

***PELARGONIUM ENDLICHERIANUM* Fenzl.
(GERANIACEAE) KÖK EKSTRELERİNİN
UMCA® PREPARATI İLE KARŞILAŞTIRMALI
ARAŞTIRILMASI**

Bio. Selda Çakal

Yüksek Lisans Tezi

***PELARGONIUM ENDLICHERIANUM* Fenzl.
(GERANIACEAE) KÖK EKSTRELERİNİN
UMCA® PREPARATI İLE KARŞILAŞTIRMALI
ARAŞTIRILMASI**

Bio. Selda Çakal

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalı

Eskişehir, Ocak 2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Selda Çakal
Doğum tarihi ve yeri : 10 Haziran 1982, Antalya
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Meltem Mah. Özgün Sitesi B/2 Blok D:11
Muratpaşa/ Antalya
0242 2376692
seldacakal@gmail.com.tr

Eğitim Durumu

İlköğretim : 9 Mart İlk Öğretim Okulu
Lise : Serik Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Yabancı dil : İngilizce, Almanca

Mesleki Deneyim

Akdeniz Üniversitesi Kordon Kanı Bankası (Danışman Biyolog olarak çalışmaya devam ediyor.)

Yayımlar

Poster Bildirisi : Mine Kürkçüoğlu, Selda Çakal, K.Hüsnü Can Başer, Atilla Ocağ, *Thymus samius* Ronniger & Rech. Fil. Uçucu Yağının Bileşimi, 17.Bitkisel İlaç Ham Maddeleri Toplantısı, İzmir (2007).
Poster Bildirisi : Müberra Koşar, Selda Çakal, Gökhan Dualı, Fatih Göger, K.Hüsnü Can Başer, *Pelargonium endlicherianum* FENZL. Kök Ekstrelerinin Antioksidan Özellikleri, 18.Bitkisel İlaç Ham Maddeleri Toplantısı, İstanbul (2008).

Bilimsel Etkinlikler

Burslar : Tübitak Araştırma Projesi Bursu
Organizasyonunda bulunulan toplantılar : International Symposium 7th Plant Life of Southwest Asia, Anadolu University, Eskişehir, 2007.
Katılınan kurslar ve eğitim programları : Tübitak Ekolojik Temelli Çevre Eğitimi, 2005.

ÖNSÖZ

Bu tezin gerçekleşmesi için olanak sağlayan, bilgisini ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden her türlü desteğini esirgemeyerek tecrübe ve bilgisi ile bana her zaman yardımcı olan, değerli hocam Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Neş'e Kırımer'e,

Tez konumu belirleyip bana araştırmalarımın her aşamasında yol gösteren, ilk günden itibaren bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, rahatsızlığım sırasında bana her türlü desteği ile güç veren, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Müberra Koşar'a,

Botanik araştırmalarımda yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. İlham Eröz Poyraz'a,

Laboratuvar çalışmaları ve analizler sırasında yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. Gökalp İşcan'a, Uzm. Bio. Fatih Göger'e, Bio. Gamze Çayırdere'ye ve Bio. Gökhan Dualı'ya,

Arazi çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Uzm. Bio. Fatih Göger'e ve Ecz. Aykut Bora Gürsu'ya,

Araştırmamın başlangıcından bitimine kadar her aşamada yardımlarını gördüğüm ve tüm bölüm olanaklarından yararlandığım Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanlığı'na ve üyelerine,

Tezde kullandığımız UMCA® Solüsyon isimli ilacı bize sağlayarak desteğini aldığım Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.'ye,

Beni her zaman destekleyen, maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme ve Cemal Uçar'a,

Bu çalışmada emeği geçen adı geçmeyen tüm arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

***Pelargonium endlicherianum* Fenzl. (GERANIACEAE) KÖK EKSTRELERİNİN UMCA® PREPARATI İLE KARŞILAŞTIRMALI ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmada, ülkemizde doğal olarak yetişen *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. köklerinin antioksidan ve antibakteriyal etki yönünden ülkemiz piyasasında bulunan *Pelargonium sidoides* DC. köklerinden hazırlanan Umca® adlı müstahzar ile karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Eskişehir'in Dağköplü köyünden toplanmış *P. endlicherianum* köklerinden çözücü olarak %11'lik etanol, %70'lik metanol ve kloroform kullanarak maserasyon yöntemi ile farklı polaritede ekstratlar hazırlanmıştır. Elde edilen ekstratların ve Umca'nın antioksidan aktivitesi, toplam fenol miktarı, indirgeme gücünün belirlenmesi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini süpürücü etki tayini, β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini, yöntemleri ile incelenmiştir. Tüm deneyler üç tekrarlı yapılmıştır. *P. endlicherianum* köklerinden hazırlanmış %70'lik metanol ekstratının antioksidan aktivitesinin Umca®'dan daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Köklerden elde edilen ekstratların ve Umca® ekstratının antibakteriyal aktivitesi Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalara karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. % 70'lik metanol ekstratı *Serratia marcescens*'e karşı standart antibakteriyal maddeye yakın aktivite göstermiştir.

Bu çalışma ile *P. endlicherianum* köklerine ait antioksidan ve antibakteriyal aktivite sonuçları ilk kez ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., Umca®, Antioksidan aktivite, DPPH, β-karoten/linoleik asit, Antibakteriyal aktivite.

RESEARCH INTO COMPARATIVE INVESTIGATION OF *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. (GERANIACEAE) ROOT EXTRACTS WITH UMCA[®] PREPARATION

ABSTRACT

In this study antioxidant and antibacterial activities of the root extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. growing in Turkey, were investigated by comparing with the drug Umca[®], which is prepared from *Pelargonium sidoides* DC. roots.

Extracts with different polarities were prepared via maceration of *P. endlicherianum* roots, collected from Dağküplü village of Eskişehir, using 11% Ethanol and 70% Methanol as solvent. The antioxidant activity of the extracts and Umca[®] were investigated by measuring total phenol level, assigning reducing power, 1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) free radical-scavenging and β -carotene/linoleic acid oxidation inhibiting power. All the experiments were repeated three times. Antioxidant activity of the 70% methanol extract was found to be higher than that of Umca[®].

Antibacterial activity of the root extracts and Umca[®] against Gram negative and Gram positive microorganisms were investigated by the microdilution technique. 70% methanolic extract displayed similar activity with the reference against *Serratia marcescens*.

Antioxidant and antibacterial activities of *P. endlicherianum* roots are shown for the first time.

Keywords: *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., Umca[®] solution, Antioxidant activity, DPPH, β -carotene/linoleic acid, Antibacterial activity

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Botanik Özellikler	2
Geraniaceae (Turnagagasıgiller) familyasının genel özellikleri	2
Familyanın botanik özellikleri	2
<i>Pelargonium</i> L'Herit cinsi	2
<i>Sistematikteki yeri</i>	3
Türkiye'de yetişen <i>Pelargonium</i> türleri	3
<i>Pelargonium endlicherianum</i> Fenzl.	3
<i>Pelargonium quercetorum</i> Agnew	6
<i>Pelargonium sidoides</i> DC	6
<i>Pelargonium</i> Türlerinin Kimyasal Bileşikleri	7
Ülkemizde Yetişen <i>Pelargonium</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Kimyasal Çalışmalar	8
<i>Pelargonium</i> Türlerinin Türkiye'de Halk Arasındaki Kullanımı	9
<i>Pelargonium</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları	9
<i>Antibakteriyel etki</i>	9
<i>Antitüberkular etki</i>	9
<i>Antioksidan etki</i>	10
<i>İmmünomodülatör etki</i>	10
<i>Antiparaziter etki</i>	10
GEREÇLER ve YÖNTEMLER	11
Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler	11
<i>Bitkisel materyal</i>	11
<i>Kimyasal maddeler</i>	11
<i>Kullanılan aletler</i>	11
DeneySEL çalışma	11
<i>Ekstrelerin hazırlanışı</i>	11
Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi	11
<i>Toplam fenol miktar tayini</i>	12
Antioksidan aktivite çalışmaları	12

<i>İndirgeme gücünün belirlenmesi</i>	12
<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini süpürücü etki tayini</i>	12
<i>β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini</i>	12
Ekstrelerin Antibakteriyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	13
<i>Mikroorganizmaların canlandırılması</i>	13
<i>Mikrobroth dilüsyon tekniği</i>	13
İnce Tabaka Kromatografisi	14
İstatistiksel Analiz	14
BULGULAR VE TARTIŞMA	15
Toplam Fenol Miktar Tayini	15
Antioksidan Aktivite Çalışmaları	16
<i>İndirgeme gücünün belirlenmesi</i>	16
<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini süpürücü etki tayini</i>	17
<i>β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini</i>	19
Antibakteriyal aktivite	22
<i>Mikrobroth dilüsyon tekniği</i>	22
İnce Tabaka Kromatografisi	24
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	26
KAYNAKLAR	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO VE ADI	SAYFA
Çizelge 1 <i>Pelargonium sidoides</i> ve Kök Ekstresi EPs® 7630'un Bileşimdeki Kimyasal Maddeler	8
Çizelge 2 <i>Pelargonium endlicherianum</i> Ekstrelerinin Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları	15
Çizelge 3 <i>P. endlicherianum</i> Ekstrelerinin ve Umca Solüsyonun Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Antibakteriyel Etki Sonuçları	24
Çizelge 4 <i>P. sidoides</i> Kök Ekstrelerinin Antibakteriyel Etki Sonuçları	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 <i>Pelargonium endlicherianum</i> Fenzl.: a. Sepal (Çanak Yaprak), b. Üst Petal (Taç yaprak), c. Alt Petal	4
Şekil 2 <i>P. endlicherianum</i> : Fenzl.A. Zigomorf Çiçek, B. Filamentler, C. Ginekium (Dişi organ) ve Mahmuz, D ve E. Merikarp, F. Tohum	4
Şekil 3 <i>P. endlicherianum</i> Fenzl. (Bütün Çiçek ve Habitat)	5
Şekil 4 <i>P. endlicherianum</i> Fenzl. (Çiçek)	5
Şekil 5 <i>P. endlicherianum</i> Fenzl. (Kök)	5
Şekil 6 <i>P. endlicherianum</i> 'un Türkiye'deki Dağılımı	6
Şekil 7 Antioksidan Aktivite Çalışmalarında Kullanılan UV-VIS Spektrofotometre	13
Şekil 8 Mikrodilüsyon Tekniğinde Kullanılan 96 (well) Kuyucuklu Mikrotitrasyon Petrisi	14
Şekil 9 <i>P. endlicherianum</i> Ekstreleri ve Standartların İndirgeme Güçleri	17
Şekil 10 DPPH• Radikali İle Hidrojen Verici Fenolik Bileşiklerin Reaksiyon Mekanizması	17
Şekil 11 <i>P. endlicherianum</i> Ekstreleri ve Standartların DPPH• Radikalini Süpürücü Etkileri	19
Şekil 12 DPPH• Radikalinin Deney Sırasında Renginin Menekşe-Mor Renkten Sarıya Doğru Açılması	19
Şekil 13 <i>P. endlicherianum</i> Ekstrelerinin ve Umca Solüsyonun Zamana Karşı Linoleik Asit Peroksidasyonunu Engelleyici Etkileri (Absorbans Değerleri)	21
Şekil 14 <i>P. endlicherianum</i> Ekstrelerinin ve Umca Solüsyonun Zamana Karşı Linoleik Asit Peroksidasyonunu Engelleyici Etkileri (% İnhibisyon Değerleri)	21
Şekil 15 Etilsetat:Metanol:Su (76:14:10) Çözücü Sisteminde Yürütülen Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Sonuçları	25
Şekil 16 %10'luk Asetik Asitle Doyurulmuş, Toluen:Eter (50:50) Çözücü Sisteminde Yürütülen Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Sonuçları	25

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece Santigrad
µL	: Mikrolitre
%	: Yüzde
AscAE	: Askorbik asite eşdeğer
ATCC	: American TYpe Culture Collection
BHT	: Bütilenmiş hidroksi toluen
DC	: <i>Pelargonium sidoides</i> türünün otör isminin kısaltması
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH•	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EPs® 7630	: <i>Pelargonium sidoides</i> sıvı kök ekstresi
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
FeCl ₃	: Demir 3 klorür
Fenzl	: <i>Pelargonium endlicherianum</i> türünün otör isminin kısaltması
GA	: Gallik asit
GAE	: Gallik asite eşdeğer
GC/MS	: Gaz kromatografisi/ Kütle spektrometresi
G(-)	: Gram negatif
G(+)	: Gram pozitif
IC ₅₀	: Inhibition concentration %50 , Maddenin %50'sini inhibe edebilen minimum konsantrasyon
IUCN	: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
Na ₂ CO ₃	: Sodyum karbonat
NO	: Nitrik oksit
NRRL	: Nothern Regional Research Lab
M	: Molar
MHA	: Müller Hinton agar
MHB	: Müller Hinton Broth
MIK	: Minimum inhibe edici konsantrasyon
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
nm	: Nanometre
TCA	: Trikloroasetik asit
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
Tris-HCl	: Trisma base ve hidroklorik asit ile hazırlanmış tampon çözelti
Tween® 20	: Polioksietilen-20-sorbitan monoelat
UV-VIS	: Ultra Viyole Visible

GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılışları insanlık tarihi kadar eskidir. Günümüzde de sentetik ilaçlar ile birlikte doğrudan tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılan bitkiler ve tedaviye yardımcı bitkiler tekrar önem kazanmıştır. Ayrıca dünyanın gelişmiş ülkeleri saf, sentetik veya yarı sentetik hammaddelerle üretilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinden dolayı bitkisel kaynaklara yönelmiş durumdadırlar (Branen, 1975; Baytop, 1999; Başer ve Kırimer, 2005; Sebranek ve ark., 2005).

