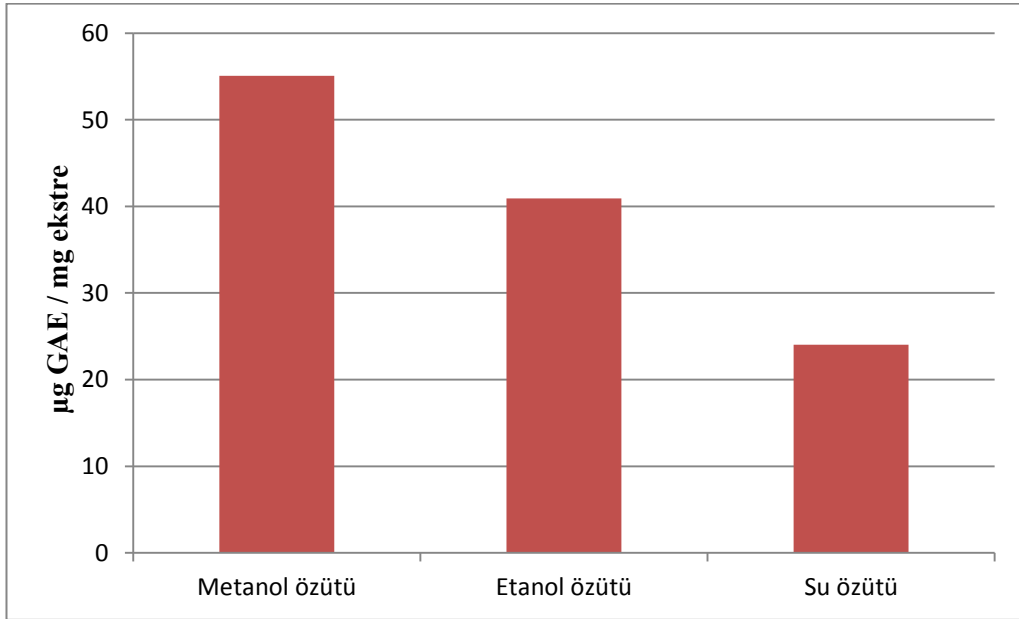
P. nissolii’nin gallik asit eşdeğerleri etanol özütünde 40,93 μg GAE / mg , metanol özütünde 55,07 μg GAE / mg ve su özütünde 24,03 μg GAE / mg olarak hesaplanmıştır. Etanol, metanol ve su özütlerinden en fazla gallik asit eşdeğerinin metanol özütüne ait olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.7. *P. nissolii* özütlerinin 760 nm’de okunan absorbans değerleri ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Etanol Özütü	Metanol Özütü	Su Özütü
$0,235\pm 3,05$	$0,317\pm 2,55$	$137\pm 0,56$



Şekil 4.3. Gallik asit standart grafiği

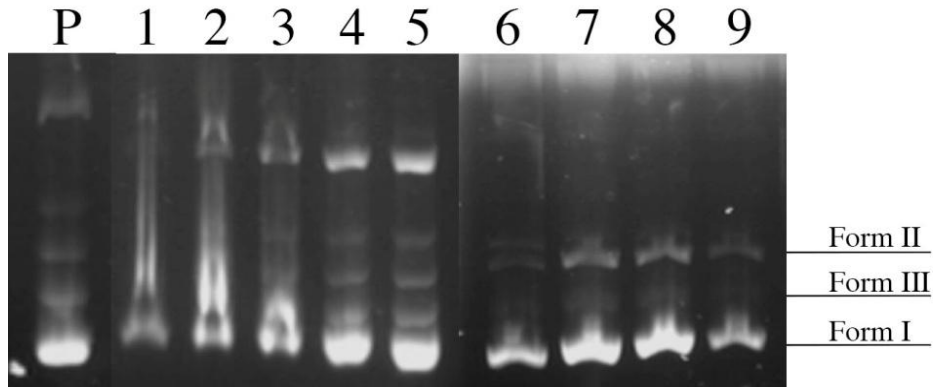


Şekil 4.4. *P. nissolii* özütlerinin fenolik içerik miktarı

4.4. DNA'ya Bağlanma ve Kesme Aktivitesi

P. nissolii'nin metanol özütü DMSO'da çözülerek 100 mg/ml konsantrasyonda hazırlanarak pBR322 plazmid DNA üzerinde etkisi araştırılmıştır. Metanol özütü 100 mg/ml'dan başlayarak seri dilüsyon yapılmış ve pBR322 plazmid DNA ile 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra boyanarak UV ışık altında fotoğrafı çekilmiştir.

