

PAPER DETAILS

TITLE: *Tanacetum kotschy* (Boiss.) Grierson ve *Tanacetum tomentellum* (Boiss.) Grierson
Ekstraktlarının Fenolik Madde İçeriği ve Biyolojik Aktiviteleri

AUTHORS: Ahmet SAVCI, Yusuf ALAN, Enver Fehim KOÇPINAR, Murat KURSAT, Sıraç
TOPDEMİR, Mizbah KARATAS, Birsen ÇAKMAK

PAGES: 112-126

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/721326>



Atıf/Citation: A. SAVCI, Y. ALAN, E. F. KOÇPINAR, M. KURŞAT, S. TOPDEMİR, M. KARATAŞ, B. ÇAKMAK, "Tanacetum kotschy (Boiss.) Grierson ve Tanacetum tomentellum (Boiss.) Grierson Ekstraktlarının Fenolik Madde İçeriği ve Biyolojik Aktiviteleri", *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 14, 112-126, 2019.

***Tanacetum kotschy* (Boiss.) Grierson ve *Tanacetum tomentellum* (Boiss.) Grierson Ekstraktlarının Fenolik Madde İçeriği ve Biyolojik Aktiviteleri**

Ahmet SAVCI^{*1}, Yusuf ALAN², Enver Fehim KOÇPINAR³, Murat KURŞAT⁴, Sıraç TOPDEMİR⁵, Mizbah KARATAŞ⁵, Birsen ÇAKMAK⁶

¹ Muş Alparslan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 49250, Muş, Türkiye

² Muş Alparslan Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü, 49250, Muş, Türkiye

³ Muş Alparslan Üniversitesi, Sağlık MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, 49250, Muş, Türkiye

⁴ Bitlis Eren Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 13000, Bitlis, Türkiye

⁵ Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 13000, Bitlis, Türkiye

⁶ Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 49250, Muş Türkiye

*yazışılan yazar e-posta: a.savci@alparslan.edu.tr

(Alınış / Received: 05.09.2018, Kabul / Accepted: 18.04.2019, Yayımlanma / Published: 31.05.2019)

Özet: Bitkiler, iyileştirici etkilerinden dolayı, eski zamanlardan beri tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada Bitlis ve Van illerinden toplanan *Tanacetum kotschy* (Boiss.) Grierson (ateş pireotu) ve *Tanacetum tomentellum* (Boiss.) Grierson (yıldızlı pireotu)'dan elde edilen etanol ekstraktlarının 14 farklı fenolik içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Fenoliklerin geneli antioksidan olarak bilindiğinden dolayı bitkilerin antioksidan özellikleri de bilimsel pek çok çalışmada önemli sayılmıştır. Bu nedenle soxhlet ekstraksiyon metodu ile bu bitkilerden etanol ekstraktları hazırlanmış ve *in vitro* şartlarda biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla ilk olarak bu ekstraktların total antioksidan aktiviteleri, DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri, FRAP ve CUPRAC indirgenme metodları ile demir ve bakır indirgeme kuvvetleri ölçülerek antioksidan güçleri, antioksidan oldukları kanıtlanmış çeşitli standartlar (Bütillenmiş hidroksianisol: BHA, Bütillenmiş hidroksitoluen: BHT ve α -tokoferol: α -toc) ile karşılaştırılmıştır. Toplumda bitkiler, mikroorganizma kaynaklı pek çok cilt hastalığı başta olmak üzere, günümüzün en önemli hastalıklardan olan kanser gibi DNA hasarına bağlı bazı hastalıklarda da alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanıldığı ve bu yönüyle bitkilerin pek çok farmakolojik araştırmanın ilgi odağı olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bu nedenle bu çalışmada ekstraktlar, farklı türlerden müteşekkil olan 10 adet mikroorganizma üzerinde denenerek antimikrobiyal aktiviteleri, Pbr322 plazmid DNA'sı üzerinde denenerek DNA koruyucu aktiviteleri araştırılmıştır. Fenolik sonuçlarına göre *T. kotschy* ve *T. tomentellum* ekstraktlarında gallik asit, *T. kotschy* ekstraktında ise salisilik asit varlığı tespit edilememiştir. Buna ek olarak bazı antioksidan aktivite sonuçlarında her iki bitkiden elde edilen etanol ekstraktlarının standartlara benzer aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Oyuk agar metodunun kullanıldığı antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre; *T. tomentellum* ekstraktının *Staphylococcus aureus* üzerinde, *T. kotschy* ekstraktının ise *Candida albicans* ve *Klebsiella pneumonia* üzerinde en iyi aktiviteyi sergilediği tespit edilmiştir. Ayrıca *T. Kotschy* ekstraktı *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde herhangi bir aktivite göstermezken, genel olarak ekstraktların bütün test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Son olarak

Ahmet SAVCI, a.savci@alparslan.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9609-785X>

Yusuf ALAN, y.alan@alparslan.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0007-0212>

Enver Fehim KOÇPINAR, ef.kocpinar@alparslan.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6031-4664>

Murat KURŞAT, botanikkursat@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0861-4213>

Sıraç TOPDEMİR, srctpdmr@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4575-9216>

Mizbah KARATAŞ, mizbahkaratas@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4649-6681>

Birsen ÇAKMAK, birsencakmak@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7290-3784>

ekstraktların DNA üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. *T. kotschy* ekstraktının, plazmid DNA üzerinde koruyucu bir etkisinin olmadığı, *T. tomentellum* ekstraktının ise H₂O₂+DMSO'un DNA üzerindeki süpürücü etkisini ortadan kaldırarak kararlı hale gelmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, ekstraktların genel olarak güçlü biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Tanacetum kotschy*, *Tanacetum tomentellum*, Fenolik, Antimikrobiyal, Antioksidan

Phenolic contents and biological activities of *Tanacetum kotschy* (Boiss.) Grierson and *Tanacetum tomentellum* (Boiss.) Grierson extracts

Abstract: Plants have been used for therapeutic purposes since ancient times because of their healing effects. In present study, *T. kotschy* (Boiss.) Grierson and *Tanacetum tomentellum* (Boiss.) Grierson plants were collected from Van and Bitlis province and the extracts were prepared from them. Then, 14 different phenolic contents were determined. Since the phenolics are known as antioxidants, the importance of antioxidants properties of the plants is emphasized in many studies. For this purpose, the extracts were prepared from these plants and *in vitro* biological activities were investigated. Firstly, total antioxidant activities, DPPH and ABTS radical scavenging activities and iron and cupric reduction activities were measured using the extracts and the results were compared with the standard antioxidants (Butylated hidroxyanisole: BHA, Butylated hidroxitoluen: BHT and α -tocopherol: α -toc). Today, the plants are used as an alternative treatment in many skin disease caused by microorganism and in the treatment of several diseases such as cancer. In this aspect, it is an undeniable fact that plants are at the focal point of many research. For this purpose, the antimicrobial activities of the extracts on 10 different microorganisms and the DNA protective properties on pBR322 plasmid DNA were determined. According to the phenolic results, In addition to the absence of gallic acid in *T. kotschy* and *T. tomentellum* extracts, salycilic acid could not be detected in *T. Kotschy* extract. *In vitro* antioxidant activities were determined by using total antioxidant activity, DPPH and ABTS radical scavenging activities, FRAP and CUPRAC reduction methods and the results were compared with BHA, BHT and α -tocopherol standard antioxidant results. The ethanol extracts obtained from both plants were found to have close activity to the standards. According to antimicrobial activity results of hollow agar method, *T. tomentellum* extracts and *T. kotschy* were found to have the highest activity on *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* and *Klebsiella pneumonia* respectively. It was observed that the extracts have antimicrobial effect on all test microorganisms. on the contrary, only *T. kotschy* extract had no antifungal effect on *Saccharomyces cereviciae*. Finally, the protective effects of extracts on DNA were investigated. *T. kotschy* extract had no protective effect on plasmid DNA however; *T. tomentellum* extract was able to stabilize the DNA by eliminating the scavenging effect of H₂O₂ + DMSO. Data from this study show that extracts generally have strong biological activities.

