

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

BİTKİSEL ÜRÜNLERDE MİKROBİYOLOJİK ANALİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Serap MALÇOK

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Berrin ÖZÇELİK

ANKARA
Eylül 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

BİTKİSEL ÜRÜNLERDE MİKROBİYOLOJİK ANALİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Serap MALÇOK

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Berrin ÖZÇELİK

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02-2009-15 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Eylül 2009

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ

Mikron

ml

Mililitre

g

Gram

β

Beta

Açıklama

Kisaltmalar

CFU

Coloni Forming Unit (Koloni Oluşturan Ünite)

KOB

Koloni oluşturan bakteri

MİK

Minimum İnhibisyon Konsantrasyon

MİD

Minimum İnhibisyon Dilüsyon

MBC

Minimal Bakterisidal Konsantrasyon

MBS

Minimal Bakteriostatik Konsantrasyon

GMP

Good Manufacturing Practise

FIP

Federation of International Pharmacy
(Uluslararası Eczacılık Federasyonu)

DSÖ

Dünya Sağlık Örgütü

CLSI

Clinical Laboratory Standard Institute

NCCLS

National Committiee for Clinical Laboratory
Standards

İÇİNDEKİLER

Kabul, Onay	i
Simgeler, Kısaltmalar	ii
Tablolar, Resimler	iii
İçindekiler	iv
1. GİRİŞ	
2. GENEL BİLGİLER	2
2. 1.Tarihçe	2
2. 2.Bitkisel Ürünlerin Kullanılması	2
2. 2.1.Tisan(Çay) Hazırlamak	2
2. 2.2.Galenik Preparat Hazırlamak	3
2. 2.3.Etken madde elde edilmesi	3
2. 2.4.Yarı sentez yoluyla ilaç hammaddelerini elde etmek	3
2.3.Etken Madde Sınıflandırılması	4
2.4. Mikrobiyolojik Çalışmalar	5
2.4.1.Bitkisel ürünlerin analizi	5
2.4.1.1. Mikrobiyolojik kontaminasyon ve analiz	7
2.4.1.2. Antibakteriyel aktivite çalışmalarında dikkat edilecek hususlar	9
2.5.Bazı bitkisel ürünlerin içerdiği drogların antibakteriyel aktiviteleri	9
2.5.1. Enginar (<i>Cynara scolymus</i> ;) Artichoke	10
2.5.2. Kitosan (Chitosan)	10
2.5.3. Siyah Yılan Kökü (<i>Cimicifuga racemosa</i> ; Black cohosh)	11
2.5.4. Şeytan pençesi (<i>Harpagophytum procumbens</i> ; Devil's claw)	11
2.5.5. Koni çiçeği (<i>Echinacea purpurea</i> ; Echinacea)	12
2.5.6. Sarımsak (<i>Allium sativum</i> ; Garlic)	12
2.5.7. Mabet Ağacı (<i>Ginkgo Biloba</i> ; Ginkgo)	13
2.5.8. <i>Panax ginseng</i> (Ginseng)	13
2.5.9. Meryemana Dikeni (<i>Silybum marianum</i> ; Milk Thistle)	14
2.5.10. Nar Kabuğu (<i>Punica granatum</i> ; Pomegranate Hull)	14
2.5.11. Yosun (<i>Cyanobacteria</i> ; Spirulina)	14
2.5.12. Demir Dikeni (<i>Tribulus terrestris</i> ; Tribulus)	15
2.5.13. Üzüm Çekirdeği (<i>Vitis vinifera</i> ; Grape Seed Extract)	15
2.5.14. Sarı Kantaron (<i>Hypericum perforatum</i> ; St. John's Worth)	15
2.5.15. Alıç Meyvesi (<i>Crataegus tanacetifolia</i> ; Hawthorn Berry)	16
2.5.16. Atkestanesi (<i>Aesculus hippocastanum</i> ; Horse chestnuts)	16
2.5.17. Yeşil Çay (<i>Thea sinensis</i> = <i>Camelia thea</i> ; Green Tea)	16
2.5.18. Kedi Tırnağı (<i>Uncaria tomentosa</i> ; Cat's claw)	17
2.5.19. <i>Gymnema sylvestre</i>	17
2.5.20. Sentella (<i>Centella asiatica</i> ; Gotu kola)	17
2.5.21. Çin Geveni (<i>Astragalus membranaceus</i> ; Astragalus)	18

2.5.22. Gümüşdüğme (<i>Tanacetum parthenium</i> ; Feverfew)	18
2.5.23. Beta D Glucan (β -1,3-D-glucan)	18
2.5.24. Tarçın (<i>Cinnamomum ceylanicum</i> ; Cinnamon)	19
2.5.25. Soy isoflanones	19
2.5.26. Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i> ; Cranberry)	19
2.5.27. Cüce Palmiye (<i>Serenoa repens</i> ; Saw Palmetto)	20
2.5.28. Kediotu (<i>Valeriana officinalis</i> ; Valerian)	20
2.5.29. Dong Quai (<i>Angelica sinensis</i> ; Dong quai)	20
2.5.30. Klorella (<i>Chlorella</i>)	21
2.5.31. Karnıyarıkotu (<i>Plantago ovata</i> ; Psyllium)	21
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	21
3.1. Mikrobiyolojik Analiz	21
3.1.1. Gereç ve Yöntem	21
3.1.1.1.Mikroorganizmalar	21
3.1.1.2.Besiyerleri	21
3.1.1.3.Çözeltiler ve çözücüler	24
3.1.1.4.Cam malzemeler	24
3.1.1.5.Cihazlar	24
3.1.1.6.Bitkisel ürünler	25
3.1.2. Yöntem	25
3.2. Antimikrobiyal aktivite tayini	25
3.2.1. Gereç ve Yöntem	25
3.2.1.1.Mikroorganizmalar	25
3.2.1.2.Besiyerleri	26
3.2.1.3.Çözeltiler ve çözücüler	26
3.2.1.4.Cam malzemeler	26
3.2.1.5.Antibiyotikler	26
3.2.1.6.Bitkisel Ürünler	26
3.2.2. Yöntem	27
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	40
7. ÖZET	42
8. SUMMARY	44
9. KAYNAKLAR	46
10. ÖZGEÇMİŞ	62

TABLolar VE RESİMLER

Tablo 1. Çalışmamızda kullanılan bitkisel ürünler

A firmasına ait ürünler	B firmasına ait ürünler	C firmasına ait ürünler
1-Artichoke	22-Tribulus	45-Bilberry
2-β-1,3-D-glucan	23-Valerian	46-Green tea complex
3-Black cohosh	24-Flexamine	47-Milk thistle plus
4-Chitosan	25-Pomegranate complex	48-Grape seed
5-Devil's claw	26-Echinacea	49-Pomegranate
6-Echinacea	27-Cinnamon	50-Valerian root
7-Feverfew	28-Ginseng	51-Psyllium seed husk
8-Cranberry	29-Cat's claw	52-Senna
9-Garlic	30-Rutin	53-St.John's Worth
10-Ginkgo biloba	31-Bilberry-Ginkgo	54-Odorless triple garlic
11-Ginseng	32-Chlorella	55-Saw Palmetto
12-Glucosamin sulphate	33-Green tea	56-Gotu kola
13-Grape seed	34-Dong quai	57-Milk thistle
14-Hawthorn Berry	35-Advanced acidophilus	58-Ginseng gold
15-Horse chestnut	36-Black cohosh	59-Gymnema silvestre
16-Milk thistle	37-Advanced antioxidant	60-Apple cider vinegar
17-Pomegranate hull	38-Astragalus	61-Echinecea root
18-Saw palmetto	39-Chromium picolinate	62-Ginkgo biloba plus
19-Soy isoflavones	40-St.John's Worth	63-Echinacea
20-Spirulina	41-All in one	
21-St.John's Worth	42-β-1,3 glucan	
	43-Milk Thistle	
	44-Quercetin complex	

Tablo 2. Antibakteriyel aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar

Gram pozitif bakteriler	Gram negatif bakteriler	Funguslar
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90028
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Klebsiella pneumoniae</i> RSKK 574	
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 7002	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	<i>Acinetobacter baumannii</i> RSKK 02026	
<i>Streptomyces griseus</i> ATCC 23137	<i>Proteus vulgaris</i> NRRL B-123	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 13615	<i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL 3567	
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	
	<i>Shigella dysenteriae</i> RSKK 851	
	<i>Salmonella enteritidis</i> RSKK 538	
	<i>Vibrio cholerae ojava</i> RSKK 96023	

Tablo 3. Bitkisel ürünlerde mikrobiyolojik kontaminasyon risk oranları⁴

Üretim safhası	Risk oranları
Kültür öncesi	+
Kültür esnasında	++
Ürün toplamada	++
Depolamada	+
Taşımada	+
Temizlik/ayırma/kurutma/paketleme	+
Son üründe	-

Tablo 4. Bitkisel ürünlerde mikrobiyolojik kontaminasyonun kaynakları⁴

Grup	Kaynak
Total aerop bakteri	Genel hijyen ve kalite parametresi
Enterobacter	Genel hijyen ve kalite parametresi
Koliformlar	Fekal kontaminasyon
Pseudomonas/ Aeromonas	Su kaynaklı kontaminasyon
Koagülaz-pozitif Stafilokoklar	İnsan kaynaklı
Sporlu bakteri	Toprak kaynaklı
Lactobasil	Kirlenmiş bitkisel material
Maya ve Küf	Mikotoksijenik potansiyel
*Patojenler	Farklı kaynaklardan <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogenes</i> *Yüksek sağlık riski taşırlar

Tablo 5. Farmasötik preparatlarda izin verilen mikroorganizma miktarları (FIP önerileri)^{10,11}

Kategori		
1A	Enjekteable preparatlar	Mutlak steril olmalı
1B	Oftalmik preparatlar, yanıklara uygulanan preparatlar	1g ve 1ml'de mikroorganizma bulunmamalı
	Kulak, burun, boğaz, deri vs. lokal uygulanan preparatlar	g/ml'de mikroorganizma bulunma sınırı 10^2 CFU/ml Enterobacteriaceae fam. <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> bulunmamalıdır.
3	Diğer preparatlar	1g veya ml için; - Aerop bakteri..... 10^3 CFU/ml - Maya ve küf..... 10^2 CFU/ml - Salmonella - Shigella - <i>P. aeruginosa</i> - <i>S. aureus</i> bulunmamalıdır.

Resim 1. Artichoke(*Cynara scolymus*)



Resim 2. Chitosan



Resim 3. Black Cohosh (*Cimicifuga racemosa*)



Resim 4. Devil's claw (*Harpagophytum procumbens*)



Resim 5. Echinacea (Koni çiçeği)



Resim 6. Garlic (Allium sativum)



Resim 7. Ginkgo biloba (Mabet ağacı)



Resim 8. Panax Ginseng



Resim 9. Milk Thistle (*Silybum marianum*)



Resim 10. Pomegranate Hull (*Punica granatum*)



Resim 11. Spirulina



Resim 12. Tribulus terrestris (Demir diken)



Resim 13. Grape seed (*Vitis vinifera*)



Resim 14. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*)



Resim 15. Hawthorn Berry (*Crataegus tanacetifolia*)



Resim 16. Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*)



Resim 17. Gren Tea (Camelia Tea)



Resim 18. Cat's claw (Uncaria tomentosa)



Resim 19. *Gymnema sylvestre*



Resim 20. Gotu kola (*Centella asiatica*)



Resim 21. *Astragalus membranaceus* (Çin geveni)



Resim 22. Feverfew (*Tanacetum parthenium*)



Resim 23. *Cinnamomum ceylanicum*



Resim 24. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*)



Resim 25. Saw Palmetto (Cüce Palmiye)



Resim 26. Valeriana officinalis (Kediotu)



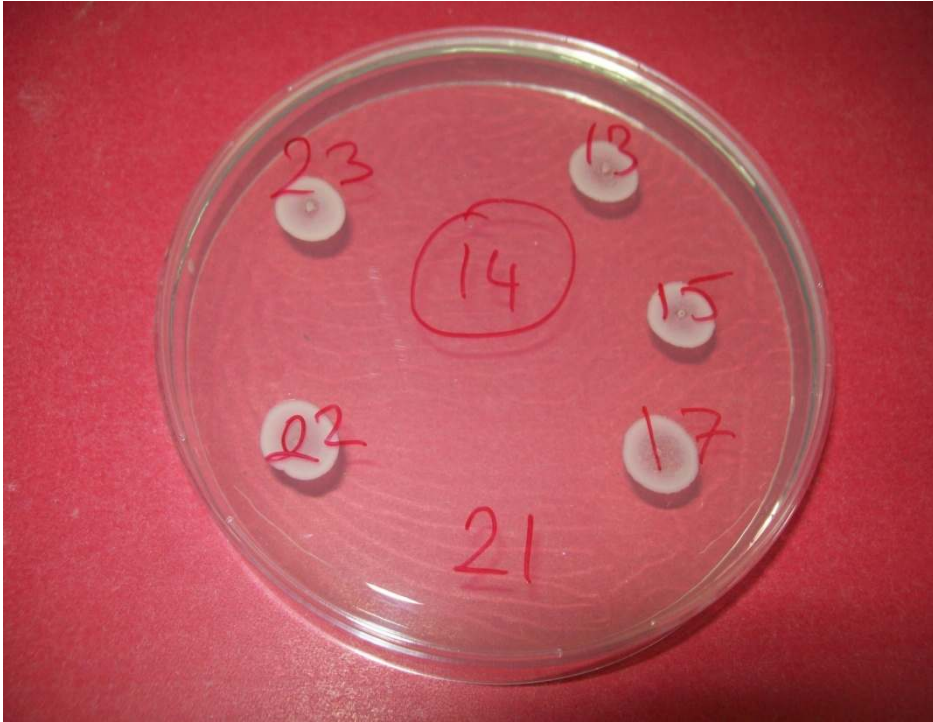
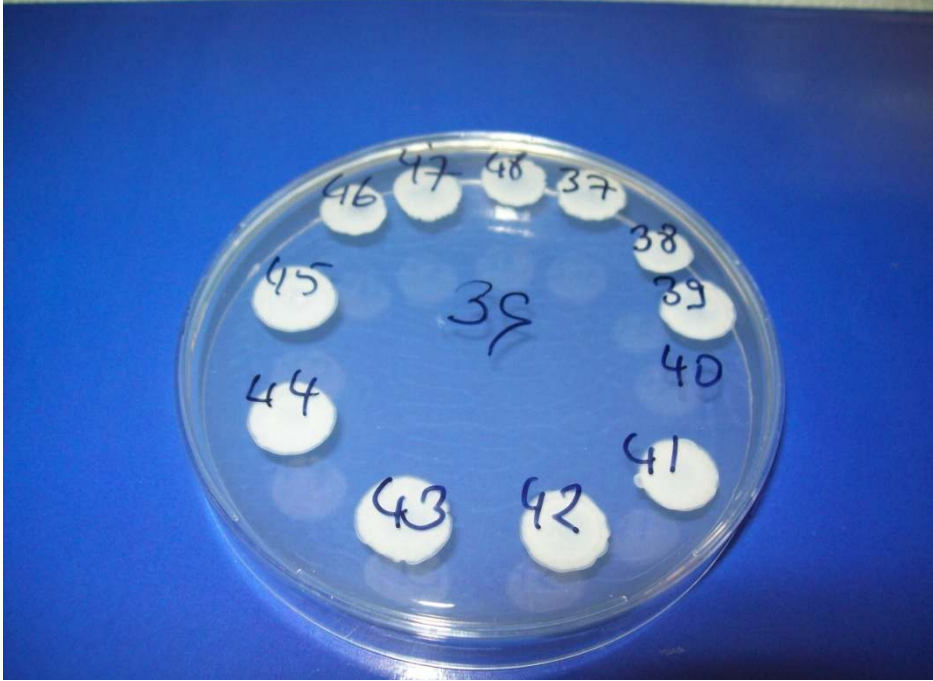
Resim 27. Dong Quai (*Angelica sinensis*)



Resim 28. Psyllium (*Plantago ovata*)



Resim 29. Bakteriyostatik-bakterisit etkisi araştırılan mikroorganizmaların üremeleri



1.GİRİŞ

İnsanlar, varoluşlarından itibaren beslenme, tedavi ve kozmetik amaçla deneme-yanılmalarla bitkilerden faydalanmışlardır. Son yıllarda bitkisel tedavi, tamamlayıcı tedavi yöntemleri arasında yer almaktadır¹. Amerika’da 1991 yılında “şifalı bitki” kullanım oranı %3 iken 1998’de %37’ye çıkmıştır ve bu ilgi artış göstermeye devam etmektedir².