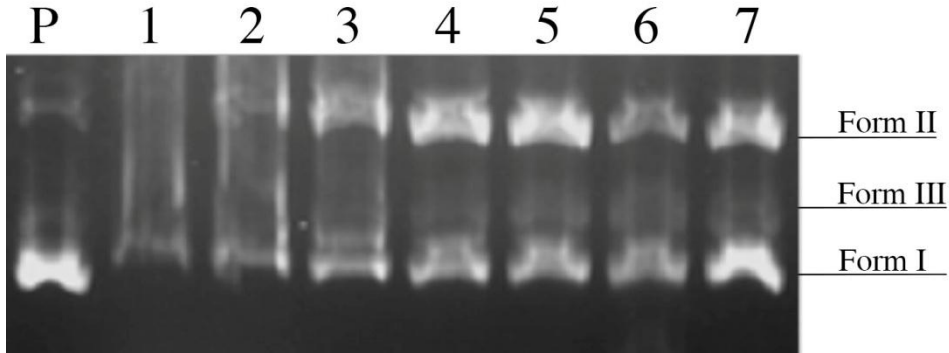
P. nissolii'nin metanol özütü ile pBR322 plazmit DNA etkileşimlerini gösteren elektrofotogramlar Resim 4.15.-4.18'de gösterilmiştir.



Resim 4.15. Kontrol (P), metanol özütü (1-9), 24 saat inkübasyon

Metanol özütü plazmid DNA ile 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonucunda yapılan elektroforezle bu maddelerle DNA arasında oluşan etkileşim Resim 4.15'de gösterilmektedir.

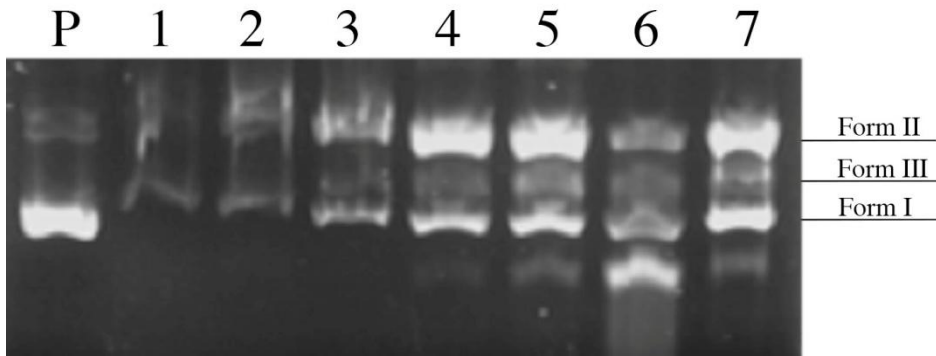
24 saatlik inkübasyon sonucu metanol özütünün en yüksek konsantrasyonunda form II ve form I konsantrasyonu azalmıştır. Ayrıca ilk üç konsantrasyonda form I'in hareketliliği azalırken form II'nin hareketliliği artmıştır.



Resim 4.16. Kontrol (P), metanol özütü (1-7), 48 saat inkübasyon

Metanol özütü plazmid DNA ile 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda yapılan elektroforezle bu maddelerle DNA arasında oluşan etkileşim Resim 4.16’de gösterilmektedir.

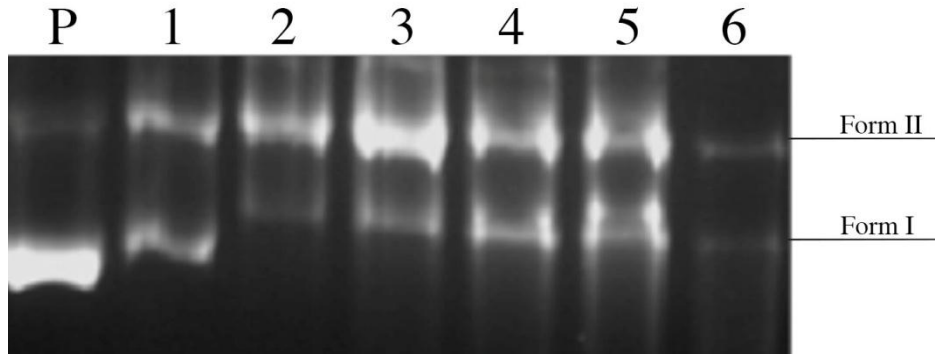
48 saatlik inkübasyon sonucu metanol özütünün en yüksek iki konsantrasyonda form I ve form II’nin konsantrasyonu azalmıştır ve hareketlilikte çok az değişiklik olmuştur.



Resim 4.17. Kontrol (P), metanol özütü (1-7), 72 saat inkübasyon

Metanol özütü plazmid DNA ile 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda yapılan elektroforezle bu maddelerle DNA arasında oluşan etkileşim Resim 4.17’de gösterilmektedir.

72 saatlik inkübasyon sonucu metanol özütünün en yüksek konsantrasyonunda form I ve form II konsantrasyonu oldukça azalmıştır. Hareketlilikte 5., 6. ve 7. Konsantrasyonlarda form III'e de rastlanılmıştır.



Resim 4.18. Kontrol (P), metanol özütü (1-6), 120 saat inkübasyon

Metanol özütü plazmid DNA ile 120 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda yapılan elektroforezle bu maddelerle DNA arasında oluşan etkileşim Resim 4.18'de gösterilmektedir.