Keywords: *Tanacetum kotschy*, *Tanacetum tomentellum*, Phenolic, Antimicrobial, Antioxidant

1. Giriş

Sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı, tedavi edici ve şifa kaynağı olarak bitkilerin kullanımlarına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır [1,2]. Günümüzde de bitkiler farmakolojik sahada ilaç hammaddesi olarak kullanılmaktadır [3].

Geniş bir habitata sahip olan Asteraceae familyasının 23000 türe sahip olduğu bildirilmektedir [4-6]. Türkiye Florasında Asteraceae'e ait toplam 1209 tür kaydedilmiş olup, tür sayısı bakımından familyalar arasında ilk sırada yer almaktadır. Bu türlerin 447'si endemiktir ve endemizm oranı %37'dir [7-10]. Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'da yayılış gösteren *Tanacetum*, dünyada yaklaşık 160 türle temsil edilir. [11,12].

T. kotschy (ateş pireotu), 8-40 cm boyunda, çok yıllık otsu bir bitkidir. Kireçli kayalar, kaya yarıkları, taş yığınlarında 1450-3580 metre yüksekliklerde doğal olarak yetişir. Doğu Karadeniz, Yukarı Fırat, Yukarı Murat-Van, Hakkâri ve Adana bölümlerinde yayılış gösterirler. *T. tomentellum* (yıldızlı pireotu), sürünücü ana köke ve çalimsı otsu gövdeye sahip, 25-50 cm boyunda gri ve gümüşü beyaz renkli, tüylü bir bitkidir. Toprakla örtülü kayalarda, kaya yarıklarında, 1900-2300 metrede doğal olarak yetişen bu bitki, Y. Fırat ve Y. Murat-Van bölümlerinde yayılış gösterirler. [7, 8, 13, 14, 15].

Halk arasında tedavi edici olarak kullanılan *Tanacetum* türlerinin ayrıca klinik olarak migren tedavisi başta olmak üzere antitümör, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antifungal, sitotoksik antiprotozoal, antiülser gibi pek çok rahatsızlığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [16]. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite gösterdiği pek çok çalışmada vurgulanmıştır [17]. Bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra antioksidan özellikleri de büyük öneme sahiptir. Hücrenin mitokondriyal metabolizmasının ürünü olarak serbest oksijen radikalleri oluşabilmektedir [18]. Bu radikaller; karbonhidrat, protein, lipid ve DNA molekülü ile reaksiyona girebilir. Bunun sonucunda kalp hastalıkları, sinirsel hastalıklar ve kanserde dâhil olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olurlar [18-20].

Daha önceki çalışmalarda *T. kotschy* ve *T. tomentellum* ile ilgili fenolik madde içeriğinin belirlenmesi ve biyolojik aktivite çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu amaçla bu bitkilerin toprak üstü kısımlarından etanol ekstraktı hazırlanarak, bu ekstraktlarda sekonder metabolit olarak bilinen 14 farklı fenolik miktarı HPLC ile belirlenmiştir. Ayrıca bu ekstraktların biyolojik aktivitelerini belirlemek amacıyla, beş farklı yöntem kullanılarak antioksidan özellikleri, üç Gram-pozitif, dört Gram-negatif bakteri ve üç fungusun dâhil olduğu 10 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Son olarak bu ekstraktların, agaroz jel elektroforezi ile pBR322 plazmid DNA'sı üzerindeki koruyucu etkileri incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Bitki örneklerinin toplanması ve ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan *T. kotschy*, Van (Artos Dağı) ve *T. tomentellum* ise Bitlis (Kambos Dağı) ilinde 2014-2015 yılları arasında vejetasyon dönemlerinde toplanmıştır. *T. kotschy* (M.KURŞAT-6043) ve *T. tomentellum* (M.KURŞAT:6044) herbaryum materyali haline getirilerek kodlanmıştır. Örnekler, Bitlis Eren Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda saklanmaktadır.

Bitki örneklerini ekstraksiyona hazırlamak için bitkilerin toprak üstü kısımlarından alınarak gölgede kurutulmaya bırakılmıştır. Ekstraksiyona hazırlanmış olan bitkilerden 50'şer gr alınarak temizlenmiş ve öğütülerek soxhlet yöntemiyle, 300 ml etanol içerisinde ekstrakt elde edilmiştir. Daha sonra evaporatör kullanılarak etanol uzaklaştırılmıştır. Yaklaşık olarak *T. kotschy* ve *T. tomentellum*'dan sırasıyla % 3,6 ve % 4,15 verimle ekstrakt elde edilmiştir. Ekstraktlar, HPLC ile fenolik madde miktar tayini ve biyolojik aktivitelerinin in vitro ortamda incelenmesi için koyu renkli cam şişelerde -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2 HPLC ile fenolik madde analizi

HPLC ile fenolik madde miktarı tayini için 14 farklı standartın (Askorbik asit, Gallik asit, Mirisetin, Absisik asit, Kuersetin, Apigenin, Kaemferol, Kurkumin, Katekol, Vanilin, Kafeik asit, Sinamik asit, Rozmarinik asit ve Salisilik asit) son konsantrasyonları 10 mg/ml olacak şekilde tartılıp 50 ml'lik balon jöjeler içine

konulmuştur. Daha sonra % 1'lik asetik asit ile asetonitril sırasıyla (1/9) oranında karıştırılarak standartlar üzerine eklenmiş ve ardından aynı oranda metanol ilave edilerek standartları çözmek için gerekli olan stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözeltiler seyreltilerek 10 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM ve 100 mM konsantrasyonlarına sahip numuneler oluşturulmuştur [21].

T. kotschy ve *T. tomentellum* etanol ekstraktlarının konsantrasyonu 20 mg/ml olacak şekilde standartta kullanılan stok çözelti kullanılarak seyreltilmiştir. Ekstraktlar, 0,45 µm'lik membran filtreden geçirilerek HPLC cihazına yüklenmiştir. HPLC analizinde uygulanan koşullar Tablo 1' de verilmiştir.

Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilmiş entegre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır.

Tablo 1. HPLC Çalışma Koşulları ve Gradient Elüsyon Programı

HPLC çalışma koşulları programı		Gradient elüsyon		
Model	Agilent Technologies 1260 Infinity II	Süre (dak)	A (%)	B (%)
Kolon	ACE 5 C18 (250x4.6 mm id)	0	90	10
Kolon Fırını	G7130A	25	60	40
Dedektör	1260 DAD WR	39	40	60
Pompa	1260 Quat Pump VL	50	10	90
Mobil Faz	A: %1 Asetik Asit B: Asetonitril	55	90	10
Dedeksiyon	272, 280 ve 310 nm			
Otosampler	1260 Vialsampler			
Akış Hızı	1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	28 °C			
Enjeksiyon	20 µl			

2.3. Biyolojik aktivite çalışmaları

2.3.1. Antioksidan Özellikler

2.3.1.1. Total antioksidan aktivite tayini

Bitki ekstraktlarının lipit peroksidasyonlarını inhibe etme yüzdelерini belirlemek için tiyosiyanat metodu kullanılmıştır [22]. Farklı konsantrasyonlarda stok çözelti, deney tüplerine pipetlenerek hacim tampon çözeltiyle (pH: 7,4) 2,5 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından tüplere 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu ilave edilmiştir. Ardından 37 °C'de inkübasyon yapılmıştır. Her on saatte bir tüplerden 100'er µl alınmış, 4,7 ml etanol bulunan deney tüplerine konulmuştur. Üzerine 100 µl Fe²⁺ ve 100 µl SCN⁻ çözeltisi ilave edilmiştir. 4,8 ml etanol bulunan deney tüpüne 100 µl Fe²⁺ ve 100 µl SCN⁻ çözeltileri ilave edilerek kör hazırlanmıştır. Kontrol olarak 2,5 ml tampon çözelti ve 2,5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanılmıştır. Spektrofotometrede 500 nm'de absorbanslar köre karşı okunmuştur. İnkübasyona, kontrolün maksimum absorbansa ulaşmasıyla son verilmiştir.