Pelargonium sidoides DC., Güney Afrika'da doğal olarak yetişen ve son yıllardaki en popüler bitkilerden biridir. Bu bitkinin köklerinin uzun yıllardır Afrika'nın ilkel kabileleri tarafından tüberküloz hastalığının tedavisinde kullandığı bilinmektedir. Bu sebeple *P. sidoides* köklerinden yıllar süren klinik araştırmalar sonucu bitkinin yerel adından gelen ve uluslararası ismi Umkaloabo olan ilaç üretilmiştir. İlacın üst solunum yolları hastalıkları ve soğuk algınlığında, bağışıklık sistemini güçlendirerek belirtilerin şiddetini hafiflettiği ve hastalığın süresini kısalttığı belirtilmiştir (Kolodziej ve ark., 2003; Wagner ve Bradt, 2007).

P. sidoides kökünün patentli sıvı ekstresi (EPs® 7630) pek çok Avrupa ülkesinde uzun yıllardır kullanılmaktadır ve 2005 yılında Almanya'da tüm ilaçlar arasında en çok kullanılan üçüncü ilaç olmuştur. Ayrıca aynı bitkiden elde edilen drog Avrupa Farmakopesinde "*Pelargonii radix*" adı ile kayıtlıdır (http-8; European Pharmacopoeia, 2005).

Türkiye florasında 11.000'i aşkın damarlı bitki kayıtlıdır. Ülkemizin coğrafi konumu bu çeşitliliğin en önemli sebebidir. Bu zengin florada *Pelargonium* cinsinin iki tane türü (*Pelargonium endlicherianum* Fenzl. ve *Pelargonium quercetorum* Agnew) doğal yayılışa sahiptir (Davis, 1967a; Davis ve ark., 1988). Yapılan kaynak taramalarında ülkemizde doğal olarak yetişen *P. endlicherianum* kökleri ile yapılan herhangi bir aktivite çalışmasına rastlanmamıştır. Bu yüzden Eskişehir yöresinden toplanan *P. endlicherianum*'un *P. sidoides* ile benzer etkilere sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla, köklerinden elde edilen ekstratlar ile Umkaloabo'nun (Türkiye'deki ismi ile Umca® solüsyon) antibakteriyal ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi açısından karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

KAYNAK BİLGİSİ

Botanik Özellikler

Geraniaceae (Turnagagasıgiller) familyasının *Pelargonium* cinsi Türkiye florası'nda *Pelargonium endlicherianum* Fenzl. ve *Pelargonium quercetorum* Agnew adlı 2 tür ile temsil edilmektedir. Bu bölümde Geraniaceae familyasının genel özellikleri ve *Pelargonium* cinsinin botanik özellikleri özetlenmiştir.

Geraniaceae (Turnagagasıgiller) familyasının genel özellikleri

Bu familyanın adı tohum özelliklerine bağlı olarak verilmiştir. "Gerenos" Yunan sözlüğünde "turna" anlamına gelmektedir ve tohumların merkezinde turnaların gagasına benzeyen bir gaga şekli mevcuttur. Bu sebeple Geraniaceae (Turnagagasıgiller) adı verilmiştir. Tohumlar olgunlaştığı zaman kapsüllerinden fırlayarak etrafa dağılırlar. Familyaya ait cinsler *Erodium*, *Geranium*, *Hypseochoris*, *Monsonia*, *Pelargonium*, *Rhynchotheca*, *Sarcocaulon*, *Biebersteinia*'dır. Türkiye'de yetişen cinsler *Erodium*, *Geranium*, *Pelargonium*, *Biebersteinia*'dır (Davis, 1967a; Davis, 1967b; Davis, 1967c; Davis, 1967d; http-1)

Familyanın botanik özellikleri

Genellikle tek veya çok yıllık otsu, nadiren odunsu, ılıman ve subtropikal bölgelerde yetişen bitkilerdir. Yapraklar alternat veya karşılıklı, birleşik veya basit loplu, stipüllüdür. Çiçekler simoz umbellalarda nadiren tektir. Sepaller 5 serbest ve petaller 5 serbesttir. Stamenler tipik olarak 5-15, pistil 1 veya 3-5 loplu, ovaryum üst durumlu, 3-5 lokuluslu ve karpelli, ovüller her lokulusta 1-2, anatrop, plasentasyon eksenseldir. Meyve genellikle merikarplara ayrılan bir kapsuladır ancak uzun olan stilus orta eksene bağlı kalırken merikarpın tohum taşıyan alt ucu, yay (*Geranium*) veya spiral (*Erodium*) şeklinde kıvrılarak yukarı kalkar ve eksenenden ayrılır. Familyaya ait çiçekler genellikle pembe, mor-kırmızı, leylak rengi, mavi ve beyazdır ama sarı renkli çiçek yoktur. Familyaya ait türlerin çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağlar parfümeride ve *Geranium* oil adıyla aromaterapide kullanılmaktadır (Davis, 1967e; Lis-Balchin,1997; Tanker ve ark., 1998; Seçmen ve ark., 2000; Lis-Balchin, 2002; http-1; http-2; http-7).

Geraniaceae familyasına ait çiçek formülü: $K_5 C_5 A_{5+5+5; 5+5; 5} G_{(5-3)}$

Pelargonium L'Herit cinsi

Çok yıllık, tüysüz, tüylü ya da ipeksi tüylü ve salgı tüylüdür. Yapraklar karşılıklı ya da nadiren helisel dizilişli; tam ya da dişli, palmat, pinnatifi- parçalı; stipulalıdır. Çiçek durumu, umbellada 2-∞ (nadiren 1) zigomorf çiçek, 5 kiremitsi çanak yapraklar, tabanda birleşik ve gösterişlidir. Arkadaki sepal küçük, çiçek sapına yapışık ve nektaryumlu mahmuz olabilir. Taç yapraklar 5, hipogin ve kiremitsi; 2 üst petal diğer petallerden daha büyüktür. Stamenler 10 (Türkiye türleri 7 stamenli), hipogin, filamentler birleşik aşağıda, salgı organı yoktur. Ovaryum 5 loblu, 5 hücreli; meyve gagalı, olgunlaştığı zaman, tepenin tabanından yarılan 5 merikarp şeklindedir. Çoğunluğu Güney Afrika'da yayılış gösteren 250 kadar türü vardır (Davis, 1967a; Davis ve ark., 1988; Tütel, 1982).

Pelargonium cinsinin ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren 2 türü bulunmaktadır. Bunlar *P. endlicherianum* ve *P. quercetorum*'dur. Ayrıca çeşitli kültür formlarında, Güney Afrika türleri Türkiye'nin ılıman kısımlarında süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Bunlardan bazıları *P. zonale*, *P. peltatum* ve *P. × hybridum* (*P. inquinans* × *P. zonale*)'dur (Davis, 1967a; Davis ve ark., 1988; Tütel, 1982).

Pelargonium türleri Güney Afrika'da ilkel kabilelerin keşfedilmesi, bu kültürlerin öğrenilmesi, incelenmesi ve bu bilgilerin Avrupa'ya taşınmasından sonra yapılan bilimsel araştırmalarla büyük önem kazanmıştır. Şu an dünyada tıbbi olarak kullanılan ve piyasada standart ekstresi ve bu ekstreten hazırlanmış preparatı bulunan türlerden ikisi *Pelargonium sidoides* ve *P. reniforme*'dir. Bu türlerin kökleri ülkemizin de 1994 yılından itibaren resmi farmakopesi olan Avrupa Farmakopesi'nde "*Pelargonii radix*" adı ile kayıtlıdır (Kolodziej ve ark., 1998; European Pharmacopoeia, 2005).

Sistematikteki yeri

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Geraniales
Familya	: Geraniaceae
Cins	: <i>Pelargonium</i>

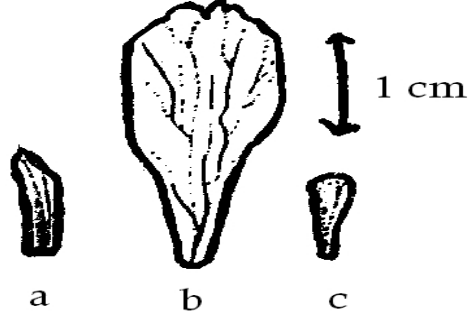
Türkiye'de yetişen *Pelargonium* türleri

***Pelargonium endlicherianum* Fenzl.**

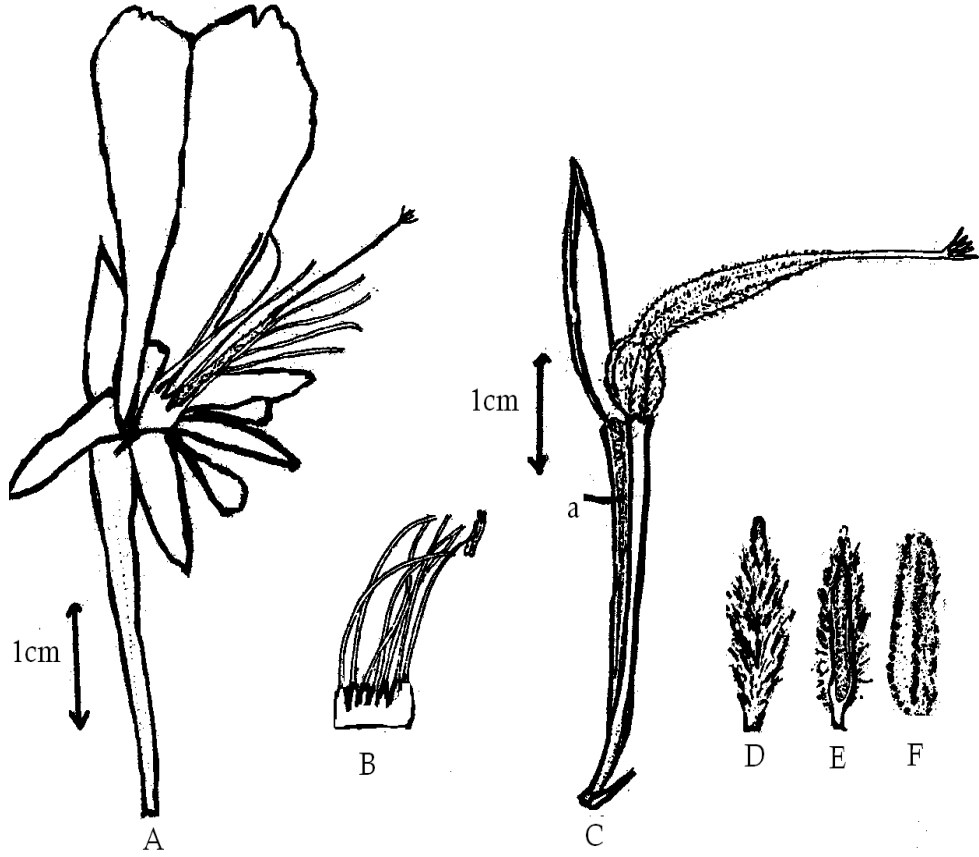
15-35 cm boyunda, tüylü rizomlu çok yıllık bir bitkidir. Tabanda, stipula (kulakçık) ve kuru yaprak sapı olan yapraklar mevcuttur. Rozet yapraklar dairesel, 2.5-6 cm, petiol 9-10 cm, taban kordat (kalp şeklinde), gövde yaprakları 1.8-4cm, petiol 1.5-6 cm ve helisel dizilişlidir. Bazal yapraklar uzun petiolat, yaprak şekli orbikular, yaprak kenarı krenat, çok kısa ve palmat loplu, gövde yaprakları alternatır. Bitkiye ait çizimler **Şekil 1** ve **Şekil 2**'de verilmiştir (Davis, 1967a; Tütel, 1982).

