

## Kırmızı Gelincik (Fam: Papaveraceae, *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) Bitkisinin Farklı Özütlerinin Besin Elementi İçeriğinin ve *In Vitro* Antiproliferatif Etkilerinin Değerlendirilmesi

Handan SARAÇ<sup>1</sup>, Taner DAŞTAN<sup>2</sup>, Hasan DURUKAN<sup>1</sup>, Sevgi DURNA DAŞTAN<sup>3</sup>, Ahmet DEMİRBAŞ<sup>1</sup>, Tolga KARAKÖY<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Sivas/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Cumhuriyet üniversitesi, Yıldızeli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sivas/TÜRKİYE

<sup>3</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyometri ve Genetik Anabilimdalı, Sivas/TÜRKİYE  
Sorumlu yazar: handansarac@cumhuriyet.edu.tr

Geliş tarihi:31/08/2018 Yayına kabul tarihi:30/11/2018

**Özet:** Gelincik, ismini verdiği *Papaveraceae* yani Gelincikgiller familyasından, tüm dünyada geniş yayılma alanına sahip olan tek yıllık bir bitki türüdür. Gelincik bitkisinin yeşil yaprakları kavruarak veya salata olarak tüketilir. Ayrıca, halk ilacı olarak da kullanımı yaygındır. Halk arasında sarı renkli olanlarının çeşitli iltihabik hastalıklara iyi geldiğine inanılırken, kırmızı renkli olanlarının kuvvetli antioksidan ve antikanserojen olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, ülkemizde yayılış gösteren ve halk arasında tıbbi amaçlı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinen kırmızı gelincik (*Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) bitkisinin besin elementleri konsantrasyonlarının, su ve etanol ekstraktlarının antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, sitotoksik etkileri, meme kanseri hücre hattı (MCF-7) kullanılarak değerlendirilmiş ve sağlıklı hücreler üzerindeki etkileri insan epitelial hücreleri (HUVEC) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hücre proliferasyon testleri XTT kiti kullanılarak, 450-500 nm’de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Araştırma bulguları besin elementleri konsantrasyonları bakımından değerlendirildiğinde, Gelincik bitkisinin %3.25 N, %0.110 P,%2.13 K, %0.44 Ca, %0.10 Mg, 205.9 mg/kg Fe, 21.1 mg/kg Zn, 22.7 mg/kg Mn ve 6.1 mg/kg Cu konsantrasyonlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, insan sağlıklı epitelial hücreleri üzerinde antiproliferatif etkileri gözlenmemiştir. MCF-7 hücreleri üzerinde orta dereceli hücre büyümesini durdurucu etkileri belirlenmiştir. Diğer taraftan, hücre içinde antioksidan aktivitelerinin bulunduğu total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) testleriyle belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinlikleri de çeşitli gram pozitif, gram negatif ve mantar suşu üzerinde MIC değerlerinin bulunmasıyla ortaya konulmuştur. Zayıf düzeyde antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antikanser, Antimikrobiyal aktivite, Besin elementleri, *Glaucium* sp., Kırmızı gelincik.

### Nutrient Composition and *In Vitro* Anti-proliferative Effects of Different Extracts of Red Poppy (Fam: Papaveraceae, *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) Plants

**Abstract:** Red poppy, belongs to *Papaveraceae* family and it is a quite widespread annual plant worldwide. Green leaves of red poppy plants are either fried or consumed as fresh in salads. It is also widely used in folk medicine. Yellow ones are believed to be well for inflammatory diseases and red ones are believed to be strong antioxidant and anti-carcinogen. In this study, nutrient concentrations of red poppy (*Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) plants, quite widespread in Turkey and used in folk medicine for treatment of various diseases were determined.

Anticarcinogenic, antioxidant and antimicrobial effects of water, and ethanol extracts of the plants were also investigated. Cytotoxic effects of the plants were assessed through breast cancer cell lines (MCF-7) and the effects on healthy cells were compared by using Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC). Cell proliferation tests were conducted spectrophotometrically at 450-500 nm by using XTT kit.

Nutrient concentrations of red poppy plants were determined as follows: 3.25% N, 0.110% P, 2.13% K, 0.44% Ca, 0.10% Mg, 205.9 mg Fe kg<sup>-1</sup>, 21.1 mg Zn kg<sup>-1</sup>, 22.7 mg Mn kg<sup>-1</sup> and 6.1 mg Cu kg<sup>-1</sup>. Plants did not have any anti-proliferative impacts on human healthy endothelial cells. They had moderate growth-inhibiting effect on MCF-7 cells. On the other hand, in-cell antioxidant activities were determined through total antioxidant (TAS) and total oxidant (TOS) tests. Antimicrobial effects were put forth through finding MIC values on several gram positive, gram negative and fungus strains. Low antimicrobial effect levels were observed.

**Keywords:** Anticarcinogenic, Antimicrobial activity, *Glaucium* sp., Nutrient, Red poppy.

## Giriş

Gelincik (*Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) *Papaveraceae* ailesinden, geniş bir yayılma alanına sahip, tek yıllık bir bitkidir. Gövdesi dik ve tüylü, yaprakları mavimsi renklidir, boyu 90 cm'e kadar ulaşabilir. Dalların ucunda bulunan çiçeklerin genel rengi koyu kırmızıdır, dip kısmı siyah lekeli veya lekesizdir. Çiçekler döküldükten sonra kalan meyveleri tüysüz ve fiçı biçiminde çok tohumlu bir kapsüldür (Davis, 1965-1985).

*Glaucium* cinsi, dünya üzerinde 24 tür ile temsil edilmektedir ve ülkemizde 7 türü yabancı olarak yetişmektedir (Popov, 1937; Cullen, 1965; Cullen, 1966). Bu türlerden biri olan *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*; Bilecik, Bolu, Çankırı, Erzurum, Ankara, Konya, Kayseri, Sivas, Maraş, Muş ve Gaziantep' te tarla kenarları, yol kenarları ve kayalık yamaçlarda yayılış gösterir. Çiçeklenme zamanı Mayıs ve Haziran aylarıdır (Ünsal, 1998).

Gelincik, halk arasında hem gıda amaçlı hem de tıbbi amaçlı kullanılan bir bitkidir. Gelinciğin yeşil kısımlarından, tohumlarından ve kırmızı taç yapraklarından yararlanır. Yeşil yaprakları kavru olarak veya salata olarak tüketilir. Taç yapraklarından geleneksel olarak gelincik şerbeti yapılır. Nezle, bronşit ve soğuk algınlıklarında kullanılır, balgam sökücüdür, uykusuzluğa karşı etkili olur (Zeybek ve Zeybek, 2002; Kültür, 2007).

