Centaurea balsamita Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

NURAY YILDIRIM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA, 2008

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Centaurea balsamita Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

NURAY YILDIRIM

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN

KONYA, 2008

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Centaurea balsamita Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

NURAY YILDIRIM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 19 /08 /2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK (Üye)

Doç. Dr. Hüseyin DURAL (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN (Danışman)

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Centaurea balsamita* Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam.**
TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ

Nuray YILDIRIM
Selçuk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN
2008, 57 sayfa

Jüri: Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Doç. Dr. Hüseyin DURAL
Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN

Bu çalışmada, *Centaurea balsamita* Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. türlerinin kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstrelerinin *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 29988, *Staphylococcus aureus ATCC* 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Streptococcus salivarius* RSHE 606 bakterileri suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon metodu kullanılarak araştırılmıştır.

Araştırma sonucunda, ekstrelerin test mikroorganizmalarına karşı değişik derecelerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi, *B. cereus*'a karşı göstermiştir. Çalışmada kullanılan bitki ekstreleri *S. aureus* suşlarına karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken, her iki türe ait etanol ekstrelerinin daha düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Centaurea balsamita, Centaurea coronopifolia*, Ekstraksiyon, Bakteriler, Mikrodilüsyon, Antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

Master Thesis

THE DETERMINATION of ANTIMICROBIAL EFFECTS of *Centaurea balsamita* Lam. and *Centaurea coronopifolia* Lam.

Nuray YILDIRIM

Selcuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehtap AKIN

2008, 57 pages

Jury: Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK

Associate Prof. Dr. Hüseyin DURAL

Assist. Prof. Dr. Mehtap AKIN

In this research, the antimicrobial activities of the chloroform, ethyl acetat, aceton and ethanol extracts from *Centaurea balsamita* Lam. and *Centaurea coronopifolia* Lam. were investigated against *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 29988, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Streptococcus salivarius* RSHE 606, by microdilutation method.

The results showed that the extracts have antimicrobial activity to different degrees against the test microorganisms used in this study. The chloroform extract of *C. balsamita* showed the highest antimicrobial activity against *B. cereus* strain. It was also determined that while the plant extracts used in this study have significant antimicrobial activity against *S. aureus* starains, the ethanol extracts of plants have lower activity.

Key Words: *Centaurea balsamita, Centaurea coronopifolia,* Extraction, Bacteria, Microdilution, Antimicrobial activity.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Araştırmada, *Centaurea* cinsine ait *Centaurea balsamita* Lam. ve *C. coronopifolia* Lam. türlerinin bazı test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir.

Yüksek lisans çalışmam süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgilerini ve tecrübelerini paylaşan saygıdeğer danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKIN'a, laboratuar çalışmalarımda yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Hatice TANER SARAÇOĞLU'na, bitkilerin toplanması ve teşhislerinde yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Osman TUGAY ve Sayın Arş. Gör. Dr. Tuna UYSAL'a ve eğitimim süresince maddi-manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nuray YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ……1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI……4

3. MATERYAL ve METOD……...16

3.1. Materyal……16

3.1.1. Araştırmaya ait bitki türleri……....16

3.1.2. Bakteriler.....18

3.1.3. Çözücüler.....21

3.1.4. Stok kültürler……23

3.1.5. Çalışma kültürleri……23

3.1.6. Besiyeri……...23

3.2. Metod……24

3.2.1. Ekstrelerin hazırlanışı……...24

3.2.2. Mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal etkinin belirlenmesi…….26

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI……29

5. TARTIŞMA……48

6. SONUÇ ve ÖNERİLER……50

7. KAYNAKLAR……53

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Ekstrenin seyreltilmesi 27
Çizelge 3.2. Kuyucuklara bakteri ilavesi …….. 28
Çizelge 4.1. *Centaurea balsamita'*nın kloroform ekstresinin antimikrobiyal etkisi……30
Çizelge 4.2. *Centaurea balsamita*'nın etil asetat ekstresinin antimikrobiyal etkisi.....31
Çizelge 4.3. *Centaurea balsamita'*nın aseton ekstresinin antimikrobiyal etkisi 32
Çizelge 4.4. *Centaurea balsamita'*nın etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisi …....33
Çizelge 4.5. *Centaurea coronopifolia'*nın kloroform ekstresinin antimikrobiyal etkisi.....34
Çizelge 4.6. *Centaurea coronopifolia'*nın etil asetat ekstresinin antimikrobiyal etkisi……..……. 35
Çizelge 4.7. *Centaurea coronopifolia'*nın aseton ekstresinin antimikrobiyal etkisi……36
Çizelge 4.8. *Centaurea coronopifolia'*nın etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisi...37
Çizelge 4.9. Dimetil sülfoksit (DMSO)'in antimikrobiyal etkisi……..…… 38
Çizelge 4.10. Gentamicin'in antimikrobiyal etkisi…… 39
Çizelge 4.11. Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK sonuçları ……...…. 47

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. *Centaurea balsamita* Lam. genel görünüm……..……..17
Şekil 3.2. *Centaurea coronopifolia* Lam. genel görünüm…….….18
Şekil 3.3 Soxhlet cihazı…….……..25
Şekil 3.4. Rotary evapatör……..25
Şekil 4.1. *Centaurea balsamita* kloroform ekstresi uygulanan plak…….…..41
Şekil 4.2. *Centaurea balsamita* etil asetat ekstresi uygulanan plak……....42
Şekil 4.3. *Centaurea balsamita* aseton ekstresi uygulanan plak…….…42
Şekil 4.4. *Centaurea balsamita* etanol ekstresi uygulanan plak…….…43
Şekil 4.5. *Centaurea coronopifolia* kloroform ekstresi uygulanan plak……...…..43
Şekil 4.6. *Centaurea coronopifolia* etil asetat ekstresi uygulanan plak……...…44
Şekil 4.7. *Centaurea coronopifolia* aseton ekstresi uygulanan plak……...44
Şekil 4.8. *Centaurea coronopifolia* etanol ekstresi uygulanan plak……...…45
Şekil 4.9. Dimetil sülfoksit (DMSO) uygulanan plak…….45
Şekil 4.10. Gentamicin uygulanan plak (1)……....46
Şekil 4.11. Gentamicin uygulanan plak (2)……46

SİMGELER

CFU/ml : Bir su numunesi içinde var olan mikroorganizma sayısını tanımlamak için mikrobiyolojide kullanılan bir ölçü birimi. 1 mL lik su numunesi içinde oluşan koloni sayısına bağlı olarak ölçülür. (Colony Forming Unit)

µg : 10^{-6} gram.

Kısaltmalar

DMSO : Dimetil sülfoksit.

MİK : Minimum inhibisyon konsantrasyonu.

1. GİRİŞ

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı antik çağlardan beri devamlı bir artış göstermektedir (Baytop 1999). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Toroğlu ve Çenet 2006).

Türkiye florasının önemli bir özelliği, oldukça zengin bir yapıya sahip olmasıdır (Başer 1997). Ülkemizde bitkisel zenginlik; üç ayrı fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orjin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşu gelmektedir (Tan 1992). Yurdumuzda 9000'e yakın farklı doğal bitki türü bulunmaktadır ve bunların %30'u endemiktir. Buna rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılamamaktadır (İlçim ve ark. 1998).

Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Vonderbank 1949; Dığrak ve ark. 1999). Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır (Baytop 1999).

Dünya nüfusunun %80'inin tedavi amacıyla bitkilere bağımlı olduğu belirtilmiştir. Bunun nedeni, dünya nüfusunun 3/4'ünün gelişmekte olan ülkelerde yaşıyor olmalarıdır. Bu oran Afrika'nın bazı bölgelerinde %95'lere çıkmaktadır. Sanayileşmiş ülkelerde de bitkisel droglara bir yöneliş gözlenmektedir (Başer 1997). Modern ilaçların yaklaşık %25'i bitkilerden geliştirilmiştir (Liu ve Wang 2007). Son yıllarda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç

oluşturmaları gibi sebepler, doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır (Nakipoğlu ve Otan 1992; Dağcı ve ark. 2002).

Doğal olarak yetişen bu şifalı bitkilere karşı ilginin fazla olmasının birçok sebebi vardır. Bunlardan biri, sentetik kökenli ilaçların insan vücudunda istenmeyen ve beklenmedik yan etkiler oluşturmasıdır. Diğer önemli bir neden ise bitki drogları birden fazla etkiye sahip olurken, sentetik ilaçlar genellikle tek bir etkiye sahip olurlar. Fakat bitkisel drogların çok eski çağlardan beri kullanılıyor olması onların yan etkilerinin çok daha iyi bilinmesine kolaylık sağlamıştır (Baytop 1984; Hakim 1982).

Bitkisel drogların vücutta meydana getirdiği etkilerden bünyelerinde 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 edilebilir (Başer 1997).

Çeşitli ülkelerdeki bazı bilim adamları birçok tıbbi bitkiyi tanımlamış ve aynı zamanda iyi bir şekilde listelemiştir. Bununla birlikte bu bitkisel drogların bir çoğunun etkileri bilimsel çalışmalarla desteklenmemiştir (Ertürk ve ark. 2003).

Bu çalışmada, Türkiye florasında önemli bir yeri olan *Centaurea* L. cinsine ait iki türün bazı patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Birçok dünya ülkesinin florasında olduğu gibi ülkemizde de mevcut olan şifalı bitkilerin bilimsel çalışmalarla antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi doğrultusunda *Centaurea balsamita* ve *C. coronopifolia* türlerinin toprak üstü kısımlarından çeşitli çözgenlerde hazırlanmış ekstreler bazı test mikroorganizmalarına karşı araştırılmıştır. Ülkemizde belirli sayıda bulunan bu tür

çalışmalara bir katkıda bulunmak, daha sonra çalışılacak farmakolojik çalışmalara ışık tutmak ve bitkilerin halk arasında bilinçli bir şekilde kullanılmasını sağlamak bu çalışmadaki diğer amaçları oluşturmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Mikroorganizmaların sebep oldukları çeşitli hastalıkların tedavisi için 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).

Bitkisel ilaçlar, hastalık teşhisinde, tedavisinde, belirtilerinin azaltılmasında ya da hastalıkların engellenmesinde kullanılabilir (Goldman 2001). 2004'te Amerika'da yapılan bir araştırmaya göre, yetişkin bireylerin üçte birinden fazlası alternatif tıbbın bir çeşidinden faydalanmaktadır (Voigt 2006). Bu "doğaya dönüş" hareketi son on yılda bitkisel ilaç pazarında etkin bir büyümeye neden olmuştur (Raskin ve ark. 2002).

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 (Kalaycıoğlu ve Öner 1994; Dağcı ve ark. 2002).

Doğal olarak yetişen bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinde birçok mikroorganizmanın büyümesini inhibe edecek maddeler izole edilmiş, bu maddeler mikroorganizmalar üzerine denenmiş ve aktiviteleri rapor edilmiştir (Ertürk ve Demirbağ 2003). Bu yüzden son yıllarda tıbbi bitkiler içermiş oldukları çeşitli aktif maddelerden dolayı dünyada olduğu gibi ülkemizde de birçok bilim adamının ilgisini çekmiştir (Dülger ve ark. 1997; 1999).

Doğada tabii olarak yetişen bazı bitki ekstraktlarının ve uçucu yağlarının bakterilere olduğu kadar, mantarlara karşı da antifungal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Tanker ve Tanker 1990).

Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, ilaç dirençliliği artmakta ve yayılmaktadır. Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmektedir ve bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak kullanılmaktadır (Abaskal ve Yarnell 2002).

Tıbbi bitkilerden biri olan *Centaurea* L. *Asteraceae* familyasına ait bir cinstir ve Türkiye'de 168 türü vardır. Bitki, peygamber çiçeği, zerdali dikeni, çoban kaldıran, Timur dikeni gibi Türkçe isimlerle bilinmektedir (Wagenitz 1975; Baytop 1999). *Centaurea* türleri halk tababetinde tek başına veya diğer bitkilerle birlikte antidiyabetik, antidiyareik, antiromatizmal, antienflamatuvar, kolagog, koleretik, dijestif, stomaşik, diüretik, adet söktürücü, astrenjan, hipotansif, antipiretik, sitotoksik, antibakteriyel amaçla kullanılmaktadır (Barreo ve ark. 1997; Orallo ve ark. 1998).

Negrete ve ark. (1984), *Centaurea chilensis* üzerine yaptıkları bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından izole ettikleri iki seskiterpen lakton bileşiğinin (dihidrococtus ve 8α-hidroksi–dehidrococtus lakton), antimikrobiyal etkilerini agar difüzyon yöntemi ile incelemiştir. *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* ve *Aspergillus niger* suşlarının kullanıldığı deneylerde alınan sonuçlar bu bileşiklerin Gram (+) bakterilere karşı etkili olduklarını göstermektedir.

Öksüz ve ark. (1984), *Centaurea virgata, C. kilea, C. inermis* türlerinden izole ettikleri flavonoidlerin antibakteriyel etkilerini incelemiştir. 6-metoksiapigenin, apigenin, 6-metoksiluteolin-4', 7-dimetileter, 6-metoksiluteolin-3'-metileter, 6-metoksiluteolin-3', 4', 7-trimetileter'in antibakteriyel etkileri, disk difüzyon yöntemi kullanılarak, *Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris,*

Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli'ye karşı incelenmiştir. Sonuçlar bu bileşiklerin hiçbirinin *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı etkili olmadığını, bunun yanı sıra apigenin'in diğer mikroorganizmalara karşı düşük dozlarda yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Öksüz ve Ayyıldız (1986), *Centaurea coronopifolia'*nın toprak üstü kısımlarından, ikisi balsamin ile yakın ilişkili olan, üç yeni germakronolid bileşiği izole etmişlerdir. Üçüncü bileşiğin sitozolisin'in yeni bir türevi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitkinin toprak üstü kısımlarından spektroskopik metot kullanılarak dört 6-metoksi flavonoid'in izole edildiği bildirilmiştir.

Negrete ve ark. (1987), *Centaurea floccosa* bitkisinin toprak üstü kısımlarının kloroformlu ekstresi, etil asetatlı ekstresinin I-B, II-B ve III-B fraksiyonları ve bu ekstrelerden izole ettikleri hispidulin, eriyodiktiyol, taksifolin, kemferol, kersetin ve krizoeriol gibi flavonoitlerin antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Test maddelerinin antimikrobiyal etkileri agar difuzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Micrococcus flavus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans ve Aspergillus niger* suşlarına karşı incelenmiştir. Alınan sonuçlar taksifolin ve etil asetatlı ekstrenin III-B fraksiyonu dışındaki diğer maddelerin Gram (+) bakterilere karşı etkili olduğunu göstermektedir.

