



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARAXACUM FARINOSUM HAUSSKN. ET BORNM. VE *TARAXACUM MIRABILE* WAGENITZ EKSTRAKTLARININ ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Nazife EKŞİNAR UYSAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz–2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Nazife EKŞİNAR UYSAL

Tarih: 07.07.2011

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARAXACUM FARINOSUM HAUSSKN. ET BORNM. VE *TARAXACUM MIRABILE* WAGENITZ EKSTRAKTLARININ ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Nazife EKŞİNAR UYSAL

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN

2011, VIII+ 46 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Yusuf DURAK
Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN
Yrd. Doç. Dr. M. Onur ALADAĞ

Bu çalışmada, tıbbi bitkiler olarak kullanılan *Taraxacum* cinsine ait endemik *Taraxacum farinosum* Haussk. et. Bornm. ve *Taraxacum mirabile* Wagenitz türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı. Deneylerde, bitkilerin kloroform, aseton ve metanol extraktları 25 mg/ml doz seviyesinde sekiz bakteri suşuna karşı test edildi. Her iki tür için disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon metotları uygulandı. Deneylerde pozitif kontrol olarak ticari gentamisin (10 µg/disk) ve ampisilin (10 µg/disk) diskleri ve 10 mg/ml konsantrasyondaki gentamisin solüsyonu kullanıldı. Dimetil sülfoksit:Fosfat tamponlanmış tuzlar (DMSO:PBS; 1:1) solüsyonu negatif kontrol olarak kullanıldı. Disk difüzyon yönteminde, sadece *Taraxacum mirabile*'nin kloroform ve aseton ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923'a karşı zayıf bir antibakteriyal aktiviteye (sekizer mm inhibisyon zonu ile) sahip olduğu belirlenmiş, ancak aynı etkinlik sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edilememiştir. Sonuç olarak, *Taraxacum farinosum* ve *Taraxacum mirabile* ekstraktlarının hiçbirinin test edilen bakteri suşlarına karşı potansiyel bir antibakteriyal aktiviteye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyal aktivite, disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon, *Taraxacum farinosum, Taraxacum mirabile.*

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *TARAXACUM FARINOSUM* HAUSSKN. ET BORNM. AND *TARAXACUM MIRABILE* WAGENITZ EXTRACTS

Nazife EKŞİNAR UYSAL

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOLOGY

Advisor: Asst. Prof. Dr. Rüstem DUMAN

2011, VIII+ 46 Pages

Jury
Prof. Dr. Yusuf DURAK
Asst. Prof. Dr. Rüstem DUMAN
Asst. Prof. Dr. M. Onur ALADAĞ

In this study, antimicrobial activities of endemic *Taraxacum farinosum* Hausskn. et. Bornm. and *Taraxacum mirabile* Wagenitz species belonging to genus *Tarxacum* used as medicinal plant were investigated. Chloroform, aceton and methanol extracts of plants were tested against eight bacteria strains at 25 mg/ml dose level in experiments. Disc diffusion and broth microdilution methods were performed both for two species. In experiments commercial gentamicin (10 µg/disc) and ampicillin (10 µg/disc) discs and gentamicin solution at a concentration of 10 mg/ml were used as positive control. Dimethyl sulfoxide: Phosphate Buffered Saline (DMSO:PBS; 1:1) solution were employed as negative control. In disc diffusion method it has been determined that only chloroform and aceton extracts of *Taraxacum mirabile* have a weak antibacterial activity(eight mm inhibition zone) against *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923, but the same activity couldn't be determined by broth microdilution method. As a results it has been concluded that none of the extracts of *Taraxacum farinosum* and *Taraxacum mirabile* have no potential antibacterial activity against bacteria strains tested.

Keywords: Antibacterial activity, disc diffusion, broth microdilution, *Taraxacum farinosum, Taraxacum mirabile.*

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Araştırmada, *Taraxacum* cinsine ait. *Taraxacum farinosum* Hausskn. et. Bornm. ve *Taraxacum mirabile* Wagenitz türlerinin bazı test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyal etkileri belirlenmiştir. Laboratuar çalışmaları S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuarında gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışma konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren ve sürekli desteğini gördüğüm danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN' a (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuarı'nın her türlü imkanlarını kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Yusuf DURAK' a (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), bitkilerin toplanması ve teşhislerinde yardımcı olan ve her türlü yardımını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Evren YILDIZTUGAY' a (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), bitkilerin ekstraksiyonu ve laboratuar çalışmalarım sırasında yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Onur ALADAĞ' a (S.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO), yine çalışmalarım sırasında yardımcı olan arkadaşım Sayın Arş. Gör. Erdoğan GÜNEŞ' e (S.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım sevgili eşim Sayın Arş. Gör. Ahmet UYSAL' a ve her zaman yanımda olan sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan S.Ü. Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne (BAP 10201009 nolu proje) katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Nazife EKŞİNAR UYSAL
KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **12**

3.1. Materyal 12
3.1.1. Bitki örnekleri 12
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler 14
3.1.4. Test mikroorganizmaları 14
3.2. Metot 15
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması 15
3.2.2. PBS'nin hazırlanması 16
3.2.3. TTC'nin hazırlanması 16
3.2.4. Stok Gentamisin Solüsyonunun Hazırlanması 16
3.2.5. Besiyerlerinin hazırlanması 16
3.2.6. Antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi 17
3.2.6.1. Disk difüzyon yöntemi 17
3.2.6.2. Sıvı mikrodilüsyon (broth dilüsyon) yöntemi 18

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **21**

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **36**

5.1. Sonuçlar 36
5.2. Öneriler 36

6. KAYNAKLAR **38**

7. ÖZGEÇMİŞ **46**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	:	santigrad derece
cm	:	santimetre
g	:	gram
kg	:	kilogram
lt	:	litre
mg	:	miligram
ml	:	mililitre
mm	:	milimetre
mM	:	milimolar
µg	:	mikrogram
µl	:	mikrolitre
µm	:	mikrometre
µM	:	mikromolar

Kısaltmalar

ATCC	:	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
KOB	:	Koloni Oluşturan Birim
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
RSHE	:	Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde yaklaşık 500,000 bitki türü olduğu tahmin edilmektedir (Borris, 1996). Göreceli olarak bunların çok küçük bir yüzdesi (% 1-10) hem insan hem de diğer hayvan türleri tarafından yiyecek olarak kullanılmaktadır. Daha fazlasının da ilaç olarak kullanılması olasıdır (Moerman, 1996). Tedavi maksadıyla kullanılan bitkilerin miktarı antik çağdan beri devamlı bir artış göstermektedir. Mezopotamya uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel drog miktarının 250 civarında olduğu, Grekler döneminde ise 600 kadar bitkinin tanındığı bildirilmiştir. Arap-Fars uygarlığı döneminde bu miktar 4,000 civarına kadar yükselmiştir. 19. yüzyılın başlarında ise bilinen tıbbi bitki miktarı 13,000 sayısına erişmiştir (Baytop, 1999).

Modern bilimlerin gelişmesiyle birlikte biyoloji, kimya, farmakoloji, toksikoloji gibi disiplinlerin kombine çalışmasıyla halk ilacı olarak kullanılan birçok bitkinin, yapısında bulunan doğal bileşiklerin, fitokimyasal yapıları aydınlatılmakta ve biyolojik aktiviteleri saptanabilmektedir (Baykal, 1997; Dülger ve ark., 1999; Tadeg ve ark., 2005). Ayrıca tedavi alanında son yıllarda bitkilere olan ilginin artmasıyla alternatif tedavi arayışları, enfeksiyon etkenlerine karşı antimikrobiyal etki gösteren bitki ekstraktlarının destek tedavi amacı ile kullanımının yaygınlaşması, bitkilerin daha fazla araştırılmasına neden olmuştur (Nakipoğlu ve Otan, 1992).

Tıbbi bitkilere ve onlardan elde edilen maddelere olan ilginin artmasının başlıca sebepleri şunlardır:

1. Yeterli düzeyde kimya endüstrisine sahip olmayan kalkınma yolundaki ülkeler, sahip oldukları bitkisel kaynaklardan yararlanarak kolay ve ucuz bir tedavi olanağı elde etmek istemektedirler.
2. Tedavi alanına sokulan yeni sentetik maddelerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler ancak kullanıma girdikten sonra tam olarak anlaşılmakta ve onarılması mümkün olmayan zararlara sebep olmaktadır. Buna karşılık bitkiler çok uzun zamandan beri kullanıldıkları için yan etkileri bilinmektedir.
3. Bitkisel droglardan elde edilen bazı ilaç ilkel maddeleri, sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilmektedir. Steroit bileşikler, kınakına alkoloitleri, afyon alkoloitleri, çavdar mahmuzu alkoloitleri, Atropa alkoloitleri, Digitalis glikozitleri bu yöndeki uygulamalara örnek olarak verilebilir.

4. Bitkisel drogların diğer bir üstün yanı da birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler genellikle tek bir etkiye sahiptir ve yan etkilerini önlemek amacıyla başka bir ilaca ihtiyaç duyarlar. Bitkisel droglarda böyle bir durum yoktur (Baytop, 1999; Hammer ve ark., 1999).

Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun % 60'ının sentetik ilaçları hiç kullanmadığını, 3/4'nün ise kendi geleneksel kültürlerindeki, bitkisel kaynaklı olan ilaçlara güvendiğini ve bunları kullandığını saptamıştır. Amerika'da halen ticari olarak bitkilerden ekstre edilen ilaçların % 75'i etnobotanik bilgiler sonucunda elde edilmiştir. Yine Amerika'da reçetelenmemiş ilaçların % 25'i doğal ürünler iken, % 25'i de doğal ürünlerden hareketle türevlenen maddelerden oluşmaktadır (Çubukçu ve ark., 2002).

Türkiye değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması ve üç floristik bölgenin birleştiği bir kesimde bulunması nedeniyle, bitki türü bakımından Avrupa ülkelerinden daha zengindir. Tür sayısı yaklaşık olarak 11,000 civarındadır (Güner ve ark., 2000). Türk halkı, çoğunluğunun kırsal bölgelerde yaşaması nedeniyle yabani bitkiler ile yakından ilgilidir. Halk, yabani bitkilerin bir bölümünden gıda, baharat, boyar madde veya ilaç olarak yararlanmaktadır. Anadolu'da halkın yabani bitkileri ilaç olarak kullanımı eskilere uzanır. Tıbbi bitkilerle tedavi bir kültür ve gelenek varlığına dayanmaktadır. Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmasına rağmen bunlardan yeterince yararlanılmamaktadır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994; Baytop, 1999).

Taraxacum cinsi, *Asteraceae* familyasına ait Cichorioideae alt familyasından Lactuceae tribinin bir üyesidir. Kuzey yarım kürenin sıcak bölgelerinde geniş yayılış göstermektedir. *Taraxacum* (Compositae= Asteraceae) cinsinin ülkemizdeki toplam tür sayısı 49, takson sayısı ise 54'tür. Bu çok yıllık yabani ot, antik çağlardan bu yana tedavi edici özellikleri ile disepsi, mide ekşimesi, dalak ve karaciğer şikayetlerinde, hepatit ve anoraksi gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmasıyla bilinmektedir. Bununla birlikte bu bitkinin kullanımı genel olarak deneyimlere dayanmaktadır. Yapılan bazı çalışmalar ve kimyasal yapısının ortaya konması bu cinsin tıbbi bir bitki olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Schütz ve ark., 2006).

Bu çalışmada, halk hekimliğinde kullanımları ve fitokimyasal özellikleriyle ilgili önceden herhangi bir bilgiye rastlanılmayan ve Türkiye'de endemik türlerden olan *Taraxacum farinosum* Hausskn. et Bornm. ve *Taraxacum mirabile* Wagenitz'den elde edilecek kaba ekstraktların bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türlerine karşı antibakteriyal aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle, yapılacak

olan bu çalışma, yukarıda bahsedilen iki bitki türünün antibakteriyal aktivitesi üzerine ilk araştırma olarak düşünülebilir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Mikroorganizmaların sebep oldukları çeşitli hastalıkların tedavisine yönelik olarak insanlar çok değişik yollar denemişlerdir. Bunların bir tanesini de doğal olarak yetişen ve halk arasında şifalı otlar olarak adlandırılan birçok bitkisel drogun kullanılması oluşturmaktadır. Bunlar çeşitli hastalıklara karşı eskiden olduğu gibi günümüzde de yaygın şekilde kullanılmaktadır (Ertürk ve Demirbağ, 2003; Yıldırım, 2008).

Bitkisel drogların vücutta meydana getirdiği etkilerden yapılarında taşıdıkları kimyasal bileşikler sorumludur (Başer, 1997). Droglarda selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker vs. gibi tedavi yönünden etkisiz maddeler yanında çok az miktarda bile, farmakolojik etkilere sahip bileşikler de bulunmaktadır (Baytop, 1999). Bu etken maddeler genelde çok az miktarda olup, kimyasal yapılarına göre glikozitler, alkaloitler, organik asitler, tanenler, sabit yağlar, uçucu yağlar, vitaminler vs. şeklinde sınıflandırılabilirler. Ekstraksiyon ve distilasyon işlemleriyle bu etken maddelerce zengin karışımlar elde edilebilmektedir (Başer, 1997; Yıldırım, 2008).

