



**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***IN-VITRO* KOŞULLARDA PROPOLİS'İN ANTİBAKTERİYEL,  
ANTİFUNGAL VE LEYİŞMANYASİDAL  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**GÜLAY GÜLBOL DURAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANTAKYA/HATAY**

**TEMMUZ 2007**

## İÇİNDEKİLER

|  | Sayfa |
|--|-------|
| İÇİNDEKİLER.....   | I     |
| ÖZET .....   | III   |
| ABSTRACT .....   | IV    |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                       | V     |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....   | VI    |
| 1.GİRİŞ.....   | 1     |
| 2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....                                     | 5     |
| 2.1. Propolisin Tarihçesi.....                               | 5     |
| 2.2. Propolisin Tanımı ve Özellikleri.....                   | 6     |
| 2.2.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri.....                  | 8     |
| 2.2.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri.....                  | 9     |
| 2.2.2.1. Flavonoidler.....                                   | 13    |
| 2.2.2.2. Prenile p-kumarik Asitler ve Asetofenonlar.....     | 13    |
| 2.2.2.3. Ligninler ve Diğer Fenolikler.....                  | 13    |
| 2.2.2.4. Di ve Tri Terpenler .....                           | 14    |
| 2.2.2.5.UçucuBileşenler.....                                 | 14    |
| 2.2.2.6.Şekerler.....  | 14    |
| 2.2.2.7.Hidrokarbonlar.....                                  | 14    |
| 2.2.2.8. Mineral Elementler.....                             | 15    |
| 2.3. Yeni Bileşenlerin Biyolojik Aktivitesi.....             | 15    |
| 2.4. Propolisin Bitki Kaynakları.....                        | 15    |
| 2.4.1. Bitki Kaynakları Nasıl Belirlenir?.....               | 15    |
| 2.4.2. Bitki Kaynaklarının Bilinmesinin Önemi.....           | 16    |
| 2.4.3. Bölgelere Göre Propolisin Kaynağı Bitkiler .....      | 16    |
| 2.5. Geopropolis.....  | 17    |
| 2.6. Propolisin Kullanım Şekilleri ve Kullanım Alanları..... | 18    |
| 3.MATERYAL VE YÖNTEM.....                                    | 21    |
| 3.1. Propolis.....   | 21    |
| 3.2. Mikroorganizmalar ve Besiyeri.....                      | 22    |
| 3.3. Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri.....                  | 23    |

|  | Sayfa |
|--|-------|
| 3.4. Antibakteriyal Deneyler.....  | 25    |
| 3.5. Antimikotik Deneyler.....   | 25    |
| 3.6. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonun (MİK) Belirlenmesi.....              | 25    |
| 3.7. Minimal Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerlerinin Belirlenmesi..... | 26    |
| 3.8. Antiprotozoonal Deneyler .....  | 26    |
| 3.8.1.Giemsa Boyası.....   | 27    |
| 3.8.1.1. Boyanın Hazırlanması.....   | 27    |
| 3.9. Değerlendirme.....  | 27    |
| 3.10.İstatistiksel Analiz.....   | 27    |
| 4.ARAŞTIRMA BULGULARI.....   | 28    |
| 5.TARTIŞMA.....  | 44    |
| 6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....   | 49    |
| KAYNAKLAR.....   | 51    |
| TEŞEKKÜR.....  | 56    |
| ÖZGEÇMİŞ.....  | 57    |

## ABSTRACT

### **IN VITRO ANTIMICROBIAL, ANTIFUNGAL AND LEISHMANIACIDAL ACTIVITIES OF PROPOLIS**

Propolis is a hive product that contain more than 300 active components, and the chemical compositions and the rates of constituents varies to the geographical origin, and the plant source. The antimicrobial activities of Adana propolis samples against the growth of some Gram positive (standart strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATTCC 29212 and clinical isolate: *Streptococcus pyogenes*), Gram-negative bacteria (standart strains: *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 and clinical isolate: *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*) and among the yeats like fungi (standart strains: *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 32554, *Candida tropicalis* ATCC 22019 and clinical isolate: *Candida parapsilosis*), and also, the whether leishmaniacidal activity of propolis samples against five different clinical isolates of *Leishmania tropica* the whether leishmaniacidal activity of propolis samples against five different clinical isolates of *Leishmania tropica* were researched. The agar macrodilution method for antimicrobial activity studies was performed according to the procedure of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The antimicrobial activity of propolis against to Gram positive bacteria ( MIC 64-1024 µg/ml) was higher both in Gram positive bacteria ( MIC 256-1024 µg/ml) and yeast like fungi ( MIC 128-1024 µg/ml). In addition, it was determined that the activity of propolis against to yeast like fungi more than Gram negative bacteria. Regarding to *Leishmania tropica*, the leishmaniacidal effect of propolis was obviously identified at the concentration of 250 µg/ml, 500 µg/ml and 750 µg/ml. it was detected that at these mentioned propolis concentrations ocured both the statistically important decreasing in the cell counts, and the morphological changing on *Leishmania tropica* cells such as cell rounding, loss of tail, nuclear enlargement and the constriction of cytoplasmic area.