Lonergan ve ark. (1992), *Centaurea sonchifolia*!nın toprak üstü kısımlarından izole edilen onopordopikrin'in antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Araştırma sonuçları, onpordopikrin'in *Staphylococcus aureus*' a karşı etkili olduğunu göstermektedir.

Ramadan ve ark. (1994), Qassim bölgesinde yetişen 20 adet yabani bitki türünün alkollü ve liyofilize edilmiş sulu ekstraktlarının 10, 25, 50, 100 ve 200 mg/ml konsantrasyonlarında 18 mikroorganizmaya (5 Gram- pozitif ve 6- Gram-negatif bakteri, 5 mantar ve 2 maya) karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Farklı aktivitelere sahip ekstraktların test bakterilerine karşı MİK (Minimum

İnhibisyon Konsantrasyonu) değerleri belirlenmiştir. Bitkilerin alkollü ve sulu ekstraktları *Staphylococcus aureus, S. aureus* (metisiline dirençli), *Streptococcus* tip B ve D, *Salmonella* tip C, *Escherichia coli, Haemophilus influenza, Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa'*ya karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışılan bitkilerden *Centaurea bruguierana*'nın ekstraktlarının *H. influenza*'ya karşı MIC değeri 8.36 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Barrero ve ark.(1995), *Centaurea* türlerinin halk arasındaki kullanımlarından yola çıkarak Güney İspanya'da yetişen *C. malacitana, C. melitensis, C. aspera* subsp. *aspera, C. aspera* subsp. *scorpiurifolia, C. aspera* subsp. *stenophylla* türlerinden izole ettikleri snisin, onopordopikrin, tulipalin B, monoasetil snisin, salonitenolit, stenofillolit ve elemanolit yapısındaki 3 seskiterpen laktonu antimikrobiyal etkileri yönünden incelemişlerdir. Ketokonazol ve gentamisin'in referans olarak kullanıldığı ve 9 ayrı mikroogranizmaya karşı yapılan deneylerde alınan sonuçlar, snisin dışındaki bileşiklerin belirgin bir antimikrobiyal etkiye sahip olmadıklarını göstermektedir.

Sür-Altıner ve ark. (1997), *Centaurea hermanii* bitkisinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, kloroform ve etanol ekstrelerinin antibakteriyel ve antifungal etkilerini disk difüzyon yöntemiyle incelemiştir. Bitkinin kloroform ekstresinin incelenen 6 mayadan *Candida albicans* ve *C. glabrata* üzerinde dikkat çekici etkileri saptanmıştır.

Garcia- Jacas ve ark. (1997), Türkiye'de yetişen *Centaurea* cinsine ait dokuz türün kromozom sayılarını sitotaksonomik seviyelerini belirlemek amacıyla çalışmışlardır. Çalışılan türlerden *C. coronopifolia*'nın kromozom sayısı 2n = 26 olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre üreme davranışları (allelogami ya da otogami) ve disploidi'nin meydana gelmesinin birbirleriyle ilişkili oldukları anlaşılmıştır.

Yeşilada ve ark. (1999), halk tıbbında peptik ülserleri içeren gastrik hastalıkların tedavisinde kullanılan, Türkiye'de yetişen yedi bitki türünden elde

ettikleri fraksiyon ve ekstrelerin anti- *Helicobacter pylori* etkisini, bir standart suş ve klinik olarak izole edilen sekiz *H. pylori*'ye karşı agar dilüsyon metodu ile çalışmışlardır. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan bitki türlerinden *Centaurea solstitialis* subsp. *solstitialis*'in kloroform fraksiyonu hem standart suşa hem de klinik olarak izole edilenlere karşı anti- *H. pylori* aktivite göstermiştir. Klinik suşlara karşı çok düşük konsantrasyonlarda (1.95 μg/ml) bile etki ettiği belirlenmiştir.

Gürkan ve ark. (2000), *Centaurea hermanii* bitkisinin petrol eteri, kloroform ve etanollü ekstrelerinin antibakteriyel etkisi referans madde olarak ceftazidim, antifungal etkileri ise mikonazol kullanılarak incelenmiştir. Ekstrelerin antifungal etkileri *Candida albicans, C. tropicalis, C. pseudotropicalis, C. glabrata*, *C. krusei, C. guillermondii* ve antibakteriyel etkileri *Staphylococcus epidermis, S. aureus 29213, S. aureus 25923, S. pyogenes, L. monocytogenes, C. diphteriae'ye* karşı incelenmiştir. Bu çalışmada bakteriler açısından *C. hermanii'nin* petrol eteri ekstresinin *S. aureus* 25923'e karşı, kloroformlu ekstresinin *S. aureus* 29213 ve 25923'e karşı aktivite gösterdiği, kloroformlu ekstresinin *Candida albicans* ve *C. glabrata*'da oldukça yüksek bir aktiviteye sahip olduğu ve petrol eteri ekstresinin *C. glabrata'ya* karşı hafif bir inhibisyon gösterdiği görülmüştür.

Karioti ve ark. (2001), *Centaurea deusta*'nın toprak üstü kısımlarından bilinen birçok bileşiğe ek olarak başlıca seskiterpen laktonlar, eudesmolid ve elemane türevlerini izole etmişler ve bu yeni bileşiklerin yapılarını spektroskopik yöntemlerle açıklamışlardır. İzole edilen bileşiklerin antifungal ve antibakteriyel etkisi in vitro olarak mikrodilüsyon metodu ile test edilmiştir. Tüm bileşiklerin antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Arif (2002), *Centaurea solstitialis* ve *C. depressa* türlerine ait ekstre ve fraksiyonların antibakteriyel etkilerini Gram(+) (*Bacillus subtilis*) ve Gram(-) (*Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa*) bakteriler üzerinde ve antifungal etkilerini *Candida tropicalis* suşları üzerinde mikrodilüsyon metodu ile tespit etmişlerdir. Her iki türe ait ana ekstre ve fraksiyonların *E. coli* 'ye karşı kontrole yakın bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Türlerin kloroformlu fraksiyonları

ile toprak altı kısımlarının etanollü ekstrelerinin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı dikkate değer etkiye sahip olduğu ve her iki türün de antifungal etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

Rusak ve ark. (2002), *Centaurea rupestris*'in yaprak ve çiçeklerinden elde ettikleri etanol ve eterik ekstreleri ve çiçeklerinden izole ettikleri kuersetagetin 3-metil eter 7-0-beta -D glukopiranosid'in antibakteriyel ve antifungal etkilerini araştırmışlardır. Çiçeklerin %45'lik etanol ekstresi *Epidermophyton floccosum, Microsporum gypseum* ve *Trichophyton mentagrophytes*'e karşı önemli antifungal aktivite göstermiştir. Ayrıca *Bacillus anthracis*'e karşı zayıf bakterisidal aktivite göstermiştir. Yaprakların %90 etanol ekstresi *Streptococcus faecalis*'e karşı önemli bakterisidal aktivite göstermiştir. Kuersetagetin, *Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Salmonella java* ve *Serratia sp.* 'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Kumarasamy ve ark. (2002), İskoçya'da yetişen *Centaurea nigra* ve *C. scabiosa* türlerinin tohumlarından elde ettikleri n-hekzan, diklorometan ve metan ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerini 11 patojenik bakteri türüne (*Staphylococcus aureus* NCTC 10788, *S. aureus* NCTC 11940, *S. epidermidis* NCTC 8558, *S. hominis* NCTC 11320, *Lactobacillus plantarum* 6376, *Bacillus cereus* NCTC 6989, *Proteus mirabilis* NCTC 60, *Escherichia coli* ATCC 8110, *E. coli* ATCC 4174, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6750, *Serratia marcescens* NCTC 1377) karşı broth dilüsyon metodu ile araştırmışlardır. Çalışılan bitkilerden *Centaurea nigra*'nın test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği, *C. scabiosa*'nın *Proteus mirabilis*'e karşı 0.10 mg/ml oranında aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Kumarasamy ve ark. (2002), *Centaurea moschata*'nın tohum ekstrelerinden elde edilen moschamindol'ün antioksidan ve antibakteriyel özellikleri araştırılmştır. Bu bileşiğin DPPH metodu ile serbest radikal süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Moschamindol'ün 0.001, 0.01, 0.001 mg/ml minimum inhibisyon konsantrasyonlarında *Proteus mirabilis, Streptococcus epidermis* ve *Lactobacillus plantarum*'un gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Bais ve ark. (2002), *Centaurea maculosa*'nın köklerinden salgılanan ve allelokimyasal aktivite gösterdiği belirlenen (±)- catechin'in köklere zarar veren bazı patojenlere (*Agrobacterium radiobacter, A. rhizogenes, Erwinia carotovora, E. amylovova, Pseudomonas fluorescen* ve *Xantomonas campestris*) karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. (+)-catechin'in toprak kökenli tüm bakterilere karşı aktivite gösterdiği ve test edilen altı bakteri suşunun gelişiminin engellenmesinde en çok (+)- catechin'in etkili olduğu tespit edilmiştir. (+)- catechin *Xantomonas compestris, Pseudomonas fluorescens* ve *Erwinia carotovora'*ya karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Buna karşın *Agrobacterium rhizogenes* (+)- catechin'in yüksek konsantrasyonlarından bile etkilenmemiştir. (-)- catechin'in test edilen bakterilerin hiçbirine karşı aktivite göstermediği rapor edilmiştir.

Bruno ve ark. (2003), *Centaurea paniculata* subsp. *castellana*'dan elemanolide ve snisin izole etmişler ve bu seskiterpenlerin ve snisin'den elde edilen birçok salonitenolid türevinin *Bacillus cereus* AATC 11778, *Bacillus subtilis* AATC 3366, *Staphylococcus aureus* AATC 25923, *Streptococcus faecalis* AATC 29212, *Escherichia coli* AATC 2922, *Proteus mirabilis* AATC 25933, *Pseudomonas aeruginosa* AATC 27853, *Salmonella typhi* Ty2 AATC 19430'a karşı antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Örnekler Gram pozitif bakterilere karşı daha fazla aktivite göstermiştir. Snisin özellikle *Streptococcus faecalis'*e karşı antibakteriyel etki göstermiştir. 8,15-diesterlerin, snisin'e kıyasla daha iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Kumarasamy ve ark. (2003), *Centaurea scabiosa'*nın tohumlarından elde ettikleri iki önemli lignan matairesinol ve matairenosid'in antibakteriyel, antioksidan aktivitesi ve genel toksisitesini tayin etmişlerdir. Antibakteriyel aktivitesi broth dilüsyon metodu ile belirlenmiş ve her iki bileşiğin de test edilen birçok patojenik bakteri türünün gelişimini önemli ölçüde inhibe ettiği, aynı zamanda antioksidan aktivite ve genel toksisite gösterdiği belirlenmiştir.

Kumarasamy ve ark. (2003), *Centaurea nigra*'nın tohumlarından izole ettikleri iki serotonin bileşeni, N-(trans-p-coumaroli)-serotonin ve N-(trans-feruloyl)-

serotonin (moschamine)'in antibakteriyel aktiviteleri broth dilüsyon metodu ve serbest radikal süpürme aktiviteleri DPPH metodu ile tayin edilmiştir. Her iki serotonin bileşeni de patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyici aktivite göstermiştir. Moschamine penisiline dirençli *Escherichia coli'*ye karşı aktivite göstermiştir.

Barbour ve ark. (2004), Lübnan halk tıbbında yaygın olarak kullanılan ve endemik bir tür olan *Centaurea ainetensis*'den elde ettikleri su ve metanol ekstrelerinin antimikrobiyal etkisini in vitro olarak test etmişlerdir. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesinde disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Sonuç olarak bitkinin metanol ekstresi su ekstresine göre daha iyi aktivite göstermiştir. *Centaurea ainetensis*'in çiçeklerinden elde edilen metanol ekstresi %88.8 oranında antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Skliar ve ark. (2005), Arjantin'den toplanan *Centaurea diffusa*'nın metanol ekstresinin *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus intermedius, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus agalactiae, Salmonella typhimurium, Citrobacter freundii, Proteus sp., Escherichia coli, Candida albicans, Mycobacterium phlei* ve *Mycobacterium fortuitum*'a karşı antimikrobiyal etkisi broth dilüsyon metodu kullanılarak araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *C. diffusa'*nın metanol ekstresinin patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Uysal ve ark. (2005), *Centaurea pseudoscabiosa subsp. glechnii, C. spicata, C. glastifolia, C. solonitana, C. balsamita* ve *C. behen* türlerinden elde edilen ekstrelerin *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49616, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus feacalis* ATCC 29212, *Klebsiella penumonia* ATCC 13883, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Bacillus cereus* ATCC 11778 ve *Enterobacter aerogenes* ATCC 13043 'e karşı antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon ve broth dilüsyon metodu kullanılarak araştırılmışlardır. Sonuç olarak, özellikle *C. pseudoscabiosa* subsp. *glechnii* ve *C. balsamita*'nın etil asetat ekstreleri ve *C. glastifolia'*nın etanol ekstresi antibakteriyel etki göstermiştir.

Yayli ve ark. (2005), *Centaurea sessilis* ve *C. armena*'dan hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağları GC-MS ile analiz etmişler ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Uçucu yağın ana bileşeni beta-eudesmol olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803'e karşı çukur-agar difüzyon metodu kullanılarak araştırılmış ve Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı orta derecede aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Güven ve ark. (2005), *Centaurea* türlerinden *C. ptosomipappoides, C. odyssei, C. ptosomipappa, C. amonicola* ve *C.kurdica*'nın etil asetat, aseton, kloroform ve etanol ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesini çukur-agar difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. Bitki ve ekstrelerin test edilen mikroorganizmalara karşı aktiviteleri farklı olmasına karşın ekstreler test edilen mantarlara karşı antifungal aktivite göstermemiştir. En etkili inhibitör aktiviteyi etil asetat ekstreleri göstermiş ve bu nedenle örneklerin sadece etil asetat ekstrelerinin bazı bakteri ve mayalara karşı MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerleri belirlenmiştir. Sonuçta, *C. kurdica* en aktif antimikrobiyal aktiviteye sahip bitki olarak belirlenmiştir. *C. odyssei* ve *C. kurdica*'nın etil asetat ekstraktlarının standart antibiyotik ketokonazolden daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve insan patojenik maya suşlarına karşı değerlendirilebileceği bildirilmiştir.