120 saatlik inkübasyon sonucu metanol özütünün en yüksek iki konsantrasyonunda oldukça etkili olmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

P. nissolii'nin etanol, metanol ve su özütlerinin 25 mg/mL, 50 mg/mL ve 100 mg/mL konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Etanol özütünde etki *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerinin tüm konsantrasyonlarında görülmüştür. Metanol özütünde etki *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin tüm konsantrasyonlarında görülmüştür. Su özütünde ise etki bulunmamıştır. Metanol özütünün daha fazla bakteri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal etkilere bakılarak *P. nissolii*'nin etanol ve metanol özütlerinde etkili olan mikroorganizmaların MİK değerleri hesaplanmıştır. Etanol özütünde etki gösteren *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerinin MİK değeri 12,5 mg/mL; metanol özütünde etki gösteren *B. cereus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin MİK değeri de 12,5 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Dığrak ve ark. (1999), *Phlomis bourgei*'nin kloroform özütünün 11 bakteri ve 4 maya üzerinde antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonucuna göre *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *M. luteus*, *K. pneumonia*, *M. smegmatus*, *P. vulgaris* bakterileri üzerinde etki tespit etmişlerdir [80].

Joshi ve ark. (2011), *Phlomis bracteosa*'nın uçucu yağının antimikrobiyal ve antifungal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kullandıkları *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *P. vulgaris* bakterileri ile *M. canis*, *T. rubrum* ve *C. albicans* mayalarının 0.25 µg/mL ve 0.125 µg/mL konsantrasyonlarının hepsinde etki görülürken, 0.062 µg/mL konsantrasyonunda sadece *P. aeruginosa* bakterisinde etki görülmemiştir [81].

Özkan ve ark. (2009), *Phlomis pungens* Willd. var. *hirta* Velen'in yaprak ve çiçek metanol özütleri 100 mg/mL - 0.20 mg/mL arasında seyrelterek antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. *Phlomis pungens* çiçeklerinin metanol özütünün MİK değerleri *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. enteritidis* (KUEN 349), *E. coli* (ATCC 25922), *B. cereus* (ATCC 11778) ve *B. subtilis* (ATCC 6633) için 50 mg/mL, *P.*

mirabilis (CCM 1944), *S. epidermidis* (ATCC 12228) ve *S. aureus* (ATCC 29213) için 100 mg/mL'dir. *K.pneumoniae* (ATCC 4352) için antimikrobiyal etki bulunmamıştır. *Phlomis pungens* yapraklarının metanol özütünün MİK değerleri *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *P. mirabilis* (CCM 1944), *S. epidermidis* (ATCC 12228) ve *B.subtilis* (ATCC 6633) için 50 mg/mL, *B. cereus* (ATCC 11778) *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* (ATCC 29213) için 100 mg/mL'dir. *K. pneumoniae* (ATCC 4352) ve *S. enteritidis* (KUEN 349) için antimikrobiyal etki tespit edilmemiştir [82].

Tosun ve ark. (2006), *Phlomis armeniaca* Willd'in toprak üstü kısımları etil asetat ile tüketildikten sonra (%80) metanol özütünün antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Test mikroorganizmalarından *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *C. krusei*, *C. glabrata*'da etki gözlememiş, *C. albicans* 'da etki gözlemişlerdir [83].

Toroğlu ve ark. (2013), endemik *Phlomis oppositiflora* Boiss. & Hausskn. bitkisinin etil asetat, etanol ve metanol özütleri ile uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmişlerdir. Etil asetat özütünde *Enterobacter cloaca* (ATCC 13047), *Micrococcus luteus* (LA 2971), *Rhodotorula rubra* ve *Candida albicans* için etki gözlerken; *Kluyveromyces marxianus*, *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (6538), *Klebsiella pneumonia* (13883) *Mycobacterium smegmatis* (CCM 2067), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27859) ve *Bacillus megaterium* (NRS) için etki gözlememişlerdir. Metanol özütünde *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (6538), *Klebsiella pneumonia* (13883) *Mycobacterium smegmatis* (CCM 2067), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27859), *Enterobacter cloaca* (ATCC 13047), *Bacillus megaterium* (NRS) *Micrococcus luteus* (LA 2971), *Rhodotorula rubra* ve *Candida albicans* için etki gözlerken; *Kluyveromyces marxianus* için etki bulamamışlardır. Etanol özütünde tüm test mikroorganizmalarında etki tespit etmişlerdir.

Phlomis oppositiflora'nın uçucu yağlarının 1 µL ve 2 µL konsantrasyonlarında tüm test mikroorganizmalarında etki tespit etmişlerdir. 0.5 µL konsantrasyonda *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Klebsiella pneumonia* (13883), *Bacillus megaterium* (NRS), *Micrococcus luteus* (LA 2971), *Rhodotorula rubra*, *Candida albicans* ve *Kluyveromyces marxianus* için etki gözlerken, *Staphylococcus aureus* (6538), *Enterobacter cloaca* (ATCC 13047), *Mycobacterium smegmatis* (CCM 2067), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27859) için etki gözlememişlerdir [84].

Ristic ve ark. (2000), *Phlomis fruticosa* L.'nin etanol özütü ve uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Verilere göre uçucu yağların gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini gözlemişlerdir. Etanol özütünün *S. aureus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini gözlerken, diğer bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini gözlememişlerdir [85].

