

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI TIBBİ BİTKİLERİN EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN ANTAGONİSTİK VE SİNERGİSTİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞE GÜL DOĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CİHAN DARCAN

BİLECİK, 2022

10480021

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI TIBBİ BİTKİLERİN EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN ANTAGONİSTİK VE SİNERGİSTİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞE GÜL DOĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CİHAN DARCAN

BİLECİK, 2022

10480021

BEYAN

“Bazı Tıbbi Bitkilerin Ekstraktlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin Antagonistik ve Sinergistik Olarak Araştırılması” adlı yüksek lisans/doktora/sanatta yeterlik tezi/dönem projesinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
DESTEK ALINMIŞTIR		DESTEK ALINMAMIŞTIR	×
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum;			
Destegın Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)			
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		/.....	

Ayşe Gül Doğan

Tarih

.....

İmza

.....

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimimin planlanması, araştırma konusunun seçilmesi, denemenin kurulması ve yürütülmesi ile bu tez çalışmasının yazılması sırasında, çalışmamı sahiplenerek takip eden, bilgi birikimi ve tecrübesini benimle paylaşarak bugüne ulaşmamı sağlayan danışmanım Sayın Prof. Dr. Cihan DARCAN'a değerli katkı ve emekleri için teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Denemenin kurulmasında ve yürütülmesinde yardımlarını ve emeklerini esirgemeyen, Prof. Dr. Sebahattin ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Son olarak bu günlere ulaşmamdaki emekleri adına değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe Gül Doğan

2022

ÖZET

BAZI TIBBİ BİTKİLERİN EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ANTAGONİSTİK VE SİNERGİSTİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada, *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) bitkilerinin farklı çözenler (metanol ve dietil eter) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin antagonistik ve sinergistik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bitkilerin özütleri soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivite çalışmalarında Gram negatif bakterilerden; *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella typhimurium*, Gram pozitif bakterilerden; *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır. Özütlerin antibakteriyal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre; hem metanol hem de dietil eter çözeni kullanılarak elde edilen tüm bitki ekstraktları Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir. *Bacillus cereus* bakterisi üzerine tüm bitki ekstraktları en fazla etkiyi gösterirken, *Hypericum perforatum* L. metanol ekstraktı Gram pozitif bakterilere en etkili bitki olmuştur. *Achillea millefolium* L.: *Cichorium intybus* L., *Achillea millefolium* L.: *Hypericum perforatum* L. ve *Cichorium intybus* L.: *Hypericum perforatum* L. metanol karışım ekstraktları ile *Achillea millefolium* L.: *Hypericum perforatum* L. dietil eter ekstraktı sinerjistik etki gösterirken diğer bitki karışım özütleri yarı sinerjistik veya etkisiz özellik göstermişlerdir.

Anahtar Kelimeler: Kombinasyon, Bitki Özütü, Sinerjik Etki, Antimikrobiyal Etki, Bitki Sağlığı.

ABSTRACT

THE ANTAGONISTIC AND SYNERGISTIC INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL CHARACTERISTICS OF EXTRACTS OF SOME HERBS

This study was aimed to compare the antimicrobial features of the extracts of *Achillea millefolium* L., *Anthemis cretica* L., *Cichorium intybus* L., *Euphorbia seguieriana* Necker, *Hypericum perforatum* L. which were generated by using different solutes (methanol, diethyl ether) antagonistically and synergistically.

Plant extracts were generated by using the Soxhlet Method. In the antimicrobial activity studies of the extracts, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella typhimurium* were used as Gram negative bacterias; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* were used as the Gram positive bacterias. The antimicrobial activities of the extracts were determined microbroth dilution method.

According to the results of the research; All plant extracts obtained using both methanol and diethyl ether solvent were determined to be more effective against Gram positive bacteria. While the whole plant extract showed the most effect on *Bacillus cereus* bacteria, *Hypericum perforatum* L. methanol extract was the most effective plant against Gram positive bacteria. *Achillea millefolium* L.: *Cichorium intybus* L., *Achillea millefolium* L.: *Hypericum perforatum* L. and *Cichorium intybus* L.: *Hypericum perforatum* L. methanol mixture extracts and *Achillea millefolium* L.: *Hypericum perforatum* L. diethyl ether extract showed a synergistic effect, while other plant mixture extracts showed semi-synergistic or ineffective properties.

Keywords: Combination, Plant extracts, Synergistic effects, Antimicrobial activity, Herbal Medicine.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	3
2.1. <i>Achillea millefolium</i> L. (Beyaz civan perçemi).....	3
2.2. <i>Anthemis cretica</i> L. (Dağ papatyası).....	9
2.3. <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani Hindiba).....	16
2.4. <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker (Sütleğen).....	23
2.5. <i>Hypericum perforatum</i> L. (Kantaron).....	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
3.1. Materyal.....	34
3.1.1. Bitki Örnekleri.....	35
3.1.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	34
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Test Suşları	36
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar.....	38
3.2. Metot.....	39
3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntem (MIK).....	39

3.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC)	39
3.2.3. Sinerjist ve Antagonistik Etki.....	40
4. BULGULAR	42
4.1. <i>Achillea millefolium</i> L. Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	42
4.2. <i>Anthemis cretica</i> L. Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri	44
4.3. <i>Cichorium intybus</i> L. Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	45
4.4. <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	45
4.5. <i>Hypericum perforatum</i> L. Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	46
4.6. <i>Achillea millefolium</i> L., <i>Anthemis cretica</i> L., <i>Cichorium intybus</i> L., <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker ve <i>Hypericum perforatum</i> L. Ekstraktlarının Sinerjistik ve Antagonistik İlişkileri.....	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
5.1. Bitki Türlerinin Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	49
5.2. Bitki Türlerinin Ekstraktlarının Sinerjistik ve Antagonistik ilişkileri.....	53
6. ÖNERİLER.....	57
KAYNAKÇA.....	58

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Achillea millefolium</i> L. türlerinde uçucu yağ bileşenleri.....	5
Tablo 2.2. <i>Anthemis cretica</i> L. türlerinde uçucu yağ bileşenleri.....	11
Tablo 2.3. <i>Cichorium intybus</i> L. türlerinde fitokimyasal bileşenleri.....	18
Tablo 2.4. <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker (sütlege) türlerinde fitokimyasal bileşenler.....	24
Tablo 2.5. <i>Hypericum perforatum</i> L. türlerinde uçucu yağ bileşenleri.....	31
Tablo 4.1. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen <i>Achillea millefolium</i> L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi.....	42
Tablo 4.2. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen <i>Anthemis cretica</i> L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi.....	43
Tablo 4.3. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen <i>Cichorium intybus</i> L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi.....	44
Tablo 4.4. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi.....	45
Tablo 4.5. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen <i>Hypericum perforatum</i> L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi.....	46
Tablo 4.6. Metanol özütlerinin birleşik antibakteriyel aktivitesi MİK değerleri (µg/ml).....	47
Tablo 4.7. Dietil eter özütlerinin birleşik antibakteriyel aktivitesi MİK değerleri (µg/ml).....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Achillea millefolium</i> L. (Beyaz civan perçemi).....	3
Şekil 2.2. <i>Anthemis cretica</i> L. (Dağ papatyası).....	10
Şekil 2.3. <i>Cichorium intybus</i> L. (Yabani hindiba).....	17
Şekil 2.4. <i>Euphorbia seguieriana</i> Necker (Sütleg�en).....	24
Şekil 2.5. <i>Hypericum perforatum</i> L. (Kantaron).....	29
Şekil 3.1. Ekstraksiyonu yapılan bitkilerin soxhlet cihazındaki görüntüsü.....	35
Şekil 3.2. Bitki özütlerinin evaporatör ile uçurulması aşaması.....	35
Şekil 3.3. Nutrient Broth besiyerinin otoklav için hazırlanması.....	38
Şekil 3.4. Microplate ile MİK değerlerinin belirlenmesi aşaması.....	39
Şekil 3.5. Nutrient Agar ile MBC analizi aşaması.....	40

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

E. coli: *Escherichia coli*

B. cereus: *Bacillus cereus*

L. monocytogenes: *Listeria monocytogenes*

A. baumannii: *Acinetobacter baumannii*

S. typhimurium: *Salmonella typhimurium*

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

MIK: Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu

MBC: Minimum bakterisidal konsantrasyon

MCC: Minimal sidal konsantrasyon

EO: Essential oil, uçucu yağ

mM: Milimolar

O.D: Optik Dansite

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

µm: Mikrometre

FIC: Fractional inhibitory concentration

MeOH: Metanol

C: *Achillea millefolium*

P: *Anthemis cretica*

Y: *Cichorium intybus*

S: *Euphorbia seguieriana*

K: *Hypericum perforatum*

1. GİRİŞ

Bilinen en eski uygarlıklardan günümüze kadar süregelen bitki özleri ile tedavi, birçok rahatsızlığın önlenmesi ve iyileştirilmesinde ilk akla gelen yöntem olmuştur. Bitki özleri ile tedavi, insanlığın bildiği en eski sağlık hizmetlerinden biridir (Gupta ve Gupta 2019) ve varlıkları boyunca insanların sağlık ihtiyaçlarına büyük ölçüde katkıda bulunmuşlardır (Mehmood ve ark., 2012). Düşük maliyetleri, kolay erişilebilirlikleri ve atalardan kalma deneyimleri nedeniyle dünya çapında uygulanan geleneksel tıbbın vazgeçilmez basamaklarından biri olan bu tedavi şeklinin (Kirbag ve ark., 2013), geleneksel uygulamada kullanımlarının bu kadar yaygın olmasına rağmen, bitkiler arası etkileşimleri hakkında çok az yayın bulunmaktadır (Ma ve ark., 2009).

Dünya Sağlık Örgütü, bitki özlerini veya aktif bileşenlerini, dünya nüfusunun %80'i gibi yüksek bir oranda kişinin geleneksel tedavilerinde halk ilacı olarak kullandığını bildirmektedir. Tüm modern klinik ilaçların %50'den fazlasının doğal ürün kaynaklı olduğunu (Ereçevit ve Kırbağ, 2017), hatta insan sağlığı alanında en çok satan ilaçların yaklaşık olarak üçte birinin bitki içeriklerindeki biyoaktif bileşiklerden elde edildiği (Ma ve ark., 2009) de bildirilmiştir.

Dünyada yaklaşık 500.000 bitki türü vardır ve bunların fitokimyasallarının yalnızca yüzde biri fitokimyasal olarak değerlendirilmiştir (Verma ve ark., 2013; Gupta ve ark., 2018). Bitkiler, sentetik ilaçlara veya antibiyotiklere alternatif olabilecek yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi için büyük bir potansiyele sahiptir (Maneesha S., 2018). Çoğu bitkiye ait özler, çeşitli hastalıkları tedavi etmek için özellikle; ateş düşürücü, gaz giderici, idrar söktürücü gibi birçok hastalıkta kullanılmakta olup (Gupta ve Gupta 2019), özellikle son yıllarda tıbbi özellikleri dikkate alınan antimikrobiyal tedaviler için de en değerli kaynaklar arasında yer almaktadır (Eslami, 2015). Bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunan kimyasal bileşenler sayesinde, çeşitli savunma mekanizmaları kullanarak parazit saldırılarına karşı direnebilirler. Böyle bir mekanizma, antimikrobiyal bileşiğin sentezi ile mümkün olmaktadır (Rehman ve ark., 2014).

Diğer taraftan enfeksiyon kaynaklı hastalıkların tedavisi için ilaca dirençli hale gelen bakterilerin sayısı giderek artmakta ve biyolojik aktivite için tıbbi bitkilerin değerlendirilmesine yönelik yeni antimikrobiyal ajanlar ve/veya yeni tedavi rejimleri bulmaya yönelik çalışmalar da araştırmacıların ilgisini daha da çekmektedir (Tarh ve Iroegbu, 2017a). Birçok bitki türünün glikozitler, saponinler, flavonoidler, steroidler, tanenler, alkaloidler, terpenler gibi çeşitli ikincil metabolitlere sahip olmaları, patojenlerin neden olduğu hastalıklara karşı savaşmak için

değerlendirilmesi gereken kaynaklar olduğunu da unutmamak gerekmektedir. (Maneesha, S. 2018).

Modern hayatın bize sunduğu karmaşa insanları doğa ile iç içe olmaya ve doğal ürünleri tüketmeye doğru yönlendirmektedir. Doğal ürün denildiği zaman ilk akla gelen bitkiler olmaktadır ve bu konuda yapılan çalışmalar bitkilerin güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösteren kimyasal bileşiklere sahip oluşuna işaret etmektedir. Bitkilerin bu özelliklerinden faydalanmak, ticari olarak üretilen kimyasal ilaçların yan etki profillerinden daha az etkilenmeyi talep etmek gibi nedenlerle bitki kaynaklı doğal ürünlerin değeri de gün geçtikçe artmaktadır. Tüm bu yaklaşımlar çalışmamızı en çok tercih edilen tıbbi bitkileri seçmeye yönlendirmiştir. Literatür taramalarımızda dahil ettiğimiz 5 bitki, *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) a ait antimikrobiyal aktivite, ekstraksiyon metodları ile ilgili birçok yayın ile karşılaşırken, birlikte kullanımlarında ortaya çıkabilecek sinerjistik ya da antagonistik etki hakkında bilgi edinebileceğimiz verilere ulaşamadık. Yaptığımız taramalardan elde ettiğimiz sonuçlar özellikle bitkilerden elde edilen özütlerin belirli mikrobiyal ajanlar üzerindeki inhibe edici etkisini gözlemlemek ve kombine özütlerin kullanımının bu mikrobiyal ajanlar üzerindeki sinerjistik ve/veya antogonistik etkilerini araştırmak üzerinedir. Bu çalışma ile bitki-bitki etkileşimlerinin sinerjistik ve antogonositik etkileri hakkındaki bilgilere zemin hazırlanarak literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Bu çalışmada, *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) bitkileri materyal olarak kullanmıştır. Bitkilerin genel özellikleri ve araştırma konusu ile ilgili literatür bilgileri aşağıda yer almaktadır.

2.1. *Achillea millefolium* L. (Beyaz Civanperçemi)

Asteraceae familyası, 13 alt familyaya dağılmış 23.000 türden oluşan en büyük çiçekli bitki ailesidir. Türkiye florasında Asteraceae familyası, 447 türü endemik olmak üzere 1209 tür ile temsil edilmektedir (Tekin, 2021). Çoğunlukla Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika dahil ılıman bölgelerde bulunmakla birlikte (Kalamouni, ve ark., 2017), Türkiye'de 25'i endemik olmak üzere 46 taksonla temsil edilmektedir (Karaalp, 2009).



Alem: *Plantae*

Sınıf: *Dicotyledones*

Familya: *Asteraceae*

Cins: *Achillea*

Tür: *Achillea millefolium* L.

Şekil 2.1. *Achillea millefolium* L. (Beyaz Civanperçemi)

A. millefolium bitkisi 30 ila 50 cm boyunda, gövde koyu yeşil, sert ve rizomlu çok yıllık bir bitkidir. Bol yapraklı, uzun, iğneli ve beyaz çiçeklidir. Sapın tepesinde düz kümeler oluşturan küçük kapitula ve tüylü aromatik yapraklar, cins için karakteristiktir (Daniel ve ark., 2020). *A. millefolium*, sahip olduğu çok sayıda yaprağı ima eden bin yaprak (civanperçemi) anlamına gelir. Bitki otoyollarda, tarlalarda ve otlaklarda, dağlık mera, orman açıklarında yabancı olarak yayılış gösterir (Anonymous, 2008). Çiçeklenme zamanı ilkbahardır. Mayıs-

Eylül aylarında yılda iki kez çiçek açar (Türkmenoğlu ve ark., 2015). Latince adı, eski zaman savaşlarından birinde, kralın kanayan ayak bileğini ve oluşan yaralarını tedavi etmek için, bu bitkiyi kullanan Yunan kahramanı Aşil'den türemiştir (Türkmenoğlu ve ark., 2015). Truva savaşı sırasında askerler bu bitkiye, yara otu, kan mayası, şövalye otu olarak da tanımlamışlardır (Hasson, 2011). Halk arasında ise daha çok "milfoil", "adi civanperçemi", olarak bilinen en eski tıbbi bitkilerden biri olarak kabul edilir (Candan ve ark., 2003; Aydın ve Sevindik, 2018).

Achillea millefolium, *Achillea* (Asteraceae) üyeleri arasında iyi bilinen bir türdür ve halk ilaçlarında meze, yara iyileştirici, idrar söktürücü, gaz giderici veya adet düzenleyici olarak kullanılır (Candan ve ark., 2003). Bu cinsin çeşitli türleri Türkiye'de geleneksel olarak yara iyileşmesi, ishal ve şişkinliğe karşı, diüretik olarak ve karın ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Karaalp, 2009). Çeşitli ülkelerde ise yüzlerce yıldır halk hekimliğinde özellikle; Kuzey Amerika ve İngiltere'de kanama rahatsızlıklarında, Almanya'da mide ve bağırsak hastalıklarında, Brezilya'da yara, ağrı, iltihap ve sindirim sistemi şikayetleri gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Bitkilerin çiçekli kısımlarının soğuk algınlığı, histeri ve romatizma tedavileri için önerildiği de bilinmektedir (Gecibesler, 2018; Kalamouni ve ark., 2017). Kanada, Saskatchewan eyaletinde yaşayan yaşlılar ise bu bitki türüne yulaf lapası adını vermişler ve "bitkinin tüm tepesi kullanılarak yaptıkları çay ile bağışıklık sistemlerini desteklemeye yardımcı alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanmışlardır. Yine bitkinin çiçekli kısımlarını suda kaynatarak saçları parlaklaştırmak ve kepekten kurtulmak için kullandıkları da bilinmektedir (Nilson ve ark., 2014). *Achillea millefolium* (civanperçemi)'un son dönem araştırmalarda; kanser, tümörler, siğiller, lösoze, grip, pnömoni vb. hastalıkların tedavisinde de kullanılabileceği bildirilmiştir (Daniel ve ark., 2020). Özellikle farmakolojik etkilerin değerlendirildiği birçok yayında, *Asteraceae* familyasının farklı ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antikanser, antiinflamatuvar ve antijenotoksik özellikleri olduğu bildirilmiştir (Kılıç ve ark., 2018). *Achillea* cinsi, biyoaktif bileşikler olan terpenoidler ve flavonoidler açısından da zengin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Türkmenoğlu ve ark., 2015). *Achillea millefolium* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bakımından zengin olması (Anonymous, 2008), eski zamanlardan beri geleneksel tıpta kullanılmasının bir diğer nedenidir. Tüm bu nedenler toplandığında, bitkinin uçucu yağının (EO) biyolojik özelliklerine ilişkin çeşitli değerlendirmelerin hedefi haline gelmesini sağlamıştır (Daniel ve ark., 2020). *Achillea*'nın toprak üstü kısımları, seskiterpen laktonlar ve alkaloidler bakımından zengin uçucu yağlar içerir (Hasson, 2011). Birçok bitki ile ilişkili antibakteriyel özellikler, alkaloidler ve saponinler olarak tanımlanan biyolojik olarak aktif

bileşiklere atfedilir (Nilson ve ark., 2014). Civanperçemi EO'su esas olarak monoterpenler (%30-80), seskiterpenlerden (%8-62) ve daha küçük miktarlarda alkoller, esterler, aldehitler ve norkarotenoidler gibi diğer bileşiklerden (%1-3) oluşur (Kazemi, 2015). Bütün literatür taramalarında en çok bulunan bileşenlerin 1,8-sineol, α -pinen, β -pinen, sabinen, endo-bornil, asetat ve α -terpineol olduğu görülmüştür. 1,8-sineol monoterpenler arasında, neredeyse her uçucu yağın, en sık tanımlanan bileşen olduğu bildirilmiştir (Türkmenoğlu ve ark., 2015). Seskiterpenlerden ise en çok β -karyofilen, β -küben, α -farnesen ve Chamazulen tanımlanmıştır (Kazemi, 2015).

Tablo 2.1. *Achillea millefolium* türlerinde uçucu yağ bileşenleri

1,8-Sineol	α -asaron
kamfor	β -bisabolen
borneol	6S,7R-bisabolon
terpinen-4-ol	transkrizantenil asetat
α -terpineol	γ -ödesmol
terpinolen	gayol
γ -terpinen	karyofillen
tuyon	β -karyofillen
trans-tuyon	(E)-karyofillen
α -pinen	sabinen
β -pinen	bornil asetat
kamazulen	(E)-nerolidol
α -terpinil asetat	germakren D

Kaynak: (Candan ve ark., 2003; Hasson, 2011; Maz ve ark. 2013 Kazemi, 2015; Türkmenoğlu ve ark., 2015; Kalamouni ve ark., 2017; Daniel ve ark., 2020)

Medikal kullanımının yanısıra, *Achillea millefolium* (civanperçemi), kozmetik endüstrisinde, foto koruyucu üretimde, likör ve tatlandırıcıların üretiminde bir bileşen olarak gıda ve ayrıca süs bitkisi olarak çevre düzenlemesinde de kullanım alanına sahiptir (Daniel ve ark., 2020).

Candan ve ark. (2003), *Achillea millefolium* subsp.'in uçucu yağ ve metanol ekstraktlarının in vitro antimikrobiyal ve antioksidan etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada bitki örneklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlar; metanol ekstraktları için agar kuyu difüzyon yöntemi (suda çözünür ve suda çözünmeyen parçalar) ve uçucu yağ için agar disk difüzyon yöntemidir. Uçucu yağın test

organizmalarına karşı MIK'leri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. *Achillea millefolium* yağının in vitro olarak güçlü antioksidatif aktiviteye, metanol ektratlarının ise düşük veya etkisiz antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Kharma ve Hassawi (2006), üç farklı *Achillea* türünün farklı bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada; *Achillea* türlerinin özütlerinin en fazla etkili olduğu bakterininin *S. aureus* olduğunu bildirmişlerdir.

Salvagnini ve ark. (2006), *Achillea millefolium* L. antimikrobiyal etkisi üzerine yaptıkları çalışmada bitki ekstraktının sadece Gram pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis*'e etkili olduğunu bulmuşlardır.