Doğal ilaç hammaddeleri, bugün kullanılmakta olan müstahzarların , en az %50’ sinde, yardımcı ilaç hammaddeleri de birlikte sayıldığında hemen hemen tamamında yer almaktadır³.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’ nün sağlık tanımında da olduğu gibi “yalnızca hastalık veya sakatlığın yokluğu değil, fiziksel, ruhsal ve sosyal olarak tam bir iyilik hali” durumunu korumak ve hastalığa yakalanmamak amacıyla da, bitkilerle tedaviye başvurulmaktadır⁴.

Bitkisel ürünlerin uygun koşullarda hazırlanması, bilinçli kullanımı ve sağlıklı koşullarda satışını sağlamak amacıyla çalışmalar yapılmaktadır.² Genellikle tamamlayıcı tedavi amacıyla hasta ve yaşlı kişilerde kullanılan bitkisel ürünlerin mikrobiyolojik bir kontaminasyon olasılığı, istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Farmasötik bir ürünün mikroorganizma ile bulaşması “Mikrobiyolojik Kontaminasyon” olarak ifade edilir. Sağlıklı olmayan kişilerin tedavi amacıyla oral, lokal, parenteral yoldan kullandıkları bir preparatın kontamine olması ihtimalinde, sağlığın daha da bozulması kaçınılmazdır. Farmasötik ürünlerin bakteri, maya, küf ile kontaminasyonu sonucu ürünün renk, koku gibi görünüşleri de bozulmaktadır⁵

Araştırmamızda, ülkemizde satışa sunulan ikisi Avrupa, biri Türkiye menşei farklı ticari üretici firmalarca üretilmiş ve satışa sunulmuş 63 adet bitkisel ürün üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar yapılmıştır (Bkz.Tablo 1) Ayrıca bu ürünlerin bazı bakterilere ve funguslara karşı antimikrobiyal etkilerinin varlığı da araştırılmıştır (Bkz. Tablo 2)

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

İnsanlar var olduklarından beri doğadaki yiyecekleri, zehirleri ve bunun sonucu olarak da ilaç olarak kullanacakları doğal maddeleri tanımışlardır. Bulunan en eski yazılı belgelerde bile ilaç olarak kullanılan bitkilerden söz edildiğini, araştırmalar ortaya koymuş bulunmaktadır. Bundan 60.000 yıl önce Kuzey Irak'ta yaşamış Neandarthall insanın cenaze törenlerinde kullandığı 8 bitkinin 7'si günümüzde bitkisel ilaç olarak hala kullanılmaktadır⁶. Asur hükümdarlarından Asurbanipal kitablığında bulunmuş olup halen British Museum'da saklanmakta olan kil tabletlerde, başta Opium ve Radix Mandragore olmak üzere birçok "drog" tan bahsedilmiştir. Milattan 2000 yıl önce Hammurabi zamanında Asur'da drog olarak kullanılan bitkilerin kültürünün yapıldığı bilinmektedir³.

Mısır hiyerogliflerinden, tanımı güç olmakla beraber, birçok drogun kullanıldığı anlaşılmaktadır. Sihir ve büyü ile karışık birtakım ampirik usuller arasında, Mısırlıların Gummi Arabicum, Folia Sennae, Fructus Papaveris gibi drogları kullandıkları bilinmektedir. Eski Çin, Hint, Aztek ve İnka medeniyetlerinin tetkikinde de, ilaç olarak kullanılan bitkilerle zehirli olanları tanıdıkları ve bazılarının kültürünü yaptıkları anlaşılmaktadır³.

2.2.Bitkisel Ürünlerin Kullanımı

Fabrikalarda müstahzarların üretiminde, eczanelerde reçetelerin hazırlanmasında, araştırma kuruluşlarında yeni ilaçların araştırılmasında yararlanılmaktadır.³

2.2.1.Tisan (Çay) hazırlamak

Geçmişte, bitkisel droglardan, su ile hazırlanan preparatlar çok kullanılmaktaydı. İnfüzyon ve dekoksiyon biçiminde hazırlanan bu preparatlar

“halk ilaçları” adıyla anılan pek çok bitkinin, çeşitli yörelerde birbirinden farklı olarak az veya çok yaygın biçimde kullanıldığı gözlenmektedir³.

2.2.2.Preparat hazırlamak

Alkolün kullanım alanına girmesinden sonra eczacılar, bitkilerden su yerine alkol ile ekstreler hazırladıklarında daha etkili olduğunu görmüşlerdir. Gerçekten de alkolün bitkilerde bulunan etken maddelerin hemen hemen hepsini eritebilen bir çözücü olduğu, sonraları kesin olarak anlaşılmıştır. Saf alkol veya çeşitli oranlardaki alkol-su karışımı ile hazırlanan bu ekstreler eczacılıkta ekstre ve tentür şeklindeki “galenik preparatlar” arasında yer almaktadır. Bunlarla hazırlanan şuruplar da, ilaçlar arasında önemli bir yer tutmaktadır³.

2.2.3. Etken madde elde edilmesi

19. yüzyılda morfin (1803) ile başlayan etken madde keşifleri, kinin (1810), atropin (1831), papaverin (1848), kokain (1860), digitoksin (1869), pilokarpin (1875) ile devam etmiş 20. yüzyılda da ergotamin(1918), lobelin(1921), digoksin(1930), rezerpin (1931), tübokürrarin (1935), ergometrin (1935), sennozit (1949) gibi örneklerle çoğalmıştır.³

Tedavi alanına arka arkaya giren bu maddeler; yeni ilaç hammaddelerinin bulunmasında, bitkiler aleminde yapılacak olabildiğince geniş bir araştırmanın sonuca götürebileceği düşüncesini ortaya koymuştur.

2.2.4.Yarı sentez yoluyla ilaç hammaddelerini elde etmek

İlaç olarak kullanılsın ya da kullanılsın, birçok doğal ürün başka ilaç hammaddelerinin yarısentez yoluyla elde edilmesinde kaynak olarak kullanılmaktadır. Örneğin; morfin’den emetik etkili apomorfin, antitussif etkili kodein ve dionin elde edilmektedir.³

2.3. Etken madde sınıflandırması

Bitkisel kökenli ürünlerin içerdiği droglar çeşitli etken maddeler içermektedirler. Bu etken maddeleri aşağıdaki gibi sınıflandırmak mümkündür.

- Glusitler
- Ozlar ve türevleri
- Oligoholozitler
- Poliholozitler
- Nişastalar
- Dekstranlar
- Selüloz ve türevleri
- Zamklar
- Müsilajlar
- Mukopoliholozitler
- Heterozitler
- Flavonozitler
- Tanenler
- Lipitler
- Sabit yağlar
- Glukorezinler
- Mumlar
- Lateksler
- Katranlar
- Reçineler
- Enzimler

- Protitler
- Alkaloidler
- Purin bazları
- Antibiyotikler
- Uçucu yağlar

Bu etken maddelerin farklı farmakolojik özellikleri vardır ve gün geçtikçe kullanımları artmaktadır. Büyük bir kısmı da antimikrobiyal aktivite göstermektedir³.

2.4. Mikrobiyolojik Çalışmalar

2.4.1. Bitkisel Ürünlerin Analizi

Ürünlerin mikrobiyolojik kontrolleri aşağıda belirtilen uluslararası kuruluşlar tarafından standardize edilmiştir:

European Pharmacopoeia (EP),

British Pharmacopoeia (BP),

British Herbal Pharmacopoeia (BHP),

United States Pharmacopoeia (USP),

Indian Pharmacopoeia (IP),

Ayurvedic Pharmacopoeia (AP),

Unani Pharmacopoeia (UP),

FAO (Food and Agriculture Organisation),

WHO (World Health Organisation),

HACCP (Hazard Analyses and Critical Control Point),

GACP (Committee of Herbal Medicinal Products “Good Agricultural and Collection Practice),

FIP (Federation of International Pharmacy)

Bu kuruluşların önerdiği kurallar ve yapılması gereken analizler aşağıda belirtilmiştir.^{5,6}

- A.** Bitkinin binominal ismi (genus, tür, alt tür), nasıl kültüre edildiği, hazırlanışı (yaprak, kök, vs) verilmelidir. Bitkisel ilacın şayet biliniyorsa içeriğine ait terapötik aktivite belirtilmelidir. Gramajına bağlı olarak içeriği örneğin; “*Sennae folium* 415-500mg’ının 12.5 mg’ı hidroksiantrasen glikozidleridir.” şeklinde verilmelidir.
- B.** Hazırlanış prosedürü verilmelidir. Bitkisel örneklerin su içeriği belirtilmelidir. Bitkisel örnekler farklı alanlarda depolanmalıdır, çapraz kontaminasyona izin verilmemelidir.
- C.** Orta basamakta üretimde tüm kontrol testlerinin yapılma gerekliliği vardır. Bu basamakta Good Manufacturing Practise (GMP) kurallarına uygunluk önemlidir.
- D.** Tüm basamakları tamamlanmış üründe analitik kontroller yapılmalıdır.
- E.** Stabilitate testleri (ısı, ışık, hava, oksijen, CO₂, partikül büyüklüğü, pH, vs.) yapılmalıdır.
- F.** Ağır metal analizleri yapılmalıdır.
- G.** Pestisit varlığı araştırılmalıdır.
- H.** Farmakolojik testler yapılmalıdır.

Bitkinin toplandığı bölge/yer, botanik bilgiler (mikroskopik morfoloji), taksonomisi vs. bildirilmelidir. Hangi yıl ve aralıkta toplandığı; dağılım detayı, kurutulmuş veya taze toplanıldığı gibi bilgiler verilmelidir. Organoleptik muayene (tat, görünüş, koku muayenesi) yapılmalıdır. Teşhisde önemli olan bitkisel dokunun gösterilmesidir. Ekstraksiyon oranlarının verilmesi, uçucu bileşiklerin içeriğinin belirtilmesi, rutubet içeriğinin belirlenmesi, radyoaktivite kontaminasyonunun belirlenmesi gerekmektedir⁷.

2.4.1.1. Mikrobiyolojik Kontaminasyon ve Analiz

Çeşitli bitkisel ilaçlarda, zaman zaman kontaminasyon bildirilmektedir. Kontaminasyona neden olan bakteriler, *S.aureus*, *Salmonella* sp., *Vibrio* sp. olabildiği gibi⁸, *Alternaria alternaria*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp. gibi fungi de olabilmektedir⁹. Doğal olarak içeriklerinde antimikrobiyal etkili maddelerin bulunduğu bitkilerde kontaminasyonun daha düşük olduğu da gözlemlenmiştir^{8,9}.

İsveç'te 1963 yılında imal edilen tiroit tozu tabletlerini kullananlarda *Salmonella* enfeksiyonlarına rastlanmıştır. *P.aeruginosa* içeren bir göz damlasını kullanan hastalarda da yaygın göz enfeksiyonları belirlenmiştir. Oral yolla alındıktan sonra oluşan gıda tipi enfeksiyonlardan da bu kontaminasyonlar sorumlu tutulmuştur. Bu nedenle ilaçların mikrobiyolojik standardizasyonunun yapılması gerekliliği duyulmuştur^{10,11}. Patojenik ve saprofitik bakterilerden başka maya ve küf mantarları da ayrıca bozulmaya neden olabilmektedir^{12,13}. Ürünlerde kullanılan hammaddelerin mikroorganizmalarla kontaminasyonu kolaydır. Bu kontaminasyon sadece patojen mikroorganizmalarla değil, patojen olmayan mikroorganizmaların çok sayıda varlığında da hammaddenin ayrışması ve değişmesi açısından önem taşımaktadır¹⁴. Bitkisel ilaçların kontaminasyon derecesi bitkinin yetiştirilme koşullarıyla da ilgilidir. Ancak tıbbi bitkilerle ilgili ilaçlar, farklı formlar ve yöntemlerle hazırlandığından, tabi tutuldukları işlemler, son ürünlerin mikrobiyolojik kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir¹⁵. Bitkisel ürünlerde mikrobiyolojik kontaminasyon, üretim koşullarından kaynaklanabilmekte ve depolama esnasında artabilmektedir. Mikroorganizmalarla bozulan bitkisel ürünler tüketiciye ciddi sağlık riskleri doğurmaktadır. Bu yüzden araştırmalar olası kontaminasyonun belirlenmesine ve mikroorganizmanın saptanmasına yöneltilmelidir. Halk sağlığı açısından sorun olan mikroorganizmalardan ürünü korumak için Good Manufacturing Practise (GMP) kurallarına uyulması önem taşımaktadır⁵.

Bitkisel ürünlerde kontaminasyon risk oranları Tablo 3'de, kontaminasyon kaynakları Tablo 4'de gösterilmiştir.

İlaçların mikrobiyolojik standardizasyonuna ait çalışmalara 1972'de Uluslararası Eczacılık Federasyonu (FIP) tarafından yayımlanan raporla başlanmış ve bu kuruluş tarafından 1975 yılında yayımlanan ikinci raporda bu konudaki kurallar bildirilmiştir¹⁶. Tablo 5 esas alınarak, örneklerde kontaminasyon araştırılması 1 g da yine aynı örneklerde bakterisid ve bakteriyostatik etki araştırması 1:100 dilüsyon ile yapılacağı belirtilmiştir¹².

Mikrobiyolojik Kontaminasyon Analiz Yöntemleri

Mikroorganizma Sayım Yöntemleri

Prensip olarak alınan numuneden homojenizat hazırlanması, uygun besiyerine ekim yapıldıktan sonra mikroorganizmaların sayısına göre değerlendirme yapmayı gerektirmektedir¹⁰.

Agar Plaklarında Sayım

Uygun çözücüyle hazırlanmış %10 luk süspansiyondan desimal dilüsyonlar hazırlanır. Hazır agar plakları üzerine süspansiyonlardan belirli miktarlarda ve çeşitli tekniklerle alınıp yayılması ve inkübasyondan sonra sayıma dayanır¹⁰.

Filtrasyon ve Membranlar Üzerinde Kültüre Ederek Sayım

Hazırlanan süspansiyonların 0,45 µm lik porları olan filtrelerden süzülmesi ve bu filtrelerin agar plakları üzerine konularak, inkübasyondan sonra sayıma dayanan yöntemdir¹⁰.

Seri Tüplere Ekerek ve Statik Değerlendirme ile Sayım

Ardışık 3 seyreltiden 3'er adet sıvı besiyerine 1'er ml ekim sonrası tüplerin + ve – değerlendirmesiyle elde edilecek kodun, istatistik yöntemlerle elde edilen çizelgeden değerlendirilmesine dayanan yöntemdir¹⁰.

2.4.1.2. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında dikkat edilecek hususlar

Bir seri maddeyle çalışırken, maddelerin tümü aynı yöntemle test edilmelidir. Her yöntemde kullanılan çözücünün, besiyerinin, mikroorganizmanın kontrolleri mutlaka yapılmalıdır. Madde sayısının fazla olduğu durumlarda, aynı gün bitirilemeyen testlerde referans madde yine denenmelidir. Testler en az iki seri halinde çalışılmalıdır. Madde özel çözücüsünde çözülüp, sulu besiyeriyle dilüe edildikten sonra hiçbir şekilde çözücüsü uçurulmamalıdır. Maddenin başlangıç konsantrasyonu değişeceği gibi çökmelere de neden olur. Mikroorganizmaların kültür koleksiyonlarından sağlanmasına özen gösterilmelidir. Antibakteriyel aktivite çalışmalarında en az iki Gram-pozitif, iki Gram-negatif suş kullanılmalıdır. Özel bir küf cinsine ait bir çalışma yapılmıyorsa, antifungal çalışmalar maya benzeri funguslarla yapılabilmektedir. Konsantrasyonu bilinen tek bir madde ile çalışıldığında MİK değerleri µg/ml olarak belirtilmelidir. Fakat çalışılan madde bir karışımsa aktiviteden sorumlu yapı bilinmiyorsa MİK değeri MİD (Minimal İnhibisyon Dilüsyon) olarak verilmelidir¹⁸.

2.5. Bazı bitkisel ürünlerin içerdiği drogların antibakteriyel aktiviteleri

İnsanoğlu, yiyecek, içecek, barınak, giyinme, tedavi ve kozmetik ihtiyaçlarını karşılamak için bitkileri kullanmıştır. Bazı bitkiler tedavi edici olarak bilinmektedir, bölgesel olarak değişkenlik gösteren bu durumun sebebi bazı bitkilerin içerdikleri bazı aktif bileşenlerdir¹⁹.