P. nissolii'nin etanol, metanol ve su özütlerinin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü yöntemiyle metanol özütünün etanol ve su özütlerine göre radikal süpürücü etkisi daha yüksek bulunmuştur. Metanol özütünün radikal süpürücü etkisi pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'den yüksek olmadığı, fakat yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Toplam fenolik içerik miktarı, metanol özütünde etanol ve su özütlerine göre daha yüksek bulunmuştur. DPPH radikal süpürücü yöntemi ve toplam fenolik içerik tayininde en etkili özütün metanol özütü olduğu görülmüştür.

Kirimer ve ark. (2006), *Phlomis nissolii*'nin uçucu yağlarının bileşenlerini araştırmışlardır. Toplam yağın %92,6'sı ile temsil edilen 18 bileşik tanımlamışlardır. Germakren D (%33,9), bicyclogermacrene (%15,3) ve (Z)-β-farnesen (%10,7) yağın ana bileşenleri olarak bulmuşlardır. *P. nissolii* uçucu yağının neredeyse tamamının seskiterpenlerden oluştuğunu ve karvakrolun tek önemli monoterpenoid olduğunu gözlemişlerdir [86].

Bucar ve ark. (1997), *Phlomis nissolii*'nin flavanoidlerini araştırmışlardır. Çalışmada iki yeni flavon glikositleri (1 ve 2), bilinen yedi flavon ve flavonon aglycone ve *P. nissolii*'nin üst kısımlarından glikozit gözlemişlerdir [12].

Morteza-Semnani ve ark. (2006), *Phlomis* ve *Stachys*'nin bazı türlerinin metanol özütlerinin antioksidan aktivitesi, 70°C ayçiçek yağı içerisinde muhafaza edilerek test edilmiştir. *Phlomis*lerden, *P. bruguieri*, *P. herba-venti* ve *P. olivieri*'nin metanol özütlerinin DPPH radikal süpürücü etki görmüşlerdir. En yüksek etkinin *P. bruguieri*'ye ait olduğunu görmüşler, fakat kontrol olarak kullanılan BHA'dan daha düşük etki gösterdiğini bulmuşlardır [87].

Çalışmamızda kullandığımız bitkinin antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda metanol özütünün diğer özütlere göre daha fazla mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkisi yüksek fenolik içeriğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. DPPH radikal süpürücü etkinin metanol özütünde en yüksek antioksidan aktivite göstermesi yüksek fenolik içeriğe sahip olması nedeniyle biyolojik bir önem taşımaktadır.

Plazmit DNA izolasyon koşullarına bağlı olarak farklı formlarda bulunabilir(açık halkasal, doğrusal ve süpersarmal) [88]. Bu üç formun jeldeki hareketi de farklıdır, Süpersarmal (Form I) en önde, doğrusal (Form III) arada, açık halkasal (Form II) ise en geride bant oluşturmaktadır [88, 89]. Bu hareket jel konsantrasyonuna, tampon pH'sına ve diğer elektroforez koşullarına göre de değişebilmektedir [88].

Çalışmamızda *P. nissolii* metanol özütü ile pBR322 plazmid DNA arasındaki etkileşim agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiştir. Sonuçta, konsantrasyona ve inkübasyon süresine bağlı olarak, DNA'yı parçalama ve hareketliliğini sınırlama şeklinde etkiler gösterdikleri bulunmuştur. DNA üzerindeki etkileri nedeniyle potansiyel antikanser ajanlar olarak düşünülebilir.

Kanser hücresi, normal hücrelerde meydana gelen DNA hasarı ile oluşmaktadır. Çoğu antikanser ilaç hedef hücredeki DNA'ya zarar vererek işlev yapar, yani doğrudan DNA'ya bağlanır ve DNA hasarına neden olur. Bu şekilde DNA kalıbı işlevine engel olabilir ve replikasyonu ve DNA sentezini inhibe edebilir. Ya da hücre DNA hasarını tamir edemez ve programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen apoptozis aktive edilir [90].

Geniş ölçüde yapılan çalışmalar 187 bitki türünden antikanser içerikler elde edilmiştir. Bunların arasından sadece 15 tür klinik olarak kanser tedavisinde kullanılmıştır. Bitkilerden sağlanan doğal ürünler kanserde ilaç tedavisi geliştirmek için bilim adamlarının odaklandığı konu olmuştur [90].

Başarılı antikanser bitki ürünlerine örnek, *Catharanthus roseus*'dan izole edilen vinca alkaloidleridir. Bu bileşiklerin antitümör aktiviteleri, tubuline bağlanarak mitotik ipliklerin kesilmesine yol açmaktadır. Kanser tedavisinde diğer bir örnek *Taxus brevifolia*'nın kabuğundan elde edilen taxoldür. Taxol ilaçları çözücüsü ile birlikte verildiğinde duyarlılık ve nöropati gibi zıt etkilere neden olmaktadır. Zehirli bitkilerin açığa çıkardığı alkaloidler antikanser potansiyeli dahil birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bazı bitki metabolitleri gelişimi düzenleyici olmasına rağmen kematöropatik ajan olarakta kabul edilmektedir. *Scutellaria baicalensis* flavonoidleri kanser hücre proliferasyonunu siklin bağımlı kinaz üzerinde hareket ederek baskılamaktadır. Diğer antikanser bitki ürünleri DNA topoizomeraz enzimini baskılamaktadır [90].

