T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI HYPERICUM TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ

ASİYE SEVİMLİ (TAŞ)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

KONYA, 2006

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI HYPERICUM TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ

ASİYE SEVİMLİ (TAŞ)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Bu tez 15/12/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr.Rüstem DUMAN (Danışman)

Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP (Üye)

Prof. Dr. Yusuf DURAK (Üye)

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI HYPERICUM TÜRLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ

ASİYE SEVİMLİ (TAŞ)

Selçuk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: **Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN**

2006, 30 sayfa

Jüri: Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN
Prof. Dr. Yusuf DURAK
Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP

Hypericum perforatum L., *Hypericum scabrum* L. ve *Hypericum kotschyanum* Boiss. (endemik tür)' un toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi, 10 bakteri türüne [7 Gram-pozitif (*Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus faecalis*-klinik izoleyt, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Streptococcus salivarius* RSHE 606) ve 3 Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*-klinik izoleyt)] karşı disk difüzyon metoduyla araştırılmıştır.

Bulgularımıza göre, bu üç *Hypericum* türünün farklı çözgenlerle hazırlanan ekstrelerinin genel olarak Gram-pozitif bakterilerin büyük bir kısmına karşı antibakteriyel aktivite göstermesine rağmen, kullanılan Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel bir aktiviteye sahip olmadıkları saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum perforatum, Hypericum scabrum, Hypericum kotschyanum,* Antibakteriyel Aktivite, Disk Difüzyon Metodu.

ABSTRACT

MASTER THESIS

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME HYPERİCUM SPECİES

ASİYE SEVİMLİ (TAŞ)

Selcuk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Rüstem DUMAN
2006, 30 pages

Juri: Assist. Prof. Dr. Rüstem DUMAN
Prof. Dr. Yusuf DURAK
Assist. Prof. Dr. Birol ÖZKALP

The antibacterial activity of the chloroform, ethyl acetate, acetone, and ethanol extracts obtained from the aerial parts of *Hypericum perforatum* L., *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum kotschyanum* Boiss. (endemic species) was investigated using the disc diffusion method against ten different bacteria [7 Gram-positive (*Sarcina lutea* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Streptococcus faecalis*-clinical isolate, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Streptococcus salivarius* RSHE 606) and 3 Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*-clinical isolate)].

As a result of study, we found that extracts prepared with different solvents of these three *Hypericum* species revealed antibacterial activity against Gram-positive bacteria in general but it had no antibacterial activity against Gram-negative bacteria used in this study.

Key Words: *Hypericum perforatum, Hypericum scabrum, Hypericum kotschyanum,* Antibacterial Activity, Disc Diffusion Method.

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu araştırmada doğada doğal olarak yetişen ve halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı *Hypericum* türlerinin (*Hypericum perforatum, Hypericum scabrum* ve *Hypericum kotschyanum*) bazı bakteri türlerine karşı antibakteriyal etkileri belirlenmiştir. Laboratuvar çalışmaları S.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Başta, yüksek lisans danışmanlığımı üstlenerek gerek bu süre içerisinde gerekse tez çalışmamın yürütülmesinde her türlü yardım, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Rüstem DUMAN olmak üzere, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Hatice TANER SARAÇOĞLU'na, bitkilerin teşhisini yapan Sayın Doç. Dr. Hüseyin DURAL ve Yrd. Doç. Dr. M. Aydın ŞANDA'ya, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen ailem ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

Asiye SEVİMLİ (TAŞ)

İÇİNDEKİLER

ÖZET iii
ABSTRACT v
ÖNSÖZ vii
İÇİNDEKİLER viii
l. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 3
3. MATERYAL VE METOT 7
3.1. Materyal 7
3.1.1.Bitki Örnekleri 7
3.1.2. Test mikroorganizmaları 7
3.1.3. Kullanılan çözücüler 8
3.2. Metot 8
3.2.1. Ekstrelerin hazırlanışı 8
3.2.2. Ekstrakt İçeren Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması 8
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 10
5. SONUÇ VE ÖNERİLER……16
6. KAYNAKLAR 17
EK. Hypericum Türlerinin Antibakteriyel Aktivite Test Sonuçlarının Şekilleri……21

I. GİRİŞ

Tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de yıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop 1984).

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlarına dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20. 000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner 1994).

Türkiye florasının zengin bir yapıya sahip olması ve ülkemizde 9.000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bunlardan tam olarak istifade edilmemektedir (İlçim ve ark. 1998). Türkiye' de 1. 000 kadar bitkinin halk tıbbında kullanıldığı tahmin edilmektedir (Başer 1992).

Araştırmamızın konusuna materyal teşkil eden *Hypericum* türlerinin de (*H. perforatum L., H. scabrum L., H. kotschyanum* boiss.) dahil olduğu *Clusiaceae* (*Guttiferae = Hypericaceae*) familyasından *Hypericum* türleri, genellikle Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika' da bulunmaktadırlar (Bombardelli ve Morazzoni 1995). *Hypericum* cinsinin dünyada 400' den fazla türü vardır, ancak Türkiye' de 77 türü bulunmaktadır (Zeybek ve Zeybek 1994). Bu türlerden bazıları halk arasında ve birkaç ülkede (Almanya, ABD) farklı tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop 1984, Tanker ve ark. 1990).