Yabancı bitkiler günlük diyetlerde önem arz eden vitamin, mineral ve protein içeriği açısından zengin kaynaklar olup (Çolakoğlu ve Bilgir, 1977; Yücel ve Tunay, 2002), fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedirler. Fonksiyonel gıdaların kanser gibi ciddi sağlık sorunlarının ortaya çıkma risklerini önleme ve/veya azaltma etkileri bulunmaktadır (Anonim., 2004; Sarkar, 2007). Yabancı bitkiler aynı zamanda güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler içerirler (Ho ve ark., 1994; Kırca, 2007). Antioksidantlar, oksidasyonu başlangıç ve/veya gelişme basamağında önleyen veya geciktiren maddelerdir. Biyolojik sistemlerde antioksidant aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli ve temel bir ihtiyaçtır (Nishina ve ark., 1991). Yapılan çalışmalarda, yabancı bitkilerin bazılarının antioksidan kapasitelerinin, sentetik antioksidanlardan daha fazla olduğu kanıtlanmıştır. (Çoban ve Patr, 2010).

Son yıllarda, çoklu antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların sayısındaki artış yüzünden, bu mikropların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi giderek zorlaşmaya başlamıştır. Günümüzde hastalık etmeni bakteriler bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte ve ilaç dirençliliği hızla artarak, yayılmaktadır. Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak kullanılmaktadır (Yarnell ve Abascal, 2004). Son yıllarda tıbbi amaçlarla kullanılan bitkilerin antimikrobiyal etkileri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (Kırbağ ve Zengin,

2006; Kırbağ ve Bağcı, 2000; Dığrak ve ark., 1999; Kırbağ, 1999; Sür ve ark., 1998; Demirbağ ve ark., 1997). Bazı çalışmalar, bitkilerin tedavi edici etkilerinin tek bir etken maddeden ziyade çok sayıda bileşimin sinerjik etkisinden kaynaklandığını, bu nedenle bitkisel bileşimlerin tek bir antibiyotikle öldürülmesi zor olan mikroorganizmaların dirençliliğine karşı koyarak daha etkin bir tedavi sağladığını rapor etmektedir (Sree ve ark., 2010, Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Ayrıca bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve bitkisel ekstraktların gıdalarda doğal antimikrobiyal olarak kullanılabileceği yapılan bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır (Kotzekidou ve ark., 2007).

Kendilerine özgü lezzet ve aromaları, antimikrobiyel, antioksidan ve antikanserijen özellikleri nedeniyle, yabani bitkiler geniş bir bioaktivite profiline sahiptir (Çoban ve Patır, 2010). Ülkemizin coğrafik yapısı ve iklim özellikleri, son derece zengin bitki çeşitliliğine olanak sağlamaktadır (Önde ve Vurdu, 1988). Fakat, ülkemizde farklı bölgelerde gıda olarak tüketilen yabani bitkilerin tanımlanması, kullanım amaçları ve besin değerlerinin belirlenmesine yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Yücel ve ark., 2010; Yapıcı ve ark., 2009; Yücel, 2008; Kırbağ ve Zengin, 2006; Demir, 2006; Kaya ve ark., 2004; Yücel ve Tülükoğlu, 2000).

Bu çalışmada, ülkemizde yayılış gösteren ve halk arasında tıbbi amaçlı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinen gelincik (*Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*) bitkisinin besin elementleri konsantrasyonlarının ve su ve etanol ekstraktlarının antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

**Bitki Örneği:** Çalışmada kullanılan Gelincik (*Glaucium grandiflorum* Boiss.& Huet var. *grandiflorum*) bitki örnekleri 2018 yılı Mayıs ayında Sivas merkez Cumhuriyet Üniversitesi kampüsünden

çayırılık alanlardan 1250-1350 m yükseklikten toplanmıştır. Bitkinin tür teşhisi Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü Öğretim üyesi Dr. Erol Dönmez tarafından yapılmıştır. Toplanan bitkiye ait bir örneğe herbaryum numarası (18052) verilerek etiketlenmiş ve Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü Herbaryumu'nda (CUFH) kayıt altına alınarak saklanmıştır.

**Bitkinin Kurutulması:** Toplanan örneklerin yenilebilen kısımları kök ve saplarından ayıklandıktan sonra Makro ve Mikro besin elementi tayini için, çeşme suyu ve saf su ile yıkandıktan sonra 48 saat boyunca sabit ağırlığa gelene kadar 70 °C'de etüvde kurutulmuştur. Ekstraksiyon için, oda koşullarında ve gölgede kurutulmuştur. Daha sonra, analizlerde kullanılmak üzere renkli kavanozlarda muhafaza edilmiştir.

**Bitki Ekstraktlarının Hazırlanışı:** Kurutulan bitki örnekleri ev tipi rondoda öğütüldükten sonra su ve etanol çözücüleri kullanılarak ekstraktlar hazırlanmıştır. Su ekstraksiyonu için, 100 g kuru bitki örneği üzerine 1000 mL 80 °C sıcaklıktaki distile su (katı:sıvı oranı 1:10) ilave edilmiş ve bitki örneği 30 dakika süreyle demlenmeye bırakılmıştır (Mata ve ark., 2007). Daha sonra sıcak olarak filtre kağıdından süzülmüş ve liyofilize edilerek çözücü uzaklaştırılmıştır

Etanol ekstraksiyonu için; 100 g toz haline getirilmiş kuru bitki örneği üzerine 1000 mL etanol eklenerek, sokslet düzeneğinde 6 saat süre ile özütleme işlemi yapılmıştır. Özütleme işlemi sonunda özütler filtre kâğıdından (Whatman mavi band) süzülmüş,. daha sonra çözücü rotary evaporatorde (Buchi) 40°C'de buharlaştırılmıştır. Bitkilerden ekstrakte edilebilen bileşiklerin verimlilik tayini için özütlerin tartımı alınmıştır. Su ve etanol ekstraksiyonlarında sırasıyla %3.42 ve %3.98 (w/w) verimlilikte özütler elde edilmiştir.