Birçok antikanser bitki ürünlerinin başarısına rağmen kanser kemoterapisinde çoklu ilaç direnci hala büyük bir problem oluşturmaktadır. Araştırmacılar bu problemin çözümüne odaklanmaktadır. Birçok bitkiden sağlanan bileşikler gelecekte kanser tedavisinde ilaçların listesini değiştirebilir [90].

P. nissolii ile yapılacak olan sonraki çalışmalarda özütlerin içeriğindeki maddeler araştırılarak, etken maddenin tespit edilmesi ve biyolojik etkilerinin araştırılması tavsiye edilmektedir. Ayrıca yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu için kanser hücre hatlarında sitotoksik aktivite çalışmaları yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Tan, A., “Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları”, *Anadolu J. of AARI*, 2: 50-64 (1992).
2. Özhatay, N., Kültür, Ş., “Check-list of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III.”, *Turk J. Bot.*, 30: 281-316 (2006).
3. Baytop, T., “Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi”, *İstanbul Üniv. Yay.*, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 240-376 (1984).
4. Başer, K. H. C., “Aromatic Biodiversity Among the Flowering Plant Taxa of Turkey”, *Pure Appl. Chem.*, 74 (4): 527-545 (2002).
5. Ekren, S., Yerlikaya, O., Tokul, H.E., Akpınar A., Açı, M., “Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extracts”, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 7 (5): 383-388 (2013).
6. Toroğlu, S., Çenet, M., “Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar”, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9 (2): 12-20 (2006).
7. Newman, D. J., Gragg, G.M., Snader, K.M., “The Influence of Natural Products Upon Drug Discovery”, *Nat. Prod. Rep.*, 17: 215- 234 (2008).
8. Rishton, G. M., “Natural Products as A Robust Source of New Drugs and Drug Leads: Past Successes and Present Day Issues” *Am. J. Cardiol.*, 101: 43-49 (2008).
9. Kubmarawa, D., Ajoku, G.A., Enwerem N.M., Okorie, D.A., “Preliminary Phytochemical and Antimicrobial Screening of 50 Medicinal Plants from Nigeria”, *Afr. J. Biotechnol.*, 6 (14): 1690-1696 (2007).
10. Öztürk, F., Açı, L., Şener, İ., Karcı, F., Kılıç, E., “Antimicrobial Properties and DNA Interactions Studies of 3-hetarylazoquinoline-2,4-diol compounds”, *Turk. J. Chem.*, 36: 293-302 (2012).
11. Şengül, M., Yıldız, H., Güngör N., Çetin, B., Eser, Z., Ercişli, S., “Total Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Medicinal Plants”, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22 (1): 102-106 (2009).
12. Bucar, F., Ninov, S., Ionkova, I., Kartnig, T., Schubert-Zsilavec, M., Asenov, I., Konuklugil, B., “Flavonoids from *Phlomis nissolii*”, *Phytochemistry*, 48 (3): 573-575 (1998).

13. Limem-Ben Amor, I., Boubaker, J., Sgaier, M.B., Skandrani I., Bhouria, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlel, I., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., "Phytochemistry and Biological Activities of *Phlomis* Species", ***Journal of Ethnopharmacology***, 125: 183-202 (2009).
14. Uprety, B., Asselin, H., Dhakal, A., Julien N., "Traditional Use of Medicinal Plants in the Boreal Forest of Canada: Review and Perspectives", ***Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine***, 8:7 (2012).
15. Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., "Tohumlu Bitkiler Sistematığı", ***Ege Üniversitesi Basımevi***, İzmir, (2008).
16. İlçim, A., Dığrak, M., "Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması", ***Turk. J. Biol.***, 22: 119-125 (1998).
17. Ulukanlı, Z., Akkaya, A., "Antibacterial Activities of *Marrubium catariifolium* and *Phlomis pungens* Var. Hirta Grown Wild in Eastern Anatolia, Turkey", ***Int. J. Agric. Biol.***, 13: 105-109 (2011).
18. Çubukçu, B., Sarıyar, G., Meriçli, A.H., Sütülpınar, N., Mat, A., Meriçli, F., "Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı", ***İ.Ü.Yayınları***, İstanbul 2002.
19. Baytop, T., "Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi", ***Nobel Tıp Kitapevleri***, İstanbul, 13-88 (1999).
20. Balch, J.F., Balch, P.A., "Pre Scripton for Nutritional Healing, 2nd edition", ***Avery Publication***, USA, 5-9 (1997).
21. Coşkun T., "Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri", ***Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi***, 48: 69-84 (2005).
22. Şekeroğlu, N., Koca, U., Meraler, S.A., "Geleneksel Bir Halk İlacı: İkşüt", ***YYÜ TAR. BİL. DERG.***, 22 (1): 56-61 (2012).
23. Fahey, J.W., Zhang, Y., Talalay, P., "Broccoli Sprouts an Exceptionally Rich Source of Inducers of Enzymes That Protect Against Chemical Carcinogens", ***Proc. Nat. Acad. Sci.***, 94 (19): 10367-72 (1997).
24. Yücel, E., "Tıbbi Bitki Islahı ve Yetiştiriciliği", ***Bitkilerle Tedavi Sempozyumu***, İstanbul, 98-116 (2010).
25. Graham, L. E.İ., Graham, J. M., Wilcox, L.W., "Plant Biology", ***Pearson Education, Inc.***, New Jersey, 22-28 (2003).
26. Saldamlı, İ., "Gıda Kimyası", ***Hacettepe Üniversitesi Yayınları***, Ankara, 463-492 (2007).