Günümüzde birçok mikroorganizmaya karşı mevcut tedavide kullanılan tüm antibiyotik gruplarına karşı tekli veya çoklu direnç gelişmektedir. Bazı klinik uygulamalarda destek bitkisel ürünlerin antibiyotiklerle kombine kullanımı sağlanarak mikroorganizmalara karşı tedaviyi güçlendirme çalışmaları mevcuttur. Bunlar arasında; *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik kullanımının artması ile birlikte tedavide tek bir ajanla baş edilemeyecek kadar önemli infeksiyonlara neden olan, çoklu ilaç direnci geliştirmiş, önemli patojenlerdir²⁰. Bu durumla baş etmek için yapılan

uygulamalardan biri bitkisel bir ürün kombinasyonu olan alisin-beta laktam kombinasyonudur²¹. Yine önemli infeksiyon etkenlerinden günümüzde direnç gelişmiş olan tüberküloz etkeni; *Mycobacterium tuberculosis*'a karşı aktivitesi belirlenmiş; *Leucophyllum frutescens* ve *Chrysanthinia mexicana* gibi bitkilerin kombine tedavide kullanımları söz konusu olmuştur. Bu bitkilerin *M. tuberculosis*'a karşı aktiviteleri sırasıyla; minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri olan 62.5 µg/ml ve 125 µg/ml'da belirlenmiştir²².

Tamamlayıcı tıp alanında destek tedavisi amacıyla tüm dünyada ve ülkemizde gittikçe artan yoğunlukta bitkisel kaynaklı ticari ürünler kullanılmaktadır. Bu ticari ürünler doğal bitkisel droglardan farklı olarak tablet ve kapsül yapımında kullanılan farmasötik katkı maddeleri içermektedir. Aşağıda belirtilen droglar araştırmamızda kullandığımız ticari ürünlerin içerikleridir.

2.5.1. Enginar (*Cynara scolymus*;) Artichoke

Enginar (*C. scolymus*), yabani enginarın (*C. cardunculus*) kültüre alınmış ve ıslah edilmiş varyetesidir (var. *sativa*). Compositae familyasındandır ve bir Akdeniz bitkisidir. Droğun etken maddeleri polifenolik bileşiklerdir. Yiyecek olarak kullanılmayan ancak Eczacılıkta kullanılan kültür bitkisinin yaprakları, luteolin ve dicaffeoylquinic asit (sinarin) gibi antioksidan bileşikler içerir. İçerdiği %2.5 sinarin, seskiterpen laktonlar, klorojenik asit ve flavonoidler dolayısıyla pek çok tedavi edici etkisi olan enginar; karaciğer, safra rahatsızlıkları ve sindirim problemleri için kullanılmaktadır, safra salgısını ve dışkılamayı artırması nedeniyle; kanserden koruyucu tedavi için de tavsiye edilmektedir. Kökleri ise, insan barsak florasında pozitif etkileriyle bilinen, oligosakkarit, inülin içermektedir^{23, 24, 25} (Bkz. Resim1).

2.5.2. Kitosan (Chitosan)

Kitin, doğada çok bol miktarda bulunan, kaynağından kolayca izole edilebilen organik bir materyaldir²⁶. 1859'da Rouget tarafından teknolojik açıdan önemi olan polisakkarit biopolimerleri içerdiği gösterilmiştir. Kimyasal

koruyucu maddeler arasında yer alan kitosan; kitinden deasetilasyon yoluyla elde edilir. Kitin (kitosan); karides, istakoz, yengeç kabuklarında, *Zygomycetes sınıfına* ait mantarların hücre duvarında ve böcek kabuklarında doğal olarak bulunduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur²⁷. Kitosan sindirim yoluyla alındığında bitkisel diyetetik lifler gibi işlev görebilir. Gıda endüstrisinde ise başta gıda maddelerinin kalitesinin ve raf ömrünün artırılması olmak üzere çeşitli uygulama alanlarına sahiptir. Gıda maddelerinin raf ömrünün uzatılmasında kitosanın antimikrobiyal etkisinin önemli bir rolü vardır. Yapılan çalışmalarda, kitosanın çoğu mikroorganizmanın üremesini inhibe ettiği ortaya konmuştur²⁸. Çeşitli biyolojik aktivitelerinin yanı sıra, kitosanın, antioksidan, kolesterol düşürücü, antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir²⁹. Zengin lif yapısı mevcuttur ve kilo vermeye yardımcıdır. Ayrıca; kitosanın oligosakkaritlerinin, göğüs kanserlerinde metastazı engelleyebildiği de gözlemlenmiştir³⁰ (Bkz. Resim2).

2.5.3. Siyah Yılan Kökü (*Cimicifuga racemosa*; Black cohosh)

Eski adı *Cimicifuga racemosa* olan *Actaea racemosa*, Kuzey Amerika'ya özgü bir bitkidir. İçeriğinde bulunan saponozitler nedeniyle; yüzey gerilimini azalttığı ve dahilen refleks yoluyla bronş salgısını çoğalttığı ve aynı zamanda saponin içeriği (%2,5) nedeniyle antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir³. Bitkinin kök ve yumruları genellikle menopozal semptomlarda ve menstruel disfonksiyon, dismenore ve uterus spazmlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Östrojenik etki potansiyeli olan diğer bitkisel ilaçlar gibi (*Glycine max*, *Linum usitatissimum*, *Glycirrhis glabra*, *Trifolium pratense*, *Humulus lupulus*, *Angelica sinensis*) meme kanseri hikayesi olan kadınlarda çok güvenli olmadığı bildirilmiştir^{31, 32, 33} (Bkz. Resim 3).

2.5.4. Şeytan pençesi (*Harpagophytum procumbens*; Devil's claw)

Tedavide analjezik ve antispazmodik etkisi nedeniyle romatizma ve eklem hastalıklarına karşı kullanılmakta olan şeytan pençesi ekstresi, %2.6 harpagozit içermekte ve antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmektedir.

Dermatolojide antiseptik ve antimikrobiyal ajan olarak akne vulgaris ve seboreik ekzamada etkili bulunmuştur³⁴(Bkz. Resim 4)

2.5.5. Koni çiçeği (*Echinacea purpurea*; Echinacea)

Echinacea, *Echinacea pallida*, *Echinacea angustifolia* ve *Echinacea purpurea* bitkilerinin kök, yaprak veya tamamından elde edilmektedir. Bazı arkeolojik araştırmalarda; 400 yıldan fazla zamandır enfeksiyon hastalıkları ve yara tedavilerinde Echinacea'nın kullanıldığına rastlanmıştır. İnsanlık tarihi boyunca, kızıl, frengi, sıtma, difteride ve zehirlenmelerde kullanılmıştır. Bu bitki 18. ve 19. yüzyıllarda ABD' de, 20. yüzyılda Avrupa'da yaygın olarak kullanılmış, ancak antibiyotiklerin tanınmasından sonra kullanımı azalmaya başlamıştır. Yapılan araştırmalarda, alkilamid, polialkines ve kafeik asit derivelerinin lenfositlerin fagositik aktivitesini artırdığını bakteriyel hiyalüronidazı önleyerek enfeksiyonun yayılımının önlenmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bugün ise; boğaz ağrısı (farenjit), öksürük ve ateş gibi belirtilerde, soğuk algınlığı ve grip etkilerini azaltmada ve semptomların süresini kısaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Echinacea türlerine ait kompleks bileşenlerin (izobutilamid, sikorik asit, sinarin, ekinakoside, poliasetilen, polialken, Mukopolisakkarid) bağışıklık sistemini güçlendirici ve vücudun enfeksiyonlarla mücadelesinde etkin olduğu gösteren araştırmalar mevcuttur. Farklı terapötik etkilere; polisakkaritler, glikoproteinler, alkamidler, uçucu yağlar ve flavonoidlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Flavonlardan kaynaklanan antimikrobiyal aktivite rapor edilmiştir³⁵ (Bkz. Resim 5)

2.5.6. Sarımsak (*Allium sativum*; Garlic)

Sarımsak, Liliaceae familyasından *Allium sativum* bitkisinin soğanlarıdır. En etkili içeriği allisin olan *Allium sativum*' un antiseptik, antienflematuar ve gaz giderici etkileri vardır. Alisin, heterozit taşıyan bir uçucu yağ olup Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere etkili olduğu bilinmektedir. M.Ö. 1500 yılında Mısır'da Ebers Papirus'unda da antimikrobiyal etkilerinden bahsedilen sarımsak, halk ilacı olarak pek çok

hastalıkta ve aynı zamanda yiyeceklerin korunmasında antiseptik ve dezenfektan olarak kullanılmıştır. Aynı amaçlarla kullanımı hala devam etmektedir^{36, 37} (Bkz. Resim 6)

2.5.7. Mabet Ağacı (*Ginkgo Biloba*; Ginkgo)

Ginkgo biloba L., Ginkgoaceae familyasının bir üyesidir. Ginkgo yeryüzündeki en yaşlı bitkidir. Tarihi 225 milyon öncesine Paleozoic döneme dayanan ginkgo yapraklarının tedavide ilk kullanılışı Ming Hanedanlığı döneminde 1436'da Çin'de ortaya çıkmıştır. Avrupa'da en çok reçetelenen bitkisel ilaçtır ve Amerika'da en çok satılan gıda takviyelerinde ilk 10 içerisinde yer almaktadır. Klinik çalışmalarla desteklenen araştırmalar sonucunda; *Ginkgo biloba* ekstreleri Almanya'da alzheimer hastalığı, tinnitus (kulak çınlaması), vertigo ve bacaklardaki zayıf sirkülasyondan kaynaklı geçici topallık gibi rahatsızlıklarda ruhsatlanmıştır. Amerika'da ise çoğunlukla Alzheimer hastalığının tamamlayıcı tedavisinde ve vasküler demans durumlarında kullanılmaktadır. Kurutulmuş yapraklarının ekstraksiyonuyla ginkgo flavon glikozitleri (quercetin flavonu, kamferol, isorhamnetin) ve terpen laktonları (ginkgolidler ve bilobalide) elde edilen aktif bileşenlerinden ticari prepatlar hazırlanmıştır³⁸ (Bkz. Resim 7).

2.5.8. *Panax ginseng* (Ginseng)

Uzakdoğu'da ve Kuzey Amerika'da yetişen *Panax* (Araliaceae) türlerinin kökleri Ginseng adıyla drog olarak kullanılmaktadır. *P. ginseng*; Çin'de, *P. repens*; Japonya'da, *P. quinquefolium*; Kuzey Amerika'da yetişmektedir. *Eleutherococcus senticosus* ise Sibiry Ginsengi olarak bilinmektedir. Ginseng major metabolitlerinden; triterpen saponinlerine ait aglikonların farmakolojik aktiviteden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Ginseng'in, tonik, afrodiziyak, depuratif etkilerinin yanı sıra santral sinir sistemini uyarıcı ve yorgunluk halini giderici etkileri de gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda immunomodülatör aktivitesi bulunduğu gösterilmiştir^{39,40} (Bkz. Resim 8).

2.5.9. Meryemana Dikeni (*Silybum marianum*; Milk Thistle)

Eski adıyla *Carduus marianum*, Compositae familyası üyesidir. Flavonoidleri; flavonolignan (silimarin, silibin, silikristin, silidianin) türevidir. Avrupa'da, Afrika'nın kuzeyinde, Asya'nın batısında, Türkiye'de ise Batı ve Güney Anadolu'da yaygın olarak bulunmaktadır. Ortaçağdan beri tanınmakta ve kullanılmakta olan bir bitki olup tohumlarından faydalanılmaktadır. Karaciğeri, alkolün yan etkilerinden, toksik kimyasallardan, ağır metal zehirlenmelerinden koruduğu bilinmektedir. Sarılık, siroz, hepatit ve karaciğer yağlanması etkilidir⁴¹ (Bkz. Resim 9).

2.5.10. Nar Kabuğu (*Punica granatum*; Pomegranate Hull)

Punicaceae familyası üyelerinden bir Akdeniz bitkisidir. Esas olarak bitkinin kök kabukları kullanılmaktadır. Nar kabuğu, Dioscorides zamanından beri bilinen iyi bir antelmektir. Özellikle içerdiği 7 farklı alkaloidin tenyalar üzerine etkili olduğu bilinirken, içerdiği tanenler de astrenjan etki göstererek diyare ve dizanteride kullanım imkanı sağlamaktadır. Polifenolik bileşenler içeren meyve ve çekirdeklerinin güçlü antioksidan özelliği bulunmaktadır^{42,43} (Bkz. Resim 10).

2.5.11. Yosun (*Cyanobacteria*; Spirulina)

Spirulina, alkali ortamda yetişen, halk arasında yosun olarak bilinen bir çeşit mavi-yeşil algdır. Klorofil, aminoasitler, vitaminler, mineraller, karotenoidler, yağ asitleri, nükleik asitler ve enzimler bakımından zengin olduğu için Çin tıbbında binlerce yıldır kullanılmaktadır. Bağışıklık sistemini güçlendirici, kan yapımını artırıcı etkileri nedeniyle yorgunluk için ve beslenme desteği olarak kullanılmaktadır⁴⁴ (Bkz. Resim 11).

2.5.12. Demir Diken (Tribulus terrestris; Tribulus)

Tribulus terrestris L., Zygophyllaceae familyası üyesidir. Çin'de bol miktarda bulunan, yıllık, tırmanıcı bir bitkidir. Geleneksel Çin tıbbında, meyveleri, kütanöz pirürit, ödem, inflamasyon ve trakeitte kullanılmaktadır. Saponinler, alkaloidler, flavonoidler ve polisakkaritler içermektedir⁴⁵. Aynı zamanda erkek ve kadında libidonun artırılmasında kullanılmaktadır⁴⁶ (Bkz. Resim 12).

2.5.13. Üzüm Çekirdeği (Vitis vinifera; Grape Seed Extract)

Vitaceae familyasındandır. Bitkinin çiçek, yaprak, meyva, meyva çekirdeği ve köklerinde proantosiyanidin (PAC) adı verilen flavonozit bulunmaktadır. Şaraba kırmızı renk veren pigment PAC olup vitamin P de denilen bioflavonoitlerin alt grubudur. Süper antioksidan olarak adlandırılmaktadır. 1989 yılında DSÖ'nün yaptığı çalışmada; doymuş yağ ağırlıklı beslenme, kan basıncı, obezite ve serum kolesterol düzeyleri aynı olan Fransızların kardiovasküler hastalıklardan ölüm oranının İngiliz ve Amerikalılara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Fransız paradoksu denilen bu durum kırmızı şarabın antioksidan özelliğiyle ilgilidir. *Vitis vinifera* ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* bütün çalışmalar, ateroskleroz gibi kalp hastalıklarında, kanser ve viral enfeksiyonlarda kullanılabileceğini göstermiştir⁴⁷. *Vitis vinifera* antimikrobiyal peptidler içermektedir. Antimikrobiyal peptidler bitkilerin doğal savunma sistemlerinde rol oynamaktadır. Bu peptidler, bitki organlarının farklı doku katmanları arasında veya filizlenen tohumların koruyucu bariyerleri etrafında gelişmesiyle savunmaya katkıda bulunmaktadır. Son 15 yıldır, küçük, temel, sisteinden zengin peptidlerin fitopatojenlere karşı bitkilerin doğal bağışıklığında önemli olduğu bilinmektedir⁴⁸ (Bkz. Resim 13).

2.5.14. Sarı Kantaron (Hypericum perforatum; St. John's Worth)

Hypericum perforatum, Hypericaceae familyasının bir üyesidir. Bitkinin çiçekli dalları kullanılmaktadır⁴⁹. *Hypericum* türleri dünyanın birçok

bölgesinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. İlk kez M.Ö 5nci yüzyılda Hipokrat tarafından kullanıldığını gösteren belgeler bulunmaktadır. Yaygın olarak antidepresan, relaksan, mental depresyona karşı tonik ve stimulan olarak kullanılmaktadır. Ekstrelerin önemli komponentleri arasında hiperisin, hiperforin ve psödohiperisin bulunmaktadır. Antidepresan aktiviteden bu komponentlerin sorumlu olduğuna dair araştırmalar mevcuttur⁵⁰ (Bkz. Resim 14).

2.5.15. Alıç Meyvesi (*Crataegus tanacetifolia*; Hawthorn Berry)

Crataegus türleri, Rosaceae familyası üyeleridir. Tıbbi kullanımı Romalılar zamanına dayanmaktadır. Yaygın ismi, hawthorn olan bitkinin meyveleri, yaprakları ve çiçekleri, koroner kalp hastalıkları, ateroskleroz, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Flavonoidler (meyvede %0,1-1, yaprakta ve çiçekte %1-2), oligomerik proantosiyanidinler (OPCs, %1-3), triterpenik asitler (%0,5-1,4 meyvede), organik asitler (%2-6), steroller ve eser miktarda kardiyoaktif aminler içermektedir^{51,52} (Bkz. Resim 15).