Bitki özütlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırılması için her bir özüt 1 mg/mL olacak şekilde distile su içerisinde çözülerek stok materyali oluşturulmuştur. Sonraki basamaklarda, mikrobiyal aktiviteler için

dimetil sülfoksit (DMSO) ve hücre kültürleri için Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) içerisinde seyreltmeler yapılmıştır.

**Makro ve Mikro Besin Elementi Analizleri:** Sabit ağırlığa gelene kadar 70 °C'de etüvde kurutulan bitki örnekleri, agat değirmende öğütülülerek, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-HNO<sub>3</sub> asit karışımı ile yaş yakmaya tabi tutulmuştur. Fosfor (P) konsantrasyonu, kolorimetrik olarak 882 nm'de spektrofotometrede (Murphy ve Riley, 1962)'e göre, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), mangan (Mn), çinko (Zn) ve bakır (Cu) konsantrasyonları Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (Shimadzu AA-7000) ile belirlenmiştir. Gelincik bitkisinin azot (N) konsantrasyonları ise Kjeldahl destilasyon yöntemine göre (Bremner, 1965) belirlenmiştir. Her bir analiz üçer kez tekrarlanmıştır.

**Mikrodilüsyon Broth Yöntemi:** Gelincik bitki ekstralarının mikroorganizmalara karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu'nu (MIC) belirlemek ve antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmek amacıyla mikrodilüsyon broth yöntemi kullanılmıştır (Eloff, 1998). Çalışmada *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Candida tropicalis* (DSM 11953) mikroorganizmaları kullanılmıştır.

Bitki ekstraları %40 Dimethyl sulfoxide (DMSO) içerisinde çözündürülerek derişik çözeltiler hazırlanmış ve bakteriler için Mueller Hinton Broth (Accumix® AM1072), *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* için Sabraud Dekstroz Broth (Himedia ME033) besiyerleri kullanılmıştır. (CLSI, 2002; CLSI, 2012). Bakteriler için 5 x10<sup>5</sup> CFU/mL, *Candida albicans* için 0.5-2.5 x10<sup>3</sup> CFU/mL olacak şekilde her kuyucuğa 50 µl mikroorganizma süspansiyonu eklenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklara 50 µl 2 mg/mL 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) (Merck, Germany) eklenmiş ve 37 °C'de 2 saat inkübe edilerek, renk değişiminin

olmadığı ilk kuyucuklar MIC değeri olarak kabul edilmiştir.

**Hücre Kültürü Çalışmaları:** Araştırmamızda Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF-7) (Human breast adenocarcinoma cell) ve sağlıklı normal insan endotelial hücre hattı (HUVECs) (human umbilical vein endothelial cell) kullanılmıştır.

**Hücrelerin Büyütülüp Çoğaltılması:** MCF-7 ve HUVEC hücreleri, 37 °C' lik %5 CO<sub>2</sub> içeriğine sahip bir inkübatör içinde 25 cm<sup>2</sup> flasklarda (Corning-Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), yüksek glukoz, 2mM L-glutamine ve sodyum piruvat içeren Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ve % 10 Fetal Bovine serum (FBS) içeren besiyerlerinde kültüre edilmiştir. Büyüme ve morfolojileri takip edilen hücreler %90 lık yoğunluk durumuna geldiği zaman, ekim işlemine başlanmıştır. Bu işlem steril bir laminar Flow-kabinde (Nuve MN 120) gerçekleştirilmiştir. Ekim için tercih edilen flaskların ortamı boşaltılmıştır. Flaska yapışan hücrelerin kaldırılması amacı ile ortama 5 mL Tripsin-EDTA (Tripsin- ethylenediaminetetraacetic acid ) solüsyonu (% 0.25) ve steril fosfat tamponu (PBS) eklenmiştir. Tripsinin üzerine 15 mL DMEM eklenmiş ve pipetaj yapılarak flaskların içerisinde iyice yıkanması sağlanmıştır. Flasklar daha sonra bir flask bir falkon olacak şekilde falkonlara aktarılmıştır. Falkonlar 2000 rpm hızda 8 dakika santrifüjlenmiş ve santrifüj işleminden sonra hücrelerin falkonların alt kısmında toplanması sağlanmıştır. Üst faz dökülerek, falkonlara yavaş yavaş vurularak hücreler kaldırılmış ve hücrelerin üzerine 20 mL DMEM ve 5 mL FBS eklenmiştir. 96 kuyucuktan (100 µl/plate boşluğunda 5x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde) her birine 200 µl lik karışım konulmuştur. DMEM, fetal bovine serum (FBS) ve steril fosfat tamponu (PBS) ticari olarak Gibco (Invitrogen)' den temin edilmiştir.

**Hücre Proliferasyon Testi:** MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde bitki ekstralarının sitotoksik aktivitesi XTT hücre proliferasyon kiti (Biotium) ile ölçülmüştür. Deneylere başlarken, XTT solüsyonu

kullanılmadan hemen önce hazırlanmıştır. 5 mL XTT solüsyonu üzerine 25 µl PMS eklenmiş ve vortekslenmiştir. 1 mg/mL stok konsantrasyonda hazırlanan bitki ekstraktları, 50 µg/mL – 1000 µg/mL arasında farklı dozlarda ayarlanarak 24 ve 48 saat boyunca hücre kültürlerine uygulanmıştır. İnkübasyon sonrasında DMEM uzaklaştırılarak, kuyucuklar 2 kez 200 µl fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. Bu sürenin sonunda canlı hücreleri belirlemek için XTT çözeltisinden her bir kuyucuğa 50 µl konularak, 96'lık plateler inkübatöre kaldırılmıştır. Plateler inkübatörde 37 °C'de 5 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde plateler, mikroplate okuyucu cihazına yerleştirilmiştir. Cihazda 450-500 nm de absorbans okuması yapılarak, hücre canlılıkları belirlenmiştir.

**MCF-7 Hücre Kültürlerinde Antioksidan Aktivitelerin Tespit Edilmesi:** Çalışmamız kapsamında bitki ekstraktlarının 1 µg/mL - 1000 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlarda, MCF-7 hücre hattına uygulanması sonucu kanserli hücrelerde meydana gelen değişimlerin ve hücrelerin antioksidan yükündeki değişimlerin bazı biyokimyasal parametreler ile çeşitli analiz kitleri kullanılarak ortaya konulması hedeflenmiştir. Bitki ekstraktlarının, toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviyeyi (TOS) ne şekilde değiştirdiğini göstermek üzere ticari kitler kullanılmıştır (Rel Assay). Öncelikle hücre numunelerine 1/9 (v/v) oranında fosfat tamponu (pH:7.4; 50 mM) eklenmiş ve soğutuculu ortamda homojenizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Homojenizasyondan sonra homojenizat örnekleri, 3000 rpm de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler için kullanılmıştır.

**Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Analizi:** MCF-7 hücre kültürlerinde bitki ekstraktlarının uygulanmasıyla birlikte oluşan TAS, (Erel, 2004) tarafından geliştirilen yöntemde ufak modifikasyonlar yapılarak saptanmıştır (Daştan ve ark., 2014). 660 nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla alakalıdır. Kitin

kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapılmıştır.

**Toplam Oksidan Seviye (TOS) Analizi:** MCF-7 hücre kültürlerindeki TOS, (Erel, 2005) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik ölçüm yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Mevcut oksidanlar; demir iyonunu, demir iyon-o-dianisidin kompleksine oksitlemektedirler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol olarak bulunan gliserol molekülleri tarafından arttırılmaktadır. Ortamda bulunan gliserol, bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarabilmektedir. Ferrik iyonlar asidik ortamda “ksilenol orange” ile kromojen renkli bir kompleks oluştururlar. Analiz hidrojen peroksitle kalibre edilip, sonuçlar litre başına denk mikromolar hidrojen peroksit (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equivalent/L) olarak ifade edilmektedir (Erel, 2005).

**İstatistiksel Analiz:** Verilerin analizinde SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanılmıştır. Bağımlı değişken (Derişim) ile bağımsız değişken (İnhibisyon %) arasındaki nedenselliği matematiksel model şeklinde ortaya koyabilmek için Linear Regression analizi ile test edilmiş ve lineer modeller kullanılarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Veriler % 95 güven düzeyinde incelenmiş olup, p değeri 0,05 ten küçük ise anlamlı kabul edilmiştir.

## Araştırma Bulguları ve Tartışma

### Makro ve Mikro Besin Elementi Bulguları

Doğal ortamından toplanan gelincik bitkisinin makro element analiz sonuçları Tablo 1, mikro element sonuçları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Gelincik bitkisinin bazı makro element konsantrasyonları (%)

Table 1. Some macro element concentrations of poppy plant (%)				
N	P	K	Ca	Mg
3.25	0.110	2.13	0.44	0.10

Gelincik bitkisinin makro element konsantrasyonları incelendiğinde, azot (N), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) konsantrasyonlarının sırasıyla %3.25 N, %0.110 P, %2.13 K, %0.44 Ca ve %0.10 Mg olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Gelincik bitkisinin bazı mikro element konsantrasyonları (mg/kg)

*Table 2. Some micro element concentrations of poppy plant (mg/kg)*

Fe	Zn	Mn	Cu
205.9	21.1	22.7	6.1

Gelincik bitkisinin mikro element konsantrasyonları bakımından Tablo 2 değerlendirildiğinde; demir (Fe)

konsantrasyonunun 205.9 mg/kg, çinko (Zn) konsantrasyonunun 21.1 mg/kg, mangan (Mn) konsantrasyonunun 22.7 mg/kg ve bakır (Cu) konsantrasyonunun 6.1 mg/kg olduğu tespit edilmiştir.

Kaya ve ark., (2004)' nın yaptıkları çalışmada; gelincik bitkisinin demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn), magnezyum (Mg), çinko (Zn), potasyum (K), kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve azot (N) konsantrasyonları sırası ile 17.92 mg/100g Fe, 1.33 mg/100g Cu, 10.64 mg/100g Mn, 0.03 mg/100g Mg, 9.00 mg/100g Zn, 0.32 mg/100g K, 0.27 mg/100g Ca, 0.04 mg/100g P ve %3.640 N olarak belirlenmiştir.

#### **Antimikrobiyal Aktivite Bulguları**

Gelincik bitki özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 3'de görülmektedir.

Tablo 3. Gelincik bitki özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri

*Table 3. Antimicrobial activities of poppy plant extracts*

Bitki Özütleri	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>B.cereus</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>
	ATCC25922	ATCC29213	ATCC27853	ATCC 13883	ATCC11778	ATCC29212	ATCC10231	DSM11953
Gelincik su ekstraktı	>5 mg/ml	<b>0.625 mg/ml</b>	<b>0.625 mg/ml</b>	>5mg/ml	>5mg/ml	<b>0.625 mg/ml</b>	>5 mg/ml	>5 mg/ml
Gelincik etanol ekstraktı	>5 mg/ml	5 mg/ml	2.5mg/ml	>5mg/ml	2.5 mg/ml	>5 mg/ml	<b>1.25mg/ml</b>	<b>1.25mg/ml</b>

Çalışılan örneklerin antimikrobiyal aktivite değerleri 0.1 mg/mL veya daha düşük olduğunda önemli derecede etkili,  $0.1 < MIC \leq 0.625$  mg/ml aralığında orta derecede etkili ve MIC değeri 0.625 mg/ml'den fazla olduğunda zayıf etkili olarak bildirilmektedir (Kuate, 2010; Awouafack ve ark., 2013). Sonuçlarımıza göre, Gelincik bitkisi su fazı ekstraktlarının, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* mikroorganizmaları üzerinde orta dereceli etkili olduğu (MIC değeri: 0,625) söylenebilir. Gelincik bitkisinin su fazı ekstraktları, çalışmamızdaki diğer mikroorganizmalar üzerinde etkili bulunmamıştır. Bitkinin etanol ekstraktlarının ise, *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* üzerinde zayıf derecede etkili olduğu (MIC değeri: 1.25 mg/mL) söylenebilirse de, diğer mikroorganizmalar

üzerinde genel olarak antimikrobiyal aktivitesi hiç gözlenmemiştir.

#### **In vitro Antioksidan Aktivite Bulguları**

Yapılan deneysel çalışma sonucunda; farklı konsantrasyonlarda gelincik ekstraktları uygulanan MCF-7 hücre hatlarında, total antioksidan miktarlarında (TAS), kontrol grubu verilerine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $P < 0.05$ ) artışlar tespit edilmiştir (Tablo 4). Gelincik bitkisinin hem su fazı hem de etanol fazı ekstraktlarının, hücrelerdeki antioksidan değerlerini konsantrasyonlarına bağlı olarak arttırdığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ).