Buruk ve ark. (2006), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan 22 adet endemik bitki türünün ham ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Branhamella catarrhalis* ATCC 25238, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Helicobacter pylori* ATCC 49503, *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Trichophyton rubrum*'a karşı antimikrobiyal etkisi çukur-agar difüzyon ve broth difüzyon metodu kullanılarak çalışılmıştır. Ekstraktların hiçbiri *Escherichia coli'*ye karşı aktivite göstermemiştir. Test edilen tüm ekstraktlardan, 41 adet ham ekstraktın

en az bir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışılan türlerden *Centaurea helenioides,* en aktif bitkilerden biri olarak belirlenmiştir.

Flamini ve ark. (2006), Türkiye'de yetişen 10 adet *Centaurea* türünün (*Centaurea aladagensis, C. antiochia var. prealta, C. antitauri, C. babylonica, C. balsamita, C. cheirolepidoides, C. deflexa, C. iconiensis, C. lonigera* ve *C. ptosimopappoides)* uçucu yağ kompozisyonunu çalışmışlardır. GC-MS ile yapılan analizler sonucunda toplam 150 adet bileşen tanımlanmıştır. Tüm uçucu yağ örnekleri seskiterpenlerin bulunmasıyla, başlıca hidrokarbon türevleri ve daha az miktarda oksitlenmiş olanlarla karakterizedir. Hemen hemen tüm örneklerde, oranları tüm yağın %60'ından fazlası olarak hesaplanmıştır. Başlıcaları germacrane D, β-caryophyllene, bicyclogermacrene, caryophyllene oxyde, spathulenol, α- copaene ve daha az miktada fakat tüm bitkilerde bulunan α-cadinene, α-muurolene, β-selinene ve α- humulene'dir. Bu bitkilerin uçucu bileşiklerinin biyosentezinde çevrenin etkili olmadığı görülmüştür.

Karamenderes ve ark. (2006), Türkiye'nin çoğu endemik olan 10 adet *Centaurea* türünün (*C. calolepis, C. cariensis subsp. maculiceps, C. cariensis subsp. microlepis, C. hierapolitana, C. cadmea, C. reuteriana var. reuteriana, C. cyanus, C. depressa, C. urvillei subsp. urvillei* ve *C. ensiformis*) farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin antiprotozoal (*Plasmodium falciparum* ve *Leishmania donovani'*e karşı) ve antimikrobiyal aktiviteleri (*Candida albicans, C. glabrata, C.krusei, Cryptococcus neoformans, Mycobacterium intracellulare, Aspergillus fumigatus* ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı) in vitro olarak çalışılmıştır. *C. hierapolitana*'nın kloroform ekstresi klorokuine duyarlı ve klorokuine dirençli *P. falciparum* klonlarına karşı aktivite göstermiştir. Ekstreler arasında en yüksek antileismanial aktiviteyi *C. hierapolitana*'nın kloroform ekstresi göstermiştir. *C. depressa* ve *C. urvillei subsp. urvillei*'nin hekzan ekstreleri *Candida krusnei'*ye karşı antifungal aktivite göstemiştir. Son olarak, *C. urvillei* subsp. *urville*'nin kloroform ekstresi *Cryptococcus neoformis*'e karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Köse ve ark. (2007), Türkiye'de endemik bir tür olan *Centaurea aladagensis*'in toprak üstü kısımlarının uçucu yağ kompozisyonunu GC-MS ile analiz etmişler ve 7 adet insan patojen mikroorganizmasına (*Escherichia coli* NRRL B-3008, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes* NRRL B-3567*, Salmonella typhimurium* NRRL B-13311*, Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228*, Candida albicans, Staphylococcus aureus* ATCC 6538*)* karşı antimikrobiyal etkilerini broth mikrodilüsyon metodu ile araştırmışlardır. Uçucu yağda hekzadekoneik asit (39.3%), karyofillin oksit (6.6%) ve hekzahidrofarnesil aseton (4.3%) ana bileşenleri bulunmuştur. Ayrıca *Staphylococcus epidermidis'*e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Özçelik ve ark. (2007), *Centaura solstitialis* subsp. *solstitialis'*in toprak üstü kısımlarından izole ettikleri üç seskiterpen laktonunun (centaurepensin = klorohissopifolin A, klorojanerin ve 13- asetil solstitialin A) antimikrobiyal ve antiviral aktivitesini araştırmışlardır. Antimikrobiyal aktivitesi mikrodilüsyon metodu kullanılarak *Escherichia coli* ATCC 35218*, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145*, Enterococcus faecalis* 29212*, Staphylococcus aureus* ATCC 25923*, Candida albicans* ATCC 10231 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019'in standart ve izole edilmiş suşlarına karşı denenmiştir. Antiviral aktivitelerinin belirlenmesinde ise bir DNA virüsü olan *Herpes simplex* tip-1 ve bir RNA virüsü olan *Parainfluenza* kullanılmıştır. Ampicilline, afloxacine, ketoconazole, fluconazole, acyclovir ve oseltamivir referans ilaçlar olarak kullanılmıştır. 13- asetil solstitialin A, *E. faecalis'*e karşı ampicilline'in etki ettiği konsantrasyona çok yakın olan 1µg/ml konsantrasyonunda dikkate değer antibakteriyel aktivite göstermiştir. Aynı bileşik DNA virüsüne karşı da referans bileşiği acyclovir kadar etkili olan 16- <0.00006 konsantrasyonlarında önemli derecede antiviral aktivite göstermiştir.

Djeeddi ve ark. (2008), *Centaurea pullata*'nın toprak üstü kısımlarından yeni bir seskiterpen lakton bileşiği α-metil-γ-lakton, 8α-o-(4-hidroksi-2-metilenbutanoloksi) ve melitensin'e ek olarak aynı lakton halkalarıyla bağlanmış, bilinen dört seskiterpen lakton melitensin, 11β,13 dihidrosalonitenolid, 8α-hidroksi-11β,13-dihidro-4-epi-sanchucarpolide ve 8α-hidroksi-11β,13-dihidro-onopordaldehit

izole etmişlerdir. İzole edilen seskiterpen laktonların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in vitro olarak altı adet bakteri ve sekiz adet mantar türüne karşı mikrodilüsyon metodu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen tüm bileşiklerin kuvvetli antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmaya Ait Bitki Türleri

Araştırmada kullanılan bitki örneklerinden *Centaurea balsamita* Lam. Konya, Selçuk Üniversitesi kampüs alanı, 1050 m'den toplanmış ve Arş. Gör. Dr. Tuna Uysal tarafından teşhis edilmiştir. Diğer bitki örneği *C. coronopifolia* Lam. Yrd. Doç. Dr. Osman Tugay ve Arş. Gör. Dr. Tuna Uysal tarafından Çankırı- Bayat arası 40. km, 600 m'den toplanmış ve teşhis edilmiştir. Teşhis edilen bitki örneklerinden *C. balsamita* NY-1201 ve *C. coronopifolia* OT-2712-TU şeklinde numaralandırılmış ve herbaryum örneği haline getirilmiştir.

Centaurea balsamita Lam. : Tek yıllık, gövde erekt, 30- 80 (120) cm, üst kısımda birçok uzun kapitulat dalları ile ya da genellikle tektir. Gövde ve dallar saman rengi, glabresent. Yapraklar çok kısa tüyleri ile skabros, tümü dentikulat ya da nadiren tabanda birkaç kaba diş ile daha az dentikulat; biraz oblong, çiçeklenme zamanında solar, orta ve üsttekiler derece derece küçülür ve daha dardır, uçları 1-3 mm mucro. İnvolukrum 18-25 x 17-24 mm, trunkat tabanı ile ± ovoid. Apendajlar filarilerin tabanlarının daha büyük parçalarında gizli, kartilaginos, sarıdan açık kahve rengiye, basık, tringular, nadiren dekurrent, her yönde 8-12 düzenli tüylü derece derece daralır, (2-)3-4 mm spinul. En içteki filariler genellikle dar ve ince, genellikle kırmızımsı noktalı. Çiçekler sarı, çok azı staminodlarla nadiren radiant. Akenler 5-6 mm; pappus 4-5 mm, skabrostan barbellata, içteki dizi 1 mm. Çiçeklenme 7. ay. Step, ekilmemiş alanlar, 650-1900 m. (Wagenitz 1975) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Centaurea balsamita* Lam. genel görünüm

***Centaurea coronopifolia* Lam. :** Tek yıllık, 60 (-80) cm, tabana yakın kısımlardan dallanmış, gövde ve dallar saman rengi, glabresent. Yapraklar pubesent; çiçeklenme zamanında tabandakiler solar, 1-2 çift küçük lanseolat segmentlerle biraz lirat, diğerleri oblongdan lanseolata ya da linear-lanseolat, uçları kısa mukro. İnvolukrum (13-)15-19(-21) x 8-12 mm, ovoid, filariler hafif flokkos. Apendajlar sarı, tringular, 4-7 çift tüy ile (1.5-2.5 mm), uçları 2.5-4 mm spinul. Çiçekler sarı, çok azının tepe kısmı yuvarlak, pappus yok, merkezdeki akenler 2-4 mm barbellat tüylü pappus. Çiçeklenme 7-8. aylar. Step, işlenmiş alanlar, 500-1800 m. (Wagenitz 1975) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Centaurea coronopifolia* Lam. genel görünüm

3.1.2. Bakteriler

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için yapılan deneylerde insan, hayvan ve gıdalarda patojen olan mikroorganizmalar seçilmiştir. Çalışmada sekiz adet standart bakteri suşu kullanılmıştır. Bu suşlardan *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Konya İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğün'den temin edilmiştir. Diğer bakteri suşları *Escherichia coli* ATCC 29988, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus salivarius* RSHE 606 Selçuk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuarından temin edilmiştir.

Bacillus cereus; toprakta ve suda yaygın olarak bulunan kapsülsüz, hareketli, sporlu, gram pozitif, basil şeklinde bakterilerdir. (Ustaçelebi 1999). Sporları pastörize sütte sağlam olarak kaldıklarından sonradan açıldığında bakterilerin çıkmasına sebep olur. Oda sıcaklında üreyerek sütün bozulmasına yol açan başlıca bakteridir (Bilgehan 2000). İnsanlarda, besin zehirlenmeleri dışında infeksiyon oluşturmaz. Ancak, direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak abse, sellüloid, göz içi infeksiyonu, menenjit, endokardit, akciğer ve böbrek infeksiyonu ile osteomiyelit yapabilir. *B. cereus* geniş spektrumlu beta laktamaz ürettiği için penisilin, ampisilin ve sefalosporine dirençlidir (Ustaçelebi 1999).

Bacillus subtilis; sporları doğada çok yaygın olup, toz, toprak, gübre, bitki ve hayvanlar ile süt ve sularda bulunan bu bakteri, yaklaşık olarak 0.5-0.8 µm eninde, 1.5-3 µm boyunda, aerob, sporlu, Gram pozitif basillerdir. Bakteri aslında saprofit olmakla beraber doğrudan doğruya doku ve özellikle göz içine girmesi sonucunda panoftalmi, iridosiklit gibi göz yangıları meydana getirebilir. Ekmeğin yumuşayarak bozulmasına neden olur (Bilgehan 2000). İnsan ve hayvanlarda besin zehirlenmelerine yol açan fırsatçı patojenlerdir. *B. subtilis,* insanda bakteriyemi, septisemi, endokardit, solunum yolu infeksiyonları ve besin zehirlenmelerine neden olur (Ustaçelebi 1999).

Escherichia coli; yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda, 1- 1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak basil şeklinde bakterilerdir. Peritriş kirpikleri ile hareketlidir, fakat hareketleri yavaştır. Hareketsiz suşlar da vardır. Bazı suşları kapsüllüdür. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanır ve gram negatiftir (Ustaçelebi 1999).

E. coli, doğumdan birkaç saat veya birkaç gün içinde, sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal yoluna yerleşir. Bağırsakların normal flora üyesi olan *E. coli,* bağırsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır. *E. coli* aynı zamanda insan için önemli bir fırsatçı patojendir ve çoğu bakteriyel infeksiyonun sorumlusudur. Bağırsaklarda diyare oluşturan suşları dışında, kommensal olarak yaşarlar. Ancak vücutta başka bir organa, dokuya geçtiklerinde

infeksiyona neden olurlar (Ustaçelebi 1999). *E. coli'*nin birçok suşu ince barsaklara yerleşerek ağır sıvı kayıplarıyla seyreden diyareye neden olurlar. Diğer bazı suşları kalın bağırsağa yerleşerek dizanteriye neden olurlar. Bazı suşlarının ürettiği Shiga toksini kana geçerek hemolitik üremik sendroma neden olur ve kırmızı kan hücreleri ve böbreklerde hasara yol açar (Nester ve ark. 2004). Bağırsak dışındaki *E. coli* infeksiyonları, üriner yol infeksiyonları, solunum yolu infeksiyonları, menenjit (özellikle yenidoğanda) ve bakteriyemi'dir. Aynı zamanda septik artrit, endoftalmit, karaciğer absesi, endokardit, osteomiyelit, prostatit, sinusit, tromboflebit ve diğer infeksiyonlar da görülebilir (Ustaçelebi 1999).

***Staphylococcus aureus*;** üzüm salkımı şeklinde düzensiz kümeler oluşturan, hareketsiz, aerop ya da fakültatif anaerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif, kok şeklinde bakterilerdir. Çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve Gram pozitiftirler (Ustaçelebi 1999).

S. aureus, virülans ve önemli bir insan patojeni olarak bilinir (Baron ve Finegold 1990). Penisilin G, *S. aureus*'ların çoğunun beta- laktamaz yapmaları nedeniyle stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılamaz hale gelmiştir. Metisiline dirençli *S. aureus* son yıllarda artan hastane infeksiyonlarının etken patojeni konumundadır (Ustaçelebi 1999).