2.5.16. At kestanesi (*Aesculus hippocastanum*; Horse chestnuts)

Aesculus hippocastanum, Hippocastanaceae familyası üyesidir. Bitkinin tohumları drog olarak kullanılmaktadır. Drog, triterpenik saponozitler karışımı içermektedir. Antienflamatuar etkisi bulunmaktadır. Başka bitkilerle birlikte hemoroid, varis ve flebit gibi damar hastalıklarında bu bitkiden yararlanılmaktadır. *A. hippocastanum*'un içerdiği triterpenik saponozitlerin pankreatik lipaz enzimini inhibe edici etkileri nedeniyle obezite tedavisinde kullanılabileceği rapor edilmiştir^{53, 54} (Bkz. Resim 16).

2.5.17. Yeşil Çay (*Thea sinensis* = *Camelia thea*; Green Tea)

Theaceae familyası üyesidir. Bitkinin dal uçlarındaki yapraklarının fermente edilmemiş halidir. Bitki, vatanı olan Çin ve Hindistan'da 500.000 yıl öncesinden beri var olmuştur. Taşıdığı alkaloidler diüretik etkilidir. Çay yaprakları %10-20 oranında tanen içerir. Çay tanenleri epikateşin,

epigallokateşin ve gallokateşindir⁵⁵. Epigallokateşin'in antitümörojenik, antioksidan, antibakteriyel ve antiviral etkileri belirlenmiştir⁵⁶. Bu kateşinin kalp kasılmasını düzenleyici etkileri de bulunmaktadır⁵⁷ (Bkz. Resim 17).

2.5.18. Kedi Tırnağı (*Uncaria tomentosa*; Cat's claw)

Uncaria tomentosa, Güney Amerika'da Amazon ormanlarında yetişen bir bitkidir. Yüzyıllardır bitkisel tedavide kullanılmaktadır. *U. tomentosa* ile yapılan çalışmalar bağışıklık sistemini güçlendirici, enflamasyonu önleyici etkilerini ve antineoplastik ve antioksidan özelliklerini ortaya koymuştur⁵⁸. Aynı zamanda; gastrik ülser, diyare, gonore, artrit ve romatizma, akne ve üriner sistem rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. İçeriğinde yer alan tanenlerin bağışık yanıtı desteklediği bildirilmiştir^{59, 60} (Bkz. Resim 18).

2.5.19. *Gymnema sylvestre*

Asclepiadaceae familyası üyesidir. Hindistan'da yetişen, çok yıllık, otsu, tırmanıcı, yavaş büyüyen bir bitkidir. Bitki halk arasında astım, göz şikayetleri, enflamasyonlar, aile planlaması ve yılan sokması tedavilerinde kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak antihiperkolesterolemik, hepatoprotektif ve antimikrobiyal etkileri de rapor edilmiştir⁶¹. 2000 yıldan fazla zamandır "madhu meha (tatlı idrar)" tedavisinde yaprakları çiğnenerek kullanılan ayurvedik bir bitkidir. Gymnemik asidler (Gymnemosid), saponinler, stigmasterol, quersitol ve aminoasit türevleri içermektedir^{61, 62} (Bkz. Resim 19).

2.5.20. *Sentella* (*Centella asiatica*; Gotu kola)

Centella asiatica Apiceae familyası üyesidir. *Hydrocotyle asiatica* olarak da bilinir. Çok yıllık tırmanıcı bir bitkidir⁶³. İçeriğinde yer alan triterpenoidler dolayısıyla, yara iyileştirici, beyni uyarıcı olarak, venöz hipertansiyon ve mikroanjiyopati tedavisinde, gastrik ülserde etki göstermektedir. *C. asiatica*'ya ait uçucu yağlarda; Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etki, triterpenoidlerde antikanser, flavonoidlerde antioksidan etki bildirilmiştir. Bunların dışında

immunomodulator ve *Herpes simplex* virusa karşı antiviral aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Taze yaprak ekstralarının hafızayı ve öğrenmeyi geliştirici etkileri rapor edilmiştir. Bu nedenle mental gerilik olan çocuklarda mental yeterliliği artırmak için kullanılmaktadır^{64, 65} (Bkz. Resim 20).

2.5.21. Çin Geveni (*Astragalus membranaceus*; *Astragalus*)

Leguminosae familyası üyesidir. Geleneksel Çin Tıbbında önemli bir yere sahip olan bitkinin 2000'den fazla türü vardır. *Astragalus*, eskiden beri genel halsizlik ya da yorgunluğu gidermek için, kronik hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılmıştır. *Astragalus* ekstraları polisakkarit (β -glucan), saponin, flavonoid ve aminoasit içerir. Kemik iliğinde kök hücre sayısını artırır, lenf hücrelerinin aktivitesini artırır, böylece immun modulator etki gösterir. Antiviral aktivitesini interferon üretimini artırarak yapmaktadır. NK (Naturel Killer; doğal öldürücü) hücre aktivitesini artırdığı için kanserli ve AIDS'li hastalarda kullanılmaktadır. Flavonoid, saponin ve polisakkaritler dolayısıyla oluşan antioksidan etki kalp koruyucu olarak etkili olmasını sağlamaktadır. Antibakteriyel aktivitesi de immunomodulator etkisi kadar güçlüdür^{66, 67} (Bkz. Resim 21).

2.5.22. Gümüşdüğme (*Tanacetum parthenium*; Feverfew)

Asteraceae familyası üyesidir. *Tanacetum* türleri yüzyıllardır çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle farklı tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. *T.parthenium*, halk arasında, migren, tinnitus, baş dönmesi, artrit, ateş, menstruel bozukluklar, mide ağrısı, baş ağrısı, böcek ısırıklarında kullanılmaktadır. Son yıllarda antileishmaniazis etkisi rapor edilmiştir⁶⁸ (Bkz. Resim 22).

2.5.23. Beta D Glukan (β -1,3-D-glucan)

1,3- β -D-Glucan maya hücre duvarının majör yapısal polimerlerinden biridir, sentezinin inhibisyonu büyüyen hücrenin parçalanmasına neden olur. En zengin kaynağı *Saccharomyces cerevisiae*'dir⁶⁹. Beta-glukanın beyaz kan hücrelerini aktive edebildiği gözlenmiştir. Yüksek riskli gastrointestinal cerrahi

girişim geçiren hastalarda postoperatif enfeksiyon riskini azaltmada yardımcı olmaktadır. Yara onarımına yardımcı olarak kullanımlarında mukozal uygulamaların daha etkili olduğu gözlenmiştir. Radyoprotektif, myeloproliferatif, antienflematuar ve immün sistem destekleyicidir⁷⁰.

2.5.24. Tarçın (*Cinnamomum ceylanicum*; Cinnamon)

Laurace familyası üyesi olan *Cinnamomum* türlerinin sürgünlerinin kabuklarıdır. Doğu ve Batı kültürlerinde binlerce yıldır halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağı yüksek oranda sinnamik aldehit ve hidrosinamik aldehitte birlikte öjenol de içermektedir Anoreksi, dispepsi, mide bulantısı, sırt ağrısı, mide ağrısı gibi etkileri bulunmaktadır⁷¹ (Bkz. Resim 23).

2.5.25. Soy isoflanones

Flavonoids, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunabilirken izoflavonoitler bitkilerde çok yaygın olarak bulunmamaktadır. Özellikle Leguminosae familyasına ait; Lotoidae, Caesalpinioideae, Papilionoideae alt familyalarında bulunmaktadır⁷². İzoflavonlar (özellikle genistein), östrojen analogu gibi davranarak östrojen reseptörlerine bağlanma özelliğine sahiptir. Böylece özellikle menopoz sonrasında, kadınlarda kemik kaybında, deri hastalıklarında, kardiyovasküler hastalıklarda ve hiperkolesterolemide kullanılması önerilmektedir^{73,74}. Bunların yanında, antioksidan ve antikanser aktiviteleriyle de tercih edilen bitkisel ürünlerdir⁷⁵

2.5.26. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*; Cranberry)

Ericaceae familyası üyesidir. Bitkinin meyve ve yaprakları kullanılır. Organik asitler, flavonoitler, antosiyanozitler taşımaktadır. Bu nedenle hipoglisemiyen, astringen ve antidiyareik etkileri gözlenmektedir. Eskidenberi meyvenin suyu üriner sistem enfeksiyonlarında; *E. coli*'ye karşı kullanıldığı

bilinmektedir. Birçok meyve gibi fruktoz içermektedir. Antimikrobiyal aktivitenin fruktozdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yabanmersini suyunda hangi aktif bileşiğin, antimikrobiyal etkiye katkıda bulunduğu araştırılmaktadır^{76,77,78} (Bkz. Resim 24).

2.5.27. Cüce Palmiye (*Serenoa repens*; Saw Palmetto)

Serenoa repens, *Sabal serrulata* olarak da bilinmektedir. Güney Amerika (Sahil şeridi), Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'da doğal olarak yetişmektedir. Geleneksel kullanımı, sistit, kronik bronşit, astım, diyabet ve dizanteri olduğu halde afrodizyak etkisinden de bahsedilmektedir. Yaygın kullanımı üriner sistem semptomları olan *S. repens*, benign prostat hiperplazisinde etkili olmaktadır^{79,80} (Bkz. Resim 25).

2.5.28. Kediotu (*Valeriana officinalis*; Valerian)

Valeriana officinalis, Valerianaceae familyası üyesidir. Kök ve yumrulara monosiklik monoterpen yapısında uçucu yağ bulunmaktadır. Antispazmodik aktivitesi vardır ve santral sinir sistemi sedatifi olarak da kullanılır. Veterinerlikte, kök ve yaprakların dekoksion şeklinde yara dezenfeksiyonunda kullanımı söz konusudur^{81,82} (Bkz. Resim 26).

2.5.29. Dong Quai (*Angelica sinensis*; Dong quai)

Dong quai, Umbelliferae familyası üyesidir. Binlerce yıldır Çin'de çeşitli kadın hastalıklarını tedavi etmek amacıyla kullanılmış ve kadın ginsengi olarak anılmıştır. Yapısındaki kumarin derivelerinden dolayı antikoagülan etkisi bulunmaktadır. Ligustilit butilfitalit ve bütildenefitalitler nedeniyle antispazmolitik etki göstermektedir⁸³ (Bkz. Resim 27).

2.5.30. Klorella (Chlorella)

Chlorella, tatlı sularda yetişen bir çeşit yeşil algidir. Aminoasitler, beta-karoten yönünden zengindir ve eser elementler içermektedir. Bu nedenle Short Bowel Syndrome (SBS) için iyi bir beslenme fonksiyonu olarak gösterilmiştir⁸⁴.

2.5.31. Karnıyarıkotu (Plantago ovata; Psyllium)

Plantaginaceae familyası üyesi olan *Plantago psyllium* olarak da bilinen bitkinin tohumları ve kabuklarıdır. Polisakkaritler içerirler. Müsilajın etkisiyle laksatif etki göstermektedir. Halk ilacı olarak antienflamatuvar, böcek sokmalarında kaşıntı giderici, gargara halinde boğaz iltihaplarına karşı kullanılmaktadır. Konstipasyon, hemoroid, ülseratif kolit, iştahsızlık, hiperlipidemi ve diyabette tavsiye edilmektedir^{85, 86} (Bkz. Resim 28).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Mikrobiyolojik Analiz

3.1.1. Gereç ve Yöntem

3.1.1.1. Mikroorganizmalar

Mikrobiyolojik analizde kontrol olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Candida albicans* ATCC 10231 kullanılmıştır (Mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Kültür Koleksiyonundan sağlanmıştır).

3.1.1.2. Besiyerleri

Belirtilen besiyerleri mikrobiyolojik analiz ve antibakteriyel aktivite tayininde mikroorganizmaların üretilmesi, stok solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.

Katı Besiyerleri

Muller Hinton Agar (MHA) (Merck)

Meat infusion	2,0 g
Casein hydrolysate	17,5 g
Starch	1,5 g
Agar-agar	13,0 g
Distile su	1.000 ml

Tryptic Soya Agar (Oxoid) (TSA)

Tryptone	15 g
Soya peptone	5 g
Sodium chloride	5 g
Agar	15 g
Distile su	1.000 ml

Eosin Metilen Blue (Meck) (EMB)

Peptone	10,0 g
$K_2 HPO_4$	2,0 g
Lactose	5,0 g
Sucrose	5,0 g
Eosin Y yellowish	0,4 g
Methylene Blue	0,07 g
Agar agar	13,5 g
Distile su	1.000 ml.

Crom Agar (Chromagar) (CA)

Sabouraud Dextroz Agar (Merck) (SDA)

Pepton	10,0 g
--------	--------

Glukoz	40,0 g
Agar agar	15,0 g
Distile su	1.000 ml.

Kanlı Agar

Meat infusion	2,0 g
Casein hydrolysate	17,5 g
Starch	1,5 g
Agar-agar	13,0 g
Distile su	1.000 ml
%5 koyun kanı	

Cetrimit Agar (Merck)

Pepton	20 g
Magnezyum klorit	1,4 g
Potasyum sülfat	10,0 g
N-Cetyl-N,N,N,-trimetilamonyum bromid	0,3 g
Agar	13,6 g
Distile su	1.000 ml

Sıvı Besiyerleri

Muller Hinton Broth (Merck) (MHB)

Meat infusion	2,0 g
Casein hydrolysate	17,5 g
Starch	1,5 g
Distile su	1.000 ml

Nutrient Broth (Oxoid) (NB)

Lab-Lemco Powder	1 g
Yeast Extract	2 g
Peptone	5 g

Sodium chloride	5 g
Distile su	1.000 ml
Saboraud Liquid Medium (Merck)(SLM)	
Pepton from meat	5,0 g
Pepton from casein	5,0 g
Glukoz	20,0 g
Distile su	1.000 ml

3.1.1.3. Çözeltiler ve çözücüler

% 80 steril distile su + % 20 DMSO

Fosfat tamponu solüsyonu (PBS); pH: 8.0

3.1.1.4. Cam Malzemeler

Test tüpleri

Petri kutuları

Balon joje

Cam pipetler (1 ml, 5 ml, 10 ml)

3.1.1.5. Cihazlar

Otoklav (Nüve, OT 4060, ISO, 9001)

Pasteur Fırını (NEL, NR900, Heraeus NR 900)

Vorteks (Fırlabo.sa)

Hassas terazi (AW320, D432410445, Shimadzu)

pH metre (Appoyal)

Güvenlik kabini (Chemocell LRCX-UV, ClassII A-B(1'2'3) III)

Otomatik pipetler (Greiner, eppendorf)

3.1.1.7. Bitkisel ürünler

63 adet ticari bitkisel ürün araştırmalarımızda kullanılmıştır. 1-21 numaralı ürünler A firmasına, 22-44 numaralı ürünler B firmasına ve 45-63 numaralı ürünler C firmasına ait ürünlerdir. 10, 31 ve 62 numaralı ürünler; 6, 26, 61 ve 63 numaralı ürünler; 11, 28 ve 58 numaralı ürünler; 21, 40, 53 numaralı ürünler; 2 ve 42 numaralı ürünler; 3 ile 36 numaralı ürünler; 9 ve 54 numaralı ürünler; 17, 25 ve 49 numaralı ürünler; 13 ve 48 numaralı ürünler; 33 ve 46 numaralı ürünler aynı etken maddeyi içermektedir (Bkz. Tablo 1).

3.1.1.8. Yöntem

Bitkisel ürünlerin mikrobiyolojik kontaminasyonunun belirlenmesi için her örnekten 1 g tartılıp Nutrient Broth'da çözüldü. 1 g maddedeki mikroorganizma sayısı dökme plak yöntemiyle saptandı^{6,19}. 9ml Nutrient Broth içeren tüpler içinde stok çözeltilerden başlayarak 1 ml'lik aktarımlarla her bir ürünün 10 katlı dilüsyonları hazırlandı. Her dilüsyondan 3 ayrı MHA dökülmüş petriye ve 3 ayrı SDA dökülmüş petriye 10 µl lik yayma inokulasyonlar yapıldı. Petriler 24-72 saat 37°C'de inkübasyonları yapılmıştır. MHA'da üreyen koloniler sayılarak 1 gr ürünlerdeki total aerob ve SDA'da üreyen koloniler sayılarak maya-küf hesaplandı. 30-300 koloni oluşan plaklar değerlendirmeye alındı^{18,19}.

Ürünlerin hazırlandığı stok çözeltilerinden *P.aeruginosa* saptanması için Cetrimide agara, Gram-negatif bakterilerin araştırılması için EMB Agar'a, *S.aureus* varlığının araştırılması için MSA Agar'a yayma inokulasyonlar yapıldı. 37°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Ürün içindeki istenmeyen mikroorganizmaların varlığı değerlendirildi.