Hypericum perforatum L., Türkiye'de "Sarı Kantaron", Anglo-sakson halk tıbbında "St. John's Wort" olarak adlandırılan ve uzun yıllardan beri çok iyi bilinen bir tıbbi bitkidir. Günümüzde *Hypericum perforatum L*. ekstraktları çoğunlukla antidepresan ilaç olarak kullanılmaktadır (Bombardelli ve Morazzoni 1995). Antidepresan ilaç olarak kullanımının yanı sıra; karaciğer hipertrofisi, akciğer enfeksiyonu ve yaralara karşı da kullanılmaktadır (Newall ve ark. 1996). Bu bitkinin enfeksiyonlara karşı, antimikrobiyal etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (Meral ve Karabay 2002).

Hypericum scabrum L., dahilen basura ve kabızlığa karşı kullanılmaktadır (Baytop 1984). Bu bitkiden elde edilen uçucu yağlar ve ekstrelerin de değişik mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkileri olduğu ortaya konulmuştur (Toker 2002, Erdoğrul ve ark. 2004).

H. kotschyanum Boiss. sadece Türkiye' de yetişen endemik bir tür olup, kimyasal kompozisyonu ve tıbbi etkileri üzerinde bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada, yukarıda özellikleri belirtilen *Hypericum* türlerinden farklı çözgenlerle elde edilen ektraktların muhtelif Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türleri üzerine antibakteriyal etkileri araştırılmıştır. Böylelikle, ülkemizde doğal olarak yetişen ve tıbbi özellikleri olan bitkileri tespit etmek, enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede alternatif antibakteriyal maddeleri geliştirme çabalarına az da olsa bir katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Tıbbi bitkiler, eski dönemlerden beri, bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Mezopotamya uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel ilaçların miktarı 250 civarında olup, eski yunanlılar döneminde 600 kadar tıbbi bitki tanınıyordu (Saber 1982). Arap-Fars uygarlığı döneminde bu miktar 4000 civarına kadar yükselmiştir . 19. asrın başlarında ise bilinen tıbbi bitki miktarı 13.000 sayısına erişmiştir (Dragendorff 1967).

Türkiye tıbbi bitki ve ilaçları üzerindeki araştırmalara 1945 yılı yazında, İstanbul Üniversitesi Farmasötik Botanik ve Genetik kürsüsü başkanı Ord. Prof. Dr. A. Heilbronn (1885- 1961)'un başkanlığında, Uludağ'a yapılan bir gezi ile başlanmış olup toplanan örneklerin bir kısmı Flora of Turkey'de kayıtlıdır (Davis 1966).

Türkiye yüzyıllar boyunca çeşitli medeniyetlerin gelip yerleşmesinden dolayı zengin bir kültüre, flora ve kendine özgü bir halk tıbbına sahip olmuştur. Akdeniz, İran-Turan, Avrupa-Sibirya gibi üç farklı fitocoğrafik alanın içerisinde zengin bir bitki florasını kapsamaktadır (Boydağ 1996).

Tarihi olarak antimikrobiyal maddelerin *(emetine, guinine, berberine* vs.) kaynak teşkil eden bitkiler, mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadele yüksek derecede etkili olma özelliklerini korumaktadırlar (Iwu ve ark. 1999).

Tıbbi bitkilerin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasının bazı önemli nedenleri şunlardır:

l- Yeterli düzeyde bir kimya endüstrisine sahip olmayan kalkınmakta olan ülkelerde, bitkilerden yararlanarak kolay ve ucuz bir tedavi olanağı sağlanmaktadır. Bu yolda; Mısır, Hindistan ve Pakistan gibi ülkeler büyük gayretler sarfetmekte ve olumlu sonuçlar almaktadırlar.

2- Tedavi alanına sokulan yeni sentetik maddelerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler (Son zamanlarda *nimuselid* etken maddeli analjejik, antipretik ve

antiinflamatuar amaçlı ilaçların yıllarca kullanıldıktan sonra öldürücü yan etkilerinin saptanması üzerine piyasadan toplatılmıştır).

3- Bazı bitkisel ilaç ham maddelerinin, sentetik olanlardan daha ucuza ve daha basit elde edilebilme olanakları. Steroid bileşikler kına kına alkaloidleri, afyon alkaloidleri, atropa alkaloidleri, digitalis glikozitleri bu yöndeki uygulamalara örnek verilebilir.

4- Bitkisel ilaçların diğer bir üstün yanı da etki alanlarının daha geniş olmasıdır. Sentetik bileşikler genellikle bir tek etkiye sahiptirler ve bunların bazılarının yan etkilerini önlemek için diğer bazı ilaçlara ihtiyaç duyulur (Toker 2002).