2007, 58 Page

Key words: Propolis, antibacterial activity, antifungal activity, Leishmaniacidal activity

## ÖZET

### **İN-VİTRO KOŞULLARDA PROPOLİSİN ANTİBAKTERİYEL, ANTİFUNGAL VE LEYİŞMANYASİDAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Propolis, yapısında 300'den fazla biyolojik olarak aktif bileşeni olan ve kompozisyonu ile bileşenlerinin oranları bölgeden bölgeye ve bitki türlerine bağlı olarak değişkenlik gösteren bir arı ürünüdür. Adana orijinli propolisin bazı Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) standart suşları ile Gram pozitif klinik izolatu (*Streptococcus pyogenes*) ve Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047) standart suşları ile Gram negatif klinik izolatlarına (*Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*) karşı antibakteriyel, maya formundaki mantarlardan ise *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 32554, *Candida tropicalis* ATCC 22019 standart suşları ve klinik bir izolat olan *Candida parapsilosis*'e karşı antifungal aktivitelerinin varlığı, ayrıca *Leishmania tropica*'nın 5 farklı klinik izolatına karşı Leyişmanyasidal aktivitesinin varlığı araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları makrodilüsyon yöntemi kullanılarak CLSI önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Propolis örneklerinin Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkileri (MIK değeri 64-1024 µg/ml), Gram negatif (MIK değeri 256-1024 µg/ml) ve maya suşlarına karşı olan antimikrobiyal aktivitelerinden (MIK değeri 128-1024 µg/ml) daha yüksek olarak bulunmuştur. Mayalara karşı etkinliğin Gram negatif bakterilere nazaran daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Leishmania tropica* izolatlarında ise konsantrasyonun 250 µg/ml, 500 µg/ml ve 750 µg/ml düzeyine çıkarılması durumunda propolisin leyişmanyasidal etkisinin varlığı açıkça saptanmıştır. Gerek hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmanın tespit edilmesi gerekse hücre yuvarlaklaşması, kuyruk kaybı, nükleer yapının büyümesi ve sitoplazmik yapının daralması gibi morfolojik değişimlerin olduğu tespit edilmiştir.

2007, 58 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Propolis, antibakteriyel aktivite, antifungal aktivite, leyişmanyasidal aktivite

## 1. GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç önemli ve global bir sorundur. Bakterilerde antimikrobiyal direnç tıpta, ziraatte ve endüstride kullanılmakta olan antimikrobiyal ajanlar için her geçen gün giderek büyüyen bir problemdir. Klasik antiseptiklere ve antibiyotiklere karşı mikrobiyal direnç prevalansında görülen artmayla birlikte dikkatler doğal orijinli antimikrobiyal bileşenlere çevrilmiştir (Cowan,1999). Doğal ürünler binlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde insanlar arasında kullanılmaktadır. Son yıllarda dünya çapında doğal ürünlerin farmakolojik amaçlar için kullanımında önemli bir artış olduğu gözlenmektedir (Cragg ve ark., 1997). Propolis de bu doğal kaynaklı ürünler arasında yerini almaktadır.

Propolis arı zımkı olarak bilinen, rengi koyu kahverengiden yeşile değişebilen yapışkansı bir maddedir. Arıların kovanlarını korumada kullandıkları mumlu salgı sekresyonları ile çeşitli yapışkan bitki özularının karışımından oluşan bir arı ürünüdür. Çeşitli bitkilerin tomurcuk, kabuk, yaprak ve gövdelerinden toplanıp biriktirilen, mumdan daha farklı yapıda reçinemsı bir karışımdır. Propolisi oluşturan içerisindeki bileşenler propolisin toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine göre değişiklik göstermektedir. Arı, bitkinin özuyunu veya reçinesini parçalamakta ve *Corbiculae* denilen torbada biriktirmektedir. Daha sonra bu maddeler kovana taşınmakta, oradaki çatlak ve yarıkların kapatılmasında, kovanın dezenfekte edilmesinde kullanılmaktadır (Castaldo ve ark., 2002).