Çiçek durumu sapı (pedinkul) 6-7cm, tabanda 5 küçük derin loblu yaprak yer almaktadır, umbella 4-7 çiçekten oluşmuştur. Pedisel 2.1-3.4 cm, mahmuz 11-14 mm. Çanak yapraklar doğrusal dikdörtgenimsidir. Öndeki petaller 2.5 x 1,2 cm, 3-3.5 kat diğerlerinden daha büyük, tabanda tırnaklı, geniş spatül şeklinde, tepede küçük girinti, dalgalı; koyu pembe-kırmızı ve damarlar morumsu renktedir. Arkadaki petaller 7x2 mm boyundadır. Stamenler 7, filamentler aşağıda konnat, anterler oynaktır. Ovaryum 5 karpelli, yoğun tüylü ovaryum gagası 1-1.5cm boyundadır. Bitkiye ait resimler **Şekil 3**, **Şekil 4** ve **Şekil 5**'te verilmiştir. Çiçeklenme zamanı temmuz ayıdır. Taşlık, kayalık ve eğimli arazilerde yetişir. 1300-1500 m yüksekliklerde ve genellikle Orta Doğu ve Güney Anadolu ve Suriye'de yayılış gösterir. Türkiye'deki dağılımı özellikle Akdeniz ve İran-Turan bölgeleri arasındaki geçiş alanıdır. Türün bulunduğu iller içerisinde Adana, Ankara, Antalya, Artvin, Denizli, Eskişehir, Erzincan, Gaziantep, Hatay, Isparta, Kahramanmaraş, Kayseri, Konya, Malatya Muğla, Niğde, Sivas, Tunceli, yer almaktadır (Davis, 1967a; Karamanoğlu, 1974; Tütel, 1982; http-3). 1994 IUCN

kategorileri ve bunların açıklamalarına göre bu tür LR(nt); tehdit altına girebilir sınıfta yer almaktadır (Duman ve ark., 2000). *P. endlicherianum*'un Türkiye'deki dağılımı Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 1. *Pelargonium endlicherianum*: a. Sepal (Çanak Yaprak), b. Üst Petal (Taç Yaprak), c. Alt Petal (Tütel, 1982)



Şekil 2. *P. endlicherianum*: A. Zigomorf Çiçek, B. Filamentler, C. Ginekium (Dişi organ) ve Mahmuz, D ve E. Merikarp, F. Tohum (Tütel, 1982)



Şekil 3. *P. endlicherianum* (Bütün Çiçek ve Habitat)



Şekil 4. *P. endlicherianum* (Çiçek)



Şekil 5. *P. endlicherianum* (Kök)



Şekil 6. *P. endlicherianum*' un Türkiye'deki Dağılımı (Davis, 1967a)

Pelargonium quercetorum Agnew

Çok yıllık otsu bitkidir. 50-100 cm boyundadır, gövde üstte dallanmış, küçük guddeli ve seyrek olarak aşağı kısmı sert tüylü, üst kısmı tüsüzdür. Tabanda stipulalar ovat-oblong ve kağıtımsıdır. Yapraklar geniş, tüsüz ve 18 cm uzunluğunda, elsi parçalı, ortası genellikle 7 loblu, kenarları oymalı ya da dişlidir. Umbellalar 1-3, 30 üzerinde çiçeğe sahip, pedünküller 7-25 cm uzunluğunda birbirinden ayrı şekilde yer almaktadır. Brakteler 10-18 adet, ovat, 8-10 mm boyunda, kağıtımsı ve sillidir. Pediseller 15-28 mm boyundadır. Sepaller ovat, 10-17 mm, kısa mukronat koyu pembe. Çiçekler kokuludur. Üstte 2 petal, arkaya kıvrılmış damarlar koyu renklidir. Aşağıdaki 3 petal, 3-5 mm boyunda, bazen eksiktir. Stamenler 10 adettir (7 fertil, 3 tanesi verimsizdir). Meyvenin gagası 35-45 mm, yoğun olarak, ön tarafın yüzeyi yumuşaktır. Merikarplar oblong 9 mm, yumuşak tüyler geriye doğrudur (Davis ve ark., 1988).

Çiçeklenme zamanı haziran ayıdır. Nemli *Quercus* ve *Quercus* ile *Celtis* karışık çalılıklardaki kireçtaşı yamaçlarda, 1200-2000 m yükseklikte yetişir. Takson genel olarak Kuzey Irak'ta yayılış gösterirken Türkiye'de Hakkari ilinde ve C9-C10 karelerinde yer almaktadır (Davis ve ark., 1988).

P. quercetorum yurdumuzun nadir bitkilerinin arasına girmektedir. Bu bitki sınırlı bir yayılışa sahiptir ama pek fazla tehdit altında değildir. Çoğunlukla insan ve diğer faktörlerin etkisinden oldukça uzak yüksek dağlarda, taşlık ve kayalık ortamlarda yetişmektedir (Ekim ve ark., 1989).

Pelargonium sidoides DC

Tür ismi olan '*sidoides*' yapraklarının, *Sida rhombifolia* isimli bir Avrupa bitkisinin yapraklarına benzemesi nedeniyle verilmiştir. Çok yıllık otsu bir bitkidir (http-5).

Yapraklar rozet şeklinde, havadaki dallar üzerinde, yaşlı yaprak sapı ve stipula (kulakçık) örtülmüş, çiçeklendiği zaman 25-30 cm yüksekliğindedir. Gövde yer altında kalınlaşmıştır. Lamina basit, sıklıkla ince uzun yumuşak tüyler, salgı tüylerinin arasında gümüş renginde görünür. Lamina kalbe benzer, tabanı

kalp şeklinde, tepesi yuvarlaklaşmış, kenarlar oymalı dişli, 15-90 mm aralığında uzun ve geniştir. Yaprak sapı (petiol) 70-250 mm uzunluğundadır. Stipüller 3 köşeli, sivri uçludur, 5-12 mm uzunluğundadır (http-6).

Çiçek durumu; dallı 2-4 yalancı umbellalı, 3- 14 çiçek içerir. Pedisel 0-3 mm, nadiren daha fazladır. Sepaller 5 tane 3 köşeli ve ovattır. Hipantiyum 15-37 mm uzunluğundadır. Petaller koyu kırmızı-mor, çoğu zaman siyahımsıdır. Arka petal yuvarlak tepe ile şerit şeklindedir. 12-14x2-3 mm uzunluğundadır. Ön petaller 3 adet ve daha küçüktür. Stamenler 7 fertil, dört tanesi uzun, bir tanesi orta boylu, iki tanesi çok kısadır (http-6).

***Pelargonium* Türlerinin Kimyasal Bileşikleri**

P. sidoides ile yapılan çalışmalarda kökün etken maddeleri olarak kumarin ve türevleri, fenolik asit ve türevleri, flavonoidler, tanenler ve türevleri gösterilmektedir (**Çizelge 1**). Ayrıca *P. sidoides* ile yapılan bir çalışmada bitkinin toprak üstü kısmından elde edilen uçucu yağ Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile incelenmiş ve sonuçta yağın monoterpen ve seskiterpenlerce zengin olduğu belirlenmiştir (Kolodziej ve ark., 1998; Kolodziej, 2007).

Türkiye’de doğal olarak yetişen *Pelargonium* türlerinin kökleri ile ilgili olarak yapılmış kimyasal bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Çizelge 1. *P. sidoides* ve Kök Ekstresi EPs® 7630'un Bileşimdeki Kimyasal Maddeler (Kolodziej, 2007)

Maddeler	<i>P. sidoides</i>	EPs® 7630
<i>Fenolik asitler, türevleri</i>		
Gallik asit	+	+
Gallik asit metil ester	+	+
Şikimik asit 3- <i>O</i> -gallat	+	+
Şikimik asit		+
<i>Kumarinler</i>		
7-Hidroksi-6-metoksikumarin (Skopoletin)	+	+
7-Hidroksi-5,6-dimetoksikumarin (Umkalin)	+	+
7-Asetoksi-5,6-dimetoksikumarin	+	+
5,6,7-trimetoksikumarin	+	+
6,7,8-trihidroksi kumarin	+	+
7,8-Dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin (Fraksetin)	+	+
6,8-Dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin	+	+
5,6,7,8-Tetrametoksikumarin (Artelin)	+	+
8-Hidroksi-5,6,7-trimetoksikumarin	+	+
<i>Kumarin glikozitleri</i>		
Magnolizit	+	
İzofraksozit	+	
Umkalin-7-β- <i>D</i> -glikozit	+	+
<i>Kumarin sülfatlar</i>		
5,6-Dimetoksikumarin-7 sülfat	+	+
6,7-Dimetoksikumarin-8 sülfat	+	
6-Hidroksi-5,7-dimetoksikumarin-8-sülfat	+	
8-Hidroksi-5,7-dimetoksikumarin-6-sülfat	+	
<i>Flavon-3-ol/Proantosiyanidinler</i>		
Kateşin	+	
Gallokateşin	+	
Proantosiyanidin	+	+
<i>Diğer</i>		
β- Sitoserol	+	+

Ülkemizde Yetişen *Pelargonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Kimyasal Çalışmalar

Ülkemizde yetişen *P. endlicherianum* üzerinde toprak üstü kısımları ile yapılmış birkaç çalışma bulunmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ve tepe boşluğu (Headspace) yöntemiyle elde edilen uçucu yağ

karşılaştırmalı olarak GC/MS’de analiz edilmiştir. Uçucu yağda germakren-D, β -karyofillen, T-kadinol, α -karyofillen, α -pinen, β -pinen ana bileşenler olarak bulunmuştur (Bozan ve ark., 1999).

***Pelargonium* Türlerinin Türkiye’de Halk Arasındaki Kullanımı**

Pelargonium endlicherianum ülkemizde halk arasında “solucan otu” olarak bilinmektedir. Bilhassa Malatya ve Maraş bölgesinde, barsak kurtlarına karşı, yaygın olarak kullanılmaktadır. Taze ve çiçekli dallar yaz başında halk pazarlarında demetler halinde satılmaktadır. Yazın taze çiçekler barsak kurtlarına karşı 100 gr kadar yenilmektedir. Kış mevsiminde ise kurutulmuş çiçekler kullanılmaktadır. 100 gr taze çiçek veya 25 gr kuru çiçek havanda toz edilip, tülbentten elenir, ince kısım pekmez veya bal ile karıştırılır ve bu karışımdan sabahları, aç karnına, bir tatlı kaşığı alınır. Özellikle yuvarlak barsak parazitlerine (askarit, oksiyür) karşı etkili ve tehlikesiz bir drogdur. Çocuklarda da güvenle kullanılabilir. Taze droğun kuru drogdan, daha etkili olduğu söylenmektedir. Ayrıca “Elbistan solucan otu” ismiyle de bilinir (Baytop, 1999; http-4).

***Pelargonium* Türleri Üzerinde Yapılmış Biyoaktivite Çalışmaları**

Antibakteriyel etki

EPs[®] 7630 ile yapılmış olan çalışmada *Haemophilus influenzae*, *Moroxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* bakterilerinin büyümesini inhibe etmiştir (Lall ve ark., 2006).

Solunum yolu infeksiyonlarının çoğunda sorumlu patojenler olarak bilinen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, beta-hemolitik *Streptococcus* 1451, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Haemophilus influenzae*’ye karşı orta derecede etkili bulunmuştur (Kayser ve Kolodziej, 1997).

Aspergillus niger, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizopus stolonifer*’e karşı kök ekstresi orta derecede antifungal etkili olarak bulunmuştur (Lall ve ark., 2006). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada *Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*’ a karşı ve patojen olan fırsatçı mayalardan *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *Cryptococcus neoformans*’ a karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Kolodziej ve ark., 2003).

EPs[®] 7630’un *in situ* olarak insan midesine yapışmış *Helicobacter pylori* üzerinde yapışmayı önleyici (anti- adhesive) aktivitesine bakılmıştır. Ekstre 10 mg/ml konsantrasyonda oldukça aktif bulunmuştur. Bu sebeple *H. pylori* tedavisinin ilk aşamasında EPs[®] 7630’un kullanımının yararlı olduğu bildirilmiştir (Wittschier, 2007). *In vitro* olarak yapılan diğer çalışmalarda EPs[®] 7630’un 100 mg/ml konstrasyonda gastrik epitel hücrelerine yapışmış halde bulunan konakçı *H. pylori*’nin büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir (Beil, 2007; Hensel ve ark., 2007).

Antitüberkuler etki

P. sidoides kök örneği %12,5 mg/ml konsantrasyonunda *Mycobacterium tuberculosis*'in gelişimini inhibe etmiştir (Kolodziej ve ark., 2003).

Antioksidan etki

Pelargonium cinsine ait türler fenolik bileşiklerce oldukça zengindir. Fenolik nüveye sahip olan bileşiklerin antioksidan özelliklerinin kuvvetli olduğu son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarla gösterilmiştir (Boskou ve ark., 1998; Namiki, 1990). Ülkemizde de kültür formu olarak yetişen *P. zonale*'de bulunan alfa-tokoferol kuvvetli antioksidan özelliği olan bir fenolik bileşiktir (Mallet ve ark., 1994). *P. endlicherianum* toprak üstü kısımları ile yapılan çalışmada β -karoten/ linoleik asit oksidasyonunu engelleyici etkisi ve serbest radikal süpürücü etkisi (DPPH[•]) incelenmiş ve bitkinin toprak üstü kısımlarının kuvvetli antioksidan aktivitesi olduğu ortaya çıkmıştır (Tepe ve ark., 2006).

İmmünomodülatör etki

Virüslerin non-spesifik bağışıklık sistemini baskılaması sonucunda bağışıklık sistemi zayıflar ve bakteriyel enfeksiyonlar daha hızlı gelişir. Bu bilgiden hareketle *P. sidoides* kök ekstresinin, non-spesifik bağışıklık sistemini uyararak solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda *P. sidoides* kök ekstresinde bulunan bileşiklerin, bağışıklık sisteminin uyarılmasında rol oynayan fagositlerin ve sitokinlerin salgılanmasını arttırdığı belirlenmiştir (Kolodziej ve Kiderlen, 2007).

P. sidoides'in kök ekstresinin bağışıklık sisteminin uyarılmasında etkili olan Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve Nitrik Oksitlerin (NO) aktivasyonunda etkili olduğu yapılan bilimsel çalışmalarla tespit edilmiştir (Kolodziej ve ark., 2003).

EPs[®]7630 ve ultrafiltrasyonla ayrılan farklı fraksiyonlarının hayvan modelleri üzerinde anoreksi hastalığında, hastalığın belirtisi olan bulantıya karşı etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda EPs[®]7630, yüksek moleküler ağırlığına sahip fraksiyon ile beraber bulantı davranışının belirtilerinde azaltma göstermiştir (Nöldner ve Schötz, 2007).

Antiparaziter etki

P. sidoides kökünün *Leishmania major* üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Kolodziej ve ark., 2001; Kolodziej ve ark., 2006; Kolodziej ve Kiderlen, 2007).

GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler

Bitkisel materyal

Deneysel çalışmalarda kullanılan *Pelargonium endlicherianum* Eskişehir-Sarıcakaya yolu üzerinde Dağköplü köyü çıkışında yol kenarlarındaki kayalık bölgeden 21.06.2006 tarihinde toplanmıştır. Toprak üstü kısımlarından ayrılan kökler kurutulup değirmende toz edildikten sonra deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Bitki örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (ESSE 14553) nda saklanmaktadır.

Kimyasal maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik kalitede, kullanılan su ultra saf bidistile sudur (18 megaohm).

Kullanılan aletler

Çalkalamalı su banyosu (GL Science)
Rotavapor (Heildolph)
Santrifüj (Eppendorf)
Çalkalayıcı (Eppendorf)
Ultrasonik banyo (Bandalin Sonorex)
Vorteks karıştırıcı (Heildolph)
pH metre (WTW Inolab)
Etüv (Binder)
UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu)
Liyofilizatör (Lyovac)

Deneysel Çalışma

Bu bölümde *P. endlicherianum*'un toprak altı kısımlarının ekstraksiyonu ve eksterelerle yapılan antioksidan ve antibakteriyal aktivite çalışmaları hakkında bilgi verilmektedir.

Ekstrelerin hazırlanışı

P. endlicherianum'un toprak altı kısımları toz edildikten sonra çalkalamalı inkübatörde (28 °C) ayrı ayrı kloroform, %11'lik etanol ve %70'lik metanol ile 8'er saat süreyle katı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler vakum altında rotavaporda (< 40 °C) yoğunlaştırılmıştır. Ayrıca çalışmalarımızda standart olarak kullanılacak olan Umca® adlı, *P. sidoides*'in kökünden elde edilen %11'lik etanol solüsyonu vakum altında rotavaporda (< 40 °C) yoğunlaştırılmıştır. Ekstrelerin kalan sulu kısımları da liyofilizatör yardımıyla tamamen kurutulmuştur. Tüm ekstreler analiz anına kadar -18 °C'de saklanmıştır.

Ekstrelerin Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi

Bitkisel materyallerden hazırlanan ekstreler antioksidan aktiviteden sorumlu fenolik bileşikleri bakımından incelenmiştir.

Toplam fenol miktar tayini

Ekstrelerin içerdikleri toplam fenolik maddeler gallik asite eşdeğer (GAE) olarak Folin-Ciocalteu yöntemi (Singleton ve ark., 1999) kullanılarak hesaplanmıştır. 6 mL distile su içeren 10 mL ölçekli kap içerisine 100 µL örnek çözeltisi ve 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. 1 dakika sonra 1.5 mL %20'lik sulu Na₂CO₃ ilave edilip 10 mL'ye su ile tamamlanmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanılmıştır. 2 saat 25 °C'de inkübe edildikten sonra absorbans 760 nm'de ölçüldü (**Şekil 7**) ve gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı GAE olarak hesaplanmıştır. Üç paralel deney yapılarak sonuçlar ortalama değerler olarak verilmiştir.

Antioksidan Aktivite Çalışmaları

İndirgeme gücünün belirlenmesi

Ekstrelerin demir (III)'ü indirgeme kapasiteleri Oyaizu (1986) yöntemine göre yapılmıştır. 1 mL ekstre çözeltisi 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH 6.6) ve 2.5 mL %1'lik potasyum hekzasiyanoferrat çözeltisi ile karıştırılmıştır. 50 °C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra 2.5 mL %10'luk trikloro asetik asit (TCA) ilave edildi ve karışım 10 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak, 2.5 mL üst kısım üzerine 2.5 mL su ve 0.5 mL %0.1'lik FeCl₃ ilave edilip karıştırılarak 700 nm'de absorbansları okunmuştur (**Şekil 7**). Ekstrelerin indirgeme güçleri askorbik asite eşdeğer olarak (AsCAE) mg_{askorbik asit/görnek} olarak verilmiştir (Dorman ve ark., 2003). Büyük AsCAE değeri zengin indirgeme kapasitesini göstermektedir. Tüm analizler dört paralel olarak yapıldı ve ortalama değerler olarak verilmiştir.

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikalini süpürücü etki tayini

Ekstrelerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikalini süpürücü etkileri Gyamfi ve ark.'nın (1999) metoduna göre yapılmıştır. Tris-HCl tamponu (50 mM, pH 7.4) içerisinde hazırlanmış 50 µL ekstre çözeltisi 450 µL Tris-HCl tamponu (50 mM, pH 7.4) ve 1 mL 0.1 mM metanolde hazırlanmış DPPH[•] çözeltisi ile karıştırılmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı ve pozitif kontroller (BHT, askorbik asit) kullanılmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra absorbanslar 517 nm'de okunmuştur (**Şekil 7**). İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri nonlineer regresyon eğrileri kullanılarak (Sigma Plot 2001 version 7.0, SPSS Inc., Chicago, IL) hesaplanmıştır. Değerler dört paralel deneyin ortalaması olarak verilmiştir.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad \text{(Eşitlik 1)}$$

Burada, % inhibisyon: yüzde inhibisyon değeri; Abs_{kontrol}: kontrolün absorbans değeri ; Abs_{örnek}: örneğin absorbans değeri'dir.

β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini

Ekstrelerin antioksidan aktivitesi β-karoten soldurma deneyine göre yapılmıştır (Oomah ve Mazza 1996, Velioğlu ve ark 1998). Kısaca, 1 mL β-karoten (0.2 mg.mL⁻¹ kloroform içerisinde) içerisinde linoleik asit (40 mg) ve Tween 20 (400 mg) bulunan kap içerisine ilave edilmiştir. Kloroform azot altında yoğunlaştırılmıştır. 50 mL distile su ilave edildi ve hızla çalkalanmıştır. Kontrol,

örnek ve standart konulmadan aynı yöntem ile hazırlanmıştır. Kontrol ve örneklerin şahitleri ise β -karotensiz olarak hazırlanmıştır. Tüm numunelerin örnekleri 470 nm’de spektrofotometrede okunmuştur (Şekil 7). Sonra örnekler termal ootoksidasyon için 50 °C’ de 105 dakika su banyosunda bekletilmiştir. β -Karoten’in solma derecesi 15 dakikalık aralıklarla örnek alınarak izlenmiştir. Antioksidan aktivite sonucu üç deneyin ortalaması olarak aşağıdaki eşitliğe göre verilmiştir (Oomah ve Mazza 1996, Velioglu ve ark 1998).

$$AA\% = [1 - (Ab^0_{\text{örnek}} - Abs^{105}_{\text{örnek}}) / (Ab^0_{\text{kontrol}} - Abs^{105}_{\text{kontrol}})] \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Burada, AA%: yüzde antioksidan aktivite değeri; $Ab^0_{\text{örnek}}$: su banyosunda bekletilmeden okunan örneğin absorbans değeri; $Abs^{105}_{\text{örnek}}$: 105 dakika su banyosunda bekletildikten sonra okunan örneğin absorbans değeri; Ab^0_{kontrol} : su banyosunda bekletilmeden okunan kontrolün absorbans değeri; $Abs^{105}_{\text{kontrol}}$: 105 dakika su banyosunda bekletildikten sonra okunan kontrolün absorbans değeri’dir.



Şekil 7. Antioksidan Aktivite Çalışmalarında Kullanılan UV-VIS Spektrofotometre

Ekstrelerin Antibakteriyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Mikroorganizmaların canlandırılması

Farklı kültür koleksiyonlarından (ATCC, NRL) elde edilen mikroorganizmalar % 10’luk gliserol içinde Eppendorf tüplerinde stok olarak -85 °C’de muhafaza edildi. Deneylerden önce canlandırılmak üzere Gram pozitif (G+) ve Gram negatif (G-) mikroorganizmalar ise Müller Hinton Agar (MHA) katı besiyerleri 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra bütün mikroorganizmalar çift kuvvet Müller Hinton Broth (MHB) sıvı besiyerlerine aktarılıp tekrar 37 °C’de 24 saat daha inkübasyona bırakıldı. 18-24 saat inkübasyondan sonra sıvı besiyerlerinde gelişen kültürler, Mc Farland No: 0.5 standart tüpüne göre bulanıklık ayarı yapılarak çift kuvvet MHB tüplerine belirli miktarlarda aktarılmıştır.

Mikrobroth dilüsyon tekniği

In vitro mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Koneman ve ark., 1997, İşcan ve ark., 2002). Deney için 96 “U” tipi kuyucuklara sahip mikrotitrasyon petripleri (Brand) kullanılmıştır (Şekil 8). Test edilecek olan

ekstreler 16 mg olmak üzere steril flakonlara tartılmış ve sırasıyla %11'lik etanol ekstresi %11'lik etanolde, %70'lik metanol ekstresi %70'lik metanolde, Umca® ekstresi %11'lik etanolde, kloroform ekstresi metanol ve dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde tam olarak çözümleri sağlanmıştır. Daha sonra numuneler 2 mL'lik Eppendorf mikrotüpler içinde $1.95 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 'ye kadar MHB sıvı besiyeri ile seri olarak seyreltilmiş ve 100 μL olmak üzere kuyucuklara aktarılmıştır. 12. sütun mikroorganizmaların kontrolü için boş bırakılmış sadece MHB sıvı besiyeri ile doldurulup ve değerlendirme aşamasında pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sıvı besi ortamında çoğaltılmış mikroorganizmalar 10^8 koloni oluşturuca ünite/ml olacak şekilde yine çift kuvvet sıvı besi yerinde Mc Farland No: 0.5 standardı ile karşılaştırılıp steril ortamda seyreltilmiştir. Mikroorganizmalar 100 μL olmak üzere tüm kuyucuklara ilave edildikten sonra mikrotitrasyon petrilerinin kapakları kapatılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bulanıklığın çok az olduğu ve üremenin olmadığı ilk kuyucuktaki konsantrasyon, minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC, MİK) olarak $\mu\text{g}/\text{ml}$ cinsinden belirlenmiştir. Deneyler çift paralel olarak tekrarlanmıştır.



Şekil 8. Mikrodilüsyon Tekniğinde Kullanılan 96 (well) Kuyucuklu Mikrotitrasyon Petrisi

İnce Tabaka Kromatografisi

Ekstreler 10x10 cm boyunda iki ayrı hazır TLC cam plaklara, 1'er cm ara ile bant şeklinde, ince tabaka kromatografisi (İTK) cihazında (Camag) sırasıyla Umca®, %11'lik etanol, %70'lik metanol ve kloroform ekstreleri olmak üzere uygulanmıştır. Daha sonra uygulama yapılan plaklardan bir tanesi *P. sidoides* için Avrupa Farmakopesinde yer alan (European Pharmacopoeia, 2005) ve çözücü sistemi olan etilasetat:metanol:su (76:14:10) sisteminde, diğer plak ise % 10'luk asetik asitle doyurulmuş toluen:eter (50:50) çözücü sisteminde, doyurulmuş özel İTK tanklarında (Camag) ayrı ayrı develop edilmiştir. Çözücülerin seviyesi 10cm yüksekliğe ulaştığı zaman plaklar tanklardan çıkarılmıştır. Plakların ultraviyole ışığında 366 nm dalga boyunda resimleri çekilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama değer \pm standart sapma olarak verilmiştir. Bütün istatistiksel analizler SPSS 10.01(SPSS Inc., Chiago, IL) kullanılarak hesaplanmıştır. Varyans analizleri ANOVA prosedürü kullanılarak yapılmıştır. Karşılaştırma değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Toplam Fenol Miktar Tayini

Bitkisel materyalin ekstraksiyonu katı bir ortamdan katı bileşiklerin ayrılması esasına dayanır. “Katı-sıvı ekstraksiyonu” olarak bilinen bu tip ekstraksiyonda katı bir sıvı ile ekstre edilir. Bu aşamada yüksek ekstre verimini sağlamak için seçilen çözücü çok önemlidir (Lawrence, 1995). Bu nedenle *P. endlicherianum*'un toprak altı kısımları sırasıyla kloroform, %70'lik metanol ve %11'lik etanol ile ekstre edilmiştir. Ayrıca ilaç olarak kullanılan Umca[®] solüsyondan sıvı kısım (%11'lik etanol + gliserol) ayrılarak ekstre hazırlanmıştır. Burada deneysel çalışmalarımızda %11'lik etanol ekstresinin kullanılmasındaki sebep ise preparat ile paralellik sağlamak içindir. Ekstrelerde kalan sulu kısım liyofilize edilmiştir. Ekstrelerin verimleri belirlenmiştir (**Çizelge2**). Ekstre verimleri bakımından ekstrelerin sıralanışı, Umca[®] > %70'lik metanol > %11'lik etanol > kloroform olarak bulunmuştur. Sonuca göre en yüksek verim Umca[®] çözeltisinden (%18) ve %70'lik metanolden (%13,8) elde edilmiştir. Kumarinlerce zengin olduğu düşünülen kloroform ekstresinin verimi daha düşük olarak bulunmuştur (Kolodziej, 2007) (**Çizelge2**).

Ekstrelerin toplam fenol miktarı deneysel kısımda verilen yöntemler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Toplam fenol miktarları GAE olarak hesaplanmıştır. Toplam fenol miktarı bakımından ekstrelerin sıralanışı %70'lik metanol > %11'lik etanol > kloroform > Umca[®] olarak bulunmuştur. Ekstrelerin toplam fenol miktarları **Çizelge 2**'de verilmiştir.