Geçmişten günümüze bitkiler ilaçların bileşiminde kullanılmış, insan sağlığı açısından bir çok olumlu sonuçları ortaya çıkmıştır. Bitkilerin ilaç yapımında oynadığı iki rol vardır;

l- İlaç yapımının temelinde yer alabilirler, yani doğal olarak üretimde kullanılırlar,

2- Bitkisel bir ilaç olarak tedavide kullanılırlar.

Ülkemizde de *Hypericum* ekstraktının karaciğer hipertrofisi, akciğer enfeksiyonu, yaralar, konstipasyon ve depresyona karşı kullanılabilirliği vardır.Ayrıca analjezik, iştah açıcı, endoparazitler olarak da kullanılır. *H. perforatum* çiçekleri zeytin yağında bekletilerek hazırlanan "binbirdelik otu yağı *(oleum Hyperici*)" ciltteki yara yanıklarında ve ayrıca gastrik ülserde kullanılır (Baytop 1984).

Sarı kantaron (*H. Perforatum* L.) bitkisinin kanıtlanmış yara iyileştirici etkisinin yanı sıra antispazmatik, yatıştırıcı, kurt düşürücü, antiseptik, antidepresif, kabız etkileri vardır. Bitkinin içeriği, biyolojik olarak aktif rutin, *pectin, choline, sitosterol, hypercin* ve *pseudohypericin olup* tanen ve uçucu yağda içerir. Yağda çözünmüş halde kırmızı renk maddesi karotin (vit. A) bulunur. Ayrıca retroviral

aktivitesinden dolayı AIDS ile bağlantısı tespit edilmiştir. Ayrıca fotodinamik aktivesi sayesinde özellikle kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanılır. *Hyperucum perforatum* L.'dan hazırlanan bazı ekstreler nöropsikiatrik bozuklukların klinik tedavisi için kullanılmakta ve etkilerinin az olması ilaç bağımlılığı yapmaması avantajdır. Bununla birlikte *Hypericum perforatum* L.' un içerdiği *hypericin'*e bağlı olarak, oluşturduğu tek ciddi yan etki, sadece albino hayvan türlerinde ve bazı hassas cilde sahip insanlarda bildirilmiş olan fotosensitizasyondur. Aşırı dozlarda tüketildiğinde ışığa karşı duyarlılıktan dolayı ölümle bile sonuçlanan cilt hastalıkları baş gösterebilir (Şahin 2002).

Hypericum cinsinin birçok türü bazı bakteriyal hastalıklarının, mide ve bağırsak iltihaplarının tedavisinde Türk halk ilacı olarak kullanılır (Sakar ve ark. 1988). Dört *Hypericum* bitkisinin gövdeleri ile *Hypericum calycmum*'un yaprak ve çiçek ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri sekiz mikroorganizmaya karşı araştırılmıştır, bu araştırmada *H. Calycinum*'un (çiçekleri) aseton özü en yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Bir kaçı hariç bütün bitki özlerinin *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Sakar ve Tamer, 1990)

H. brasilence'den antifungal etkiye sahip &-pirone ve monoaminoksidaz inhibitörü ksantonlar elde edilmiş ve yine aynı bitkiden antibakteriyel etkiye sahip floroglusinol ve flavanoidler izole edilmiştir (Rocha ve ark. 1994).

Jayasurıya ve ark. (1991), *Hypericum drummmondii*'nin yaprak ve gövdelerinin hekzanla özütlenmesi sonucu dört yeni filisinik asit türevi izole etmişlerdir. Bunlar; drummondin-D, izodrummondin-D, drummondin-E, drummondin-F spektroskopik yöntemlerle yapısı aydınlatılan bu bileşiklerin tümünün Gram-pozitif bakterilere *(Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus)* karşı güçlü antibiyotikler olduğu saptanmıştır.

Sökmen ve ark. (1999), doku kültürü yöntemiyle çoğaltıp yetiştirdikleri *Hypericum capitatum*'un MgOH özütünün düşük oranda HIV-1'e karşı antiretroviral aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Rabanal ve ark. (2002), Kanarya adalarındaki *Hypericum canariense, Hypericum glandulosum* ve *Hypericum grandifolium* türlerinin metanol ve kloroform ekstraktlarının 4 Gram-pozitif *(Bacillus cereus, Micrococcus luteus, Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus)* ve bir Gram-negatif *(Bordetella bronchisepticia)* bakteriye karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada *Hypericum canariense* mikroorganizmalara karşı antibakteriyal etki göstermemiştir.

*Hypericum hircinum'*un n-hekzan, kloroform, metanol, etil asetat, n-butonol ve 6 izolat *Staphylococcus aureus* mikroorganizmasına karşı antibakteriyal aktivite göstermediği saptanmıştır (Pistelli L. ve ark. 2000).

Hypericum L. bitkisi genellikle kuru, kalkerli veya eski kalker taşlı topraklarda, ışıklı ormanlarda, çayırlarda, bataklık ve sahillerde, kayalık yerlerde, yol kenarlarında, ekim yapılmayan tarlalarda ve 2000-2400 m yüksekliklerde yayılış göstermektedir.Dünyada; Avrupa, Kuzey Afrika, Sibirya, Asya, İran, Kuzey Irak, Kıbrıs ve Batı Suriye'de de adı geçen bitki doğal olarak yetişmektedir.Türkiye'de ise hemen her bölgede yayılış göstermelerine rağmen genelde İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde daha çok yayılış gösterir (Karamanoğlu 1974, Toker 2002).