Gelincik bitkisinin farklı konsantrasyonlarda etanol ve su ekstraktı uygulanmış MCF-7 hücre hatlarında, toplam oksidan seviyeleri (TOS) kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldığında, tüm deneysel gruplarda (10-1000  $\mu$ M) istatistiksel olarak

anlamli azalmaların ( $P<0.05$ ) olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, gelincik bitkisinin hem etanol hem de su fazı özütlerinde 1000

$\mu\text{M}$  konsantrasyonlu gruplarda istatistiksel olarak en düşük TOS değerleri tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ) (Tablo 5).

Tablo 4. Farklı konsantrasyonlarda gelincik özütü uygulanmış MCF-7 hücre hatlarında TAS düzeyleri

Table 4. TAS levels in MCF-7 cell lines with different concentrations of poppy extract

TAS Değerleri (mmol/L)	Uygulanan konsantrasyonlar				Kontrol
	Ortalama $\pm$ Std.Hata 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
Gelincik su ekstraktı	0,458 $\pm$ 0,021 <sup>b</sup>	0,513 $\pm$ 0,032 <sup>b</sup>	0,575 $\pm$ 0,033 <sup>c</sup>	0,698 $\pm$ 0,021 <sup>c</sup>	0,402 $\pm$ 0,016 <sup>a</sup>
Gelincik etanol ekstraktı	0,474 $\pm$ 0,011 <sup>b</sup>	0,612 $\pm$ 0,022 <sup>c</sup>	0,650 $\pm$ 0,011 <sup>c</sup>	0,845 $\pm$ 0,031 <sup>d</sup>	0,402 $\pm$ 0,016 <sup>a</sup>

Her satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $P<0,05$ ).

Tablo 5. Farklı konsantrasyonlarda gelincik özütü uygulanmış MCF-7 hücre hatlarında TOS düzeyleri

Table 5. TOS levels in MCF-7 cell lines with different concentrations of poppy extract

TOS Değerleri ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ )	Uygulanan konsantrasyonlar				Kontrol
	Ortalama $\pm$ Std.Hata 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ortalama $\pm$ Std.Hata 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
Gelincik su ekstraktı	0,720 $\pm$ 0,003 <sup>b</sup>	0,565 $\pm$ 0,003 <sup>c</sup>	0,559 $\pm$ 0,005 <sup>c</sup>	0,501 $\pm$ 0,015 <sup>c</sup>	0,838 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>
Gelincik etanol ekstraktı	0,783 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0,555 $\pm$ 0,003 <sup>b</sup>	0,504 $\pm$ 0,003 <sup>b</sup>	0,404 $\pm$ 0,103 <sup>c</sup>	0,838 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>

Her satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar, istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $P<0,05$ ).

### Hücre Proliferasyon Bulguları

Gelincik özütlerinin sitotoksitesi, MCF-7 ve HUVEC hücre hatlarında XTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

MCF-7 ve HUVEC hücre kültürlerindeki, hücre canlılık değerlerine ait bulgular Tablo 6 ve 7' de verilmiştir.

Tablo 6. Bitki özütlerinin MCF-7 hücre kültürlerinde 24 saat uygulanmasıyla elde edilen canlılık değerlerinin karşılaştırması

Table 6. Comparison of the viability of plant extracts by 24 hours application in MCF-7 cell cultures

Dozlar $\mu\text{g}/\text{mL}$	MCF7 - 24 Saat	
	Su özütü	Etanol özütü
1000 =VI	81,42 $\pm$ 6,17	78,14 $\pm$ 5,49
500 =V	90,15 $\pm$ 7,47	88,76 $\pm$ 8,12
250 =IV	93,45 $\pm$ 6,28	91,71 $\pm$ 7,78
100 =III	95,12 $\pm$ 4,45	94,12 $\pm$ 4,87
50 =II	98,76 $\pm$ 2,72	96,45 $\pm$ 3,52
0 =I	100 $\pm$ 1,45	100 $\pm$ 1,87
P Değeri	>0,05	>0,05
I-VI	0,045	0,039
I-V	0,060	0,058
I-IV	0,068	0,060
I-III	0,124	0,112
I-II	0,286	0,136

OneWay ANOVA (Brown-Forsythe)-(Method:Bootstrap)  
Post Hoc Test: Dunnett-Games Howell Bütün veriler Ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verildi.

Tablo 7. Bitki özütlerinin HUVEC hücre kültürlerinde 24 saat uygulanmasıyla elde edilen canlılık değerlerinin karşılaştırması

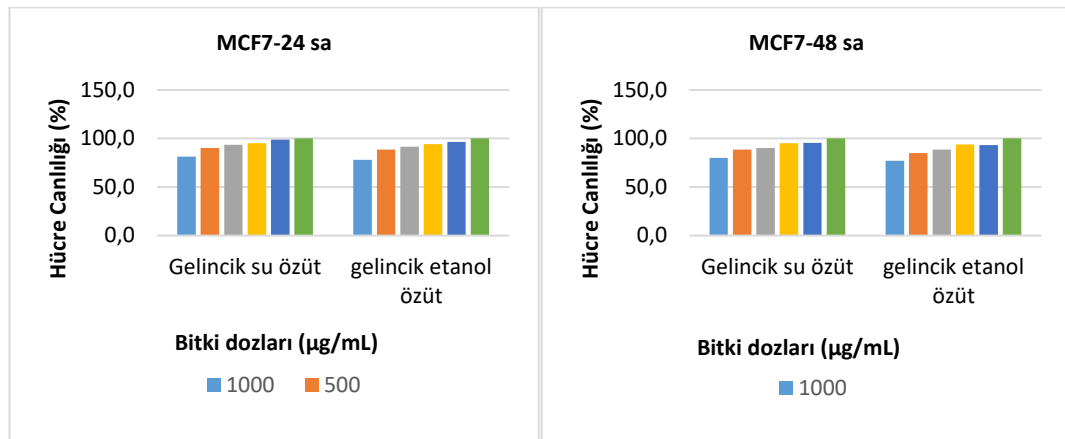
Table 7. Comparison of the viability of plant extracts by 24 hours application in HUVEC cell cultures

Dozlar $\mu\text{g}/\text{mL}$	HUVEC - 24 Saat	
	Su özütü	Etanol özütü
1000 =VI	92,89 $\pm$ 6,64	92,4 $\pm$ 10,64
500 =V	94,1 $\pm$ 5,46	93,76 $\pm$ 6,78
250 =IV	94,5 $\pm$ 4,69	93,81 $\pm$ 7,14
100 =III	96,82 $\pm$ 2,60	96,12 $\pm$ 5,98
50 =II	98,76 $\pm$ 1,22	98,45 $\pm$ 4,59
0 =I	100 $\pm$ 1,47	100 $\pm$ 2,58
P Değeri	>0,05	>0,05
I-VI	0,058	0,053
I-V	0,069	0,060
I-IV	0,085	0,072
I-III	0,125	0,118
I-II	0,490	0,500

OneWay ANOVA (Brown-Forsythe)-(Method: Bootstrap)  
Post Hoc Test: Dunnett-Games Howell Bütün veriler Ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi.