2.3.1.2. Toplam indirgeme kuvveti tayini (FRAP metodu)

Total indirgeme kuvveti tayini Oyaizu yöntemine göre yapılmıştır [23]. Stok çözeltilerden 25, 50 ve 100 µg/ml olacak şekilde alınarak deney tüplerine aktarılmış ve ardından hacim saf suyla 1 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra her bir tüpe 2,5 ml 0,2 M tampon çözelti (pH: 6,6) ve 2,5 ml % 1'lik potasyumferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ilave edilerek karışım 50 °C'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemlerden sonra

reaksiyon karışımına 2,5 ml %10'luk triklorasetik asit (TCA) ilave edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra çözeltinin üst fazından 2,5 ml alınarak üzerine 2,5 ml destile su ve 0,5 ml FeCl₃ ilave edildikten sonra absorbanslar 700 nm'de köre karşı okunmuştur. Kontrol için numune yerine saf su eklenmiş, kör olarak da sadece saf su kullanılmıştır.

2.3.1.3. CUPRAC metoduna göre indirgeme kuvveti tayini

Numunelerin, kuprik iyonu (Cu²⁺) indirgeme kapasiteleri Apak ve arkadaşları tarafından önerilen kuprak metoduna göre yapılmıştır [24]. Deney tüplerine 0,25 ml CuCl₂ çözeltisi ilave edildikten sonra üzerine 0,25 ml 7,5x10⁻³ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi ve 1 mL asetat tamponu aktarılmıştır. Ardından farklı konsantrasyonlarda (25–50-75 µg/ml) etanol ekstraktları ve standartlar ilave edilmiştir. Yarım saatlik bir inkübasyondan sonra 450 nm'de artan absorbansları kaydedilmiştir. Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan kuprik iyon (Cu²⁺) indirgeme kapasitesini göstermektedir.

2.3.1.4. ABTS radikali giderme aktivitesi tayini

Wu ve arkadaşlarının metoduna göre [25] ABTS radikallerinin giderilme aktivitelerinin belirlendiği bu çalışmada öncelikle 2,45 mM K₂S₂O₈ ve 7 mM ABTS çözeltileri eşit oranda karıştırılarak oda sıcaklığında yaklaşık 15 saat inkübe edilmiştir. Kontrol absorbansını elde etmek için, hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm'deki absorbansı, 1,660±0,02 değerine ulaşana kadar etil alkolle seyreltilmiştir. Hazırlanan radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 ml konulmuştur. Bu tüplerin üzerine 50 µl ve 100 µl konsantrasyonlara sahip etanol ekstraktları ve standartlar eklenerek oda sıcaklığında inkübe edilmiştir (2 saat). Bu surenin sonunda ekstraktların absorbansı 734 nm'de kaydedilmiştir.

2.3.1.5. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH·) radikali giderme aktivitesi tayini

Serbest radikal giderme amaçlı DPPH·'ın 1 mM'lık çözeltisinin kullanıldığı bu çalışma Blois metoduna [26] göre yapılmıştır. Deney tüplerine sırasıyla 25, 50 ve 100 µg/µl konsantrasyonlarında standartlar ve etanol ekstraktları aktarılmış ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde etanol ile tamamlanmıştır. Daha sonra her bir tüpe DPPH· çözeltisinden 1 ml ilave edilerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedilmiştir. Kontrol olarak, 3 ml etanol ve 1 ml DPPH· çözeltisi kullanılmıştır.

2.4. Antimikrobiyal aktivite

T. kotschy ve *T. tomentellum* etanol ekstraktlarının aktivite tayini oyuk agar yöntemine göre yapılmıştır [27]. Bu çalışmada test organizması olarak 3 Gr (+) (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus megaterium* DSM 32), 4 Gr (-) (*Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ve *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883) patojen bakterileri ve 3 fungusun (*Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Saccharomyces cerevisiae*) dahil olduğu 10 farklı mikroorganizma kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Test bakteriler Nutrient Broth besiyerine, mayalar ise Sabourand %2 Glukoz Broth'a aşılanmış ve mayalar 27 °C'de, bakteriler ise 35 °C'de inkübasyona bırakılarak üretilmiştir. Sıvı ortamda gelişen her mikroorganizma kültüründen, tekrar yukarıdaki sıvı ortamları içeren tüplere %1 oranında bakteri kültürü aşılanarak 18 saat inkübe

edilmiştir. Nutrient Broth ve Sabourand %2 Glukoz Broth besiyerleri 15 ml olacak şekilde 9 cm'lik petri kaplarına dökülmüş ve katılaştıktan sonra 4 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Hazırlanmış besi ortamına mikroorganizma kültürü drigalski spatülü yardımıyla yayılarak aşılansak 10 mm çapında oyuklar açılmıştır. Ekstraktlardan 0,1 gr tartılarak üzerine 1 ml DMSO ilave edilmiştir. Hazırlanmış olan çözeltiden oyuklara 75, 100 ve 150 µl ilave edilmiş ve bu kültürler 1 saat süre ile 4 °C'de bekletilmiştir. Maya kültürleri ile aşılansmış olan besiyerler 27 °C'de, bakteri kültürleri ile aşılansmış olan besiyerler ise 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Test bakteri ve mayaların (10⁶ CFUs/ml) bulanıklığı Mc Farland 0,5 standartına göre ayarlanmıştır [28]. Bu çalışmada Oxoid'ten temin edilen 6 mm çapında 5 adet antibiyotik disk (Eritromisin (E-15), Ampisillin/sulbaktam (SAM-20), Rifampisin (RD-5), Amikasin (AK-30) ve Fluconazol (FCA-25) standart olarak kullanılmıştır. Bitki ekstraktları ve antibiyotiklerin farklı konsantrasyonları 10 farklı mikroorganizma üzerinde test edilmiş ve oluşan inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülmüştür.

2.5. Bitki ekstraktlarının DNA üzerindeki etkileri

pBR322 plazmid DNA kullanılarak ekstraktların DNA üzerindeki etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi ile belirlenmiştir [29]. Bu amaçla 200 mg ekstrakt 1 ml DMSO'da çözülerek stok ekstraktlar hazırlanmıştır. Bu stok ekstraktlar seyreltilerek 25, 50 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarına sahip ekstraktlar kullanılmıştır. Her ekstraktın DNA üzerindeki etkisi agaroz jel elektroforezi yardımıyla belirlenmiştir. Jel örnekleri Tablo 2'de verilen prosedüre göre hazırlanmıştır.

Tablo 2. Elektroforez Örneklerinin Bileşenleri ve Miktarları

Tüp No	DNA (µl)	H ₂ O ₂ (µl)	DMSO (µl)	Ekstraktlar (10 µL) ve konsantrasyonları	Saf Su (µl)	Toplam Hacim (µl)
1	10	-	-	-	15	25
2	10	5	-	-	10	25
3	10	5	10	-	-	25
4	10	-	10	-	5	25
5	10	5	-	Etanol ekstraktı (100 mg/ml)	-	25
6	10	5	-	Etanol ekstraktı (50 mg/ml)	-	25
7	10	5	-	Etanol ekstraktı (25 mg/ml)	-	25
8	10	-	-	Etanol ekstraktı (100 mg/ml)	5	25
9	10	-	-	Etanol ekstraktı (50 mg/ml)	5	25
10	10	-	-	Etanol ekstraktı (25 mg/ml)	5	25

PCR tüpleri 37 °C' de 4 farklı zaman aralığında (3, 6, 12 ve 24 saat) karanlık ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra DNA ekstrakt karışımının 5 µl' si yükleme tamponu ile karıştırılıp %1' lik agaroz jele yüklenerek TBE tamponu içerisinde 40 V' ta, serbest akımda, 2 saat süre ile elektroforez yapılmıştır. Elektroforezden sonra jeller etidyum bromid ile boyanarak CemiDoc XRS BIORAD görüntüleme sisteminde jel fotoğrafları görüntülenmiştir [30].