Karaalp ve ark. (2009), 13 *Achillea* türünün çiçek başlarından elde edilen otuz dokuz ekstraktın antimikrobial ve antifungal etkinliği üzerine çalışılmış. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* test mikroorganizmaları kullanılmıştır. *A. millefolium* sups.'un metanol ekstraktının suda çözünmeyen fraksiyonları, *C. albicans*'a karşı orta düzeyde aktivite göstermiştir. *A. millefolium*'un hexan-eter-metanol (1:1:1, v/v) ekstraktları ise *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* a karşı hafif derecede aktif olduğu bulunmuştur, yayınlanan geçmiş çalışmalarda bildirilen sonuçlarla ortaya çıkan tutarsızlığın sebebi olarak bitki alt türleri, antimikrobiyal tahlil, ekstraksiyon yöntemleri ve mikrobiyal türlerdeki farklılık olarak açıklanmıştır.

Hasson, (2011), *Achillea millefolium*, etanolik özütü ve sulu özütü, *Salmonella enterica enterica* (Typhimurium), *Pseudomonasa aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* ve *Enterococcus faecalis* e karşı test edilmiştir. Kısmende olsa özütlerin Gram pozitif bakterilerde daha etkil olduğunu tespit etmiştir.

Mazandarani ve ark. (2013), *Achillea millefolium* un 9 farklı bakteri üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada; antibakteriyel aktivitenin Gram pozitif bakterilerle sınırlı olduğu raporların aksine, *A. millefolium*'un hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Nilson ve ark. (2014), *A. millefolium* ve *Plantago majör* bitkilerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada, Kirby Bauer disk difüzyon testi ve standart bakteri popülasyonu sayıları, her iki bitkinin de Gram pozitif bakteri *S. aureus*'a ve Gram negatif bakteri *P. aeruginosa*'ya karşı daha tutarlı bir şekilde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Kazemi, (2015), *A. millefolium* un antibakteriyel aktivitesi Minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) ve minimum bakterisidal / fungisidal konsantrasyonlar (MBC / MFC) ile belirlenmiş. MIK, EO'nun test suşunun görünür büyümesini inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmıştır. *A. millefolium*'un Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı MIK değerleri (2.5 ± 0.02 - 5 ± 0.72 mg/ml) aralığında görülmüştür. Sonuçlar *A. millefolium*'un yüksek antibakteriyel aktivite sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Türkmenoğlu ve ark. (2015), on bir *Achillea* türünün uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri çalışıldığı bu yayında, uçucu yağ ve metanol ekstraktının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ve insan enfeksiyonları ile ilişkili standart *Candida* suşlarına karşı in vitro antimikrobiyal aktivitesi broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Mikrodilüsyon testine göre *Achillea* türünün metanol özütleri, test edilen *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, bakterilerine (MIK; 0.625 mg/ml) karşı nispeten zayıf antimikrobiyal etkiler göstermiş. *Achillea* türünün uçucu yağları test edilen, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* a sırasıyla (MIK; 0.625, 312.5, 78.12 mg/ml) antimikrobiyal etki göstermiştir. *Achillea* türünün uçucu yağının, test edilen *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarına karşı metanol ekstraktına göre çok daha belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Hem *Achillea* türünün metanol özütleri hem de uçucu yağları, *Candida* türleri üzerinde orta derecede inhibitör etkiler göstermiştir (MIK; 0.15625-0.3125 mg / ml).

Benedec ve ark. (2016), *Achillea schurii* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmadan elde edilen özütün *E. coli*'ye karşı hafif bir aktivite ve *S. aureus* ve *S. typhimurium*'a karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiğini, en fazla etkinin ise *L. monocytogenes*'e karşı gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Kalamouni ve ark. (2017), *Achillea millefolium* L. uçucu yağ (EO)'unun antimikrobiyal aktivitesi, Agar kuyusu difüzyonu ve bir sıvı mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmiş ve çalışmada 43 uçucu bileşik tanımlanmıştır. Başlıca bileşikler kafur (%12,8), germacrene-D (% 12), (E) -nerolidol (% 7,3), sabinen (% 6,7), (E) -p-mentha-2,8-dien-1-ol (% 4,5) ve 1,8-sineol (% 4) olarak bildirilmiştir. Ayrıca bitki uçucu yağının, Gram pozitif bakterilere, Gram negatif bakterilerden daha hassas olduğu sonucuna ulaşılmış. *B. cereus*, uygulanan konsantrasyonlarda (5 ve 10 µg / ml) *A. millefolium* yağına en duyarlı bakteri olarak bildirilmiştir. En küçük inhibisyon zonları *S. typhimurium* kültürlerinde elde edilirken, *E. coli*, *A. millefolium* yağının tüm konsantrasyonlarına karşı dirençli olduğu görülmüş. *B. cereus* için MIK 100 µg / ml iken *St. aureus* için 120 µg / ml olarak belirlenmiş. Gram negatif test edilen bakteriler arasında,

yalnızca 2000 µg MIK değerlerine sahip *S. typhimurium* dikkate değer bir antibakteriyel etki gözlenmiştir. Sonuç olarak, tek tek bileşenlerin özellikleri ve içeriği, yağın farklı bakteri türlerine karşı antibakteriyel etkisi üzerinde önemli bir güce sahip olabileceği bildirilmiştir.

Aydın ve Sevindik, (2018), *Achillea millefolium subsp. millefolium* bitkisi patojenik mantarlara karşı antifungal etkisini test etmek için *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve *Saccharomyces cerevisiae*'yi içeren toplam 4 patojen mantar üzerinde bir analiz gerçekleştirilmiş ve uçucu yağın bu mantarların büyümesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Uçucu yağın test edilen mantarlara karşı MIK değerleri 1.25 µl / ml ile 10 µl / ml arasında değişmiştir. *A. millefolium ssp.*'nin uçucu yağının, test edilen mantarlar üzerinde değişen derecelerde etkiye sahip olduğu, en yüksek antifungal etkinin *S. cerevisiae*'ye (30 mm.) karşı bulunduğu, en düşük antifungal etkinin ise *C. parapsilosis*'e (15 mm) karşı bulunduğu bildirilmiştir.

Gecibesler, (2018), *Achillea millefolium L. subsp. millefolium var. millefolium* altı farklı yerleşim alanından toplanmış ve örneklerin uçucu yağı Clevenger-tipi bir aparat ile izole edilip, GC-MS/FID spektroskopisi ile analiz edilmiş. Toplanan altı örnekten toplamda 56 tane farklı bileşen tanımlanmış ve bu bileşenlerin önemli kalitatif ve kantitatif farklılıklara sahip olduğu gözlenmiştir. Bütün örneklerde en bol bulunan bileşenlerin α-pinen, β-pinen, sabinen, 1,8-sineol, endo-bornil asetat ve α-terpineol olarak bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteleri belirlemek için, altı bakteri türü *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *S. enterica* ve iki mantar *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* dahil olmak üzere toplam sekiz mikroorganizma kullanılmış. Tüm numunelerin uçucu yağlarının test mikroorganizmalarına karşı önleyici etki gösterdiği bulunmuştur. Farklı lokalitelerden toplanan bitkilerin EO ları *S. aureus* için (9.08, 26.15, 37.11, 41.13 mm) *E. coli*, için (18.10, 18.67, 20.34, 21.47 mm) suşlarına karşı farklı oranlarda inhibisyon alanları oluşturmuştur.

Kılıç ve ark. (2018), *Asteraceae* ailesine ait *Anthemis tinctorial L.*, *Achillea biebersteinii* ve *Matricaria chamomilla L.* türlerinin metanolik özütleri soxhlet cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite için *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis* standart suşları kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, elde edilen bitki özütleri ile kontrol olarak kullanılan antibiyotik grubu karşılaştırıldığında, bitki özütlerinin antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Mikrodilüsyon yönteminde bitki özütlerinin konsantrasyon aralığı 6,25- 50

mg/ml olarak bildirilmiştir. Mevcut çalışma, kullanılan bitkilerin çoğunun patojenik bakterilere karşı iyi antimikrobiyal maddeler olduğunu göstermiştir.

Çolak ve ark. (2020), Farklı lokasyonlarda yetişen *Achillea aleppica subsp. aleppica* örneklerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada; metanol özütünün hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkili olduğunu bildirmektedirler.

Daniel ve ark., (2020), *Achillea millefolium* uçucu yağı, modifiye edilmiş bir Clevenger tipi uçucu yağ (EO) damıtıcı kullanılarak elde edilmiştir. Fenolik bileşiklerden en bol olarak α -farnesen (%31.66), ardından chamazulene (% 17.17), β caryophyllene (% 10.27) ve sabinene (% 8.77) elde edilmiştir. Uçucu yağ, analiz edilen *C. albicans*, *S. epidermidis*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* türlerine karşı düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Kryvtsova, (2020), *Achillea millefolium* L. çiçek kısımları etil ve metil çözücüler ile özütlendirilmiş. Analiz amacıyla, enflamatuar hastalıklara sahip hastaların ağız boşluklarından ve farenksinden izole edilmiş *Staphylococcus* cinsi bakteriler kullanılmıştır. Erlenmeyer şişesinde, 10 g bitki materyali, 200 ml. %96 etil veya metil alkol ile karıştırılarak ekstraksiyon yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi agar difüzyon testi kullanılarak belirlenmiştir. Bakteri aşısı fizyolojik çözelti içinde 100 μ l olacak şekilde 0,5 McFarland eşdeğerine ayarlanmış ve Muller-Hinton agar (37 ± 2 °C'de 24 saat) inkübe edilmiştir.; mayalar-SDA agarda (35 ± 2 °C'de 48 saat) inkübe edilmiş. Ekstreler 10 μ l olacak şekilde 6 mm çapındaki oyuklara bırakılmış. *S. aureus* metanol özütünde (10.67 ± 0.58 mm) etanol özütünde ise (10.33 ± 0.58 mm). inhibisyon alanı kaydedilmiştir.

2.2. *Anthemis cretica* L. (Dağ papatyası)

Anthemis cinsi, *Asteraceae* familyasının en büyük ikinci cins olup (Chemsal ve ark., 2018), en önemli cinsler arasında yer almaktadır (Bardaweel, ve ark., 2014). *Anthemis* cinsinin coğrafi dağılımı; Avrupa, Güneybatı Asya, Kuzey ve Kuzeydoğu Afrika, Güney Arabistan ve tropikal Doğu Afrika'ya uzanır (Bardaweel ve ark., 2014). Orta Avrupa bölgesinde yalnızca birkaç istilacı tür yaşarken, asıl çeşitlilik merkezi, güneybatı Asyadadır. Bazı türler kuzey Amerika ve güney yarımkürede de yaşar (Kilic ve ark., 2011). Bununla birlikte, bazı aromatik türler Güney Afrika'da da bulunur (Hanbali ve ark., 2007).

Anthemis türlerinin tamamı Türkiye'de "Papatya" olarak adlandırılmaktadır (Kıvçak ve ark., 2007; Kurtulmuş ve ark., 2009; Dereli ve ark., 2018). *Anthemis cretica* L. (Dağ papatyası), ülkemizde yaygın olan papatya türlerinden biridir. Kayalıklarda ve dağ eteklerinde, ağaç bozkır

yamaçlarında kuru, açık alanları tercih ederler. 300-2000 m rakım arasında yetişip, 10 ila 30 cm arasında boylanır (Anonymous, 2008; Kilic ve ark., 2011; Amjad ve ark., 2013). Türkiye de özellikle Akdeniz bölgesi genelinde yaygın olarak dağılmıştır (Hanbali ve ark., 2007; Dereli ve ark., 2018). Türkiye florasında 29'u endemik, 51 türe ait 81 taksonla temsil edilmektedir (Baser ve ark., 2006; Kurtulmus ve ark., 2009; Albayrak ve Aksoy, 2013).



Alem: *Plantae*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Familya: *Asteraceae*

Cins: *Anthemis*

Tür: *Anthemis cretica* L.

Şekil 2.2. *Anthemis cretica* L. (Dağ papatyası)

Dünya halkları arasında yüzyıllardır kullanılan ve tıbbi öneme sahip olan bitkiler, Türkiye' de de benzer şekilde hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır (Sertkan ve ark., 2006). Türk halk hekimliğinde *A. cretica* L. ssp. *tenuiloba* ve *A. austriaca* Jacq. çiçekleri karın ağrısı için kullanılmaktadır (Dereli ve ark., 2018). Gastrointestinal rahatsızlıklar, hemoroid, öksürük, mide ağrısı ve böbrek taşlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmakla birlikte, bitki çayı olarak ve gıda aroması için, ayrıca kozmetikte ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır (Albayrak ve Aksoy, 2013). Anthemis türleri geleneksel olarak bulaşıcı ve enflamatuar süreçleri tedavi etmek için de kullanılmaktadır. Aynı şekilde Avrupa'da da bu türlerin özleri, tentürleri, çayları ve merhemleri antibakteriyel, antiinflamatuvar, antispazmodik ve yatıştırıcı ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Özler, ağrı ve tahrişi hafifletmek, yaraları ve ülserleri temizlemek ve radyasyona maruz kalmış cilt yaralanmalarının tedavisi, sistit ve dış rahatsızlıklarının tedavisinde ve önlenmesinde kullanılır (Chemsu ve ark., 2018).

Tablo 2.2. *Anthemis cretica* L. türlerinde uçucu yağ bileşenleri

1,8-Cineole	Spathulenol
α -Cubebene	T-Cadinol
α -Copaene	β -Eudesmol
Camphor	Tricosane
<i>cis</i> - α -Bergamotene	Tetracosane
Bornyl acetate	Hexacosane
β -Caryophyllene	Hexadecanoic acid
<i>cis</i> -Sesquisabinene hydrate	Germacrene D-4-ol
Sabinyl acetate	β -Curcumene
γ -Guaiene	δ -Cadinene
Germacrene D	γ -Cadinene
Bicyclogermacrene	<i>ar</i> -Curcumene
Caryophyllene oxide	trans-Sesquisabinene hydrate

Kaynak: (Baser ve ark., 2006; Amjad ve ark., 2013; Bardaweel, ve ark., 2014; Chemsu ve ark., 2018)

Bitki ekstraktlarının ve uçucu yağlarının bazı bakteri, küf ve maya türleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin olduğu bilinmektedir (Sertkan ve ark., 2006). Ek olarak, birçok *Anthemis* spp. ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde, bitkisel ilaçlar, böcek öldürücüler ve boyalar olarak da kullanımları mevcuttur (Hanbali ve ark., 2007; Kırçak ve ark., 2007; Venditti ve ark., 2016). *Anthemis* türlerinin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinmekte olup (Albayrak ve Aksoy, 2013), cinsin çiçekleri, dezenfektan ve şifalı bitkiler olarak belgelenmiş bir kullanıma sahiptir, ana bileşenleri doğal flavonoidler, uçucu yağlar, polifenolikler ve terpenler, seskiterpen laktonlar dır (Baser ve ark., 2006; Amjad ve ark., 2013; Bardaweel ve ark., 2014; Chemsu ve ark., 2018). Bazı *Anthemis* spp. nin uçucu yağlarının yaşlanmayı geciktirici aktivite içerdiği bildirilmiş olup, son zamanlarda çok sayıda *Anthemis* türü ile yapılan çalışmalarda, pehnolikler ve flavanoid bileşimleriyle ilişkilendirilebilecek potansiyel antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği de gözlemlenmiştir (Bardaweel ve ark., 2014).

Baser ve ark. (2006), *Anthemis aciphylla* BOISS. var. *discoidea* BOISS.' in çiçek ve yapraklarının antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı bu çalışmada, uçucu yağların stok çözeltileri, seyreltilmiş dimetilsülfoksit içinde hazırlanmıştır. Dilüsyon serileri, 96 oyuklu mikrotitreye aktarıldıkları mikro test tüplerinde steril distile suda 2 mg / ml'den 0.001 mg / ml'ye kadar seyreltilmiştir. Mikroorganizma içermeyen numunenin seri seyreltilerini içeren son

sıra, negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Kloramfenikol standart antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmış. Uçucu yağlar, kullanılan mikroorganizmalar üzerinde zayıf ila orta derecede önleyici etkiler göstermiştir. Kloramfenikol *Escherichia coli* (0.06 mm.), *Staphylococcus aureus* (0.007 mm.), *Salmonella typhimurium* (0.06 mm.). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* yaprak uçucu yağları (0.5 mm.) İnhibisyon alanı gösterirken çiçek kısımları (1.0 mm) olarak görünmüştür. Test edilen uçucu yağlar, test edilen aynı konsantrasyonda standart antimikrobiyal ajanlar olan kloramfenikol e kıyasla inhibisyonda daha zayıf olduğu görülmüştür.

Buruk ve ark. (2006), Bu çalışmada 22 endemik bitkinin 74 ham ekstresinin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. 30 aktif ham özüt arasında *Anthemis cretica ssp. argaea* MIK değerleri ile öne çıkan bitkiler arasında olduğu bildirilmiştir. Antibakteriyel aktivite, agar kuyusu difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile belirlenmiş. *Anthemis cretica ssp. argaea* nın bitki özlerinin antimikrobiyal aktivitesi (MIK, mg) değerleri (yaprak+suda çözünmez) ham özleri *S. aureus* için 0.156 (yaprak+ suda çözünür) ham özler de bir etkinlik göstermemiştir. Aynı şekilde *E. coli* ye karşı hiçbir aktivite gözlenmemiştir.

Sertkan ve ark. (2006), *Anthemis cretica subsp. tenuiloba*, *A. aciphylla* var. *discoidea* nın 15 g bitki örneği 150 ml etanol içerisinde Soxhlet cihazına yerleştirilmiş ve 8 saat ekstraksiyon işlemi uygulanmış. 1:8 oranında Steril Tween 20 (Merck) ile süspansiyonları hazırlanan uçucu yağlar ve ekstraktlar yaklaşık 25 pl emme kapasitesine sahip 6 mm çapındaki steril boş disklerle emdirilmiş ve diskler pens kullanılarak besiyeri üzerine yerleştirilmiş. Çalışmada kullanılan *Anthemis cretica subsp. tenuiloba*, *A. aciphylla* var. *discoidea*, *S. aureus* a karşı sırayla (7 ve 8 mm) ve *B. cereus* a karşı ise (7 ve 6.5 mm) inhibisyon alanı oluşturmuştur. Kloramfenikol bitki ekstraktlarının aynı bakteriler üzerine etkili olduğu ancak ekstraktların antibiyotiğine oranla daha düşük inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiş (20 ve 22 mm). Ekstraksiyon çözgeni olarak kullanılan etanol test bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Gram pozitif bakterilerde etki Gram negatiflere göre daha belirgin olarak gözlemlenmiştir.

Hanbali ve ark. (2007), *Anthemis tenuisecta* uçucu yağının antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildiği bu çalışmada, antimikrobiyal biyoanalizler 37 ° C'de 18 saatlik bir kültür büyümesi ve 10⁶ CFU'luk bir yoğunluk kullanılarak gerçekleştirilmiş. 500 µl aş, Mueller-Hinton agar içeren plakalara yayılmış ve 5 µl uçucu yağ emdirilmiş bir kağıt filtre diski (6 mm) yüzeye yerleştirilmiştir. Plakalar, yağın yayılmasına izin vermek için oda sıcaklığında 30 dakika bırakılmış ve daha sonra 37 ° C'de 24 saat inkübe edilmiş. Bu sürenin

sonunda, diskin etrafındaki inhibisyon bölgesi ölçülmüş. Antimikrobiyal testlerden elde edilen sonuçlar, düşük konsantrasyonda (5µl / disk) uçucu yağın *Bacillus cereus*'a (12mm) karşı güçlü aktivite sergilediğini ve ayrıca *Escherichia coli*'ye (10mm) karşı orta düzeyde aktivite gösterdiğini göstermiş. Kontrol grubu olan penisilin (10µl) sırayla 10-16 mm olarak antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Kıvçak ve ark. (2007), Bu çalışmada, *Anthemis wiedemanniana*'nın 20 µl / disk uçucu yağın antimikrobiyal aktiviteleri, pozitif kontrol olarak kullanılan seftazidim (CF20), sulbaktam / ampisilin (SAM20) ve nistatin (NS20) gibi standart antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır. Uçucu yağın, antimikrobiyal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi test edilmiş. Bakteriler için 2.0×10^6 CFU / ml ve 2.0×10^6 koloni oluşturacak şekilde hazırlanmış. Bir şişe içinde sterilize edilen ve 45-50 ° C'ye soğutulan Mueller-Hinton agar (MHA) (Oxoid) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Difco) 9 cm (15 ml) çapında sterilize edilmiş petri kaplarına dağıtılmış. Filtre kağıdı diskleri (6 mm çapında), 20 µl yağ ile ayrı ayrı emdirilip, test edilen mikroorganizmalar ile aşılınmış olan agar plakalarına yerleştirilmiş. Petri kapları 4 ° C'de 2 saat tutulmuş. Plakalar, mantar suşu için 37 ° C'de 24 saat ve 30 ° C'de 48 saat inkübe edilen plakalar, mantar suşu için 37 ° C'de 24 saat ve bakteriler 30 ° C'de 48 saat inkübe edilmiş. İnhibisyon bölgelerinin çapları milimetre cinsinden ölçülmüş. *A. wiedemanniana*'nın uçucu yağı (20 ml) *Bacillus cereus* (8 mm) iken, seftazidim- sulbaktam / ampisilin- nistatin sırayla (11-8-aktivite göstermemiş) tir. *Staphylococcus aureus* (10 mm), seftazidim- sulbaktam / ampisilin- nistatin sırayla (24-23-aktivite göstermemiş) tir. *Escherichia coli* (11), seftazidim (20 mg)- sulbaktam (10 mg) / ampisilin(10mg)- nistatin(20mg) sırayla (21-13- aktivite göstermemiş) tir. *Salmonella tyhimurium* (9mm), seftazidim- sulbaktam / ampisilin- nistatin sırayla (20-15- aktivite göstermemiş) tir.

Kurtulmus ve ark. (2009), *A. dipsacea*, *A. pectinata* var. *pectinata* ve *A. pseudocotula* uçucu yağlarının fitokimyasal bileşim ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış. 20 µl / disk konsantrasyonunda, standart antibiyotiklerle karşılaştırılmış. Sırası ile uçucu yağların kontrol antibiyotikleri olarak kullanılan seftazidim (24mm), sulbaktam / ampisilin (23mm) ve nistatin (aktivite göstermemiş) ile karşılaştırılan *Staphylococcus aureus* da (8-10-11mm) inhibisyon alanı gözlenmiş. *Staphylococcus aureus*'un güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüş. Aynı şekilde *Escherichia coli* de (7-8-10 mm) inhibisyon alanı gözlenirken, seftazidim (21mm), sulbaktam / ampisilin (33mm) ve nistatin (aktivite göstermemiş), *Salmonella tyhimurium* her 3 bitkinin uçucu yağında inhibisyon alanı oluşturmamıştır.