Propolis uzun yıllardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde halk arasında kullanılmıştır (Ghisalberti, 1979). Propolisin en karakteristik özelliği mikroorganizmalara karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinliği olup, çok eski zamanlardan beri bu farmakolojik özelliklerinden dolayı insanoğlu tarafından kullanılmıştır. Günümüze kadar propolisin oldukça geniş biyolojik aktif özelliği tanımlanmıştır. Bu özellikler arasında; antibakteriyal (Kujumgiev ve ark. 1999; Hegazi ve ark., 2000), antifungal (Kujumgiev ve ark., 1999; Sforcin ve ark., 2000), antiviral (Amoros ve ark., 1992), antiprotozoonal (Starzyk ve ark., 1977), antitümöral (Banskota ve ark., 2002), immunomodulatör (Dimov ve ark., 1992), anti inflamatuvar (Dobrowolski ve ark., 1991), ve anti-oksidatif (Nagai ve ark., 2003) özelliğinin olduğu daha önce yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Son yıllarda doğal bir arı ürünü olan propolisin oldukça zengin biyolojik özelliklerinin olmasından dolayı dikkatleri üzerine çekmiş, tıpta, gıda sektöründe ve kozmetik sanayi gibi çeşitli alanlarda oldukça yaygın kullanım alanı bulmuştur. Reçinenin toplandığı kaynağa bağlı olarak propolisin kimyasal kompozisyonunda büyük ölçüde değişiklik gösterdiği bildirilmektedir. Örneğin sıcak bölgelerde flavonoidler ve sinamik asit türevleri gibi temel fenolik bileşenler içerirken, tropikal bölgelerde propolisin daha çok diterpenler ve prenilat bileşenlerini içerdiği bildirilmiştir (Kujungiev ve ark., 1999; Marcucci, 1995). Propolisin en önemli aktif bileşenleri arasında aromatik asitler, fenolik maddeler, özellikle flavonoidler (flavonlar, flavonoller, flavononlar) ve fenolik asit gibi bileşenler bulunmaktadır. Propolisin antimikrobiyal özelliği, içinde bulunan flavononlar pinosembrin, flavonoller galanjin ve kafeik asit fenetil esterden kaynaklandığı düşünülmektedir (Burdock, 1998). Bir çalışmada propolisin antibakteriyal özelliğinin bazı prenilat p-coumarik asitlerden kaynaklandığı bildirilirken, Bankova ve arkadaşları da propolisin bu özelliğın uçucu bileşenlerinden ve diterpenik asitlerden kaynaklandığını bildirmişlerdir. (Aga ve ark., 1994; Bankova ve ark., 1996). Bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların çoğu göstermiştir ki; propolisin bakteriler üzerindeki inhibitör etkisi, yapısında bulunan çeşitli bileşenlerin varlığına bağlıdır (birçok bileşenin sinerjistik etkisiyle gerçekleşmektedir) (Ghisalberti, 1979).

Propolis üzerinde yapılan çalışmalar, çeşitli antimikrobiyal özelliklerinin yanında insan sağlığı açısından da oldukça önemli ve gerekli olan vitaminler, mineral ve elementler de içerdiğini göstermiştir. İhtiva ettiğı vitaminler B1, B2, C ve E vitaminleri ile bakır, kalsiyum, aliminyum, stronsiyum ve vanadium gibi çeşitli elementlerin de bulunduğu bildirilmiştir (Speciale ve ark., 2006). Ayrıca, miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, kafeik asit, vanilin, sinamik asit, acacetin, kamferide ve izovanilin gibi kimyasal bileşiklerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Bankova ve ark., 1982). Propolisin içinde bulunan Pinobanksin-3-asetat (flavonoid), pinosembrin, galanjin, benzil p-kumarat ve kafeik asitin antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda propolisin *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Trichophyton mentagrophytes* türlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu bildirilmiştir (Oksuz ve ark., 2005; Duran ve ark., 2006).

Ayrıca propolisin önemli bileşenlerinden olan kafeik asit fenetil esterinin tümör hücreleri için sitotoksik etkisinin olduğu da bildirilmiştir (Greenaway ve ark., 1988). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda propolis ekstraktının herhangi bir toksijenitesinin bulunmadığı, propolisin %0.5-1'lik sulu çözeltilerdeki konsantrasyonunun akut ve kronik solunum hastalıklarında aerosol olarak başarılı şekilde kullanıldığı bildirilmiştir (Çakır ve Tümen, 1990). Propolisin antimikrobiyal etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada ise 1:20 dilüsyonda *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Branhamella catarrhalis* ve *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* ve *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da propolisin etanolik ekstraktının, zengin flavonoidler, fenolik bileşikler, seskiterpenler, steroidler, aminoasitler ve inorganik iz elementler ihtiva ettiği de bildirilmiştir (Greenaway ve ark., 1988). Ayrıca propolisin ateşli hastalıklarda ateş düşürücü olarak, yaraların iyileşmesinde hücre yenileyicisi olarak da kullanıldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Özçelik, 1992).