Taraxacum cinsine ait bitkiler uzun süredir tıbbi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin kullanılışına ilişkin ilk bilgi, bu cinsin Grekçeden köken alan inflamasyon anlamına gelen "taraxis" ve tedavi edici anlamına gelen "akeomai" kelimelerinden oluşan isminde belirtilmiştir. Tedavi amaçlı kullanımına ait ilk bulgular, 10. ve 11. yüzyıl Arap fizikçileri tarafından özellikle karaciğer ve dalak rahatsızlıklarında kullanıldığı yolundadır. 16. yüzyıldan bu yana Almanya, Batı dünyasında *Taraxacum*'un kullanımına ait en geniş kayıtları elde etmiştir. Alman fizikçi ve botanikçi Leonhard Fuchs, gut hastalığı, diyare, su toplanması, dalak ve karaciğer şikayetlerinde bu bitkinin kullanımını tanımlamıştır. Kuzey Amerikan aborijin tıbbında, bitkinin kökünden ve kendinden yapılan infüzyonlar ve dekoksiyonlar; böbrek rahatsızlıkları, disepsi ve mide ekşimesi tedavisinde kullanılmıştır (Sweeney ve ark., 2005). Ayrıca bu drog, kan temizleyici olarak düşünülmüş, geleneksel tıpta egzama ve cilt rahatsızlıklarının yanında eklem ve romatizmal hastalıkların tedavisinde de uygulanmıştır (Bisset ve ark., 1994). Tüm bitkiden hazırlanan dekoksiyon, Meksika'da geleneksel olarak Diabetes mellitus hastalığının kontrolünde kullanılmaktadır (Hernandez-Galicia ve ark., 2002). Geleneksel Türk tıbbında bu bitki, laksatif, diüretik ve kuvvetli anti diabetik olarak uygulanmaktadır (Ertaş ve ark., 2005).

Tıbbi bitkiler; sağlığın korunmasında bireysel yönden destekleyici veya sinerjik etkili rol oynayan birçok farklı kimyasal bileşik içerirler (Gurib-Fakim, 2006). Fenolik bileşikler, bitki ekstraktlarının antiinflamatuvar ve antioksidatif etkilerinden sorumlu iken, acı maddeler sindirimi teşvik edici etkileriyle bilinirler. Bu durumda dikkatler *Taraxacum* bitkisinin içeriğinde bulunan bileşiklerin farmakolojik özelliklerinin aydınlatılmasına odaklanmıştır (Schütz ve ark., 2006).

Taraxacum türlerinin tedavi edici özellikleri, kesin olarak *Compositae* familyasının tipik üyelerinde bulunan seskiterpenlerden, kısmen ise acı maddelerden kaynaklanır (Schütz ve ark., 2006).

Hänsel ve ark. (1980), *Taraxacum officinale* kökü ekstraktlarında, ödesmanolid tetrahidroridentin B ve taraksakolid-β-glukopiranozid; Kisiel ve Barszcz (2000), guaianolid 11β,13-dihidrolaktukin ve izerin D gibi bir takım seskiterpenler ve üç germakronolid esteri belirlemişlerdir. Köklerinde bulunan diğer aktif bileşikler:

- Taraksinik asit (taraksasin)
- Triterpenoid: β-amyrin, traksasterol, tarkserol, sikloarteneol
- Steroller: Sitosterin, stigmasterin, fitosterin
- Vitamin: A, B, C, D ve kolin
- Mineraller: Potasyum, kalsiyum
- Glikozitler
- Fenolik asitler: Kafeik asit, klorojenik asit
- Flavonoid: Apijenin, luteolin
- Diğer bileşikler: Şekerler, taninler, alkoloidler, pektin, nişasta, asparajin olarak belirlenmiştir (Mills, 1991; Mc Intyre, 1994; Akashi ve ark., 1994; Chevallier, 1996; Kemper, 1999).

Yukarıda bahsedilen sekonder metabolitlerin dışında, *Compositae* familyası için karakteristik karbonhidrat depo şekli olan inülin, *Taraxacum officinale* köklerinde yoğun olarak belirlenmiştir. Van den Ende ve ark. (2000) ile Wilson ve ark. (2001) yaptıkları çalışmalarında, inülin sentezinde iki enzimin görev aldığını ve bu sentezin mekanizmasını ortaya koymuşlardır. Ayrıca inülinin mevsimsel olarak değişim durumunu belirlemişlerdir.

Michalska ve Kisiel (2001; 2003), *Taraxacum bicorne* DAHLST ve *Taraxacum hondoens* NAK. et KOIDZ. köklerinde iki germakronolid, guaianolid glikozitleri, sonkusid ve vernofleksuosid izole etmişlerdir.

Son zamanlardaki çalışmalarda seskiterpen laktonları deasetilmatrikarin ve yapısal olarak yakın olan ve bu takson için daha önce görülmemiş 2-oxo-guaianolid *Taraxacum platycarpum* DAHLST, *Taraxacum obovatum* (WILLD.) DC, *Taraxacum hondoense* ve *Taraxacum bessarabicum* bitkilerinde tanımlanmıştır (Schütz ve ark., 2006). Buna ilave olarak bir taraksakosid olan asile-γ-butirolakton glikosidin *Taraxacum officinale* köklerinden izole edildiği bildirilmiştir (Rauwald ve Huang, 1985).

Leu ve ark. (2005), Tayvan'da genellikle kıyı kesimlerinde yayılış gösteren *Taraxacum formosanum* köklerinde, spektral analiz yöntemiyle iki yeni bileşik olan taraksafolid ve (+)-taraksafolid-B'yi tanımlamışlardır.

Köklerinde olduğu gibi, *Taraxacum officinale*'nin yapraklarındaki acımsı tat, iki seskiterpenden (taraksinik asit β-d-glukopiranosid ve 11,13-dihidrotaraksinik-asid β-d-glukopiranosid) kaynaklanmaktadır (Kuusi ve ark., 1985). *Traxacum officinale* yapraklarında:

- Kumarinler
- Karotenoidler: Lutein, violaksantin
- Triterpenoidler: Sikloartenol
- Vitaminler: A, B, C, D
- Mineraller: Demir, potasyum, magnezyum, sodyum, çinko, manganez, bakır, fosfor gibi maddeler belirlenmiştir (Mills, 1991; Mc Intyre, 1994; Chevallier, 1996; Kemper, 1999).

Kökleriyle kıyaslandığında yapraklar yüksek oranda polifenol içeriğiyle karakterize edilir. Yapraklarında ve çiçeklerinde en bol olarak bulunan fenolik bileşik hidroksi sinnamik asit türevleri özellikle klorojenik olan kafeik asit, dikaffeoltartarik (kikorik asit) ve monokaffeoltartarik asitleridir (Williams ve ark., 1996).

Budzianowski (1997) yaptığı çalışmada, *Taraxacum officinale* yaprak ekstraktlarında kikoriin ve aeskulin isimli kumarinleri tanımlamıştır.

Leu ve ark. (2003), beş farklı β-karboline alkaloidleri, taraksasin-A, taraksasin-B ve fenil-propanoid taraksafolini, *Taraxacum formosanum*'un toprak üstü kısımlarından izole ve karakterize etmişlerdir.

Taraxacum tıbbi olarak diüretik olarak kullanılmaktadır. Bu durum 1831-1926'ya kadar devam etmiştir. Bu durumdan yola çıkarak zayıflama ve premenstrual sendromların tedavisinde de kullanılmıştır. Aynı zamanda aterosklerozu önlemede,

kronik osteartirit durumunda ilaç olarak ve safra taşı durumlarında da tavsiye edilmiştir (Grieve, 1931; Mills, 1991; Kemper, 1999).

Ràcz-Kotilla ve ark. (1974) çalışmalarında, *Taraxacum officinale* kök ve diğer kısımlarının su ekstraktlarını, erkek ratlara vücut ağırlığı başına 50 ml/kg dozda, mide yoluyla uygulamışlardır. Sonuçlar, bitkinin diğer kısımlarının idrar söktürücü etkisinin, kök ekstraktına göre tutarlı ve güçlü bir şekilde arttığını göstermiştir.

Hook ve ark. (1993) çalışmalarında, sonbahar döneminde toplanan *Taraxacum officinale* kök ekstraktlarından saflaştırılan fraksiyonu, tuz uygulanmış ratlar üzerinde denemişlerdir. Petrol eteri ve iki metanol ekstraktı, vücut ağırlığı başına 50 ml/kg konsantrasyonda son idrar miktarında zayıf bir artışa neden olmuştur.

Taraxacum potasyum değişimine neden olmaktadır. Fakat potansiyel olarak hepatik koma ve kan dolaşımını çökertme gibi yan etkileri yoktur. *Equisetum* ve *Juniperus*'un diüretik etkilerinden daha fazla bir etkiye sahiptir (Bissett, 1994; Newall ve ark., 1996).

Grases ve ark. (1994) böbrek taşını engelleme ile ilgili çalışmalarında, *Taraxacum officinale* kökünün sulu ektraktlarının, dişi Wistar ratlar üzerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında idrar artırıcı etkisinde önemli bir fark olmadığını belirlemişlerdir.

Diüretik aktivitede olduğu gibi, *Taraxacum*'un safra salgısına etkisi ile ilgili kayıtlar sadece 1930'lar ve 1950'lerin sonlarına dayanmaktadır.

Fransız araştırmacılar, köpeklere verilen kaynamış *Taraxacum* ekstraktının safra salgısını iki katına çıkardığını bildirmişlerdir (Chabrol ve ark., 1931).

Chabrot ve Charonnat (1935), *Taraxacum*'un safra salgısını artırdığını bildirmişlerdir.

Alman araştırıcı Büssemaker (1936) bitkinin tüm kısımlarından hazırlanan alkol ekstraktını, intraduodenal yoldan ratlara uygulamış ve safra salgısının yaklaşık olarak % 40 oranında arttığını bildirmiştir. Benzer bir çalışmada Bohm (1959) bitkinin yaprağından hazırlanan alkol ekstraktını aynı yolla ratlara uygulamış ve safra salgısının kesin olarak arttığını bildirmiştir.

İnsan üzerinde yapılan çalışmalar bitkinin kök kısmının safra akışını artırdığını ortaya koymuştur. Buna bağlı olarak da karaciğerde tıkanıklık, safra kanalı inflamasyonu, hepatit ve safra taşlarının engellenebileceği bildirilmiştir (Bohm, 1959; Faber, 1958).

Taraxacum'un laksatif olarak kullanımı tamamen modern çalışmalarla değerlendirilmiştir (Tyler, 1987).

Kronik kolit rahatsızlığı olan 24 yetişkine, *Taraxacum* içeren bitkisel kombinasyonlar verildiğinde kabızlık, diare ve sindirim kramplarının hastaların % 96'sında iyileştiği görülmüştür (Chakurski ve ark., 1981).

Çin'de yapılan iki hayvan denemesinde gastrik ülser, gastrik metaplasi ve hiperplasi vakalarına sahip hayvanlarda, *Taraxacum* içeren bitkisel kombinasyonlar olumlu histolojik düzelmelere sebep olmuştur (Fang, 1991; Liu ve ark., 1992).

1938'de İtalya'da yapılan çalışmalarda anoraksi, düşük enerji ve sarılık gibi çeşitli karaciğer düzensizlikleri gözlenen 12 hasta üzerinde denemeler yapılmıştır. *Taraxacum* ekstraktı uygulanan 12 hastanın 11'inde kolesterol seviyelerinde düşme görülmüştür (Hobbs, 1989). Başka bir çalışmada *Taraxacum* ekstraktı hepatite, hepatomegali, sarılık ve safra salgı yetmezliği olan disepsi durumlarında başarılı olmuştur (Faber, 1958).

Çin'de yapılan bir araştırmada *Taraxacum* ekstraktı içeren kombinasyonlar Hepatit B ile enfekte olan 96 yetişkinin tedavisinde yardımcı olmuştur (Chen, 1990).

Taraxacum, tip 2 diyabette Avrupa'da geleneksel tedavide kullanılmaktadır. İnülin, fruktoz zincirlerinden meydana geldiğinden dolayı kan glukoz seviyesini düzenlemede tampon rolü oynayacağı önerilmiş, sonuç olarak ani ve şiddetli yükselip alçalmaları dengeleyeceği bildirilmiştir (Pizzorno ve Murray, 1999).

Yapılan bir çalışmada, bitkinin kökleri 500 mg/kg vücut ağırlığı dozunda, normal tavşanlara uygulanmış ve orta derecede hipoglisemiye neden olmuştur. Fakat deneysel olarak diyabeti uyarmamıştır (Akhtar ve ark., 1985).

İmmun uyarıcı olarak değerlendirildiği bir çalışmada *Taraxacum*, immun baskılanmış ve ikinci derecede yanık oluşmuş farelerde immun fonksiyonların ölçülmesini geliştirmiştir (Luo, 1993).

Antiinflamatuvar etkileri yönünden *Taraxacum officinale* araştırılmış ve bu özelliği çeşitli olgularda ortaya konulmuştur.

Tita ve ark. (1993) yaptıkları çalışmalarında, farelerin pençelerinde karrajen tarafından indüklenmiş ve ardından intraperitonal olarak 100 mg/kg uygulaması ile kısmi ödem gözlemlemişlerdir. Kurutulmuş *Taraxacum officinale* köklerinin % 80 etanol ekstraktı vücut ağırlığı başına100 mg/kg olacak şekilde ağız yolundan uygulanmış, % 25 oranında karrajen ile indüklenmiş pençe ödemini inhibe etmiştir.

Yasukawa ve ark. (1996), *Taraxacum officinale* ve *Taraxacum platycarpum* çiçeklerinin metanol ekstraktlarının farelerde, tetradekanolforbol-13-asetat (TPA) ile indüklenmiş kulak ödemine karşı sırası ile % 95 ve % 87 oranında inhibisyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Daha önceki çalışmalarında *Taraxacum platycarpum* kurutulmuş çiçeklerinden izole edilen uvaol isimli triterpenin, TPA ile indüklenmiş inflamasyona karşı, 0.1 mg/kulak dozunda uygulanan indometasinde görülen % 50 inhibisyona eşdeğer bir etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Kim ve ark. (2000) çalışmalarında, *Taraxacum officinale* yaprak ekstraktının, lipopolisakkarit ve *P* maddesi ile uyarılmış rat astrosit primer kültüründen, tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. 100 ve 1000 µg/ml dozlarda uygulanan ekstrakt, TNF-α üretimini interlökin-1 üretimini inhibe ederek baskılamıştır. Sonuç olarak araştırıcılar, *Taraxacum officinale* yaprak ekstraktının merkezi sinir sistemi üzerinde antiinflamatuvar etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Seo ve ark. (2005), *Taraxacum officinale* yaprağının su ekstraktının, kolesistokinin ve oktapeptid ile indüklenmiş akut pankreatitisin neden olduğu pankreatik ağırlık/vücut ağırlığı oranındaki azalmayı önleyici etkisini araştırmışlardır.