Akyüz (2010), *Anthemis* türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin 8 farklı patojen mikroorganizma üzerinde belirlendiği çalışmada; *Anthemis fumariifolia* Boiss, *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *aciphylla*, *Anthemis cretica* subsp. *pontica* (Willd.) Grierson, *Anthemis austriaca* Jacq, *Anthemis altissima* L., *Anthemis coelopoda* Boiss. Var *bourgaei* Boiss, *Anthemis wiedamannia* Fisch. & Mey. ve *Anthemis pestalozzae* Boiss. Türleri iki farklı çözgen olan etanol ve metanol ekstreleri ile belirlenmiştir. Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metodu, agar kuyucuk difüzyon metodu ve minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) yöntemleri ile belirlenmiştir. Ekstrelerinin antimikrobiyal etkileri *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Proteus vulgaris* (NRRL B-123) ve *Pseudomonas aureginosa* (ATCC 27853) bakterileri üzerine denenmiş. *B. cereus* üzerine en etkili ekstreler, *A. altissima* etanol ($21,3 \pm 0,57$), *A. austriaca* etanol ($21 \pm 1,15$) ve *A. altissima* metanol (20 ± 0) ekstreleridir. *B. subtilis* üzerine en etkili ekstreler, *A. coelopoda* var. *bourgaei* metanol ($22,5 \pm 1,15$), *A. austriaca* etanol (22 ± 0) ve *A. altissima* etanol (21 ± 0) ekstreleridir. *S. aureus* üzerine en etkili ekstreler *A. altissima* etanol ($22,5 \pm 0,57$), *A. austriaca* etanol (21 ± 0) ve *A. altissima* metanol ($20,75 \pm 1,29$) ekstreleridir. *E. faecalis* üzerine en etkili ekstre *A. altissima* etanol (14 ± 0) ekstresidir. MIK değerlerine göre *B. cereus* ve *B. subtilis* üzerine en düşük konsantrasyon 15,625 mg/ml ile *A. fumariifolia* metanol ve *A. austriaca* etanol ekstreleridir. *S. aureus* ve *E. faecalis* üzerine en düşük konsantrasyon 15,625 mg/ml ile *A. austriaca* etanol ekstreleridir. Bitki ekstreleri *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 25922 ve *E. coli* 35218 bakterilerine karşı etkinlik göstermemiştir.

Kilic ve ark. (2011), Çalışmada *A. pseudocotula* ve *A. cretica* subsp. *pontica* materyallerinin kurutulmuş kısımları, 3 saat cleverger tipi bir aparat ile elde edilmiş. *A. cretica* subsp. *pontica* uçucu yağın % 89.0'ını oluşturan kırk bileşik tanımlanmıştır. *A. cretica* subsp. *pontica*. dan izole edilen bileşikler; β -karyofilen (% 20.26), azulen (% 14.98), spathulenol (% 6.03) ve germacrene D (% 5.82) olmuştur.

Formasino ve ark. (2012), *Anthemis mixta* L. and *A. tomentosa* L. bitkilerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, elde edilen özütlerin Gram pozitif bakteriler üzerine etkilerinin yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Albayrak ve Aksoy, (2013), İki adet endemik *Anthemis fumariifolia* ve *Anthemis cretica* subsp. *argaea*. Ekstraktlarından elde edilen özütlerin 8 adet Gram negatif ve 5 adet Gram pozitif

bakteri üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada, Gram pozitif bakterilerin daha hassas bulunduğunu bildirmişlerdir.

Amjad ve ark. (2013), *Anthemis gayana* nın yaprak ve çiçekli kısımlarının antifungal etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, 20 g olarak tarılan çiçek ve yaprak, 110 ml metanol (CH₃OH) ile 8 saat boyunca Soxhlet ekstraksiyonu ile ekstre edilmiş. Metanolik ekstraktın antimikrobiyal etkisi mikrodilüsyon MİK tayini, disk difüzyon testi ve agar kuyusu difüzyon testi kullanılarak değerlendirilip ANOVA testi ile p <0.05 olarak analiz edilmiştir. Antifungal aktivite çalışması için, izole edilmiş suşların toplam sayısı sabouraud dekstroz broth ile 0.5 Macfarland standardına (1.5×10^8 cfu / ml) eşdeğer olacak şekilde standardize edilmiş ve daha sonra 1:10 oranında seyreltilmiştir. Ekstrakt antimikrobiyalinin etkisi, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak 15, 30, 60, 120 (mg / ml) içeren konsantrasyonda mikrodilüsyon test yöntemi kullanılarak minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum fungisidal konsantrasyonun (MFC) belirlenmesi ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, 120 mg / ml konsantrasyondaki yaprak metanol ekstreleri, mantarlara karşı daha fazla inhibe edici aktiviteye sahip (29-33mm) olduğu görülmüştür.

Bardaweel ve ark. (2014), *Anthemis palestina* nın esansiyel yağının biyolojik fonksiyonların in vitro incelemesinin yapıldığı bu çalışmada, bitki özütlerinin Gram pozitif bakterilere etkisinin, Gram negatif bakterilerden daha yüksek bulunduğunu belirlemişleridir.

Venditti ve ark. (2016), *A. cretica subsp. petraea* nın ekolojik ve tıbbi etkileri olan ikincil metabolitlerin incelendiği bu çalışmada, 85.9 g kurutulmuş bitki materyali, %96 etanol ile üç ardışık ekstraksiyon yapılmış. Yapılan çalışmada endemik *A. cretica subsp. petraea*, izole edilen bileşikler beş ana doğal organik bileşik sınıfına ayırmış, spesifik kemotaksonomik belirteçlerden seskiterpen laktonlarlar (partenolid , 9 α -asetoksiparthenolide), flavonoidlerden (tamarixetin) bu türde ilk tanımlanan bileşik olmuştur, kumarin (7-hydroxycoumarin), asetofenon türevi (4'-hydroxyasetophenone) bu türde çok karşılaşılmayan bir bileşik olarak ortaya çıkmış. Siklitoller (leucanthemitol (conduritol F) ve ilk kez sentezlenen (proto-quercitol) bileşikler olarak bildirilmiştir.

Riccobono ve ark. (2017), *Anthemis* türlerinin Gram pozitif bakterilerden *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*; Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada; elde edilen özütlerin gram pozitif bakterilerde daha etkin olduğunu ifade etmişlerdir.

Chemsa ve ark. (2018), *Anthemis stiparum subsp*'un metanol özütü (1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/ml) ve uçucu yağı (6.25, 12.5, 25, 50, 80, 160 µl/ml) çeşitli konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Araştırma sonucunda *A. stiparum*'un metanol özütlerinin antimikrobiyal ajanların Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ve *Bacillus cereus* üzerine oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Dereli ve ark. (2018), *A. wiedemanniana*'nın in vivo antidepresan aktivitesi, fare modelleri ve zorlu yüzme testi, kuyruk süspansiyon testi ve tetrabenazin kaynaklı pitoz, hipotermi ve lokomotorun baskılanması gibi testler kullanılarak incelenmiş. Farelerde farklı davranışsal depresyon modellerinde *A. wiedemanniana*'nın antidepresan aktivitesinin belirlenmesinde MeOH özütünün seskiterpen laktonlarının (germacranolides, eudesmanolides ve guaianolides) önemli in vivo antidepresan aktivite sergilediği görülmüş.

Kürkçüoğlu ve Tosun (2020), *A. cretica subsp.*'nin uçucu yağı *Anatolica*'ya özgü yüksek oranda oksijenli seskiterpenler (%57.9). %96,6'sını temsil eden yirmi yedi bileşik tanımlanmıştır. Yağın ana bileşenleri spathulenol (% 27.0) ve heksadekanoik asittir (% 14.3).

2.3. *Cichorium intybus* L. (Yabani Hindiba)

Cichorium intybus L. *Asteraceae* familyasının *Cichorium* cinsine ait (Choudhary ve ark., 2020) önemli şifalı bitkilerdendir (Eslami, 2015). Yaygın olarak *Cichorium intybus* L. 'hindiba' adı ile bilinir, Afrika dahil Asya ve Avrasya'da tıbbi açıdan önemli bir bitkidir (Nandagopal ve Kumari, 2007). Kuzey Amerika ve Avustralya'da yol kenarlarında yabani bir bitki olarak yetişir (Haziri ve ark., 2016). Genel olarak, *Cichorium intybus* L. (hindiba), 20-100 cm boyunda, çok yıllık, otsu, etli bir kazık kök ve parlak mavi çiçekleri olan dik bir bitkidir. Çiçekleri günün erken saatlerinde açılır, öğleden sonra kapanır (Nandagopal ve Kumari, 2007; Anonymous, 2008; Koner ve Roy 2011; Jeong ve ark., 2016).



Alem: *Plantae*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Familya: *Asteraceae*

Cins: *Cichorium*

Tür: *Cichorium intybus* L.

Şekil 2.3. *Cichorium intybus* L. (Yabani Hindiba)

Hindiba (*Cichorium intybus* L.), tıbbi açıdan değerli olup (Choudhary ve ark., 2020), tüm aksamaları, alkaloidler, inulin, seskiterpen laktonlar, kumarinler, vitaminler, klorofil pigmentleri, doymamış steroller, flavonoidler, saponinler ve tanenler gibi önemli bileşiklere sahiptir (Haziri ve ark., 2016). *Cichorium intybus* L. taze iken genellikle yaklaşık %68 inülin, %14 sakaroz, %5 selüloz, %6 protein, %4 kül ve %3 başka bileşikler içerirken, kurutulmuş hindiba kabaca %98 inülin ve %2 başka bileşik içerir. Önemli fitokimyasallar bitkiye dağılmış olsada, ana bileşenler %40'ın üzerinde inülin içeren *Cichorium intybus* L.'nin (hindiba) kökünde mevcuttur (Jeong ve ark., 2016). Bitki kökü; antihepatotoksik, antiülserojenik, antiinflamatuvar, iştah açıcı, sindirim, mide, karaciğer toniği, kolagog, kardiyotonik, depülatif, idrar söktürücü, emmenagog, febrifüj, alekseterik ve ayrıca tonik olarak kullanılmaktadır. Kök ekstraktının incelendiği bir farmakolojik araştırmada, immünomodülatör, antitümör ve antikanser özellikleri ortaya çıkarmıştır (Nandagopal ve Kumari, 2007). Bitkinin kökünden elde edilen inülin, sağlıklı ve fonksiyonel gıdalarda bir lif substratı olarak kullanılmaktadır. İnülin ayrıca gastrointestinal enfeksiyonun inhibisyonuna yardımcı olan ve bağışıklık sistemini güçlendiren prebiyotik olarak kullanılır (Choudhary ve ark., 2020).

Hindiba kökü ekstresi, serbest radikal temizleme aktivitesine ve karaciğeri koruyucu özelliğe sahiptir. Hindiba kökü tozu ise, kahve çekirdeklerine göre maliyet avantajı nedeniyle rutin olarak kahveye karıştırılarak kullanılmaktadır (Koner ve Roy, 2011). Çeşitli şekillerde tonik ve iştah açıcı olarak ve safra kesesi taşları, gastro-enterit, sinüs problemleri, kesikler ve morluklar için bir tedavi olarak kullanılır. Hindiba, iç parazitlere karşı toksisitesiyle bilinir, aynı zamanda AIDS, kanser, diyabet, dismenore, iktidarsızlık, uykusuzluk, dalak iltihabı ve taşikardiye tedavi etmek için de kullanılır (Nandagopal ve Kumari, 2007; Mehmood ve ark.,

2012). Bununla birlikte, son yıllarda bu bitkinin kök ve yaprak özlerinin farmakolojik araştırması, immünomodülatör, antitümör ve antikanser, antibakteriyel ve antimalaryal aktivitelerinin olduğu sonuçlar için rapor edilmiştir (Verma ve ark., 2013). Haşlanmış yapraklar ve çiçekler, iltihap önleyici özelliklere sahiptir (Koner ve Roy., 2011).

Tablo 2.3. *Cichorium intybus* L. türlerinde fitokimyasal bileşenleri

kersetin	lactucin, lactupicrib deoxylactucin
kaempferol	chicoriin
luteolin	chicoric acid
apigenin glikozitler	caffeic asit
Saponin	oksalik asit
Ascorbic Acid	kinik asit
şikimik asit	süksinik asit

Kaynak: (Mehmood ve ark. 2012; Jeong ve ark. 2016; Choudhary ve ark., 2020)

Nandagopal ve Kumari (2007), hindiba kök ekstraktlarının Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Micrococcus luteus*) ve Gram negatif (*Escherichia coli* ve *Salmonella typhi*) bakterilere karşı çeşitli sekonder metabolitlerin varlığı ve antibakteriyel aktivitesi için fitokimyasal analizleri değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda; Kök ekstratları, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhi* üzerinde *Micrococcus luteus* ve *Escherichia coli*'den daha fazla inhibitör etki gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

Koner ve Roy (2011). Yapılan çalışmada, 5 g hindiba kökü tozu, 50 ml. lik çözücüler (Etilasetat veya Heksan) içinde karıştırılarak hazırlanmış. Test mikroorganizması olarak *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, bakteri türü ve iki mantar *Aspergillus niger* ve *Sachharomyces cerevisiae* türü kullanılmış. Örneklerin seçilen bakteri kültürlerine karşı antimikrobiyal analizi, agar kuyusu difüzyon yöntemi ve büyüme kinetiği assa ile in vitro gerçekleştirilmiş. Çözücüler fraksiyonlara ayrılıp etkinlik Aseton: Etil asetat (1: 4) fraksiyonunda anlamlı sonuçlar vermiştir. Cm cinsinden inhibisyon bölgesinin çaplarını belirlemek için 25, 50, 80 µl farklı oranlarda aseton ve etil asetat kullanılarak artan fraksiyon konsantrasyonu ile doğru orantılı olan büyüme inhibisyonu göstermiş. MİK konsantrasyonları 250-350 µl arasında olup, 25,50 ve 80 µl konsantrasyonlarda sırasıyla, *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkisi (0.6-1.2-1.5 cm), *E. coli* üzerindeki etkisinden (0.7-1.0-1.4 cm.) daha fazla olduğu sonucu çıkmış. Hindiba kökünün etil asetat ekstraktının antibakteriyel özelliği,

incelenen Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde önemli etkilere sahip gibi görünmüş ayrıca, hindiba kökündeki aktif maddenin Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere göre daha yoğun olduğu gösterilmiştir.

Karakaş ve ark., (2012). içersinde *Cichorium intybus* L. Bitkisinin de yer aldığı toplam 16 bitkinin metanol kulanılarak elde edilen özütünün 10 farklı bakteri (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, ve *Klebsiella pneumonia*) üzerine yaptıkları araştırmanın sonucuna göre; *Cichorium intybus* L. metanol özütünün tüm Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Mehmood ve ark. (2012), Bu çalışma, *C. intybus* tohumlarının metanolik ekstraktının ve farklı fraksiyonlarının (n-butanol, etil asetat, kloroform ve n-hekzan) antimikrobiyal ve antioksidan etkinliğini değerlendirmek için yapılmış. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemi ve minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) ile belirlenmiş. Üç kg *C. intybus* tohumları ölçülen miktarda %100 metanol (2 x 15 L) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 4-5 gün tutulmuş. Metanol ekstresi ve fraksiyonlar, test edilen tüm suşlara karşı önemli antimikrobiyal aktivite sergilemiş. %100 metanolik ekstraktı *B. subtilis* üzerinde en küçük inhibisyon bölgesine sahip (12.0 mm) ve en yüksek MIK değeri (198 mg) ile en az aktivite gösterirken yine %100 metanolik ekstraktı *E. coli* üzerinde (18.7 mm.) inhibisyon çapına sahip olup MIK değeri (80.4 mg) ile yüksek antibakteriyel etki göstermiş.

Stefanovic ve ark. (2012), *Salvia officinalis* ve *Cichorium intybus* özütlerinin ve yaygın olarak kullanılan antibiyotikler, amoksisilin ve kloramfenikolün sinerjik aktivitesi değerlendirilmiştir. Bitki özleri ve antibiyotikler arasındaki etkileşimler dama tahtası yöntemi ile test edilmiş ve FIC indeksi olarak yorumlanmıştır. Test bakterisi olarak; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve klinik izolatlar *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis* kullanılmıştır. Kurutulmuş, öğütülmüş bitki materyali (her özüt için 30 g), Soxhlet aparatında etil asetat ve aseton ile özümlemiş, kloramfenikol ve amoksisilin test edilen antibiyotik çeşitleri olarak seçilmiş. Sinerjizm testi değerlendirilmeden önce, etil asetat ekstraktlarının, aseton ekstraktlarının ve antibiyotiklerin minimum inhibe edici konsantrasyonları (MIK'ler) tüp seyreltme yöntemi ile belirlenmiştir. *S. officinalis* veya *C. intybus*'tan amoksisilin veya kloramfenikol stok çözeltilerinin bir dizi iki katlı seyreltilmesi ve aseton veya etil asetat özlerinin bir dizi iki katlı stok çözeltileri hazırlanmış. Bitki

özütü (0.25 ml., MİK'den 1/32 MİK' e nihai konsantrasyon) ve 0.25 ml. antibiyotik (MİK'den 1/32 MİK'e nihai konsantrasyon), ve 0.5 ml. Mueller-Hinton broth'a ilave edilerek toplam konsantrasyon 1 ml. olarak elde edilmiş. Sinerjik etkileşimler checkerboard yöntemi ile değerlendirilip, sonuçlar fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeks analiz yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu çalışma, *S. officinalis* ve *C. intybus*'ın aseton ve etil asetat ekstrelerinin antibiyotiklerle kombinasyonu halinde test edilen bakterilerin büyümesini, ilaçların tek tek test edilmesine göre daha düşük bir konsantrasyonda engellediğini göstermiştir.

Verma ve ark., (2013). *Cichorium intybus*'ın kök ve yaprak özleri, Gram negatif patojenik bakterilerden *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivite açısından araştırılmıştır. Duyarlılık, çeşitli konsantrasyonlarda Disk difüzyon yöntemi kullanılarak analiz edilmiş ve inhibisyon bölgesi, standart ilaç Cephotaxime ile karşılaştırılmıştır. 25 gr toz halindeki kök ve yaprak bir yüksük içinde paketlenip, soxhlet ekstraktör içinde ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon metanol, damıtılmış su, kloroform, petrol eteri ve aseton içinde gerçekleştirilmiştir. Tüm çözücüler, farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 200 mg/ml) mm cinsinden inhibisyon alanları belirlenmiş. Metanol özütünde, 200 mg/ml de inhibisyon çapı 12.8 ± 0.12 mm, 100 mg/ml de 12.7 ± 0.08 , 50 mg/ml de 12.5 ± 0.04 mm. olarak sonuçlanmış ve metanol kullanılan patojenlere karşı, antibakteriyel aktivite için en iyi özütleyici çözücü olduğu belirlenmiştir.

Rehman ve ark., (2014). *C. intybus*'un antibakteriyel ve antifungal aktivitesini belirlemek için çözücü olarak n-heksan kloroform, etil asetat ve su kullanılmıştır. Mikroorganizmalar olarak ise *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* gibi altı bakteri suşu kullanılırken, *Aspergillus flavanum* ve *Aspergillus flavanum* gibi dört mantar suşu *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus* ve *Aspergillus niger* kullanılmıştır. n-heksan ve kloroform fraksiyonlarının *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* ve *S. epidermidis*'e karşı potansiyel aktivite gösterdiğini göstermiştir. Etanol ve sulu fraksiyonlar ise, *P. aeruginosa*'ya karşı aktifken, etil asetat fraksiyonu, *B. subtilis*'e karşı bir dereceye kadar aktif olduğu görülmüştür. Kloroform ve n-heksan fraksiyonları, test edilen tüm fungal suşlara karşı çok kuvvetli bulunmuştur. Etanol ve sulu fraksiyonlar *A. niger*, *A. fumigatus* ve *A. flavus*'a karşı aktivite göstermiştir. Etil asetat fraksiyonu, *F. solani*'ye karşı en iyi aktiviteyi göstermiş, ancak diğer mantar türlerine karşı tamamen inaktif olduğu kaydedilmiştir.

Eslami, (2015). Bu çalışmanın amacı, hindiba bitkisinin ekstrakte edilmesinde kullanılan çözücülerin antimikrobiyal özellikler üzerindeki etkisini değerlendirmek olmuştur. Bitki ekstraksiyonu için etanol, aseton ve hekzan çözücüler tek başına veya iki veya üç kombinasyon halinde kullanılmış. Antibakteriyel ve antifungal testler disk difüzyon, MİK ve MBC yöntemleri ile gerçekleştirilmiş. Ethanol Acetone Hexane %100- Etanol ve aseton %50- Etanol ve hekzan %50- Aseton ve hekzan %50- Etanol %67- Aseton ve hekzan %17- Aseton %67- Etanol ve hekzan %17- Hekzan %67 -Etanol, Aseton %17 – herbiri %33 konsantrasyonlarda on farklı çözücüler hazırlanmış. Bu çalışmada, farklı kombinasyonlara sahip tüm solventlerde *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ve *Salmonella typhimurium*'a karşı anlamlı bir antibakteriyel etki görülmemiştir. Tüm çözücülerde *B. subtilis* e karşı önemli ölçüde antibakteriyel etki gözlemlenmiştir. MİK sonuçlarına göre *Bacillus subtilis*'in maksimum etkisi %100 etanol ile 0.125 mg / ml değeri elde edilmiştir.

Haziri ve ark., (2016). *Cichorium intybus* (L.) antibakteriyel etkinliği metanol, etil asetat, aseton, dietil eter, su ve kloroform ekstraktları kullanılarak incelenmiş ve Gram pozitif bakteri *Staphylococcus aureus* (gıda izolatu), *Staphylococcus aureus* (klinik izolat), ve bir Gram negatif bakteri *Escherichia coli* (klinik izolat) kullanılmış. Antibakteriyel aktivite agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 100 gr. lık *Cichorium intybus* (L.) 'un üst kısımları, her bir çözücü ayrı ayrı 250 ml.lik metanol, etil asetat, aseton, dietil eter, su ve kloroform kullanılarak, oda sıcaklığında 24 ekstre edilip daha sonra çözücüler buharlaştırılmış. Ekstraktlar 1, 3 ve 5 mg / ml konsantrasyonda hazırlanmış. *Cichorium intybus* (L.) metanol (5 mg / ml) konsantrasyon *Escherichia coli*'ye (6mm.) karşı, metanol (3 ve 5 mg / ml), *S. aureus* a karşı (6 mm.) antibakteriyel aktivite gösterirken metanol (1, 3 ve 5 mg / ml) *S. aureus* un klinik izolatlarında antibakteriyel etki göstermemiştir.