Stafilokok infeksiyonlarının ana bulgusu süspansiyondur ve irin dolu abse oluşturur (Ustaçelebi 1999). *S. aureus,* fronkül ve çıbanlar, çeşitli abseler, yara infeksiyonları, pnömoni ve daha ileri derecede deri lezyonlarını içeren çeşitli infeksiyonlara neden olur (Baron ve Finegold 1990). Ayrıca toksik şok sendromu, solunum sistemi infeksiyonları, endokardit, tromboflebit, protit, metastatik abseler ve besin zehirlenmelerine yol açarlar (Ustaçelebi 1999).

Salmonella typhimurium; yaklaşık olarak 2.0-5.0 µm boyunda, 0.7-1.5 µm eninde, çomakçık şeklinde, peritrih kirpikleri ile hareketli, sporsuz, kapsülsüz bakterilerdir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar ve Gram negatiftirler. Başta tetracycline'ler olmak üzere ampicillin, streptomycin ve sulfonamidlere karşı gittikçe

artan oranda direnç kazanmaya başlamışlardır. Bu direnç plazmitlere bağlıdır (Bilgehan 2000).

S. typhimurium, tifo, paratifo gibi genel infeksiyon hastalıklarına ve et, süt, yumurta, krema ve bunlardan yapılan çeşitli besin maddelerine bulaşmaları, uygun ortamda çoğalmaları ve bu besinlerin yenmesi ile insanlarda görülen kısa süreli akut ateşli veya çoğu kez ateşsiz şiddetli sürgün, bulantı ve kusma ile seyreden infeksiyonlara sebep olur. Ayrıca çeşitli yollarla vücuda giren *S. typhimurium* ve diğer bazı salmonellalar bağırsaklardan kana geçerek böbrek, eklem, kemikler, serozalar, menenjler, endokard, karaciğer, safra yolları ve diğer yerlere yerleşerek yangı ve abselere neden olurlar (Bilgehan 2000).

Streptococcus salivarius; yuvarlak ve yaklaşık 0.6-1.0 μm çapında, sporsuz, hareketsiz koklardır. Genel olarak bakteriyolojik boyalarla iyi boyanır ve Gram pozitiftir. İnsanda normal ağız florasında bulunurlar ve değişik oranlarda diş yüzeyi, diş eti aralıkları, diş kökü kanalı, damak, dil ve farinks mukozalarında bulunurlar. Yerlerini değiştirmeleri ve organizmanın direncinin kırılması durumuna bağlı olarak çeşitli hastalıklar oluştururlar. Yaptıkları başlıca hastalıklar fokal infeksiyonlar ve subakut bakteriyel endokarditttir (Bilgehan 2000).

3.1.3. Çözücüler

Kloroform: Kimyasal formülü $CHCl_3$ olan bileşiktir. Triklorometan olarak da bilinir. Metanın klorlu türevlerinden biridir. Anestezik ve çözücü olarak kullanılan, renksiz, saydam, çok hareketli ve alevlenmeyen ağır sıvıdır. -62 °C'de katılaşır ve 61 °C'de kaynar. Buharı havadan yaklaşık dört kat daha ağır olan bu sıvının özgül ağırlığı 20 °C'de 1.476'dır. Suda çok az çözünmesine karşılık hayvansal ve bitkisel yağlarda, alkolde, eterde, asetonda, benzende ve diğer organik çözücülerin çoğunda kolaylıkla çözünür (Uyar 1992).

Etil asetat: Organik kimya formülü $CH_3COOC_2H_5$ olan bileşiktir. Etil asetat 77 °C'de kaynayan bir sıvıdır. Boya, vernik, patlayıcı madde, fotoğrafçılık ve yapay tekstil maddeleri sanayilerinde çözücü olarak kullanılır. Etil asetat, esterler sınıfına girmektedir. Pratik olarak suda çözünmez, ama hem alkol hem de eterde çözünebilir. Kaynama noktası asitlerden düşüktür (Uyar 1992).

Aseton: Kimyasal formülü CH_3COCH_3 olan bileşiktir. Aseton, ketonların ilk örneğidir ve bunların temel özelliklerini taşır. Alkali ortamlarda kendi kendine yoğunlaşarak diaseton alkol ile mezitil oksit oluşturur. Bu bileşikler plastikleştirici ve çözücü maddelerdir. Aseton, kimya sanayisinin temel ürünlerinden biridir. Propenden elde edilen izopropanol ya da propen ve benzenden elde edilen kümen yükseltgenerek üretilir. Su, etanol ve eterde her oranda karışır. Aseton, 56 °C'de kaynar ve erime noktası -94 °C'dir. Özellikle selüloz esterleri için çok kullanılan bir çözücüdür. Yağlar, mumlar, reçineler, vernikler, lastik çimentoları için çözücü olarak kullanılır. Fotoğraf filmlerinin hazırlanmasında, hayvansal ve bitkisel maddelerden çeşitli maddelerin ekstraksiyon yoluyla ayrılmasında, parafinin saflaştırılmasında, dokuların sertleştirilmesinde ve suyun alınmasında kullanılır (Uyar 1992).

Etanol: Kimyasal formülü CH_3CH_2OH olan bileşiktir. Atmosfer basıncında 78.4 °C'de kaynar ve suyla her oranda karışabilir. Suyla karıştığında ısı açığa çıkar ve hacimce büzülmeye uğrar. Etanol glukozun mayalanmasından oluşur. Besin ve eczacılıktaki kullanımlarının yası sıra etanolden çözücü, motor yakıtı, kloral, kloroform, etil esterler ile olağan eterin elde edilmesinde ara madde, besin sanayisinde kullanılan asetik asit ya da sirke yapımında ana madde olarak kullanılır. Tıpta kullanılan araçların sterilizasyonunda kullanıldığı gibi organik bileşikler için iyi bir çözücüdür (Uyar 1992).

Dimetil sülfoksit (DMSO): Kimyasal formülü $(CH_3)_2SO$ olan bileşik 189 °C'de kaynar ve erime noktası 20 °'dir (Zywottek 2008). Saf DMSO kokusuz ve renksiz bir sıvıdır ve hem polar hem de nonpolar bileşikleri çözebilen polar aprotik bir çözücüdür. Üstün çözme gücü nedeniyle kimyasal reaksiyonlarda çözücü olarak kullanılır. DMSO karbonhidratlar, polimerler, peptidler gibi organik maddelerin

çoğunu çözebildiği gibi inorganik tuzları ve gazları da çözebilir. PCR reaksiyonlarında DNA primerleri ya da DNA kalıplarında sekonder yapıların oluşmasını engellemek için kullanılır. Ancak DMSO'nun PCR'da kullanımı mutasyonu arttırır. DMSO ayrıca hücrelerin ölmesini engellemek için yapılan dondurma işleminde bir kriyoprotektan olarak ortama ilave edilir. Kriyobiyolojide organ, doku ve hücre süspansiyonlarının korunması için kullanılan kriyoprotektan vitrifikasyon karışımının önemli bir bileşenidir. Embriyonik kök hücreleri ve hematopoetik kök hücrelerinin uzun süreli dondurularak saklanmasında kullanılan oldukça önemli bir bileşiktir (Wikipedia 2008).

3.1.4. Stok kültürler

Liyofilize halde temin edilen kültürler pasajlanarak -20 °C'de muhafaza edilen stok kültürler oluşturulmuştur. Stok kültürler %15 gliserol içeren Brain Heart Infusion Broth içinde muhafaza edilmiştir.

3.1.5. Çalışma kültürleri

Stok kültürlerden Nutrient Agar içeren petrilere ekim yapılarak çalışma kültürleri oluşturulmuştur.

3.1.6. Besiyerleri

Hazırlanan mikroorganizma suşlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan mikrodilüsyon metodunda Mueller Hinton Broth (Oxoid) kullanılmıştır.

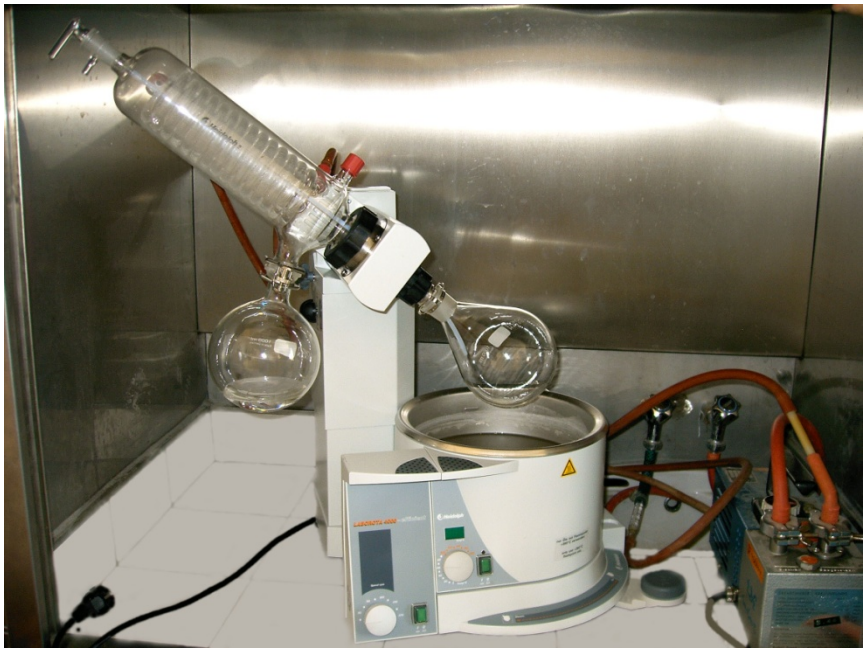
3.2. Metot

3.2.1. Ekstrelerin hazırlanışı

Toplanan bitki örnekleri uygun koşullarda kurutulduktan sonra aseptik şartlara uyularak bir mekanik parçalayıcı yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki örneklerinden 20 g tartılarak 200 ml kloroform içerisinde Soxhlet cihazına (Şekil 3.3) yerleştirilmiştir. 8 saat ekstraksiyon işlemine tabi tutulduktan sonra ekstraksiyon fazı ayrılmış ve materyal etüvde tamamen kurutularak aynı işlem sırasıyla diğer çözgenler olan etil asetat, aseton ve etanol için de tekrarlanmıştır. Soxhlet ekstraksiyonu neticesinde elde edilen ekstraktlar, Rotary evapatör (Şekil 3.4) kullanılarak 40 °C'nin altındaki bir sıcaklık derecesinde, düşük basınç altında tamamen toz haline gelinceye kadar uçurulmuştur. Toz haline getirilen ekstreler tartılarak 8 mg/ml oranında olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözülmüş ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3 Soxhlet cihazı



Şekil 3.4. Rotary evapatör

3.2.2. Mikrodilüsyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Bitkilerden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır.

Dilüsyon teknikleri bir mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilmiştir. Ancak bitki ekstreleri veya uçucu yağların da antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu metotta, ticari olarak geliştirilmiş 80, 96 veya daha fazla kuyucuğa sahip plaklar kullanılmaktadır. Bu kuyucuk serilerinde madde dilüsyonları hazırlanmakta ve az miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma etkinleştirilmektedir. İnkübasyondan sonra test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu üremenin varlığına veya yokluğuna göre belirlenmektedir. Üremenin varlığı ya da yokluğu bulanıklık tayiniyle yapılmakta ve üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri, Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri olarak tanımlanmaktadır (Anssen ve ark. 1987, Elof ve ark. 1998).

Antimikrobiyal testler için, 96 adet "U" tipi kuyucuklara sahip, steril mikrotitrasyon petrileri (Brand) kullanılmıştır. Bitki ekstrelerinin 160 µg/ml'den 0.078125 µg/ml'e kadar seri konsantrasyonları elde edilmiştir. Seri haldeki seyreltmeler tamamlandıktan sonra test organizmaları ilave edilmiştir. Test edilecek ekstrelerin yanı sıra çözücü kontrolü için DMSO ve ayrıca standart antibiyotik olan Gentamicin, pozitif kontrol olarak test edilmiştir.

-20 °C'de muhafaza edilen stok kültürler canlandırılmak üzere çıkarılarak oda ısısına getirilmiştir. İçinde Nutrient Agar bulunan petrilere ekilmiş ve 37 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyeri üzerinde gelişen kolonilerden alınarak Mueller Hinton Broth (MHB) bulunan tüplere aktarılmış ve tekrar 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra sıvı besiyerinde gelişen kültürlerden, Mc Farland 0.5 yoğunlukta yani yaklaşık

olarak 10^8 CFU/ml yoğunlukta olan bakteriyal süspansiyon Densitometre'de (Densimat; BioMérieux) ayarlanmıştır.

5.25 g MHB ve 250 ml saf su ile hazırlanan besiyeri (MHB) benmaride 70-80 °C'de eritilmiş ve daha sonra otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir.

Hazırlanan ve oda ısısında muhafaza edilen MHB'den plağın her kuyucuğuna 100 µl besiyeri konulmuştur.

Bitki ekstresinden 200 µl ve besiyerinden 300 µl alınarak ependorf tüpüne konulmuş ve karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışımdan 100 µl alınarak plağın ilk kuyucuğuna ilave edilmiştir. İlk kuyucukta elde edilen karışımdan tekrar 100 µl alınarak diğer kuyucuğa aktarılmıştır. Sırasıyla diğer kuyucuklarda da aynı işlem tekrarlanarak 12. kuyucuğa kadar seyreltme işlemine devam edilmiştir. 12. kuyucuklar kontrol kuyucuğu olduğu için en son seyreltilmiş olan karışımın tamamı burada bırakılmıştır. Yani diğer kuyucuklar 100 µl karışım içerirken 12. kuyucuk 200 µl karışım içermiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Ekstrenin seyreltilmesi

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

*B: Besiyeri

Plaklara bakteri ilavesi için ependorf tüpüne besiyerinden alınan 900 µl ile 100 µl Mc Farland 0.5 olan bakteri süspansiyonu karıştırılmıştır. Bu karışımdan alınan 100 µl'lik karışım 12. kuyucuklar hariç her göze ilave edilmiştir. Böylece her

kuyucuğun işlemler sonucunda içerdiği toplam karışım miktarı 200 µl'dir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Kuyucuklara bakteri ilavesi

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
100 µl E +B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	100 µl E + B + 100 µl bakteri	200 µl E + B

*E: Ekstre, B:Besiyeri

Plaktaki her sıra için aynı işlem farklı bakteri kullanılarak tekrar edilmiştir. Ayrıca her plakta farklı bir ekstrenin antimikrobiyal etkisi aynı işlemler tekrar edilerek denenmiştir.