Günümüze kadar propolisin farklı bakteri mantar suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri dünyanın çeşitli yerlerinden elde edilen propolis örnekleri üzerinde çalışılmış olsa da bir hücre içi paraziti olan *Leishmania*' ya karşı anti-leyişmanyoz özelliği hususunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Machado ve ark., 2007).

Leyişmanyozis tropikal ve sub tropikal 88 ülkede endemik olarak görülebilen ve dünya sağlık örgütü verilerine göre 12 milyondan fazla kişiyi etkileyen bir hastalıktır (WHO, 2004). Sağlık Bakanlığının verilerine göre hastalık son 10-12 yıl içinde artış göstermekte ve özellikle Hatay, Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, ve Mersin gibi illerin de içinde bulunduğu bölgemiz için endemik bir hastalıktır (Akkafa ve ark., 2000.) Günümüzde hastalığın hiçbir formuna karşı etkili bir aşı geliştirilememiş ve hastalığın kemoterapik tedavisi hala yetersiz olup pahalıdır (Croft ve Yardley, 2002). Bu nedenle Leyişmanyoz tedavisi konusunda hem aşı çalışmaları hem de ilaç çalışmalarında sentetik ve doğal kaynaklı yeni ürünler üzerinde çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Özellikle son yıllarda yeni ilaç çalışmalarında doğal kaynaklı araştırmalar büyük hız kazanmıştır (Newman, 2003). Leyişmanyoz konusunda da doğal kökenli ilaç çalışmalarında önemli derecede artış görülmektedir. Literatüre bakıldığında özellikle tropikal bölgelerden toplanan bitki ekstraktlarının *Leishmania* türlerine karşı



aktivitelerinin gösterildiği çalışmalara rastlamak mümkündür (Fournet ve ark., 2002; Weniger ve ark., 2001). Leishmanyozda propolisin kullanımıyla ilgili Machado ve ark. yaptığı bir çalışmada propolisin bazı *Leishmania* türlerine karşı (*Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. chagasi*) anti protozoonal etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Machado ve ark., 2007).

Bu çalışmada orijini Adana bölgesi olan propolisin çeşitli bakteri, mantar ve *Leishmania tropica* izolatları üzerinde etkinliğinin araştırılması planlanmıştır. Tez kapsamında yapılan çalışmanın birinci bölümünde, propolisin çeşitli Gram negaif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047) standart suşları *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes* klinik izolatları) ve Gram pozitif bakteri suşları (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşları ile *Streptococcus pyogenes* klinik izolatı) üzerindeki antibakteriyel aktivitesi ve çeşitli maya suşları (*Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 32554, *Candida tropicalis* ATCC 22019 standart suşları ve klinik izolat olan *Candida parapsilosis*) üzerindeki antifungal aktivitenin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızın ikinci kısmında ise propolis örneklerinin, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma, Uygulama ve Sağlık Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarından temin edilen *Leishmania tropica* klinik izolatları üzerindeki antiprotozoonal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Propolisin Tarihçesi

İnsanoğlu propolisi çok eski çağlardan beri farklı amaçlar için kullanmışlardır. Uzun yıllar boyunca propolisten tıpta çeşitli amaçlar için yararlanılmıştır. Günümüze kadar gelen eski Yunan yazıtları propolisin iltihaplanan yaralar ve diş çürükleri için tedavi amacıyla kullanıldığını tanımlarken, Roma'lılar döneminde yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın içerisine katılarak kullanılmaktaydı. İbranice eski vasiyetnamelerde "Tzori" olarak geçmektedir ve tedavi edici özelliklerinden bahsedilmektedir. Avrupa'daki onikinci yüzyıl kayıtları propolisin medikal preparatlarının ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahsetmektedir. Propolis son zamanlarda oldukça popüler hale gelmiştir. İnsanlık için bu reçinemsî yapının keşfedilen yararları henüz çok az aydınlatılabilmektedir (Ghisalberti, 1979).

Propolis kelime anlamı eski Yunanca'dan gelmektedir. "Pro"; ön, giriş ve "polis"; şehir anlamına gelmekte, bal arılarının kovan savunması ile ilgili olarak kullanılmıştır. Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır.