Hypericum L. cinsi çok yıllık, otsu veya çalımsı bitkilerdir. Kaliks 5 sepalli, Korolla 5 petalli ve genellikle sarı renkli, kırmızı benekli ve kırmızı damarlı, nadiren nektaryum uzantılı. Stamenler 5'li demet halinde, petallerin üstünde filamentler tabanda birleşik, ender olarak steril haldeki demetlere rastlanır. Ovaryum 3-5 gözlü veya kısmen ya da tamamen bir gözlü; her iki plasetaya bağlı iki-çok sayıda tohum taslağı bulunur; stilus 3-5, serbest ve ince. Meyve, septisit kapsül, çoğunlukla reçine ihtiva eden salgı kanalları veya cepleri taşır, nadiren etli ve açılmayan tiptedir (Davis 1965).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Örnekleri

Çalışmada kullanılan *Hypericum perforatum* ve *Hypericum scabrum* 2004 yılı haziran ve temmuz aylarında yapılan arazi çalışması ile toplanmıştır. Bitki örnekleri, Konya-Beyşehir yolu 56. km'deki bağırsak deresi kuzeyindeki yamaçlardan toplanarak, Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hüseyin DURAL tarafından teşhis edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bir diğer materyal *Hypericum kotschyanum* 2005 yılı Haziran ayında yapılan arazi çalışması ile toplanmıştır. Bitki örneği, Niğde ili Ulukışla ilçesi sınırlarında kalan Volkar dağlarının 2300-2400 m'leri arasından toplanarak, Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Aydın Murat ŞANDA tarafından teşhis edilmiştir.

3.1.2. Test mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan bakterilerden bir kısmı Selçuk Ünv. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı ve Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Ana Bilim Dalı kültür koleksiyonlarından temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan; *Klebsiella pneumoniae,* bakteri suşu Selçuk Ünv. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana bilim dalından, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus salivarius* RSHE 606, *Streptococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 29998, Selçuk Ünv. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Ana Bilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan çözücüler

Bitki ekstrelerinin hazırlanmasında kullanılan Aseton, Kloroform, Etil Asetat ve Etanol çözücüleri ticari olarak (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Eksterelerin hazırlanışı

Ekstrelerin hazırlanmasında bazı modifikasyonlar uygulanarak Gücin ve Taner (1986) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Bu yönteme göre; *Hypericum perforatum, Hypericum scabrum* ve *Hypericum kotcshyanum* aseptik şartlarda temizlenmiş, bir mekanik parçalayıcı yardımı ile toz haline getirilmiş ve 20 gr 200 ml kloroformda 8 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon fazı ayrıldıktan sonra materyal çeker ocakta kurutulmuş daha sonra materyal bu kez 200 ml etil asetat ile 8 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon fazı ayrıldıktan sonra materyal çeker ocakta kurutulmuştur. Materyal, bu kez 200 ml aseton ile 8 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon fazı ayrılıp kurutma işlemi tamamlandıktan sonra materyal son olarak 200 ml etanol ile 8 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemleri soxhlet cihazında gerçekleştirilmiştir. Soxhlet ekstraksiyonu neticesinde elde edilen ekstraktlar, rotary evaporatör kullanılarak 40° C' nin altındaki bir sıcaklık derecesinde düşük basınç altında ayrı ayrı bir 1/10 oranında konsantre edilmiş ve testte kulanıncaya kadar +4° C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Ekstrakt İçeren Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde Disk Difüzyon Yöntemi (Bauer ve ark. 1966) uygulanmıştır. Bu metoda göre, ticari olarak elde

edilen 6 mm çapındaki boş steril antibiyotik disklerine (Schleicher ve Shüll No: 2668, Germany) elde edilen ekstraktlardan ve ekstraktları hazırlamada kullanılan çözgenlerden 20 ml emdirilmiştir. Sefadroksil (CFR 30) antibiyotik diski de kontrol olarak kullanılmıştır. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde besi yeri olarak Mueller Hinton Agar (Oxoid) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılacak olan bakteri kültürlerini aktifleştirmek için Brain Heart Infusion Broth (Oxoid) kullanılmıştır. Stok kültürlerden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 4-5 ml Brain Heart Infusion Broth (Oxoid)' a aşılanarak 37 °C'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland standart tüpüne göre steril serum fizyolojik ile ayar edildikten sonra bakteri süspansiyonlarından 20'şer ml besiyeri (Mueller Hinton Agar) içeren 12 cm çapındaki petri kutularına 0.2'şer ml dağıtılmıştır. Daha sonra 5-15 dk süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılan petri plaklarının içerisine aseptik olarak farklı ekstreler emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. Buna ilaveten sadece çözgenlerin emdirildiği diskler kontrol ve Sefadroksil (CFR 30) antibiyotik diskleri de karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır. Bakteri aşılanan plaklar 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilmiştir. İnhibisyon zonlarının çapları ölçülürken disklerin çapı da ölçüme dahil edilmiş ve deneyler üç tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Sonuçta her bir ekstrakt ve mukayese antibiyotiğine ait inhibisyon zonlarının ortalaması dikkate alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Hypericum perforatum L., *Hypericum scabrum* L. ve *Hypericum kotschyanum* Boiss. (endemik tür)' un toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstrelerinin bazı bakteri türlerine (7 adet Gram-pozitif ve 3 adet Gram-negatif bakteri) karşı disk difüzyon metoduyla elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 4.1' de verilmiştir.