Kontrol antibiyotiği olan Gentamicin (20 mg/ml) de bitki ekstrelerinin başlangıç konsantrasyonu olan 8 mg/ml olacak şekilde fizyolojik su ile seyreltilmiştir. Aynı işlemler Gentamicin için de tekrar edilmiş fakat iki plak yan yana konularak 24 kuyucuk kullanılmıştır. Böylece 160 µg/ml'den 0.000019 µg/ml'e kadar seri konsantrasyonları elde edilmiştir.

Kullanılan her plak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Centaurea balsamita ve *C. coronopifolia* türlerinden elde edilen kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstrelerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız mikrodilüsyon metodunda, 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).

Çalışma sonucunda en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi, *B. cereus*'a karşı göstermiştir. En düşük antimikrobiyal aktiviteyi ise *C. coronopifolia'*nın etanol ekstresi, *S. aureus* suşlarına karşı göstermiştir.

Çalışmada kullanılan bitkilerden elde edilen ekstreler içerisinde, *C.balsamita*'nın kloroform ekstresinin test mikroorganizmalarına karşı en kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu açıkça görülmüştür. Ekstre, *B. cereus'*a karşı kontrol antibiyotiği Gentamisin'nin etkili olduğu 160-0.3125 µg/ml konsantrasyon aralığından daha düşük olan 160-0.039063 µg/ml konsantrasyon aralığında etkili olmuştur. *S. aureus'*un her iki suşuna karşı 160- 20 µg/ml konsantrasyonlarında etki etmiştir. *S. typhimurium* ve *S. salivarius*'a karşı 160-80 µg/ml konsantrasyon aralığında etkili olurken, en düşük antimikrobiyal etkiyi 160 µg/ml konsantrasyonunda *B. subtilis* ve *E. coli* suşlarına karşı göstermiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Centaurea balsamita'*nın kloroform ekstresinin antimikrobiyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-
B	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+												
C	-	•	•	+	+	+	+	+	+	+	+	-												
D	-	•	•	+	+	+	+	+	+	+	+	-												
E	-	-	-	-	•	+	+	+	+	+	+	-												
F	-	-	-	-	•	+	+	+	+	+	+	-												
G	-	-	•	+	+	+	+	+	+	+	+	-												
H	-	-	•	•	•	+	+	+	+	+	+	-												

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

*C. balsamita'*nın etil asetat ekstresi en çok *S. aureus* suşlarına karşı, 160- 20 µg/ml konsantrasyonlarında etkili olmuştur. *B. cereus*'a karşı 160- 40 µg/ml konsantrasyon aralığında etki etmiştir. Ekstrenin, *S.typhimurium, S.salivarius, B. subtilis* ve *E. coli*'nin her iki suşuna karşı 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olduğu gözlenmiştir. Ancak *S. salivarius*'a karşı göstermiş olduğu inhibisyon etkisinin diğerlerine göre daha az olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *Centaurea balsamita*'nın etil asetat ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

C. balsamita'nın aseton ekstresi en kuvvetli inhibisyon etkisini 160- 20 µg/ml konsantrasyon aralığında *S. aureus* suşlarına karşı göstermiştir. *B. cereus*' karşı ise 160-80 µg/ml konsantrasyonunda etkili olmuştur. *B. subtilis, S.typhimurium, S. salivarius* ve *E. coli* suşlarına karşı minimum inhibisyon değeri 160 µg/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Centaurea balsamita'*nın aseton ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

*C. balsamita'*dan elde edilen ekstreler arasında en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olan etanol ekstresi *B. cereus* dışındaki tüm test mikroorganizmalarına karşı 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili oluştur. *B. cereus'*a karşı ise 160-80 µg/ml konsantrasyon aralığında etki etmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *Centaurea balsamita'*nın etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

C. coronopifolia'dan elde edilen kloroform ekstresi en çok *S. aureus* suşlarına karşı 160-20 µg/ml konsantrasyon aralığında etkili olmuştur. *B. cereus*'a karşı 160-40 µg/ml, *B. subtilis, S. typhimurium, S. salivarius* ve *E. coli* suşlarına karşı ise 160 µg/ml konsatrasyonunda antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *Centaurea coronopifolia*'nın kloroform ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

C. coronopifolia'nın etil asetat ekstresinin, test mikroorganizmalarından *S. aureus*'un her iki suşuna karşı da 160-20 µg/ml konsantrasyon aralığında etkili olduğu belirlenmiştir. *B. cereus*'a karşı 160-80 µg/ml konsantrasyonlarında, *B. subtilis, S. typhimurium, S. salivarius* ve *E. coli* suşlarına karşı ise 160 µg/ml konsantrasyonunda etki edebildiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *Centaurea coronopifolia'*nın etil asetat ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

*C. coronopifolia'*nın aseton ekstresi *B. cereus*'a karşı 160-40 µg/ml, *B. subtilis, S. typhimurium, S. salivarius* ve *E. coli* suşlarına karşı ise 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olurken en kuvvetli antimikrobiyal aktiviteyi *S. aureus* suşlarına karşı 160-20 µg/ml konsatrasyon aralığında göstermiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *Centaurea coronopifolia'*nın aseton ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

(-) Şeffaf, inhibisyon yok (•) Az bulanık (+) Bulanık

A. *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B.** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C. *Escherichia coli* ATCC 25922 **D.** *Escherichia coli* ATCC 29988

E. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F.** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G. *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H.** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

*C. coronopifolia'*dan elde edilen etanol ekstresinin, test edilen tüm bitki ekstreleri arasında en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ekstre, en kuvvetli aktiviteyi *B. cereus'*a karşı 160-40 µg/ml konsantrasyon aralığında göstermiştir. *B. subtilis, E. coli, S. typhimurium* ve *S. salivarius* suşlarına karşı 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olurken, test edilen konsatrasyon aralığında *S. aureus* suşlarına karşı etki göstermemiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. *Centaurea coronopifolia*'nın etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

Çalışmamızda çözücü olarak kullanılan dimetil sülfoksit (DMSO)'in herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olamadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Dimetil sülfoksit (DMSO)'in antimikrobiyal etkisi

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

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

Kontrol antibiyotiği olarak kullanılan Gentamicin'in de MİK değerleri belirlenmiş ve ekstrelerle karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak *C. balsamita*'nın kloroform ekstresinin *B. cereus*'a karşı Gentamicin'den daha kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Gentamicin'in antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Gentamicin'in antimikrobiyal etkisi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	•	-
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
H	-	-	-	-	-	-	-	-	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	+	+	-

- : Şeffaf, inhibisyon yok • : Az bulanık + : Bulanık

A: *Bacillus cereus* ATCC 14579 **B:** *Bacillus subtilis* ATCC 6633

C: *Escherichia coli* ATCC 25922 **D:** *Escherichia coli* ATCC 29988

E: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 **F:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

G: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 **H:** *Streptococcus salivarius* RSHE 606

C. balsamita'dan elde edilen kloroform ekstresinin, *C. coronopifolia*'dan elde edilen kloroform ekstresine kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Etil asetat ve aseton ekstreleri test mikroorganizmalarına karşı birbirine yakın etki göstermiştir. Her iki bitkiye ait etanol ekstrelerinin diğer ekstrelere kıyasla en düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

B. cereus bakterisine karşı tüm ekstreler 0.039063-160 µg/ml konsantrasyon aralığında etki etmişlerdir. *B. cereus*'un en çok *C. balsamita*'nın kloroform ekstresinden etkilendiği gözlenmiştir.

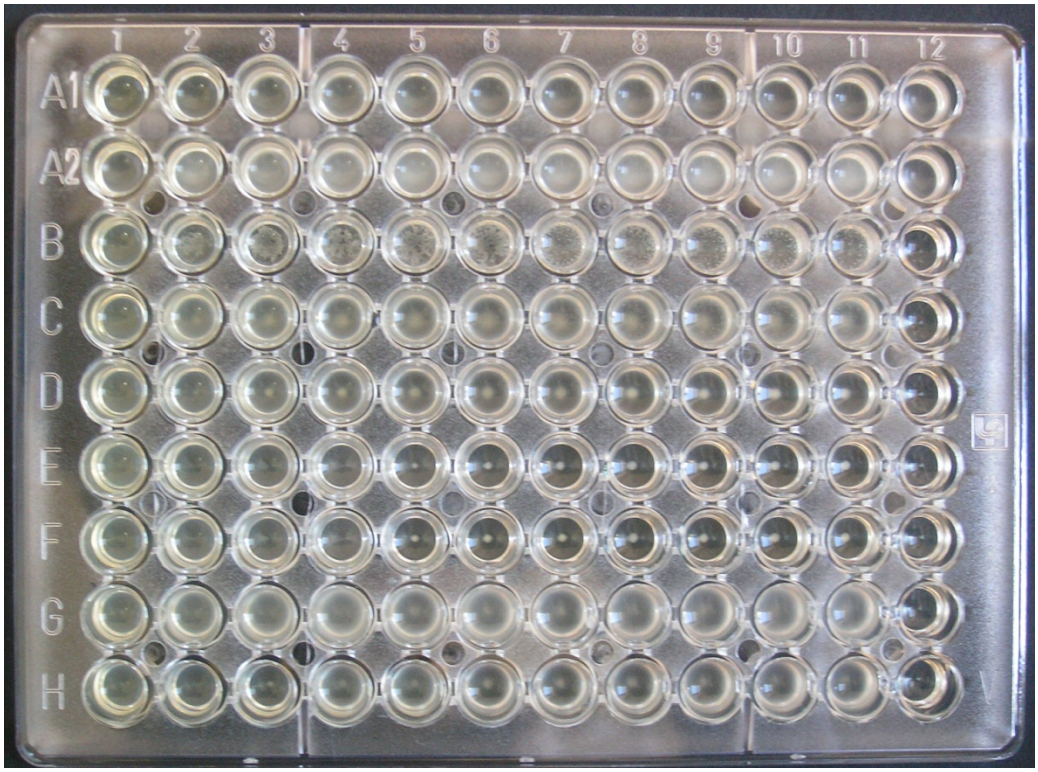
Tüm ekstreler *B. subtilis ve E. coli*'nin her iki suşuna karşı 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olmuştur.

Her iki bitkiye ait etanol ekstreleri dışındaki tüm ekstrelerin *S. aureus* suşlarına karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Ekstrelerin *S. aureus'*a karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları 20 µg/ml olarak belirlenmiştir. *C. balsamita*'nın etanol ekstresi 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olurken *C. coronopifolia*'nın etanol ekstresinin antimikrobiyal etkisi belirlenememiştir.

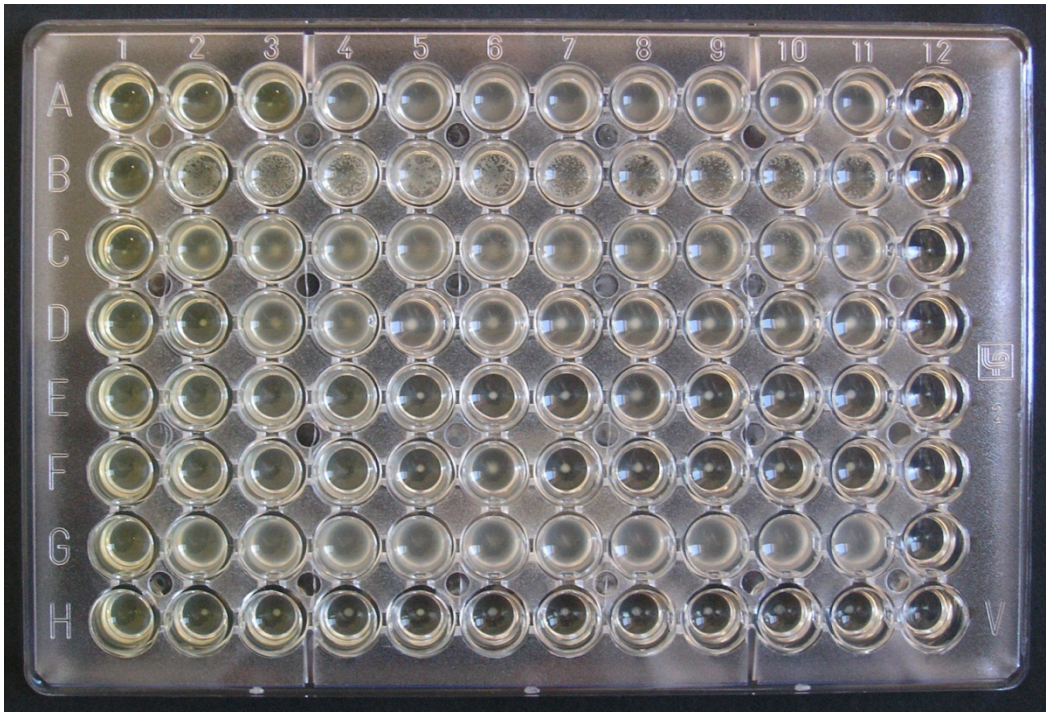
S. typhimurium bakterisine karşı *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi dışındaki tüm ekstreler 160 µg/ml konsantrasyonunda etkili olmuştur. *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi ise 80 µg/ml konsantrasyonunda minimum inhibisyon göstermiştir.

S. salivarius bakterisine karşı ekstreler 80-160 µg/ml konsantrasyon aralığında etki etmişlerdir. En yüksek etkiyi *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi 80 µg/ml minimum inhibisyon konsantrasyonunda göstermiştir.