3.2. Antibakteriyel Aktivite Tayini

3.2.1. Gereç ve Yöntem

3.2.1.1. Mikroorganizmalar

Çalışmamızda antibakteriyel aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar için Tablo 2'ye bakınız.

3.2.1.2. Besiyerleri

3.1.1.2. bölümünde belirtilen besiyerleri mikroorganizmaların üretilmesi, stok solüsyonların hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.2.1.3. Çözeltiler ve çözücüler

%80 steril distile su + %20 DMSO
Fosfat tamponu solüsyonu (PBS); pH: 8.0

3.2.1.4. Cam malzeme ve cihazlar

3.1.1.4 ve 3.1.1.5 de belirlenmiştir.

3.2.1.5. Antibiyotikler

Ampisilin (Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş.)
Ofloksasin (Zhejiang Huangyan East Asia Chemical co)
Gentamisin (Paninkret chem)
Fluconazol (Pharmatek)
Amfoterisin B (Bristol-Myers Squibb)

3.2.1.6. Bitkisel ürünler

3.1.1.7 bölümünde adı geçen ürünlerin, dolgu maddeleri olan Magnezyum stearat ve Mikrokristal selülozun mikrobiyolojik analizi yapılmıştır.

3.2.1.7. Yöntem

Test maddelerinin stok çözeltileri % 80 steril distile su ve % 20 DMSO karışımı içinde son konsantrasyonları 1024 µg/ml olacak şekilde çözülerek hazırlandı. Stok çözeltiler Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) önceki adıyla; NCCLS kriterlerine göre hazırlandı. (CLSI, NCCLS, 1996). Ürünlerde dolgu maddesi olarak kullanılan mikrokristal selüloz ve bitkisel magnezyum stearat'ın da kontrolleri yapıldı. Antibakteriyel ajanlardan Ampisilin, Ofloksasin ve Gentamisin, antifungal ajanlardan ise Flukonazol, Amfoterisin B kullanıldı. Ampisilin PBS içinde, Ofloksasin, Flukonazol, Gentamisin suda, Amfoterisin B ise 1 kısım DMSO+ 9 kısım suda çözülerek kullanıldı.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde standart suşların (Tablo 1) kültür süspansiyonları kullanıldı. Bakteriler için MHB, MHA, funguslar için ise SLM, SDA besiyerleri steril olarak formülasyonuna uygun olarak hazırlandı. Kültür süspansiyonları CLSI kriterlerine göre, 10⁵ kob/ml bakteri yoğunluğunda hazırlanıp testte kullanıldı.

Antibakteriyel aktivite tayininde mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Besiyeri içeren 96-kuyulu mikropleyette bitkisel ürünlerin her birinin ayrı ayrı çift katlı dilüsyonları (512-0,25 µg/ml) yapıldı. Kuyulara 10 µl kültür süspansiyonlarından ilave edilerek 37°C' de 24-72 saat inkübasyon sonrası Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlendi^{87, 88}. Tüm ürünler iki paralel çalışıldı. Testte, çözücü, besiyeri, antibiyotik ve mikroorganizma kontrolleri de denendi.

Saptanan MİK kuyularından temiz bir besiyerine pasajlar yapılarak ürünlerin etkisinin bakterisit-bakteriyostatik, fungusit-fungustatik etkisinin belirlenmesi için 37°C de 24-72 saat inkübe edildi. Oluşan üremeler gözlemlendi (Bkz.Resim 29)

4. BULGULAR

Pomegranate Hull için araştırmamızda *E.faecalis*'e karşı 64 µg/ml olarak gözlenen MİK değeri bakteristatik etkidir. 256 µg/ml'de bakterisit etki bulunmuştur. Bu etki *B.cereus* için 32 µg/ml'de, *B.subtilis*'te 128 µg/ml'de, *E.faecalis*'te 64 µg/ml, *S.pyogenes*'de 256 µg/ml olarak gözlenmiştir.

C.albicans üzerindeki fungusit etki 128 µg/ml konsantrasyonda belirlenmiştir.

Grape seed ile araştırma bulgularımız *S.aureus* için 128 µg/ml dilüsyonda bakterisit etki olarak gözlenmiştir.

Garlic, çalışmamızda *B.subtilis* için 128 µg/ml'de bakteristatik etki göstermiştir.

Chitosan, 256 µg/ml'de bakteristatik etki göstermiştir.

Devil's claw'da *B.subtilis* için MİK değeri 256 µg/ml olarak bulunmuştur.

Cat's claw, 64 µg/ml de bakteristatik, 256 µg/ml'de ise bakterisit etki göstermiştir.

Ürünlerin MİD değerleri kontrol olarak kullanılan antimikrobiyal ajanların MİK değerleriyle kıyaslandığında etkilerinin kayda değer olmadığı gözlenmiştir. Ürünlerin hemen hepsi 512 µg/ml MİD değerinde bulunmuştur. Kontrol olarak kullanılan çözücü ve katkı maddelerinin antimikrobiyal aktivitesine rastlanmamıştır.

Kontrollerle kıyaslandığında antimikrobiyal etkilerinin kayda değer olmadığı gözlenmiştir. Bu ürünler antibakteriyel etkileri için değil diğer farmakolojik etkileri nedeniyle kullanılan ürünlerdir. Az da olsa antimikrobiyal etkiye sahip olmaları ürünün kontaminasyonunu engellemektedir.

Mikrobiyolojik analizi yapılan 63 ürünün 4'ünde total bakteri ve total maya-küf miktarları sayılmıştır. Aşağıdaki formüle göre total bakteri ve total-maya küf miktarı $< 10^1$ olarak belirlenmiştir.

$N = X.1/V.D$ [N: Mililitredeki mikroorganizma sayısı; X: ortalama koloni sayısı (cfu_{ort}); V: İnokülasyon miktarı (µl); D: Dilüsyonun ters logaritması]

5. TARTIŞMA

A, B ve C firmalarına ait 63 bitkisel ürünün; *Cynara scolymus*, *Chitosan*, *Cimicifuga racemosa*, *Harpagopyhtum procumbens*, *Echinacea*, *Allium sativum*, *Ginkgo biloba*, *Panax ginseng*, *Silybum marianum*, , *Punica granatum*, *Spirulina*, *Tribulus terrestris*, *Vitis vinifera*, *Hypericum perforatum*, *Crataegus tanacetifolia*, *Aesculus hippocastanum*, *Thea sinensis*, *Uncaria tomentosa*, *Gymnema sylvestre*, *Centella asiatica*, *Astragalus membranaceus*, *Tanacetum parthenium*, β - 1,3-D Glucan, Cinnamon, Soy isoflavones, *Vaccinium macrocarpon*, *Serenoa repens*, *Valeriana officinalis*, *Angelica sinensis*, *Chlorella*, *Plantago ovata* gibi drogları içerdikleri belirlenmiştir. Bu ürünlerin mikrobiyolojik analizinde total aerob bakteri ve fungus sayıları ve spesifik mikroorganizmalar araştırılmıştır.

Aynı ürünlerin Gram-pozitif bakterilere (*S.aureus*, *B. subtilis*, *E.faecalis*, *B.cereus*, *S.epidermidis*, *S.griseus*, *S.pyogenes*), Gram-negatif bakterilere (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *A.baumanii*, *P.vulgaris*, *E.aerogenes*, *S.typhimurium*, *S.dysanteriae*, *S.enteriditis*, *V.cholerae ojava*) ve maya benzeri mantarlara (*C.albicans*, *C.parapsilosis*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri denenmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları ekstreler ve izole edilen etken maddeler üzerinde yapılmadığından bulunan değerler MİD olarak verilmiştir.

Ürünlerin MİD sonuçları, müstahzar haline getirilmiş ürünlerin, yıllardır kullanılan ve antibakteriyel etkileri de kanıtlanmış drogların MİK değerleriyle

karşılaştırıldığında bu droglar kadar etkili olmadığını göstermiştir. Bu durum, ürünün ilaç formuna gelmesi sırasında karşı karşıya kaldığı muamelelerden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Zhu ve ark.'nın yaptıkları araştırmada; Enginar (*Cynara scolymus*)'ın yaprak ekstrelerine ait fenolik bileşiklerde; MİK değerleri 50-200 µg/ml konsantrasyon aralığında antibakteriyel ve antifungal etkili olduğu gösterilmiştir⁸⁹. Araştırmamızda denenen *Artichoke* için MİD değerleri Gram-negatif bakterilere (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *A. baumannii*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium*, *S. dysenteriae*, *S. enteritidis*, *V. cholerae ojava*) karşı 512 µg/ml olarak bulunmuştur. Gram-pozitif bakterilere (*E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. griseus*, *S. pyogenes*) karşı MİD değerleri yine 512 µg/ml olarak gözlenirken *S. aureus* için MİD: >512 µg/ml bulunmuştur. MBS değerleri *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* için 512 µg/ml olarak bulunmuştur. Bakterisit etkiye maruz kalan mikroorganizmalar ise MBC değeri 512 µg/ml olmak üzere *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. griseus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* ve *S. dysenteriae*' dir. Maya benzeri mantarlar (*C. albicans*, *C. parapsilosis*) için bulunan MİD değeri 256 µg/ml dir. *B. cereus* ve *B. subtilis* için MİD: 256 µg/ml, *B. subtilis* için MBS: 256 µg/ml dir. *B. cereus* için MBC/MBS: 256/512 µg/ml bulunmuştur.

Kitosan (Chitosan)'ın; açıl tiyoüre türevlerinin *E. coli*'ye (MBC; 62,49 µg/ml) MİK: 15,62 µg/ml'de aktivite gösterdikleri, antifungal aktivitenin de 50-500 µg/ml aralıkta olduğu gösterilmiştir⁹⁰. Bir başka araştırmada; kitosanın 40-750 µg/ml konsantrasyon aralığında yapılan araştırmada Gram-negatif bakterilere MİK≤0.006(W/V) düzeyinde aktivite belirlenmiştir⁹¹. Araştırmamızda; MİD değerleri Gram-negatif bakterilere (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *A. baumannii*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *B. cereus*, *S. typhimurium*, *S. dysenteriae*, *S. enteritidis*, *V. cholerae ojava*) karşı 512 µg/ml olarak bulunmuştur. Gram-pozitif bakterilere (*S. aureus*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. griseus*, *S. pyogenes*) karşı

MİK değerleri yine 512 µg/ml olarak gözlenirken, *B. subtilis* için MİD: 256 µg/ml ve MBS: 256 µg/ml bulunmuştur. MBS değerleri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. enteriditis*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* için 512 µg/ml olarak bulunmuştur. Bakterisit etkiye maruz kalan mikroorganizmalar ise MBC değeri 512 µg/ml olmak üzere *S.aureus*, *E.faecalis*, *S.griseus*, *P.aeruginosa*, *S.typhimurium* ve *S.dysenteriae*' dir. Maya benzeri mantarlar (*C.albicans*, *C.parapsilosis*) için bulunan MİK değeri 512 µg/ml olarak değerlendirilmiştir.

Cimicifuga racemosa (Black cohosh) içeriğindeki triterpen glukozidlere karşı antimikrobiyal aktivite göstermeyen bir drog olarak bildirilmesine karşı⁹² saponin içeriği nedeniyle bir miktar antibakteriyel aktiviteden bahsedilmektedir³. Araştırmamızda 2 farklı firmaya ait ürün değerlendirilmiştir. Black cohosh (A) için; *B. subtilis* ve *S. epidermidis*'e ait MİD değeri 256 µg/ml, *E. aerogenes* için MİK değeri >512 µg/ml bulunmuş, diğer bütün Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler ve maya benzeri mantarlar için bu değer 512 µg/ml olarak gözlenmiştir. Black cohosh (B) de ise MİD değerleri *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* için >512 µg/ml, bunlar dışındaki Gram-negatif bakteriler için 512 µg/ml; *S. pyogenes* için >512 µg/ml, bunun dışındaki Gram-pozitif bakteriler için 512 µg/ml olarak gözlenmiştir. Black cohosh A ve B, maya benzeri mantarlar için de 512 µg/ml konsantrasyonda MİD değeri vermiştir. Black cohosh (A) nın bu konsantrasyonlarda çalışılan tüm Gram-pozitifler üzerinde bakterisit etki gösterdiği bulunmuştur. *S.typhimurium* ve *S.dysenteriae* dışındaki Gram-negatif bakterilerde, değerlendirilen konsantrasyonlar bakteriyostatiktir. Black cohosh (B) de MBC değerleri *S. typhimurium*, *S. dysenteriae*, *S.enteriditis* için 512 µg/ml dir. Diğer Gram-negatif bakteriler için MBS: 512 µg/ml dir.

Şeytan pençesi (Devil's claw) daha önce yapılan bir çalışmada; aerobik bakterilere ve mayalara karşı MİK ve minimum bakterisidal (MBC) değerleri 10-100 µg/ml arasında gözlenmiştir³⁴. Çalışmamızda; *B. subtilis* için

MİD değeri: 256 µg/ml olarak bulunmuştur. Diğer Gram-pozitif bakteriler için MİD: 512 µg/ml dir. *E.coli* ve *E.aerogenes* için >512 µg/ml olarak bulunan MİD değeri çalışılan diğer Gram-negatif bakteriler ve maya ve benzeri mantarlar için 512 µg/ml dir. Gram-pozitiflerden *B. subtilis* ve *B. cereus* bulunan konsantrasyonlarda bakteristatik etki gösterirken diğer bakteriler üzerinde bakterisit etki gözlenmiştir. Gram-negatif *P. vulgaris*, *S. typhimurium*, *S.dysenteriae*, *V. cholerae ojava* kendi konsantrasyonlarında bakterisit etkiye maruz kalmıştır. Diğer Gram-negatif bakteriler bakteristatik etki göstermiştir.

Ekinazya (Echinacea) *in vivo* araştırmalarda, orta kulak iltihabı, idrar yolu enfeksiyonları, vajinal mantar (Candida) enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları tedavisi için önerilmektedir⁹³. Stanisavljevic I. ve ark.'larının yaptıkları bir araştırmada; *Echinacea purpurea* L. ekstrelerinde; *A.niger*'e karşı aktiviteleri bulunmazken; *C.albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ya karşı yüksek aktivite göstermedikleri bildirilmiştir⁹⁴. Araştırmamızda; 3 farklı firmaya ait 4 ayrı Echinacea ile çalışılmış ve gözlemlenen en iyi MİD değeri *B. subtilis* için Echinacea (A)'da 256 µg/ml olarak bulunmuştur. Echinacea (B) ve (C)'de Gram-negatif, Gram-pozitif ve maya ve benzeri mantarlar için bu değer 512 µg/ml ve >512 µg/ml olarak değerlendirilmiştir. Echinacea (B), (C1) ve (C2)'nin maya ve benzer mantarlar için MİD değeri 256 µg/ml dir.