3. Bulgular

3.1. Fenolik birleşiklerin HPLC ile analiz miktarları

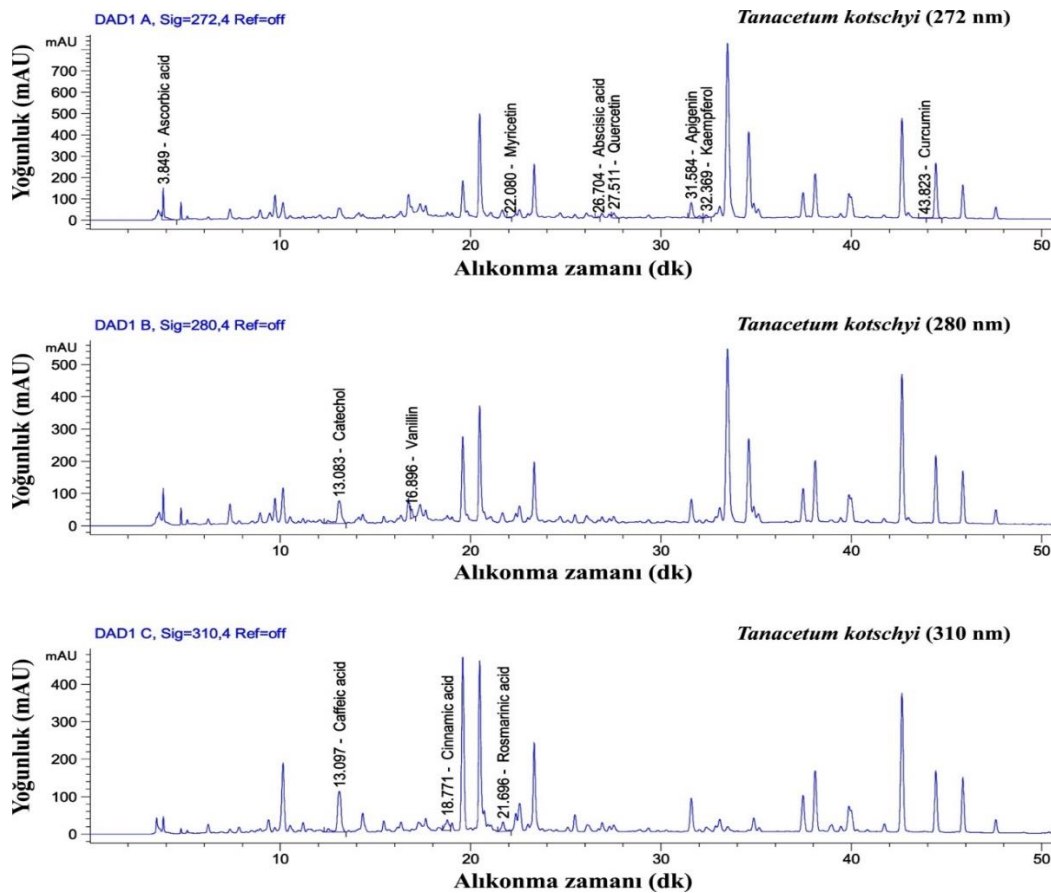
T. kotschy ve *T. tomentellum*'dan elde edilen etanol ekstraktlarının fenolik madde içeriklerini belirlemek için 14 farklı fenolik standart kullanılarak miktar analizi HPLC cihazı ile yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. *T. kotschy* (Boiss.) Grierson ve *T. tomentellum* (Boiss) Grierson ekstraktlarındaki fenolik bileşik miktarları (µg/ml)

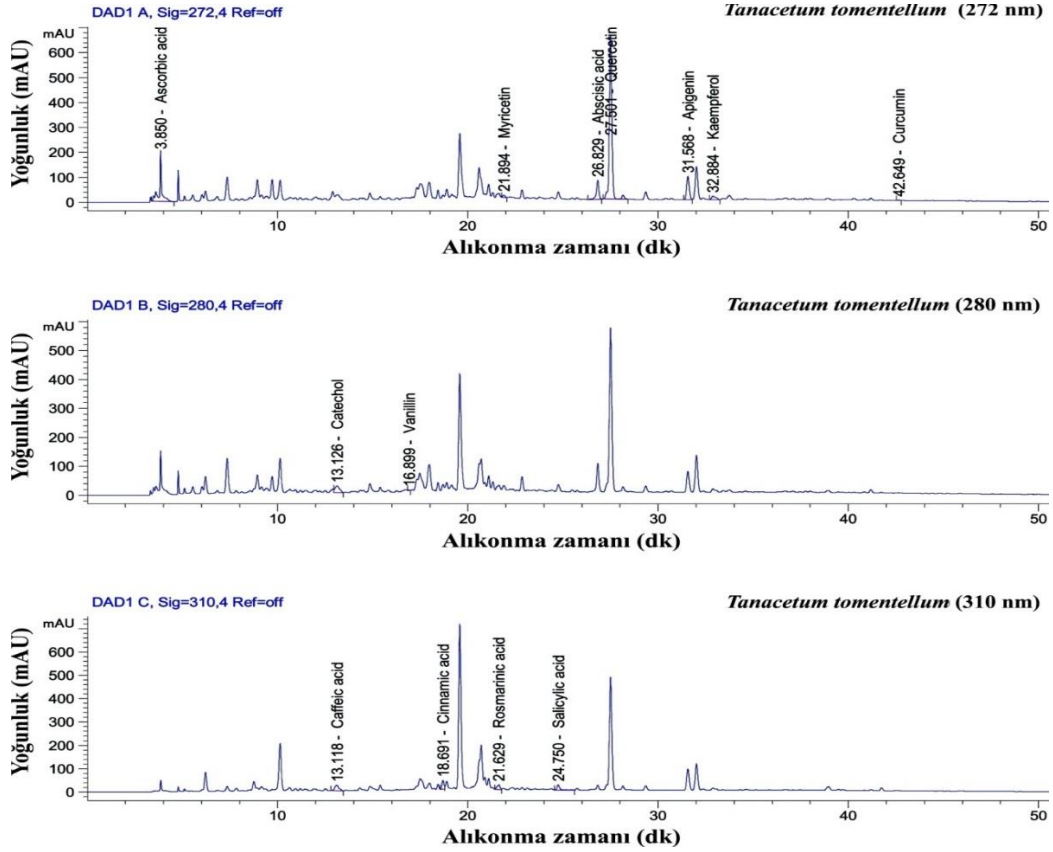
Fenolikler	<i>T. kotschy</i>	<i>T. tomentellum</i>
Askorbik asit	30.017,0	43.514,4
Gallik asit	-	-
Mirisetin	2.834,3	5.169,3
Absisik Asit	4.379,4	56.844,8
Kuersetin	5.687,2	159.731,5
Apigenin	126.573,8	154.698,5
Kaemferol	5.470,6	3.608,5
Kurkumin	77.477,8	4.176,2
Katekol	29.779,4	11.758,3
Vanilin	2.550,8	1.082,2
Kafeik asit	12.438,6	1.504,8
Sinamik asit	3.565,6	2.771,2
Rozmarinik asit	3.875,8	3.143,0
Salisilik asit	-	3.724,6

:- Sonuç Yok

Ekstraktların fenolik madde miktarlarına bakıldığında *T. kotschy* ekstraktında en fazla miktarda apigenin (126.573,8 µg/ml), en az miktarda vanillin (2,550,8 µg/ml) varlığı tespit edilmiştir. *T. tomentellum* ekstraktında ise en az miktarda vanillin (1.082,2 µg/ml), en fazla miktarda ise kuersetin (159.731,5 µg/ml) olduğu belirlenmiştir. Gallik asit her iki ekstrakta tespit edilemezken, salisilik asit ise *T. kotschy* ekstraktında tespit edilememiştir. Bitki ekstraktlarındaki fenolik madde miktarlarının birbirlerinden çok farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 1. *Tanacetum kotschy* ekstrakt içeriğini gösteren HPLC kromatogramı



Şekil 2. *Tanacetum tomentellum* ekstrakt içeriğini gösteren HPLC kromatogramı

3.2. Biyolojik aktivite sonuçları

3.2.1. Antioksidan özellikler

3.2.1.1. Total antioksidan aktivite

T. kotschy ve *T. tomentellum* etanol ekstraktları DMSO’da çözülerek total antioksidan aktiviteleri “Ferrik Tiyosiyanat Metoduna” göre belirlenmiştir. Bu metot linoleik asit emülsiyonunda oksidasyon sonucu oluşan peroksidin, spektrofotometrik olarak 500 nm’de ölçülmesi esasına dayanır. *T. kotschy* ve *T. tomentellum* total antioksidan aktivite tayini için sırasıyla 25, 50 ve 100 µL kullanılmıştır (Şekil 3a). Şekilde de görüldüğü gibi bitkilerin total antioksidan aktivitesi, numune konsantrasyonu ile genellikle doğru orantılı olarak artmaktadır. Bitki ekstraktlarının ve kullanılan standart antioksidanların linoleik asit emülsiyonunu inhibe etme yüzdeleri, kontrol değerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon anı olan yirminci saat baz alınarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar Denklem 1’e göre yapılmıştır.

$$\text{Lipid peroksidasyonu inhibisyonu (\%)} = 100 - \left(\frac{A_e}{A_k} \times 100 \right) \quad (1)$$

Burada; A_e : kontrol değerinin maksimum inkübasyon anındaki ekstraktların verdiği absorbans değeri, A_k ise kontrolün absorbans değerini ifade eder.