27. Kennedy, D.O., Wightman, E.L., “Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function”, **Adv. Nutr.**, 2: 32-50 (2011).
28. Trapp, S.C. and Croteau, R.B., “Genomic Organization of Plant Terpene Synthases and Molecular Evolutionary Implications”, **Genetics**, 158: 811-832 (2001).
29. Yazaki, K., “ABC Transporters Involved in the Transport of Plant Secondary Metabolites”, **FEBS Letters**, 580: 1183-1191 (2006).
30. Moein S., Farzami B., Khaghani S., Moein MR., Larijani B., “Antioxidant Properties and Prevention of Cell Cytotoxicity of *Phlomis Persica* Boiss.”, **DARU**, 15 (2): 83-88 (2007).
31. Baydar, H., “Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri (Bilimi ve Teknolojisi)”, **SDÜ yayınları**, Isparta, 1-21 (2005).
32. Werker, E., Ravid, U., “Structure of Glandular Hairs and Identification of the Main Components of Their Secreted Material in Some Species of the Labiateae”, **Israel Journal of Botany** 34 (1): 31-45 (1985).
33. Başer, K. H. C., “Essential Oils of Anatolian *Labiatae*: A Profile”, **Acta Horticulturae**, 333: 217-237 (1993).
34. Kocabaş, Y. Z., Karaman S., “Essential oils of Lamiaceae family from South East Mediterranean Region (Turkey)”, **Pakistan Journal of Biological Sciences** 4: 1221-1223 (2001).
35. Dadandı, M.Y., “Türkiye’nin *Phlomis* L.(Lamiaceae) Cinsi Revizyonu”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 15-160 (2002).
36. Başer, K. H. C., “Her Dere Deva Bir Bitki Kekik”, **Bilim ve Teknik**, Mayıs, (2001).
37. Fakılı, O., “Türkiye’de Kekik Adı İle Anılan Bitkiler Konusunda Yapılan Çalışmaların Envanteri”, Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana. (2010).
38. Kızılkeçili, Ö., “*Salvia Cryphantamontbret* & Auchr ex Bentham ve *Salvia Pomiferal* Türlerinin Metanol, Etanol Ekstrelerinin ve Uçucu Yağlarının Antibakterial, Antifungal ve Antitüberküloz Aktivitelerinin Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, **Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Balıkesir, 2-5 (2007).

39. Sarkhail, P., Monsef-Esfehani, H. R., Amin, G., Sürmaghi, M.H.S., Shafiee, A., “Phytochemical Study of *Phlomis Olivieri* Benth. and *Phlomis Persica* Boiss.”, **DARU**, 14 (3): 115-121 (2006).
40. Sarkhail, P., Amin, G., Shafiee, A., “Composition of The Essential Oil of *Phlomis Olivieri* Benth. From North of Iran”, **DARU**, 14 (2): 71-74 (2006).
41. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)”, **Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları**, İstanbul (2012).
42. Harput, Ü. Ş., Çalış İ., Saraçoğlu, İ., Dönmez, A. A., Nagatsu, A., “Secondary Metabolites from *Phlomis syriaca* and Their Antioxidant Activities”, **Turk. J. Biol.**, 30: 383-390 (2006).
43. Yalçın, F. N., Ersöz, T., Bedir E., Şahpaz, S., Bailleul, F., Khan, I.A., Dönmez, A.A., Çalış, İ., “Phlinoside F, a New Phenylethanoid Glycoside from *Phlomis angustissima*”, **Turk. J. Chem.**, 29: 417-423 (2005).
44. Yalçın, F. N., Ersöz, T., Bedir E., Dönmez, A.A., Stavri, M., Zloh, M., Gibbons, S., Çalış, İ., “Amanicadol, a Pimarane-type Diterpene from *Phlomis amanica* Vierch.”, **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, 1433-1436 (2006).
45. Kırmızıbekmez, H., Montoro, P., Piacente, S., Pizza, C., Dönmez, A., Çalış, İ., “Identification by HPLC-PAD-MS and Quantification by HPLC-PAD of Phenylethanoid Glycosides of Five *Phlomis* Species”, **Phytochem. Anal.**, 16: 1-6 (2005).
46. İsmailoğlu, U. B., Saraçoğlu, I., Harput, U. S., Şahin-Erdeli, I., “Effects of Phenylpropanoid and Iridoid Glycosides on Free Radical-Induced Impairment of Endothelium-Dependent Relaxation in Rat Aortic Rings.”, **J. Ethnopharmacol**, 79:193-197 (2002).
47. Kamel, M. S., Mohamed, K. M., Hassanean, H. A., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., “Iridoid and Megastigmane Glycosides from *Phlomis aurea*.”, **Phytochemistry**, 55:353–357 (2000).
48. Kaya, E., “Klorprifos ve Deltamethrin’in Kan ve Beyin Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta, 3 (2005).
49. Kurt, N., “Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve Malondialdehit (MDA) Seviyesinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, (2008).