Taraxacum officinale antioksidan özellikleri yönüyle bazı araştırıcılar tarafından değerlendirilmiştir.

Hagymàsi ve ark. (2000a), *Taraxacum officinale* ekstraktının Wistar farelerinin karaciğer mikrozomal enzimleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Karaciğer mikrozomları, NADPH ve ADP-$Fe2^{+}$ varlığında inkübe edildiklerinde lipit peroksidasyona karşı aşırı duyarlıdırlar. Hem kök hem de yaprak ekstraktları, enzimatik olarak indüklenmiş lipit preoksidasyonu azaltmış ve NADPH varlığında ve yokluğunda sitokrom c'yi indirgemiştir. Araştırıcılar bir diğer çalışmalarında, bitkinin liyofilize edilmiş kök ve yaprak ekstraktlarının; hidrojen verme yeteneği, indirgeyici güç özelliği, radikal süpürme kapasitesini ortaya koymuşlardır. Yüksek polifenol içeriğinden dolayı yaprak ekstraktı, kök ekstraktı ile kıyaslandığında hidrojen vericiliği, hidrojen peroksit süpürme kapasitesi ve indirgeyicilik yönünden daha etkili bulunmuştur (Hagymàsi ve ark., 2000b).

Popovic ve ark. (2001), *Taraxacum officinale* bitkisinin çeşitli ekstraktlarını antioksidan/prooksidan aktiviteleri yönünden değerlendirmişlerdir. Bitkinin kök, gövde, yaprak ve çiçek ekstraktları hem CCl_4 veya fullerenol ile kombine edilmiş hem de tek başlarına, Fe^{2+} ve askorbik asit ile indüklenmiş lipozomal lipit peroksidasyon yönünden incelenmiştir. CCl_4 ile kombine edilmiş çiçek etil asetat ekstraktı, hem tek hem CCl_4 ile

kombine edilmiş gövde su ve kloroform ekstraktı ve hem CCl_4 ile kombine edilmiş hem de edilmemiş kök su ekstraktı hariç geri kalan ekstraktlarda antioksidan aktivite gözlenmiştir. Fullerenol, bütün kombine edilen ekstraktlarda antioksidan aktivite göstermiştir.

Hu ve Kitts (2003) çalışmalarında, bitkinin çiçek ekstraktının özellikle de etil asetat fraksiyonunun, reaktif oksijen türlerini (ROS) süpürdüğünü ve in vitro olarak DNA'yı ROS indüklenmiş zarardan koruduğunu ortaya koymuşlardır. Oksidatif stresin engellenme nedeni olarak luteolin ve luteolin 7-*O*-glukozidi göstermişlerdir.

Başka bir çalışmada Kaurinovic ve ark. (2003), hidroksil radikalleri üretiminin en etkili inhibisyonunun, *Taraxacum officinale* çiçek etil asetat ve su ekstraktları ile kök su ekstraktı tarafından gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Belirgin bir inhibitör etki yaprak ekstraktlarında da gözlenmiştir.

Takasaki ve ark. (1999a), *Taraxacum japonicum* kök su ekstraktının farelerde, farklı tipte öncü maddeler ile indüklenen iki kademeli karsinojenez olan cilt kanserine karşı başlama ve artış dönemlerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu bulgulardan yola çıkarak *Taraxacum japonicum*'dan izole edilen 11 triterpenoid in vivo olarak araştırılmıştır. İlerleyen bu iki kademeli testte, taraksasterol ve tarakserol fare cilt tümörü karsinojenezinde güçlü bir inhibe edici etki göstermiştir. İlaveten taraksasterol 100 ml içme suyunda 2.5 mg konsantrasyonda ağız yoluyla verildiği durumda kendiliğinden oluşan meme tümörüne karşı fark edilir derecede inhibe edici etki göstermiştir (Takasaki ve ark., 1999b).

Taraxacum coreanum NAKAI'dan izole edilen taraksinik asit (taraksasinik asit-1-*O*-β-D glukopiranosit'den türevlenen) kanser hücrelerine karşı anti kanser etkisi yönüyle araştırılmış ve 34.5–135.9 μM konsantrasyonlarda, HL-60 hücrelerinden türevlenen insan lösemisi üzerine önemli derecede sitotoksitite gösterdiği bildirilmiştir (Choi ve ark., 2002).

Bunun aksine Ko ve ark. (2004), *Taraxacum mongolicum*'un liyofilize etanol ekstraktının, insan AGS gastrik kanser hücrelerinin, hücresel büyümeleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Ho ve ark. (1998), *Taraxacum platycarpum* DAHLST'dan izole ettikleri desasetilmatrikarini anti alerjik aktivite yönünden araştırmışlardır. Bu çalışma mast hücrelerinin immunolojik olarak uyarılması sonucu histamin salınmasıyla birlikte meydana gelen, fare bazofilik lösemi hücrelerinden (RBL-2H3) β-heksozaminidaz salınımının ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir. Doza bağlı olarak RBL-2H3 hücrelerinden

β-heksozaminidaz açığa çıkışı, desasetilmatrikarin tarafından önemli oranda inhibe edilmiştir.

Hussain ve ark. (2004), in vitro olarak kuru *Taraxacum officinale* etanol ekstraktını 1-40 µg/ml arası konsantrasyonlarda, INS-1 hücrelerinden 5.5 mM glukoz varlığında insülin salgılanmasına etkisi ile ilgili test etmişlerdir. 40 µg/ml dozda ekstraktın insülin salgısını artırıcı etkisinin olabileceği görüşüne varmışlardır.

Petlevski ve ark. (2001) yaptıkları çalışmalarında, içeriğinde % 9.7 *Taraxacum officinale* kökü bulunan bitkisel preparatın anti hiperglisemik etkisini araştırmışlardır. % 60 etanol içerisinde ekstrakte edilen bitkisel preparat 28 gün maserasyonun ardından filtre edilerek çözücüsü uçurulmuş ve daha sonra liyofilize edilerek kurutulmuştur. Preparat, alloksan ile indüklenen non-obez diabetik (NOD) farelere 20 mg/kg konsantrasyonda uygulanmış ve preparat glukoz ve fruktozamin seviyelerinde önemli derecede azalmaya neden olmuştur.

Trojanová ve ark. (2004), *Taraxacum officinale* kök su ekstraktının, 14 farklı *Bifidobacterium* suşunun gelişimini uyarıcı etkisini araştırmışlardır. Bitki kök ekstraktı bulunan ortamda altı suşun (*B. adolescentis* 1 ve 2, *B. bifidum* 1, *B. catenulatum*, *B. longum* 2) gelişimi ilerlemiş buna rağmen sadece iki suş kontrolle kıyaslandığında daha zayıf yoğunlukta bir gelişim göstermiştir. Geri kalan altı suş her iki besiyerinde eşit üreme göstermiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası karbonhidratlar araştırıldığında bitkide bulunan oligofruktanın % 1-48 oranında kullanıldığı belirlenmiştir.

Bonjar (2004), tıbbi kullanımı bulunan bazı bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleriyle ilgili çalışmasında, *Taraxacum vulgare*'nin birkaç mikroorganizmaya karşı gelişimini engelleyici bir potansiyele sahip olduğunu tespit etmiştir.

Taraxacum'un gövde ve yapraklarından elde edilen ekstraktı ile çiçeklerinden elde edilen ekstraktının karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir çalışmada Barbour ve ark. (2004), karışım halindeki preparatın bazı bakteriler üzerine inhibe edici özelliğinin olduğunu tespit etmiştir.

Kırbağ (2006), *Taraxacum revertens*'in antimikrobiyal potansiyele sahip olmadığını ortaya koymuştur.

Kang ve ark. (2008), çeşitli çözücülerde hazırlanmış *T. platycarpum* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

T. officinale'nin çeşitli ekstraktları, bazı araştırıcılar tarafından antibakteriyal aktivite yönünden değerlendirilmiştir (Şengül ve ark., 2009; Zaouia ve ark., 2010; Voss-Rech ve ark., 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki örnekleri

Araştırmada kullanılan bitki örneklerinden *Taraxacum farinosum* Hausskn. et. Bornm. Konya ili, Cihanbeyli ilçesi, Tersakan Gölü mevkiinin batı kesimlerinden; *Taraxacum mirabile* Wagenitz Aksaray ili, Eskil ilçesi kuzey kesimi, Küngönü mevkiinden 08.08.2010 tarihinde, bitkilerin çiçekli döneminde toplanmıştır. Bitkilerin teşhisi Arş. Gör. Dr. Evren YILDIZTUGAY (S. Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) tarafından yapılmıştır.

Taraxacum mirabile Wagenitz**:** Bitki 3-5 cm uzunluğunda, taban kısmı yoğun tüylerle kaplıdır. Yapraklar etli, tüysüz, dar spatula şeklinde, uç kısmı üçgen şeklinde, kenar kısımları dentat değil veya küçük dişler bulunmaktadır. Skaposlar tüylüdür. İnvolukrum silindirik şekilde, dıştaki fillariler kısa ve neredeyse basıktır. Çiçekler az sayıda, beyaz renktedir. Akenler 5-5.5 mm, soluk kahverengi renkte, yüzeyi ± kırışık (rugose) değil; gaga neredeyse yoktur; pappuslar 5-6 mm uzunluğundadır (Şekil 3.1). Çiçeklenme dönemi Temmuz–Ağustos ayları arasındadır. Bitkinin yayılış gösterdiği alanlar tuzlu step bölgeler şeklindedir (Davis, 1975).

Taraxacum farinosum Hausskn. & Bornm.: Yapraklar kalın, sert, gri renkte ve loplu; yan loplar obtus, hafifçe dentat, nadiren yapraklar obovat, kenarları düze yakın ve spinulos-dentat şekildedir. Skaposlar yoğun araknoid tüylüdür. İnvolukrum uzunluğu 12 mm'e kadar; dış fillariler solgun kırmızı renkte, pruinose, imbrikat şekildedir. Liguller solgun sarı renkte, dış kısımları kırmızı renktedir; stigmalar sarı renktedir. Akenler gri, tamamıyla kırışık (rugose), oldukça sert, kısa, 5 mm uzunluğunda gaga mevcut; pappus beyaz renkte ve 6 mm uzunluğundadır (Şekil 3.2). Çiçeklenme dönemi (Haziran-), Ağustos–Eylül ayları arasındadır. Bitkinin yayılış gösterdiği alanlar tuzlu bataklıklar ve tuzlu stepler şeklindedir (Davis, 1975).



Şekil 3.1. *Taraxacum mirabile* Wagenitz'nin genel görünümü (Foto: E. YILDIZTUGAY)



Şekil 3.2. *Taraxacum farinosum* Hausskn. & Bornm.'un genel görünümü (Foto: E. YILDIZTUGAY)

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Bitki ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan kloroform, aseton, metanol ve dimetil sülfoksit çözücüleri ile bakteri kültürlerinin hazırlanmasında ve antimikrobiyal aktivite değerlendirme çalışmalarında kullanılan Mueller-Hinton Broth ve Mueller-Hinton Agar besiyerleri ticari olarak Merck (Darmstadt, Germany)'den temin edildi. Ekstraktların antibakteriyal aktivitelerinin araştırıldığı deneylerde kontrol amacıyla kullanılan gentamisin (Genta) ticari olarak eczaneden, ekstraktların ve kontrol antibiyotiğinin sulandırmalarının hazırlanmasında kullanılan Phosphate Buffered Saline (PBS) tabletleri ile bakterilerin canlılığını belirlemek için kullanılan 2,3,5-Trifeniltetrazolyum klorid (TTC) ticari olarak Sigma-Aldrich (Chemie GmBH, Germany) firmasından temin edildi. Disk difüzyon yönteminde kullanılan standart antibiyotik diskleri ampisilin ve gentamisin Oxoid (Unipath Ltd, Basingstoke Hampshire, England)'den temin edilmiştir.

Kullanılan çözücülerin özellikleri; Kloroform ($CHCl_3$, donma noktası -63.7 °C, kaynama noktası 61.7 °C), Aseton (C_3H_6O, donma noktası -94.3 °C, kaynama noktası 56.2 °C), Metanol (CH_3OH, donma noktası -98 °C, kaynama noktası 64.6 °C), Dimetil sülfoksit (DMSO) [$(CH_3)_2SO$, donma noktası -20 °C, kaynama noktası 189 °C] olarak bildirilmiştir (Uyar 1992).

3.1.4. Test mikroorganizmaları

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için yapılan deneylerde insan, hayvan ve gıdalarda patojen olan mikroorganizmalar seçilmiştir. Çalışmada, *Escherichia coli* ATCC 25922, Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Streptococcus salivarius* RSHE 606, *Proteus mirabilis* ATCC 43071, *Listeria monocytogenes* Tip 2 Pasteur Enstitüsü 5434, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063 olmak üzere sekiz adet standart bakteri suşu kullanılmıştır. Bu suşlar Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Araziden toplanan bitkiler temizlenerek gölgede kurutuldu. Gölgede kurutulan bitki örneklerinin toprak üstü ve altı kısımları (kök, yaprak, çiçek) mekanik bir öğütücünün yardımıyla öğütüldükten sonra ekstraksiyon işlemi soxhlet cihazında (Termal) yapıldı (Şekil 3.3). Toz halindeki örnekler (20 g), 250 ml kloroform çözgeninin kullanıldığı soxhlet cihazında 50 °C'de 8 saat süreyle ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Ekstraksiyon fazının eldesinden sonra, örneklerin kurutulmasını takiben diğer çözgenlerle (aseton ve metanol) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen ekstraktlar Whatman No:1 filtre kağıdından geçirilerek filtre edildi ve daha sonra da indirgenmiş basınç altında 35 °C'de rotary evaporatörde (Şekil 3.4) evapore edildi (5-10 ml hacime kadar). Ardından bu ekstraktlar liyofilizatör (Edwards Modulyo 4K Freezer) cihazında liyofilize edildi (Kaufman ve ark., 1995). Bu işlemin ardından küçük porsiyonlar halinde -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Ekstraktlar antimikrobiyal aktiviteleri yönünden teste tabi tutulacağı zaman, disk difüzyon metodunda kullanmak üzere her ekstre kendi çözücüsü içerisinde 25 mg/ml bir konsantrasyonda; sıvı mikrodilüsyon metodunda kullanılmak üzere ise 25 mg/ml konsantrasyonda DMSO:PBS (1:1) içinde çözüldü ve 0.45 µm'lik milipor filtrelerden geçirildikten sonra üzerinde ekstrakt numarası yazılı tüplerde küçük hacimlere bölünerek +4 ºC'de saklandı (Buruk, 2002).