100 µL’lik *T. kotschy* ve *T. tomentellum* linoleik asit emülsiyonunun oluşturduğu peroksidasyonu sırasıyla %68,93 ve %73,62 oranında inhibe ederken aynı miktarda BHA, BHT ve α-tokoferol sırasıyla % 72,34, % 72,76 ve % 57,87 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir.

3.2.2. İndirgeme kuvveti tayini (FRAP)

Ekstraktların indirgeme kapasiteleri konsantrasyona bağlı olarak artmaktadır. İndirgeme kuvveti her bir ekstrakt için 25 µl, 50 µl ve 100 µl'lik miktarlarının bulunduğu test çözeltilerinin 700 nm'de absorbanslarının ölçülmesiyle belirlenmiştir.

BHA, BHT ve α-tokoferol ile karşılaştırıldığında *T. kotschy* ve *T. tomentellum* için indirgeme kuvveti kapasiteleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3b): BHA > *T. tomentellum* > *T. kotschy* > BHT > α-tokoferol.

3.2.3. İndirgeme kuvveti tayini (CUPRAC)

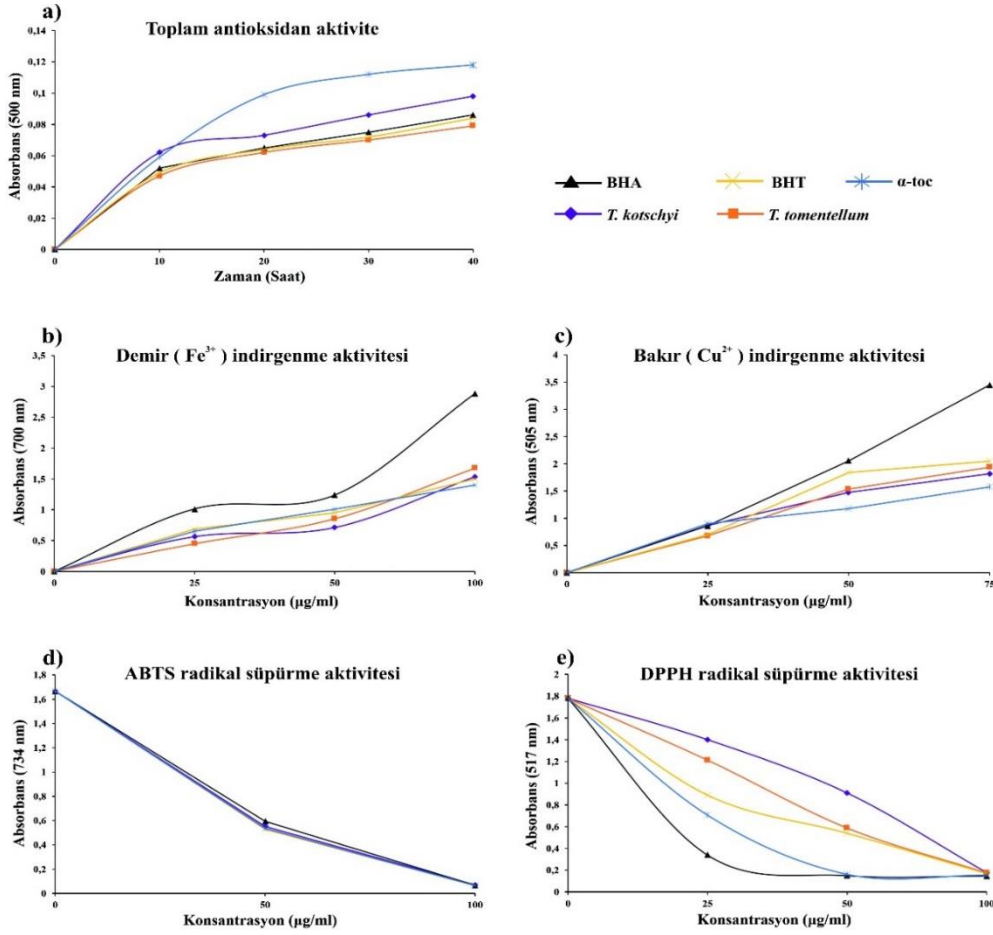
T. kotschy ve *T. tomentellum* ekstraktlarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesinin ekstraktların konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Her iki bitkinin 25, 50 ve 75 µl miktarlarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3c).

3.2.4. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi

T. kotschy ve *T. tomentellum* ile standartların 50 ve 100 µl'deki ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi sonuçlarına bakıldığında hepsinin birbirine yakın ve çok iyi aktivite gösterdiği söylenebilir. ABTS radikali yok etme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3d): BHT (%96,16) ≥ α-tocopherol (%96,15) ≥ BHA (%96,04) ≥ *T. tomentellum* (%95,98) ≥ *T. kotschy* (%95,80).

3.2.5. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

DPPH radikali uzun ömürlü bir azot radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için en sık kullanılan metotlardan biridir. Bu metotta antioksidan maddeler DPPH radikallerini, sarı renkli difenilpikrilhidrazine indirger. Ekstraktların DPPH radikallerini konsantrasyona bağlı olarak doğru orantılı şekilde giderdiği görülmüştür (Şekil 3e). Ekstraktların 100 µl'sinin DPPH radikali giderme aktiviteleri standartlar ile kıyaslandığında standartlara çok yakın değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. 100 µl'lik *T. kotschy* ve *T. tomentellum* ile standartlar sırasıyla şu şekilde DPPH radikali giderme aktivitesi sergilemişlerdir; BHA (%91,74) ≥ α-tocopherol (%91,23) ≥ BHT (%90,50) ≥ *T. tomentellum* (%90,17) > *T. kotschy* (%90,0).



Şekil 3. *T. kotschy* ve *T. tomentellum* etanol ekstraktları ve standart antioksidanların *in vitro* antioksidan aktivite sonuçları. Standart antioksidanlar: BHA: Bütillenmiş hidroksianisol, BHT: Bütillenmiş hidroksitoluen ve α -toc: α -tokoferol. **a)** Total antioksidan aktivitelerin zamana bağlı değişimi, **b)** FRAP yöntemiyle demir indirgenmesinin konsantrasyona bağlı değişimi **c)** CUPRAC yöntemiyle bakır indirgenmesinin konsantrasyona bağlı değişimi **d)** ABTS radikal giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı değişimi **e)** DPPH radikal giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı değişimi

3.3. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları

T. kotschy ve *T. tomentellum* etanol ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal özelliklerini aydınlatmak için *B. subtilis*, *S. aureus*, *B. megaterium*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *Y. lipolytica*, *C. albicans* ve *S. cerevisiae* test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri mm olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. *T. kotschy* (Boiss.) Grierson ve *T. tomentellum* (Boiss.) Grierson ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkisi (İnhibisyon zonları mm olarak gösterilmektedir.)