Grosso ve ark.'nın yaptığı bir araştırmada; *Allium sativum* (saf sarımsak) ekstrelerinin insan çekum bakterilerine karşı tetrasiklinlerden daha etkili olduğunu, aynı zamanda *C.albicans*'a karşı güçlü fungusit etki gösterdiği belirlenmiştir. Bir başka araştırmada; antifungal aktivitenin ajoene'den kaynaklı olduğu ve tinea pedisli hastalarda 14 günde iyileşmeye neden olduğu rapor edilmiştir¹. *A.sativum*' un *in vitro* olarak streptokoklara karşı antibakteriyel etkisi olduğu rapor edilmiştir⁹⁵. Betoni ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada; *A. sativum* örneklerinde *S. aureus*'a karşı tetrasiklin ve gentamisinle kombine kullanımlarının sinerjik etkili olduğunu göstermişlerdir⁹⁶. Bir başka araştırmada ise; *A.sativum*; *Staphylococcus* türlerine karşı denenmiş, antibakteriyel aktivitesinin; β-laktam antibiyotiklerle

kombine kullanımının, tek başına (MİK₉₀ >512 µg/ml) kullanımına göre çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sefazolin/Okzasillin kombinasyonlarıyla ve sefoperazon ile birlikte *P.aeruginosa*'ya karşı karşılaştırmalı antibakteriyel aktivite çalışmaları yapılmış fakat tek başına iyi bir antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir^{97,98}. Mehrabian S ve Larry-Yazdy H⁹⁹ nin agar difüzyon testi ile yaptıkları bir araştırmada *Allium sativum*, *A.cepa* ve *A.porrum* ekstrelerinin enterik patojenlerden; *E.coli* 0124, *E.coli* 0111, *Sl.typhimurium*, *Sl.havana*, *Sl.para A*, *Sh.flexneri*, *Sh.dysenteriae* karşı 11,25-360 µg/ml'de aktivite belirlemişlerdir⁹⁹. Çalışmamızda (A) ve (C) firmalarına 2 farklı *Allium sativum* içeren ürün denenmiştir. *A. sativum* (A) *B. subtilis* için 256µg/ml MİD değeri verirken (C) ürünü 128 µg/ml konsantrasyonda sonuç vermektedir. Bu konsantrasyonlarda bakteristatik etki gözlenmiştir. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif ve maya ve küf benzerleri için MİD değerleri 512 µg/ml ve >512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Ginkgo biloba; flavon heterozitleri, terpen laktonları içerir. Ginkgolik asitin; *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *B. cereus* ve metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA)'a karşı penisilinle birlikte etkili olduğu bildirilmiştir. *G. biloba*; ethyl acetate, *n*-butanol ve suyla elde edilen yaprak ekstrelerinde; Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve mayalara karşı ancak özellikle *E. faecalis*'e karşı yüksek aktivite belirlenmiştir¹⁰⁰. Araştırmamızda; 3 firmaya ait 3 ayrı ürün denenmiştir. MİK değerleri *G. biloba* (C) için maya ve küf benzerleri üzerinde 256 µg/ml olarak gözlenirken, bu ürünün 256 µg/ml konsantrasyonda fungusit etkili olduğu kaydedilmiştir. Her 3 ürünün tüm diğer Gram-pozitif, Gram-negatif ve maya ve küf benzerlerindeki dilüsyon 512 µg/ml ve >512 µg/ml olarak bulunmuştur. *Ginkgo biloba* (B) *S.typhimurium* ve *S.enteritidis*'e, *Ginkgo biloba* (C) ise *S.typhimurium*'a karşı bakteristatik etki göstermiştir. Diğer sonuçlar bakteristatik etkiyi göstermektedir.

Ginseng; ginsenosit (triterpenik saponozit) içeriği nedeniyle MRSA'a karşı MİK değeri 100 µg/ml bulunurken bazı antibiyotiklerle de additif etki gösterdiği rapor edilmiştir¹⁰¹.

Mikrobiyolojik analiz çalışmalarında Tournas VH ve ark.¹⁵ Sibirya Ginseng örneklerinde maya, küf ve aerob bakteri araştırmışlar ve sonuçta funguslar için $<100-1.4 \times 10^3$ cfu/g aralığında kontaminasyon belirlemişlerdir. Kontamine örneklerde; *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türlerini tanımlamışlardır. Bakteriyal kontaminasyonu ise tüm örneklerde $<100-4.3 \times 10^5$ cfu/g aralığında tespit etmişlerdir. Başlangıç materyallerinden aldıkları örneklerde ise maya ve küf kontaminasyonuna rastlamadıklarını bildirmişlerdir¹⁵. Çalışmamızda 63 ürünün mikrobiyolojik analiz sonuçları karşılaştırıldığında kontaminasyona rastlanmamıştır. Araştırmamızda 3 firmaya ait 3 farklı Ginseng kullanılmıştır. Ginseng (A,B,C) için Gram-pozitif, Gram-negatif ve maya ve küf benzerlerinde MİD değerleri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasındadır.

Silybum marianum MRSA, çoklu ilaç dirençli *P.aeruginosa*, enterohemorajik *E.coli*, *S.typhi*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *B.subtilis* gibi bakteri ve bazı funguslara karşı MİK değerleri 20-45 µg/ml olarak belirtilmiştir¹⁰². Gram-negatif bakteri ve funguslara etkisiz olmasına karşın Gram-pozitif bakterilere etkili olduğu gösterilmiştir¹⁰³. Çalışmamızda 3 farklı firmaya ait 3 farklı *Milk Thistle* (A, B, C1, C2) ürünü bulunmaktadır. Ürünlerin tamamı Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve maya ve benzerleri üzerinde MİD: 512 µg/ml ve >512 µg/ml olmak üzere etki sağlamıştır. *Milk Thistle* 'in bu 4 ürünü de *E.coli*'ye karşı bakterisit, *V.cholerae*' ye karşı bakteristatik etki gösterdiği gözlenmiştir. Milk thistle A, *B. subtilis* üzerinde 512 µg/ml konsantrasyonda bakterisit etkili iken Milk thistle C1, *B. cereus* üzerinde, C2 ise *B. cereus* ve *S. epidermidis* üzerinde bakterisit etki göstermektedir. Milk thistle B ise 64 µg/ml dilüsyonda *B. subtilis* üzerinde bakteristatik etki göstermiştir.

Punica granatum'un tek başına antimikrobial aktivite gösterdiği bilinen kabuklarının MRSA için MİK değeri $<1,8$ µg/ml ile $5,3$ µg/ml arasında

bulunmuş ve tetrasiklinlerle de sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir⁹⁷. Antimikrobiyal aktivite meyvelerde de geleneksel ilaç olarak kullanımı destekleyecek ölçüde güçlüdür¹⁰⁴. Araştırmamızda 3 farklı firmaya ait 3 farklı *Punica granatum*; Pomegranate (A,B,C) örneği değerlendirilmiştir. Pomegranate A, *E.faecalis* için 64 µg/ml dilüsyonda etkili bulunmuştur. Bu konsantrasyondaki etkisi bakteriyostatik olup bakterisit etki konsantrasyonu 256 µg/ml dir. Pomegranate B'nin *E. faecalis* ve *S. epidermidis* üzerinde 64 µg/ml dilüsyonda bakteriyostatik etkisi gözlenmiştir. *S. pyogenes* için MİD değeri 128 µg/ml dir. Pomegranate C, *B. cereus* üzerinde 32 µg/ml'de bakterisit etki göstermiştir. *E. faecalis* üzerinde bakterisit etkinin 64 µg/ml, *B. subtilis*' te 128 µg/ml ve *S. pyogenes*'de 256 µg/ml dilüsyonda gerçekleştiği kaydedilmiştir. Pomegranate B, *C. albicans* üzerinde 128 µg/ml'de fungusit etki göstermiştir. Pomegranate C'nin ise *C. parapsilosis* üzerinde 256 µg/ml dilüsyonda fungusit etkisi gözlenmiştir. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerlerinde MİD: 512 µg/ml ve >512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Spirulina tozu Cyanobacteria'nın su yosunları ile ilgili bir çalışmada antibakteriyel, antifungal, antiviral, antimitotik ve sitotoksik aktiviteleri olmadığı gözlenmiştir¹⁰⁵. Tobramisinle karşılaştırmalı olarak *E. faecalis*, *S.aureus* ve *C.albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite bulunmuştur¹⁰⁶. Araştırmamızda çalışılan tüm Gram-negatif, Gram-pozitif bakterilere ve maya ve benzeri küflere etki değerleri 512 µg/ml ve >512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Çoban çökerten (*Tribulus terrestris*) Flukonazol dirençli mayalarda MİK değerleri 4,4±2,7 ile >128,0 µg/ml arasında değişkenlik göstermiştir¹⁰⁷. Meyvelerin *B. subtilis*, *B. cereus*, *P. vulgaris* ve *C. diptheriae* gibi bakteriler için etanollü ekstrelerinin MİK değeri 0,15 mg/ml, *C. albicans* için de MİK değeri 0,15 mg/ml bulunmuştur¹⁰⁸. Saponozit (%40) içeriği bulunan *T. terrestris*'de, *C.albicans* için MİK₈₀: 10 ve 2,3 µg/ml, *Cryptococcus neoformans* için MİK₈₀: 1,7 ve 6,7 µg/ml bulunmuştur¹⁰⁹. Yapılan bir

araştırmada; *Medicago sativa* (alfa alfa) gibi droglarla benzer şekilde; *B.cereus*, *B.subtilis*, *S.aureus* ve *E.faecalis*'e aktiviteleri gösterilmiştir. *Saccaromyces cerevisiae*' ya da antifungal etki gösterdikleri gözlenmiştir¹¹⁰. Saponozitlerin, antihelmintik aktiviteleri de bilinmektedir¹¹¹. Çalışmamızda bütün mikrorganizmalar için bulunan MİD değerleri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasındadır.

Deliorman OD ve ark.'nın¹¹² yaptıkları bir araştırmada; *V.vinifera* yapraklarının sulu ekstresinin fraksiyonlanması ile farklı polaritede fraksiyonlar elde edilmiş (Kloroform, etilasetat, n-butanol ve kalan su fraksiyonları) ve antibakteriyal, antifungal, antiviral, antioksidan aktiviteleri ve total fenol içerikleri incelenmiştir. Fraksiyonların *C. albicans* ve *C. Parapsilosis*'e karşı eşit antifungal aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, tüm fraksiyonların Gram-pozitif bakterilere (*S. aureus* ve *E. faecalis*) Gram-negatif bakterilerden (*E.coli* ve *P.aeruginosa*) daha belirgin etki gösterdiğini işaret etmiştir¹¹². Araştırmamızda; *V. vinifera* içeren Grape seed A ve Grape seed C olmak üzere 2 farklı ürün çalışılmıştır. Grape seed C, *S.aureus* için MİD: 128 µg/ml dilüsyonda bakterisit etki göstermiştir. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif ve maya ve benzeri küfler için MİD değerleri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasında bulunmuştur.

Hypericum türleriyle yapılan çalışmalarda antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antinosiseptif ve sitotoksik etkiler görülmüştür. Bazı Hypericum türlerinin esansiyel yağlarının test organizmaları ve mayalar üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu gözlenmiştir¹¹³. Türkiye'de 70 kadar çeşidi bulunmaktadır. Ankara'dan toplanan *Hypericum heterophyllum*'un *S.aureus*, *S. faecalis*, *B.anthraxis*, *N.gonorrhoeae* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu görülmüştür¹¹⁴. Çalışmamızda A, B ve C firmalarına ait 3 farklı ürün değerlendirilmiştir. St.John's Worth A ve C, *B. cereus*'a karşı 128 µg/ml'de bakteriostatik etki göstermiştir. St.John's Worth C, *S.aureus* için 64 µg/ml ve *S. epidermidis* için 256 µg/ml dilüsyonlarda bakterisit etkili bulunmuştur.

Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler için MİD değeri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasındadır.

Benli ve ark.'nın¹¹⁵ *C. tanacetifolia* ile yaptığı çalışmada; *B. subtilis*, *Shigella*, *S.aureus* ve *L.monocytogenes* kullanılmıştır. 24 saatlik inkubasyon sonrası MİD değerleri; *B. subtilis* için ≥6,16 mg/ml, *Shigella* için <394 mg/ml ve *L. monocytogenes* ve *S. aureus* için ≥3,08 mg/ml bulunmuştur. *S. aureus* için MBC≥98,5 mg/ml, *B. subtilis* için ≥24,63 mg/ml, *Shigella* için ≥394 mg/ml ve *L. monocytogenes* için ≥6,16 mg/ml olarak tesbit edilmiştir¹¹⁵. Kıymet ve ark.'nın¹¹⁶. *Crataegus* türlerine ait ekstrelerde yaptıkları bir başka araştırmada; bakterilerin üremesi üzerine etki belirlerken küflere (*A. niger*, *A. parasiticus*, *A. citri*) herhangi bir aktivite belirlememişlerdir¹¹⁶. Araştırmamızda; Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler için MİD değerleri >512-512 µg/ml olarak bulunmuştur.

At keşanesi'nden (*Aesculus hippocastanum*) izole edilen proteinlerin antifungal etkili olduğu gösterilmiştir¹¹⁷. Farmasötik ve kozmetik alanda yaygın kullanımı olan at keşanesine ait; olean tipi saponin ve flavonoidlerin (glikozit, quersetin, kamferol) yapısal analizleri aydınlatılmıştır¹¹⁸. Peptidlerin antibakteriyel aktivite çalışmalarında Inhibition Concentration(IC₅₀) değerleri 200 µg/ml olarak bulunmuş, yeterli bir antibakteriyel aktivite gözlenmediği rapor edilmiştir¹¹⁹. Yaptığımız çalışmada; Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler için MİD değerleri >512-512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Yeşil Çay (*Thea sinensis*; *Camelia thea*) tanenlerin *S.aureus*'a karşı bakteriyostatik ve bakterisidal etkileri rapor edilmiştir¹²¹. Mbata, T.I. ve ark.'nın¹²² agar diffüzyon ve mikrodilüsyon testleri ile yaptıkları araştırmada; Chinese yeşil çay yapraklarına ait; metanol ve su ekstralarının *Listeria monocytogenes*'e sırasıyla MİK; 0,26 mg/ml ve 0,68 mg/ml'de, 10,0-20,1 mm zon çaplarında aktif olduğunu belirlemişlerdir¹²¹. Türk çayında da *Campylobacter* türlerine karşı antibakteriyel aktivite olduğu gösterilmiştir¹²². Araştırmamızda; Green tea B ve C olmak üzere 2 farklı ürün test edilmiştir.

Green tea B ve C, Gram-negatif *S. dysenteriae*'yi 256 µg/ml konsantrasyonda inhibe etmektedir. Green tea B'nin, Gram-pozitif *S. epidermidis* için MİK değeri 256 µg/ml olarak kaydedilmiştir. Çalışılan diğer tüm Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler için ise MİD değerleri >512-512 µg/ml dir.

Uncaria tomentosa (Cat's claw) içerdiği; oksindol alkaloidleri, triterpenler, fenolik bileşikler, glikozitler, tanen ve flavonoidlerin antimikrobiale aktiviteye sahip oldukları, ancak *C. albicans* üzerinde etkili bulunmamıştır⁵⁸. Araştırmamızda; *B.subtilis* için MİD değeri 64 µg/ml olarak bulunmuştur. Bakterisit etki ancak MBC: 256 µg/ml konsantrasyonda gözlenmektedir. Diğer mikroorganizmalar (Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler) için MİD değerleri >512-512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Gymnema sylvestre yapraklarına ait etanol ekstraktlarında Stadive ve ark.¹²³ tarafından *B. pumilis*, *B.subtilis*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*' a karşı aktivite belirlenirken, *P. vulgaris* ve *E. coli*'ye aktivite belirlenmemiştir¹²³. Çalışmamızda; *S. aureus*'a karşı 256 µg/ml MİD değerleri bulunmuş ve bu dilüsyonda bakterisit etki gözlenmiştir. Diğer tüm mikroorganizmalar için MİD: >512-512µg/ml dir.

Centella asiatica yaprakların metanollü ekstraktlarının *S. aureus* ve MRSA üzerinde etkisi olduğu görülmüştür. Ancak *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* aktivite görülmediği rapor edilmiştir¹²⁴. Araştırmamızda; *S.aureus*'a karşı 256 µg/ml konsantrasyonda bakterisit etki gözlenmiştir. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfler için MİD değeri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasındadır.

Astragalus membranaceus'un antibakteriyel aktivitesi de immunomodulator etkisi kadar güçlüdür^{125,126}. Adıgüzel ve ark.'nın¹²⁷ Türkiye'de yetişen bazı *Astragalus* türlerine ait metanol ve hekzan ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite belirlemişlerdir¹²⁷. Araştırmamızda;

Çalışılan mikroorganizmaların tamamına karşı 512 µg/ml dilüsyonda etki gösterilmiştir.

Gören ve ark.¹²⁸ tarafından yapılan Gümüşdügme (*Tanacetum parthenium*; Feverfew) ile ilgili bir araştırmada; *Tanacetum parthenium* subsp. *praeteritum*'den izole edilen 10 seskiterpen lakton ve 1 seskiterpenin antimikrobiale aktivitesini; *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*'ya Enterococcus ve beta-hemolitik Streptokoklara karşı test emişler ve çoğu örnekte dikkate değeri bir aktivite belirlememişlerdir¹²⁸. Çalışmamızda; *B. subtilis*, *S. aureus* için MİD değeri 256 µg/ml olarak bulunmuştur. *S.aureus* için MBC/MBS: 512/256 µg/ml olarak gözlenmiştir. *B.subtilis* için belirtilen değeri bakterisit etki değeri. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfleri için MİD değeri 512 µg/ml ve >512 µg/ml arasındadır.