Şekil 3.3. Soxhlet cihazında ekstraksiyon



Şekil 3.4. Rotary evaporatör

3.2.2. PBS'nin hazırlanması

Ticari olarak Sigma'dan elde edilen PBS (Dulbecco's A) tabletleri 200 ml için 1 tablet olmak üzere distile suda çözüldükten sonra istenilen hacimlerde şişelere bölündü. Daha sonra da otoklavda 121 ºC'de, 1 atmosfer basınç altında, 15 dakika tutularak steril edildi. Kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra oda ısısında saklandı.

3.2.3. TTC'nin hazırlanması

Toz halindeki TTC' nin 0.5 g' ı 100 ml PBS (0.1 M, pH: 7.3) içinde çözülerek % 0.5'lik solüsyonu hazırlandıktan sonra, milipor filtreden (0.45 µm) geçirelerek steril edildi ve küçük porsiyonlar halinde tüplere taksim edilerek (5'er ml) +4 ºC'de karanlıkta saklandı.

3.2.4. Stok Gentamisin Solüsyonunun Hazırlanması

Ekstraktların antibakteriyal aktivitelerinin araştırıldığı deneylerde kontrol amacıyla kullanılan ticari preparat halindeki gentamisin'in PBS ile 10 mg/ml konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlandıktan sonra, küçük hacimlerde tüplere bölünerek -20 ºC'de saklandı.

3.2.5. Besiyerlerinin hazırlanması

Antibakteriyal aktivitenin değerlendirilmesine yönelik olarak uygulanan disk difüzyon metodunda Mueller-Hinton agar, mikrobroth dilüsyon metodunda ise Mueller-Hinton broth besiyeri kullanılmıştır. Ayrıca test mikroorganizmalarının gecelik taze kültürlerini hazırlamak amacı ile Brain Heart Infusion Broth besiyeri kullanılmıştır.

Brain Heart Infüzyon Broth (BHIB) besiyeri 37 g/lt olacak şekilde distile su içerisinde homojen biçimde çözüldükten sonra, vidalı kapaklı tüplere 10'ar ml olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 121 °C'de 15 dk süreyle steril edilmiştir. Mueller Hinton Broth besiyeri (21 g/lt) distile suda çözüldükten sonra, deney tüplerine 10'ar ml olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Disk difüzyon yöntemi antibakteriyal aktivite denemelerinde kullanılmak üzere Mueller Hinton Agar besiyeri 34 g/lt olacak şekilde distile suda çözülmüş ve 100 °C'de yaklaşık 1 saat kadar ısıtıldıktan sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika tutularak steril edilmiştir. Eritilmiş besiyeri yaklaşık 45 °C civarında iken 12 cm çaplı steril cam petri kutularına kalınlığı 4 mm olacak şekilde (yaklaşık 30 ml) dağıtılmış ve katılaşmaya bırakılmıştır.

3.2.6. Antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların antibakteriyal aktivitelerini belirlemek için bazı modifikasyonlar uygulanarak Sökmen ve ark. (1999) tarafından bildirilen disk difüzyon yöntemi ve Abbasoğlu ve ark. (1995)'nın bildirdiği sıvı mikrodilüsyon (broth microdilution) yöntemleri kullanılmıştır.

3.2.6.1. Disk difüzyon yöntemi

Liyofilize haldeki kültürler öncelikli olarak derin dondurucudan çıkarıldı. Steril BHIB içerisine suşlar inoküle edildi. 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilerek canlandırıldı. İnkübasyondan sonra, taze gecelik kültürlerden MHB besiyeri içerisine belirli miktar aktarıldı. Bakteriyel süspansiyon, kültürlerin yoğunluğu Mc Farland standart bulanıklık derecesine göre 0.5 olacak şekilde (yaklaşık olarak 10^8 kob/ml) Densimat (Biosan) dansitometre cihazında ayarlanarak hazırlandı.

Bakteriyel süspansiyon hazırlandıktan sonra, 10^8 kob/ml bakteri içeren kültür süspansiyonlarından 100 µl alınarak besiyerlerinin üzerine yayıldı. Besiyerlerinin yüzeyinin kuruması için petri kutuları etüvde 5 dk süreyle bekletildi. Her ekstraktın kendi çözücüsü içinde 25 mg/ml olacak şekilde önceden hazırlanmış ve filtrasyonla steril edilmiş solüsyonları, ticari olarak elde edilen 6 mm çapındaki steril boş antibiyotik disklerine (Oxoid, Schleicher & Shüll No: 2668, Germany) 20'şer µl olacak şekilde emdirildi. Daha sonra besiyerinin yüzeyine belirli aralıklarla yerleştirildi. Pozitif kontrol olarak ampisilin (10 µg/disk) ve gentamisin (10 µg/disk) ticari diskleri, negatif kontrol olarak ekstrakt içermeyen çözücücüler (kloroform, aseton, metanol) kullanıldı. Petriler 37 °C'de 18 saat inkübe edildikten sonra, oluşan inhibisyon zonlarının çapı ölçülerek kaydedildi. Test üç tekrarlı yapıldı.

3.2.6.2. Sıvı mikrodilüsyon (broth dilüsyon) yöntemi

Broth mikrodilüsyon metodunun, çok sayıda test örneğinin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)'unun belirlenmesinde potansiyel olarak faydalı bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Mikrobiyolojide MİK, bir gecelik inkübasyondan sonra mikroorganizmaların gözle görülebilir üremesini inhibe edecek olan antimikrobiyal maddelerin en düşük konsantrasyonudur. MİK, teşhise yönelik laboratuarlarda antimikrobiyal bir etkene karşı mikroorganizmaların direncini tespit etmede olduğu kadar, yeni antimikrobiyal etkenin aktivitesini ölçmek için de önemlidir (Dask ve ark., 2010). Mikrotitre plak metodunda, ilk önce solvent (Grierson ve Afolayan, 1999) veya DMSO (Salie ve ark., 1996; Nostro ve ark., 2000; Baris ve ark., 2006) kullanarak ekstraktın stok solüsyonu elde edilir. Pleyte stok solüsyonun eşit bir miktarını aktarmadan önce mikrotitrasyon pleytinin gözlerinde sulandırıcı olarak sıklıkla Mueller Hinton broth veya su kullanılmaktadır. Konsantrasyon aralığı elde etmek için ilk kuyucuktan başlayan iki misli seri dilüsyonlar hazırlanır. MİK-5-8 konsantrasyonu, kullanılan antimikrobiyaller için gerçekleştirilebilir konsantrasyonları temsil edebilmektedir (Mendoza, 1998). Bu prosedür için inokulum hacmi genellikle 5 x 10^5 kob/ml'dir (Lourens ve ark., 2004; Basri ve Fan, 2005). Bazı araştırıcılar 620 nm'de 0.4 optik dansisitesi olan mikrobiyal kültür ya da 0.5 McFarland bulanıklık standardıyla ayarlanmış 12 saatlik broth kültürü kullanmışlardır (Baris ve ark., 2006). Mikrobiyal kültür eşit bir hacimde kuyucuklara konulur ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilir (Lourens ve ark., 2004). İnkübasyondan sonra, pleytler üremenin göstergesi olarak bulanıklıktaki değişiklikler yönünden incelenirler. Berrak gözüken ilk kuyucuk, ekstraktın MİK'i olarak kabul edilir. Bazı araştırıcılar üremenin varlığını belirlemek için tetrazolium tuzları veya resazurin boyası (Umeh ve ark., 2005) ya da spektrofotometri (Devienne ve Raddi, 2002; Matsumoto ve ark., 2001) kullanmışlardır. Spektrofotometrik yöntemde 620 nm dalga boyundaki absorbans değeri dikkate alınır (Salie ve ark., 1996). Absorbans değerinde ani düşüş gösteren konsantrasyon (Devienne ve Raddi, 2002) ya da sıfır absorbans değeri veren en düşük konsantrasyon, bitki ekstraktının veya test fitokimyasalının MİK'idir (Salie ve ark., 1996).

Antimikrobiyal testler için, 96 adet "U" tipi kuyucuklara sahip, steril mikrotitrasyon pleyti (Brand) kullanıldı. Hazırlanan Muleller Hinton Broth (MHB)

besiyerinden 96 kuyucuklu pleytlerin her bir kuyucuğuna 100'er µl dağıtıldıktan sonra, PBS:DMSO (1:1) ile 25 mg/ml konsantrasyonlarında sulandırılan ekstraktlardan pleytlerin ilk kuyucuklarına 100'er µl konuldu. Sekiz kanallı pipet ile ilk kuyucuklardan 100'er µl'lik hacimler alınarak bir sonraki kuyucuklara taşımak suretiyle ekstraktların Log_2 tabanına göre sulandırımları (12.5 mg/ml - 12.2 µg/ml) hazırlandı. Pleytin son kuyucuğuna besiyeri kontrol amacıyla herhangi bir ekstrakt veya kültür konulmadı. (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Ekstraktın seyreltilmesi

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
100 µl MHB + 100 µl ekstre	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB + 100 µl	100 µl MHB Besiyeri kontrol

MHB: Mueller-Hinton Broth

McFarland 0.5 bulanıklığındaki bakteri süspansiyonundan steril serum fizyolojik ile 10^{-2} sulandırım yapılarak ml'sinde 10^6 bakteri olan süspansiyon hazırlandı ve bu süspansiyonlardan her kuyucuğa 100'er µl aktarılarak ekstraktların 6.25 mg/ml ile 6.1 µg/ml konsantrasyonları arası sulandırımları elde edildi (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Bakteri süspansiyonunun ilavesi

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100 µl MHB +E + 100 µl bakteri	100µl MHB

MHB : Mueller Hinton Broth
E : Ekstrakt

Bu çalışmaya paralel olarak farklı pleytlerde negatif kontrol (DMSO:PBS), kontrol antibiyotiği gentamisin ve bakterilerin pozitif üremeleri test edildi. Gentamisinin 10 mg/ml konsantrasyonundaki çözeltisinden, ekstrakt ilavesinde olduğu gibi ilk kuyucuklara 100 µl ilave edilerek, 1-12. kuyucuklar arasında 2.5 mg/ml-1.22 µg/ml konsantrasyonlarda sulandırımları yapıldı.

Bu işlemlerden sonra pleytlerin kapakları kapatılarak 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı, inkübasyon süresi sonunda renklenme için kuyucuklara 20 µl aköz (sulu) 2,3,5-trifeniltetrazolyum klorid (% 0.5) eklenerek 37 °C'de 30 dakika daha inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda pleytlerdeki üreme kontrol edilerek,

gözle görülebilen bir üremenin olmadığı (renklenmeyen alanlar), dolayısıyla üremenin inhibe olduğu en düşük ekstrakt konsantrasyonu MİK olarak değerlendirildi (Sette ve ark., 2006; Morales ve ark., 2008).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Taraxacum farinosum Hausskn. et Bornm. ve *Taraxacum mirabile* Wagenitz'den elde edilen kloroform, aseton ve metanol ekstraktlarının antibakteriyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon metodları kullanılmıştır.

Rutin laboratuarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık kullanılan yöntem disk difüzyon yöntemidir. Ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem Kirby-Bauer tarafından geliştirilmiştir ve bu isimlerle de anılmaktadır. Bu test, kağıt disklere emdirilen antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu yöntem aynı amaçla; belli miktarlarda ekstraktların veya kimyasal maddelerin, test edilecek olan mikroorganizmalara karşı etkisini test etmek amacıyla da kullanılmaktadır. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ekstraktın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan ekstrakta ya da antibiyotiğe karşı duyarlılık durumu belirlenir (Demirpek, 2011).