Mikroorganizmalar		<i>T. kotschy</i>			<i>T. tomentellum</i>		
		75 μ l	100 μ l	150 μ l	75 μ l	100 μ l	150 μ l
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	14 $\pm$ 1,00	15 $\pm$ 0,00	17 $\pm$ 1,52	15 $\pm$ 0,00	17 $\pm$ 1,00	20 $\pm$ 0,57
	<i>S. aureus</i>	-	-	18 $\pm$ 1,00	21 $\pm$ 1,15	22 $\pm$ 0,57	27 $\pm$ 1,73
	<i>B. megaterium</i>	12 $\pm$ 0,00	13 $\pm$ 1,00	14 $\pm$ 0,00	13 $\pm$ 1,00	16 $\pm$ 0,00	17 $\pm$ 1,00
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	12 $\pm$ 1,00	12 $\pm$ 0,00	14 $\pm$ 0,57	15 $\pm$ 0,00	17 $\pm$ 0,00	19 $\pm$ 1,15
	<i>E. coli</i>	15 $\pm$ 1,52	16 $\pm$ 1,15	18 $\pm$ 1,52	17 $\pm$ 1,73	19 $\pm$ 1,15	21 $\pm$ 0,57
	<i>P. aeruginosa</i>	12 $\pm$ 0,00	15 $\pm$ 1,00	16 $\pm$ 0,00	16 $\pm$ 0,57	18 $\pm$ 1,00	20 $\pm$ 1,52
	<i>K. pneumonia</i>	18 $\pm$ 1,15	20 $\pm$ 1,73	27 $\pm$ 1,15	14 $\pm$ 1,00	16 $\pm$ 0,00	20 $\pm$ 1,73
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	13 $\pm$ 0,00	18 $\pm$ 1,52	20 $\pm$ 1,00	15 $\pm$ 0,00	18 $\pm$ 0,57	22 $\pm$ 1,00
	<i>C. albicans</i>	18 $\pm$ 1,00	20 $\pm$ 0,57	28 $\pm$ 1,73	15 $\pm$ 1,52	19 $\pm$ 1,15	22 $\pm$ 0,57
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	13 $\pm$ 0,00	16 $\pm$ 1,00	18 $\pm$ 0,00

-: inhibisyon zonu oluşmadı.

T. kotschyi ve *T. tomentellum* ekstraktları 12 mm ile 28 mm arasında antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *T. kotschyi* ekstraktının en fazla antimikrobiyal aktiviteyi *C. albicans* üzerinde ($28\pm1,73$ mm), en az antimikrobiyal aktiviteyi ise *E. aerogenes*, *B. megaterium* ve *P. aeruginosa* üzerinde gösterdiği belirlenmiştir. *T. tomentellum* ekstraktı en az aktiviteyi *B. megaterium* ve *S. cerevisiae* üzerinde gösterirken, en fazla aktiviteyi ise *S. aureus* üzerinde ($27\pm1,73$ mm) gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca *T. kotschyi* ekstraktının *S. cerevisiae* üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Ekstraktların konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak antimikrobiyal etkinin de arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca çözücü olarak kullanılan DMSO'nun test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Antibiyotiklerin test mikroorganizmalar üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 5'te gösterilmektedir. *T. kotschyi* ve *T. tomentellum* ekstraktları kontrol amaçlı olarak kullanılan antibiyotikler ile karşılaştırıldığında genel itibariyle eşit ölçüde inhibisyon zonu oluşturarak, benzer antimikrobiyal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir.

Tablo 5. Antibiyotik disklerinin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi (İnhibisyon zonları mm olarak gösterilmektedir.)

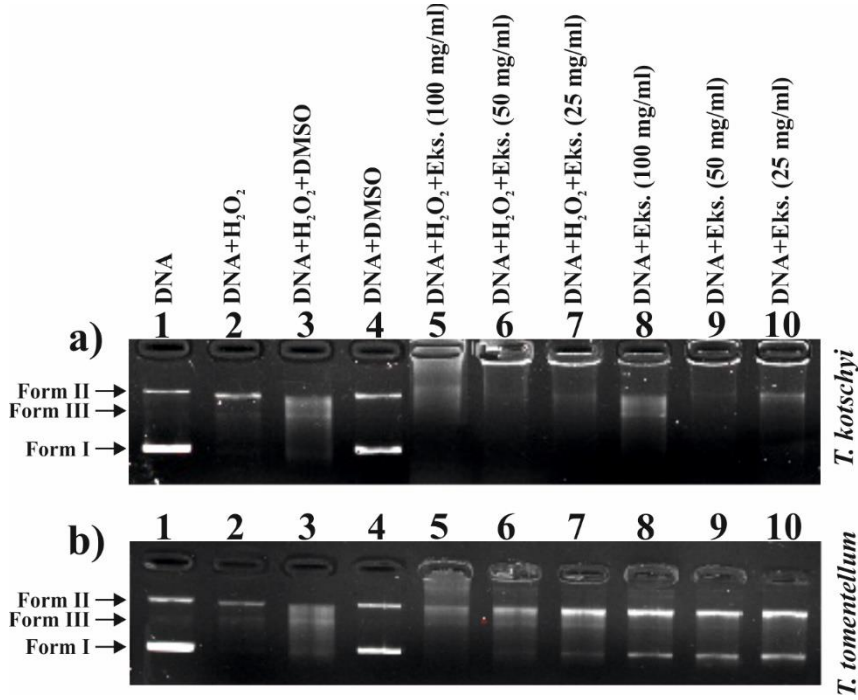
Mikroorganizmalar		Antibiyotikler				
		Eritromisin	Ampisillin/ sulbactam	Amikasin	Rifampisin	Flukonazol
Gram pozitif	<i>B. subtilis</i>	20±0,00	14±1,15	11±1,00	21±0,00	-
	<i>S. aureus</i>	21±1,00	10±0,00	9±0,00	18±1,15	-
	<i>B. megaterium</i>	25±0,00	- ²	10±1,00	16±0,00	-
Gram negatif	<i>E. aerogenes</i>	27±1,00	10±1,00	9±0,00	16±1,00	-
	<i>E. coli</i>	19±1,52	13±0,00	13±0,00	18±0,00	-
	<i>P. aeruginosa</i>	19±0,00	-	14±1,15	8±0,00	-
	<i>K. pneumonia</i>	19±1,73	16±0,57	10±0,00	19±1,73	-
Fungus	<i>Y. lipolytica</i>	-	-	-	-	21±0,00
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	23±1,52
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-

-: inhibisyon zonu oluşmadı.

3.4. DNA koruyucu aktivite

DNA, canlılarda farklı formlarda bulunabilir ve bu formlar canlının genetik karakterine göre şekillenirler. Herhangi bir molekül bu DNA ile etkileştiğinde bu formların bozulmasına veya birbirlerine dönüşmesine neden olabilir. DNA'nın çift zincirli süper sarmal yapısı form I olarak bilinir. Form I yapısını teşkil eden iplikçiklerden birinin kırılması sonrasında agaroz jelde daha yavaş hareket eden ve form I'e göre daha gevşek yapıya sahip form II meydana gelir. Buna ek olarak diğer zincirin kırılması sonrasında DNA lineer hale gelir ve bu yapı form III olarak bilinir [31]. İlgili DNA molekülü agaroz jel üzerinde yürütülerek bu formlar görüntülenebilir.

Ekstraktların plazmid DNA ile etkileşimi sonucunda oluşan değişiklikler, Form I, Form II ve Form III dönüşümü gözlemlenerek belirlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Ekstraktların pBR322 plazmid DNA'sı üzerindeki koruyucu etkilerini gösteren agaroz jel görüntüsü. **a)** *T.kotschy* ekstraktının etkisi **b)** *T.tomentellum* ekstraktının etkisi

Jel görüntüsüne göre H_2O_2 'nin tek başına Form I'i parçaladığı, DMSO ile birlikte DNA'yı tamamen yok ettiği gözlenmiştir. DMSO'nun tek başına DNA'yı kısmen etkilediği belirlenmiştir. *T. kotschy* ekstraktının, H_2O_2 +DMSO'un birlikte verdiği süpürücü etkiyi azaltmamakla birlikte tek başına uygulandığında DNA'yı parçalayarak kararsız hale gelmesine neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 4a). Bunun aksine *T. tomentellum*'dan elde edilen ekstraktın artan konsantrasyonuna bağlı olarak, H_2O_2 +DMSO'un süpürücü etkisini ortadan kaldırarak DNA'yı kararlı hale getirdiği gözlenmiştir (Şekil 4b).

4. Sonuç ve Yorum

Yapılan literatür araştırmasında *T. kotschy* ve *T. tomentellum* ile ilgili fenolik içerik ve biyolojik aktivite araştırmalarına ait çalışmaların çok kısıtlı olduğu görülmüştür. Bundan dolayı bu çalışmada *T. kotschy* ve *T. tomentellum* etanol ekstraktlarının HPLC ile fenolik madde miktarları ve *in vitro* biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır.