Bulgularımıza göre, bu üç *Hypericum* türünün farklı çözgenlerle hazırlanan muhtelif ekstrelerinin araştırmada kullanılan Gram (+) bakterilere karşı (*Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015 hariç) mukayese antibiyotiği CFR 30 (Sefadroksil)' a göre farklı derecelerde bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, Gram (-) bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*) karşı ise hiçbir antibakteriyel etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Hypericum türlerinin ve standart mukayese antibiyotiğinin antibakteriyel (mm olarak inhibisyon zonları) sonuçları*

Test Edilen Bakteriler	Hypericum perforatum L.				Hypericum scabrum L.				Hypericum kotshyanum Boiss.				Mukayese antibiyotiği
	Kl	Ea	As	Et	Kl	Ea	As	Et	Kl	Ea	As	Et	CFR 30 (30 μg/disk)
Sarcina lutea ATCC 9341	10	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	13	41
Staphylococcus aureus ATCC 6538	10	-	9	-	-	-	9	11	-	-	-	13	23
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	10	-	-	-	-	-	12	10	-	-	-	10	21
Streptococcus faecalis (klinik izoleyt)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT
Streptococcus mutans NCTC 10449	17	8	-	8	-	-	-	17	-	-	-	18	24
Streptococcus pneumoniae ATCC 10015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT
Streptococcus salivarius RSHE 606	15	10	-	12	-	-	-	-	-	-	11	13	27
Escherichia coli ATCC 29998	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT
Klebsiella pneumoniae (klinik izoleyt)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11

(*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6mm çapında olup, 20 μl ekstre emdirilmiştir.soçlar üç deneyin ortalamasıdır.

Kl: Kloroporm ekstresi, Ea: Etil asetat ekstresi, As: Aseton ekstresi, Et: Etanol ekstresi, CFR 30: Sefadroksil, (-): İnhisyon yok, NT: Denenmedi.

Hypericum perforatum L.' un kloroform ekstresinin *Streptococcus mutans* NCTC 10449' a karşı 17 mm' lik inhibisyon zonuyla en fazla etkili olduğu, aynı bakteriye karşı etil asetat ve etanol ekstrelerinin ise 8' er mm' lik inhibisyon zonlarıyla mukayese antibiyotiğine göre daha az etkili olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 3). *Hypericum perforatum* L.' un yine kloroform ekstresinin *Streptococcus salivarius* RSHE 606' a karşı mukayese antibiyotiğine kıyasla 15 mm' lik inhibisyon zonuyla yüksek derecede bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu, bunu aynı bakteri türüne karşı 12 mm' lik inhibisyon zonuyla etanol ekstresinin ve 10 mm' lik inhibisyon zonuyla etil asetat ekstresinin takip ettiği görülmüştür. (Tablo 4. 1, Ek-Şekil 5) *Hypericum perforatum* L.' un kloroform ekstresi, *Sarcina lutea* ATCC 9341' ya karşı 10 mm' lik (Tablo 4.1, Ek-Şekil 1), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı 10 mm' lik (Tablo 4.1, Ek-Şekil 9) ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228' e karşı yine 10 mm' lik (Tablo 4.1, Ek-Şekil 7) inhibisyon zonları meydana getirmiştir. *Hypericum perforatum* L.' un aseton ekstresiyle de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı 9 mm' lik bir inhibisyon zonu elde edilmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 9) *Hypericum perforatum* L.' dan elde edilen ekstrelerin tümünün testte kullanılan Gram (-) bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 29998, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Klebsiella pneumoniae*) ve Gram (+) bakteriler *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015' ye karşı antibakteriyel etkisinin olmadığı görülmüştür (Tablo 4.1).

Hypericum scabrum L.' dan hazırlanan ekstreler içinde en yüksek antibakteriyel etkiyi, mukayese antibiyotiği CFR 30' un etkisine yakın bir seviyede inhibisyon zonuyla (17 mm) *Streptococcus mutans* NCTC 10449' a karşı etanol ekstresi göstermiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 4) *Hypericum scabrum* L.' dan hazırlanan aseton ve etanol ekstreleri, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228' e karşı mukayese antibiyotiği CFR 30' a göre orta seviyede (sırasıyla 12 mm ve 10 mm' lik inhibisyon zonları) bir antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 8). Aseton ve etanol ekstrelerinin diğer antibakteriyel etkileri, sırasıyla 9 ve 11 mm' lik inhibisyon zonlarıyla, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı gözlenmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 10). Ayrıca *Hypericum scabrum* L.' un etanol ekstresinin de *Sarcina lutea* ATCC 9341' ya karşı 10 mm' lik bir inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 2). *Hypericum scabrum* L.' dan

hazırlanan ekstrelerin hiç birinin Gram (+) bakteriler, *Stretococcus faecalis, Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015, *Staphylococcus salivarius* RSHE 606' a ve Gram (-) bakteriler karşı antibakteriyel etkisinin olmadığı görülmüştür (Tablo 4.1).