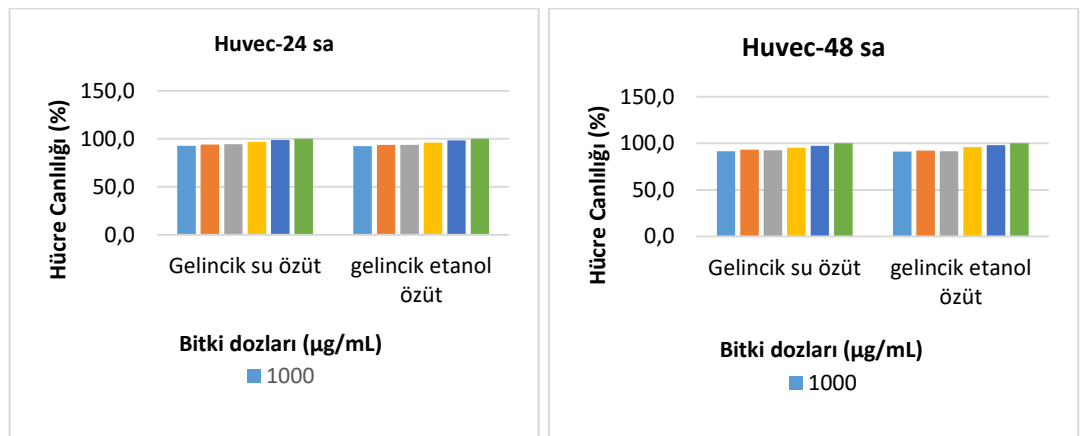
Gelincik özütleri, MCF-7 kanser hücrelerinde 1000 µg/mL olan yüksek konsantrasyonlarda 24 ve 48 saat periyotlarında hücre canlılıklarını bir miktar azaltmıştır. Ancak, hem HUVEC hem de MCF-7 hücre hatlarında gelincik özütlerinin hücre canlılıklarını düşürmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Ayrıca; gelincik bitkisinin etanol ekstraktlarının su fazı ekstraktlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile, hücre hatlarında proliferasyonu daha çok etkilediği görülmektedir (Tablo 6 ve 7). Diğer taraftan, gelincik özütlerinin normal endotelial hücrelerinden oluşan HUVEC hücre hattında hücre proliferasyonu üzerinde etkili olmadığı görülmektedir (Tablo 7).

İnkübasyon süresi arttığı zaman hücrelerin etken madde ile daha fazla etkileşim halinde kaldıkları göz önünde tutulursa, özütlerin sitotoksik aktivitelerinde artış olması beklenmektedir. Fakat bu çalışmada hücre kültürlerine uygulamış olduğumuz gelincik özütlerinin HUVEC ve MCF-7 hücrelerinde belirgin bir sitotoksik aktivitesi tespit edilmediği gibi, 24 ve 48 saat boyunca uygulamalar arasında da anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir. Gelincik özütleriyle muamele edilmiş MCF-7 ve HUVEC hücre kültürlerinin canlılık oranlarına ait sonuçlar karşılaştırmalı olarak da grafikler halinde verilmiştir (Şekil 1-2).



Şekil 1. Gelincik özütlerinin MCF-7 hücre hattında 24 ve 48 saat boyunca hücre proliferasyonu sonuçları

Figure 1. Cell proliferation results of poppy extracts in MCF-7 cell line for 24 and 48 hours



Şekil 2. Gelincik özütlerinin HUVEC hücre hattında 24 ve 48 saat boyunca hücre proliferasyonu sonuçları

Figure 2. Cell proliferation results of poppy extracts in HUVEC cell line for 24 and 48 hours



## Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada geleneksel tıp uygulaması olarak sıklıkla kullanıldığı bilinen Gelincik bitkisinin etanol ve su fazı ekstraktlarının çeşitli biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Biyolojik aktivite olarak; antimikrobiyal aktivite, MCF-7 ve HUVEC hücre kültürlerindeki sitotoksik aktivite, antioksidan aktivite ve besin elementi konsantrasyonları bakımından incelediğimiz, alternatif tıp uygulamaları bakımından önemli bir bitki olan kırmızı gelincik deneysel uygulamalarla etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Sonuçlarımıza göre, Gelincik bitkisinin su fazı ekstraktlarının, sadece *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* olmak üzere 3 mikroorganizma suşu üzerinde orta dereceli etkili olduğu (MIC değeri: 0,625) söylenebilir. Literatüre göre gelincik bitkisinden elde edilen 3 alkaloit maddenin Stafilkoklar üzerinde çok kuvvetli antibakteriyel olduğu belirtilmiştir (Coşar ve ark., 1981). Bu çalışmada gelincik bitkisinin etanol ekstraktlarının ise *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* olmak üzere sadece 2 mantar suşu üzerinde zayıf derecede etkili olduğu (MIC değeri: 1.25 mg/mL) görülmektedir. Bu durumda genel olarak kırmızı gelincik bitkisinin denediğimiz mikroorganizmalar üzerinde etkili antimikrobiyal aktivitesinin olmadığını söyleyebiliriz.

Gelincik bitkisinde, su fazı ve etanol fazı olmak üzere; iki farklı şekilde özütleme işlemi yapılmıştır. Özütlerin MCF-7 kanser hücre hattında ve HUVEC hücrelerinde 24 ve 48 saat süreleri içerisinde sitotoksik etkileri görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Bitkinin etanol ekstraktının hücre hatları üzerinde daha etkili olduğu gözlenirse de, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, dozlara ve süreye bağlı olarak hücre canlılıklarındaki azalmalar da istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Diğer taraftan, farklı konsantrasyonlarda gelincik özütleri uygulanan MCF-7 hücre hatlarında, total antioksidan miktarlarında (TAS), kontrol grubu verilerine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0.05$ ) artışlar ve total oksidan miktarlarında (TOS) ise

istatistiksel olarak önemli düşüşlerin ( $P<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Gelincik bitkisinin hem su fazı hem de etanol fazı ekstraktlarının, hücrelerdeki antioksidan değerlerini konsantrasyonlarına bağlı olarak arttırdığı ve oksidan madde miktarlarını da azalttığı görülmektedir. Bu yüzden, gelincik bitki özütlerinin antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu söylenebilir.