Çizelge 2'ye göre en fazla fenolik madde taşıyan %70'lik metanol ekstresidir. Ekstre verimi oldukça yüksek olmasına karşın Umca[®] ekstresi içerdiği fenolik madde oranı bakımından, %11'lik etanol ekstresinden daha fakir olarak bulunmuştur. *P. sidoides* kökünün fenolik maddelerce zengin olduğu bilinmektedir. Özellikle kökte bulunan gallik asit ve şikimik asit gibi fenolik asitlerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmesine rağmen *P. sidoides* kökü ile yapılmış herhangi bir antioksidan aktivite çalışmasına litaretürlerde rastlanmamıştır (Kolodziej, 2007). Bu bilgiler değerlendirildiğinde *P. endlicherianum* kök ekstrelerinin Umca[®] ekstresinden daha yüksek oranda fenolik madde içerdiği göz önüne alındığında *P. sidoides* gibi zengin bir fenolik bileşime sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 2. *P. endlicherianum* Ekstrelerinin Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları [(A), Kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi; Umca[®], Umca[®] solüsyon ekstresi]

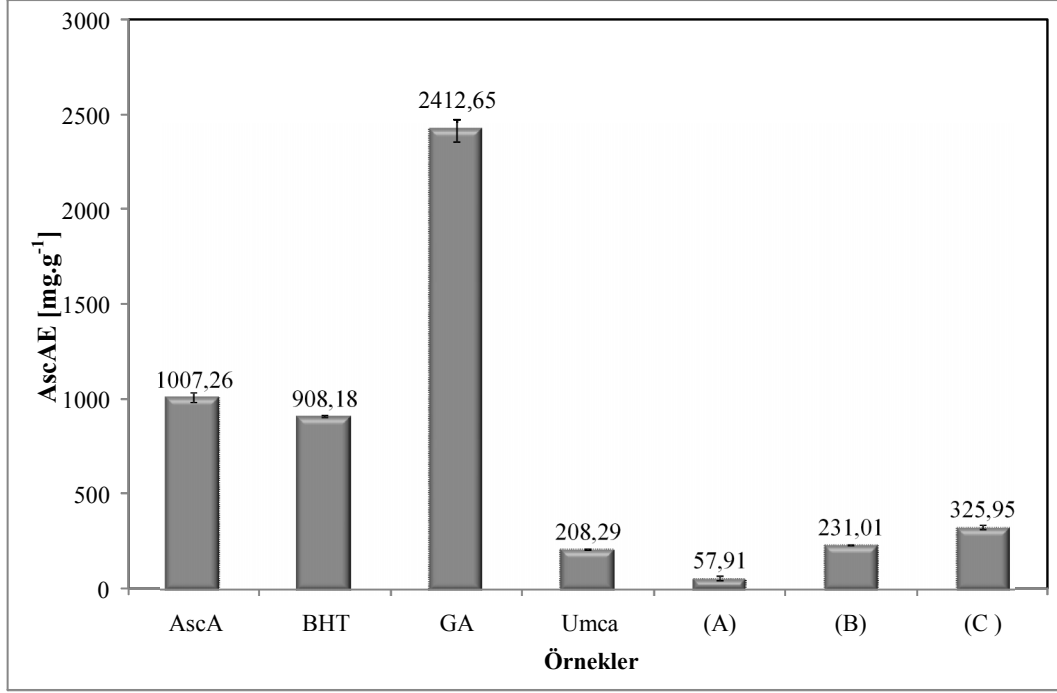
Ekstre	Verim [%]	Toplam Fenol [mg _{GAE} /g _{ekstre}]
(A)	% 2	26.51 ± 0.84
(B)	% 4	100.82 ± 1.37
(C)	% 13,8	242.63 ± 0.97
Umca [®]	% 18	9.43 ± 0.28

Antioksidan Aktivite Çalışmaları

İndirgeme gücünün belirlenmesi

Maddelerin indirgeme güçleri ile antioksidan aktivite arasında genellikle doğrusal bir bağlantı vardır. Bu nedenle indirgeme kapasitesinin belirlenmesi o maddenin antioksidan aktivitesi hakkında bilgi verebilir. Ekstrelerin demir (III)'ü demir (II)'ye indirgeme kapasitesi hidrojen verme kapasiteleri olarak değerlendirilir. Ayrıca ekstrelerin demir (III)'ü demir (II)'ye indirgeme kapasiteleri ile antioksidan aktiviteleri arasında da yüksek korelasyon bulunmasına rağmen, bunun her zaman doğru olmadığı kayıtlıdır (Yıldırım ve ark., 2000; Göger, 2004). Bu amaçla *P. endlicherianum* köklerinden elde edilen ekstrelerin, Umca® ekstresinin ve standartların demiri indirgeme kapasiteleri incelenmiş ve sonuçlar Şekil 9'da verilmiştir. Burada verilen sonuçlar AscAE olarak hesaplanmıştır.

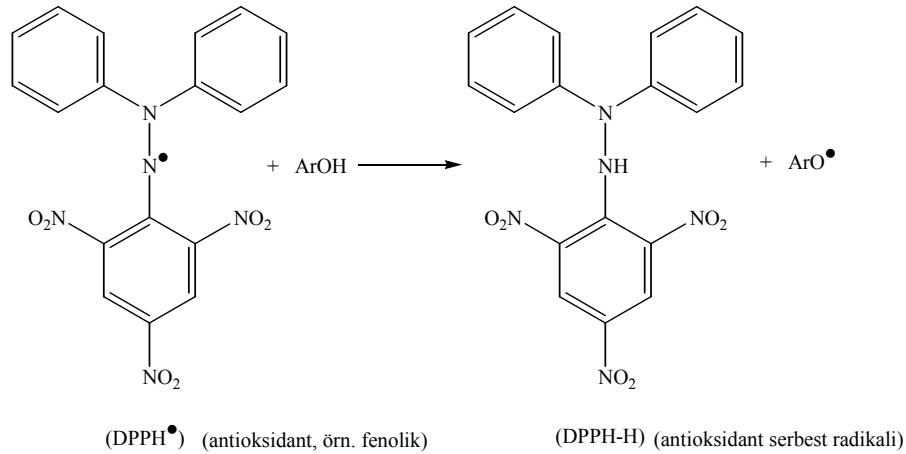
Yüksek AscAE değeri indirgeme gücünün fazlalığını gösterir. *P. endlicherianum* kök ekstreleri ve Umca® ekstresi ile yapılan deneyler sonucunda hiçbir ekstre pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit, etkili bir sentetik antioksidan olan BHT (butillenmiş hidroksi toluen) ve gallik asit kadar aktif bulunmamıştır. Umca® ekstresi ve %11'lik etanol ekstrelerinin demir (III)'ü demir (II)'ye indirgeme güçleri yaklaşık olarak ($p < 0.05$) benzer bulunmuştur. Fenolik madde miktarı bakımından en zengin olarak bulunan %70'lik metanol ekstresinin demir (III)'ü demir (II)'ye indirgeme gücü de istatistiksel olarak ($p < 0.05$) en yüksek bulunmuştur. Fenolik bileşikler kuvvetli antioksidanlardır (Shahidi ve Wanasundara, 1992; Bozan ve ark., 2007). Ayrıca polar madde oldukları için, polar çözücülerde çözünebilir ve güçlü aktiviteyi polar sistemlerde gösterirler. Demir (III)'ü demir (II)'ye indirgeme reaksiyonu testi polar ortamda yapıldığı için fenolik bileşiklerle antioksidan aktivite gücü arasında doğru orantı olduğu söylenebilir. Buna rağmen *P. sidodes* kökünün %11'lik etanol ekstresi olan Umca®'dan elde edilen ekstre, %70'lik metanol ekstresi kadar etkili bulunmamıştır. Bu nedenle *P. endlicherianum* köklerinin *P. sidoides* köklerinden daha yoğun fenolik madde içerdiği söylenebilir.



Şekil 9. *P. endlicherianum* Ekstreleri ve Standartların İndirgeme Güçleri
 [AscAE, askorbik asit; BHT, bütillenmiş hidroksi toluen; GA, gallik asit; (A), kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi]

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$) radikalini süpürücü etki tayini

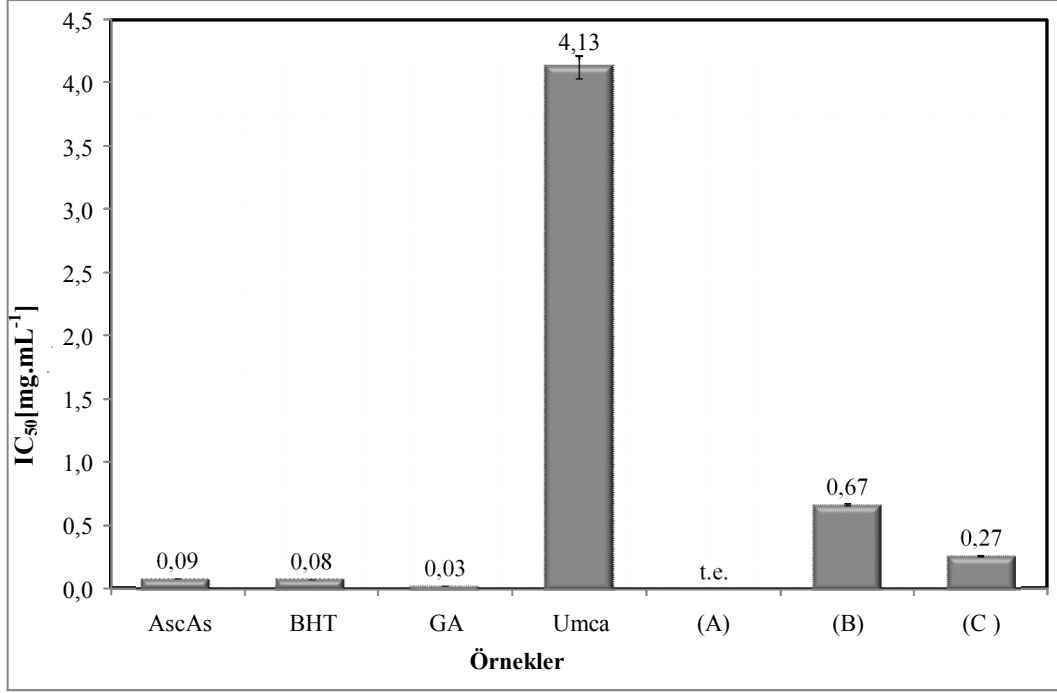
Bu amaçla hidrojeni indirgeme aşamasında rengi menekşe-mor renkten sarıya doğru açılan ve azot merkezli stabil bir radikal olan $DPPH^{\bullet}$ radikali (Şekil 12) kullanılmıştır. $DPPH^{\bullet}$ radikali, 517 nm'de maksimum absorptans veren stabil bir radikaldir. Antioksidan özellikli maddeler tarafından elektron ve hidrojen atom transferi ile $DPPH^{\bullet}$ radikalinin hidrazin türevlerine indirgendiğinde absorptans düşer (Şekil 10) (Bachmayer, 2004; Göger, 2004; Hinneburg ve ark., 2006).



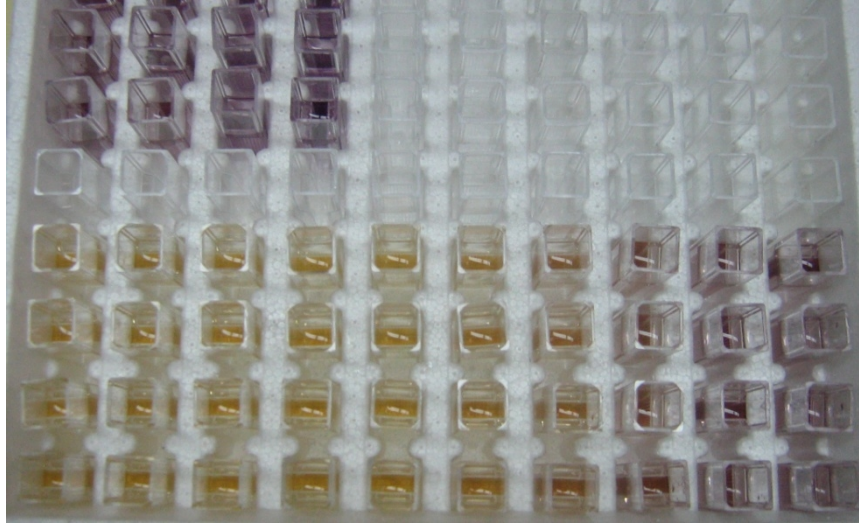
Şekil 10. $DPPH^{\bullet}$ Radikali ile Hidrojen Verici Fenolik Bileşiklerin Reaksiyon Mekanizması

Bütün ekstreler DPPH• radikalini fizyolojik pH'da konsantrasyona bağı olarak süpürmüşlerdir. IC₅₀ değerleri, radikalın %50'sini süpürebilecek gerekli konsantrasyon olarak tanımlanır. IC₅₀ değeri küçüldükçe aktivite artmaktadır.