Mikroorganizmalara karşı aktivitesi propolisin çok önemli karakteristik bir özelliğidir. Bu özellik antik çağlardan beri tedavi amaçlı olarak insanlar tarafından kullanılmaktadır. Propolis sahip olduğu özelliklerinden dolayı 1960'ların sonundan itibaren bilim adamlarının dikkatini çekmiştir ve günümüze kadar propolisin terapötik kullanımı, farmokolojisi, biyolojik aktiviteleri ve kimyasal yapısı üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. İlk kapsamlı yayın 1979 da Ghisalberti tarafından yayınlanmıştır (Ghisalberti, 1979). Yazar son 70 yıl süresince (20. yüzyılın başlarından bu yana) yayımlanmış propolis hakkındaki çoğu bilgiyi toplamıştır. Yazısında propolis yapısının büyük bir kısmının bilinmediğini bu nedenle sağlık alanında kullanılmasını tavsiye etmediğini ve çok daha fazla çalışılması gerektiğini, özellikle terapötik sonuçlarının tam anlamıyla ele alınabileceğine dikkat çekmiştir. Bundan 20 yıl kadar sonra propolisin biyolojik aktivitesi ve kimyası üzerine önemli bir bilgi ortaya çıkmış, terapideki uygulanması değiştirilmiştir. Temel problem toplanma yerine bağlı olarak kimyasal içeriğin dikkat çekici şekilde değişmesi olarak bildirilmiştir. Çünkü farklı

ekosistemlerde farklı bitkiler ve salgıları propolis kaynağı olarak görev görmektedir (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995).

Son yıllarda modern arı yetiştiriciliğinde propolis toplama eğilimi yüksek arı ırkları ile çalışmak arıcının çalışma koşullarını ve bal hasadını zorlaştırmakta, petekli balın pazar değerini düşürmektedir. Ancak propolisin tıp, veteriner hekimlik, dişçilik, kozmetik ve bitkisel üretim alanlarında insanlara son derece yararlı yönleri ortaya konulduktan sonra bazı ülkelerde propolis üretimi son derece önem kazanmıştır (Ghisalberti, 1979). Günümüzde ise artan bir popülerlik kazanmıştır.

Arılar propolisi milyonlarca, insanlarsa binlerce yıldır kullanmaktadır. Arılar ve insanoğlu propolisin birçok yararlı özelliklerinden faydalanmışlardır. İnsanlık için bu reçinensi yapının keşfedilen yararları henüz çok az kalmaktadır. (Ghisalberti, 1979)

## 2.2. Propolisin Tanımı ve Özellikleri

Propolis, bal arıları (*Apis mellifera* L.) (Şekil 2.1) tarafından bitkilerden toplanan ve mumla karıştırılarak kovan içerisinde birçok amaca yönelik olarak kullanılan doğal bir üründür. Bal arılarının taze bitkilerden toplayıp mum ile karıştırdıkları ve kovanların onarımında ve çevre koşullarına adaptasyonda kullandıkları reçinensi, koyu renkli bir maddedir. Propolis işçi bal arılarının ağaç ve çalılarının yaprak tomurcuğu, gövde yaraları gibi büyüyen yenilenen kısımlarından topladıkları sarı, yeşil ve kahverengi reçinensi, yapışkan bir üründür. Sağlık için alınması gereken 30'a yakın besin kaynağını bünyesinde bulundurması bakımından mükemmel bir doğal ilaç olma özelliği ile önem kazanmıştır (Ghisalberti, 1979).



Şekil 2.1 : Bal arısı *Apis Mellifera*

Arılar propolisi kovanlarının iç duvarlarını ya da yaşadıkları yerde oluşan oyuk ya da çürükleri kaplamada, delik ya da çatlakları kapatmada, kovanlarını tamir etmede, kovanların ince kenarlarını güçlendirmede, peteklerin kenarlarını sağlamlaştırma ve savunmada kullanırlar (Şekil 2.2). Propolis aynı zamanda bir mumyalama maddesidir ki; arılar kovana saldıranları öldürüp kovan içinden atamadıklarında propolis ile bu canlıları mumyalarlar ve bakteri ile maya insidansının dışarıdaki atmosferden daha düşük olmasını sağlarlar. Böylece bu mumyalama işlemi ile bakteri ve maya üremesi durdurulur (Ghisalberti, 1979). Ayrıca yavru yetiştirme döneminde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşıp kaybolması engellenir. Böylece kovan içi gerekli olan nem de korunmuş olur. Bunların yanında olumsuz çevre koşullarından kovayı korumak, kovan giriş deliğini küçültmek amacıyla da kullanılmaktadır (Greenaway ve ark., 1990; Krell, 1996; Bankova 2000). Arılar propolisi arka bacaklarında bulunan polen sepetlerinde depo etmekte ve koloniyi taşımaktadırlar (Ghisalberti, 1979).

Propolis antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar, antiülseratif, lokal anestezik, hepatoprotektif, antitümöral ve immunostimülatör özellikleri gibi birçok yararlı biyolojik aktiviteye sahiptir (Burdock, 1998; Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995). Bu nedenle propolisin apiterapide (Pochinkova, 1986) biyokozmetikte, sağlıklı beslenmede, halk sağlığında popüler bir ilaç olarak geniş bir kullanımı vardır (Matsuda, 1994; Wollenweber ve Buchmann, 1997).