Çalışmamızda kullanılan *Taraxacum farinosum* ve *Taraxacum mirabile* bitkilerine ait çeşitli ekstraktların disk difüzyon yönteminde, test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyal etkileri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

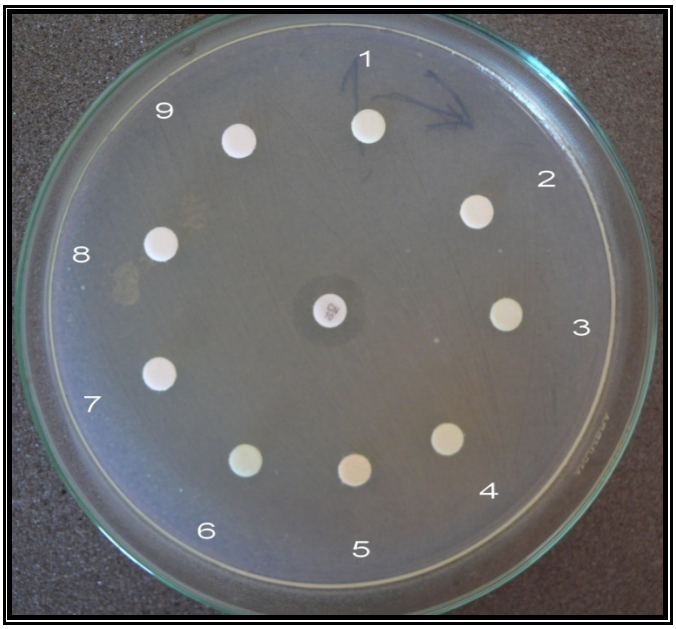
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktlarının antibakteriyal etkileri

Bitki ekstraktları / Test bakterileri	İnhibisyhon zonları (mm)										
	T. farinosum			*T. mirabile*							
	Kloroform	Aseton	Metanol	Kloroform	Aseton	Metanol	Gentamisin	Ampisilin	Kloroform (N. K.)	Aseton (N. K.)	Metanol (N. K.)
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	14		-	-	-
Staphylococcus aureus (MSSA) ATCC 25923	-	-	-	8	8	-		22	-	-	-
Bacillus cereus ATCC 11778	-	-	-	-	-	-		21	-	-	-
Streptococcus salivarius RSHE 606	-	-	-	-	-	-	13		-	-	-
Proteus mirabilis ATCC 43071	-	-	-	-	-	-		16	-	-	-
Listeria monocytogenes Tip 2 Past. Enst. 5434	-	-	-	-	-	-	14		-	-	-
Enterococcus faecalis ATCC 29212	-	-	-	-	-	-		22	-	-	-
Klebsiella pneumoniae ATCC 70063	-	-	-	-	-	-	13		-	-	-

(-) : İnhibisyon yok
N. K. : Negatif kontrol

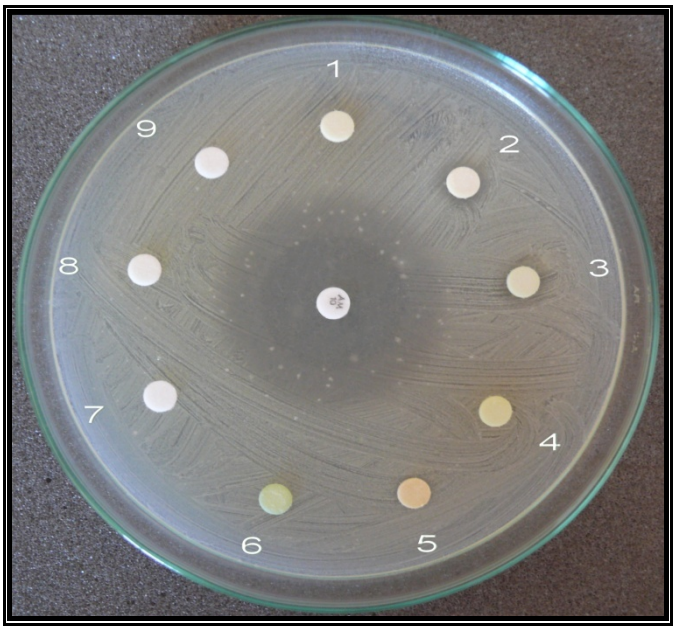
Test plakları incelendiğinde, *Taraxacum farinosum* ekstraktlarının, çalışmada kullanılan sekiz suş üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığı belirlenmiştir. Çalışmada çözücü olarak kullanılan, steril boş disklere 20'şer µl hacimlerde emdirilmiş kloroform, aseton ve metanol çözücülerinin test edilen bakterilere karşı herhangi bir inhibitör etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin (10 µg/disk) ve ampisilin (10 µg/disk) ticari diskleri ise, suşlar üzerinde değişen zon çaplarında antibakteriyal aktivite göstermişlerdir.

Taraxacum mirabile bitkisinin de, aseton ve kloroform ekstraktlarının metisiline duyarlı *S. aureus* üzerinde oluşturduğu 8 mm inhibisyon zonu dışında, test edilen bakteri suşlarına karşı antibakteriyal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan *Taraxacum mirabile*'in aseton ve kloroform ekstraktlarının metisilin duyarlı *S. aureus* suşuna karşı tespit edilen antibakteriyal aktivitesi de, disklerin 6 mm'lik çapları ve kontrol olarak kullanılan antibiyotik disklerinin oluşturduğu inhibisyon zonları dikkate alındığında, oldukça zayıf antibakteriyal aktivite olarak değerlendirilebilir. Her iki bitkinin farklı ekstraktlarının deneme plakları Şekil 4.1-4.8'de verilmiştir.



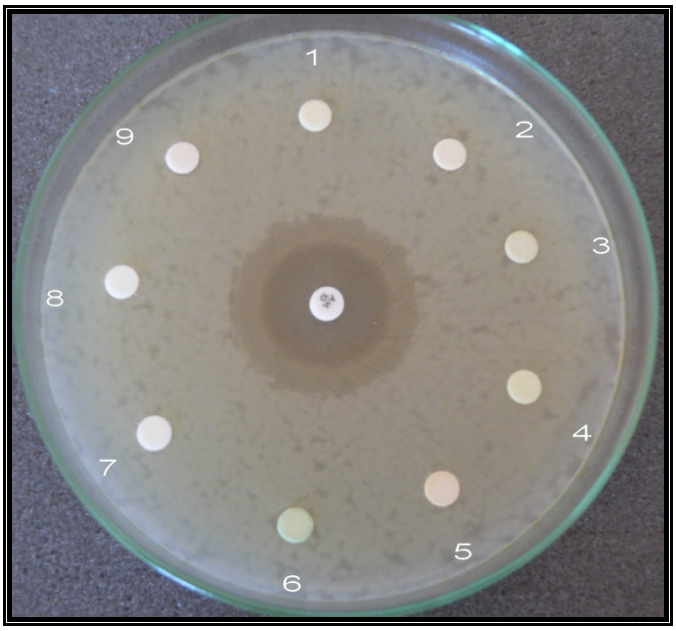
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
CN: Gentamisin

Şekil 4.1. Bitki ekstraktlarının *E. coli* ATCC 25922 üzerine antibakteriyal etkisi



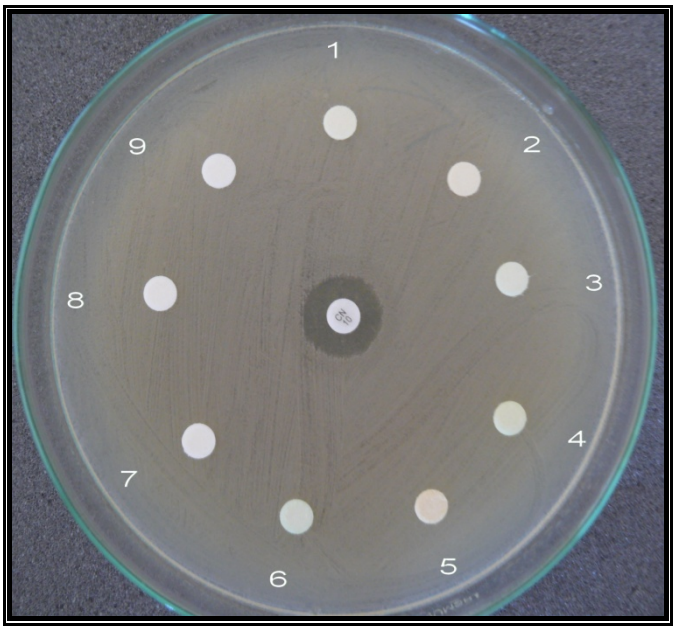
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
AM: Ampisilin

Şekil 4.2. Bitki ekstraktlarının *S. aureus* (MSSA) ATCC 25923 üzerine antibakteriyal etkisi



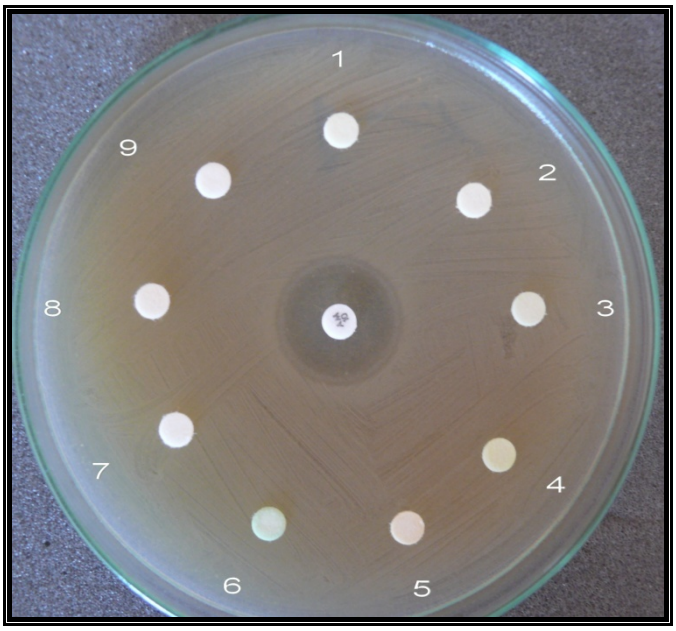
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
AM: Ampisilin

Şekil 4.3. Bitki ekstraktlarının *B. cereus* ATCC 11778 üzerine antibakteriyal etkisi



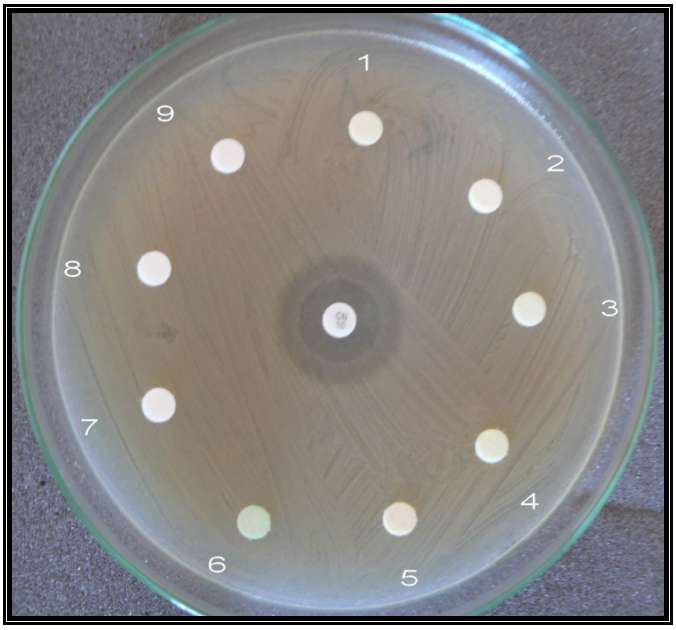
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
CN: Gentamisin

Şekil 4.4. Bitki ekstraktlarının *Str. salivarius* RSHE 606 üzerine antibakteriyal etkisi



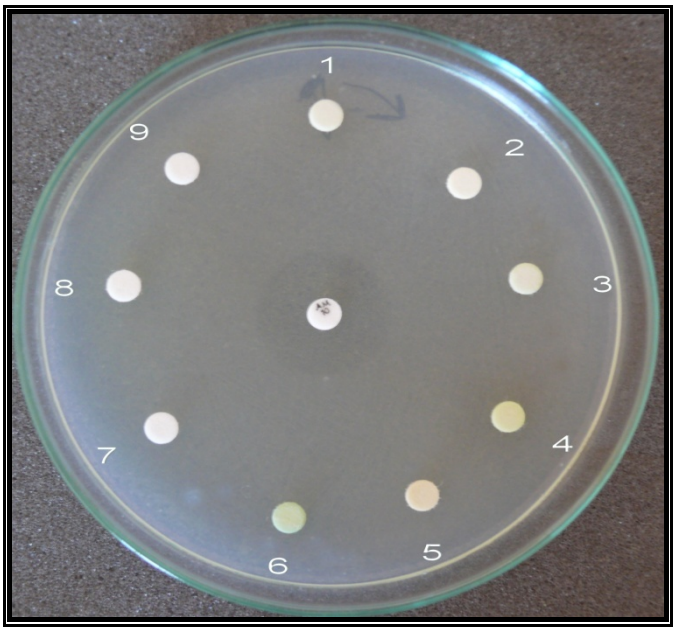
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
AM: Ampisilin

Şekil 4.5. Bitki ekstraktlarının *P. mirabilis* ATCC 43071 üzerine antibakteriyal etkisi



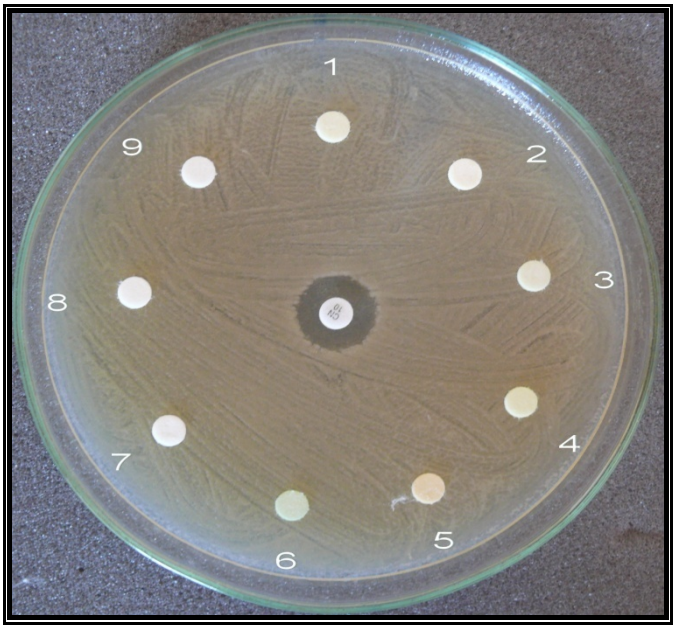
1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
CN: Gentamisin

Şekil 4.6. Bitki ekstraktlarının *L. monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434 üzerine antibakteriyal etkisi



1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
AM: Ampisilin

Şekil 4.7. Bitki ekstraktlarının *Ent. faecalis* ATCC 29212 üzerine antibakteriyal etkisi



1- *T. mirabile* metanol ekstraktı
2- *T. mirabile* kloroform ekstraktı
3- *T. mirabile* aseton ekstraktı
4- *T. farinosum* metanol ekstraktı
5- *T. farinosum* kloroform ekstraktı
6- *T. farinosum* aseton ekstraktı
7-Metanol
8- Kloroform
9- Aseton
CN: Gentamisin

Şekil 4.8. Bitki ekstraktlarının *K. pneumoniae* ATCC 70063 üzerine antibakteriyal etkisi

Çalışmada kullanılan diğer bir antimikrobiyal aktivite inceleme metodu olan mikrodilüsyon metodunda ise, mikroorganizma ile etkileşen test maddesi miktarı tam olarak bellidir ve test maddesinin, hazırlanan stok çözeltisinden dilüsyonları yapılarak düzenli şekilde azalan konsantrasyonlar elde etmek, bu sayede de minimal inhibe edici konsantrasyonu belirlemek mümkün olmaktadır. Bu yöntemin diğer avantajı da çok düşük miktarlarda test maddesi ile MİK değeri belirleme imkanı sağlamasıdır (İşcan ve ark., 2002). Bu metotla elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2-4.11' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *T.mirabile* metanol ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı.
-: Üreme yok

Çizelge 4.3. *T.mirabile* kloroform ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı.
-: Üreme yok

Çizelge 4.4. *T.mirabile* aseton ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı.
-: Üreme yok

Pleytler incelendiğinde, *T. mirabile*'ye ait her üç ekstraktın da birinci ve ikinci kuyucuklarda test bakterilerinin tamamının üremesini inhibe ettiği görüldü. İlk izlenimler bu ekstraktların antibakteriyal aktiviteye sahip oldukları yönünde olsa da, negatif kontrol pleytindeki DMSO:PBS karışımının (çözgenin) bakteri suşları üzerine birinci ve ikinci kuyucuklarda toksik etkiye neden olduğunun saptanması, ekstraktların antibakteriyal aktiviteye sahip olmadıkları izlenimine yol açmıştır. Ayrıca, ekstraktların en yüksek dozlarında, disk difüzyon yönteminde de inhibisyon zonu görülmemesi bu üç ekstraktın herhangi bir antibakteriyal etkiye sahip olmadığı görüşünü daha da kuvvetlendirmiştir.