Tanacetum'un farklı bir türünde yapılan bir çalışmada ekstraktın HPLC-MS analizi sonucunda az oranda gentisik asit, luteolin, kafeik asit ve klorojenik asit tespit edilmesine karşın en fazla miktarda kuersetin ($27,61 \pm 0,39 \mu\text{g} / \text{g}$) ve apigenin ($9,71 \pm 0,18 \mu\text{g} / \text{g}$) varlığı tespit edilmiştir [32]. LC-MS cihazı ile yapılan başka bir çalışmada ise üç farklı *Tanacetum* türünün fenolik içeriklerine bakıldığında *T. vulgare* ekstraktında kuersetin belirlenebilmesine karşın her üç türde de kaemferol ve apigenin varlığı tespit edilememiştir [33]. *T. vulgare* üzerine olan benzer bir çalışmanın iki farklı ekstraktında kuersetin belirlenirken, *T. vulgare* (Sibiu) ekstraktında ise apigenin varlığı tespit edilebilmiştir. Ayrıca her iki ekstraktada kafeik asit ve kaemferolün önemsenmeyecek derecede az olduğu bildirilmiştir [34].

Bu çalışmada 14 farklı fenolik madde içeriğine bakıldı ve gallik asit her iki ekstraktta, salisilik asit ise *T. tomentellum* ekstraktında tespit edilememiştir. Sonuçların daha önceki çalışmaların sonuçlarından farklı olmasının nedeni kullanılan bitki türleri ve çözücülerin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tanacetum cinsine ait çeşitli *in vitro* antioksidan çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada *T. abrotanifolium* türünün farklı ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve metanol-diklorometan ekstraktının total antioksidan kapasitesinin en yüksek olduğu bildirilmiştir [35]. Başka bir çalışmada *T. gracile* türüne ait farklı ekstraktlar hazırlanmış ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre bitki ekstraktlarının indirgeme kapasitesinin standartlara çok yakın olduğu rapor edilmiştir [36]. Benzer bir çalışmada *T. macrophyllum* etanol ekstraktının çok güçlü indirgeme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir [37]. Aynı çalışmada *T. macrophyllum* uçucu yağlarının ABTS radikallerini süpürme aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada bitkinin troloks antioksidanına göre çok daha yüksek aktivite sergilediği rapor edilmiştir [37]. Ayrıca *T. parthenium* uçucu yağlarının DPPH radikallerini süpürme aktivitelerinin çok yüksek olduğu ve doğal antioksidan olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir [38]. DPPH radikal giderme aktivitesi ile ilgili *T. kotschy* (Boiss.) metanol ve etilasetat ekstraktları ile yapılan bir çalışmada, metanol ekstraktının BHT ve α -tokoferol standartlarının aktivitelerine yakın etki gösterdiği bildirilmiştir. CUPRAC metodu kullanılarak yapılan bu bitkiye ait herhangi bir antioksidan çalışmaya rastlanılmamıştır.

T. kotschy ve *T. tomentellum* etanol ekstraktları ile yapılan bu çalışmanın sonuçlarında ekstraktların BHA, BHT ve α -tokoferol standartlarına yakın veya daha yüksek antioksidan aktivite sergilemişlerdir. Fenolik içerikleri ile kıyaslandığında antioksidan özelliklerinin fenolik içerikleriyle paralel olduğu ve yukarıdaki çalışmaları desteklediği belirlenmiştir.

İnsan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ve zararlı mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü özellikleri bakımından bitkiler, son yüzyılda bir çok araştırmacı için ilgi odağı olmuştur [39]. Önceki çalışmalarda *T. corymbosum* ekstraktının *S. aureus* üzerinde en iyi antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu, ancak *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda ekstraktların *C. albicans* ve *C. parapsilosis* üzerinde önemli seviyede antifungal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [33]. Başka bir çalışmada *T. kotschy* bitkisinin gövdesinden elde edilen ekstraktın *C. parapsilosis*’ e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir [40]. Farklı bir tür üzerinde yapılan çalışmada *T. vulgare* ekstraktlarının *C. albicans*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği *B. subtilis* ve *S. aureus* üzerinde kısmen antibakteriyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [34]. *T. zahlbruckneri* (Náb.) Grierson heksan ekstraktının, Gr (-) bakteriler (*E. coli* ve *P. vulgaris*) ve mantar (*A. niger*) üzerinde herhangi bir aktivite göstermediği ancak Gr (+) bakteriler üzerinde orta derecede etkili olduğu bildirilmiştir [41].

Bu çalışmada ekstraktların sadece *S. cereviciae* üzerinde etki göstermediği ancak diğer tüm test mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ekstraktların eritromisin ve rifampisine benzer oranda, ampicillin/sulbactam ve amikasin den daha iyi antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda ekstraktların flukonazol’e benzer oranda antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Antioksidanların ortamda bulunan H_2O_2 gibi çeşitli molekülleri elimine ederek DNA üzerinde koruyucu etkilerinin bulunduğunu belirten çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ekstraktın biyolojik aktivite çalışmalarının son aşamasında DNA koruyucu aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada *Asteraceae* familyasına ait *Cyanthillium cinereum* su ekstraktının DNA’yı H_2O_2 ’in oluşturduğu hasara karşı koruduğu tespit edilmiştir [42]. Türkiye’de sivas çevresinden toplanmış olan *I. oculus-christi* toprak üstü kısımlarından elde edilen su ekstraktının H_2O_2 ve UV ışınları uygulanarak hasara uğratılan pBR322 DNA plazmiti üzerinde, koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir [43]. Bu çalışmada *T. kotschy* etanol ekstraktının DNA üzerinde bir etki göstermediği, *T.*

tomentellum ekstraktının ise H₂O₂'nin süpürücü etkisini ortadan kaldırarak DNA'yı kararlı hale getirdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak daha önce yapılan çalışmalarda bu bitki türüne ait sınırlı sayıda çalışma olduğundan, bu çalışmanın literatüre önemli bir katkı sağlayacağı, ileri düzeyde yapılacak farmakolojik çalışmalar için bir kaynak olabileceği, fenolik içerikleri ve biyolojik aktivite sonuçları göz önünde bulundurulduğunda bu bitkilerin doğal antioksidanlar olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Kaynakça