Araştırmada, Gelincik bitkisinin makro ve mikro element konsantrasyonları da belirlenmiş ve genel olarak P, Ca ve Mg konsantrasyonlarının düşük olduğu, bazı mikro element konsantrasyonlarının da (Zn, Mn ve Cu) alt sınır düzeyine yakın olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, N, K ve Fe konsantrasyonlarının yeter düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Canlılarda oksijenli solunum mekanizmalarıyla bir taraftan enerji üretilirken bir taraftan da serbest radikal olarak adlandırılan süperoksit, hidroksil, hidrojen peroksit gibi aktif oksijen formları ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller; organizmadaki hücrelerin membranına, hücre yapısında bulunan lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve kalıtsal materyal olan DNA'ya zarar vererek, pek çok hastalığa neden olmaktadır. Antioksidan maddeler; serbest radikallerin neden olduğu zararlı reaksiyonları durdurarak, dejeneratif hastalıkların oluşumunu önlemektedir (Velioğlu, 2006). Bu bakımdan gelincik özütlerinin antioksidan kapasiteleri bakımından, serbest radikallerin neden olduğu hastalıklarda kullanılacak etken maddelerin eldesinde ve üretilmesinde daha ayrıntılı olarak çalışılacak bitkilerden olduğunu söyleyebiliriz.

Son yıllarda üzerinde durulan konulardan bazıları da kanser kemoterapisi sırasında takviye olarak kişilere antioksidanların verilmesinin, antineoplastik etkinlik üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Farelerde tümör hücrelerinde yapılan bazı çalışmalarda, E vitamini gibi bazı antioksidanların hücrelerdeki reaktif oksijen türlerini (ROT) ve DNA hasarını azalttığı ama aynı zamanda tümör hücrelerinin proliferasyonunu artırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle; günümüzde antioksidanların

hücrelerdeki ROT ve DNA hasarını azaltmak yoluyla tümör hücre proliferasyonunu artırması neticesinde tümör büyümesine sebep olduklarına inanılmaktadır (Sayın ve ark., 2014). Bu çalışmada gelincik bitkisinin MCF-7 kanser hücrelerinde TAS seviyesini artırdığı ve TOS seviyesini düşürdüğü gözlenirken, aynı zamanda da hücre proliferasyonu artırmayıp bir miktar azalttığı görülmektedir. Bu bakımdan, gelincik özütlerinin önemli bir nitelik taşıdıkları söylenebilir. Ayrıca, gelecekte oksidatif stres oluşturulan farklı hücrelerde, gelincik özütlerinden elde edilen antioksidanların etkilerinin incelendiği ve farklı kanser hücre hatlarının kullanıldığı ayrıntılı çalışmalar planlanabilir.

Gelincik bitkisinin biyoaktif farmakolojik özelliklerini ortaya koymaya çalıştığımız bu araştırmanın mevcut literatür bilgisine katkı sağlayacağına inanmaktayız. İleriki çalışmalar için model moleküllerin seçimi ve tasarımında faydalanılabilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir.

### Teşekkür

Çalışmada kullandığımız mikroorganizma suşlarını sağlama hususunda desteğini gördüğümüz Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ataş'a ve bitki tür teşhisini yapan Dr. Öğr. Üyesi Erol Dönmez'e sonsuz teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

- Anonim, 2004. Türk Gıda Kodeksi (TGK): Gıdaların üretimi, tüketimi ve denetlenmesine dair kanun hükmünde kararnamenin değiştirilerek kabulü hakkında kanun, kanun no 5179, 05 Haziran 2004 tarih ve 25483 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Awouafack, M.D., McGaw, L.J., Gottfried, S., Mbouangouere, R., Tane, P., Spiteller, M., and Eloff, J.N., 2013. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of the Ethanol Extract, Fractions and Eight Compounds Isolated from *Eriosema robustum* (Faba-ceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 289.
- Bremner, J.M., 1965. *Method of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Methods*, American Society of Agronomy Inc. Madison, USA, 1149-1178.
- CLSI, 2002. *Reference Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard, 2nd ed., NCCLS document M27- A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898, USA.
- CLSI, 2012. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- Cullen, J., 1965. *Glaucium* A., in Davis P.H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Pres, Edinburg, 1-214 p.
- Cullen, J., 1966. *Papaveraceae*, in: Rechinger K.H. (ed.), *Flora Iranica, Flora des Iranischen Hochlandes und der umrahmenden Gebirge. Persien, Afghanistan, Teile von West-Pakistan, Nord-Irak, Azerbaidjan, Turkmenistan*, vol 34. Akad. Druck-u. Verlagsanstalt, Graz, 1-25 p.
- Coşar, G., Bilgehan, H., ve Gözler, T., 1981. *Glaucium flavum crantz* Bitkisinden Elde Edilen Bazı Alkaloidlerin Antibakteriyel Etkileri, *Mikrobiyol. Bült.*, 15:105-109.
- Çoban, Ö.E., ve Patır, B., 2010. *Antioksidan Etkili Bazı Baharatların Gıdalarda Kullanımı*. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2):7-19.
- Çolakoğlu, M., ve Bilgir, B., 1977. *Ege Bölgesi'nde insan beslenmesinde kullanılan bazı yabani (sarmaşık, stifno, helvacık, deniz börülcesi, ısırgan ve gelincik) otları üzerinde araştırmalar*, VI. Bilim Kongresi; Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu Tebliği Gıda ve Fermantasyon Teknolojisi, 19-37.
- Daştan, S.D., Daştan, T., Gülhan, M.F., Kirkbeş, A., ve Talas, Z.S., 2014. *Biochemica lchanges in Muscle and*