Taraxacum farinosum ekstraktlarının sıvı mikrodilüsyon yönteminde elde edilen antibakteriyal aktivite sonuçları Çizelge 4.5-4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. *T. farinosum* metanol ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı.
-: Üreme yok

Çizelge 4.6. *T. farinosum* kloroform ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı.
-: Üreme yok

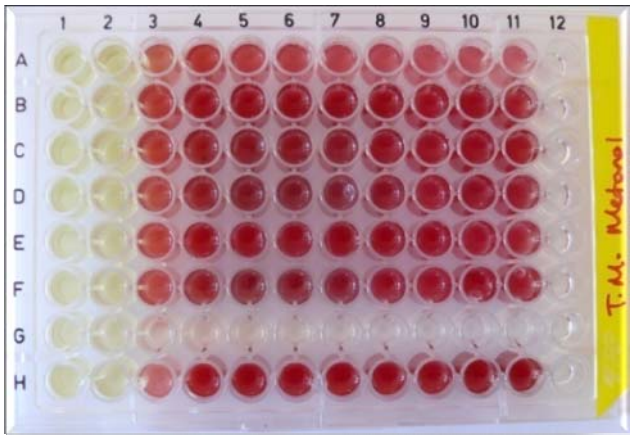
Çizelge 4.7. *T. farinosum* aseton ekstraktının antibakteriyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
B	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
D	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
E	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
F	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*
G	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	*
H	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*

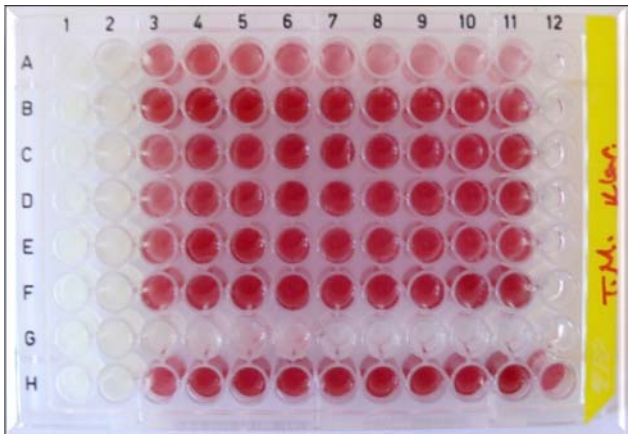
A: *Escherichia coli* ATCC 25922
B: *Proteus mirabilis* ATCC 43071
C: *Streptococcus salivarius* RSHE 606
D: *Bacillus cereus* ATCC 11778
*: Besiyeri kontrol
+: Üreme var
E: *Listeria monocytogenes* Tip 2 Past. Enst. 5434
F: *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC 25923
G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
H: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063
!: Üretilemediği için çalışmadan çıkarıldı
-: Üreme yok

Elde edilen sonuçlara göre *T. farinosum* ekstraktları test mikroorganizmaları üzerine herhangi bir antibakteriyal aktivite göstermemiştir. Bu sonuçlar disk difüzyon metodundan elde edilen sonuçlarla uyuşmaktadır. *T. mirabile* ekstraktlarında olduğu gibi, kullanılan çözücü bakteriler üzerine toksik etki göstermiştir. İlk iki kuyucukta üremenin inhibe edilmesi olası bir antibakteriyal aktivitenin varlığını düşündürebilir. Fakat, hem bütün deneme pleytlerinde ilk iki kuyucukta üremenin inhibe edilmesi hem de negatif kontrol plağında bu durumun doğrulanması, çözücünün deneme suşları üzerine olumsuz bir etki gösterdiğinin kanıtıdır. Zaten bütün ekstraktların aynı derecede etki göstermesi düşük bir olasılık olarak düşünülebilir.

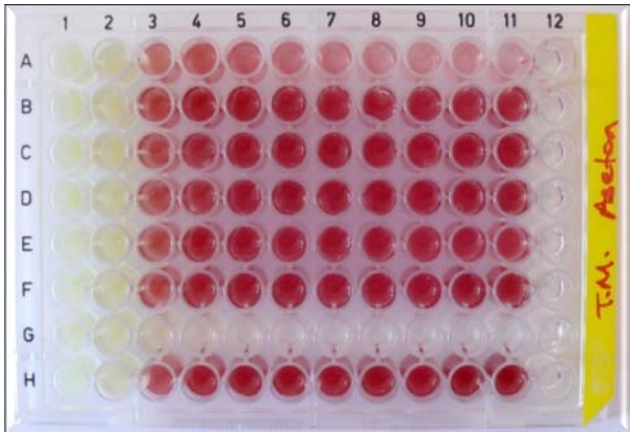
Çalışmamızda, pleytin G satırında bulunan *Enterococcus faecalis* suşu, sıvı mikrodilüsyon yönteminde üreme göstermediğinden dolayı çalışmanın bu kısmından çıkarılmıştır. Bu çalışmaya ait pleytlerin fotoğrafları Şekil 4.9-4.14' de verilmiştir.



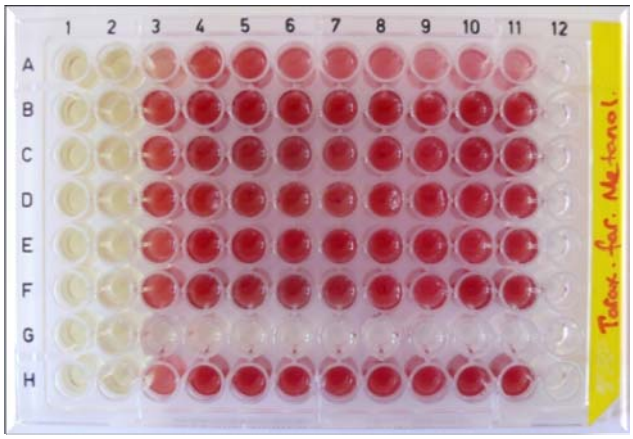
Şekil 4.9. *T. mirabile* metanol ekstraktı uygulanan pleyt



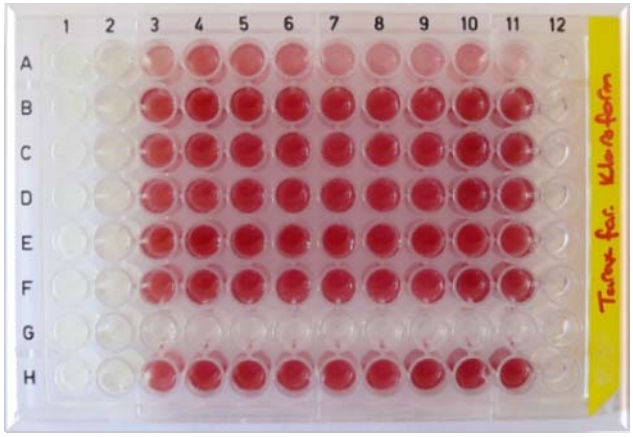
Şekil 4.10. *T. mirabile* kloroform ekstraktı uygulanan pleyt



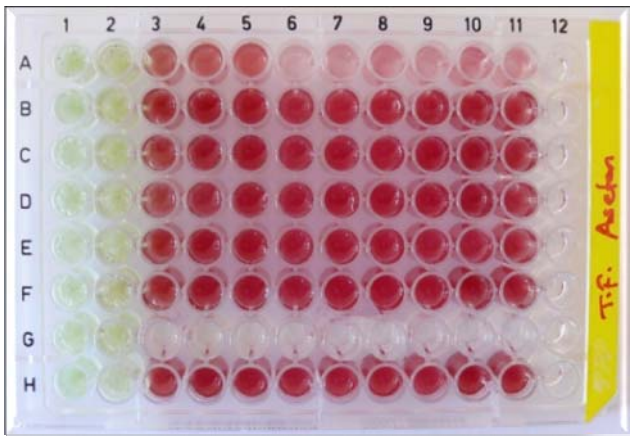
Şekil 4.11. *T. mirabile* aseton ekstraktı uygulanan pleyt



Şekil 4.12. *T. farinosum* metanol ekstraktı uygulanan pleyt

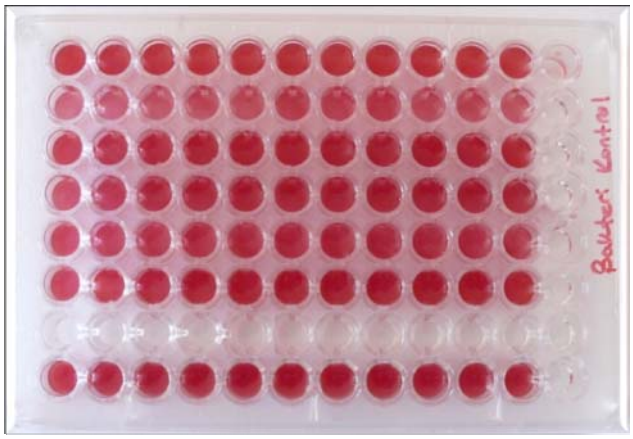


Şekil 4.13. *T. farinosum* kloroform ekstraktı uygulanan pleyt

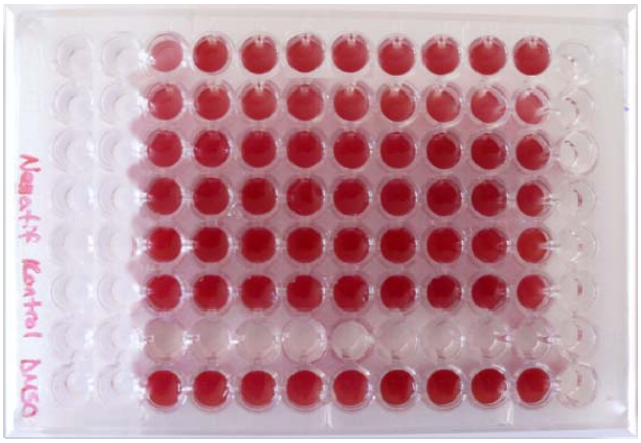


Şekil 4.14. *T. farinosum* aseton ekstraktı uygulanan pleyt

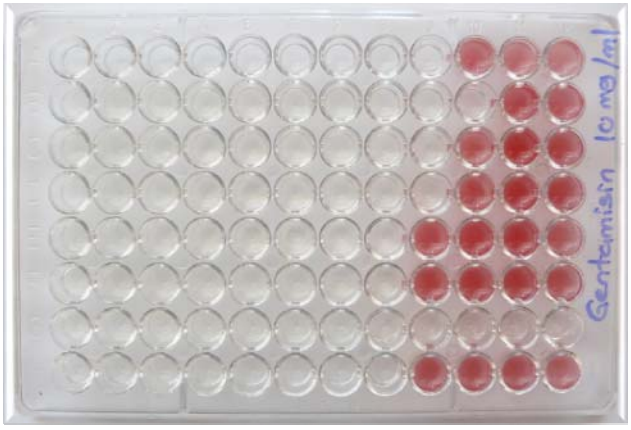
Bakterilerin üreme kontrol, DMSO:PBS'e ait negatif kontrol ve gentamisin pleyti Şekil 4.15-4.17' de verilmiştir.



Şekil 4.15. Bakteri üreme kontrol pleyti



Şekil 4.16. Negatif kontrol (DMSO:PBS) pleyti



Şekil 4.17. Gentamisin uygulanan pleyt

Literatürlerden elde edilen bilgilere göre *Taraxacum* cinsine ait farmakolojik çalışmalar özellikle *Taraxacum officinale* bitkisi üzerine yapılmıştır. Bu durum bitkinin çok geniş yayılış göstermesinden ve halk tarafından kullanılmasından kaynaklanmaktadır. *T. officinale*' nin insan üzerine özellikle sindirim sorunlarını tedavi etme yönündeki uygulamaları, farmakolojik çalışmalarla desteklenmiştir. Bazı çalışmalar bitkinin antioksidan, antikanserojen, antiinflamatuar vb. sağlık düzenleyici etkilerinin, ya bitkinin çeşitli ekstraktlarından ya da kök, gövde, yaprak veya çiçek gibi herhangi kısmından elde edilen tek bir maddeden kaynaklandığını göstermiştir. Çeşitli farmakolojik etkilerin kaynağı olarak genellikle polifenolik maddelere ve seskiterpenlere işaret edilmektedir. *T. officinale* bitkisinde çok sayıda madde karakterize edilmesine rağmen, bazı maddelerin tek başına çalışılması daha sınırlı kalmıştır. Fakat bunlara daha ileri derecede ilgi gösterilmesi ve daha detaylı çalışmalar yapılması öngörülmektedir (Schütz ve ark., 2006).