50. Diplock, A., "Healthy Lifestyles Nutrition and Physical Activity: Antioxidant Nutrients", *ILSI Europe concise monograph series*, Belgium 55-60 (1998).
51. Barber, D. A., Harris, S. R., "Oxygen Free Radicals and Antioxidants", *American Pharmacy*, 34 (9): 26-35 (1994).
52. Halliwell, B., Chirico, S., "Lipid Peroxidation: Its Mechanism, Measurement and Significance", *Am J Clin Nut.*, 57: 715-725 (1993).
53. Baravalia, Y., Kaneria, M., Vaghasiya Y., Parekh, J., Chanda, S., "Antioxidant and Antibacterial Activity of *Diospyros ebenum* Roxb. Leaf Extracts", *Turk. J. Biol.*, 33: 159-164 (2009).
54. McCord, J., "Human Disease, Free Radicals and the Oxidant/Antioxidant Balance", *Clin Biochem.*, 26:351-357 (1993).
55. Fuji, S., Dale, G. L., Beutler, E., "Glutathione Dependent Protection Against Oxidative Damage of the Human Red Cell Membrane", *Blood*, 63 (5): 1096-1101 (1984).
56. Çakatay, U., Kayalı, R., "Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi", *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37: 162-167 (2006).
57. Selen-İşbilir, Ş., "Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi", Doktora Tezi, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne, 2-4 (2008).doktora
58. Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., AttiSerafini, L., Echeverrigaray, S., "Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. Cultivated in South Brazil", *Food Chem*, 100, 603-608 (2007).
59. Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V., "Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts", *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990 (1999).
60. Saraç, N., Uğur, A., "Antimicrobial Activities and Usage in Folkloric Medicine of Some *Lamiaceae* Species Growing in Mugla, Turkey", *Eur. Asia. J. Bio. Sci.* 4: 28-37 (2007).
61. Schlegel, H., "Produktion Sekundärer Metabolite", *Allgemeine Mikrobiologie*, Georg-Thieme Verlag s. 362-371 (1992).
62. Demain, A. L., "Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 52: 455-463 (1999).

63. Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., Silva, G. L., “Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic Resistant Bacteria”, ***Brazilian Journal of Microbiology***, 31: 247-256 (2000).
64. Gerçeker, D., Bacillus. Ustaçelebi, Ş., “Temel ve Klinik Mikrobiyoloji”, ***Güneş Kitabevi***, Ankara, 410-412 (1999).
65. Granum, P. E., Lund, T., “*Bacillus cereus* and Its Food Poisoning Toxins”, ***FEMS Microbiology Letters***, 157: 223-228 (1997).
66. Murray, P. R., Kobayashi, G. S., Pfaller, M. A., Rosenthal, K. S., “Medical Microbiology”, 2nd ed., ***St. Louis: Mosby***, 199-434 (1994).
67. Arslan, S., “*Lactobacillus rhamnosus* ‘Un Sünme (ROPE) Hastalığı Etkeni Olan *Bacillus* Cinsi Bakteriler Üzerine İnhibitör Etkisinin Unlarda Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, ***Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Adana, (2010).
68. Murray, R. P., Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M., Pfaller, A. M., “Klinik Mikrobiyoloji,1”, Editör, Başustaoğlu, A., ***Atlas Kitapçılık***, Ankara, 455-737 (2009).
69. Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., Zinkemagel, R. M., “Tıbbi Mikrobiyoloji”, ***Nobel Tıp Kitapevleri***, İstanbul, (2002).
70. Bilgehan, H., “Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları”, ***Fakülteler Kitabevi***, İzmir (2000).
71. Hazen, K.C., Howell, S.A., Candida, “Cryptococcus and Other Yeasts of Medical Importance. In: Murray PR, editor. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed.” ***American Society for Microbiology Press***, Washington, 1762-88, (2007).
72. Levinson, W., “Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji”, ***Güneş Tıp Kitapevleri***, Ankara, 106-507 (2008).
73. Molero, G., Díez-Orejas, R., Navarro-García, F., Monteoliva, L., Pla, J., Gil, C., Sánchez-Pérez, M., Nombela, C., “*Candida albicans*: Genetics, Dimorphism and Pathogenicity”, ***INTERNATL. MICROBIOL.***, 1: 95-106 (1998).
74. Desnos-Ollivier, M., Bretagne, S., Bernède, C., Robert, V., Raoux, D., Chachaty, E., Forget, E., Lacroix, C., Dromer, F., “Clonal Population of Flucytosine Resistant *Candida Tropicalis* from Blood Cultures, Paris, France”, ***Emerging Infectious Diseases***, 14 (4): 557-565 (2008).