Ekstrelerin IC₅₀ değerleri hazırlanan doğrusal olmayan eğriler kullanılarak hesaplanmış (Sigma Plot 2001 version 7.0, SPSS Inc., Chicago, IL) ve sonuçlar **Şekil 11**'de verilmiştir. *P. endlicherianum* ekstreleri ve Umca® ekstresi ile yapılan çalışmalar sonucunda kloroform dışındaki tüm ekstrelerin fizyolojik pH'da süpürücü etki gösterdikleri belirlenmiştir. Kloroform ekstresi çözünürlük problemi nedeniyle bu polar deney sisteminde test edilememiştir. Sonuçlara göre, Umca® ekstresinin diğerlerine göre daha düşük aktivite gösterdiği, %70'lik metanol ekstresinin diğerlerine göre daha aktif olduğu bulunmuştur. Bu ekstrenin demir (III)'ü indirgeme kapasitesi de en yüksektir (325,95 mg.g⁻¹ AscAE). Bunun yanında hiçbir ekstre pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit, BHT ve gallik asit kadar etkili bulunmamıştır. Ekstrelerinin DPPH• radikal süpürücü aktiviteleri şöyle sıralanabilir: %70'lik metanol > %11'lik etanol > Umca® şeklindedir. *Pelargonium* cinsine ait türlerle yapılmış olan çalışmalarda antioksidan aktivitenin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. *P. betulinum* ve *P. crispum* türlerinin ham aseton ekstreleriyle yapılmış olan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) deneyinde, IC₅₀ değeri 4.72±0.14 µg.mL⁻¹ olan askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmış ve ekstrelerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 4.13±0.14 µg.mL⁻¹ ve 4.49±0.18 µg.mL⁻¹ şeklinde bulunmuştur. Bu iki türde askorbik asit kadar antioksidan aktivite göstermiştir (Viljoen ve ark., 2008). Ayrıca *P. reniforme* türünden izole edilen tanen ve flavonoidlerin askorbik asitten daha yüksek etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Latté ve Kolodziej, 2004). *P. endlicherianum* toprak üstü kısımları ile yapılan çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asitin IC₅₀ değeri 3.80 ± 0.17 µg.mL⁻¹ ve *P. endlicherianum* metanol ekstresinin IC₅₀ değeri 7.43 ± 0.47 µg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur (Tepe ve ark., 2006). Bu çalışmalar göz önüne alındığında *P. endlicherianum* toprak altı kısımlarının aktivitesinin askorbik asit kadar etkili olmadığı ve Umca® ekstresinin ise diğer ekstrele göre daha düşük aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 11. *P. endlicherianum* Ekstreleri ve Standartların DPPH[•] Radikalini Süpürücü Etkileri [AscAs, askorbik asit; BHT, bütilenmiş hidroksi toluen; GA, gallik asit; (A), kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi; t.e., test edilemedi]



Şekil 12. DPPH[•] Radikalinin Deney Sırasında Renginin Menekşe-Mor Renkten Sarıya Doğru Açılması

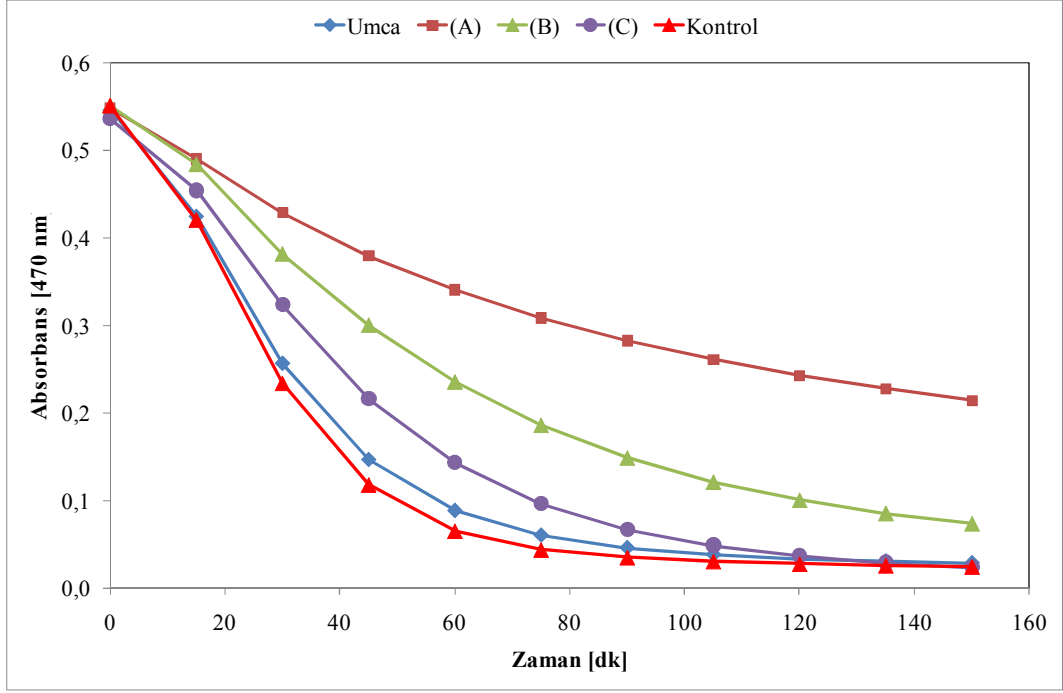
β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini

Lipit peroksidasyonu, yağların yükseltgenmesi sonucu bozulması olayıdır. Linoleik asidin yükseltgenmesi sonucu daha küçük moleküller oluşmaktadır ve bunlar gıdaların bozulmasına ve hücre yapılarının değişmesine sebep olurlar. Hem gıdaların hem de hücrelerin korunmasında lipitlerin peroksidasyonunun engellenmesinin önemi bu nedenle oldukça önemlidir (Niki ve ark., 2005). Yağda çözünen kuvvetli bir antioksidan olan β -karoten ise sekiz izopren molekülünden

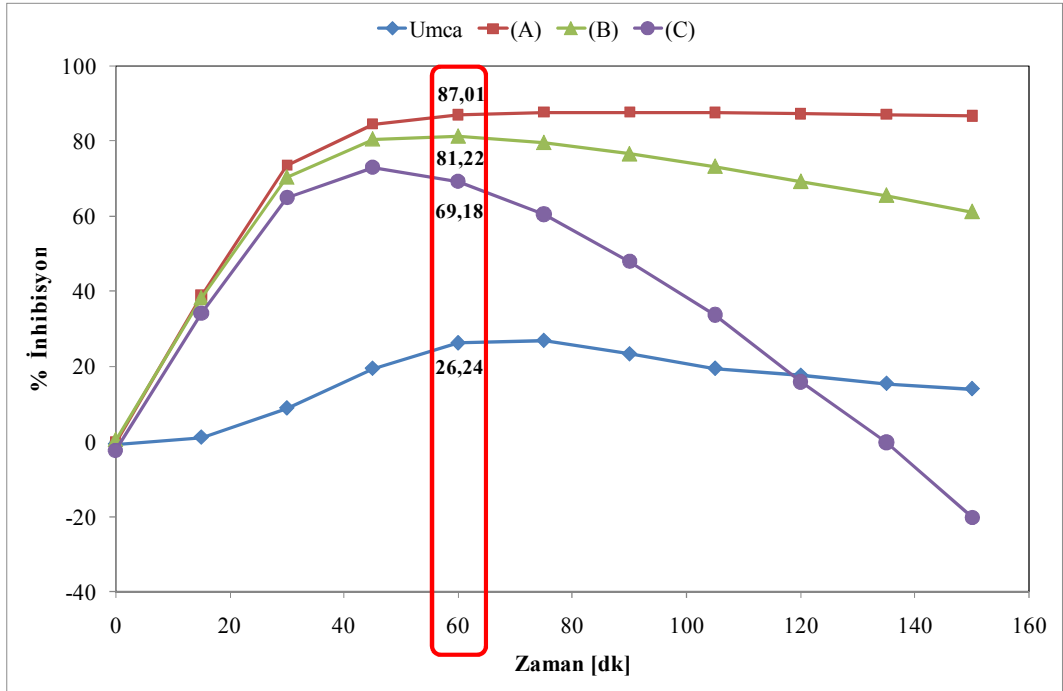
biyokimyasal olarak sentezlenen bir terpendir. Doğal halde serbest radikallerin fazlasını temizleme özelliğine sahiptir. Sentetik antioksidanların ise insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır (Branen, 1975). Doğal β -karotenin antioksidan özelliğinin kuvvetli olmasından dolayı da lipit oksidasyonunu engelleme derecesi oldukça yüksektir (Omenn ve ark., 1996).

Hücre membranlarında bulunan lipitler linoleik asit gibi oksidasyona oldukça müsait doymamış yağ asitleri bakımından zengindirler. Bu nedenle, bu tez kapsamında doymamış yağ asitleri içeren deney ortamına sahip olan β -karoten-linoleik asit beyazlama testi kullanılmıştır. Bu emülsiyon bazlı sistemde, linoleik asitten hidrojen çıkması sonucu oluşan pentadienil serbest radikalının yüksek konjugasyona sahip olan β -karotene hücum etmesi sonucu reaksiyon emülsiyonunun renginin açılması esastır. Örneklerin, β -karotenin renginin açılmasını inhibe etmesi ya da geciktirmesi serbest radikal süpürücü etkiyi yani antioksidan etkiyi düşündürebilir (Koleva ve ark., 2002; Göger, 2004).

β -karoten-linoleik asit beraber oksidasyon deneyinde amaç lipit peroksidasyonunun derecesinin ölçülmesidir. *P. edlicherianum* ekstrelerinin ve Umca[®] ekstresinin β -karoten/linoleik asit oksidasyonunu engelleme derecelerinin absorbans ve % inhibisyon değerleri **Şekil 13** ve **Şekil 14**'te verilmiştir. Elde edilen tüm ekstralar belli oranlarda linoleik asit oksidasyonunu engelleyici özellik göstermiştir. 60 dakika optimum aktivite süresi olarak gözlenmiştir. Ekstrelerin aktiviteleri ve 60. dakikada verilen % inhibisyon değerleri ise; kloroform (%87,01) > %11'lik etanol (%81,22) > %70'lik metanol (%69,18) > Umca[®] (%26,24) sırasında bulunmuştur. Lipit peroksidasyonunu engelleme deneyinde Umca[®] ekstresi daha az etkili bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada *P. edlicherinum* toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin % inhibisyon değerinin %72.6 olduğu gösterilmiştir (Tepe ve ark., 2006). Bu çalışmada fenolik maddelerce zengin olduğu tespit edilen %70'lik metanol ekstresinin değeri %69,18 bulunmuştur. %11'lik etanol ekstresi de oldukça polar bir ekstre (11:89, etanol: su) olduğu için içersinde bulunabilecek olan polar bileşikler sayesinde bu kadar yüksek aktivite gösterdiği söylenebilir.



Şekil 13. *P. endlicherianum* Ekstrelerinin ve Umca[®] Ekstresinin Zamana Karşı Linoleik Asit Peroksidasyonunu Engelleyici Etkileri (Absorbans Değerleri) [(A), kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi]



Şekil 14. *P. endlicherianum* Ekstrelerinin ve Umca[®] Ekstresinin Zamana Karşı Linoleik Asit Peroksidasyonunu Engelleyici Etkileri (% İnhibisyon Değerleri) [(A), kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi]

Antibakteriyal Aktivite

Mikrobroth dilüsyon tekniği

Özellikle çocuklarda antibiyotik kullanımını azaltmak ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirmek amacıyla ilgili yapılan klinik çalışmalarla *P. sidoides*'in bronşiyal inflamasyona yol açan alt solunum yolu enfeksiyonu olan akut bronşitte etkili olduğu ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiği, hastalığın şiddetini azalttığı ortaya konmuştur (Kolodziej ve ark., 2003; Matthys ve ark., 2003; Matthys ve ark., 2007; Matthys ve Heger, 2007; Agbabiaka ve ark., 2008). Tonsillofarenjit tedavisinde de Umca® çözeltilisinin uygun bir seçenek olduğu plasebo kontrollü yapılan klinik çalışma ile ortaya konmuştur (Heger ve Bereznoy, 2002). Bunun yanında *P. sidoides* kök ekstraktları solunum yolu enfeksiyonlarının çoğunda sorumlu patojenler olarak bilinen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, β -hemolitik *Streptococcus* 1451, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Haemophilus influenzae*'ye karşı orta derecede etkili bulunmuştur (Kayser ve Kolodziej, 1997). Bu sonuçlardan yola çıkarak bu tez kapsamında *P. endlicherianum* kök ekstraktları ve Umca® ekstresi mikrobroth dilüsyon tekniği kullanılarak antibakteriyal etkileri bakımından karşılaştırılmıştır.

Mikrobroth dilüsyon tekniği ile yapılan antibakteriyal etki sonuçlarına göre denenen tüm örnekler patojen bakterilere karşı 125 ile 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (MİK) konsantrasyon aralığında etkili olmuştur. %70'lik metanol ekstresinin Umca® ekstresi de dahil olmak üzere diğer ekstraktlara göre daha güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Antibakteriyal etki sonuçları **Çizelge 3**'te verilmiştir.

Kumarinlerin antimikrobiyal aktivitelerinin güçlü olduğu bilinmesine rağmen, kumarinlerce zengin olduğu bilinen Umca® ekstresi, fenolik maddelerce zengin olduğu düşünülen %70'lik metanol ekstresine göre, daha düşük antibakteriyal etkili bulunmuştur (Kolodziej ve ark., 2006; Creaven ve ark., 2006; Creaven ve ark., 2007; Kavanagh ve ark., 2007; Kolodziej, 2007). Kayser ve Kolodziej'in (1997) birlikte yaptıkları çalışmada, *P. sidoides* kökü su, etilasetat ve *n*-butanol ekstraktlarının mikrodilüsyon tekniği kullanılarak antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. *E. coli*'e karşı su ekstresi 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, etilasetat ekstresi 1200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, *n*-butanol ekstresi 1200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda, *S. aureus*'a karşı su ekstresi 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, etilasetat ekstresi 2500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, *n*-butanol ekstresi 1200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda, *P. aeruginosa*'a karşı ise su ekstresi 600 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ etilasetat ekstresi 2500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, *n*-butanol ekstresi 1200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda etki göstermiştir. Genel olarak tüm ekstre değerlerinin 0.6-2.5 mg.mL^{-1} konsantrasyon aralığında değiştiği ve antibakteriyal aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiş, standart olarak kullanılan Penisilin G, *E.coli* için 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ *S. aureus* için 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, *P. aeruginosa* için 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ MİK değerini vermiştir (**Çizelge 4**).