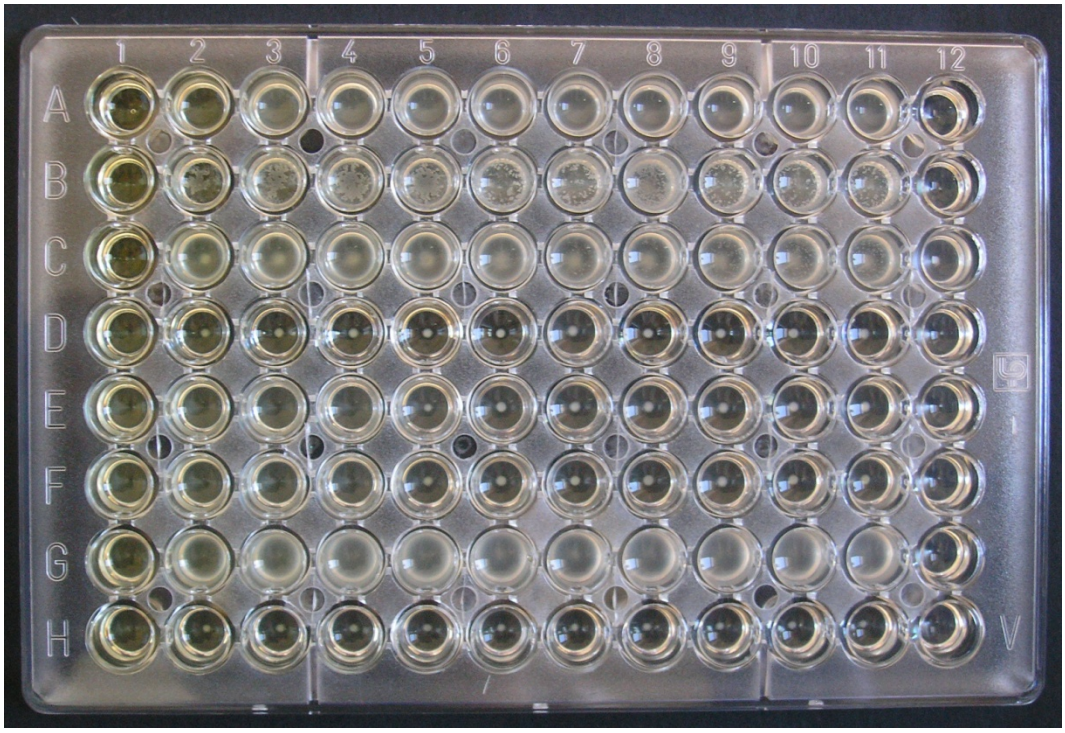
Araştırma sonucunda bitki örneklerine ait ekstrelerin test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri belirlenmiş ve sonuçlara ait fotoğraflar Şekil 4.1-4.11'de verilmiştir.



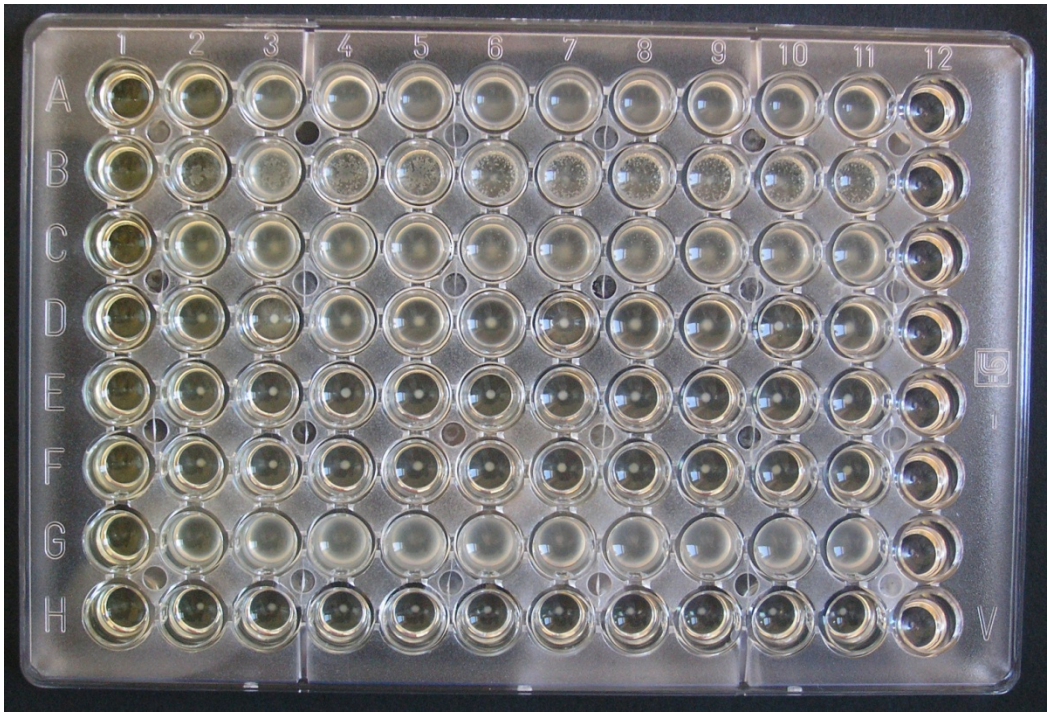
Şekil 4.1. *Centaurea balsamita* kloroform ekstresi uygulanan plak (A1-A2 *Bacillus cereus)*



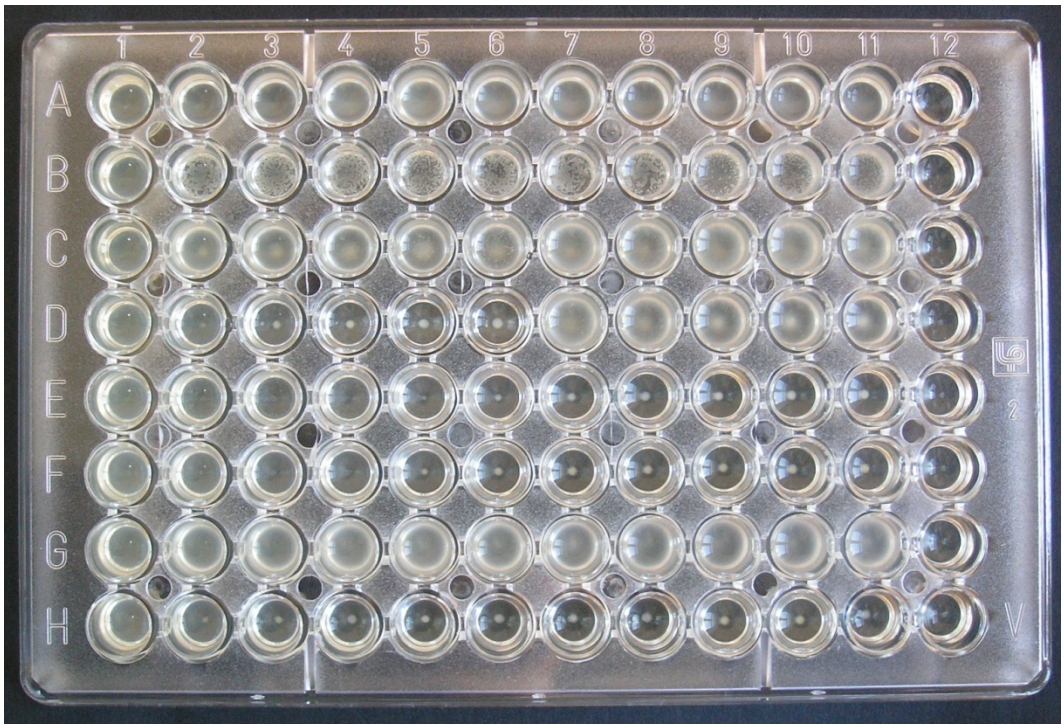
Şekil 4.2. *Centaurea balsamita* etil asetat ekstresi uygulanan plak



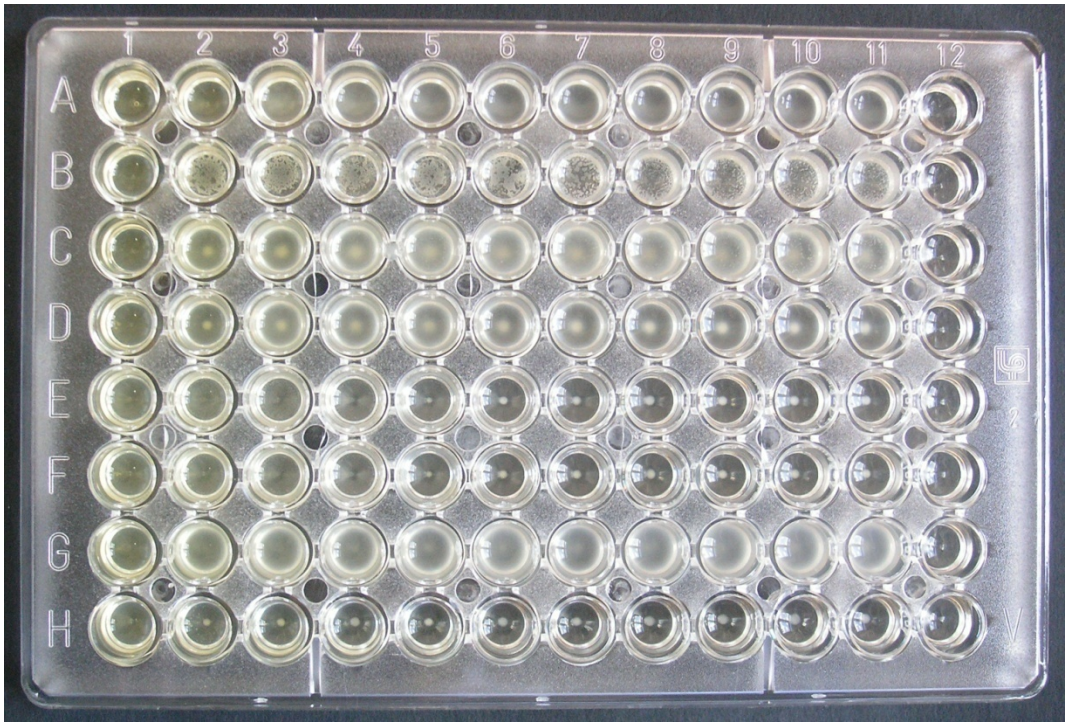
Şekil 4.3. *Centaurea balsamita* aseton ekstresi uygulanan plak



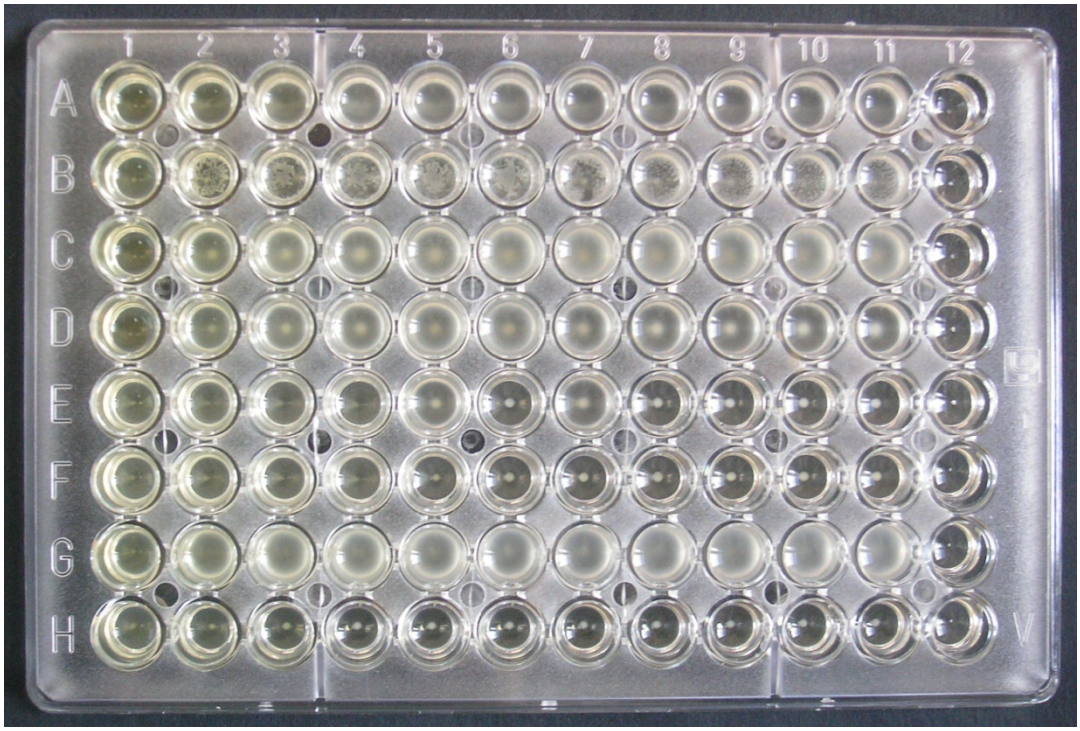
Şekil 4.4. *Centaurea balsamita* etanol ekstresi uygulanan plak



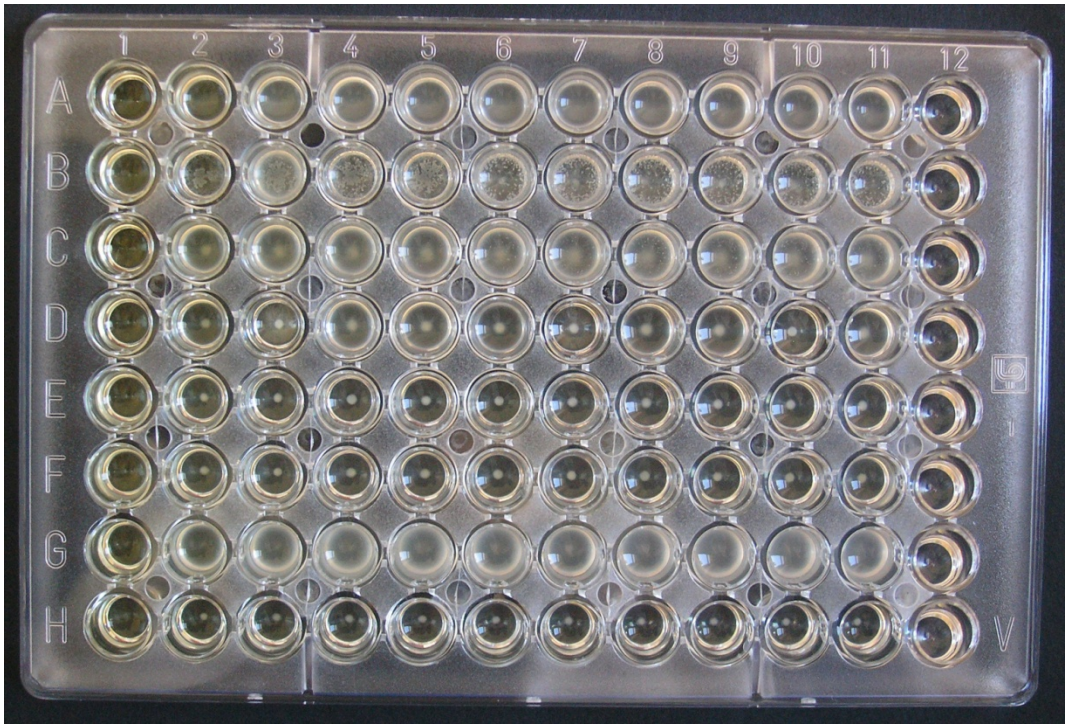
Şekil 4.5. *Centaurea coronopifolia* kloroform ekstresi uygulanan plak