- [1] A. L. Branen, "Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene", *J Am Oil Chem Soc.*, vol. 52, p.59-63, 1975.
- [2] J. G. Sebranek, V. J. H. Sewalt, K. L. Robbins and T. A. Houser, "Comparison of a Natural Rosemary Extract and BHA/BHT for Relative Antioxidant Effectiveness in Pork Sausage", *Meat Sci.*, vol. 69: pp. 289-296, 2005.
- [3] A. S. Alkofahi, A. Abdelaziz, I. Mahmoud, M. Abuirjie, A. Hunaiti and A. El-Oqla, "Cytotoxicity, mutagenicity and antimicrobial activity of forty jordanian medicinal plants", *Int J Crude Drug Res.*, vol. 28(2), pp. 139-144, 1990.
- [4] E.O. Wilson, "Biodiversity", *National Academic Press*, Washington, 1986.
- [5] K. Bremer, "Asteraceae: Cladistics and Classification" *Timber Press*, Portl. Oregon, 1994.
- [6] M. Mucciarelli, M. Maffei and C.W. Wright, "Introduction To The Genus". *Taylor R & Francis Publishing*, Newyork, Pp.1-51, 2002.
- [7] P. H. Davis (Ed.), "Flora Of The Turkey And The East Aegean Islands", *Edinburgh University Press*, Vol. 1- 9, Edinburgh, 1985.
- [8] P. H. Davis, R. R. Mill and K. Tan, "Flora Of Turkey And The East Aegean Islands", *Edinburgh University Press*, Vol.10, Edinburgh 1988.
- [9] N. Özhatay and Ş. Kültür, "Check- List Of Additional Taxa To The Supplement Flora Of Turkey III", *Tr. J. Bot.*, vol. 30, pp. 281-316, 2006.
- [10] M. Doğan, "Türkiye Jurinea Cass. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu", Doktora Tezi, Selçuk Üniv., Fen Bilimleri Ens., Konya, 2007.
- [11] CH. Oberprieler, R. Vogt and LE. Watson, (Tribe Anthemideae Cass. In: Kadereit JW, Jeffrey C, editors), "The Families and Genera of Vascular Plants", *Springer*, Vol. 8, 2007.
- [12] M. Korkmaz, A. Kandemir, V. İlhan and N. Doğan Yıldırım, "Tanacetum erzincanense (Asteraceae), a new species from Erzincan, Turkey", *Turk J Bot*, vol. 38, 2014.
- [13] A. J. C. Grierson, (Tanacetum L. Davis, P. H., (Ed.)), "Flora Of The Turkey And The East Aegean Islands", *Edinburgh University Press*, Vol. 5, Edinburgh, 1975.
- [14] N. Çelik, "Türkiye'nin Tanacetum Türleri Üzerinde Sistematik ve Kimyasal Bir araştırma", Doktora tezi, Ankara Üniv., Ankara, 1977.
- [15] A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural ve M.T. Babac, "Türkiye Damarlı Bitkiler Listesi", *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, İstanbul, s. 118-120, 2012.
- [16] P. Gürbüz, D. Eroğlu, Ş.D. Doğan, G. Şeker Karatoprak, M.Yavuz Paksoy ve M. Koşar "Tanacetum Zahlbruckneri (Náb.) Grierson' nun Sekonder Metabolitleri ve Antioksidan Etkileri" *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*; 26 (1), 2017.
- [17] T. Sibanba and A.I. Okoh, "The challenges of overcoming antibiotic resistance plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents", *Africa J. Biotech.*, V: 6(25), pp. 2886-2896, 2007.
- [18] H.M. Shang, H.Z. Zhou, J.Y. Yang, R. Li, H. Song, and H.X. Wu "In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin." *PloS one*, 13(2), e0192273. 2018.
- [19] Y. Alan, A. Savcı, B. Çakmak and H. Kurt, "Determination of The Antimicrobial and Antioxidant Activities of Satureja hortensis Ingredients" *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi/ Journal of The Institute of Natural and Applied Sciences* 21 (2) 167-177, 2016.
- [20] D. Ahmed , M. Mehboob Khan and R. Saeed "Comparative Analysis of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant and Antibacterial Potential of Methanolic, Hexanic and Aqueous Extracts from Adiantum caudatum Leaves" *Antioxidants*, 4, 394-409, 2015.
- [21] S. Tapan, "Quantitative HPLC Analysis of Phenolic Acids, Flavonoids and Ascorbic Acid in Four Different Solvent Extracts of Two Wild Edible Leaves, Sonchus Arvensis and Oenanthe Linearis of North-Eastern Region in India", *J. appl. pharm. sci.*, vol. 6 (2), 157-166, 2016.
- [22] H. Mitsuda, K. Yasumoto and K. Wami, "Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid", *Eiyoto Shokuryo*, vol. 19, pp. 210-214, 1966.
- [23] M. Oyaizu, "Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine", *Jpn J Nutr.*, vol. 44, pp. 307-315, 1986.

- [24] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, S.E. Karademir and E. Erça “The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas.” *Int J Food Sci Nutr*, 57, 292–304, 2006.
- [25] L. Wu, L. Chang, S. Chen, N. Fan and J.A. Ho, “Antioxidant activity and melanogenesis inhibitory effect of the acetonic extract of *Osmanthus fragrans*: A potential natural and functional food flavor additive”, *LWT- Food Sci Technol Res.*, vol. 42, pp. 1513-1519, 2009.
- [26] M.S. Blois, “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical”, *Nature*, vol. 26, pp. 1199-1200, 1958.
- [27] O. Sağdıç, A.G. Karahan, M. Özcan and G. Özkan, “Effect of Some Species Extracts on Bacterial Inhibition”, *Food Sci Technol Int.*, vol. 9(5), pp. 353-356, 2003.
- [28] J. Hindler, “Tests to assess bactericidal activity”, In *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Ed, Eisenberg HD. Washington, DC: *American Society for Microbiology*, pp. 5.16.14-5.16.24, 1992.
- [29] T. L. Siddall, D. G. Ouse, Z. L. Benko, G. M. Garvin, J. L. Jackson, J. M. McQuiston, M. J. Ricks, T. D. Thibault, J. A. Turner, J. C. VanHeertum and M.R. Weimer, “Synthesis and Herbicidal Activity of Phenyl-substituted Benzoylpyrazoles”, *J Pest Sci.*, vol. 58, pp. 1175-1186, 2002.
- [30] M. Londershausen, “Approaches to new parasiticides”, *J Pestic Sci.*, vol. 48 (4), pp. 269-292, 1996.
- [31] H. Zhang, J.M. Barcelo, B. Lee, G. Kohlhagen, D.B. Zimonjic, N.C. Popescu and Y. Pommier, “Human Mitochondrial Topoisomerase I”, *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 98(19), pp. 10608-10613, 2001.
- [32] D. Hanganu, D. Benedec, L. Vlase, I. Popica, C. Bele, O. Raita, A.Gheldiu, C. V. Mihalı and V. Țărmure, “Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of *Chrysanthemum Parthenium* Extract”, *Farmacia*, vol. 64, 4, pp. 49 8, 2016.
- [33] B. Ivănescu , C. Tuchiluş , A. Corciovă , C. Lungu , C. T. Mihai , A.Gheldiu and L. Vlase, “Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Tanacetum Vulgare*, *Tanacetum Corymbosum* and *Tanacetum Macrophyllum* Extracts”, *Farmacia*, Vol. 66, pp. 2, 2018.
- [34] M. Mureşan, D. Benedec, L. Vlase, R. Oprean, A. Toiu and I. Oniga, “Screening Of Polyphenolic Compounds, Antioxidant And Antimicrobial Properties Of *Tanacetum Vulgare* From Transylvania”. *Studia Ubb Chemia*, Lx, vol. 1, PP. 127-138, 2015.
- [35] İH. Geçibesler, “In Vitro Biological Activity Studies on *Tanacetum Abrotanifolium* (L.) Druce (Asteraceae)”. *Anadolu Univ. J. of Sci. and Technology A – Appl. Sci. and Eng.* Vol. 18 (2), 2017.
- [36] M. Bhatnagar, AS. Avasthi and AS. Ghosal, “In Vitro Antibacterial and Antioxidant Activity of High Altitude Medicinal Plant *Tanacetum Gracile*”. *Int J Pharm Bio Sci Apr* ; vol. 8(2): (B), pp. 914-921, 2017.
- [37] A. Venditti, C. Frezza, F. Sciubba, M. Serafini, A. Bianco, K. Cianfaglione, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci and F. Maggi, “Volatile components, polar constituents and biological activity of tansy daisy (*Tanacetum macrophyllum* (Waldst. et Kit.) Schultz Bip.)”, *Ind Crops Prod.*, vol. 118, pp. 225–235, 2018.
- [38] F. Rezaei, R. Jamei and R Heidari, “Evaluation of the Phytochemical and Antioxidant Potential of Aerial Parts of Iranian *Tanacetum parthenium*”. *Res Pharm Sci*, vol. 23, 136-142, 2017.
- [39] M. Digrak, M.H. Alma, A. İlçim and S. Sen, “Antibacterial and Antifungal Effects of Various Commercial Plant Extracts”, *Pharm Biol.*, vol. 37(3), pp. 216-22, 1999.
- [40] T. Öztekin, “*Tanacetum kotschy* (Boiss.) Bitkisi Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar ve Biyoaktivite Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv., Fen Bilimleri Ens., İstanbul, 94-98.
- [41] F. P. Çağlar, “*Tanacetum Zahlbruckneri* (Náb.) Grierson Bitkisi Üzerinde Yağ Asitleri Tayini Ve Biyoaktivite Çalışmaları”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Ens., İstanbul, S. 102, 2011.
- [42] G. Guha, V. Rajkumar, R. A. Kumar and L. Mathew, “Therapeutic Potential of Polar and Non-polar Extracts of *Cyanthillium cinereum* In vitro”, *eCAM*, PP. 1 of 11, 2009.
- [43] Ş. Berk, B. Bektaş and S. Arslan, “Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Inula oculus-christi*”, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, Vol. 5(14), pp. 1695-1702, 2011.