Bu tez kapsamında incelenen *P. endlicherianum* kök ekstraktları ve Umca® ekstresinin *E.coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitelerine bakıldığında (**Çizelge 3**), *E. coli*'e karşı kloroform ekstresi 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, %11'lik etanol ekstresi 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, %70'lik metanol ekstresi 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, Umca ekstresi 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda, *S. aureus*'a karşı

kloroform ekstresi $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, %11'lik etanol ekstresi $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$, %70'lik metanol ekstresi $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$, Umca® ekstresi $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda, *P. aeruginosa*'a kloroform ekstresi $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, %11'lik etanol ekstresi $4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, %70'lik metanol ekstresi $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, Umca® ekstresi $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda etkili bulunmuştur. Sonuç olarak bu üç bakteriye karşı ekstreler ve Umca® ekstresi $0.125-4 \text{ mg.mL}^{-1}$ arası konsantrasyonda etki gösterdiği için antibakteriyal aktivitenin olduğu söylenebilir. Standart olarak kullanılan Kloramfenikol (Sigma) *E. coli*'e karşı $62.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ l, *S. aureus*'a karşı $15.62 \mu\text{g.mL}^{-1}$, *P. aeruginosa*'a karşı $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda etkili olmuştur. Ayrıca bu sonuçlara göre *P. endlicherianum* kökünün %11'lik etanol ekstresi *S. aureus*'a karşı Umca®'dan daha etkili olduğu söylenebilir. Bu iki bakteriye karşı %70'lik metanol ekstresi en güçlü antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Afolayon ve ark.'nın (2006) yaptığı diğer bir çalışmada *P. sidoides* filizinin metanol ekstresi Gram negatif bakterilerden olan *Pseudomonas aeruginosa* 'a karşı 7.5 mg.mL^{-1} konsantrasyonda etkili bulunmuştur. *P. sidoides* kök ve filizinin aseton ve metanol ekstreleri *Serratia marcescens*'e karşı ise etkili bulunamamıştır. Her iki ekstre de *Bacillus cereus*'a karşı $2.5-7.5 \text{ mg.mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında etkili bulunurken, *Staphylococcus epidermidis*'e karşı $1-10 \text{ mg.mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında etkili bulunmuştur.

Çizelge 3'e göre %70'lik metanol ekstresi *Serratia marcescens*'e karşı $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ değeri ile standart olarak kullanılan kloramfenikole yakın antibakteriyal etki göstermiştir ve *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. cereus*'a karşı $125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda etkili olmuştur. *Serratia marcescens*'e karşı Umca® ekstresi $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda etkili bulunmuştur. Bunun yanında *P. endlicherianum*'un %11'lik etanol ekstresi *S. aureus*'a ve *B. cereus*'a karşı Umca® ekstresinden daha etkili, *E. coli*'e ve *S. marcescens*'e karşı etkisi Umca® ekstresi ile eş değerde bulunmuştur.

Tüm yapılan çalışmaların sonuçları karşılaştırıldığında *P. endlicherianum* kökünün de antibakteriyal aktivite bakımından en az *P. sidoides* kökü kadar, hatta bazı bakterilere karşı daha fazla etkili olduğu söylenebilir.

Çizelge 3. *P. endlicherianum* Ekstrelerinin ve Umca® Solüsyonun Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Antibakteriyel Etki Sonuçları [(A), kloroform ekstresi; (B), %11'lik etanol ekstresi; (C), %70'lik metanol ekstresi; (S), kloramfenikol -Sigma]

Bakteriler	Kaynak	A	B	C	Umca®	S
<i>Escherichia coli</i>	NRRL B-3008	4000	2000	1000	2000	62.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	2000	250	125	500	15.62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	2000	4000	2000	2000	125
<i>Enterobacter aerogenes</i>	NRRL 3567	2000	2000	1000	1000	62.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311	2000	4000	500	1000	62.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	2000	2000	125	1000	31.25
<i>Bacillus cereus</i>	NRRL B-3711	1000	250	125	500	31.25
Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Klinik izolat	1000	2000	1000	1000	31.25
<i>Serratia marcescens</i>	NRRL B-2544	1000	1000	500	1000	250
<i>E.coli</i> H157:O7	A.Ü. Fen Fak. Biyoloji	2000	4000	500	2000	62.5

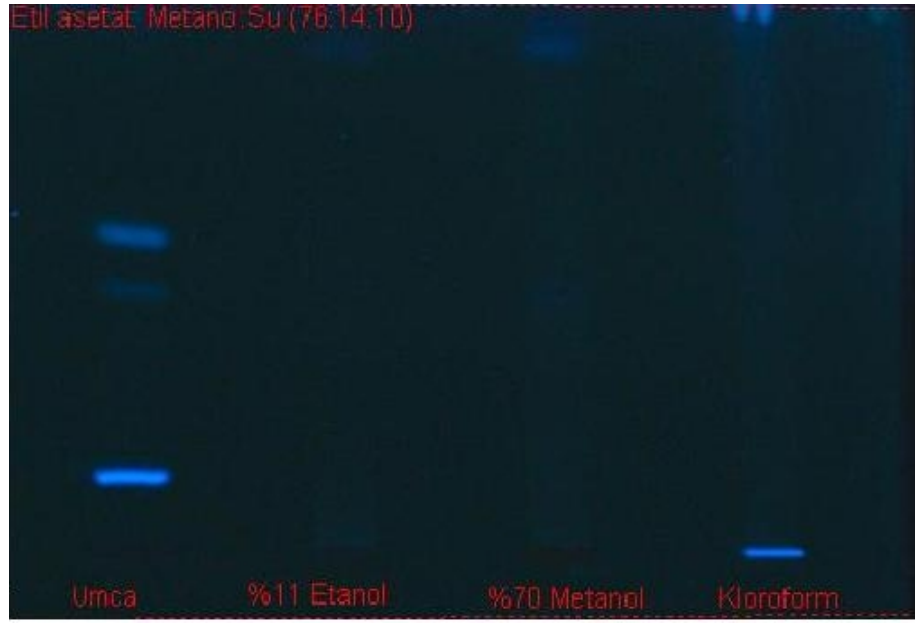
Çizelge 4. *P. sidoides* Kök Ekstrelerinin Antibakteriyel Etki Sonuçları [(A), su ekstresi; (B), etilasetat ekstresi; (C), n-butanol ekstresi; (S), Penisilin G](Kayser ve Kolodziej, 1997)

Bakteriler	A	B	C	S
<i>Escherichia coli</i>	600	1200	1200	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	600	2500	1200	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	600	2500	1200	5

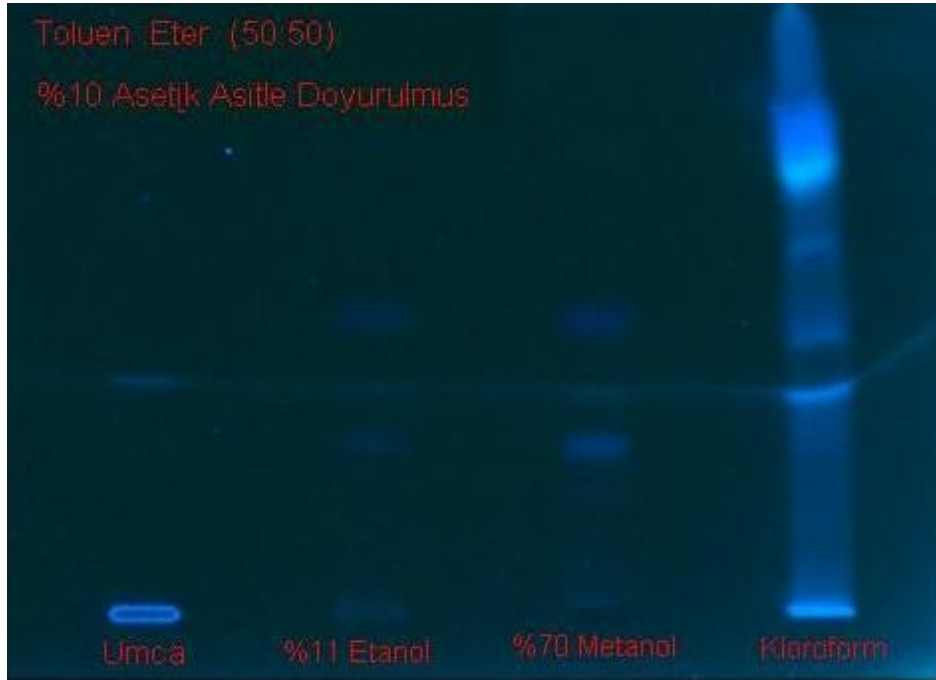
İnce Tabaka Kromatografisi

Ekstrelerdeki maddeler polariteleri bakımından karşılaştırmalı olarak farklı çözücü sistemlerinde İTK yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Ekstrelerde bulunan maddeler 366 nm'de mavi renkte gözlenmiştir.

Şekil 15'teki sistemde Umca® ekstresi içerisindeki maddelerle diğer ekstrelerdeki maddelerin aynı mesafede yürümediği için farklı polaritede maddelere ait oldukları bellidir. Şekil 16'daki çözücü sisteminde ise kloroform ekstresinde ayırım gerçekleşmiştir ama Umca® ekstresindeki maddeler daha polar oldukları için startta kalmış ve yürümemiştir.



Şekil 15. Etilasetat:Metanol:Su (76:14:10) Çözücü Sisteminde Yürütülen Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)Sonuçları



Şekil 16. %10'luk Asetik Asitle Doyurulmuş, Toluen:Eter (50:50) Çözücü Sisteminde Yürütülen Ekstrelerin İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Sonuçları

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Pelargonium Geraniaceae familyasının en yaygın cinslerinden birisidir ve Türkiye’de iki doğal yayılışa sahip türü bulunmaktadır. Güney Afrika türü olan *P. sidoides* ve *P. reniforme* son yıllarda bilim dünyasında ilgi gören popüler bitkilerdir. Bu türlerle ilgili literatürde oldukça fazla çalışma yer almasına rağmen Türkiye’de doğal olarak yetişen *P. endlicherianum* kökleri ile yapılmış herhangi bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

Bu bilgilerden yola çıkılarak bu tez kapsamında *P. endlicherianum* ve *P. sidoides* türlerinden elde edilen ekstraların aktiviteleri bakımından karşılaştırılması yapılmıştır. *P. sidoides* ekstresi olarak içeriği %11’lik sulu etanol ekstresi olan Umca[®]’dan elde edilen ekstre kullanılmıştır. *P. endlicherianum* türünün ise %11’lik etanol, %70’lik metanol ve kloroform ekstraları elde edilmiştir. Hazırlanan ekstralar *in vitro* antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite deneylerinde kullanılmıştır. Ülkemizde yetişen *Pelargonium* türlerinin aktiviteleri ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. *P. endlicherianum* köklerin aktivite çalışmaları ise ilk kez kapsamlı olarak yapılmıştır. Elde edilen ekstraların verimlerine, toplam fenol miktarlarına, indirgeme güçlerine, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikalini süpürücü etkilerine, β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etkilerine ve antimikrobiyal aktivitelerine bakılmıştır.

Ekstrelerin verimleri sırasıyla Umca[®] > %70 metanol > %11 etanol > kloroform ve toplam fenol miktarları sırasıyla %70 metanol > %11 etanol > kloroform > Umca[®] olarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre en yüksek verimin elde edildiği Umca[®] ekstresinin içerdiği fenolik madde miktarı en az olarak bulunmuştur. %70’lik metanol ekstresinin fenolik maddelere en zengin olduğu bulunmuş ve aynı ekstre yapılan antioksidan aktivite deneylerinde de en etkili ekstre olarak gözlenmiştir.

Ekstrelerin antioksidan aktivitelerine bakıldığında indirgeme güçleri sırasıyla %70’lik metanol > %11’lik etanol > Umca[®] > kloroform, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikalini süpürücü etkileri sırasıyla %70’lik metanol > %11’lik etanol > Umca[®] (kloroform test edilmedi), β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etkileri sırasıyla kloroform > %11’lik etanol > %70’lik metanol > Umca[®] olarak bulunmuştur. Sonuçlara göre Umca[®] ekstresi tüm deneylerde en az etkiyi göstermiştir. *P. sidoides* ve *P. endlicherianum* köklerinin %11’lik etanol ekstraları karşılaştırıldığında *P. endlicherianum* kökünün antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. β-karoten/linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki tayini dışındaki tüm deneylerde en fazla fenolik maddeyi de içeren %70’lik metanol ekstresi en etkili ekstre bulunmuştur. Bu etkinin içerdiği fenolik maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmasının sonucuna göre *P. endlicherianum* ekstraları *P. sidoides* kök ekstresi olan Umca[®] ekstresine göre *Serratia marcescens*’e karşı daha etkili sonuç vermiştir. Özellikle %70’lik metanol ekstresi bu bakteriye karşı 500 µg.mL⁻¹ MİK değeriyle kloramfenikole yakın antibakteriyel etki göstermiştir. Ayrıca %11’lik etanol ekstresi *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*’e karşı Umca[®] ekstresinden daha etkili bulunmuştur.

Bu sonuçlara göre *P. endlicherianum* köklerinin antibakteriyal aktivitesinin bu bakterilere karşı en az *P. sidoides* kökü kadar etkili olduğu söylenebilir.