- Gill Tissues of Rainbow Trout Reared with Various Concentrations of Polen Extract, *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 4(10):540-544.
- Davis, P.H., 1965-1985. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol.1-10.
- Demir, H., 2006. Erzurum'da Yetişen Madımak, Yemlik ve Kızamık Bitkilerinin Bazı Kimyasal Bileşimi, *Bahçe*, 35(1-2):55-60.
- Demirbağ, Z., Belduz, A.O., Sezen, K., ve Nakacıoğlu, R., 1997. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması, *Kükem Dergisi*, 20(1):49-58.
- Dıgırak, M., İlçim, A., Alma, H., ve Şen, S. 1999. Antimikrobiyal Aktivites of the Extracts of Various Plants (Valex, mimosa bark, gallnut powders, Salvia sp. and Phlomis), *Turkish Journal of Biology*, 23:241-248.
- Eloff, J.N., 1998. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria, *Planta Med.*, 64:711-713.
- Erel, O., 2004. A Novel Automated Method to Measure Total Antioxidant Response Against Potent Free Radical Reactions, *Clinical Biochemistry*, 37: 112-9.
- Erel, O., 2005. A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status, *Clinical Biochemistry*, 38:1103-11.
- Faydaoğlu, E., ve Sürücüoğlu, M.S., 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları, *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 6(2):233-265.
- Ho, C.T., Ferraro, T., Chen, Q., and Rosen, R.T., 1994. Phytochemical in Teas and Rosemary and Their Cancer Preventive Properties, *Food Phytochemicals for Cancer Prevention, II. Tea, Spices and Herbs*, (Eds: Ho, C.-T., Osawa, T., Huang, M.T., Rosen, R.T.), ACS Symposium Series 547, American Chemical Society, Washington DC., 2-9.
- Kaya, İ., İncekara, N., ve Nemli, Y., 2004. Ege Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Yabani Kuşkonmaz, Sirken, Yabani Hindiba, Rezene, Gelincik, Çoban Değneği ve Ebegümececinin Bazı Kimyasal Analizleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 14(1):1-6.
- Kırbağ, S., 1999. *Hypericum perforatum* L.'un Değişik Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi, *Journal of Quafqaz Univ.*, 2(1):102-108.
- Kırbağ, S., ve Zengin, F., 2006. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 16(2):77-80.
- Kırca, A., Bilişli, A., Demirel, N.N., Turhan, H. ve Arslan, E., 2007. Çanakkale Florasındaki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, *Tübitak Proje No: 104 0 292, Çanakkale*.
- Kotzekidou, P., Giannakidis, P., and Boulamatsis, A., 2007. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts and Essential Oils Against Foodborne Pathogens *In vitro* and on the Fate of Inoculated Pathogens *Chocolate*, *Lebensm-Wiss.U.Technol.in press*.
- Kuete, V., 2010. Potential of Cameroonian Plants and Derived Products Against Microbial Infections: a review, *Planta Med.*, 76 1479-1491. 10.1055/s-0030-1250027.
- Kültür, Ş., 2007. Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 341-364.
- Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M. F., and Araújo, M.E.M., 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices, *Food chemistry*, 103(3):778-786.
- Murphy, J., and Riley, J.P., 1962. A Modified Single Solution for the Determination of Phosphate in

- Natural Waters, *Analitica Chemica Acta*, 27:31-36.
- Nishina, A., Kubota, K., Kameoka, H., and Osawa, T., 1991. Antioxidizing component, Musizin, in *Rumex Japonicus Houtt*, J. A. Oil. Chem. Soc., 68:735-739.
- Önde, S., ve Vurdu, H., 1988. Bitki Çeşitliliği ve Unutulan Gen Kaynakları, *Tabiat ve İnsan*, Ankara, 22(2):27-31.
- Popov, M., 1937. *Papaveraceae*, Flora U.R.S.S. (V.L.Komarov), Edition *Akademiae Scientiarum U.R.S.S.*, Mosqua, Leningrad, Vol. VII, 585.
- Sarkar, S., 2007. Functional Foods as Self-care and Complementary Medicine, *Nutrition and Food Science*, 37(3):160-167.
- Sayın, V.I., İbrahim, X.M., Larsson, E., Nilsson, A.J., Lindahl, P., and Bergo, O.M., 2014. Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice, *Science Translational Medicine*, 6: 221.
- Sree, K.S., Yasodamma, N., and Paramageetham, C.H., 2010. Phytochemical Screening And In Vitro Antibacterial Activity Of The Methanolic Leaf Extract: *Sebastiania Chamaelea Muell.* Arg. *Bioscan*, 5(1):173-175.
- Sür, D., Gürkan, E., ve Köksal, P., 1998. *Chrysanthemum coronarium* L. ve *Inula viscosa* (L.) Bitkilerinin Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri, *Proceeding of XII th International Symposium on Plant Orgiginated Crude Drugs*, Ankara, 233-237.
- Ünsal, Ç., 1998. *Glaucium grandiflorum* boiss. & Huet var. *Grandiflorum* Alkaloitleri Üzerinde Araştırmalar, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tez (Yüksek Lisans).
- Veliöglü, S., 2006. The Effect of Extraction Conditions on Total Polyphenol, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Black and Mate Tea, Ankara Universty Scientific Researches Projects 2005-0745-004-HPD WEIJL.
- Yapıcı, Ü., Hoşgören, H., ve Saya, Ö., 2009. Kurtalan (Siirt) İlçesinin Etnobotanik Özellikleri, *Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Dergisi*, 12:191-196.
- Yarnell, E., and Abascal, K., 2004. The Leading Publisher in Biotechnology. *Alternative & Complementary Therapies Part 2: Vol. 10, 5: 277-284.*
- Yücel, E., 2008. *Tıbbi Bitkiler 1, Cetemenler Digital*, Eskişehir.
- Yücel, E., Güney, F., ve Şengün, İ.Y., 2010. Mihalıççık (Eskişehir) İlçesinde Tüketilen Yabani Bitkiler ile Bunların Tüketim Amaçlarının Saptanması, *Biological Diversity and Conservation*, 3(3):158-175.
- Yücel, E., ve Tunay, M., 2002. Nazilli (Aydın) ve Yöresinde Gıda Olarak Kullanılan Yabancı Otlar, *Türkiye Herboloji Dergisi*, 5(2):10-17.
- Yücel, E., ve Tülükoğlu, A., 2000. Gediz (Kütahya) Çevresinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler, *Ekoloji (Çevre Dergisi)*, 9(36):12-14.
- Zeybek, U., ve Zeybek N., 2002. *Farmasötik Botanik* (3. baskı), Ege Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları, No:3, İzmir.