Propolisin ticari olarak arıcılar tarafından toplanması tahta kovan bölmelerinden ya da toplama tuzakları ile olmaktadır. Propolisin ham hali, doğal sağlık ürünlerinde (pastil, merhem, içecek, vb.) balmumu ve diğer malzemelerin uzaklaştırılması ile ikincil bir işleme tabi tutularak yapılmaktadır (Ghisalberti, 1979).



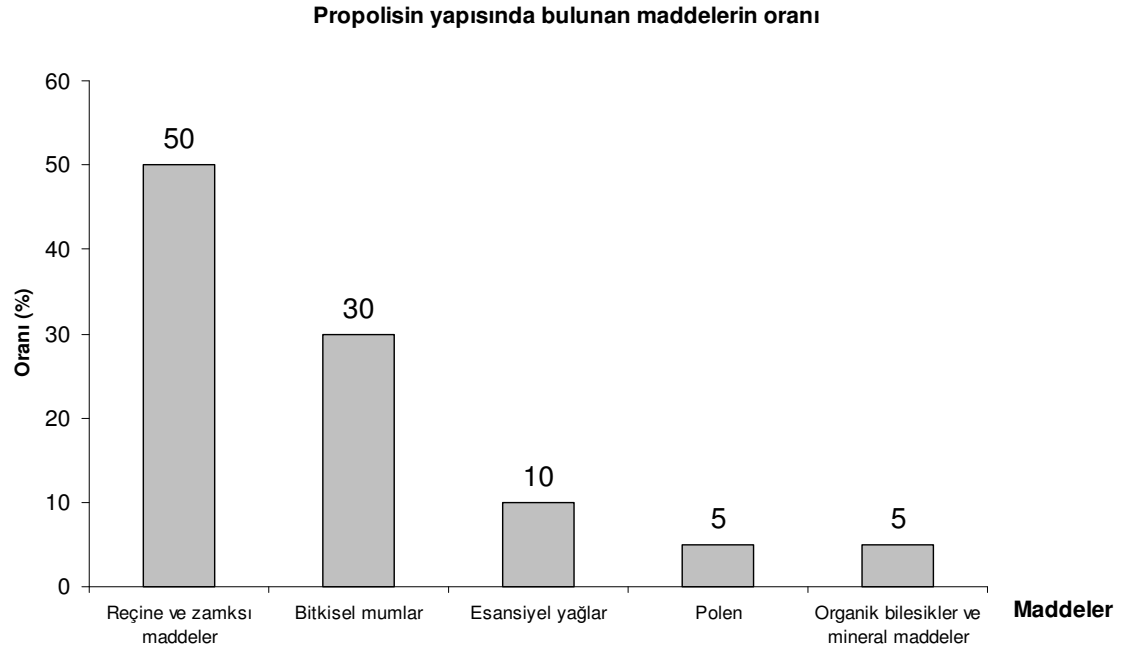
**Şekil 2.2 :** Arı peteklerinin kenarlarında propolis

### **2.2.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri**

Propolis, işçi bal arılarınca bitkilerin filiz ve tomurcuklarından toplanan bitki reçineleri ve bitki salgılarının arıların salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratılmasıyla oluşan bir maddedir. Arıların balmumu ile karıştırdıkları propolisin bazı bitkilere özgü proteinleri de yapısında bulundurması, propolisin mumsu kısmının bitkisel mum yapısında olduğunu göstermektedir. Propolis 15-25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermekte, soğukta katı kırılğan bir şekle dönüşmektedir. Yüksek sıcaklıklarda (30-40 °C) yumuşayıp yapışkan bir durum almakta, 80°C da kısmen erimektedir. Propolisin rengi bitki kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengine kadar değişim göstermektedir. Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde büyük ölçüde çözünmekte, suda çok az çözünmekte veya hiç çözünmemektedir. Propolis, tıbbi alanda %70'lik alkolde çözünmüş çözelti olarak kullanılmaktadır. (Kumova ve ark., 2002).