Endemik bir tür olan *Hypericum kotschyanum* Boiss.' dan hazırlanan ekstreler içinde en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *Stretococcus mutans* NCTC 10449' a karşı mukayese antibiyotiği CFR 30' un etkinlik derecesine yakın bir seviyede inhibisyon zonuyla (18 mm' lik inhibisyon zonu) etanol ekstresi göstermiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 4). Etanol ekstresinin diğer antibakteriyel etkileri, etkinlik derecelerine göre sırasıyla; *Sarcina lutea* ATCC 9341' ya (13 mm inhibisyon zonu) (Tablo 4.1, Ek-Şekil 2), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a (13 mm inhibisyon zonu) (Tablo 4.1, Ek-Şekil 10), *Streptococcus salivarius* RSHE 606' a (13 mm inhibisyon zonu) (Tablo 4.1, Ek-Şekil 6) ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228' e (10 mm inhibisyon zonu) (Tablo 4.1, Ek-Şekil 8) karşı ortaya konulmuştur. Ayrıca, *Hypericum kotschyanum* Boiss.' un aseton ekstresi de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228' e karşı 10 mm' lik bir inhibisyon zonu oluşturmuştur (Tablo 4.1, Ek-Şekil 7). Gram (+) bakteriler, *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015 ile Gram (-) bakterilere karşı ise ekstrelerin hiçbirinin antibakteriyel etkisinin olmadığı görülmüştür (Tablo 4.1).

Elde edilen sonuçlara göre; ekstraktlar genel olarak sadece Gram (+) bakterilere karşı etkili olup, Gram (-) bakterilere karşı ise hiçbir antibakteriyel aktivitesi bulunmamaktadır. Bu bulgular, aktif bitkilerin çoğunun sadece Gram (+) bakterilere karşı aktivite gösterdiğini (az sayıda bitki Gram (-) bakterilere karşı aktiftir) ortaya koyan daha önceki yapılan çalışmalarla (Herrera ve ark. 1996, Kelmanson ve ark. 2000, Ali ve ark. 2001, Rabanal ve ark. 2002, Conforti ve ark. 2004) desteklenmektedir.

Rabanal ve ark. (2002) Kanarya Adaları' ndaki üç *Hypericum* türünün (*H. canariense, H. glandulosum* ve *H. grandifolium*) antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Disk difüzyon metoduyla yaptıkları bu araştırmada, elde ettikleri farklı ekstrelerin *Bordetella bronchiseptica* dışında sadece Gram (+) bakterilere (özellikle *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* ve

Bordetella bronchiseptica' ya karşı 10-20 mm arasındaki inhibisyon zonu dağılımlarıyla) etkin olduğunu göstermişlerdir. Bu araştırmada da, üç türe ait muhtelif ekstrelerin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228' e karşı 9-13 mm arasındaki inhibisyon zonları dağılımıyla antibakteriyel aktivitenin varlığı ortaya konulmuştur ve genelde Gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel etkinlikler gözlenmiştir (Tablo 4.1). Conforti ve ark. (2004), İtalya' nın Calabria ve Sardinia bölgelerinden topladıkları *H. perforatum* L.' un metanol ekstraktının antibakteriyel aktivitesini inceledikleri araştırmalarında, başta *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus faecalis* olmak üzere sadece Gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu araştırmada ise; genelde Gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitenin varlığı ortaya konulmakla birlikte, araştırmada kullanılan üç türün farklı çözgenlerle hazırlanan muhtelif ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı etkili (Tablo 4.1, Ek-Şekil 9), *Streptococcus faecalis* (klinik izoleyt)' e karşı ise etkili olmadığı bulunmuştur. *Streptococcus faecalis'* e karşı antibakteriyel aktivitenin gözlenmemesi, kullanılan suşun referens suş olmamasına, dolayısıyla kullanılan ekstrelere karşı dirençli olabilmesine (mukayese antibiyotiğine karşı denenmedi) dayandırılabilir. Diğer taraftan bu farklılık; kullanılan çözgenler farklı olduğu için, çözgenlerin aktif bileşikleri çözebilme yeteneğiyle de ilişkili olabilir.

Hypericum scabrum L. da kimyasal özellikleri ve antimikrobiyal özellikleri araştırılan bir *Hypericum* türüdür (Toker 2002, Erdoğrul ve ark. 2004).