Beta D Glucan (β-1,3-D-glucan)'ın antifungal aktivitesinin yanı sıra Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı etkinliği de bilinmektedir¹²⁹. Bartizal ve ark.'ları β-1,3-D-glucan ve diğer örneklerle birlikte *C.albicans* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı antifungal aktivitenin belirlenmesinde; *in vivo* fare deneylerinde mikrodilüsyon yöntemiyle (minumum fungisidal konsantrasyonu değeri %50) belirledikleri dozu uygulamış ve kontrol ile kıyaslandığında yüksek oranda fungisidal aktivite belirlemişlerdir¹³⁰. Araştırmamızda; 2 farklı ürünle çalışılmıştır. β-1,3-D-glucan (A), *B. subtilis*'e karşı 256 µg/ml MİD değeri vermektedir. β-1,3-D-glucan (C), *S.enteritidis* üzerinde 256 µg/ml konsantrasyonda inhibisyon yapmaktadır. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzeri küfleri için MİD değeri >512-512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Çok az sayıda olmakla birlikte Chlorella tatlı su alglerinin antimikrobiyal aktiviteleri de rapor edilmiştir. Disk difüzyon yöntemiyle *Bacillus subtilis* için zon çapı 1-4 mm olarak tespit edilmiştir¹³¹. Araştırmamızda; çalışılan bütün Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerleri için MİD değeri 512 µg/ml ve üzerinde bulunmuştur.

Cinnamomum zeylanicum, dermatofitlerin klinik izolatları üzerinde inhibisyona neden olmaktadır. *Tinea rubrum* ve *Microsporum canis* dirençli gösterilmiştir. Bakterilerle yapılan çalışmalarda mantarlar kadar olumlu sonuçlar alınamamıştır¹³². Araştırmamızda; çalışılan bütün Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerleri için MİD değerleri 512 µg/ml ve üzerinde bulunmuştur.

Soya isoflavonlarının antimikrobiyal aktiviteleri de gösterilmiş olup probiyotiklerle kombine kullanımının antimikrobiyal etkiyi artırabileceği düşünülmüştür. Genistein'in *Lactobacillus reuteri*, *Echerihcia coli*, *Shigella sonnei* *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aures*, *Bacillus anthracis*'e karşı etkileri gösterilmiştir. CFU(Colony Forming Unit) tekniğiyle yapılan çalışmada belirlenen sonuçlar yaklaşık 100 µm olarak verilmiştir¹³³. Araştırmamızda; tüm mikroorganizmalar için MİD değerleri 512 µg/ml olarak bulunmuştur.

Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*), *B. subtilis* üzerinde 256 µg/ml dilüsyonda bakterisit etki göstermiştir. *S.aures* için MİD değeri 256 µg/ml iken, MBC/MBS değeri 512/256 µg/ml bulunmuştur. Çalışılan diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerleri için MİD değerleri 512 µg/ml ve üzerinde bulunmuştur.

Psyllium(*Plantago ovata*) için araştırmamızda bulunan MİD değerleri *B.subtilis* için bakteriostatik etki değeri 256 µg/ml dir. Diğer Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerleri için 512 µg/ml dir.

Saw Palmetto (*Serenoa repens*), Valerian (*Valeriana officinalis*) ve Dong quai (*Angelica sinensis*) için araştırmamızda bulunan; MİD değerleri çalışılan tüm Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve maya ve benzerleri için 512 µg/ml ve üzerindedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda A,B ve C firmalarına ait aynı kökenli ürünlerin gerek mikroorganizma analizi gerekse MİK sonuçları, müstahzar haline getirilmiş ürünlerin, yıllardır kullanılan ve antibakteriyel etkileri de kanıtlanmış droglar kadar etkili olmadığını göstermiştir. Bu durum, ürünün ilaç formuna gelmesi sırasında karşı karşıya kaldığı muamelelerden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Kontrollerle kıyaslandığında antimikrobiyal etkilerinin kayda değer olmadığı gözlenmiştir. Bu ürünler antibakteriyel etkileri için değil diğer farmakolojik etkileri nedeniyle kullanılan ürünlerdir. Az da olsa antimikrobiyal etkiye sahip olmalarının ürünün kontaminasyonunu engellemeye yardımcı olduğunu düşündürmektedir.

63 adet bitkisel üründe *S. aureus*, *P. aureus* ve Enterobacteriaceae familyasına ait mikroorganizma ürememiştir.

Bu ürünlerde kaydettiğimiz antibakteriyel aktivite düşüşüne benzer bir etkinin farmakolojik etkileri üzerinde de gerçekleşebileceği düşünülerek farmakolojik etki çalışmaları yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Kullanım sıklığı fazla olan ve gün geçtikçe de artan bitkisel ürünlerin, sağlıksız koşullarda üretilmesi ve satışa sunulmasının; yine bu ürünlerin gıda desteği olarak değerlendirilmesi veya doğal ürün adı altında eczaneler dışında ve eczacı olmayan kişilerce pazarlanmasının halk sağlığı açısından tehdit oluşturacağı açıktır.

Bu ürünlerin kullanımının daha sıkı denetim altına alınması ve ilaç kategorisinde değerlendirilmesi gerekmektedir.

ÖZET

BİTKİSEL ÜRÜNLERDE MİKROBİYOLOJİK ANALİZ

MALÇOK Serap

Yüksek Lisans, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Berrin Özçelik

Eylül-2009, 74 Sayfa

Tamamlayıcı tedavi amacıyla kullanılan A,B,C firmalarına ait 63 adet bitkisel ürünün (Artichoke, β -1,3-D-glucan, Black cohosh, Chitosan, Devil's claw, Echinacea, Feverfew, Cranberry, Garlic, Ginkgo biloba, Ginseng, Glucosamin sulphate, Grape seed, Hawthorn Berry, Horse chestnut, Milk thistle, Pomegranate hull, Saw palmetto, Soy isoflavones, Spirulina, St.John's Worth, Tribulus, Valerian, Flexamine, Pomegranate complex, Echinacea, Cinnamon, Ginseng, Cat's claw, Rutin, Bilberry-Ginkgo, Chlorella, Green tea, Dong quai, Advanced acidophilus, Black cohosh, Advanced antioxidant, Astragalus, Chromium picolinate, St.John's Worth, All in one, β -1,3 glucan, Milk Thistle, Quercetin complex, Bilberry, Green tea complex, Milk thistle plus, Grape seed, Pomegranate, Valerian root, Psyllium seed husk, Senna, St.John's Worth, Odorless triple garlic, Saw Palmetto, Gotu kola, Milk thistle, Ginseng gold, Gymnema silvestre, Apple cider vinegar, Echinacea root, Ginkgo biloba plus ve Echinacea) MİK değerleri, Gram-pozitif bakterilere (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *S. epidermidis*, *S. griseus*, *S. pyogenes*), Gram-negatif bakterilere (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *A. baumannii*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium*, *S. dysenteriae*, *S. enteritidis*, *V. cholerae ojava*) ve maya benzeri mantarlara (*C. albicans*, *C. parapsilosis*) karşı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırıldı. Ürünlerin antimikrobiyal etkileri kontrol olarak kullanılan Ampisilin, Ofloksasin, Gentamisin, Flukonazol ve Amfoterisin B'nin etkilerine kıyasla kayda değer bulunmadı. Ürünlerin MİK değerleri ≥ 512 $\mu\text{g/ml}$ -64 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptandı.

63 ürünün mikrobiyolojik analizleri sonunda; total aerob bakteri ve maya-küf sayımlarında sadece 4 adet üründe $>10^1$ kob/ml olarak hesaplandı.

Hiçbir üründe *S.aureus*, *P.aeruginosa* ve Enterobacteriaceae familyasına ait mikroorganizma gözlenmedi.

Anahtar kelimeler: *Bitkisel ürün, Antibakteriyal aktivite, Mikrobiyal kontaminasyon*

SUMMARY

MICROBIOLOGICAL ANALYSES OF HERBAL PRODUCTS

MALÇOK Serap

MIC values of 63 herbal products (Artichoke, β -1,3-D-glucan, Black cohosh, Chitosan, Devil's claw, Echinacea, Feverfew, Cranberry, Garlic, Ginkgo biloba, Ginseng, Glucosamin sulphate, Grape seed, Hawthorn Berry, Horse chestnut, Milk thistle, Pomegranate hull, Saw palmetto, Soy isoflavones, Spirulina, St.John's Worth, Tribulus, Valerian, Flexamine, Pomegranate complex, Echinacea, Cinnamon, Ginseng, Cat's claw, Rutin, Bilberry-Ginkgo, Chlorella, Green tea, Dong quai, Advanced acidophilus, Black cohosh, Advanced antioxidant, Astragalus, Chromium picolinate, St.John's Worth, All in one, β -1,3 glucan, Milk Thistle, Quercetin complex, Bilberry, Green tea complex, Milk thistle plus, Grape seed, Pomegranate, Valerian root, Psyllium seed husk, Senna, St.John's Worth, Odorless triple garlic, Saw Palmetto, Gotu kola, Milk thistle, Ginseng gold, Gymnema silvestre, Apple cider vinegar, Echinacea root, Ginkgo biloba plus ve Echinacea) for using supplementary treatment which belongs to A, B, C firms were investigated against Gram-positive bacteria (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *S. epidermidis*, *S. griseus*, *S. pyogenes*), Gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *A. baumannii*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium*, *S. dysenteriae*, *S. enteritidis*, *V. cholerae* ojava) and yeast-like fungi (*C. albicans*, *C. parapsilosis*) by microdilution method.

The antimicrobial effects of these products were not found as remarkable as the effects of Ampicillin, Ofloksasin, Gentamicine, Fluconazole and Amphotericine B which used for control groups. MIC values of these products were found between ≥ 512 $\mu\text{g/ml}$ -64 $\mu\text{g/ml}$.

At the end of microbiological analyses of mentioned 63 products, total aerob bacteria and yeast-like fungi amount were detected as a number of $>10^1$ cfu/ml for only 4 products.

None of these products were observed belonging to *S. aureus*, *P. aeruginosa* and Enterobacteriaceae family microorganisms.

Key words: Herbal Products, Antibacterial activity, Microbial contamination

7. KAYNAKLAR

1. Durusoy Ç, Ulusal BG. Dermatolojide Bitkisel Tedavi –Fitoterapi. Türk Dermatol Derg. 2007; 1: 47-50.
2. Briskin DP. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. Amerikan Society of plant Physiologists. 2000; 124 (2): 507.
3. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:1-15.
4. World Health Organization <http://www.who.int/about/en/>
5. Raman P, Patino LC, Muraleedharan GN. Evaluation of metal and microbial contamination in botanical supplements. J Agric Food Chem 2004; 52: 7822-7827.
6. Pribitkin EA, Boger G. Herbal Therapy. Arch Facial Plast Surg; 3: 127-132, 2001.
7. Wivkramasinghe MB. Quality control, screening, toxicity, and regulation of Herbal Drugs” Modern Phytomedicine, Turning Medicinal Plants into Drugs, Ed. Ahmat, I Aquil FA, Owais, M., 25-57, Weinheim, ISBN: 3-527-31530-6, 2006.
8. <http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241546271.pdf>
9. Limyati DA, Juniar BLL. Jamu Gendong, a kind of traditional medicine in Indonesia: the microbial contamination of its raw materials and endproduct. J Ethnopharmacol 1998; 63: 201-208.

10. Tournas VH, Katsoudas E, Miracco EJ. Moulds, yeasts and aerobic plate counts in ginseng supplements. *Int J Food Microbiol* 2006; 108: 178-181.
11. Akın A. Steril olma zorunluluğu olmayan farmasötik formların mikrobiyolojik saflığını inceleme yöntemleri. *Pharmacia- JTPA* 1984; 24(51) 1: 47-52.
12. Akın A, Uçartürk N, Yıldız S. Analjezik ve Antidiabetik Tabletlerin Mikrobiyolojik Analizleri. *FABAD J Pharm Sci* 1990; 15: 239-246.
13. Bühlmann X, Gay M, Gubler HU, Hess H, Kabay A, Knüsel F, Sackman W, Schiller I, Urban S. Microbiological Quality of Pharmaceutical Preparations. *American J Pharmacy* 1972; 144: 165-186.
14. Smart R, Spooner DF. Microbiological spoilage in pharmaceuticals and cosmetics. *J Soc Cosmet Chem* 1972; 23: 721-737.
15. Nakajima K, Nonaka K, Yamamoto K, Yamaguchi N, Tani K, Nasu M. Rapid Monitoring of Microbial Contamination on Herbal Medicines by Fluorescent Staining Method. *Lett Applied Microbiol* 2005; 40: 128-132.
16. Kneifel W, Czech E, Kopp B. Microbial Contamination of Medicinal Plants – A Review. *Planta Medica* 2002; 2002; 68(1): 5-15.
17. 2 eme Rapport Commun du Commite des Laboratoires et Services Officiels de Controle des Medicaments et de la Section des Pharmaciens de L'Industrie de la FIP. *Pharm Acta Helv* 1975 ; 50: 285-292.
18. Abbasoğlu U. Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri. *FABAD J Pharm Sci* 1996 ; 22 : 111-118.
19. Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Stasi LCD, Junior AF. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(4): 387-390.

20. Gould IM. A review of the role antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chem* 1999; 43: 459-465.
21. Yun C, Rui W, Fei P, Bei-Bei L. Antibacterial Activity of Allicin Alone and in Combination with β -lactams against *Staphylococcus* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antibiot* 2007; 60(5): 335-338.
22. Molina-Salinas GM, Perez-Lopez A, Becerril-Montes P, Salazar-Aranda R, Said-Fernandez S, Waksman de Torres N. Evaluation of the flora of Northern Mexico for in vitro antimicrobial and antituberculosis activity. *J Ethnopharmacol* 2007; 109: 435-441.
23. Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi*. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:216-218.
24. Sonnante G, Pignone D, Hammer K. The Domestication of Artichoke and Cardoon: From Roman Times to the Genomic Age. *Annals of Botany* 2007; 100: 1095-1100.
25. Greenlee H, Atkinson C, Stanczyk FZ, Lampe JW. A pilot and feasibility study on the effects of Naturopathic Botanical and Dietary Interventions on sex steroid hormone metabolism in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(8): 1601-1609.
26. Chun H.K, Choi JW, Chun HJ, Choi KS. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antibacterial activity. *Polymer Bull* 1997; 38: 387-393.
27. Raafat D, von Bargen K, Haas A, Sahl HG, Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied Environ Microbiol* 2008; 74(12): 3764-3773.
28. Bostan K, Aldemir T, Aydın A. Kitosan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37 (2): 118-127.

29. Fernandes JC, Tavaría FK, Soares JC, Ramos OS, Monterio MJ. Antimicrobial effects of chitosans and chitooligosaccharides, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems. Food Microbiol 2008; (25): 922-928.
30. Nam Kyung-Soo, Shon YH. Suppression of Metastasis of Human Breast Cancer Cells by Chitosan Oligosaccharides. J Microbiol Biotechnol 2009; 19 (6): 629-633.
31. Kligler Benjamin. Black Cohosh. American Family Physician 2003; 68(1): 114-116. URL: <http://www.aafp.org/afp/20030701/114.pdf>
32. Borrelli F, Ernst E. Black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) for menopausal symptoms: A systematic review of its efficacy. Pharmacol Research 2008; 58: 8-14.
33. Büyüktuncer Z, Başaran AA. Fitoöstrojenler ve Sağlıklı yaşamdaki önemleri. Hacet Üniv Ecz Fak Derg 2005; 25(2): 79-94.
34. Weckesser S, Engel K, Simon-Haarhaus B, Wittmer A, Pelz K, Schempp. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. Phytomedicine 2007; 14: 508-516.
35. Cohen HA, Varsano I, Kahan E, Sarrell EM, Uziel Y. Effectiveness of an Herbal Preparation Containing Echinacea, Propolis, and Vitamin C in Preventing Respiratory Tract Infections in Children. Arch Pediatr Adolesc Med 2004; 158: 217-221.
36. Groppo FC, Ramacciato JC, Motta RHL, Ferraresi PM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. Int J Dent Hygiene 2007; 5: 109-115.
37. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol.2, s:266.