İTK sonuçlarına göre Umca® ekstresinde bulunan maddelerle diğer ekstrelerde bulunan maddelerin büyük ölçüde farklı olduğu gözlenmiştir.

P. endlicherianum kökleri ile ilgili bilimsel anlamda ilk çalışma olan bu tez ile köklerin fenolik bileşimi ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu çalışmalar bu konudaki projemizin başlangıç çalışmalarıdır. Bu konu ile ilgili olarak etkili bileşiklerin aydınlatılması ve alt solunum yolları enfeksiyonlarında etkili olup olmadığı konusundaki çalışmalarımız devam etmektedir. Bu ön çalışmalar *P. endlicherianum* köklerinin *P. sidoides* gibi değerlendirilebileceği konusunda ümit vaat edici sonuçlar göstermiştir.

KAYNAKLAR

Afolayan, A.J., Grierson, D.S., Lewu, F.B., The leaves of *Pelargonium sidoides* may substitute for its roots in the treatment of bacterial infections, *Biol. Cons.*, 128, 582-584 (2006).

Agbabiaka, T.B., Guo, R., Ernst, E., *Pelargonium sidoides* for acute bronchitis: A systematic review and meta-analysis, *Phytomed.*, 15, 378-385 (2008).

Bachmayer, O., Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Culinary Herbs, Yüksek Lisans Tezi, University of Helsinki, Division of Pharmacognosy, Helsinki, Finland (2004).

Başer, K.H.C., Kırımer, N., Farmakognozi I El Kitabı, Eczacılık Fakültesi, Eskişehir, 4-5, 2005.

Baytop, T., Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi , Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul ,4-10, 233, 338-339, 1999.

Beil, W., Kilian, P., EPs®7630, An extract from *Pelargonium sidoides* roots inhibits adherence of *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells, *Phytomed.*, 14, 5–8 (2007).

Boskou, D., Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves, *Food Res. Int.*, 31, 351-354 (1998).

Bozan, B., Özek, T., Kürkçüoğlu, M., Kırımer, N., Başer, K.H.C., The analysis of essential oil and headspace volatiles of the flowers of *Pelargonium endlicherianum* used as an anthelmintic in folk medicine, *Planta Med.*, 65(8), 781 -782, (1999).

Bozan, B., Koşar, M., Temelli, F., Başer, K.H.C., Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts, *Food Chem.*, 103, 952-959 (2007).

Branen, A.L., Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 59-63 (1975).

Creaven, B. S., Egan, D.A., Karcz, D., Kavanagh, K., McCann, M., Mahon, M., Noble, A., Thati, B., Walsh, M., Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a series of substituted coumarin-3-carboxylatosilver(I) complexes, *Inorg. Chem. Acta*, 359, 3976–3984 (2006).

Creaven, B. S., Egan, D.A., Karcz, D., Kavanagh, K., McCann, M., Mahon, M., Noble, A., Thati, B., Walsh, M., Synthesis, characterisation and antimicrobial activity of copper(II) and manganese(II) complexes of coumarin-6,7-dioxyacetic acid (cdoaH₂) and 4-methylcoumarin-6,7-dioxyacetic acid(4-MecdoaH₂): X-ray

crystal structures of [Cu(cdoa)(phen)₂] · 8.8H₂O and [Cu(4-Mecdoa)(phen)₂] · 13H₂O (phen = 1,10-phenanthroline), J. Inorg. Biochem., 101, 1108-1119 (2007).

Davis, P. H., Hedge, I.C., *Pelargonium* L'Hérit In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 2, 487-489, 1967a.

Davis, P. H., Hedge, I.C., *Erodium* L'Hérit In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 2, 475, 1967b .

Davis, P. H., Hedge, I.C., *Geranium* L. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 2, 451, 1967c.

Davis, P. H., Hedge, I.C., *Biebersteinia* Steph. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 2, 451 , 1967d.

Davis, P. H., Hedge, I.C., Geraniaceae In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 2, 487-489, 1967e.

Davis, P. H., Mill, R.R., Kit Tan, *Pelargonium* L'Hérit In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, P. H .Davis (Eds.), University Press, Edinburgh, 10, 106, 1988.

Dorman, H.J.D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties, and Cultivars, J. Agric. Food Chem., 51, 4563-4569 (2003).

Duman H., Aytaç, Z., Karavelioğulları, F., Bitki Gen Kaynaklarının Yerinde Korunmasına Yöre Halkının Katılımının Sağlanması (Gevne Vadisi Örneği), Gevne Vadisi Florası, Ankara, 19, 2000.

Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S., İlarıslan, R., Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitki Türleri, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Ankara, 13, 182 (1989).

European Pharmacopoeia, *Pelargonii radix* (*Pelargonium sidoides* DC and/or *P. reniforme* Curt), Fifth edition, Suppl. 7, Council of Europe, Strasbourg, France, p.5091 , 2005.

Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y. Free-Radical Scavenging Action of Medicinal Herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on Experimentally Induced Liver Injuries. G. Pharmacol., 32, 661-667 (1999).

Göger, F., *Salvia virgata* Jacq. ve *Salvia halophila* Hedge'nin Antioksidan etkilerinin ve bileşimlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2004).

Heger, M., Bereznoy, V.V., Non-streptococcal tonsillo-pharyngitis in children: Efficacy of an extract from *Pelargonium sidoides* (Eps®7630) compared to placebo, *Phytopharm.*, 7, 14-25 (2002).

Hensel, A., Wittschier N., Faller,G., An extract of *Pelargonium sidoides* (EPs®7630) inhibits in situ adhesion of *Helicobacter pylori* to human stomach, *Phytomed.*, 14, 285–288 (2007).

Hinneburg, I., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R., Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices, *Food Chem.*, 97,122-129 (2006)

http-1 <http://tr.wikipedia.org> (05.01.09).

http-2 <http://theseedsite.co.uk/geraniaceae.html>(05.01.09).

http-3 <http://www.weski.tubitak.gov.tr/tubives>(05.01.09).

http-4 <http://www.bahcesel.com>(05.01.09).

http-5 <http://www.plantzafrica.com/plantnop/pelargsidoid.html>(05.01.09).

http-6 <http://razor.arnes.si/~mstrli/reniformia/sidoides.html>(05.01.09).

http-7 <http://ebooks.unibuc.ro/biologie/asarbufinal/6333.html>(05.01.09).

http-8 <http://www.abdiibrahim.com.tr/haberler>(05.01.09).

İşcan, G., Kırimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, K.H.C., Demirci, F., Antimicrobial screening: *Mentha piperita* essential oil, *J, Agric. Food Chem.*, 50, 3943-3946 (2002).

Karamanoğlu, K., Türkiye Bitkileri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 1. Cilt, Ankara, 565, 1974.

Kavanagh, K. Creaven, B. S., Egan, D.A., McCann, M., Mahon, M., Noble, A., Thati, B., Rowan, R., Walsh, M., Mechanism of action of coumarin and silver(I)-coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*, *Toxicol. in Vitro* 21, 801–808 (2007).

Kayser, O., Kolodziej H., [Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*](#), *Planta Med.*, 63(6), 508-510 (1997).

Kolodziej, H., Kayser, O., LatteÁ , K., Hammerschmidt, F, J., Composition of the essential oils of *Pelargonium sidoides* DC. and *Pelargonium reniforme* Curt., *Flavour Fragr. J.*, 13, 209-212 (1998).

Kolodziej, H., Fascinating metabolic pools of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine Umckaloabo, *Phytomed.*, 9–17, 14 (2007).

Kolodziej H., Kayser O., Kiderlen A.F., Ito H., Hatano T., Yoshida T., Foo L.Y., Proanthocyanidins and related compounds: antileishmanial activity and modulatory effects on nitric oxide and tumor necrosis factor- α release in the murine macrophage-like cell line RAW264.7. *Biol. Pharm. Bull.*, 24, 1016–1021 (2001).

Kolodziej, H., Kayser, O., Radtke, O., Kinderlen,, A., Koch, E., Pharmacological profile of extracts of *Pelargonium sidoides* and their constituents, *Phytomed.*, 10, 18–24 (2003).

Kolodziej, H., Trun, W., Kiderlen, A.F., Nitric oxide synthase and cytokines gene expression analyses in *Leishmania*-infected RAW 264.7 cells treated with an extract of *Pelargonium sidoides* (Eps[®] 7630), *Phytomed.*, 13, 570–575 (2006).

Kolodziej, H., Kiderlen, A.F., In vitro evaluation of antibacterial and immunomodulatory activities of *Pelargonium reniforme*, *Pelargonium sidoides* and the related herbal drug preparation Eps[®]7630, *Phytomed.*, 14, 18–26 (2007).

Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., Evstatieva, L.N., Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods, *Phytochem. Anal.*, 13, 8–17 (2002).

Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, 785-856, 1997.

Lall, N., Meyer, J.J.M., Mativandlela, S.P.N., Antibacterial, antifungal and antitubercular activity of (the roots of) *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (Geraniaceae) root extracts, *S. Afr. J. Bot.*, 72, 232 – 237 (2006).

Latté, K.P., Kolodziej, H., Anti-oxidant properties of phenolic compounds from *Pelargonium reniforme*, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4899–4902 (2004).

Lawrence, B.M., The isolation of aromatic materials from natural plant product, In: A manual on the Essential Oils and Industry, K.Tuley De Silva (Ed.), United Nations Industrial Development Organization, Vienna, Austria, 57-154, 1995.

Lis-Balchin M., *Geranium and Pelargonium*, Taylor & Franchis Group, London, UK, 116, 2002.

Lis-Balchin M., Essential oils and ‘Aromatherapy’: their modern role in healing, *J. Roy. Soc. Health*, 117, 324-329 (1997).

Mallet, J. F., Cerrati, C., Ucciani, E., Gamisans, J., Gruber, M., Antioxidant activity of plant leaves in relation to their a-tocopherol content, *Food Chem.*, 49, 61-65 (1994).

Matthys, H., Eisebitt, R., Seith, B., Heger, M., Efficacy and safety of an extract of *Pelargonium sidoides* (EPs®7630) in adults with acute bronchitis, A randomised, double-blind, placebo-controlled trial, *Phytomed.*, 10, 7–17 (2003).

Matthys, H., Heger, M., EPs®7630-solution – an effective therapeutic option in acute and exacerbating bronchitis, *Phytomed.*, 14, 65–68 (2007).

Matthys, H., Kamin, W., Funk, P., Heger, M., *Pelargonium sidoides* preparation (EPs®7630) in the treatment of acute bronchitis in adults and children, *Phytomed.*, 14, 69-73 (2007).

Namiki, M. Antioxidants, antimutagens in food, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 29, 273-300 (1990).

Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, I, N., Lipid Peroxidation: Mechanisms, Inhibition, and Biological Effects, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 338, 668–676 (2005).

Nöldner M., Schötz K., Inhibition of lipopolysaccharid-induced sickness behavior by a dry extract from the roots of *Pelargonium sidoides* (EPs®7630) in mice, *Phytomed.*, 14 , 27–31 (2007).

Omenn, G.S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., Meyskens, F.L., Valanis, B., Williams, J.H., Barnhart, S., Hammar, S., Effects of a Combination of Beta Carotene and vitamin A on Lung Cancer and Cardiovascular Disease, *N. E. J. Med.*, 334, 1150-1155 (1996).

Oomah, B.D., Mazza, G., Flavonoids and Antioxidative Activities in Buckwheat, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1746-1750 (1996).

Oyaizu, M., Studies on Products of Browning Reaktion: Antioxidative Activity of Products of Browning Reaction, *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315 (1986).

Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., Houser, T.A., Comparison of a Natural Rosemary Extract and BHA/BHT for Relative Antioxidant Effectiveness in Pork Sausage, *Meat Sci.*, 69, 289–296 (2005).

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, İzmir, 260-261 , 2000.

Shahidi, F., Wanasundara, P.K.J.P.D., Phenolic Antioxidants., *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 32(1), 67-103, (1992).

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Ravento's, R.M., Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In *Methods in Enzymology*, Packer, L. (Ed.), Academic Press, San Diego, CA, 299, 152-315, 1999.

Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., *Farmasotik Botanik*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitapları, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 294, 1998.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Yumrutas, O., Somken, A., Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch. & Mey., *Sideritis libanotica* Labill. *subsp. linearis* (Benth) Borm., *Centaurea mucronifera* DC. and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora, *Food Chem.*, 98, 9–13, (2006).

Tütel, B., Comparison of the Taxonomy and Leaf Anatomy of the Genus *Biebersteinia* with the other Genera of Geraniaceae of Turkey, *İstanbul Üniv. Fen Fak. Mec. Seri B*, 47(48), 51-87, (1982).

Velioğlu, Y.S., Mazza, G., Oomah, B.D., Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4113-4117 (1998).

Viljoen, A.M., Vuuren, S.F., Van Zyl, R.L., Lalli, J.Y.Y., In vitro biological activities of South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species, *S. Afr. J. Bot.*, 74, 153-157 (2008).

Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, Ö.F., Bilaloğlu, V., Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), Sage (*Salvia triloba* L.), and Black Tea (*Camellia sinensis*) Extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5030-5034 (2000).

Wagner, H., Blatt, S., From the Zulu medicine to the European phytomedicine Umkaloabo, *Phytomed.*, 14, 2-4 (2007).

Wittschier, N., Faller, G., Hensel, A., An extract of *Pelargonium sidoides* (EPs®7630) inhibits in situ adhesion of *Helicobacter pylori* to human stomach, *Phytomed.*, 14, 285–288 (2007).