Bu öngörüler doğrultusunda yapmış olduğumuz çalışmada, Taraxacum cinsine ait ve ülkemiz için endemik olan *T. mirabile* ve *T. farinosum* türlerinin antibakteriyal aktiviteleri disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleriyle araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre her iki türde de herhangi bir antibakteriyal aktivite tespit edilememiştir. Ayrıca bu bitkiler ile ilgili daha öncesinde yapılan herhangi farmakolojik bir çalışma tespit edilmemiştir. Dolayısı ile antibakteriyal etki tespit edilmemesi de bu türler için kaydedilen ilk bilgiler olabilir. Farklı türlerin farklı potansiyel antimikrobiyal aktiviteleri olabilir.

İran'da kullanılan bazı tıbbi bitkilerin antibakteriyal özelliklerinin değerlendirildiği bir araştırmada, *Taraxacum vulgare* (Lam.) Schinz'nin köklerinden elde edilen metanol ekstraktlarının *Klebsiella pneumoniae* ve *Bordetella bronchiseptica* bakteri türlerine karşı antibakteriyal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Bonjar, 2004).

Barbour ve ark. (2004) çalışmalarında, 27 doğal bitkinin farklı kısımlarından elde edilen 39 su ve 39 metanol ekstraktlarını *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteria*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, ve *Candida albicans* üzerinde denemişlerdir. *Taraxacum*'un gövde ve yapraklarından elde edilen ekstrakt ile çiçeklerinden elde edilen ekstrakt karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Gövde ve yaprak ekstraktı birlikte kullanıldığında 10 µl konsantrasyonlu ekstrakt test mikroorganizmaları üzerinde % 22 oranında; 20 µl'lik ekstrakt ise % 66 oranında inhibisyona neden olmuştur. Çiçek ekstraktında ise 10 µl'lik ekstrakt herhangi bir etkiye

neden olmazken 20 µl'lik ekstrakt % 55.5'lik bir inhibisyon oranı göstermiştir. Buradan da anlaşılacağı üzere bitkinin farklı kısımlarında farklı etken maddeler, değişen oranlarda inhibisyona neden olmuştur. Bizim türlerimizde ise 20 µl'lik ekstraktlar aktivite göstermemiştir.

Elazığ yöresinde tıbbi amaçlarla kullanılan bazı bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği bir araştırmada, *Taraxacum revertens* G. Hagl.'den elde edilen kloroform ekstraktlarının test edilen mikroorganizmaların hiçbirine karşı antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Kırbağ, 2006). Çalışmamızda kullanılan kloroform ekstraktı da benzer şekilde antibakteriyal aktivite göstermemiştir.

Kang ve ark. (2008), *Compositae* familyasına ait, aralarında *Taraxacum platycarpum*' unda bulunduğu altı farklı bitkinin metanol, hekzan, etil asetat, bütanol, kloroform ve su ekstraktlarının antimkrobiyal, antioksidan ve tirosinaz inhibisyon aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada *T. platycarpum* bitkisinin etil asetat ve hekzan ekstraktları, *E.coli, S. aureus, P. aeruginosa* ve *Candida albicans* üzerine önemli derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmamızda kullanılan bitkilerin kloroform, aseton ve metanol ekstraktları, benzer mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki göstermemiştir. Buna rağmen bizim çalışmamızda hekzan ve etilasetat ekstraktları kullanılmamıştır. *T. vulgare, T. revertens* ve *T. platycarpum*'un bizim türlerimizden farklı olması, antibakteriyal aktivitenin türlere göre farklılık gösterebileceği (sahip oldukları farklı bileşiklerden dolayı) görüşünü desteklemiştir (Cowan, 1999).

Şengül ve ark. (2009), içlerinde *T. officinale'* nin de bulunduğu sekiz bitkinin in vitro antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini toplam 32 mikroorganizma üzerinde test etmişlerdir. Disk difüzyon metodunun kullanıldığı bu çalışmada, *Viscum album* ve *Alkanna tinctoria*' nın metanol ekstraktları 23 mikroorganizma üzerinde etkili olurken, *T. officinale'* nin kayda değer herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmemiştir. Araştırmacıların *Taraxacum* ile ilgili elde ettikleri veriler, bizim türlerimizden elde edilenlerle uyuşmaktadır.

Zaouia ve ark. (2010), Cezayir'de halk tıbbında kullanılan dokuz bitkinin su ve metanol ekstraktlarını disk difüzyon yöntemi ile bazı mikroorganizmalar üzerinde denemişlerdir. *T. officinale* ekstraktı *E coli'* ye karşı sırasıyla 12 mm ve 14 mm, *P. aeruginosa*'ya karşı 12 mm ve 14 mm, *K. pneumoniae*'ye karşı 8 mm ve 12 mm, *E. aerogenes'*e karşı 13 mm ve 15 mm, *S aureus'*a karşı ise 12'şer mm çapında inhibisyon göstermiştir. Bitkinin bulunduğu bölgeye göre içeriğindeki etken maddelerin oranı ve aktiviteleri değişiklik gösterebilir. Çalışmamızda benzer bakteriler kullanmamıza

rağmen, farklı tür bitki kullanılmasından dolayı aktivite gözlenmemiştir. Bu durum bize yine farklı türlerin farklı maddeler ihtiva ederek aktivitelerde de bu farkı ortaya koyduklarını göstermektedir.

Voss-Rech ve ark. (2011) çalışmalarında, in vitro olarak 21 farklı bitkinin etanol ekstraktlarını, 20 farklı *Salmonella* serovarı üzerinde antimikrobiyal etki yönünden test etmişlerdir. Araştırıcılar içlerinde *T. officinale*'nin de bulunduğu bu bitkilerden, en fazla inhibisyon etkisi yapan altı bitki olarak *Punica granatum* (% 100)*, Eugenia jambolana* (% 90)*, Eugenia uniflora* (% 90)*, Caryophyllus aromaticus* (%75)*, Psidium araca* (% 75) *ve Achyrocline satureioide* (% 70)'i belirlemişlerdir. *T. officinale* ise kullanılan serovarların sadece % 5'ine etkili olmuştur. Bu çalışmadan da anlaşılacağı üzere denenen bitkilerde, en az antibakteriyal aktivite *T. officinale*'de görülmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, ülkemiz için endemik olan iki farklı *Taraxacum* türünün in vitro antibakteriyal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmalarda disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. İnsan ve hayvanlar üzerinde patojen olan mikroorganizmalara karşı bu iki türün kloroform, aseton ve metanol ekstraktları belirli dozlarda uygulanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre disk difüzyon metodunda sadece *T. mirabile'* nin kloroform ve aseton ekstraktları, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerine zayıf antibakteriyal etki göstermiştir. Denemede kullanılan diğer ekstraktlar kullanılan test suşlarına karşı etkisiz bulunmuştur. Sıvı mikrodilüsyon metodunda ise, her iki bitki türüne ait ekstraktlar test bakterilerine karşı etkisiz bulunmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda *Taraxacum farinosum* ve *Taraxacum mirabile*'nin antibakteriyal potansiyele sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

5.2. Öneriler

Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri tedavide kullanılan ilaçların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapılı ilaçların ve terapötik maddelerin yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanılma zorunluluğunu artırmıştır. Bu amaçla bitkiler, mikrobiyolojik ve farmakolojik yönlerden ve hatta biyolojik mücadelenin gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizması bakımından da çok yönlü araştırılmaktadır.

Taraxacum cinsine dair yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu *T. officinale* üzerine odaklanmıştır. Bitkinin bu kadar çok çalışmaya konu olması, öncelikli olarak geniş yayılışlı olmasından ve sahip olduğu farmakolojik özelliklerin zamanla belirlenmesinden kaynaklanmaktadır. Birçok farmakolojik özelliğe sahip olmasına rağmen bu denemelerin büyük çoğunluğu in vitro ya da in vivo hayvan denemeleriyle saptanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrudan insana uyarlanamayabilir. Bir diğer problem bitkilerin kullanımıyla ilgilidir. Yeterli düzeyde, hangi kısımlarının kullanılması gerektiği ve ekstraktların nasıl elde edilmesi gerektiği belirlenmelidir.

Çalışmamıza konu olan *Taraxacum farinosum* ve *Taraxacum mirabile* türleri hakkında yapılmış herhangi bir çalışma belirlenmemiştir. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışma, sonuçları negatif çıksa da bilim adına ilk defa ortaya koyulmuştur. *T. officinale'*den hareketle araştırmamızın materyalini teşkil eden bitkilerin ihtiva ettikleri kimyasal bileşenlerin karakterleri ortaya konulabilir ve antioksidan başta olmak üzere antikanserojen, antialerjik, analjezik ve daha pek çok özellikleri araştırılabilir.

6. KAYNAKLAR

Abbasoğlu, U., Tosun, F., Aydınoğlu, A., 1995, Antimicrobial activity of *Gonocytisus angulus* (L.) Spach. FABAD, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 125-127.

Akashi, T., Furuno, T., Takahashi, T., Ayabe, S. I., 1994, Biosynthesis of triterpenoids in cultured cells, and regenerated and wild plant organs of *Taraxacum officinale, Phytochemistry*, 36, 303–308.

Akhtar, M. S., Khan, Q. M., Khaliq, T., 1985, Effects of *Portulaca oleracae* (Kulfa) and *Taraxacum officinale* (Dhudhal) in normoglycaemic and alloxan- treated hyperglycaemic rabbits, *J Pak Med Assoc (JPMA)*, 35, 207-210.

Barbour, E. K., Al Sharif, M., Sagherian, V. K., Habre, A. N., Talhouk, R. S., Talhouk, S. N., 2004, Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 1–7.

Baris, O., Gulluce, M., Sahin, F., Ozer, H., Kilic, H., Ozkan, H., Sokmen, M., Ozbek, T., 2006, Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae), *Turk. J. Biol.*, 30, 65-73.

Basri, D. F., Fan, S. H., 2005, The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents, *Indian J. Pharmacol.*, 37(1), 26-29.

Başer, K. H. C., 1997, Tıbbi ve aromatik bitkilerin ilaç ve alkollü içki sanayilerinde kullanımı, *Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM), İstanbul Ticaret Odası*, Yayın no: 39, İstanbul.

Baykal, T., 1997, Doğal kaynaklı bileşiklerin biyolojik aktivite yönünden değerlendirilmesi ve tedavideki yeri, *GE*, 46, 21-22.

Baytop, T., 1999, Türkiye'de bitkiler ile tedavi geçmişte ve bugün, 2. Baskı, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 1-10.

Bisset, N. G., Phillipson, J. D., Czygan, F. C., Frohne, D. Höltzel, D., Nagell, A., Pfander, H. J., Willuhn, G., Buff, W. (Eds.), 1994, Herbal drugs and phytopharmaceuticals: A handbook for practice on a scientific basis, *CRC Press*, Boca-Raton, Ann-Arbor, London, Tokyo, pp. 486–489.

Bissett, N. G., 1994, Herbal drugs and phytopharmaceuticals, *MedPharm CRC Press*, Stuttgart.

Bohm, K., 1959, Studies on the choleretic action of some drugs, *Arzneim-Forsch*, 9, 376-378.

Bonjar, S., 2004, Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran, *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 301-305.

Borris, R. P., 1996, Natural products research perspectives from a major pharmaceutical company, *Journal of Ethnopharmacology*, 51, 29-38.

Budzianowski, J., 1997, Coumarins, caffeoyltartaric acids and their artifactual methyl esters from *Taraxacum officinale* leaves, *Planta Medica*, 63, 288.

Buruk, C. K., 2002, Doğu karadeniz bölgesi' nde yetişen bazı endemik bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon.

Büssemaker, J., 1936, The cholesteretic effect of dandelion, *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 181, 512–513.

Chabrol, E., Charonnat, R., Maximin, M., Waitz, R., Porin, J.,1931, L'action choleretique des Composees. *C. R. Soc. Biol.*, 108, 1100-1102.

Chabrot, E., Charonnat, R., 1935, Therapeutic agents in bile secretion, *Ann. Med.*, 9:1463- 1467.

Chakurski, I., Matev, M., Koichev, A., Angelova, I., Stefanov, G., 1981, Treatment of chronic colitis with an herbal combination of *Taraxacum officinale, Hypericum perforatum, Melisa officinaliss, Calendula officinalis and Foeniculum vulgare*, *Vutr Boles*, 20, 51-54.

Chen, Z., 1990, Clinical study of 96 cases with chronic hepatitis B treated with jiedu yanggan gao by a double-blind method, *Chin J Mod Dev Trad Med*, 10, 71-74.

Chevallier, A., 1996, Encyclopedia of medicinal plants, *Dorling Kindersley Pty Limited*, St Leonards, New South Wales.

Choi, J. H., Shin, K. M., Kim, N. Y., Hong, J. P., Lee, Y. S., Kim, H. J., Park, H. J., Lee, K. T., 2002, Taraxinic acid, a hydrolysate of sesquiterpene lactone glycoside from the *Taraxacum coreanum* NAKAI, induces the differentiation of human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25, 1446–1450.

Cowan, M. M., 1999, Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

Çubukçu, B., Meriçli, A. H., Mat, A., Sarıyar, G., Sütlüpınar, N., ve Meriçli, F., 2002, Fitoterapi, *İ. Ü. Basım Ve Yayınevi*, İ. Ü. Eczacılık Fak. Yay. No. 4311, İstanbul.

Dask, K., Tiwari, R. K. S., Shrivastava, D. K., 2010, Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104-111.

Davis, P. H., 1975, Flora of Turkey and the Aegean Islands, 5, *Edinburgh University Press*, Edinburgh, 797-803.

Demirpek, U., 2011, Antibiyotik duyarlılık testleri [online], Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, http://www.klimik.org.tr/UserFiles/file/49.pdf [Ziyaret tarihi: 13.06.2011].

Devienne, K. F., Raddi, M. S. G., 2002, Screening for antimicrobial activity of natural products using a microplate photometer, *Braz. J. Microbiol.*, 33(2), 97-105.

Dülger, B., Ceylan, M., Alıtsaous, M., Uğurlu, E., 1999, *Artemisia absinthium* L.(Pelin)'un antimikrobiyal aktivitesi, *Turkish. Journal. Of Biology*, 23 (3), 377-384.