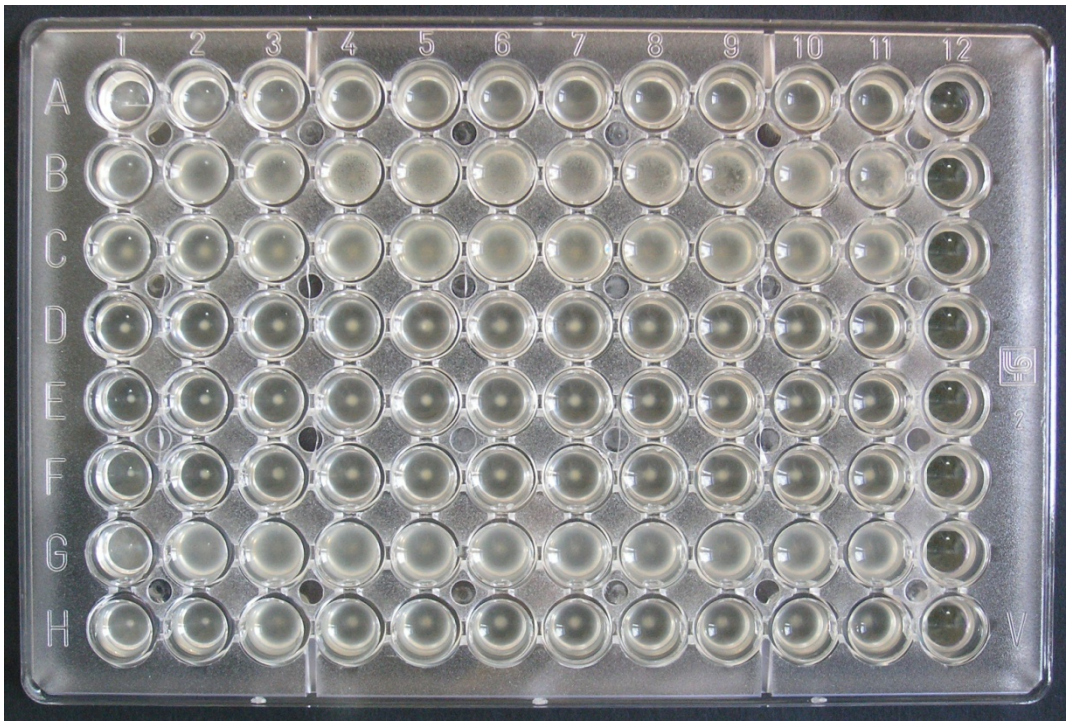
Şekil 4.6. *Centaurea coronopifolia* etil asetat ekstresi uygulanan plak



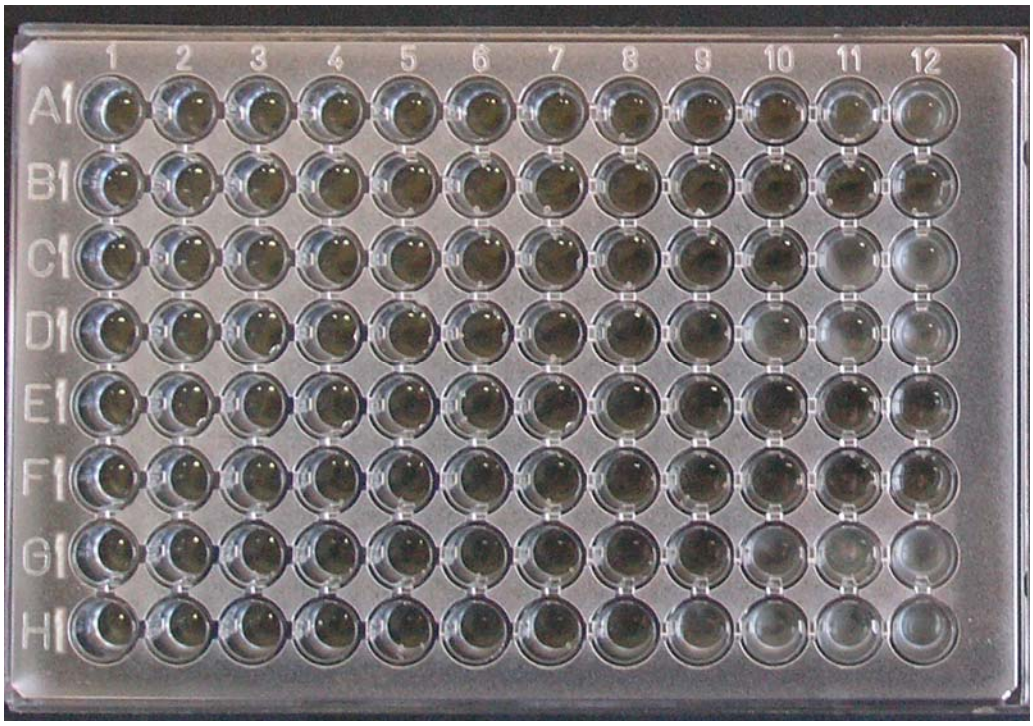
Şekil 4.7. *Centaurea coronopifolia* aseton ekstresi uygulanan plak



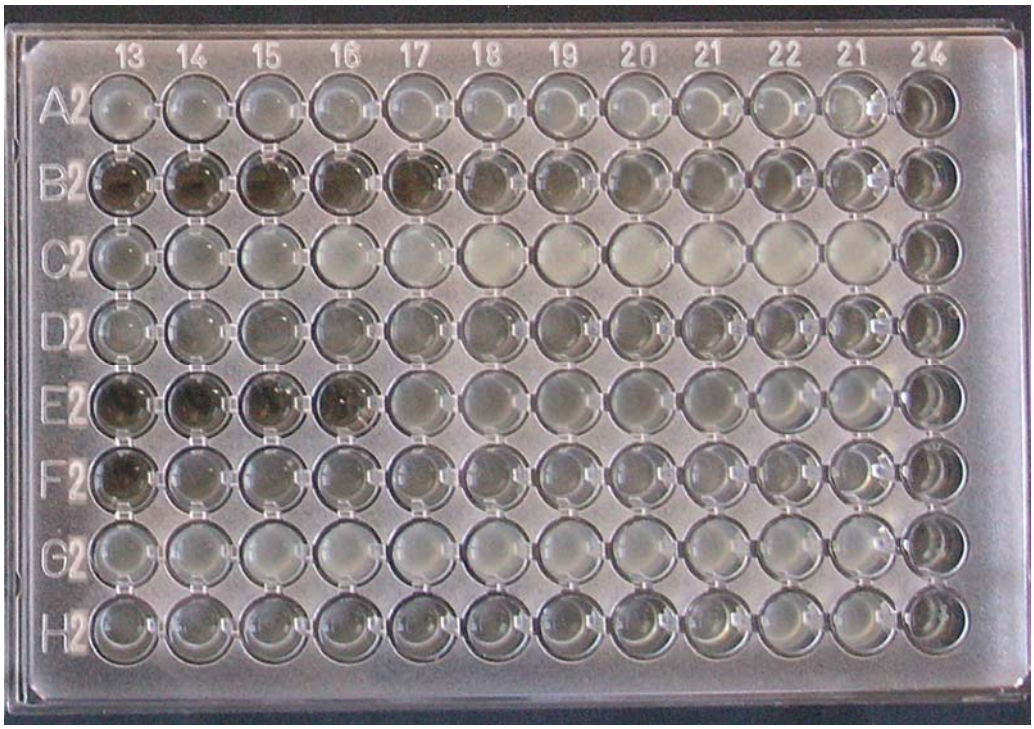
Şekil 4.8. *Centaurea coronopifolia* etanol ekstresi uygulanan plak



Şekil 4.9. Dimetil sülfoksit (DMSO) uygulanan plak



Şekil 4.10. Gentamicin uygulanan plak (1)



Şekil 4.11. Gentamicin uygulanan plak (2)

Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlara göre ekstrelerin MİK değerleri belirlenmiş ve Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK sonuçları (µg/ml)

	Centaurea balsamita				*Centaurea coronopifolia*				
	Kloroform	Etil asetat	Aseton	Etanol	Kloroform	Etil asetat	Aseton	Etanol	Gentamicn
B. cereus ATCC 14579	0.039063	40	80	80	40	80	40	40	0.3125
B. subtilis ATCC 6633	160	160	160	160	160	160	160	160	0.002441
E. coli O157 ATCC 35190	160	160	160	160	160	160	160	160	0.3125
E. coli ATCC 29988	160	160	160	160	160	160	160	160	0.625
S. aureus ATCC 25923	20	20	20	160	20	20	20	-	0.004882
S.aureus ATCC 6538	20	20	20	160	20	20	20	-	0.039063
S.typhimurium ATCC 14028	80	160	160	160	160	160	160	160	0.625
S. salivarius RSHE 606	80	160	160	160	160	160	160	160	1.25

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan iki türe ait ekstreler test mikroorganizmalarına karşı genellikle birbirine yakın antimikrobiyal etki göstermelerine rağmen bazı noktalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Araştırmamızda, *C. balsamita*'nın kloroform ekstresi *B. cereus'*a karşı diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite göstermiştir. Çalışmada kullanılan bitki ekstreleri *S. aureus* suşlarına karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken her iki türe ait etanol ekstrelerinin daha düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda hastanede yatan hastalarda stafilokok infeksiyonlarının çok sık görülmesi ve antibiyotiklere karşı gittikçe artan oranda direnç kazanmaya başlamış olmaları göz önünde bulundurulacak olursa, özellikle *S. aureus* suşlarına karşı elde edilen sonuçlar önem taşımaktadır.

Uysal ve ark. (2005), *C. balsamita*'nın toprak üstü kısımlarından elde ettikleri kloroform, etil asetat, aseton ve etanol ekstrelerinin antimikrobiyal etkisini disk difüzyon ve broth dilüsyon metodunu kullanarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak bitkinin aseton ve kloroform ekstrelerinin test mikroorganizmalarına karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Etil asetat ekstresi *E. coli* ATCC 25922'ye karşı 1.9 µg/ml, *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 3.9 µg/ml ve *B. cereus* ATCC 11778'e karşı ise 1.9 µg/ml minimum inhibisyon konsantrasyonunda etkili olmuştur. Etanol ekstresinin ise *E. coli*'ye karşı MİK 15.6 µg/ml değerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ise; kloroform ekstresi diğer ekstrelere göre en yüksek aktiviteyi gösterirken en düşük aktiviteyi etanol ekstresi göstermiştir. Her iki çalışmada da kullanılan *E. coli, S. aureus* ve *B. cereus* suşlarına karşı belirlenen MİK değerleri, tüm ekstreler için karşılaştırıldığında farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Elde edilen sonuçların tam bir uyum içinde olmamasının nedeni; çalışmalarda kullanılan bakterilerin suş numaralarının birbirlerinden farklı oluşu, kullanılan ekstrelerin aynı tür bitkilerden elde edilmiş olmalarına rağmen, genotipik özelliklerinin, yetiştikleri coğrafi bölgelerin, bu bölgelere ait iklimsel özelliklerin ve toplanma tarihlerinin farklı

olmasından ve buna bağlı olarak da farklı bileşenlere sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülebilir.

Ayrıca antimikrobiyal aktivite çalışmalarında genel olarak sonuçların birbiriyle karşılaştırılması ve tam bir uyumun elde edilmesi oldukça zordur. Bunun en önemli nedeni antimikrobiyal aktivitenin araştırılmasında kullanılan tekniklerin tam bir standardizasyona oturtulmayıp araştırıcıdan araştırıcıya değişmesi olarak belirtilmiştir (İşcan ve ark. 2004).

Yapılan kaynak araştırmasında, çalışmamızda kullanılan diğer tür olan *C. coronopifolia* ile ilgili herhangi bir antimikrobiyal aktivite çalışmasına rastlanmamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ülkemizde önemli bir yeri olan *Centaurea* cinsinin değişik kısımlarının gerek halk arasındaki kullanılışı ve gerekse literatürlerde belirtilen ulusal ve uluslar arası birçok biyolojik aktivite çalışmalarının yapılmış olması göz önüne alınacak olursa bu bitkilerden eczacılık ve tıp alanlarında değişik amaçlarla yararlanılabileceği ve bu açıdan üzerinde daha fazla çalışmaya değer olduğu anlaşılmaktadır.

Araştırmamızda incelenen bitkilere ait ekstrelerin belirli oranlarda patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Ekstrelere karşı en hassas bakteri suşları *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve 6538'dir. Çalışmamızda kullanılan bu bitkiler infeksiyon hastalıkların tedavisi için üretilen yeni ilaçların antimikrobiyal ajanları olarak kullanılabilirler.

Farmasötik etkilerin güçlülüğü bitkinin genetik yapısına, yetiştiği yere, toplandığı zamana ve depolanma süresi gibi çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Bitkisel ürünlerin aktivitesi iklim değişikliklerine bağlı olarak yıldan yıla değişir. Bunlara ek olarak bitkinin gerek kimyasal, gerekse mikrobiyal kontaminantlarla kirletilmemiş olması gerekir. Ayrıca ekstraksiyon süreci de bitkisel ürünlerin etkilerinin belirlenmesinde önemlidir, çünkü aşırı fraksiyon ve izolasyon aktivitenin azalmasına neden olabilir (Lui ve Wang 2007, Cardellina 2002, Lee 2004).

Tam kontrollü bir sistemin kurulması için, bitkiler standart üretim ve uygun zirai uygulama metodları kullanılarak yetiştirilmelidir (Lee 2004). Bu sistemler bitkisel ilaçların gelecekteki üretimi için çok daha uygundur (Lui ve Wang 2007).