### 2.2.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri

Ham propolisin yapısı, kaynağına bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte; %50-55 reçine ve balsam, %20-35 bitkisel kaynaklı balmumu, %5-10 uçucu yağlar (bunun %0.5'i esansiyel yağlar) , %2-5 polen, %5-15 organik bileşiklerden oluşur. Reçine ve balsam içeren kısım terpenler, polisakkaritler, kafeik asit gibi maddeler içerir. Balmumu ise yağ asitleri, B vitaminleri, C ve E vitaminleri içerir. Organik kısmın en önemli bölümü olan flavonoidler (polifenolik içerik), üzerinde en fazla çalışma yapılmış maddelerdir, propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur (Granje ve Davey, 1990). Bu kısım pinosembren, pinostrobin, kuerasetin gibi maddeleri içerir. Propolis ayrıca farklı mineral ve oligo elemanlar içerir. Flavon ve flavonoidler propolise antifungal, antiviral ve antibakteriyel özellikler kazandıran maddelerdir (Kujumgiev ve ark. 1999; Ghisalberti, 1979).



**Şekil 2.3:** Propolisin yapısında bulunan maddelerin oranı

Propolis içerisinde bugüne kadar keşfedilmiş çok sayıda bileşen vardır. Bu tanımlanan bileşenler ve sayıları Çizelge 2.1 de gösterilmiştir.

**Çizelge 2. 1:** Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayıları (Marcucci, 1995)

| <b>Bileşikler</b>                      | <b>Tanımlanan Bileşik Sayısı</b> |
|--|----------------------------------|
| Flavanoidler                           | 38                               |
| Hidroksiflavonlar                      | 27                               |
| Hidroksiflavononlar                    | 11                               |
| Kalkonlar                              | 2                                |
| Benzoik asit ve türevleri              | 12                               |
| Asitler                                | 8                                |
| Esterler                               | 4                                |
| Benzaldehit türevleri                  | 2                                |
| Sinamil ve sinamik asit ve türevleri   | 14                               |
| Alkoller, ketonlar, fenoller           | 8                                |
| Heteroaromatik bileşikler              | 12                               |
| Terpen ve sekuterpen ve türevleri      | 7                                |
| Alifatik hidrokarbonlar                | 6                                |
| Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar | 11                               |
| Steroller ve steroid hidrokarbonlar    | 6                                |
| Mineraller                             | 22                               |
| Şeker                                  | 7                                |
| Aminoasitler                           | 24                               |

Propolisin içerdiği maddeler ve bunların etkileri ise aşağıda özetlenmiştir (Granje, 1990; Marcucci, 1995; Kujumgiev, 1999; Dobrowolski ve ark., 1991 Burdock, 1998; Bankova,1982; Barak ve ark,2002; Basnet ve ark,1996, Mirzoeva,1997):

**Flavonoidler:** antimikrobiyal özellikler, ateş düşürücü antioksidant, kılcal damarların geçirgenliğini azaltır, kanamayı durdurucu.

**Krizin:** Tümör hücrel toksisite, Anti-*Helicobacter pylori*.

**Apigenin:** Gastrik ülserin iyileştirilmesi.

**Acacetin:** Ateş düşürücü.

**Kuersetin:** Antiviral, kılcal damarların güçlendirilmesi, anti-tümöral aktivite, spazmolitik.

**Kaempferid:** Spazmolitik, anti-*Mycobacterium phlei*, mikroorganizmaların asit direncine karşı etki.

**Kaemperol-7,4'-dimetil eter:** Antifungal.

**Ermanin:** Antifungal.

**Galanjin:** Bakteriyostatik aktivite, antibakteriyal ve antifungal, anti-*Helicobacter pylori*.

**Pinosembrin:** Bakteriyostatik aktivite, antifungal, antimikrobiyal, *in vitro* ve harici kullanım, lokal anaestetik, anti-*Helicobacter pylori* aktivitesi.

**Pinobanksin:** Antibakteriyal ve antifungal.

**Pinobanksin-3-asetat:** Antibakteriyal ve antifungal.

**Pinostrobin:** Lokal anestetik.

**3',4'-dihidroksiflavonidler:** Kılcal damarların güçlendirilmesi.

**Flavan-3-ols:** Kılcal damarların güçlendirilmesi.

**Pektolinarinjenin:** Spazmolitik.

**Luteolin:** Anti-viral, gastrik ülserin iyileştirilmesi.

**Luteolinin 3',4'-dimetil eteri:** Spazmolitik ve hipokoleretik.



**Artepillin C:** Anti-tumoral etki; anti-leukemik etki.

**Eriodiktiol:** Kalp yetmezliğini iyileştirici etki, akut kalp yetmezliğini önleyici etki.

**Pinosilvin (3,5-dihidroksistilben):** *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus*'u inhibe edici özelliği, *Mycobacterium phlei* ve *M. semegmatis*'e karşı etkinlik.

**Ferulik asit:** Antibakteriyel etki, aglutinant etki, kollojenik etki.

**Isoferulik asit:** *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik.

**Benzoik asit:** Bakteriostatik ve bakterisid etki, balzamik ve antiseptik aktivite.

**Sinnamik asit:** *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik.

**Isopentil ferulat:** İnfluenza virusa karşı etkinlik (A/Hong Kong (H3N2) *in vitro* hemagglutinininin *in vivo* üretiminin inhibe edilmesi).