75. Kothavade, R. J., Kura, M. M., Valand, A. G., Panthaki, M. H., “Candida Tropicalis: Its Prevalence, Pathogenicity and Increasing Resistance to Fluconazole”, **Journal of Medical Microbiology**, 59: 873-880 (2010).
76. Samaranayeke, Y. H. ve Samaranayeke, L. P., “Candida krusei: Biology, Epidemiology, Pathogenicity and Clinical Manifestations of an Emerging Pathogen”, **J. Med. Microbiol.**, 41: 295- 310 (1994).
77. DiMasi, J. A., Hansen, R. W., Grabowski, H. G., “The Price of Innovation: New Estimates of Drug Development Costs”, **Journal of Health Economics**, 22: 151-185 (2003).
78. Yola, M. L., Arıcı, M., Özaltın, N., “Interaction of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Naproxen Sodium with DNA by Electrochemical and Spectroscopic Methods”, **Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy**, 31 (2): 109-118 (2011).
79. Li, Q., Yang, P., Wang, H., Guo, M., “Diorganotin(IV) Antitumor Agent. (C₂H₅)₂SnCl₂ (phen)/Nucleotides Aqueous and Solid-State Coordination Chemistry and Its DNA Binding Studies”, **Journal of inorganic biochemistry**, 64(3):181-195 (1996).
80. Dıǧrak, M. ve İlçim, A., “Antimicrobial Activites of the Extracts of Various Plants (valex, mimosa bark, gallnut powders, Salvia sp. and Phlomis sp.)” **Tr. J. of Biology**, 23: 241-248 (1999).
81. Joshi, R. K., Pande, V., Thakuri, B. C., “Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Phlomis Bracteosa*”, **Scientific World**, 9 (9): 63-65 (2011).
82. Özkan, O., Aydın, H., Bağcıgil, A. F., “Salvia verticillata ve Phlomis pungens’in in vitro Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi”, **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.**, 15 (4): 587-590 (2009).
83. Tosun, A., Bahadır, Ö., Altanlar, N., “Antimicrobial Activity Of Some Plants Used In Folk Medicine In Turkey”, **Turkish J. Pharm. Sci.**, 3 (3): 167-176 (2006).
84. Toroğlu, S., Çenet, M., “Comparson of Antimicrobial Activities of Essential Oil and Solvent Extracts of Endemic *Phlomis oppositiflora* Boiss. & Hausskn. From Turkey”, **Pakistan J. Zoll.**, 45 (2): 475-482 (2013).
85. Ristic, M. D., Duletic-Lausevic, S., Knezevic-Vukcevic, J., Marin, P. D., Simic, D., Vukojevic, J., Janackovic, P., Vajs, V., “Antimicrobial Activity of Essential Oils and Ethanol Extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae)”, **Phytother. Res.**, 14: 267-271 (2000).

86. Kirimer, N., Baser, K. H. C., Kürkcüoglu, M., “Composition of The Essential Oil of *Phlomis nissolii* L.”, **J. Essent. Oil Res.**, 18: 600-601 (2006).
87. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., Shahani, S., “Antioxidant Activity of the Methanolic Extracts of Some Species of *Phlomis* and *Stachys* on Sunflower Oil”, **African. Journal. of Biotechnology.**, 5(24): 2428-2432 (2006).
88. Güzel, A. İ., “Fare Lizozom ve İnterlökin-2 Genlerinin Klonlanması ve Malign Melanomada Anti-Tümöral DNA Aşısı Olarak Kullanılması”, Doktora Tezi, **Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Adana, 40-45 (2006).
89. Samulski, R. J., Berns, K. I., Tan, M., Muzyczka, N., “Cloning of Adeno-Associated Virus into pBR322: Rescue of Intact Virus from the Recombinant Plasmid in Human Cells”, **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 79: 2077-2081 (1982).
90. Talib, W.H., “Anticancer and Antimicrobial Potential of Plant-Derived Natural Products” 141-148 (2011).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Nagehan BAYIN
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1990 Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (554) 573 00 43
 e-mail : nagehan.bayin@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	G.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2011
ÖnLisans	A.Ü. İşletme Fakültesi, Sağlık Kurumları İ.	2013
Lise	Ayrancı Lisesi	2006

Kongre ve Seminer

Ege Üniversitesi: 4.Moleküler Biyoloji ve Genetik- Poster Sunumu(Beyin Tümörleri)
 Tüba: 1.Kök Hücre Kursu ve 5.Kök Hücre Sempozyumu
 Ege Üniversitesi: 3.Moleküler Biyoloji ve Genetik
 Gazi Tıp Fakültesi: 4.Nörofelsefe Sempozyumu

Yabancı Dil

İngilizce

Bilgisayar

Windows 7, Word, Power-Point, Excel, İnternet, Adobe Photoshop CS4.

Hobiler

Keman çalmak, spor yapmak, sinemaya gitmek, blog yazmak, pastacılık