Jeong ve ark., (2016). *Cichorium intybus* L.'nin (hindiba) etanol ekstresinin *Bacillus cereus* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış. Ekstraksiyon için kullanılan kökler, ara sıra 25 ± 2 ° C'de karıştırılarak 48 saat boyunca %95 etanol içinde yumuşatılmıştır. *Cichorium intybus* L. (hindiba) etanol ekstresi, nokta-damlatma yöntemi ile test edildiğinden çeşitli seviyelerde antimikrobiyal aktivite göstermiş. Çeşitli konsantrasyonlarda *Cichorium intybus* L. etanol ekstraktlarının *Bacillus cereus*'a karşı inhibisyonu tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş. İstatistiksel anlamlılık $P = 0.05$ düzeyinde kabul edilmiş. *Cichorium intybus* L.'nin (hindiba) etanol özütlerinin artan konsantrasyonlarında, *Bacillus cereus*'a karşı daha büyük inhibisyon bölgeleri oluşturmuş ($P < 0.05$). *Cichorium intybus* L.'nin (hindiba) *Bacillus cereus*'un büyümesini inhibe etmek için önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Rub ve Sasikumar (2016), Kurutulan *C. intybus* tohumları toz haline getirilip ve etanol ve etil asetat kullanılarak soxhlet ekstraksiyonu ile ekstrakte edilmiştir. Test edilen patojenik mikroorganizmalar arasında *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* bulunur. MİK sonuçları, her üç ekstrenin de dört mikroorganizma suşuna karşı aktif olduğunu göstermiştir. İncelenen tüm ekstraktlar neredeyse aynı MİK değerlerini göstermiş olup *C. intybus* ekstrelerinin MİK değeri 10 ila 100 µg/ml arasında değişmiştir. *S. aureus*'un büyümesi tüm özütler tarafından engellenmiştir. Etanol ekstraktının *C. albicans* a karşı 90 µg/ml MİK değeri ile potansiyel antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuş, 80 µg/ml MİK değeri ile de *E. coli*'ye karşı önemli aktivite göstermiştir.

Shaikh ve ark. (2016), *Cichorium intybus* tohum ekstratlarının *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada; elde edilen özütün tüm bakterileri etkilediği en yüksek etkinin ise Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* üzerine olduğunu belirlemişlerdir.

Choudhary ve ark. (2020), *Cichorium intybus*'un kök, tohum ve yapraklarının antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelinin yanı sıra fitokimyasal bileşiminin değerlendirildiği bir çalışmadır. İn vitro antimikrobiyal aktiviteyi analiz etmek için agar kuyusu difüzyon yöntemi tercih edilmiştir. Bitkinin antimikrobiyal aktivitesi, bakteriyel büyümeye karşı çeşitli bitki parçalarının özütlerinin sergilediği ilgili inhibisyon bölgesi analiz edilerek hem patojenik hem de patojenik olmayan bakteri türlerine karşı test edilmiştir. Yaklaşık 50 gr toz halinde kök, yaprak ve tohum materyali sırasıyla artan polarite sırasına göre 150 ml- Pet Eter, Kloroform, Aseton, alkol ve Su içine 2 hafta süre ile batırılmıştır. *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* bakterileri test bakterisi olarak belirlenmiştir. Kök, tohum ve yaprağın kloroform ve metanol ekstresinin MİK'leri test edilmiş. *E. coli* ye karşı yaprak metanol ekstresi MİK (145 ± 6.57 µg/ml) değeri kloroform MİK (98.4 ± 1.115 µg/ml) değerine göre yüksek bulunmuştur. *B. subtilis*'e karşı yaprakların metanol MİK (64.23 ± 0.9 µg/ml) değeri, çalışmadaki en düşük MİK değeri olmakla birlikte antimikrobiyal potansiyel göstermiş. *S. aureus*'a karşı yaprak metanol MİK 89 ± 0.87 µg/ml) değeri önemli antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca yapılan araştırmalar, yaprak ve köklerin polar özlerinin gram pozitiflere karşı etkili olduğunu ileri sürer. Antimikrobiyal aktivite analizinden, çoğu zaman tüm bitki parçalarının polar olmayan özlerinin bakteri büyümesini önlemede daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

2.4. *Euphorbia seguieriana* Necker (S  tle  en)

Euphorbiaceae ailesinin 2000 türünden (Rauf ve ark., 2014) biri olan *Euphorbia* (Gupta ve ark., 2018), Türkiye'de *Euphorbiaceae* ailesine ait en zengin cins olarak bilinir ve 80 tür ile temsil edilmektedir (Kirbag ve ark., 2013). *Euphorbia spp.* orman, çalılık, step, kayalık, yama   nadas alanları, yol kenarlarında ve 10-1900 m yükseklikte yayılı   gösterir. Çok yıllık bir bitki olup 60 cm üzerinde boy uzunluğuna sahiptir (Anonymous, 2008). Yeşilimsi mavi tüylerle kaplı yapraklarda zıt olarak düzenlenmiş mızrak şeklinde ve küçük, yoğun, yuvarlak   i  ek kümeleri mevcuttur. Yeşil   i  ekler, s  tle  enlerin kendine özgü bir özelliği olan çiçeklenme tipini oluşturur (Gupta, R.ve Gupta, J. 2019). *Euphorbiaceae'* nin   yeleri çoğunlukla az ya da çok toksik olan s  te benzer lateks varlığı ile karakterize edilir (Rauf ve ark., 2014). Bazı türlerin lateksi, halk hekimliğinde bel soğukluğu gibi bazı deri hastalıkları ve cinsel yolla bulaşan hastalıklarda topikal tedavi olarak kullanılmaktadır (Zeghad ve ark., 2016).

Bu grubun birçok türü geleneksel ilaçlarda da kullanılmaktadır (Gupta ve ark., 2018). *Euphorbia* türlerini en yaygın kullanım   ekli, Hindistanda, bitkinin yapraklarının kaynatılarak yaraların tedavisinde kullanılmasıdır (Muniyandi ve ark. 2021). Yaptığımız literatür taramalarında karşımıza en çok çıkan türler arasında; *E. macroclada*, siğil ve cilt hastalıklarını yatıştırmak için kullanılırken, *E. tenuifolia subsp.* (Erecevit ve Kırba  , 2017), *Euphorbia thymifolia* linn., idrar söktürücü, antihelmintik, kabızlık, cilt hastalıkları, acı ve antiviral olarak kullanılmaktadır (Jayaveera ve ark., 2010). *Euphorbia hirta*, özellikle öksürük, bronşit ve astımda kullanılmakta olup sarılık, metabolizma sorunları ve tümörler için, ayrıca dizanteri ishal ve ishale kar  şı, özellikle amipli dizanteri için yaygın olarak kullanılmaktadır. *E. heterophylla* yaprağında anti-tümör / antikanser özellikleri ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsüne (HIV) kar  şı aktiviteler bildirilmiştir (Muniyandi ve ark. 2021). *E. milli* s  s amaçlı kullanılmakta olup, Nepal'de lateks, burkulmaları tedavi etmek için kullanılmaktadır;   in'de ise hepatit ve abdominal   dem tedavisinde kullanılır (Rauf ve ark., 2014).



Alem: *Plantae*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Familya: *Euphorbiaceae*

Cins: *Euohorbia*

Tür: *Euphorbia seguieriana* Necker

Şekil 2.4. *Euphorbia seguieriana* Necker (Sütleg n)

Euphorbia türleri, hipertansiyon tedavisinde, siğillerin yok edilmesinde ve cilt hastalıklarının tedavisinde (Kırbağ ve ark. 2013) ve daha birçok hastalıkta alternatif tedavi olmasına rağmen yaptığımız literet r çalışmasında antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yeterli veriye ulaşılamamıştır. *Euphorbia* türleri çeşitli antimikrobiyal bileşiklerden; flavonoidler, triterpenoidler, alkanlar, amino asitler ve alkaloidler içerdiği bilinmekte olup (Gupta ve ark., 2018), *Euphorbia* türlerinin antikanser olarak ve bazı virüslere, bakterilere ve mantarlara karşı tıbbi aktiviteye sahip olduğu da birçok çalışma ile bildirilmiştir (Upadhyay ve ark., 2010).

Tablo 2.4. *Euphorbia seguieriana* Necker (S tleg n)türlerinde fitokimyasal bileşenler

Alkoloid	Glikozit
Flavonoid	Karbonhidrat
Tannin	Protein
Terponoid	Uçucu yağ

Kaynak: (Upadhyay ve ark., 2010; Kirbag ve ark., 2013; Rauf ve ark., 2014; Zeghad ve ark., 2016; Erecevit ve Kırbağ, 2017; Maneesha, S. 2018; Muniyandi ve ark. 2021)

Natarajan ve ark. (2005), organik       ler (Aseton, kloroform, etanol ve metanol) kullanılarak, patojenik suşlara karşı disk difüzyon ve well-in agar yöntemleri ile antibakteriyel

özellikler araştırılmış. Antimikrobiyal aktivite belirleme yöntemi olarak, well-in agar yöntemi, disk difüzyon yöntemine göre antibakteriyel aktiviteyi incelemeye en uygun yöntemlerden biri olduğu bildirilmiştir. *Euphorbia fusiformis*'in metanolik özleri (0,2 ml), patojenlere karşı daha iyi büyüme inhibisyonu göstermiş. Disk difüzyon metodunda yaprak metanol özütü, *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde aktivasyon göstermezken, agar well metodunda, *S. aureus* (8mm) ve *E. coli* yaprak özütünde (8mm), kök özütünde (13mm) inhibisyon alanı oluşturmuş. Metanolik özüt, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*'ye karşı önemli antibakteriyel aktivite sergilemiş olup, metanol'ün diğer özütlerle kıyaslandığında antimikrobiyal maddelerin ekstraksiyonu için daha iyi bir çözücü olduğu bildirilmiştir.

Jayaveera ve ark. (2010), yapılan antimikrobiyal analizde, *Euphorbia thymifolia* Linn. Etanolik özütleri (25mg, 50 mg, 75 mg ve 100mg), hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite sergilemiş. *S. aureus*; (25 µg/ml 10 mm, 50 µg/ml 12 mm, 75 µg/ml 14mm, 100 µg/ml 11mm.) ile 75 µg/ml en yüksek inhibisyon alanını(14 mm) göstermiş. *E. coli* için ise (25,75 ve 100 µg/mlde inhibisyon alanı gözlenmemiş). (50 µg/mlde 12 mm) olarak gözlenmiştir.

Upadhyay ve ark. (2010), *E. hirta*'nın toz haline getirilmiş yaprakları soxhlet ekstraktör kullanılarak 24-36 saat süreyle çeşitli ekstraksiyon çözücülerıyla (54-55.5 ° C) ardışık ekstraksiyona tabi tutulmuş. Antibakteriyel taramada her mikroorganizma, toplam 10 ml hacim içeren tüplerde bir ekstrakt ile inkübe edilmiş. Nihai öz konsantrasyonu 0.1 ila 1.5 mg aralığında tutulmuş. *E. hirta* özütlerinin minimum inhibe edici konsantrasyonu da 0.1 mg olarak kaydedilmiş. Ekstrenin *E. coli*, *S. aureus* 'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) 0.1 mg / ml aralığında ölçülmüş. MIK, görünür bakteri üremesinin olmadığı veya bulanıklığın olmadığı en düşük özüt konsantrasyon olarak belirlenmiş. Antibakteriyel taramada 10 mg/ml yaprak metanolik özütte, *Escherichia coli* (9.6mm) ve Klinik izolatu (11.7mm), *Staphylococcus aureus* (10.6mm), klinik izolatu (13.2mm) inhibisyon alanı oluşturduğu gözlenmiş. *E. hirta*'nın yapraklarının metanolik özütü, en yüksek inhibisyon bölgesi olan 13.2 mm olarak kaydedilmiştir.

Avcı ver ark. (2013), *Euphorbia orientalis* L. bitkisinin dezenfektan etkisi araştırıldığı çalışmada, Ekstraksiyonlar için üç farklı çözücü solüsyon (etanol, kloroform ve su) kullanılmıştır. Örneklerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

suşları kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında en duyarlı suş *C. albicans* ve en dirençli suş *S. aureus* olarak belirlenmiştir.

Kirbag ve ark. (2013), bu çalışmada, Türkiye'de tıbbi amaçla kullanılan bazı *Euphorbia* türlerinin metanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış. *Euphorbia* türüne ait sekiz bitki de 5'er g bitki materyali, 25 ml metanol (98.1) çözücü içerisinde 24 saat boyunca bir döner çalkalayıcıda (100 rpm) tutularak özümlemiş. Antimikrobiyal aktivite, test organizmalarına karşı inhibisyon bölgesi ölçülerek değerlendirilmiş. *Euphorbia* türlerinin ekstraktların MİK değerleri 31,2-1000 µg olarak belirlenmiş. *Euphorbia* türlerinin ekstraktlarının, test edilen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuş. Özütlar *S. aureus*'a karşı (8.33±0.33mm,- 20±1.15mm) aralığında inhibisyon alanı oluşturmuş. Çalışmada kullanılan bakterilerden *E. coli* üzerinde (8.33±0.33mm,- 11±1.15mm) inhibisyon alanı gözlenmiş.

Muthumani ve ark. (2013), bu çalışmada *Euphorbia thymifolia* Linn. materyallerinin antibakteriyel aktivitesi, yüksek sıcaklıklarda asidik koşullar altındaki etkinliği araştırılmış. 100 g toz örnek (bütün bitki), 500 ml'lik steril bir erlen içinde bulunan 100 ml çözücüye batırılıp, pamuk yünü ile kaplanmış ve alüminyum folyo ile sarılmış. Karışım, 40 ° C'de tutulan çalkalamalı su banyosunda gece boyunca (24 saat) beklemeye bırakılmış. Karışım, Whatman No. 1 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş, süzöntü daha sonra bir vakum pompasına takılı bir döner buharlaştırıcı kullanılarak kuruyana kadar buharlaştırılmış. Ekstraksiyon çözücöleri için sıcaklık 10 ile 100 ° C arasında ayarlanmış. *E. coli* 100 ° C de 18mm inhibisyon alanı gözlenmiş. *E. coli* (19.0 mm, 100mg/ml MİK) *E. thymifolia* ekstrelerine duyarlılık göstermiştir.

Rauf ve ark. (2014), *Euphorbia milli*'nin (2mg.) konsantrasyondaki metanolik özütü *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* üzerinde herhangi bir aktivitesi gözlenmemiş. *E. milli* 'nin ön fitokimyasal taramasının yapıldığı bu çalışmada MeOH un, ikincil metabolitlerinin varlığını keşfetmede önemli bir aracı olduğunu bildirmişler.

Enerva ve ark. (2015), *Euphorbia hirta* bitkisinin yaprak ekstraktlarının bazı bakteriler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına göre; bitki özütünün *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Trichopyton mentagrophytes* bakterileri üzerine etkilerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Zeghad ve ark. (2016), (*Euphorbia biumbellata*, *Euphorbia terracina*, *Euphorbia dendroides*) bitki materyalleri maserasyon yöntemi ile metanol, etanol, MeOH-H₂O (70/30 v / v) ve su ile 24 saat üç kez ısıtılıp, farklı kurutulmuş ekstreler sırasıyla steril (DMSO) ve steril

su içinde seçilen konsantrasyonlarda (50mg / ml ve 150 mg / ml) çözündürülmüş. Her mikroorganizma, ml başına yaklaşık 10^7 koloni oluşturan birimlik bir konsantrasyonda aşılanmış. 20 µl bitki özütü çözeltisi ile emdirilmiş disk filtre kağıdının (6 mm çapında) kullanılarak, antibakteriyel aktivite disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiş. (8 ila 22 mm) arasında değişen inhibisyon bölgeleri ile üç bitkinin aktif olduğu gözlenmiştir. Ulaşılan en yüksek inhibisyon bölgeleri, *Staphylococcus aureus*'a karşı *Euphorbia biumbellata* yaprakları için 22 mm olarak kaydedilmiştir. Üç *Euphorbia* türünde *E. coli* (20-22mm) *S. aureus* (10,22 mm) *C. albanis* (15-18mm) değişen oranlarda inhibisyon zonları oluşturduğu bildirilmiştir.

Ereçevit ve Kırbağ, (2017), *Euphorbia macroclada* Boiss. özleri, metanol solüsyonu ile hazırlanarak antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Bitki ekstraktlarının MİK değerleri mikrodilüsyon deneylerine göre belirlenmiştir. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitki materyalleri (20g), 24 saat boyunca döner bir çalkalayıcıda (100 rpm) tutularak 400 ml metanol (%98.1) çözücü içerisinde özümленerek ekstraksiyon işlemi yapılmış. *Euphorbia macroclada* Boiss. in metanol ekstraktlarının disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal aktivitesi; *S. aureus* (13 mm, 5 mg / ml MİK değeri) ve *E. coli* (11 mm, 10 mg/ml MİK değeri) değerleri elde edilmiştir.

Maneesha S. (2018), *Euphorbiaceae* familyasına ait altı türün etanolik ekstaktlarının 1000mg/ml 500mg/ml 250mg/ml 125mg/ml 62.5mg/ml 31.25mg/ml konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada, test mikroorganizması olarak kullanılan *Bacillus cereus* için tüm bitkiler (7-14 mm.) arasında değişen inhibisyon bölgesi oluşturmuş. *E. coli* için dört türe ait inhibisyon alanı (6mm ila 10mm), *Staphylococcus aureus* için ise üç türe ait (14mm-15mm) inhibisyon alanı gözlenmiştir. *Euphorbiaceae* ailesinin farklı özleri tüm bakteri türlerine karşı farklı derecelerde antibakteriyel aktivite göstermiş.

Singh ve Sudha (2018), Beş farklı *Euphorbia* türünün, (*Euphorbia milii*, *Euphorbia hirta*, *Euphorbia pulcherrima*, *Euphorbia tithymaloides*, *Euphorbia prostrata*), Gram pozitif bakterilerden, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* ye etkilerinin incelendiği çalışmada, sadece *Euphorbia milii* bitkisinin tüm bakterilerde etkin olduğunu diğer *Euphorbia* türlerinin etkilerinin ise farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ahmad ve ark. (2019), *Euphorbia hirta* bitkisinin yaprak ekstraktlarının mikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada; özütün en etkili olduğu Gram pozitif bakterilerinden

Clostridium absonum olurken en etkisiz olduğu bakteri ise Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* olmuştur.

Gupta ve Gupta (2019), 100g kurutulmuş *Euphorbia hirta* yaprağı petrol eteri, metanol ve su ile ayrı ayrı (60-80°C) 72 saat boyunca Soxhlet cihazında ekstraksiyon işlemi yapılmış. Antimikrobiyal aktivite, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak analiz edilmiş. Agar ortamının katılaşmasından sonra, homojen çapta (6 mm) steril delikler kullanılmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIK); Farklı konsantrasyonlardaki petrol eteri, metanol ve su ekstraktları DMSO (Dimetil sülfoksit) kullanılarak çözülmüş. Her bir test tüpüne besin suyu (10 ml) dökülmüştür. Test tüpleri, 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiş ve en düşük mikrobiyal büyümeyi inhibe eden konsantrasyon (bulanıklık yok) not edilmiştir. *Escherichia coli* 14±0.55 mm. 250 mg/ml MIK iken standart antibiyotik- Ofloksasin 21±1.44 mm. *Staphylococcus aureus* 16±0.30 mm. 220 mg/ml MIK iken standart antibiyotik- Ofloksasin 18±0.95mm. inhibisyon bölgesi gözlenmiş. Çalışmanın sonunda metanolik özütün önemli antimikrobiyal etki sergilediği belirtilmiştir.

Muniyandi ve ark. (2021), 200 g toz numune, 500 ml metanol çözücü (55-60 ° C) içinde bir soxhlet ekstraktörüne 15-18 saat ekstraksiyon için tutulmuş. Ekstraktlar, mg / ml başına aynı çözücüler içinde çözülüp, 100µg / ml, 50µg / ml, 75µg / ml ve 25µg / ml şeklinde seyreltiler oluşturulmuş. *Euphorbia hirta* bitki yaprağı ekstresinin antibakteriyel aktivitesi, inhibisyon bölgesi ölçülerek belirlenmiş ve en düşük minimum inhibitör konsantrasyon (0.125mg) olarak kaydedilmiştir. Disk difüzyon metodunda, 50, 25, 12.5 mg / ml özütlerinin hepsi yüksek antibakteriyel etkinlik göstermiş. Sırasıyla *S. aureus* a karşı 50, 25, 12.5 mg/ml de 23, 20, 26 mm. *E. coli* ye 50, 25, 12.5 mg/ml de 25,21,18 mm aktivite göstermiş. Well difüzyon metodunda ise 100, 75, 50, 25 mg/ml konsantrasyonda sırasıyla *S. aureus* a karşı 100, 75, 50, 25 mg/ml de 35, 24, 19,14 mm. *E. coli* 100, 75, 50, 25 mg/ml de 30, 22, 20,13 mm inhibisyon alanı gözlenmiş.

Sundriyal ve ark. (2021), *E. hirta*, *E. milli* ve *E. pulcherrima* metanolik bitki özütünün antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiş. Daha önce antioksidan aktivite için hazırlanan bitki özütü (10 mg) kalıntıları, 2.5 ml metanol içinde yeniden çözüldürüldü ve 0.22 um filtre ile sterilize edildi ve ardından 8 mm filtre kağıdı diski üzerine yaydırılmış. Antibakteriyel aktivite, bitki özlerinin farklı konsantrasyonlarında (0.1-0.2-0.4 ve 0.5 mg/µl) inhibisyon bölgesi oluşumu gözlenmiş. Seçilen üç bitkinin metanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi; *E. coli* için (0.1 mg/100 µl -8-9-10 mm) iken (0.5 mg/100µl de 16-17-18mm) olarak en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiş. *S aureus* (0.1 mg/100 µl 7-9

mm) iken (0.5 mg/100µl 13-14-16mm) değişen değerlerde en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiş.