Bu araştırmanın sonuçları incelendiğinde, çalışmada kullanılan bitki örneklerine ait ekstrelerin, bazı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bakterilerde antibiyotik direncinin artmasına karşılık antimikrobiyal özellik gösteren bitkilere ve bitkisel ürünlere karşı direnç kazandığı görülmemektedir. Bunun yanı sıra, günümüzde hastalıkların tedavisinde

kullanılan ilaçların bazı yan etkilerinin ortaya çıkması, bitkilerle tedaviye olan ilginin artmasına neden olmuştur. Bu bitkilerin geleneksel kullanımlarının bilimsel olarak açıklanması, bitkilerin ne için ve nasıl kullanılmaları gerektiği ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Yaptığımız çalışmada, bu çeşit araştırmaların sonuçlarının pratikte uygulanabilirliğine dair bazı temel bilgiler belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında, daha sonra yapılacak olan çalışmalarda, antimikrobiyal aktivitesi belirlenen ekstrelerdeki etken maddeler belirlenebilir. Etkili olan bileşikler bitkiden izole edilerek canlı dokular üzerinde de etkisi denendikten sonra, söz konusu patojen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklara karşı ilaç yapımında kullanılabilir.

Özer ve ark. (2001), sentetik olarak üretilen ilaçlar, bitkilerdeki herhangi bir aktif maddenin izole edilmesi suretiyle yapıldığını ve bu nedenle hastalık etmenleri sade bir yapısı bulunan sentetik ilaçlara karşı kısa zamanda dayanıklı ırklar oluşturarak ilaçları etkisiz hale getirebildiğini belirtmektedirler. Buna karşılık; bitkilerdeki aktif maddeler diğer maddelerle birlikte kompleks bir yapı oluşturduklarından hastalık etmenlerinin bu yapıyı çözerek dayanıklı ırklar oluşturması daha zor olmaktadır. Böylece; bitkisel kökenli ilaçlara karşı hastalık etmenleri ırk oluşturma olanağı çok zor olmaktadır. Çok zaman bitkisel kökenli ilaçların patojenlere karşı etkinliği az, fakat kullanılma süresi daha uzun olmaktadır.

Bu yüzden antibiyotiklere alternatif olarak bitkilerin ve bitkisel ürünlerin geleneksel antimikrobiyaller olarak kullanılmaları önerilmektedir. Aynı zamanda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması nedeniyle bitki ve bitkisel ürünlerin kullanılması bu yönden avantajlıdır (Nakipoğlu ve Otan 1992).

Türkiye mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Ülkemizin mevcut bitki potansiyelinin, çeşitli endüstri sahalarında kullanımı, dünyada yapılan çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde çok önemli olabileceği görülebilmektedir. Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de son yıllarda doğal zenginliklerin yavaş yavaş tükenmesi ve ekonomik olarak girilen

çıkmazlar, doğal ürünlerin çok amaçlı kullanımını zorunlu kılmıştır (Toroğlu ve Çenet 2006).

7. KAYNAKLAR

Abascal, K., Yarnell, E. 2002. Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resisrant Microbes. Alternative & Complementary Therapies. Part: 1, 237-241.

Anssen, A.M., Scheffer, J.J., Baerheim, S.A. 1987. Planta Medica, 53: 395-398.

Arif, R. 2002. *Centaurea* Türlerinin Biyolojik Aktivite Yönünden Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara.

Bais, H.P., Walker, T.S., Stermitz, F.R., Hufbauer, R.A., Vivanco, J.M. 2002. Enantiomeric-dependent pytotoxic and antimicrobial activity of (±)-catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. Plant Physiology, 128 (4): 1173-1179.

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 antimikrobial activity. Journal of Ethnopharmacology, 93:1-7.

Baron, E.J., Finegold, S.M. 1990. Diagnostic Microbiology. The C.V. Mosby Company, Philederphia.

Barreo, A.F., Oltra, J.E., Rodriguez, I., Barragan, A., Gravalos, D.G., Ruiz, P. 1995. Lactones from species of *Centaurea*. Cytotoxic and antimicrobial activities. Fitoterapia, 66 (3): 227-230.

Barreo, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Cabrera, E., Rodriguez- Garcia, I., Garcia- Moreno, M., Gravalos, D.G. 1997. Cytotoxic activity of flavonoids from *Carthsmus arborescens, Ononis natrix ssp. ramosissima* and *Centaurea malacitana*. Fitoterapia, 68 (3): 281-283.

Başer, K.H.C. 1997. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı. Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM), İstanbul Ticaret Odası, Yayın no: 39, İstanbul

Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi, No:40, İstanbul.

Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), 2. Baskı, Nobel Kitabevi, İstanbul.

Bilgehan, H. 2000. Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları), 10. Baskı. Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, İstanbul.

Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R.A., Napolitano, F., Senatore, F. 2003. Antibacterial evaluation of cnicin and some natural and semisynthetic analogues. Planta Medica, 69 (3): 277-281.

Buruk, K., Sokmen, A., Aydin, F., Erturk, M. 2006. Antimicrobial activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey. Fitoterapia, 77 (5): 388-391.

Cardellina, J. H. 2002. Challenges and apportunities confronting the botanical dietary supplement industry. Journal of Natural Products, 65: 1073-1084.

Dağcı, E.K., İzmirli, M., Dığrak, M. 2002. Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi 5 (1) 38-46.

Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia, Juniperus oxycedrus, Abies cilicia, Cedrus libani* and *Pinus nigra*. Phytotherapy Research, 13: 584-587.

Djeddi, S., Karioti, A., Sokovic, M., Koukoulitsa, C., Skaltsa, H. 2008. A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata:* Structure elucidation, antimicrobial activity and prediction of pharmacokinetic properties. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 16: 1725- 1731.

Dülger, B. Gücin, F., Malyer, H., Bıçakçı, A. 1997. Antimicrobial activity of Marigold (*Tagates minuta* L.). Acta Pharmaceutica, 39 (3): 115-119.

Dülger, B. Ceylan, M., Alitsaous, M., Uğurlu, E. 1999. *Artemisia absinthium* L. (Pelin)'un antimikrobiyal aktivitesi. Tr. J. Of Biology, 23 (3): 377-384.

Elof, J. N. 1998. Planta Medica, 64: 711-713.

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

Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P.L., Bagci, Y., Dural, H., Ertugrul, K., Uysal, T., Savran, A. 2006. A multivariate statistical approach to *Centaurea* Classification using essential oil composition data of some species from Turkey. Plant Systematics and Evolution, 261 (1/4): 217-228.

Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Ilarslan, R., Ilarslan, H. 1997. New chromosome counts in the subtribe *Centaureinae* (*Asteraceae, Cardueae*) from West Asia. Botanical Journal of the Linnean Society, 125 (4): 343-349.

Goldman, P. 2001. Herbal medicines today and the roots of modern pharmacology. Annals of Internal Medicine, 135: 594-600.

Guven, K., Celik, S., Uysal, I. 2005. Antimicrobial activity of *Centaurea* species. Pharmaceutical Biology, 43 (1): 67-71.

Gürkan, E., Sür-Altıner, D., Sarıoğlu, İ., Tuzlacı, E. 2000. *Centaurea hermannii* Bitkisinin Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri. XIII.XI. Bitkisel İlaç Hammaddeler Toplantısı Bildiri Kitabı. Ed. Coşkun, M., Marmara Üniversitesi Teknik Bilimler Eğitim Fakültesi Matbaa Birimi, İstanbul.

Hakim, M.S. 1982. Medicinal and Aromatic Plants in History- The History of Medicinal and Aromatic Plants 13. Karachi.

http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyl_sulfoxide, 2008.

İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. Tr. J. of Biology, 22: 119-125.

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, Bildiriler, Eskişehir.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C. 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test sistemi ile araştırılması. Tr. Botany, 18: 117—122.

Karamenderes, C., Khan, S., Tekwani, B.L., Jacob, M.R., Khan, I.A. 2006. Antiprotozoal and antimicrobial activities of *Centaurea* species growing in Turkey. Pharmaceutical Biology, 44 (7): 534-539.

Karioti, A., Skaltsa, H., Lazari, D., Sokovic, M., Garcia, B., Harvala, C. 2002. Secondary Metablites from *Centaurea deusta* with Antimicrobial Activity. Zeitschrift fur Naturforschung. Section C, Biosciences, 57: 75-80.

Kose, Y.B., Iscan, G., Demirci, B., Baser, K.H.C., Celik, S. 2007. Antimicrobial activity of the essential oil of *Centaurea aladagensis.* Fitoterapia. 78 (3): 253-254.

Kumarasamy, Y., Fergusson, M.E., Nahar, L., Sarker, S.D. 2002. Bioactivity of moschamindole from *Centaurea moschata*. Pharmaceutical Biology, 40 (4): 307-310.

Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. 2002. Screening seeds of Scottish plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 83: 73-77.

Kumarasamy, Y., Middleton, M., Reid, R.G., Nahar, L., Sarker, S.D. 2003. Biological activity of serotonin conjugates from the seeds of *Centaurea nigra.* Fitoterapia, 74 (6): 609-612.

Kumarasamy, Y., Nahar, L., Cox, P.J., Dinan, L.N., Ferguson, C.A., Finnie, D.A., Jaspars, M., Sarker, S.D. 2003. Biological activity of lignans from the seeds of *Centaurea scabiosa.* Pharmaceutical Biology, 41 (3): 203-206.

Lee, K. H. 2004. Research and discovery trends of chinese medicine in the new century. Journal of Chinese Medicine, 15: 151-160.

Liu, Y., Wang, M.W. 2007. Botanical drugs: challenges and opportunities Contribution to Linnaeus Memorial Symposium 2007. Life Sciences, 82: 445-449.

Lonergan, G., Routsi, E., Georgiadis, T., Agelis, G., Hondrelis, J., Matsoukas, J., Larsen, L.K., Caplan, F.R. 1992. Isolation, NMR studies and biological

activities of onopordopicrin from *Centaurea sochnifolia*. Journal of Natural Products, 55 (2): 225-228.

Nakipoğlu, M., Otan, H. 1992. Tıbbi Bitkilerin Flavanoitleri. Anadolu J. of AARI, 4 (1): 70-93, MARA,İzmir.

Negrete, R., Backhouse, N., Avendano, S., San Martin, A. 1984. Dehydrocostus lactone and 8β-hydroxydehydrocostus lactone in *Centaurea chilensis* Hook and Arn. Plant. Med.Phytother., 18 (4): 226-232.

Negrete, R.E., Backhouse, N., Bravo, B., Erazo, S., Garcia, R., Avendano, S. 1987. Some flavonoids of *Centaurea floccosa* Hook and Arn., Plant. Med. Phytotter., 21 (2): 168-172.

Nester, E. W., Anderson, D.G., Roberts, C.E., Pearsall, N.N., Nester, M.T. 2004. Microbiology A Human Perspective. Mc Graw Hill Higher Education, Boston.

Orallo, F., Lamela, M., Camina, M., Uriatre, E., Calleja, M. 1998. Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of centaurein and centaureidin, two flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. Planta Med., 64 (2): 116-119.

Öksüz, S., Ayyıldız, H., Johansson, C. 1984. 6-Metoxylated and C-Glycosyl flavonoids from *Centaurea* Species. J. Nat. Prod., 47 (5): 902-903.

Öksüz, S., Ayyıldız, H. 1986. Sesquiterpene lactones from *Centaurea coronopifolia.* Phytochemistry, 25 (2): 535-537.

Özçelik, B., Gürbüz, I., Karaoglu, T., Yeşilada, E. 2007. Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis L. ssp. solstitialis.* Microbial Research, Doi: 10.1016.

Özer, Z., Tursun, N., Önen, H. 2001. Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam (Gıda ve Tedavi). Sf.133, 4Renk Yayınları, Ankara.

Ramadan, A.,Harraz, F. M., El-Naenaeey, E.Y. 1994. Antimicrobial activity of some medical plant extracts. Veterinary Medical Journal Giza, 41 (1): 47-53.

Raskin, I., Ribnicky, D.M., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N., Brinker, A., Moreno, D.A., Ripoll, C., Yakoby, N., O'Neal, J.M., Conwell, T., Pastor, I., Fridlender, B. 2002. Plants and human health in the twenty- first century. Trends in Biotechnology, 20: 522-531.

Rusak, G., Robinson, N., Pepeljnjak, S. 2002. Antibacterial and antifungal activity of extracts and quersetagetin derivate isolated from *Centaurea rupestris* L. acta biologica cracoviensia. Series Botanica, 44: 169- 174.

Skliar, M.I., Toribio, M.S., Oriani, D.S. 2005. Antimicrobial activity of *Centaurea diffusa.* Fitoterapia, 76: 737-739.

Sür-Altıner, D., Gürkan, E., Sarıoğlu, İ., Ang, Ö., Tuzlacı, E. 1997. *Centaurea hermannii* F. Hermann'nın antibakteriyel ve antifungal etkileri. XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Ed. Coşkun, M., Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 75, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 553.

Tan, A. 1992. Türkiye'de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları, Anadolu J. of AARI 2: 50-64, MARA, İzmir.

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

Toroğlu, S., Çenet, M. 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi. 9 (2): 12-18.

Ustaçelebi, Ş. 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, İstanbul.

Uyar, T. 1992. Organik Kimya. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Ankara.

Uysal, I., Celik, S., Olcatay, M. 2005. Antibacterial activity of *Centaurea* species having ethnobotanical features. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8 (12): 1812-1813.

Voigt, K. 2006. Our look at global burgeoning Asian herbal industry. The Wall Street Journal, June 11.

Vonderbank, H. 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. Pharmazie, 4: 198-207.

Wagenitz, G. 1975. *Centaurea* L. in "Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Ed. Davis P.H., Edinburgh University Press., Edinburgh, 465-586.

Yayli, N., Yasar, A., Gulec, C., Usta, A., Kolayli, S., Coskuncelebi, K., Karaoglu, S. 2005. Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena.* Phytochemistry, 66 (14): 1741-1745.

Yeşilada, E., Gürbüz, İ., Shibata, H. 1999. Screening of Turkish anti-ulserogenic folk remedies for anti- *Helicobacter pylori* activity. Journal of Ethnopharmacology, 66: 289- 293.

Zywottek, W.W., 2008. Chemical єt Reagents. Member of the Executive Board and General Partner of Merc KGaA, Darmstand.