Toker (2002 *)* *Hypericum scabrum* L.' dan elde ettiği uçucu yağın değişik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırdığı çalışmasında; Escherichia coli K 12*, Bacillus brevis* ATCC, *E. coli* PBr-322, *E. coli* PUC 9' ye karşı mukayese antibiyotiğininkine yakın düzeylerde, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus'* e karşı ise mukayese antibiyotiğinkinden fazla seviyede antibakteriyel aktivite tespit etmiştir. Bu çalışmada ise; *Hypericum scabrum* L.' un aseton etanol ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı etkili olduğu*, Escherichia coli* ATCC 29998' ye karşı ise kullanılan dört farklı çözgenle hazırlanan ekstrelerin hiç birinin etkin olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 10). *Escherichia coli* ATCC 29998' ye karşı antibakteriyel aktivite

gözlenmemesinin nedeni, yine kullanılan çözgenlerin aktif bileşikleri çözebilme yeteneğiyle ilişkili olabilir. Erdoğrul ve ark. (2004), *H. scabrum* L.' un etil asetat, metanol, etanol, sodyum hidroksit, su, piridin ve zeytinyağı ekstrelerinin 17 farklı bakteri türüne ve bir maya türüne karşı antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmalarında; su ve zeytinyağı ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* FMC 5' ye karşı antibakteriyel aktivite göstermediğini, sodyum hidroksit ekstrelerinin ise *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 başta olmak üzere diğer mikroorganizmalara karşı muhtelif derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise; *H. scabrum* L.' un aseton ve etanol ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538' a karşı etkili (Tablo 4.1, Ek-Şekil 10), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Klebsiella pneumoniae'* ye karşı etkisiz olduğu bulunmuştur (Tablo 4.1). Elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık, yine kullanılan çözgenlerin farklı olmasına (aktif bileşikleri çözebilme yeteneğine) dayandırılabilir.

Hypericum kotschyanum Boiss.' un özellikle etanol ekstrelerinin *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015 dışında Gram (+) bakterilere karşı aktif olduğu, Gram (-) bakterilere karşı ise antibakteriyel etkisinin bulunmadığı saptanmıştır (Tablo 4.1). Özellikle *Streptococcus mutans* NCTC 10449' a karşı mukayese antibiyotiği CFR 30' un inhibisyon zonuna (24 mm) yakın seviyede (18 mm) bir inhibisyon zonu elde edilmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 4). Etanol ekstresinin *Streptococcus salivarius* RSHE 606' a karşı da önemli derecede (13 mm' lik inhibisyon zonu) bir antibakteriyel aktivite gösterdiği, buna karşılık *Streptococcus* cinsine ait diğer türler, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 10015 ve *Streptococcus faecalis'* e karşı antibakteriyel etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.1, Ek-Şekil 6). Çetin ve Gürler (1989), mikroorganizmaların kemoterapötik maddelere karşı duyarlılıklarının kullanılan suştan suşa bile farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Bulgularımız belirtilen durumu doğrular niteliktedir. Endemik bir tür olan *Hypericum kotschyanum* Boiss.' un kimyasal özellikleri ve antibakteriyel aktivitesi üzerine daha önce bir çalışma yapılmamış olup, ilk defa burada antibakteriyel aktivitesinin varlığı ortaya konulmaktadır.

Özet olarak; yukarıda özetlenen veriler, incelenen bu üç *Hypericum* türünün enfekte yaralar ve çıbanlar gibi deri hastalıklarını tedavi etmek için halk hekimliğinde bu türlerin kullanımını haklı çıkaran sonuçlar ortaya koymuş, özellikle Gram (+) bakterilere karşı iyi bir antibakteriyel aktivite elde edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Halk hekimliğinde geniş bir kullanım alanı olan *Hypericum* cinsine ait türlerden olan bu üç bitkinin araştırmada kullanılan Gram (+) bakterilere karşı genelde etkili, Gram (-) bakterilere karşı ise etkisiz olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışmalarla, bitki florası açısından zengin olan ülkemizde tıbbi bitkilerin yaygın bir tarzda incelenerek kullanım alanlarının belirlenmesi ve bunlardan izole edilecek antibakteriyel maddelerin teşhis edilmesi, tıp ve endüstride kullanılabilme imkanlarının araştırılması ile bitkilerden geniş alanlarda yararlanmamız mümkün olacaktır.

6. KAYNAKLAR

Ali, N.A.A., Jülich, W.D., Kusnick, C., Lindequist, U. 2001. Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. Journal of Ethnopharmacology 74, 173-179.

Başer, K.H.C. 1992. Uçucu Yağların Dünya Ticareti, Anadolu Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi, Tıbbi Aromatik Bitkiler Bülteni. Sayı: 9,Eskişehir

Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Ünv. Yayınları, No: 3255,185.

Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turek, M. 1966. Antibiotie susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.

Bombardelli, E., Morazzoni, P. (1995) *Hypericum perforatum*, Fitoterapia, Volume LXVI,1,43-65

Boydağ, I. 1996. Üç Origanum Türü (O. majorana L., O. minutiflorum, O. schwarz and P. H. Davis ve O. Onites L.) Uçucu Yağlarının Fraksiyonlu Distilasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Ünv., Sağlık Bilimleri Enst. Farmakognozi Ana Bilim Dalı, Eskişehir.

Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, B., Bianchi, A., Agrimonti, C., Sacchetti, G., Andreotti, E., Menichini F. ve Poli F. 2004. Comparative Chemical Composition and Variabilty of Biological Activity of Methanolic Extracts from *Hypericum perforatum* L. Natural Product Research, Volume 19,3,295-303.

Çetin, T.E., Gürler, N. 1989. Antibiyotiklere Duyarlılık Deneyinin Yapılması. Kükem Dergisi, 12,2

Davis, P.H. 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 1. Edinburgh at the University Pres. s. 567.

Davis, P.H., 1966. Flora of Turkey and the East Aegean Island, cilt 2, s. 369, 378, 380, 391,400. 1966, Edinburg.

Dragendorff, G. 1967. Die Heilpflonzender verschiedenen Völker und Zeiten 2. Stuttgart (repring München 1967).

Erdoğrul, Ö., Azırak, S., Tosyalı, L. 2004. Antimicrobial Antivities of *Hypericum Scabrum* 1. Extracts, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 7,2.

Gözde (Elgin) M. and Karabay, N.Ü. 2002. In Vitro Antibacterial activities Of Three *Hypericum* Species from west Anatolia. Ege Ünv., Faculty of Pharmacy, Departmen of Pharmaceutical Botany, Doktora Tezi.

Gücin, F.,Tamer, A.Ü. 1990. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesinde Disk Difüzyon Yöntemi Uygulamaları.Ekoloji Dergisi, 11,45.

Herrera, R. M., Perez, M., Martin-Herrera, D. A., Lopez-Garcia, R., Rabanal, R. M. 1996. Antimicrobial activity of extracts from plants endemic to the Canary Islands. Phytotherapy Research 10, 364-366.

Iwu, G.M.W., Duncan. A.B., Okuuji, C.O. 1999. New Antimicrobials of Plant Orijin.p.457-462, in: J. Janick (ed.), Perspective on new crops and new uses, ASHS Pres, Alexandria.

İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E. 1998. Bazı Bitki Ekstrelerinin Antibikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Tr. J. of Biology, 22,119-125.

Jayasuriya, A.M., Clork and McChesney, J.D. 1991. New antimicrobiyal filicinic acid derivatives from *Hypericum drummondii*.Journal of Natural Products 54-5.

Karamanoğlu, K. 1974. Türkiye' de Doğal Olarak Yetişen Bitkilerin Synonimleriyle Birlikte Yetiştiği Yerler ve Genel Yayılma Alanları, Ankara Ünv. Eczacılık Fakültesi, Cilt 1, Ankara.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C. 1994. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutajenik Etkilerinin Ames-Salmonella Test sistemi ile Araştırılması. Tr. J. Botany, 18, 117-122.

Kelmanson, J. E., Jager, A. K., Van Staden, J. 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology 69, 241-246.

Meral, G. ve Ülkü, N.K. 2002. In Vitro Antibacterial Activities of three *Hypericum species* from west Anatolia. Turkish Electronic Journal of Biotcchnology, 6-10

Newall, C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (1996) Herbal Medicines. London. 250-252.

Pistelli L., Bertoli A., Zucconelli S., Morelli I., Panizzi L., Menichini F. 2000. Antimicrobial activity of crude extracts and püre compounds of *Hypericum hircinum*. Ftoterapia, 2000. Aug ; 71 Suppl l, s 138-40.

Rabanal, R.M., Herrera, R.M., Perez, M., Martin-Herrera, D.A., Lopez-Garcia, R. 2002. Antimicrobial activity of extracts from plants endemic to the Canary Islands. Phytotherapy Research 10, 364-366.

Rocha, L., Marston, A., Kaplan, M.A., Stoeckli-Evans, H., Thull, U., Testa, B., Hostettmann, K. (1994) An Antifungal gamma-pyrone and xanthones with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasilience*. Phytochemistry. 36 (6), 1381-5.

Saber, A.H. 1982. Chronological notes on medicinal plants.

Sakar, M.K., Tamer, A.Ü. 1990. Antimicrobial Activity of different extracts from some *Hypericum* species.Fitoterapia Volume 1X1. No: 5.

Sakar, M.K., Tamer, A.Ü., Takur, S. 1988. Fitoterapia 59, 49.

Sökmen A., Jones B.M., Erturk, M. 1999. Antimicrobial activity of extracts from the celi cultures of some turkish medicinal plants. Jun;13 (4) : 355-7.

Şahin, İ. 2002. Doğal Bitki Ekstraktlı Antimikrobiyal-Aktif Kağıt Ambalajlar. Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Gebze.

Tanker, M., Tanker, N., 1990. Farmakognozi. Cilt 2. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. No: 65. Ankara

Toker, Z. 2002. Bazı *Hypericum* Türlerinin Uçucu Yağ Bileşenleri ve Bu Yağların Antimikrobiyal Aktiviteleri. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Zeybek, N., Zeybek, U. (1994) Farmasötik Botanik, İzmir, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:2,201.