38. Black cohosh [online]. 2002 American Botanical Council. Excerpted from The ABC Clinical Guide to Herbs Draft 08/29/02. 178-190. Available from: URL http://cms.herbalgram.org/press/files/black_cohosh_20020729.pdf
39. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol.1, s:249.
40. Keiffer D, Pantuso T. American Family Physician 2003; 68 (8): 1539-1542.
41. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol.1, s:213.
42. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol 2, s:44.
43. Prashanth D, Asha MK, Amit A. Antibacterial activity of *Punica granatum*. Fitoterapia 2001; 72: 171-173.
44. Ballesteros E, Martin D, Uriz M.J. Biological Activity of Extracts from Some Mediterranean Macrophytes. Botanica Marina 1992; 35: 481 -485.
45. Zang JD, Cao YB, Xu Z, Sun HH, An MM, Yan L, Chen HS, Gao PH, Wang Y, Jia XM, Jiang YY. In vitro and in vivo antifungal activities of the eight steroid saponins from *Tribulus terrestris* L. With potent activity against fluconazole-resistant fungal. Biol Pharm Bull 2005; 28 (12): 2211-2215.
46. Setiawan L. *Tribulus terrestris* L. extract improves spermatozoa motility and increases the efficiency of acrosome reaction in subjects diagnosed with oligoastheno-teratozoospermia. 1996. http://www.pharmiapenis.com/pdf/tribulus_clinic_st.pdf

47. Rapport L, Lockwood B. Proanthocyanidins and Grape seed extract. The Pharmaceutical Journal 2001; 266: 581-584.
48. Beer A, Vivier M. Vv-AMP I, a ripening induced peptide from *Vitis vinifera* shows strong antifungal activity. BMC Plant Biology 2008, 8: 75.
49. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:177.
50. St.John's Wort [online]. 2002 The ABC Clinical Guide to Herbs. American Botanical Council. 303-316.
51. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3. Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s: 210.
52. *Crataegus oxycantha*. Alternative Medicine Review 1998; 3 (2): 138-139.
53. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:246.
54. Hu JN, Zhu XM, Han LK, Saito M, Sun YS, Yoshikawa M, Kimura Y, Zheng YN. Anti-obesity Effects of Escins Extracted from the Seeds of *Aesculus turbinata* BLUME (Hippocastanaceae). Chem Pharm Bull.2008; 56(1): 12-16.
55. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol2, s:164.
56. Hauber I, Hohenberg H, Holstermann B, Hunstein W, Hauber J. The main green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate counteracts semen-mediated enhancement of HIV infection. PNAS 2009; 106 (22): 9033-038.
57. Robertson IM, Li MX, Sykes BD. The solution structure of human cardiac Troponin C in complex with the Green tea polyphenol; (-)-Epigallocatechin-3-gallate. July 2009.

<http://www.jbc.org/cgi/reprint/M109.021352v1>

58. Ccahuana-Vasquez RA, Ferreira dos Santos SS, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. Braz Oral Res 2007; 21(1): 46-50.
59. Pilarski R, Poczekaj-Kostrzewska M, Ciesiolka D, Szyfter K, Gulewicz K. Antiproliferative activity of various *Uncaria tomentosa* preparations on HL-60 promyelocytic leukemia cells. Pharmacol Reports 2007; 59: 565-572.
60. Holderness J, Jackiw L, Kimmel E, Kerns H, Radke M, Hedges JF, Petrie C, McCurley P, Glee PM, Palecanda A, Jutila MA. Select plant tannins Induce IL-2R α Up-Regulation and Augment Cell Division in $\gamma\delta$ T Cells. J Immunol 2007; 179: 6468-6478.
61. Kanetkar P, Singhal R, Kamat M. *Gymnema sylvestre* : A Memoir. J Clin Biochem Nutr 2007; 41: 77-81.
62. Shane-McWhorter L. Biological Complementary Therapies: A Focus on Botanical Products in Diabetes. Diabetes Spectrum 2001; 14 (4): 199-208.
63. *Centella asiatica*, Alternative Medicine Review. 2007; 12 (1): 69-72.
64. Zheng CJ, Qin LP. Chemical Components of *Centella asiatica* and their bioactivities. J Integrative Med 2007; 5 (3): 348-351.
65. Gadahad MRK, Rao M, Rao G. Enhancement of Hippocampal CA3 Neuronal Dendritic Arborization by *Centella asiatica* (Linn) Fresh Leaf Extract Treatment in Adult Rats. J Chin Assoc. 2007; 71 (1): 6-13.
66. Tan BK, Vanitha J. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review. Current Med Chem 2004; 11: 1423-1430.
67. Mao XF, Piao XS, Lai CH, Li DF, Xing JJ, Shi BL. Effects of β -glucan obtained from the Chinese herb *Astragalus membranaceus* and

- lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal and somatotrophic responses of weaning pigs. J Anim Scien 2005; 83: 2775-2782.
68. Tiuman TS, Nakamura TU, Cortez DAG, Filho BPD, Morgado-Diaz JA, de Souza W, Nakamura CV. Antileishmanial Activity of Parthenolide, a Sesquiterpene Lactone Isolated from *Tanacetum parthenium*. Antimicrobial Agents and Chemother 2005; 49 (1):176-182.
 69. Sawistowska-Schröder ET, Kerridge D, Perry H. Echinocandin inhibition of *1,3-β-D-glucan* synthase from *Candida albicans*. Federation of European Biochem Soc 1984; 173 (1): 134-138.
 70. Lehne G, Haneberg B, Gaustad P, Johansen PW, Preus, Abrahamsen TG. Oral administration of a new soluble branched *β-1,3-D-glucan* is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. Clin Exp Immunol 2005; 143: 65-69.
 71. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol2, s:347-348.
 72. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:197.
 73. Neto AA, Haidar M, Simoes R, Simoes M, Soares-Jr J, Baracat E. Effectes of Isoflavones on the skin of postmenopausal women: A Pilot Study. Clin Scien 2009; 64(6): 505-10.
 74. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman Jr JW. Soy isoprotein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmeunopausal women. American J Clin Nutr 1998; 68(suppl): 1375S-9S.

75. Dixon RA, Summer LW. Legume Natural Products: Understanding and Manipulating Complex Pathways for Human and Animal Health. *Plant Physiology* 2003; 131: 878-885.
76. Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi*. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:217.
77. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12 (4): 564-582.
78. Zafriri D., Ofek I., Adar R., Pocino M., Sharon N. Inhibitory Activity of Cranberry Juice on Adherence of type 1 and Type P Fimbriated *Escherichia coli* to Eucaryotic Cells. *Antimicrobial Agents and Chemother* 1989; 33 (1): 92-98.
79. *Serenoa repens*, *Alternative Medicine Review*. 1998; 3 (3): 227-229.
80. Avins AL, Bent S, Stacchone S, Badua E, Padula A, Goldberg H, Neuhaus J, Hudes E, Shinohara K, Kane C. A Detailed Safety Assesment of a Saw Palmetto. *Complement Ther Med* 2008; 16 (3): 147-154.
81. Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi*. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol2, s:335.
82. Guarrera PM, Lucchesse F, Medori S. Ethnophytotherapeutical research in the high Molise region (Central-Southern Italy). *J Ethnobiol and Ethnomedicine* 2008; 4 (7): 1-11.
83. *Angelica sinensis*. *Alternative Medicine Review*. 2004; 9 (4): 429-433.
84. Kerem M, Salman B, Pasaoglu H, Bedirli A, Alper M, Katircioğlu H, Atici T, Perçin EF, Ofluoğlu E. Effects of microalgae chlorella species crude

extracts on intestinal adaptation in experimental short bowel syndrome. World J Gastroenterol 2008; 14(28): 4512-4517.

85. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:105,264.
86. *Plantago ovata*, Monograph, Alternative Medicine Review. 2002; 7 (2): 155-159.
87. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly NCCLS) National Committee for Clinical Laboratory Standards, Approved standard. NCCLS document M100-S12, NCCLS, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, 2002.
88. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly NCCLS) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Method for broth dilution antifungal susceptibility testing yeast; approved standard. M27-A, 15, 10, NCCLS, VA Medical Center, Tuscon, 1996.
89. Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. J Agric Food Chem 2004; 52(24): 7272-7278.
90. Zhong Z, Xing R, Liu S, Wang L, Cai S, Li P. Synthesis of acylthiourea derivatives of Chitosan and their antimicrobial activities *in vitro*. Carbohydr Res 2007; 343(3): 566-70.
91. Devlieghere, Vermeulen A, Debevere J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiol 2004; 21 (6): 703-714.
92. Bochardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, Kauppi KL, Fulcher RG, Ehlke NJ, Biesboer DD, Bey RF. Antimicrobial activity of native and naturalized

- plants of Minnesota and Wisconsin. J Med Plant Res 2008; 2 (5): 098-110.
93. <http://www.umm.edu/altmed/articles/echinacea-000239.htm>
94. Stanisavljevic I, Stojicevic S, Velickovic D, Veljkovic V, Lozic M. Antioxidant and antimicrobial activities of Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. Biotechnology and Bioengineering, Chinese J Chem Engineering 2009; 17(3): 478-483.
95. Groppo FC, Ramacciato JC, Motta RHL, Ferraresi PM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. Int J Dent Hygiene 2007; 5: 109-115.
96. Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Stasi LCD, Junior AF. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 2006; 101 (4): 387-390.
97. Aqil F, A Khan MS, Owais M, Ahmad I. Effect of certain bioactive plant extracts on clinical isolates of β -lactamase producing methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Basic Microbiol 2005; 45 (2): 106-114.
98. Cai Y, Wang R, Pei F, Liang B. J Antibiot 2007; 60(5):335-338.
99. Mehrabian S, Larry-Yazdy H. Antimicrobial activity of *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Allium porrum*, (Liliaceae) against Enteric Pathogens (Enterobacteriaceae). International Symposium on Transplant Production Systems.
100. Mazzanti G, Mascellino MT, Battinelli L, Coluccia D, Manganaro M, Saso L. Antimicrobial investigation of semipurified fractions of *Ginkgo biloba* leaves. J Ethnopharmacol 2000; 71: 83-88.

101. Sung WS, Lee DG. The Combination Effect of Korean Red Ginseng Saponins with Kanamycin and Cefotaxime against Methicillin-Resistant *S. aureus*. Biol Pharm Bull 2008; 31(8): 1614-1617.
102. Ammara H, Salma R, Farah D, Shahid M. Antimicrobial activity of some plant extracts having hepatoprotective effects. J Med Plants Research 2009; 3(1): 20-23.
103. Lee DG., Kim HK., Park SC., Woo ER., Jeong HG., Hahm KS. Gram positive bacteria specific properties of silybin derived from *Silybum marianum*. Archives of Pharmacal Research 2003; 26 (8): 597-600.
104. Prashanth D, Asha MK, Amit A. Antibacterial activity of *Punica granatum*. Fitoterapia 2001; 72 (2): 171-173.
105. Ballesteros E, Martin D, Uriz MJ. Biological Activity of Extracts from Some Mediterranean Macrophytes. Botanica Marina 1992; 35: 481 -485.
106. Ozdemir G, Karabay NU, Dalay MC, Pazarbasi B. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. Phytother Res 2004; 18: 754-757.
107. Zhang JD, Cao YB, Xu Z, Sun HH, An MM, Yan L, Chen HS, Gao PH, Wang Y, Jia XM, Jiang YY. In Vitro and in Vivo Antifungal Activities of the Eight Steroid Saponins from *Tribulus terrestris* L. with Potent Activity against Fluconazole-Resistant Fungal. Biol Pharm Bull 2005; 28 (12): 2211-2215.
108. Al-Bayati FA, Al-Mola HF. Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. Growing in Iraq. J Zhejiang Univ Sci B 2008; 9(2): 154-159.
109. Zhang J.D, Xu Z, Cao Y.B, Chen HS, Yan L, An MM, Gao PH, Wang Y, Jia XM, Jiang YY, Antifungal activities and action mechanisms of

- compounds from *Tribulus terrestris* L. J Ethnopharmacol 2006; 103 (1): 76-84.
110. Avato P, Bucci R, Aldo T, Vitali C, Rosato A, Bialy Z, Jurzysta M. Antimicrobial Activity of Saponins from *Medicago* sp: Structure-Activity Relationship. *Phytother Res* 2006; 20: 454-457.
111. Mandal P, Sinha Babu SP, Mandal NC. Antimicrobial activity of saponins from *Acacia auriculiformis*. *Fitoterapia* 2005; 76: 462-465.
112. Deliorman OD, Orhan N, Özçelik B, Ergun F. Biological Activities of *Vitis Vinifera* L. Leaves Tr J of Biol (In Press).
113. Kızıl G, Toker Z, Özen HÇ, Aytekin Ç. The antimicrobial activity of essential oils of *Hypericum scabrum*, *Hypericum scabroides* and *Hypericum triquetrifolium*. *Phytother Res* 2004; 18: 339-341.
114. Tanker M, Tanker N. *Farmakognozi*. 3.Baskı. Ankara: Ank Üniv Ecz Fak Yay; 2003. Vol1, s:178.
115. Benli M, Yiğit N, Geven F, Güney K, Bingöl U. Antimicrobial activity of endemic *Crataegus tanacetifolia*(Lam.) Pers and observation of the inhibition effect on bacterial cells. *Cell Biochem Funct* 2008; 26: 844-851.
116. Kıymet G, Ersin Y, Çetintaş F. Antimicrobial activities of fruits of *Crataegus* and *Pyrus* species. *Pharm Biol* 2006; 44: 79-83.
117. Fant F, Vranken WF, Borremans FAM. The three-Dimensional Solution Structure of *Aesculus hippocastanum* Antimicrobial Protein 1 determined by H Nuclear Magnetic resonance. *Proteins: Structure, Function, and Genetics* 1999; 37: 388-403.

118. Kapsuta I, Janda B, Szajwaj B, Stochmal A, Piacentre S, Pizza C, Francesschi F, Franz C, Oleszek W. Flavanoids in Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum*) seed and powdered waste water by product. J Agric Food Chem 2007; 55 (21): 8485-8490.
119. Osborn RW, De Samblanx GW, Thevissen K, Goderis I, Torrekens S, Leuven FV, Attenborough S, Rees SB, Broekaert WF. Isolation and characterisation of plant defensins from seeds of Asteraceae, Fabaceae, Hippocastanaceae and Saxifragraceae. Febs Letters 1995; 368: 257-262.
120. Akiyama, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. J Antimicrobial Chemother 2001; 48: 487-491.
121. Mbata TI, Debiao L, Saikia A. Antibacterial activity of the crude extracts of Chinese Green Tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. Int J Microbiol 2006; 2: 2.
122. Diker KS, Akan M, Hasçelik G, Yurdakol M. The bactericidal activity of tea against *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Letters Appl Microbiol 1991; 12: 34-35.
123. Stadive RK, Abhilash P, Devanand PF. Antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* leaf extract. Fitoterapia 2003; 74 (7-8):699-701.
124. Zaidan MRS, Noor Rain A, Badrul AR, Adlin A, Norazah A, Zakiah I. In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. Tropical Biomedicine 2005; 22(2): 165-170.
125. Tan BK, Vanitha J. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review. Current Medicin Chem 2004; 11: 1423-1430.

126. Mao XF, Piao XS, Lai CH, Li DF, Xing JJ, Shi BL. Effects of β -glucan obtained from the Chinese herb *Astragalus membranaceus* and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal and somatotrophic responses of weaning pigs. *J Anim Scien* 2005; 83: 2775-2782.
127. Adıgüzel A, Sökmen M, Özkan H, Açar G, Güllüce M, Şahin F. In vitro antimikrobiyal and antioksidan activities of methanol and hexane extract of *Astragalus* sp. Growing in the Eastern Anatolia Region of Turkey. *Tr J Biol* 2009; 33: 65-71.
128. Gören N, Woerdenbag HJ, Bozok-Johansson C. Cytotoxic and antibacterial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum parthenium* subsp *praeteritum*. *Planta Medica* 1996; 62: 419-422.
129. Parveen M, Hasan K, Takahashi J, Murata Y, Kitagawa E, Kodama O, Iwahashi H. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *J Antimicrobial Chemother* 2004; 54: 46-55.
130. Bartizal K, Abruzzo G, Trainor C, Krupa D, Nollstadt K, Schmatz R, Hammond M, Balkovec J, Vanmiddlesworth F. *In vitro* Antifungal activities and *in vivo* efficacies of 1,3-beta-D-glukan synthesis inhibitors L-671, 329, L-646, 991, tetrahydroechinocandin B, and L-687, 781i a papulacandin. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36 (8): 1648-1657.
131. Cannel RJP, Owsianka AM, Walker JM. Results of a Large-Scale Screening Programme to Detect Antimicrobial Activity From Freshwater Algae. *Br Phycol J* 1998; 23: 41-44.

132. Hili P, Evans CS, Veness RG. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Lett Applied Microbiol* 1997; 24: 269-275.
133. Hong H, Landauer MR, Foriska MA, Ledney GD. Antibacterial activity of the soy isoflavone genistein. *J Basic Microbiol* 2006; 46 (4): 329-335.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : MALÇOK, Serap
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 21.09.1969 Kırklareli
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 409 81 37
Fax : 0 (312) 409 81 13
e-mail : serap6606@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ankara Üniversitesi/Eczacılık	1992
Lise	Malatya Turan Emeksiz	1986

İş deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2008-Devam	Türk Eczacıları Birliği	Koordinatör
1995-2002	Malçok Eczanesi	Serbest Eczacı
1993-1994	Eczacıbaşı İlaç Pazarlama	Satış temsilcisi

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Fotoğraf, kitap, doğa belgeselleri, yüzme.