2.5. *Hypericum perforatum* L. (Kantaron)

Hypericum cinsi *Clusiaceae* familyası ve *Hypericaceae* alt familyasına dahil olup dünyada 400'den fazla türü kapsamaktadır (Altan ve ark., 2015). *Hypericum* cinsi ülkemizde 19 sekiyonda yaklaşık 100 takson ile temsil edilir ve bunlar arasındaki 47 takson endemiktir (Eroğlu ve ark., 2019; Güner ve ark., 2012). *H. perforatum*, Türkiye’de ve Avrupa’da yaygın yetişen bir bitkidir. Dünya’da daha çok Avrupa’da, Batı Asya’da ve Kuzey Afrika’da yaygın olarak bulunurken, Avustralya, Yeni Zelanda, Güney Afrika ve dünyanın diğer sıcak bölgelerinde yabancı ot olarak karşımıza çıkmaktadır (Walker ve ark., 2001). Türkiye’de bu bitki Marmara, Ege, Akdeniz, Karadeniz, Orta ve Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yetişmektedir (Davis, 1967; Güner ve ark., 2000).



Alem: *Plantae*

Sınıf: *Malpighiales*

Familya: *Hypericaceae*

Cins: *Hypericum*

Tür: *Hypericum perforatum* L.

Şekil 2.5. *Hypericum perforatum* L. (Kantaron)

Bu familyanın dünyada en çok bilenen ve kullanılan türü olan *Hypericum perforatum* L. Türkiye’de “sarı kantaron, binbirdelik otu, kanotu, kılıçotu, mayasılotu, yaraotu, koyunkıran, batof” adlarıyla, uzun yıllardan beri çok iyi bilinen ve kullanılan tıbbi bir bitkidir (Akgöz, 2013). Bazı *Hypericum* türleri, özellikle *H. perforatum*, doğal aktif ilaç kaynağı olarak kullanıldıkları için ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır (Del Monte ve ark., 2015). *Hypericum* türleri, yara iyileşmesi ve antiseptiklerden antivirale kadar çok sayıda farmakolojik özellik sergilerler (Hosni ve ark., 2013). *H. perforatum*’un ayrıca; antitümör, antiviral,

antibakteriyal, antiinflamatuvar analjezik ve hepatoprotektif gibi etkileri de bulunmaktadır (Colasanti ve ark., 2000; Çubuklu ve ark., 2002; Reichling ve ark., 2001).

Hypericum perforatum L., Yara iyileştirici, bakterisit, idrar söktürücü, iltihap giderici ve yatıştırıcı etkilerinden dolayı yüzyıllardan beri tedavi maksatlı olarak kullanılmaktadır (Çırak ve Kurt, 2014). *Hypericum* türleri yatıştırıcı, antiseptik ve antispazmodik olarak kullanılmaktadır (Camas ve ark., 2014). Ülkemizde bitkinin, halk arasında mide-bağırsak rahatsızlıklarına, sarılığa, karaciğer ve safra kanalı rahatsızlıklarına karşı da kullanıldığı bildirilmiştir. Bitkiden hazırlanan %1'lik infüzyon, dahilen spazm giderici, yatıştırıcı ve kurt düşürücü olarak; sarı kantaron yağlı maseratı (*Oleum Hyperici*) ise haricen antiseptik ve özellikle yanık yaraları başta olmak üzere yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Can ve ark., 2009). *Hypericum perforatum*'un toprak üstü aksamlarından hazırlanan ham bitki ekstraktlarının güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve bakteriyel kaynaklı yaralar ve bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini bildiren birçok çalışma vardır. Tüm çalışmalarda alkolik ekstrelerin sulu ekstrelerle göre daha etkin olduğu; *Hypericum* ekstraktlarının sergilediği bu antibakteriyel etkinin büyük ölçüde hiperforin ve hiperisinlerden kaynaklandığı ve gram-negatiflere göre gram-pozitif bakterilere karşı daha güçlü olduğu bildirilmektedir (Çırak ve Kurt, 2014). *Hypericum* türlerinin ana aktif bileşenlerinin, hiperisin, izoperisin, psödohiperisin, protohiperisin, protopsödohiperisin, siklopsödohiperisin ile hiperforin ve adhiperforin dahil prenillenmiş floroglusinollerini içeren antrakinonlar olduğu düşünülmektedir. Kaempferol, kersetin, luteolin, hiperosit, izokersitrin, kersitrin ve rutin içeren flavonoidler; kateşin ve epikateşin içeren flavanoller ile birlikte biapigenin ve amentoflavon içeren biflavonoidler mevcuttur. Diğer polifenolik bileşenler arasında kafeik ve klorojenik asitler ve metil-2-oktan içeren uçucu yağ bulunur. (Camas ve ark., 2014; Elbay, 2019).

Tablo 2.5. *Hypericum perforatum* L. türlerinde uçucu yağ bileşenleri

Terpenoitler	Alifatik bileşikler
α -pinen	2-metil oktan
β -pinen	<i>n</i> -nonan
geraniol	<i>n</i> -dekan
β -karyofillen	<i>n</i> -undekan
β -farnesen	<i>n</i> -tetradekanol
humulen	2-metil-dekan
germakren	2-metil-dodekan

Kaynak: (Saddiqe ve ark., 2010; Nahrstedt ve Butterweck, 1997; Çamaş ve ark., 2014)

Males ve ark., (2006), *Hypericum* türleri ile yapılan çalışmada; Metanol ekstraktları, diklorometan ve petrol eteri fraksiyonları *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus subtilis*'e karşı etkili olduğu belirlenmiş. Ayrıca, *H. perforatum* subsp. *angustifolium* diğer alt türlere göre daha güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Duman ve Sevimli, (2008), *H. perforatum*, *H. scabrum* L. ve endemik bir tür olan *H. kotschyannum* Boiss.'un toprak üstü kısımlarından elde edilen etil asetat, etanol, aseton ve kloroform ekstrelerinin, 7 Gram pozitif ve 3 Gram negatif bakteri türü üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri araştırılan bir çalışmada, hazırlanan ekstrelerin genel olarak Gram pozitif bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, araştırmada kullanılan Gram negatif bakteri (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*) türlerine karşı ise hiçbir antibakteriyel etkiye sahip olmadığı bulunmuştur.

Saddiqe ve ark. (2010), *Hypericum*'un Gram pozitiflere karşı Gram negatif bakterilere göre daha yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ve alkollü özütlerin (metanolik / etanolik) sulu özütlerden daha belirgin aktiviteye sahip olduğunu bildirmişler. *H. perforatum*'un kimyasal ve farmakolojik özelliklerine dayanarak, bu türün yararlı terapötik özelliklere sahip olduğu ve etkili bir adaptojenik bitkisel ilaç olarak kullanım potansiyelinde olduğunu bildirmişlerdir.

Barış ve ark. (2011), Türkiye'nin güneydoğusundan toplanan üç *Hypericum* (*H. scabrum* L., *H. lysimachioides* Boiss. var. *lysimachioides*, *H. retusum* Aucher) türünün etanol

ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin test edildiği bir çalışmada, hazırlanan ekstreler test edilen mikroorganizmalara karşı farklı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Tüm *Hypericum* ekstrelerinin *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı güçlü antibakteriyel etkilere sahip olduğu bulunmuş. İncelenen tüm *Hypericum* ekstreleri arasında, *H. scabrum*'un etanol ekstresi, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı en güçlü antimikrobiyal etkinliği göstermiş.

Koç (2012), *H. calycinum* L. bitkisinin 50-250 mg/ml' lik etanol ekstrelerinin, sekiz patojen bakteri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri çalışılmış, bitkinin etanol ekstresi *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fecalis*, *Escherichia coli* 35218, *Escherichia coli* 25922 bakterileri üzerine aktivite göstermezken, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı oldukça iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

İmanlı (2013), *Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum capitatum* Choisy bitkilerinin toprak üstü kısımları, metanol ile ekstrakte edilerek Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre bazı bakteri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldığı çalışmada; Özellikle *Staphylococcus aureus* suşunun bu ekstrelerle karşı en fazla duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Del Monte ve ark. (2015), Üç adet *H. perforatum*'un, üç adet ekstraktının fenolojik bileşiminin yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin de incelendiği araştırma sonucuna göre; Kloroform-metanol ve metanol özütleri flavonoidlerin varlığından dolayı antioksidant aktivite göstermişler. Bununla birlikte, Kloroform ve kloroform-metanol özütleri, Gram pozitif *Bacillus cereus* (DSM 4313 ve DSM 4384 suşları) ve *S. aureus* ve Gram negatif *Escherichia coli* ye karşı antimikrobiyal aktivite sergilemişlerdir.

Ökmen ve Balpınar (2017), *H. perforatum*'un metanol özütünün *S. aureus* ve CNS patojenlerine karşı potansiyel antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş. Araştırma sonuçlarını, *H. perforatum*'un önemli antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu önermişlerdir.

Panda ve ark. (2017), yaptığı çalışmada *Hypericum gaitii* Haines'in, aseton, su ve etanol ekstresinin *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir.

Önem ve Çevikbaş (2018), *Hypericum atomarium* Boiss. çiçeklerinden hazırlanan kloroform, metanol ve su ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus* ve *Staphylococcus epidermidis* üzerindeki antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmadan elde edilen sonuçlara göre hazırlanan tüm ekstraktların klinik izolatlar üzerinde yüksek oranlarda antibakteriyel etkiye sahip oldukları tespit edilmiş. En fazla antibakteriyel etki kloroform ile hazırlanan ekstraktta (20,7 mm) tespit edilmiş olup

tüm izolatlar değerlendirildiğinde inhibisyon değerlerinin 20,7-16 mm arasında olduğu tespit edilmiş.

Özkan ve ark. (2019), bazı endemik *Hypericum* türlerinin (*H. thymbrifolium*, *H. spectabile*, *H. pseudolaeva*, *H. neurocalycinum*, *H. malatyanum*) ve *H. perforatum*'un farklı ham özütleri, çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda tüm ekstraktların test edilen Gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, Metisiline dirençli *S. aureus* ve *Streptococcus epidermidis*) karşı aktivite gösterdiği görülmüştür.

Düzgüner ve Erbil (2020), Ardahan yöresinden toplanan ve *Hypericaceae* familyasına ait olan kantaronun antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş. Kurutulmuş bitki numunesi etanol ve metanol ile ekstrakte edilmiş. Kantaron etanol ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ya karşı test edilmiş. Analizler sonucunda kantaron metanol ekstraktında, etanol ekstraktına oranla daha yüksek antibakteriyel aktiviteye rastlanırken, her iki ekstraktta da antifungal etki gözlenmemiş. Örnekler GSH düzeyi bakımından çözücülere göre farklılık göstermiştir. Toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde ise anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Saddiye ve ark. (2020), *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*'ya karşı geleneksel olarak kullanılan dört *Hypericum* türünün (*H. androsaemum*, *H. ericoides*, *H. x moserianum* ve *H. olympicum*) farklı çözücü ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi incelenmiş. Araştırma sonucuna göre *Hypericum* türlerinin antibakteriyel aktivitesi, bu türlerin yara iyileşmesi için kullanılmasının geleneksel rolünü destekleyici bir sonuca ulaşılmıştır.

Burunkaya (2020), (*Hypericum Perforatum* L.) bitkisinin farklı çözümler (etanol, metanol, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının fenolik bileşik, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları incelendiğinde kantaron bitkisinin ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkisi göstermediği, metanol, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktları antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmiştir.

Reichling ve ark. (2001), *H. perforatum*'dan izole edilen hyperforin, Gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkili olduğunu buna karşılık gram negatif bakterilere ve funguslara

karşı ise etkisinin daha az olduğunu bildirmişler. 0.1 ml hyperforin *Staphylococcus aureus* ve *Sarcina lutea*’ karşı en etkili olduğu görülmüştür.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Örnekleri

Araştırmamızda yer alan bitkiler *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron), Samsun ili Alaçam ilçesi Dütmen mevkiinden (41 26’ 47.88 K°, 35 28’ 50.42 D°, yükseklik: 1657 m), 8 Ağustos 2020 tarihinde toplanmıştır. Bitki türlerinin teşhisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bafra Meslek Yüksek Okulu, Çayır Mera ve Yem bitkileri Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sebahattin ALBAYRAK tarafından yapılmıştır.

3.1.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Achillea millefolium L., *Anthemis cretica* L., *Cichorium intybus* L., *Euphorbia seguieriana* Necker ve *Hypericum perforatum* L. bitkilerinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında, gölge ve rutubetsiz bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkilerin yaprak ve çiçek kısımları birlikte, laboratuvarında bulunan değirmen ile öğütülerek toz haline getirilmiştir. Ardından deneyde kullanılmak üzere ışıık ve nemden korunacak şekilde saklanmıştır. Bitkilerin her birinden 5gr tartılarak iki farklı çözücüde (%80 metanol, %20 su (80ml:20 ml.) ve 100 ml dietil eter) muamele edilmiş ve Soxhlet cihazında 7 saat ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar vakumlu rotary evaporatörde çözücüsünden uzaklaştırılmıştır (Albayrak ve Aksoy, 2011). Her özütün her birinin 5gr’lık numunesi, aynı 10ml’lik konsantrasyonu üretmek için metanol ve dietil eter içinde yeniden süspanse edilmiştir (DelMonte ve ark, 2015). Geriye kalan bitki özütü, özütlendiği çözücü kullanılarak çözündürülmüş ve analizlerde kullanılmak üzere saklanmıştır.



Şekil 3.1. Ekstraksiyonu yapılan bitkilerin soxhlet cihazındaki görüntüsü



Şekil 3.2. Bitki özütlerinin evaporatör ile uçurulması aşaması

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Test Suşları

Çalışmamızda kullanılan test suşları Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Araştırmada, Gram negatif bakterilerden; (*Escherichia coli* w3110, *Acinebacter baumannii* 19606, *Salmonella typhimurium* LT2), Gram pozitif bakterilerden ise; (*Staphylococcus aureus* 25923, *Bacillus cereus* 702 Roma, *Listeria monocytogenes*, klinik izolatu) kullanılmıştır. Bakterilerin Nutrient broth (biolife)' da stokları hazırlanmış ve derin dondurucuda -80 °C'de (Panasonik) saklanmıştır. Yapılan çalışmalar sırasında Nutrient agar besiyeri taze kültür olarak hazırlanıp kullanılmıştır.

3.1.3.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, morfolojik olarak Gram negatif, 2.0–6.0 µm uzunluğunda ve 1.1-1.5 µm genişliğinde çubuk şeklinde fakültatif anaerob bir bakteridir. Bununla birlikte gerçek şekli; küresel (koklar) hücrelerden uzun veya filamentli çubuklara kadar değişir. *Escherichia coli* spor yapmaz ve peritrik yapıda flagellaya sahiptir. *E. coli*' nin birkaç suşu bulunmaktadır, çoğu patojen değildir; ancak bazı gruplar, ölümle sonuçlanabilecek ciddi ishale sebep olabilmektedir (Uzdil, 2021).

3.1.3.2. *Acinebacter baumannii*

Acinetobacter türleri doğada yaygın olarak bulunan aerobik, Gram negatif, hareketsiz, fermentasyon yapmayan bakterilerdir. Bu türler içerisinde *Acinetobacter baumannii* sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonlar içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Hastanelerde özellikle yoğun bakım üniteleri olmak üzere, hastanelerin çeşitli birimlerinde ciddi hastane enfeksiyonlarından sorumlu önemli fırsatçı patojenlerin başında gelmektedir. Yaygın olarak travma, mekanik ventilasyon ve girişimsel işlemlere bağlı olarak gelişen pnömoni, endokardit, menenjit, deri ve yara enfeksiyonları, peritonit ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Özsoy ve ark. 2019).

3.1.3.3. *Salmonella typhimurium*

Salmonella cinsine ait bakteriler, sistematik olarak enterik bakteriler grubu içerisinde değerlendirilmektedir. Gram boyanma özellikleri bakımından Gram negatif, spor oluşumu gözlenmeyen, aerobik ve anaerobik koşullarda farklı metabolik yanıtlar üreterek çoğalan üyelerle temsil edilirler. Morfolojik yapıları üniform (çubuk) olup, boyutları 0,4-5 µm arasında değişim gösterebilmektedir. Salmonelloz dünya çapında insanlarda ve hayvanlarda yaygındır. Salmonelloz, en sık bildirilen ikinci gastrointestinal enfeksiyondur. Çoğu insan vakası gıda

kaynaklıdır; bununla birlikte, gıda kaynaklı olmayan *Salmonella* enfeksiyonu hayvanlarla, kontamine sularla veya çevreyle temas sırasında bulaşabilir (Has, 2021)

3.1.3.4. *Staphylococcus aureus*

Stafilokoklar, *Eubacteriales* takımının *Micrococcaceae* ailesine bağlı; hareketsiz, aerob veya fakültatif anaerob, Gram pozitif bakterilerdir. Stafilokoklar içerisinde en patojen tür olan, *Staphylococcus aureus* tur. Stafilokoklar; 0.5-1.5 µm çapında, yuvarlak, hareketsiz, sporsuz mikroorganizmalardır. Gram boyama yapıldığında *S. aureus*'un hücre duvarı kristal viyole/iyot karışımını tutarak, Gram negatif bakterilerin aksine mor renkte görünürler. *Staphylococcus aureus*, cilt ve yumuşak dokudaki piyojenik enfeksiyonların en sık nedenlerinden birisi olup impetigo, fronkül, selülit, lenfadenit, paronişi, omfalit ve yara enfeksiyonu şeklinde karşımıza çıkabilmektedir (Yılmaz, 2016).

3.1.3.5. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, *Bacillaceae* familyasının *Bacillus* cinsine ait olan bir bakteri türüdür. Etken toprak kökenli olup bitki örtüsü üzerinde, hayvan yemlerinde, toprakla temas eden alet ve ekipmanlarda yaygın bir şekilde bulunabilmektedir (Cristianson, 1998). Boyutları 1-1,2 µm ile 3-5 µm arasında olan bu bakterinin optimal gelişme sıcaklığı 30°C'dir. En yüksek üreme sıcaklığı suşlara göre değişkenlik göstermekle birlikte 37-50°C arasındayken; en düşük üreme sıcaklığı ise yine suşa bağlı olarak 4-18°C arasında değişmektedir. *Bacillus* türlerinin çeşitli besinlerde bulunması besin maddesinin bozulmasına neden olabilmektedir (Kebabçı, 2020).

3.1.3.6 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes suşu gıda kaynaklı hastalıklara sebebiyet vermesinden dolayı, insanlar ve hayvanlar için patojenik bakterilerden biri olarak değerlendirilmekte ve toplum sağlığı üzerinde ciddi risk teşkil etmektedir. Bu bakteri listeriyosis olarak isimlendirilen hastalığa neden olmaktadır. *L. monocytogenes*'in gıda kaynaklı insan listeriyozunun ana etmeni olduğu 1980 yılında resmi olarak kanıtlanmıştır (Disson vd. 2021). *L. monocytogenes*, gıda işleme ortamlarında uzun süre canlılığını koruması ve düşük sıcaklıklarda gelişme kabiliyeti nedeniyle, gıda üretim ve tüketim sektöründe endişe yaratan bir bakteri grubudur (Kocadağ, 2021)

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Nutrient broth (NB) besiyeri, bakteri suşlarının büyütülmesi için üreme ortamı olarak kullanılmıştır. 5.2 gr Nutrient broth (Biolife) tartılarak 400 ml. distile suda çözündürülerek 121 °C’de 15 dakika (dk) otoklavda (Nüve) steril edilmiştir.

5.2 gr Agar-Agar (Biolife) ve 6 gr Nutrient broth (Biolife) tartılarak 400ml. distile suda çözündürülerek otoklavda 121 °C’de 15 dk steril edilerek ve 55°C sıcaklığa gelince aseptik teknikler uygulanarak petrilere dökülmüştür.



Şekil 3.3. Nutrient Broth besiyerinin otoklav için hazırlanması

3.2. Metot

3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntem

Ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Deney için U tabanlı 96’ lık mikrotitre plakları kullanılmıştır. Gram negatif bakterilerden; *Escherichia coli*, *Acinebacter baumannii*, *Salmonella typhimurium*, McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmış bakteri süspansiyonları için 5×10^5 CFU/ml, olacak şekilde sulandırılmış ve ilk kuyucuklar üzerine 150 µl olacak şekilde eklenmiştir (CLSI, 2012). Diğer kuyucuklara ise 100 µl besiyeri eklenmiştir. Nihai konsantrasyon 300 µl olarak belirlenmiştir. Mikropipet yardımı ile pipetaj yapılarak iyice karışması sağlanmıştır. İlk sıradan alınan 100 µl karışım diğer onbir sıra üzerine aktararak iki katlı seri sulandırılma yapılmıştır. Mikrotitre plaklarının kapakları kapatılarak $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ’de 18 saat inkübe edilmiştir. Kuyucuklar

içerisindeki oluşan bulanıklık rengindeki azalmanın gözlemlendiği ilk kuyucuk Minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) olarak kabul edilmiştir (Aydın ve Sevindik, 2018).

Gram pozitif bakterilerden; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmış bakteri süspansiyonları için 5×10^5 CFU/ml, olacak şekilde sulandırılmış ve hazırlanan besi yerlerinden kuyucukların ilk sırasına 125 µl, diğer kuyucuklara ise 100 µl besiyeri eklenmiştir. Nihai konsantrasyon 300 µl olarak belirlenmiştir. Mikrotitre plaklarının kapakları kapatılarak $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ 'de 18 saat inkübe edilmiştir. Kuyucuklar içerisindeki oluşan bulanıklık rengindeki azalmanın gözlemlendiği ilk kuyucuk Minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) olarak kabul edilmiştir. Testler üç kez tekrarlanmıştır. MIK, mikroorganizmaların büyümesini tamamen engelleyen en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmıştır (Aydın ve Sevindik, 2018). MIK deneylerinde üreme olmayan kuyulardan bir damla alınarak Nutrient Agar besiyerinde üremeye bırakıldı. Bu nedenle, inhibisyonun statik veya cidal bir etkiden kaynaklanıp kaynaklanmadığı belirlendi. Böylece sidal konsantrasyon değerleri belirlendi (Darcan ve ark. 2021).