Ertaş, Ö. S., Aktaş, H. F., Haznedaroğlu, M. Z., 2005, Analysis of sodium and potassium levels in *Taraxacum officinale* by flame emission photometry, *Acta Pharmaceutica Turcica,* 47, 127–130.

Ertürk, Ö., Demirbağ, Z., 2003, *Scorzonare mollis* Bieb. (*Compositae)* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Çevkor*, 47, 27-31.

Faber, K., 1958, The dandelion *Taraxacum officinale*. *Pharmazie*, 13, 423-436.

Fang, J., 1991, Effect of fu-zheng qu-xie on gastric disease infected with *Campylobacter pyloridis*, *Chin. J. Mod. Dev. Trad. Med.,* 11,150-152, 133.

Grases, F., Melero, G., Costa-Bauzà, A., Prieto, R., March, J. G., 1994, Urolithiasis and phytotherapy, *International Urology and Nephrology*, 26, 507–511.

Grierson, D. S., Afolayan, A. J., 1999, Antibacterial activity of some indigenous plants used for the treatment of wounds in the Eastern Cape, South Africa, *J. Ethnopharmacol.*, 66, 103-106.

Grieve, M., 1931, A Modern herbal: The medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with all their modern scientific uses, *Jonathan Cape Limited*, London.

Güner A., Özhatay, N., Ekim, T., and Başer, K. H. C., 2000, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Supplement 2, 11, *Edinburgh University Press*, Edinburgh, 618-619.

Gurib-Fakim, A., 2006, Medicinal plants traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Molecular Aspects of Medicine,* 27, 1–93.

Hagymàsi, K., Blàzovics, A., Fehér, J., Lugasi, A., Kristó, SzT., Kéry, Á ., 2000a, The in vitro effect of dandelion antioxidants on microsomal lipid peroxidation, *Phytotherapy Research*,14, 43–44.

Hagymàsi, K., Blàzovics, A., Lugasi, A., Kristó, SzT., Fehér, J, Kéry, Á., 2000b, In vitro antioxidant evaluation of dandelion (*Taraxacum officinale* WEB.) water extracts, *Acta Alimentaria*, 29, 1–7.

Hammer, K. A., Carson, C. F., and Riley, T. V., 1999, Antimicrobial activity of essential oils and other plants extracts, *Journal Of Applied Microbiology,* 85, 985-990.

Hänsel, R., Kartarahardja, M., Huang, J. T., Bohlmann, F., 1980, Sesquiterpenlacton-β-D-glucopyranoside sowie ein neues Eudesmanolid aus *Taraxacum officinale*, *Phytochemistry*, 19, 857–861.

Hernandez-Galicia, E., Aguilar-Contreras, A., Aguilar-Santamaria, L., Roman-Ramos, R., Chavez-Miranda, A. A., Garcia-Vega, L. M., Flores-Saenz, J. L., Alarcon-Aguilar, F. J., 2002, Studies on hyperglycemic activity of Mexican medicinal plants, In: *Proceedings of theWestern Pharmacology Society*, 45, 118–124.

Ho, C., Choi, E. J., Yoo, G. S., Kim, K. M., Ryu, S. Y., 1998, Desacetylmatricarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*, *Planta Medica*, 64, 577–578.

Hobbs, C., 1989, *Taraxacum officinale:* a monography and literature review, In: Alstadt E (editor), *Eclectic dispensatory, electic medical publications*, Portland, OR.

Hook, I., McGee, A., Henman, M., 1993, Evaluation of dandelion for diuretic activity and variation in potassium content, *International Journal of Pharmacognosy*, 31, 29–34.

Hu, C. and Kitts, D. D., 2003, Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 301–310.

Hussain, Z., Waheed, A., Qureshi, R. A., Burdi, D. K., Verspohl, E. J., Khan, N., Hasan, M., 2004, The effect of medicinal plants of Islamabad and Muree region of Pakistan on insulin secretion from INS-1 cells, *Phytotherapy Research*, 18, 73–77.

İşcan, G., Demirci, F., Kırımer, N, Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., Kıvanç, M., 2002, Bazı *Umbelliferae* türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkileri, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, 355-356.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C., 1994, Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Ames/Salmonella test sistemi ile araştırılması, *Turkish. Journal. Of Biology*, 18, 117-122.

Kang, J R., Lee, M. K., Kang, S. M., 2008, Anti-oxidant property and tyrosinase ınhibition activity of various extracts from plants in compositae plants, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 51(4), 321-328.

Kaufman, P. B., Wu, W., Kim, D., Cseke, L. J., 1995, Handbook of molecular and cellular methods in biology and medicine*, CRC Press Inc*., Corporate Blvd., N.W., Boca Raton, Florida 33431, p. 438.

Kaurinovic, B., Popovic, M., Cebovic, T., Mimica-Dukic, N., 2003, Effects of *Calendula officinalis* L. and *Taraxacum officinale* WEBER (Asteraceae) extracts on the production of OH· radicals, *Fresenius Enviromental Bulletin*, 12, 250–253.

Kemper, K. J., 1999, Dandelion (Taraxacum officinale), The longwood herbal task force and the centre for holistic pediatric education and research, [file online], URL: <http://www.mcp.edu/herbal/dandelion/dandelion.pdf>[Accessed 21 August 2004].

Kırbağ, S., 2006, Elazığ yöresindeki bazı tıbbi bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri. *J. Agric. Sci*., 16(2), 77-80.

Kim, H. M., Shin, H. Y., Lim, K. H., Ryu, S. T., Shin, T. Y., Chae, H. J., Kim, H. R., Lyu, Y. S., An, N. H., Lim, K. S., 2000, *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor alpha production from rat asterocytes, *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 22, 519–530.

Ko, S. G., Koh, S. H., Jun, C. Y., Nam, C. G., Bae, H. S., Shin, M. K., 2004, Induction of apoptosis by *Saussurea lappa* and *Pharbitis nil* on AGS gastric cancer cells, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 1604–1610.

Kuusi, T., Pyysalo, H., Autio, K., 1985, The bitterness properties of dandelion, II. Chemical investigations, *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie*, 18, 347–349.

Leu, Y. L., Shi, L. S., Damu, A. G., 2003, Chemical constituents of *Taraxacum formosanum*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51, 599–601.

Leu, Y. L.,Wang, Y. L., Huang, S. C., Shi, L. S., 2005, Chemical constituents from roots of *Taraxacum formosanum*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53, 853–855.

Liu , X., Han, W., Sun, D., 1992, Treatment of intestinal metaplasia and atypical hyperplasia of gastric mucosa with xiao wei yan powder, *Chung Kuo Chung Hsi Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 602-603.

Lourens, A. C. U., Reddy, D., Baser, K. H. C., Viljoen, A. M., Van Vuuren, S. F., 2004, *In vitro* biological activity and essential oil composition of four indigenous South African *Helichrysum* species, *J. Ethnopharmacol.*, 9, 253-258.

Luo, Z. H., 1993, The use of Chinese traditional medicines to improve impaired immune functions in scald mice, *Chung Hua Cheng Hsing Shao Shang Wai Ko Tsa Chih,* 80(9), 56-58.

Matsumoto, M., Ishida, K., Konagai, A., Maebashi, K., Asaoka, T., 2001, Strong antifungal activity of SS750, a new Triazole derivative, is based on its selective binding affinity to cytochrome P450 of fungi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46(2), 308-314.

Mc Intyre, A., 1994, The complete woman's herbal: A manual of healing herbs and nutrition for personal wellbeing and family care, *Gaia Books Limited*, London.

Mendoza, M. T., 1998, What's new in antimicrobial susceptibility testing? *Philipp. J. Microbiol. Infect. Dis.*, 27(3), 113-115.

Michalska, K., Kisiel, W., 2001, Sesquiterpene lactones from *Taraxacum bicorne*, *Polish Journal of Chemistry,* 75, 1587–1589.

Michalska, K., Kisiel, W., 2003, Sesquiterpene lactones from *Taraxacum obovatum*, *Planta Medica,* 69, 181–183.

Mills, S. Y., (1991), The essential book of herbal medicine, *Penguin Books Ltd*, Harmondsworth, Middlesex.

Moerman, D. E., 1996, An analysis of the food plants and drug plants of native North America. *Journal of Ethnopharmacology*, 52, 1-22.

Morales, G., Paredes, A., Sierra, P., Loyola, L. A., 2008, Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of Northern Chile, *Molecules*, 13(4), 790-794.

Nakipoğlu, M., Otan, H., 1992, Tıbbi bitkilerin flavonoidleri, *J of AARI*, 4(1), 70-93.

Newall, C. A., Anderson, L. A., Phillipson, J. D., 1996, Herbal medicines: a guide for health-care professionals, *Pharmaceutical Press*, London.

Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M. A., 2000, Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity, *Lett. Microbiol.*, 30(1), 379-384.

Petlevski, R., Hadžija, M., Slijepčević, M., Juretić, D., 2001, Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 181–184.

Pizzorno, J. E., Murray, M. T., 1999, Textbook of natural medicine, Volume 1, 2nd edition. *Churchill Livingstone*, London.

Popovic, M., Kaurinovic, B., Mimica-Dukic, N., Vojinovic-Miloradov, M., Dordevic, A., 2001, Combined effects of plant extracts and xenobiotics on liposomal lipid peroxidation, Part 3, Dandelion extract—CCl_4/fullnerol, *Oxidation Communication*, 24, 335–343.

Ràcz-Kotilla, E., Racz, G., Solomon, A., 1974, The action of *Taraxacum officinale* extracts on the body weight and diuresis of laboratory animals, *Planta Medica*, 26, 212-217.

Rauwald, H. W., Huang, J. T., 1985, Taraxacoside, a type of acylated γ-butyrolactone glucoside from *Taraxacum officinale*, *Phytochemistry*, 24, 1557–1559.

Salie, F., Eagles, P. F. K., Lens, H. M. J., 1996, Preliminary antimicrobial screening of four South African *Asteraceae* species, *J. Ethnopharmacol.,* 52(1), 27-33.

Schütz, K., Carle, R., Schieber, A., 2006, *Taraxacum* A review on its phytochemical and pharmacological profile, *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 313–323.

Seo, S. W., Koo, H. N., An, H. J., Kwon, K. B., Lim, B. C., Seo, E. A., Ryu, D. G., Moon, G., Kim, H. Y., Kim, H. M., Hong, S. H., 2005, *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats, *World Journal of Gastroenterology* 11, 597–599.

Sette, L. D., Passarini, M. R. Z., Delarmelina, C., Salati, F., Duarte, M. C. T., 2006, Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 1185–1195.

Sökmen, A., Jones, B. M., Ertürk, M., 1999, The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 79-86.

Sweeney, B.,Vora, M., Ulbricht, C., Basch, E., 2005, Evidence-based systematic review of dandelion (*Taraxacum officinale*) by natural standard research collaboration. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 5, 79–93.

Şengül, M., Yıldız, H., Güngör, N., Çetin, B., Eser, Z., Ercişli, S., 2009, Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(1), 102-106.

Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., Mariam, T. G., 2005, Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders, *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1), 168-175.

Takasaki, M., Konoshima, T., Tokuda, H., Masuda, K., Arai, Y., Shiojima, K., Ageta, H., 1999a, Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. I*., Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22, 602–605.

Takasaki, M., Konoshima, T., Tokuda, H., Masuda, K., Arai, Y., Shiojima, K., Ageta, H., 1999b, Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. II. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22, 606–610.

Tita, B., Bello, U., Faccendini, P., Bartolini, R., Bolle, P., 1993, *Taraxacum officinale* W.: pharmacological effect of ethanol extract, *Pharmacological Research*, 27, 23–24.

Trojanová, I., Rada, V., Kokŏska, L., Vlková, E., 2004, The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root, *Fitoterapia*, 75, 760–763.

Tyler, V. E.,1987, The new honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies, *Stickley Co*, Philadelphia.

Umeh, E. U., Oluma, H. O. A., Igoli, O., 2005, Antibacterial screening of four local plants using an indicator-based microdilution technique, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 2(3), 238-243.

Uyar, T., 1992, Organik kimya, *Güneş kitabevi*, Ankara, 1-100.

Van den Ende, W., Michiels, A., Van Wonterghem, D., Vergauwen, R., Van Laere, A., 2000, Cloning, developmental, and tissue-specific expression of sucrose:sucrose 1-fructosyl transferase from *Taraxacum officinale*, Fructan localization in roots, *Plant Physiology*, 123, 71–79.

Voss-Rech, D., Klein, C. S., Techio, V. H., Scheuermann, G. N., Rech, G., Fiorentin, L., 2011, Antibacterial activity of vegetal extracts against serovars of *Salmonella*, *Ciência Rural*, 41(2), 314-320.

Williams, C. A., Goldstone, F., Greenham, J., 1996, Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*, *Phytochemistry*, 42, 121–127.

Wilson, R. G., Kachman, S. D., Martin, A. R., 2001, Seasonal changes in glucose, fructose, sucrose, and fructans in the roots of dandelion, *Weed Science*, 49, 150–155.

Yasukawa, K., Akihisa, T., Oinuma, H., Kasahara, Y., Kimura, Y., Yamanouchi, S., Kumaki, K., Tamura, T., Takido, M., 1996, Inhibitory effect of diand trihydroxy triterpenes from the flowers of Compositae on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation in mice, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 19, 1329–1331.

Yıldırım, N., 2008, *Centaurea balsamita* Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. türlerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.

Zaouia, K., Segni, L., Noureddine, G., Redha, O. M., 2010, Antimicrobial activity of nine medicinal plants growing in the south of Algeria, *Annals of Biological Research*, 1(4), 145-147.

7. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Nazife EKŞİNAR UYSAL
Uyruğu	**:**	T.C
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	KONYA 1986
Telefon	**:**	05333920191
Faks	**:**	
e-mail	**:**	nazzz-19@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	**Selçuklu Atatürk Lisesi**	**2003**
Üniversite	:	**Selçuk Üniversitesi**	**2008**
Yüksek Lisans	:	**Selçuk Üniversitesi**	
Doktora	:		