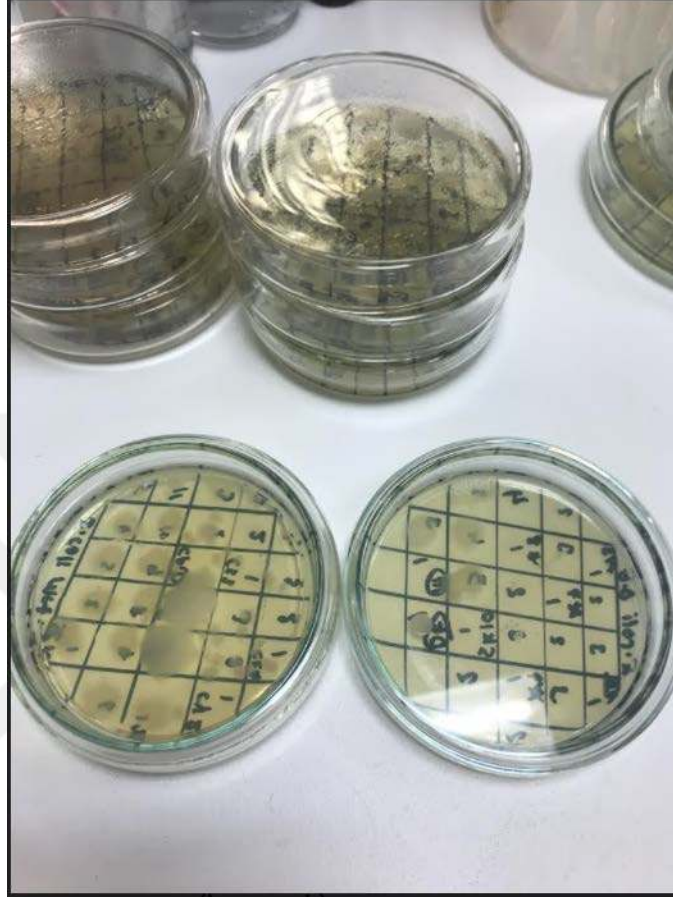


Şekil 3.4. Microplate ile MIK değerlerinin belirlenmesi aşaması

3.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC)

Minimum inhibitör konsantrasyonun (MIK) belirlenmesi, mikro seyreltme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Eslami, 2015). MBC değerleri, üreme göstermeyen MIK tüplerinden 0.10 ml bakteri süspansiyonu çıkarılarak, Nutrient agar plakalarına alt kültür yapılarak belirlenmiş ve 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, görünür bir

büyümenin görülmediği konsantrasyon MBC olarak kaydedilmiştir (Muthumani ve ark, 2013). Yaptığımız çalışmada MBC değerlerinin MİK değerleri ile aynı veya daha yüksek olduğu görülmüştür (Muthumani ve ark, 2013).



Şekil 3.5. Nutrient Agar ile MBC analizi aşaması

3.2.3. Sinergist ve Antagonistik Etki

Çalışmamızda bitkiler arasındaki sinerjizm, metanol: su (%80:20): dietil eter (%100) karışımı ile özütlenen beş bitki kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki özütleri 7 saat soxhlet cihazında ekstakte edilmiştir. Özütlerin antimikrobiyal aktivitesi, 600'de bakteri büyümesinin OD'si kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bakteri türü üzerinde sadece bir ekstrakt kullanıldıktan sonra, her bakteri türünde sinerjist etkinliğini değerlendirmek için bitkileri 50-50 oranında ve birlikte karıştırılmıştır (Terehi ve ark. 2015) Sinerjizm ve antagonizmanın belirlenmesinde, seçilen bitki özlerinin %50'lik çözeltilerinin kombinasyonları kullanılmıştır (György, 2010).

Araştırmamızda, antimikrobiyal ajanlar arasındaki in vitro etkileşimler, aşağıdaki formül kullanılarak fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FIC) indeksi hesaplanarak belirlenmiştir:

FIC index A= kombinasyon halinde bitki özütünün MİK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MİK değeri (A)

FIC index B= kombinasyon halinde bitki özütünün MİK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MİK değeri (B)

FIC index AB= FIC index A+ FIC index B

A ve B'nin $FIC \leq 0,5$, toplam sinerjizm; $0,5 < FIC \leq 0,75$, kısmi sinerjizm; $0,75 < FIC \leq 2$, etkisi yok; $FIC > 2$, antagonizma olarak değerlendirme yapılmıştır (Choudhary ve ark, 2020).

4. BULGULAR

Bu çalışmada, *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) bitkilerinin metanol ve dietil eter çözümleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin antagonistik ve sinergistik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Araştırmada, gram negatif bakterilerden; *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella typhimurium*, Gram pozitif bakterilerden ise; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* kullanılmıştır.

4.1. *Achillea millefolium* L. ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Achillea millefolium L. (beyaz civanperçemi) bitkisinin metanol ve dietil eter çözümleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının Gram negatif (*Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* ve *Salmonella typhimurium*), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes*) bakterileri üzerine olan antibakteriyel etkileri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen *Achillea millefolium* L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK, mg/ml), Minimum Sidal Konsantrasyon (MCC, mg/m)

Bakteriler	Metanol (80:20)		Metanol (Kontrol)		Dietil eter (100%)		Dietil eter (Kontrol)	
	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC
<u>Gram negatif</u>								
<i>E.coli</i>	11.85	23.70	25.00	50.00	14.15	14.15	12.50	25.00
<i>A.baumannii</i>	11.85	23.70	12.50	25.00	14.15	28.30	25.00	50.00
<i>S.typhimurium</i>	11.85	23.70	25.00	50.00	14.15	14.15	25.00	25.00
<u>Gram pozitif</u>								
<i>S. aureus</i>	5.925	11.85	25.00	25.00	10.61	10.61	25.00	25.00
<i>B. cereus</i>	2.962	5.924	25.00	50.00	10.61	10.61	25.00	25.00
<i>L. monocytogenes</i>	5.925	11.85	12.50	25.00	10.61	10.61	12.50	25.00

Yaptığımız çalışmada, *Achillea millefolium* L.’nin metanol ekstraktlarının MIK değeri bakımından metanolün kontrol gruplarına göre çalışmada kullanılan tüm bakteriler üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenirken, *E. coli* bakterisi hariç tüm bakteriler üzerine dietil eter ekstaktının, dietil eter kontrol gruplarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmada metanol ve dietil eter ile elde edilen 5 bitkinin ekstraktlarının bakteriler üzerinde görülen MIK

değerine göre inhibisyon etkisinin sidal veya statik olarak mı gerçekleştiğini belirlemek için üreme görülmeyen kuyucuklardan katı besiyeri üzerine ekim yapılarak üreme durumları test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *A. millefolium*'un MIK ve MCC değerlerinin bütün bakterilerde farklı olduğu belirlenmiştir. Metanol özütünde, Gram negatif bakterilerde MIK değeri 11.85 mg/ml iken MCC değerinin 23.7 olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1). Gram pozitif bakterilerden *S. aureus* ve *L. monocytogenes* de MIK değeri 5.92 dir. Ayrıca *B. cereus* da MIK değeri 2.96 olarak belirlenmişken MCC değeri 5.92 olarak tespit edilmiştir. Açık bir şekilde görülmektedir ki bu bitkinin metanol eksttrakının MIK konstanstrasyonlarındaki etkisi statik bir etkidir. Dietil eter özütünde ise, *A. baumannii* bakterisi hariç MIK ve MCC değerleri Gram negatif (14.15 mg/ml) ve Gram pozitif (10.61 mg/ml) bakterilerde aynı olup sidal etki gözlemlenmiştir.

4.2. *Anthemis cretica* L. ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Anthemis cretica L. (dağ papatyası) bitkisinin metanol ve dietil eter çözenleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının Gram negatif (*Escherichia coli*, *Acinebacter baumannii* ve *Salmonella typhimurium*), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes*) bakterileri üzerine olan antibakteriyel etkileri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen *Anthemis cretica* L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK, mg/ml), Minimum Sidal Konsantrasyon (MCC, mg/m)

Bakteriler	Metanol (80:20)		Metanol (Kontrol)		Dietil eter (100%)		Dietil eter (Kontrol)	
	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC
Gram negatif								
<i>E.coli</i>	21.50	21.50	25.00	50.00	21.37	14.25	12.50	25.00
<i>A.baumannii</i>	5.375	10.75	12.50	25.00	14.25	14.25	25.00	50.00
<i>S.typhimurium</i>	10.75	21.50	25.00	50.00	14.25	14.25	25.00	25.00
Gram pozitif								
<i>S. aureus</i>	5.375	10.75	25.00	25.00	10.68	10.68	25.00	25.00
<i>B. cereus</i>	2.680	5.36	25.00	50.00	10.68	10.68	25.00	25.00
<i>L. monocytogenes</i>	10.75	10.75	12.50	25.00	10.68	10.68	12.50	25.00

Anthemis cretica L.’nin metanol ekstraktlarının MIK değeri bakımından metanolün kontrol guruplarına göre çalışmada kullanılan tüm bakteriler üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenirken, *E. coli* bakterisi hariç tüm bakteriler üzerine dietil eter ekstaktının, dietil

eter kontrol guruplarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. *Anthemis cretica* bitkisinin metanol eksraktı *E. coli* (MIK ve MCC: 21.50 mg/ml) ve *L. Monocytogenes* (MIK ve MCC: 10.75 mg/ml) üzerinde sidal etki göstermiştir. Dietil eter ekstraktı ise *E. coli* (MIK ve MCC: 21.37 ve 14.25 mg/ml) hariç tüm bakteriler üzerinde sidal etki göstermiştir. Diğer bakteri guruplarında ise her iki özütüde statik etki görülmüştür.

4.3. *Cichorium intybus* L. ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Cichorium intybus L. (yabani hindiba) bitkisinin metanol ve dietil eter çözgenleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının Gram negatif (*Escherichia coli*, *Acinebacter baumannii* ve *Salmonella typhimurium*), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes*) bakterileri üzerine olan antibakteriyel etkileri Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen *Cichorium intybus* L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi. Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MIK, mg/mL), Minimum Sidal Konsantrasyon (MCC, mg/mL).

Bakteriler	Metanol (80:20)		Metanol(Kontrol)		Dietil eter (100%)		Dietil eter (Kontrol)	
	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC
Gram negatif								
<i>E.coli</i>	12.35	12.35	25.00	50.00	13.60	13.60	12.50	25.00
<i>A.baumannii</i>	12.35	12.35	12.50	25.00	13.60	27.30	25.00	50.00
<i>S.typhimurium</i>	12.35	12.35	25.00	50.00	13.60	13.60	25.00	25.00
Gram pozitif								
<i>S. aureus</i>	6.175	6.175	25.00	25.00	6.82	6.82	25.00	25.00
<i>B. cereus</i>	5.375	10.75	25.00	50.00	6.82	6.82	25.00	25.00
<i>L. monocytogenes</i>	6.175	12.35	12.50	25.00	6.82	6.82	12.50	25.00

Cichorium intybus L.’nin metanol ekstraktlarının MIK değeri bakımından metanolün kontrol guruplarına göre çalışmada kullanılan tüm bakteriler üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenirken, *E. coli* bakterisi hariç tüm bakteriler üzerine dietil eter ekstaktının, dietil eter kontrol guruplarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Cichorium intybus methanol ekstraktının Gram negatif bakteriler üzerine sidal etkili (MIK ve MCC: 12.35 mg/ml) olduğu belirlenmişken sadece Gram pozitif bakteri olan *B. cereus* ve *L. monocytogenes* üzerinde MIK değerinde statik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bitkiden elde edilen dietil eter ekstraktı ise sadece *A. baumannii* bakterisi üzerine statik bir etki göstermişken diğer bakterilerde MIK değerinin sidal konsantrasyon olduğu tespit edilmiştir (Gram negatif MIK ve MCC: 13.60 mg/ml, Gram pozitif MIK ve MCC: 6.82 mg/ml)

Tablo 4.5. Metanol (80:20) ve Dietil eter (%100) ile elde edilen *Hypericum perforatum* L. özütlerinin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK, mg/mL), Minimum Sidal Konsantrasyon (MCC, mg/mL).

Bakteriler	Metanol (80:20)		Metanol (Kontrol)		Dietil eter (100%)		Dietil eter (Kontrol)	
	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC	MIK	MCC
Gram negatif								
<i>E.coli</i>	21.50	21.50	25.00	50.00	21.55	21.55	12.50	25.00
<i>A.baumannii</i>	21.50	21.50	12.50	25.00	10.75	10.75	25.00	50.00
<i>S.typhimurium</i>	10.57	10.57	25.00	50.00	21.55	21.55	25.00	25.00
Gram pozitif								
<i>S. aureus</i>	2.643	2.643	25.00	25.00	10.70	10.70	25.00	25.00
<i>B. cereus</i>	1.321	1.321	25.00	50.00	10.70	10.70	25.00	25.00
<i>L. monocytogenes</i>	2.643	2.643	12.50	25.00	10.70	10.70	12.50	25.00

Hypericum perforatum L. nin metanol ekstraktlarının MIK değeri bakımından metanolün kontrol guruplarına göre *A. baumannii* hariç tüm bakteriler üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenirken, *E. coli* bakterisi hariç tüm bakteriler üzerine dietil eter ekstaktının, dietil eter kontrol guruplarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. *Hypericum perforatum* L.'nin hem metanol hemde dietil eter ekstraktlarının Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerinde sidal etki gösterdiği görülmektedir. Dolayısı *Hypericum perforatum* bitkisinin MIK değeri sidal konsantrasyondur.

4.6. *Achillea millefolium* L., *Anthemis cretica* L., *Cichorium intybus* L., *Euphorbia seguieriana* Necker ve *Hypericum perforatum* L. ekstraktlarının Sinergistik ve Antagonistik ilişkileri

Antimikrobiyal ajanlar arasındaki in vitro etkileşimler, aşağıdaki formül kullanılarak fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FIC) indeksi hesaplanarak belirlenmiştir:

$$\text{FIC index AB} = \text{FIC index A} + \text{FIC index B}$$

FIC index A= kombinasyon halinde bitki özütünün MIK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MIK değeri (A)

FIC index B= kombinasyon halinde bitki özütünün MIK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MIK değeri (B)

A ve B'nin $FIC \leq 0,5$, toplam sinerjizm; $0,5 < FIC \leq 0,75$, kısmi sinerjizm; $0,75 < FIC \leq 2$, etkisi yok; $FIC > 2$, antagonizma olarak değerlendirilmiştir (Choudhary ve ark, 2020).

Araştırmada kullanılan *Achillea millefolium* L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) bitkilerinin metanol çözgeni kullanılarak elde edilen ekstraktların FIC değerleri Tablo 4.6'da, dietil eter çözgeni kullanılarak elde edilen ekstraktların FIC değerleri ise Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Metanol özütlerinin ikili karışım antibakteriyel aktivitesi FIC değerleri

	CP	CY	CS	CK	PY	PS	PK	YS	YK	SK
Negatif										
<i>E. coli</i>	0.67	0.67	0.90	1.02	0.61	0.84	0.96	0.84	0.96	1.19
<i>A.baumannii</i>	0.83	0.66	1.09	0.97	0.85	1.27	1.16	1.11	0.99	1.41
<i>S.typhimurium</i>	0.65	0.64	0.88	1.06	0.64	0.87	1.05	0.86	1.04	1.27
Pozitif										
<i>S.aureus</i>	0.65	0.49	1.10	0.49	0.65	1.26	0.64	1.10	0.49	1.10
<i>B.cereus</i>	0.61	0.49	0.77	0.48	0.60	0.88	0.59	0.77	0.48	0.75
<i>L.monocytogenes</i>	0.57	0.49	0.90	0.48	0.57	0.97	0.56	0.90	0.47	0.89

C: *Achillea millefolium*; **P:** *Anthemis cretica*; **Y:** *Cichorium intybus*; **S:** *Euphorbia seguieriana* **K:** *Hypericum perforatum*

Achillea millefolium ve *Anthemis cretica* metanol özütleri, *E. coli* ve *S. typhimurium* (sırasıyla, 0.67 ve 0.65); *Achillea millefolium* ve *Cichorium intybus* metanol özütleri ise *E. coli*, *A. baumannii* ve *S. typhimurium* (sırasıyla, 0.67, 0.66 ve 0.64) FIC değerine sahip olup kısmi sinerjist etki göstermişlerdir. Diğer tüm kombinasyonların FIC değerleri ise etkisiz bulunmuştur (Tablo 4.6).

Achillea millefolium ve *Cichorium intybus*, *Achillea millefolium* ve *Hypericum perforatum*, *Cichorium intybus* ve *Hypericum perforatum* metanol özütlerinin özütlerinin Gram pozitif bakterileri (*S. aureus*, *B. cereus* ve *L. monocytogenes*) bakterileri üzerine sinerjist etki göstermişlerdir (FIC değerleri 0.47-0.49 aralığındadır).

Achillea millefolium ve *Anthemis cretica*, *Anthemis cretica* ve *Cichorium intybus* ile *Anthemis cretica* ve *Hypericum perforatum* özütleri kısmi sinerjist özellik gösterirken (0.56-0.64 FIC) diğer kombinasyonlar etkisiz grupta yer almışlardır (0.75-1.26 FIC).

Tablo 4.7. Dietil eter özütlerinin ikili karışım antibakteriyel aktivitesi FIC değerleri

	CP	CY	CS	CK	PY	PS	PK	YS	YK	SK
Negatif										
<i>E. coli</i>	1.12	1.12	1.13	1.14	1.57	1.58	1.58	1.58	1.59	1.60
<i>A. baumannii</i>	1.08	1.16	1.16	1.16	1.55	1.55	1.55	1.63	1.63	1.63
<i>S. typhimurium</i>	1.10	1.14	1.14	1.11	1.56	1.56	1.53	1.59	1.59	1.56
Pozitif										
<i>S. aureus</i>	0.73	0.84	1.16	0.24	0.90	1.21	0.64	1.31	0.74	1.06
<i>B. cereus</i>	0.72	0.81	1.18	0.25	0.80	1.17	0.60	1.26	0.69	1.06
<i>L.monocytogenes</i>	0.75	0.88	1.15	0.24	0.89	1.17	0.63	1.29	0.75	1.03

C: *Achillea millefolium*; **P:** *Anthemis cretica*; **Y:** *Cichorium intybus*; **S:** *Euphorbia seguieriana* **K:** *Hypericum perforatum*

Dietil eter özütlerinden elde edilen ekstratların Gram negatif bakterileri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (FIC değerleri 1.11-1.63 aralığındadır). Buna karşılık *Achillea millefolium* ve *Hypericum perforatum* özütlerinin tüm Gram pozitif bakterileri üzerine sinerjistik etkiye bulunduğu tespit edilmiştir (FIC 0.24-0.25). *Achillea millefolium* ve *Anthemis cretica*, *Anthemis cretica* ve *Hypericum perforatum*, *Cichorium intybus* ve *Hypericum perforatum* özütleri kısmi sinerjistik özellik gösterirken (0.69-0.75 FIC) diğer kombinasyonlar etkisiz gruptadırlar (0.80-1.29 FIC) (Tablo 4.7).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Bitki türlerinin ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Achillea millefolium L. (beyaz civan perçemi), *Anthemis cretica* L. (dağ papatyası), *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba), *Euphorbia seguieriana* Necker (sütleğen), *Hypericum perforatum* L. (kantaron) bitkilerinin metanol ve dietil eter çözgenleri kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal özellikleri antagonistik ve sinergistik olarak karşılaştırılmıştır. Çalışmada, Gram negatif bakterilerden; *Escherichia coli*, *Acinebacter baumannii*, *Salmonella typhimurium*, Gram pozitif bakterilerden ise; *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* kullanılmıştır.

Achillea millefolium özütlerinin Gram pozitif bakterilerden *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* üzerine olan antimikrobiyal etkileri Gram negatif bakterilerden *E. coli*, *A. baumannii*, *S. typhimurium* üzerine olan etkilerden daha fazla olmuştur. Kharm ve Hassawi (2006) üç farklı *Achillea* türünün farklı bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada; *Achillea* türlerinin özütlerinin en fazla etkili olduğu bakterininin *S. aureus* olduğunu bildirmişlerdir. Salvagnini ve ark. (2006) *Achillea millefolium*'un antimikrobiyal etkisi üzerine yaptıkları çalışmada bitki ekstraktının sadece Gram pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis*'e etkili olduğunu bulmuşlardır. Kharm ve Hassawi (2006) ve Salvagnini ve ark. (2006)'nın bulguları araştırma sonuçlarımızla uyum göstermektedir. Çolak ve ark. (2020) farklı lokasyonlarda yetişen *Achillea aleppica* subsp. *aleppica* örneklerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildiği çalışmada; metanol özütünün hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkili olduğu bulgusu bizim sonuçlarımızla kısmi benzerlik göstermektedir. Daniel ve ark. (2020) *Achillea millefolium* L. bitkisinin yağından elde edilen özütlerin *Staphylococcus epidermidis*, *Escherechia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri üzerine bir etkisinin olmadığı görüşü bulgularımızla uyumlu değildir. Benedec ve ark. (2016) *Achillea schurii* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmadan elde edilen özütün *E. coli*'ye karşı hafif bir aktivite ve *S. aureus* ve *S. typhimurium*'a karşı orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiğini, en fazla etkinin ise olan *L. monocytogenes*'e karşı gözlemlendiğini bildiren araştırma sonucu ise yine bulgularımızla uyum göstermektedir. Bulgularımız diğer bazı araştırıcı sonuçlarından farklılık göstermesinin sebebi olarak bitki alt türlerindeki antimikrobiyal tahlil, ekstraksiyon yöntemleri ve mikrobiyal türlerdeki farklılık olarak açıklanabilir (Karaalp ve ark. 2009).

Anthemis cretica L. nin metanol ve dietil eter ekstraktlarının, Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (Albayrak ve Aksoy 2013). Bununla birlikte, *Anthemis cretica* L. dietil eter özütünün en çok test edilen bakterilerden *S. aureus* ve *B. cereus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği de ortaya konmuştur (Hanbali ve ark, 2013). Bardaweel ve ark., (2014), *Anthemis palestina* nin esansiyel yağının biyolojik fonksiyonların in vitro incelemesinin yapıldığı bu çalışmada, bitki özütlerinin Gram pozitif bakterileri etkisinin Gram negatif bakterilere göre daha yüksek bulunduğunu belirlemişlerdir. Chemsu ve ark., (2018). *Anthemis stiparum subsp*'un metanol özütü (1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/mL) çeşitli konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Araştırma sonucunda *A. stiparum*'un Metanol özütlerinin antimikrobiyal ajanların Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ve *Bacillus cereus* üzerine oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir. Formasino ve ark. (2012) *Anthemis mixta* L. and *A. tomentosa* L. bitkilerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, elde edilen özütlerin Gram pozitif bakteriler üzerine etkilerinin yüksek olduğunu bulmuşlardır. Riccobono ve ark. (2017) *Anthemis* türlerinin Gram-pozitif bakterilerden, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*; Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada; elde edilen özütlerin Gram pozitif bakterilerde daha etkin olduğunu belirlemişlerdir. Genel olarak *Anthemis cretica* bitkisi üzerindeki araştırma sonuçlarımızda Gram pozitif bakteriler üzerine etkisinin yüksek olduğu bulgusu yukarıda bildirilen araştırma sonuçları ile uyumludur. Ancak yukarıda belirtilen araştırmacılar farklı olarak metanol özütünün Gram negatif bakterilerden *A. baumannii* üzerine etkisinin yüksek bulunması yeni bir bulgu olarak yorumlanabilir. Nitekim, Mazandarani ve ark., (2013). *Achillea millefolium* bitkisinde antibakteriyel aktivitenin Gram pozitif bakterilerle sınırlı olduğu raporların aksine, *A. millefolium*'un hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkin olduğu bulgusu çalışmamızdaki *Anthemis cretica* L içinde kaynak oluşturabilir.

Cichorium intybus L. Metanol ve dietil eter özütlerine karşı Gram pozitif bakteriler benzer tepki vererek Gram negatif bakterilere göre daha etkili sonuçlar vermiştir. Karakaş ve ark. (2012) içersinde *Cichorium intybus* L. bitkisinin de yer aldığı toplam 16 bitkinin metanol kullanılarak elde edilen özütünün 10 farklı bakteri (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, ve *Klebsiella pneumonia*) üzerine yaptıkları araştırmanın sonucuna göre; *Cichorium intybus* L metanol

özütünün tüm Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Koner ve ark. (2011) Hindiba kökü ekstraktının etkisi Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilerden daha fazla bakteriyostatik etkiye sahip olduğunu; Nandagopal ve Kumari (2007) hindiba kök ekstraktlarının Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Micrococcus luteus*) bakterilerin Gram negatif (*Escherichia coli* ve *Salmonella typhi*) bakterilerden daha fazla inhibitör etki gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Araştırcıların bulguları bizim elde ettiğimiz sonuçlarımızla uyum içerisindedir. Shaikh ve ark. (2016) *Cichorium intybus* tohum ekstratlarının *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada; elde edilen özütün tüm bakterileri etkilediği en yüksek etkinin ise Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* üzerine olduğunu sonucu yine araştırma bulgumuza benzerdir. *Cichorium intybus* ekstratlarının farklı bakteri türlerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, bitki özütlerinin bakterilerin tümüne etki ettiğini belirlemişlerdir. Bundan dolayı *Cichorium intybus* L. bitkisinin iyi bir antibakteriyal özellik taşıdığını ve biyolojik çalışmalarında önemli bir tıbbi bitki olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Rehman ve ark. 2014).

Araştırma sonucunda; *Euphorbia seguieriana* hem metanol hem de dietil eter özütlerinden elde edilen ekstatların MİK değerlerinin araştırmada yer alan diğer bitki özütlerine göre daha yüksek olduğu ve sadece *B. cereus* üzerine antibakteriyel etkisinin yüksek olduğu diğer bakterilere karşı etkisinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Nitekim Abais (2017) Beş *Euphorbia* türünden (*Euphorbia amygdaloides* var. *amygdaloides*, *Euphorbia amyrsinites*, *Euphorbia helioscopia* subsp. *helioscopia*, *Euphorbia characias* ve *Euphorbi paralias*) elde edilen ekstraktların 15 bakteri türünden yalnızca altı bakteri türüne (*S. aureus*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *P. fluorescens*, *S. epidermidis*, *E. coli* ve *C. albicans*) karşı etkili oldukları bulgusu araştırma sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Benzer şekilde *Euphorbia hirta* bitkisinin yaprak ekstratlarının mikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada özütün en etkisiz olduğu bakterinin gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* olduğu sonucu araştırma sonuçlarımızla tam uyum göstermektedir (Ahmad ve ark., 2019). Rocha ve ark. (2021) *Euphorbia macroclada* Boiss'de dahil 9 adet tıbbi bitkilerinin farklı bakteriler üzerine yaptıkları çalışmada; *Euphorbia macroclada* bitkisinin bazı bakterilere etkisinin olmadığını buna karşılık Enerva ve ark. (2015) *Euphorbia hirta* bitkisinin yaprak ekstraktlarının bazı bakteriler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına göre; bitki özütünün *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Trichopyton mentagrophytes* bakterileri üzerine etkilerinin yüksek olduğunu bildirmektedirler. Zeghad ve ark. (2016) *Euphorbia biumbellata*, *Euphorbia terracina* ve

Euphorbia dendroides bitkilerinin metanol özütlerinin bakteriler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada; elde edilen özütün en yüksek olarak *Staphylococcus aureus* Gram pozitif bakterisine etkili olduğunu bildirmişlerdir. Farklı araştırmacıların bulguları arasındaki değişkenlik kullanılan materyal veya uygulanan yöntem farklılıklarından kaynaklanabileceği söylenebilir.

H. perforatum'un çiçekli kısımlarının özütlenmesi ile elde edilen ekstraktların birçok kaynaktan iyi bir antibakteriyel ajan olduğu bildirilmektedir (Meral ve Karabay, 2002; Ökmen ve Balpınar, 2017; Önem ve Çevik baş, 2018; Özkan ve ark, (2018). *Hypericum perforatum*'un metanol ekstraktının Gram pozitif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliği Gram negatif bakterilere göre daha fazla bulunmuştur. Metanol özütünün *Hypericum perforatum* için iyi bir çözen olduğu sonucu bildirilmesine rağmen metanol özütünde *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus* üzerinde herhangi bir aktivite belirleyememişlerdir (Del Monte ve ark, 2015). Yaptığımız çalışmamızda Del Monte ve ark, 2015' in aksine en iyi antibakteriyel etki *S. aureus* (2.643 µg/ml) ve *B. cereus* (1.321 µg/ml) üzerinde gözlemlenmiştir. Metanol özütünün genelde Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği (Duman ve Sevimli, 2008) bilgisi çalışmamızda yakın sonuçlar çıkması ile desteklenmektedir. Reichling ve ark., (2001), *H. perforatum*'dan izole edilen hyperforin, Gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkili olduğu bulgusu da araştırma sonuçlarımızla uyumludur. *Hypericum perforatum*'un etanol ve metanol özütlerinin antibakteriyel etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada, metanol ekstraktının *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etki gösterdiği gözlemlenirken etanol ekstraktı herhangi bir etkinlik sergilememiştir (Düzgüner ve Erbil, 2020). *H. perforatum* metanol ekstraktının potansiyeli, Ökmen ve Balpınar, (2017) yaptıkları çalışmada özellikle *S. aureus* üzerinde önemli antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirmektedir. İmanlı (2013) *Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum capitatum* Choisy bitkilerinin toprak üstü kısımları, metanol ile ekstrakte edilerek Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre bazı bakteri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldığı çalışmada; Özellikle *Staphylococcus aureus* suşunun bu ekstrelere karşı en fazla duyarlı olduğu belirlenmiştir. Burunkaya (2020) (*Hypericum Perforatum* L.) bitkisinin farklı çözenler (etanol, metanol, ayçiçek yağı, zeytinyağı ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının fenolik bileşik, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları incelendiğinde kantaron bitkisinin ayçiçek yağı ve zeytinyağı ile hazırlanan ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmaları üzerinde inhibisyon etkisi göstermediği, metanol, etanol ve su ile hazırlanan ekstraktları antimikrobiyal etki

gösterdiğini bildirmiştir. Burunkaya (2020) nin araştırma sonuçları hem çalışmamızda kullanılan metanol özütünü hem de bakteriler üzerine etki sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

5.2. Bitki türlerinin ekstraktlarının Sinergistik ve Antagonistik ilişkileri

Gıdaların, mikrobiyolojik güvenliğinin sağlanmasında antimikrobiyel etkili ajanların veya fiziksel işlemlerin birlikte kullanılması (Sinerjizm) artan önem kazanmış ve son yıllarda bu yönde yapılan uygulamalar engeller teknolojisini kavramı kapsamında değerlendirilmektedir. Bu sayede gıda ortamında gelişimi engellenemeyen çeşitli bozucu ve patojen nitelikli mikroorganizmaların direnci zayıflatılarak öldürülmesi sağlanmaktadır (Özel ve Şimşek, 2017). Literatürde yer alan sinerjizm çalışmalarında, etkinlik yolu ile ilgili ayrıntılı bilgi bulunmamakla birlikte bu çalışmalar daha çok yön gösterici şekilde çalışmalardır. Bu çalışmalarda ortak kanı; bitkisel kombinasyonların, tek başına kullanılan bitkiden daha etkili sonuçlar vermesidir (Ma ve ark.2009). Bitki içerisindeki aktif maddeler üzerinde ayrı ayrı ve birlikte klinik denemeler yapma konusundaki zaman ve bütçe kalemleri bu konuyu hipotez olarak elimize almamıza neden olmuştur. Bir hipotez olarak sunulan bitki+bitki bileşenlerinin sinerjistik etkilerinin doğrulanması için, biyoaktif bileşenlerin standartlaştırılmış bitki özü ile elde edilen sonuçların, aynı endikasyon için sentetik ilaçlarla karşılaştırılan kontrollü klinik deneylerin karşılaştırması olabileceği bildirilmiştir (Williamson, 2001).

Araştırmamızda, antimikrobiyal ajanlar arasındaki in vitro etkileşimler, aşağıdaki formül kullanılarak fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FIC) indeksi hesaplanarak belirlenmiştir:

FIC index A= kombinasyon halinde bitki özütünün MİK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MİK değeri (A)

FIC index B= kombinasyon halinde bitki özütünün MİK değeri (AB) /Tek başına bitki özü MİK değeri (B)

FIC index AB= FIC index A+ FIC index B

A ve B'nin $FIC \leq 0,5$, toplam sinerjizm; $0,5 < FIC \leq 0,75$, kısmi sinerjizm; $0,75 < FIC \leq 2$, etkisi yok; $FIC > 2$, antagonizma olarak değerlendirme yapılmıştır (Choudhary ve ark, 2020).

Achillea millefolium L. (civan perçemi) (C) ve *Anthemis cretica L.* (Dağ papatyası) (P) metanol özütleri Gram negatif bakterilerinden *A. baumannii* hariç diğer tüm bakterilerin FIC

değerleri 0.57-0.67 aralığında ve yarı sinerjistik etki göstermiştir. Dietil eter özütlerinde ise bakterilerin FIC ortalamaları 1.13-1.18 aralığında bulunmuştur

Achillea millefolium L. (civan perçemi) (C) ve *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba) (Y) nın metanol özütlerinin Gram pozitif bakterilerden; *S. aureus*, *B. cereus* L. *monocytogenes* (0.49 µg/ml) üzerinde sinerjik etkisi gözlenmiş (Choudhary ve ark, 2020) olup dietil eter özütlerinin bu bakteriler üzerinde (0.81-0.88 µg/ml) aralığında (Choudhary ve ark, 2020) etkisiz olduğu görülmüştür. Aradaki bu farkın, metanol çözgeninin çok çeşitli ortamlarda çözünme ve yayılma özelliğine sahip olması ile açıklanabilir (Kılıç ve ark, 2018).

Achillea millefolium L. (civan perçemi) (C) ve *Euphorbia seguieriana* Necker. (sütleğen) (S) metanol özütleri Gram negatif bakterilerinde FIC değerleri 0.88-1.0.9, Gram negatif bakterilerinde 0.77-1.10 aralığında ve etkisiz sinerjistik göstermiştir. Dietil eter özütlerinde ise bakterilerin FIC ortalamaları 1.13-1.18 aralığında bulunmuştur. *Achillea millefolium* L. ve *Euphorbia seguieriana* Necker. sinerjistik etkileri üzerine bir araştırma sonucuna rastlanılmamış olup, bizim araştırma bulgumuz yeni bir kaynak olarak değerlendirilebilir.

Achillea millefolium L. (civan perçemi) (C) ve *Hypericum perforatum* L. (Kantaron) (K) metanol özütünün kombinasyonunda Gram pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* (FIC 0.48-0.49 µg/ml) ile sinerjik etki gösterirken, dietil eter özütü (FIC 0.24- 0.25 µg/ml) değeri ile sinerjik etki sağlamıştır. Gram pozitif bakterilere ise hem metanol hem de dietil özütlerinin bakteriler üzerine etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. Ortaya çıkan bu farklılıklar, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarının tek bir katmandan oluşmasına, Gram negatif bakterilerin ise çok katmanlı yapılar olmalarına ve oldukça karmaşık olmalarına bağlanabilir (Kılıç ve ark, 2018). Bu çalışmada, veriler bu bitkilerin kombinasyon etkilerinin antibakteriyel güçlendirmeye sahip olduğunu göstermiştir (Al-Bayati, 2007).

Anthemis cretica L. (Dağ papatyası) (P) ve *Cichorium intybus* L. (yabani hindiba) (Y) nın metanol özütlerinde hem Gram pozitif hem de Gram negatif (*A. baumannii* hariç, FIC: 0.85) bakterilerinin FIC değerleri 0.57-0.65 aralığında olup karşılığı yarı sinerjistik özelliği göstermişlerdir. Dietil özütlerinin ekstraktlarının FIC değerleri ise 0.80-1.57 aralığında ve etkisiz olarak bulunmuştur.

Anthemis cretica L. (Dağ papatyası) (P) ve *Euphorbia seguieriana* Necker. (sütleğen) (S) hem metanol hem de dietil eter özütlerinin Gram negatif ve Gram pozitif bakterileri üzerine herhangi bir sinerjistik etki göstermemişlerdir (FIC değerleri 0.84-1.56 aralığındadır).

Anthemis cretica L. (Dağ papatyası) (P) ve *Hypericum perforatum* L. (Kantaron) (K) hem metanol hem de dietil eter özütlerinden elde edilen ekstraktlar Gram pozitif bakteriler üzerine yarı sinerjistik (FIC değerleri:0.56-0.64 aralığında) etki göstermiştir. Her iki özütün Gram negatif bakteriler üzerine ise bir etkisi olmamıştır (FIC değerleri:0.96-1.58 aralığında)

Cichorium intybus L. (yabani hindiba) (Y) ve *Euphorbia seguieriana* Necker. (sütleg en) (S) metanol ve dietil eter özütü kombinasyonlarının Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerine herhangi bir sinerjistik etki göstermediği belirlenmiştir (FIC değerleri: 0.77-1.63 aralığında).

Cichorium intybus L. (yabani hindiba) (Y) ve *Hypericum perforatum* L. (Kantaron) (K) metanol özütünün kombinasyonunda Gram pozitif bakteriler üzerine sinerjistik etki gösterirken (FIC:0.47-0.49); Dietil eter özütünün Gram pozitif bakteriler üzerine yarı-sinerjistik etki gösterdiği (FIC:0.69-0.75) belirlenmiştir. Her iki özütün Gram negatif bakteriler üzerine ise herhangi bir sinerjistik etkisinin olmad ı tespit edilmiştir (FIC: 0.96-1.63).

Euphorbia seguieriana Necker. (sütleğen) (S) ve *Hypericum perforatum* L. (Kantaron) (K) hem metanol hem de dietil eter özütünün kombinasyonları Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerine herhangi bir sinerjistik etki göstermemişlerdir (FIC: 0.75-1.63 aralığındadır).

Ebob ve Ukwuoma (2017) Coleus türlerinin %50 metanol ekstraktlarının ve *Euphorbia abyssinica*'nın antibakteriyel aktiviteleri tek başına ve kombinasyon halinde *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri üzerine yaptıkları çalışmada; bitki kombinasyon özütlerinin hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere benzer şekilde etki ettiklerini bildirmişlerdir. Nitekim *Euphorbia*'nın diğer bitki kombinasyonlarında belirlenen FIC değerleri incelendiğinde elde edilen rakamların birbirine oldukça yakın olduğu söylenebilir (Tablo 4.6 ve 4.7)

Al-Terehi ve ark. (2015) meyan kökü, arpa tohumları, zencefil, kekik yaprağı ve adaçayı bitkilerinin metanol (80:20) özütlerinden elde edilen ekstraktların *E. coli*, *S. aureus*, *Serratia Spp.*, *Klebsiella pnemoniae*, *Aeromonas hydrophillia* bakterileri üzerine yaptıkları araştırma sonuçlarına göre; bitkisel tıpta kullanılan bitki karışımının bakteriyel enfeksiyonu tedavi etme avantajının yanı sıra dezavantajlara sahip olduğu, diğer yandan bitkiler arasındaki sinerjizmin daha fazla etki gösterebileceği sonucuna varmışlardır. Bahmani ve ark. (2019) *Origanum vulgare* ve *Hypericum perforatum*'un hidroalkolik ekstraktlarının ve bunların aktif bileşenleri olan carvacrol ve hiperisinin Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*'a karşı sinerjik aktivitelerini değerlendirmek için yapılan çalışma sonucuna göre; *Origanum vulgare* ve

Hypericum perforatum'un sinerjistik etkisinin 0.5 olduğunu ve bu bitki kombinasyonunun *S. aureus*'a karşı yeni bir antibakteriyel strateji olarak kullanılabileceği bildirmişlerdir. Fatemi ve ark. (2020) *Salvia chorassanica* ve *Artemisia khorassanica* bitkilerinin metanol özütlerinden elde edilen ekstartların *Acinebacter* bakterisi üzerine sinerjistik etkilerin araştırıldığı çalışmada; Bitki özlerinin, özellikle metanol olanların tek başına veya geleneksel antibiyotiklerle kombinasyon halinde bakteri yok etmede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca; sinerjik çalışmaların, yalnızca ilaca dirençli patojenlerle mücadelede ve bulaşıcı hastalıkların gelecekteki tedavisinde umut vaat etmekle kalmadığını aynı zamanda tek başına kullanıldıklarında genellikle etkisiz olan geleneksel antibiyotiklerin amacını da değiştirebileceğini belirtmişlerdir. György (2010) *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* ve *Salvia officinalis* bitkilerinin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans* bakterilerine karşı sinerjistik etkilerinin araştırıldığı çalışmada; dış zarda bulunan lipopolisakkarit nedeniyle, Gram negatif bakterilerin, uçucu yağların antagonistik etkilerine karşı, Gram pozitif olanlardan genel olarak daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Stefanoviç ve ark. (2012) *Salvia officinalis* ve *Cichorium intybus* özütlerinden elde edilen ekstraktların Gram negatif bakteri (*Escherichia coli*) hariç tüm test bakterilerine karşı sinerjizm gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca; *Cichorium intybus* ve antibiyotiklerden elde edilen aseton ve etil asetat özütünün kombinasyonları, test edilen bakterilere karşı ilave ve kayıtsız etkilerle sonuçlandığı da belirtmişlerdir. Betoni ve ark. (2006) Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* üzerine farklı bitkilerin sinerjistik etkilerinin araştırıldığı çalışmada; karanfil, guava ve limon otu, antimikrobiyal ilaçlarla en yüksek sinerjizm oranını gösterdiğini, zencefil ve sarımsağın ise sınırlı sinerjistik kapasite gösterdiğini bildirmektedirler.

Sinerji, iki veya daha fazla bitkisel içeriğin, karşılıklı olarak, bu bileşenlerin basit toplamından daha fazla birbirlerinin etkisini arttırdığında ortaya çıkan bir durumdur (Ma ve ark. 2009). Bitki özlerinin kombinasyon halindeki etkileşimlerinin incelendiği çalışmalar, tekli özler olarak incelenen çalışmalara kıyasla antibakteriyel aktivitelerini artırmaktadır (Obuekwe, 2020). Elde ettiğimiz sonuçlarda antagonizma varlığı, her iki bileşiğin etkisi, birlikte uygulandığında, ayrı ayrı uygulandığından daha düşük olduğunda gözlenebilen etki olarak yine kombine halde kullandığımız özlerin etkisi, bireysel etkilerin toplamından daha büyük olduğunda sinerjizmin varlığından bahsedilebilir (György 2010). Gram pozitif bakterilerle elde edilen sinerjik etkilerin yanında, Gram negatif bakterilerde, antagonistik etkilerin de meydana gelebileceği unutulmamalıdır (Obuekwe, 2020).

6. ÖNERİLER

Yapılan çalışma sonucunda, *Achillea millefolium L.*, *Anthemis cretica L.*, *Cichorium intybus L.*, *Euphorbia seguieriana Necker* ve *Hypericum perforatum L.* bitkilerinin metanol çözgeni kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerinin dietil etere göre daha etkin olduğu belirlenmiştir. Benzer çalışmalar için metanol çözgeni dietil etere tercih edilebilir.

Araştırmada kullanılan bitki ekstarktalarının Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir. *Hypericum perfarotum L.* metanol ekstratı Gram pozitif bakterilere en etkili bitki özütü olmuştur. *Hypericum perforatum L.* bitkisinin antibakteriyal etkileri üzerine daha fazla araştırmalar yapılabilir.

Achillea millefolium L.: *Cichorium intybus L.*, *Achillea millefolium L.*: *Hypericum perforatum L.* ve *Cichorium intybus L.*: *Hypericum perforatum L.* metanol karışım ekstraktları ile *Achillea millefolium L.*: *Hypericum perforatum L.* dietil eter ekstraktı Gram pozitif bakteriler üzerine sinerjist etkiler göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan bitkilerin antimikrobiyal olarak yalın ve karışım ekstratları üzerinde yeni araştırmaların yapılması bakteriler ile mücadele noktasında faydalı olacaktır.

KAYNAKÇA

- Ahmad, W., P. Kumar & A.K. Chaturvedi.** (2019). Study the effect of UV light on the antimicrobial activity of *Euphorbia hirta* leaf extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2019; 8(2): 1737-1740.
- Akgöz, Y.** (2013). Türkiye Florası'na Ait Hypericum L. Cinsinin Tehlike Kategorileri ve Bulunan Yeni Türleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1-2), 62-69.
- Akyüz, E.** (2010). Bazı Anthemis Türlerinin Antimikrobiyal Ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans tezi, 104 s. Ankara.
- Albayrak, S., & Aksoy, A.** (2013). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of two endemic anthemis species in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 37(6), 639-645.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M., & Alpaslan, C.** (2015). Sarı Kantaronun (*Hypericum Perforatum*) Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(4), 578-591.
- Al-Terehi, M., Abed-Neama, Z., Al-Askeri, M., Zaida, H. K., Al-Saadi, A. H., Behjet, R. H., & Haleem, Z.** (2015). Efficiency of Plants Extracts Synergism as Antibacterial Activity on Pathogenic Bacteria. *Advances in Life Science and Technology*. ISSN 2224-7181 (Paper) ISSN 2225-062X (Online).
- Amjad, L., Rezvani, Z., & Madani, M.** (2013). The effect of Methanolic Extract of Anthemis gayana on Candida Spp. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(10), 1140.
- Anonymous, (2008). Türkiyenin Çayır Mera Bitkileri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müd. Syf: 23,25,43,149,169.
- Avcı, G.A., E. Avcı., D.A. Köse., İ.H. & Akçal.** (2013). *Euphorbia Orientalis* L. Özütlerinin Kimyasal Dezenfektanlar Yerine Uygulanabilirliğinin Araştırılması. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*41(2), 151-157
- Aydın, S., & Sevindik, E.** (2018). Achillea millefolium L. subsp. millefolium essential oil's antifungal effect. *European Journal of Biological Research*, 8(3), 153-156.
- Bahmani, M., M. Taherikalani, M. Khaksarian., M.R. Kopaei., B. Ashrafi., M. Nazer., S. Soroush., N. Abbasi. & M. Rashidipour.** (2019). The synergistic effect of hydroalcoholic extracts of *Origanum vulgare*, *Hypericum perforatum* and their active components carvacrol and hypericin against *Staphylococcus aureus*. *Future Science. OA* (2019) 5(3), FSO371.
- Bardaweel, S. K., Tawaha, K. A., & Hudaib, M. M.** (2014). Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of Anthemis palestina essential oil. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-8.

- Barış, D., Kızıl, M., Aytakin, Ç., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B. & Ertekin, A. S.** (2011). In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Three Hypericum and Three Achillea Species From Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14, 339–355.
- Baser, K. H. C., Demirci, B., Iscan, G., Hashimoto, T., Demirci, F., Noma, Y. & Asakawa, Y.** (2006). The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemis aciphylla* BOISS. var. *discoidea* BOISS. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 54(2), 222-225.
- Benedec, D., D. Hanganu., I. Oniga., L. Filip 2., C. Bischin., R.S.Dumitrescu., B. Tiperci & L. Vlase.** (2016). *Achillea schurii* Flowers: Chemical, Antioxidant, and Antimicrobial Investigations. *Molecules*, 21, 1050;1-12.
- Betoni J.E.C., Mantovani R.P., Barbosa L.N., Di Stasi L.C. & Fernandes A.** (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 101, 387.
- Buruk, K., Sokmen, A., Aydin, F., & Erturk, M.** (2006). Antimicrobial activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey. *Fitoterapia*, 77(5), 388-391.
- Burunkaya, B.** (2020). Sarı Kantaron (*Hypericum Perforatum* L.) Fenoliklerinin Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Antimikrobiyal Potansiyelinin Belirlenmesi. Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans Tezi. 61s. Adana.
- Camas, N., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas. V., Kayikci, S. & Cirak, C.** (2014) Chemical composition of *Hypericum* species from the *Taeniocarpium* and *Drosanthe* sections. *Plant Syst Evol*, 300, 953–960.
- Can, Ö. D, Öztürk, Y. & Demir Özkay, Ü.** (2009). Doğal Bir Antidepresan: *Hypericum Perforatum* L. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 29(3), 708-715.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A.** (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of ethnopharmacology*, 87(2-3), 215-220.
- Chemsa, A. E., Zellagui, A., Öztürk, M., Erol, E., Ceylan, O., Duru, M. E., & Lahouel, M.** (2018). Chemical composition, antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and antibiofilm activities of essential oil and methanolic extract of *Anthemis stiparum* subsp. *sabulicola* (Pomel) Oberpr. *Microbial pathogenesis*, 119, 233-240.
- Choudhary, M., Rajput, P., & Sharma, R. A.** (2020). Screening of Antioxidant, Antimicrobial and Phytochemicals composition of various plant parts of *Cichorium intybus*.(2020). *Int. J. Life Sci. Pharma Res*, 10(2), 9-15.

Colasanti, A., Kisslinger, A., Liuzzi, R., Quarto, M., Riccio, P., Roberti, G., Tramontano, D., **Villani, F.**, (2000). Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *J Photochem Photobiol B*. 54(2-3):103-7.

Çırak, C. ve Kurt, D. (2014). Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri ve Kullanım Alanları. *ANADOLU, J of AARI*, 24(1), 42-58.

Çolak, S., S. Çolak., F. Dağlı., N. Çömlekcioglu., Y.Z. Kocabaş. & A. Aygan. (2020). *Achillea aleppica* subsp. *Aleppica*'nın Farklı Organlarından Elde Edilen Ekstraktların Antimikrobiyal Aktivitesi Ve Bazı Fitokimyasal Özellikleri. *GIDA*. 45(5) 929-941

Çubuklu, B., Meriçli, A.H., Mar, A., Sarıyar, G., Sütülpınar, N. & Meriçli, F. (2002). İstanbul Üniversitesi Yayınları. Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı. No: 4311 Ezc. Fak. Yay No:79 İstanbul.

Daniel, P. S., Lourenço, E. L. B., da Cruz, R. M. S., Henrique, C., De Souza Gonçalves, L. R. M., Almas, D. & Alberton, O. (2020). Composition and antimicrobial activity of essential oil of yarrow (*Achillea millefolium* L.). *AJCS*, 14, 545-550.

Davis PH. (1967). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh, Edinburgh University Press.

Del Monte, D., De Martino, L., Marandino, A., Fratianni, F., Nazzaro, F., & De Feo, V. (2015). Phenolic content, antimicrobial and antioxidant activities of *Hypericum perforatum* L. *Industrial Crops and Products*, 74, 342-347.

Dereli, F. T. G., Ilhan, M., & Akkol, E. K. (2018). Discovery of new antidepressant agents: In vivo study on *Anthemis wiedemanniana* Fisch. & Mey. *Journal of ethnopharmacology*, 226, 11-16.

Duman, R. & Sevimli, A. (2008). *H. perforatum* L., *H. scabrum* L. ve *Hypericum kotschyannum* Boiss. Ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi. *S Ü Fen Ed Fak Fen Derg*, 31, 27-33.

Düzgüner, V. & Erbil, N. (2020). Ardahan Yöresinde Yetişen Kılıç Otu Bitkisinin (*Hypericum perforatum*) Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 27-31.

Ebob, T.J. & Ukwuoma, I.C. (2017). Microbiological Evaluation of Combinations of Extracts of *Euphorbia abyssinica* and *Coleus species* for Antibacterial Activity. *Indian E-Journal of Pharmaceutical Sciences* 03[01]

Elbay, G. (2019). *Hypericum* L. Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri, Tıbbi Kullanımları ve İlaçlarla Etkileşimleri. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. İzmir. 91 sayfa.

- El-Kalamouni, C., Venskutonis, P. R., Zebib, B., Merah, O., Raynaud, C., & Talou, T.** (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Achillea millefolium* L. grown in France. *Medicines*, 4(2), 30.
- Enerva, L.T., Atienza, T.V., Glifonea, Z.R., Villamor, O.B. & Villa, N.A.** (2015). Cytotoxicity and Antimicrobial Property of the Leaf Extract of *Euphorbia hirta*. *Open Journal of Social Sciences*, 3, 162-170.
- Ereçevit, P. & Kırbağ, S.** (2017). Antimicrobial activity of some plant species used for the medical purpose in Turkey. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(2), 93-97.
- Eroğlu Özkan, E., Özbek Çelik, B. & Mat, A.** (2019). Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from Anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *J Res Pharm*, 23(1), (s.114-119).
- Eslami, H.** (2015). Investigation the effects of used solvent components proportions for extraction the antimicrobial compounds of *Cichorium intybus* L. on their antibacterial and antifungal activities. *Int J Biosci*, 6, 73-81.
- Fatemi, N., Sharifmoghdam, M.R., Bahreini, M., Khameneh, B. & Shadifar, H.** (2020). Antibacterial and Synergistic Effects of Herbal Extracts in Combination with Amikacin and Imipenem Against Multidrug-Resistant Isolates of *Acinetobacter*. *Current Microbiology*. 77:1959–1967
- Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Raimondo, F.M., A. Maggio & M. Bruno.** (2012). Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Anthemis mixta* and *A. tomentosa* (Asteraceae). *Natural Product Communications*. 7(10): 1379-1382.
- Gecibesler, I. H.** (2018). Chemotype Variation and Antimicrobial Properties of *Achillea millefolium* L. subsp. *millefolium* var. *millefolium*. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(1), 19-29.
- Gupta, R. & Gupta, J.** (2019). Investigation of antimicrobial activity of *euphorbia hirta* leaves. *International Journal of Life science and Pharma Research*, 9(3), 32-37.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P.** (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International journal of food microbiology*, 124(1), 91-97.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M. T., (ed).** (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. & Baser, KHC.,** (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh, Edinburgh University Press.

- György, É.** (2010). Study of the antimicrobial activity and synergistic effect of some plant extracts and essential oils. *Revista Română de Medicină de Laborator Vol, 18*(1/4).
- Hanbali, E. F., Mellouki, F., Akssira, M., & MA, B.** (2007). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Anthemis tenuisecta* ball. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 10*(6), 499-503.
- Handan G. Sevindik,** (2015). Bazı *Achillea* Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. T.C. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Farmakognozi Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- Has, E.G.** 2021. *Salmonella* Typhimurium *seqA* mutantlarında biyofilm regülasyonunun transkriptomik analizi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans tezi, 102 s. Ankara.
- Hasson, N.R.** 2011. Antibacterial Activity of Water and Alcoholic Crude Extract of Flower *Achillea millefolium*. Raf. J. Sci., 22 (3): 11- 20
- Haziri, A., Faiku, F., Berisha, R., Mehmeti, I., Govori, S., & Haziri, I.** (2017). Evaluation of antibacterial activity of different solvent extracts of *Teucrium chamaedys* (L.) growing wild in Kosovo. *Chemistry, 26*, 431-441.
- Hosni, K., Msaada, K., Ben Taarit, M., Marzouk, B.,** 2013. Arabian J. Chem., <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.019>.
- Jayaveera, K. N., Yoganandham, R. K., Govindarajula, Y., & Kumanan, R.** (2010). Phytochemical screenings, antibacterial activity and physico chemical constants of ethanolic extract of *Euphorbia thymifolia* Linn. *Int J Pharm Pharm Sci, 2*(3), 81-82.
- Jeong, D., Kim, D. H., Chon, J. W., Kim, H., Kim, H. S., Song, K. Y., ... & Seo, K. H.** (2016). The Antimicrobial activity of the crude extracts from *Cichorium intybus* L.(chicory) against *Bacillus cereus* in various dairy Foods. *Journal of Milk Science and Biotechnology, 34*(4), 239-244.
- Karaalp, C., Yurtman, A. N., & Karabay Yavasoglu, N. U.** (2009). Evaluation of antimicrobial properties of *Achillea* L. flower head extracts. *Pharmaceutical biology, 47*(1), 86-91.
- Karakaş, F.P., A. Yıldırım. & A. Türker.** 2012. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turk J Biol. 36* 641-652.
- Kazemi, M.** (2015). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils. *Journal of Herbal Medicine, 5*(4), 217-222.

- Kebabçı, G.** 2020. Aydın ilinde satışa sunulan süt ve süt ürünlerinde *BACILLUS CEREUS* varlığının araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans tezi, 35 s. Aydın.
- Kharma, A & Hassawi, D.,** 2006. The Antimicrobial Activity and the Genetic Relationship of Achillea species. *Biotechnology*. 5(4): 501.-507.
- Kılıç, D.D., Ayar, A., Baskan, C., & Yıldırım, T.** (2018). Antibacterial activity determination of different species belonging to Asteraceae family. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 21(2), 31-35.
- Kilic, O., Kocak, A., & Bagci, E.** (2011). Composition of the volatile oils of two Anthemis L. taxa from Turkey. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 66(11-12), 535-540.
- Kirbag, S., Erecevit, P., Zengin, F., & Guvenc, A. N.** (2013). Antimicrobial activities of some Euphorbia species. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(5), 305-309.
- Kivcak, B., Mert, T., Saglam, H., Ozturk, T., Kurkcuglu, M., & Baser, K. H. C.** (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Anthemis wiedemanniana from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(1), 47-51.
- Kocadağ, M.N.** (2021). Doğal antimikrobiyel bileşiklerin *LISTERIA MONOCYTOGENES* suşları üzerindeki etkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans tezi, 85 s. Ankara.
- Koç, L.Y.** (2012). Bazı bitki ekstraktlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkileriyle, kanserli dokularda adenozin deaminaz enzimi üzerine etkisi. (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara).
- Koner, A., Ghosh, S., & Roy, P.** (2011). Isolation of antimicrobial compounds from chicory (*Cichorium intybus* L.) root. *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*, 1(2), 13-18.
- Kryvtsova, M., & Koščová, J.** (2020). Antibiofilm-Forming And Antimicrobial Activity Of Extracts Of Arnica Montana L., Achillea Millefolium L. On Staphylococcus Genus Bacteria. *Biotechnologia Acta*, 13(1).
- Kurtulmus, A., Fafal, T., Mert, T., Saglam, H., Kivcak, B., Ozturk, T. & Baser, K. H. C.** (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of three Anthemis species from Turkey. *Chemistry of natural compounds*, 45(6), 900-904.
- Kürkçüoğlu, M. & Tosun, F.** (2020). Determination of the volatile compounds of Anthemis cretica subsp. anatolica (Boiss.) Grierson. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 7(2), 10-16.

- Ma, X. H., Zheng, C. J., Han, L. Y., Xie, B., Jia, J., Cao, Z. W. & Chen, Y. Z.** (2009). Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. *Drug discovery today*, 14(11-12), 579-588.
- Maleš, Ž., Brantner, A. H., Sović, K., Hazler Pilepić, K., & Plazibat, M.** (2006). Comparative phytochemical and antimicrobial investigations of *Hypericum perforatum* L. subsp. *perforatum* and *H. perforatum* subsp. *angustifolium* (DC.) Gaudin. *Acta Pharmaceutica*, 56(3), 359-367.
- Maneesha, S.** (2018). Evaluation of phytochemical and antibacterial activity of Euphorbiaceae members against human pathogens. *Intl J Recent Scient Res*, 9(8), 28534-28538.
- Mazandarani, M., Mirdeilami, S. Z. & Pessarakli, M.** (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Achillea millefolium* L. from different regions in North east of Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(16), 1063-1069.
- Mehmood, N., Zubair, M., Rizwan, K., Rasool, N., Shahid, M. & Ahmad, V. U.** (2012). Antioxidant, antimicrobial and phytochemical analysis of *cichoriumintybus* seeds extract and various organic fractions. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 11(4), 1145.
- Meral, G. E. & Karabay, N. Ü.** (2002). In vitro antibacterial activities of three *Hypericum* species from west Anatolia. *Turkish Electronic Journal of biotechnology*, (s. 6-10).
- Mundy, L., Pendry, B. & Rahman, M.** (2016). Antimicrobial resistance and synergy in herbal medicine. *Journal of Herbal Medicine*, 6(2), 53-58.
- Muniyandi, K., Punamalai, G., Sachithanadam, P. & Kumaresan, V.** Antibacterial activity of *Euphorbia Hirta* leaf extracts against some human bacterial pathogens.
- Muthumani, G. D., Anand, A. V. & Manikandan, R.** (2013). Original Research Article Antioxidant, antihelmintic and antimicrobial activity of *Euphorbia thymifolia* Linn whole plant. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 2(1), 66-79.
- Nandagopal, S., & Kumari, B. R.** (2007). Phytochemical and antibacterial studies of Chicory (*Cichorium intybus* L.)-A multipurpose medicinal plant. *Advances in Biological Research*, 1(1-2), 17-21.
- Natarajan, D., Britto, S. J., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C. & Perumal, G.** (2005). Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*—A rare medicinal herb. *Journal of ethnopharmacology*, 102(1), 123-126.
- Nilson, S., Gendron, F., Bellegarde, J., McKenna, B., Louie, D., Manson, G., & Alphonse, H.** (2014). Preliminary Scientific Investigation Of The Effectiveness Of The Medicinal Plants *Plantago Major* And *Achillea Millefolium* Against The Bacteria *Pseudomonas Aeruginosa* And

Staphylococcus Aureus In Partnership With Indigenous Elders. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 3(11), 402.

Obuekwe, I. S., Okoyomo, E. P. & Anka, U. S. (2020). Effect of Plant Extract Combinations on Some Bacterial Pathogens. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 24(4), 627-632.

Okmen, G. & Balpınar, N. (2017). The biological activities of *Hypericum perforatum* L. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(1), 213-218.

Önem E. & Çevikbaş, H. (2018). *Hypericum atomarium* Boiss. Farklı Çözücü Ekstraktlarının Klinik Stafilokok Türleri Üzerine Antibakteriyel Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 13(2), 164-172.

Özel, B & Ö. Şimşek. 2017. Nisinin Sinerjistik Antimikrobiyel Etkisi. *Akademik Gıda* 15(3): 288-299.

Özkan, E. E., Çelik, B. Ö. & Afife, M. (2019). Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from Anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *J. Res. Pharm*, 23, 114-119.

Özsoy, M., M.Ç. Sönmezer. & S.Kınıklı. 2019. Hastanelerde güncel bir sorun: çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi. *Anadolu Güncel Tıp Dergisi*.1(2): 37-41.

Panda, S. K., Padhi, L., Leyssen, P., Liu, M., Neyts, J. & Luyten, W. (2017). Antimicrobial, Anthelmintic, and Antiviral Activity of Plants Traditionally Used for Treating Infectious Disease in the Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Front Pharmacol*, 8, 658.

Rauf, A., Khan, A., Uddin, N., Akram, M., Arfan, M., Uddin, G. & Qaisar, M. (2014). Preliminary phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia milli*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(4).

Rehman, A., Ullah, N., Ullah, H., & Ahmad, I. (2014). Antibacterial and antifungal study of *Cichorium intybus*. *Asian Pacific Journal of tropical disease*, 4, S943-S945.

Reichling, J., Weseler, A. & Saller, R., (2001). A Current Review of the Antimicrobial Activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*; 34(Suppl1): 116-118).

Riccobono, A. Maggio., M. Bruno., V. Spadaro. & F.M. Raiomondo. 2017. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of some species of *Anthemis* sect. *Anthemis* (Asteraceae) from Sicily..31: 23.

Rocha, A.R.F., H.G. Sousa., E.P.V. Júnior., F.L. Lima., A. Costa., A.R. Araújo. & E.C. Lago. 2021. Extracts and fractions of *Croton* L. (Euphorbiaceae) species with antimicrobial activity and antioxidant potential. - *Food Science and Technology* 139 : 110521

- Rub, R. A., & Sasikumar, S.** (2016). Antimicrobial screening of *Cichorium intybus* seed extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S1569-S1573.
- Saddiqe, Z., Naeem, I., & Maimoona, A.** (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of ethnopharmacology*, 131(3), 511-521.
- Saddiqe, Z., Naeem, I., Hellio, C., Patel, A. V., & Abbas, G.** (2020). Phytochemical profile, antioxidant and antibacterial activity of four *Hypericum* species from the UK. *South African Journal of Botany*, 133, 45-53.
- Salvagnini, L.E., K.F. Migliato., V.L.B. Isaac., M.A. Correa., H.R.N. Salgado., R. C.L.R. Pietro.** 2006. Evaluation Of Efficacy Of Preservatives Associated With *Achillea Millefolium* L. Extract Against *Bacillus Subtilis*. *Brazilian Journal of Microbiology* (2006) 37:75-77.
- Sertkan, G., Akın, M. & Saraçoğlu, H. T.** (2006). *Anthemis cretica* subsp. *tenuiloba* ve *Anthemis aciphylla* var. *discoidea* Türlerinin Antibakteriyal Etkilerinin Araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 2(28), 35-40.
- Shaikh, T., R.A. Rub., S. Sasikumar.** 2016. Antimicrobial screening of *Cichorium intybus* seed extracts. *Arabian Journal of Chemistry*. 9(2): 1569-1573.
- Singh, M & Sudha.** 2018, Evaluation of Phytochemical and Antibacterial Activity of Euphorbiaceae Members Against Human Pathogens. *Int J Recent Sci Res*. 9(8),.28534-28538.
- Stefanovic, O. D., Stanojevic, D. D., & Comic, L. R.** (2012). Synergistic antibacterial activity of *Salvia officinalis* and *Cichorium intybus* extracts and antibiotics. *Acta Pol Pharm*, 69(3), 457-463.
- Sundriyal, S., Shrishti, P. D., Thaphyal, P., Arora, A., Sharma, A., Sinha, V. B., & Rautela, I.** (2021). Comparative Antimicrobial Activity and Antioxidant Profiling of *Euphorbia hirta*, *Euphorbia milli* and *Euphorbia pulcherrima*. *Annals of Agri-Bio Research*, 26(1), 1-6.
- Tekin, M., & Akdere, Ş.** (2021). Anatomical investigations of the Turkish critically endangered species: *Achillea sivasica* Çelik et Akpulat (Asteraceae). *Acta Botanica Croatica*, 80(1), 91-98.
- Turkmenoglu, F. P., Agar, O. T., Akaydin, G., Hayran, M., & Demirci, B.** (2015). Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey and biological activities of essential oil and methanol extract of *A. hamzaoglu* Arabacı & Budak. *Molecules*, 20(6), 11432-11458.
- Upadhyay, B., Singh, K. P., & Kumar, A.** (2010). Pharmacognostical and antibacterial studies of different extracts of *Euphorbia hirta* L. *Journal of phytology*, 2(6).

- Uzdil, B.** 2021. Anaerobik gut funguslarının konjuge linoleik asit aktivitesinin incelenmesi ve *Escherichia Coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans tezi, 49 s. Kahramanmaraş.
- Venditti, A., Frezza, C., Rossi, G., Di Cecco, M., Ciaschetti, G., Serafini, M., & Bianco, A.** (2016). Secondary metabolites with ecologic and medicinal implications in *Anthemis cretica* subsp. *petraea* from Majella National Park. *AIMS Molecular Science*, 3(4), 648-660.
- Verma, R., Rawat, A., Ganie, S. A., Agnihotri, R. K., Sharma, R., Mahajan, S., & Gupta, A.** (2013). In vitro antibacterial activity of *Cichorium intybus* against some pathogenic bacteria. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 767-775.
- Walker, L., Sirvent, T., Gibson, G., & Vance, N.,** (2001). Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the Northwestern United States. *Can J Bot*, 79:1248-51.
- Williamson, E. M.** (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 8(5), 401-409.
- Yılmaz, A.T.** 2016. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* üremesi tespit edilen çocuk hastaların, klinik, epidemiyolojik özellikleri ve vankomisin heterojen ve vankomisin orta duyarlı izolatların klinik yansımaları. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek lisans tezi, 90 s. Ankara.
- Zeghad, F., Djilani, S. E., Djilani, A., & Dicko, A.** (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of three *Euphorbia* species. *Turk. J. Pharm. Sci*, 13(1).