**p-Kumarik asit benzil ester:** Antimikrobiyal ve antifungal etkinlik.

**Kafeik asit:** Antiviral, bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel aktivite, ateş düşürücü özellik.

**Prenil kafeat:** Gizli kontakt alerjen.

**3-metil-2-enil kafeat:** Antiviral aktivite.

**Kafeik asit fenetil ester:** Anti-tumoral aktivite.

**Metil kafeat:** Tümör sitotoksitesi veya inhibisyonu.

**Diterpenoid clerodan:** Anti-tümöral aktivite, antibakteriyel özellik.

**Eterik yağlar:** Antimikrobiyal aktivite.

**Bisabolol:** Ateş düşürücü özellik.

Son birkaç yılda tropik bölge propolisi merak konusu olmuştur. Bu propolislerdeki birçok yeni bileşenin tanımlanması ile bunların bazılarının olağanüstü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Tropik bölge propolisinin önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı bileşenleri aşağıda özetlenmiştir:

#### **2.2.2.1. Flavonoidler**

Tropikal propolis üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; flavonoidler Avrupa örneklerinde olduğu gibi bu örneklerin en önemli bileşenleri olmakla birlikte bitki kaynakları Avrupa'dakilerden farklıdır. Wollenweber & Buchmann yaptıkları bir çalışmada Sanoran Çölünde toplanan örneklerde, (Wollenweber ve Buchmann, 1997) *Ambrosia deltoidea*'nın yaprak salgılarında tipik flavonoid aglikonlarını tespit etmişler, bunların arasında 5,7,4-trihidroksi-6,8-dimetoksiflavon ve sidertiflavon bulunan flavonoidleri tanımlamışlardır. Myricetin 3,7,4,5 tetrametil eter ve quercetin 3,7,3-trimetileter Tunus propolisinden izole edilmiştir (Tunus propolisi *Cistus* türünden orjin almaktadır) (Martos, 1997). Brezilya örneklerinde kaempferid,5,6,7-trihidroksi-3,4-dihidroksiflavon, aromadendrine-4'metileter ve 3,5,7-trihidroksi-6,4,dimetoksiflavon tespit edilmiştir (Banskota ve ark., 2002).

#### **2.2.2.2. Prenile p-kumarik Asitler ve Asetofenonlar**

Brezilya orjinli propoliste son zamanlarda yeni bulunan fenoliklerin bir diğer sınıfı, prenil p-kumarik asitler ve onların türevleridir. Brezilya propolisinden ayrıca asetofenon türevleri içeren modifiye bir prenil de izole edilmiştir (Banskota ve Ark., 2002). Prenile p-kumarik asit ve asetofenonlar özellikle Güney Amerika *Baccharis* türünün sekonder metabolitlerdir (Bohlmann ve ark., 1981).

#### **2.2.2.3. Ligninler ve Diğer Fenolikler**

Brezilya'dan başka ülkelerden toplanan tropikal propolis üzerine yapılmış son araştırmalar bitki kaynağı halen bilinmeyen bir seri ligninin tanımlanmasına olanak vermiştir. Kanarya adaları propolisinde 13 tip lignin bulunduğu bildirilmiştir. Bunların çoğu tanımlanmıştır (Banskota ve Ark., 2002). Bunlardan dördü: sesamin, askontin, sesartenin, yangambin olarak karakterize edilmiş ve izole edilmiştir (Christov ve ark., 1999). Valcic ve arkadaşları (Valcic ve ark., 1998) Şili arı zambından dört yeni lignin izole etmişlerdir: bir dimer, iki diastomerit dimer ve dihidrobenzofuran. Brezilya propolislerinden izole edilen diğer fenolik bileşikler kafeoilkuinik asit türevleri, C-

guayasilgliserol, 3-[4-hidroksi-3-(3-oxo-1-enil)-fenil] akrilik asittir (Banskota ve ark. , 2002; Tazawa ve ark. , 1998).

#### **2.2.2.4. Di ve Tri Terpenler**

Diterpenler Brezilya propolis içeriğinin önemli bileşenidir. Diterpenik asitlerin birçok önemli biyolojik aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Bir antitümör klerodon türevi (Matsuno ve ark., 1998) sitotoksik maddeler ve onun E izomeri (Matsuno ve ark.,1998) ve antibakteriyel asitler olarak tanımlanmışlardır (Bankova ve ark., 1996).

Bazı triterpenik alkoller ( $\beta$ -amycin, amyirin tipin triterpenik alkolleri ve cycloartenol) Brezilya ve Mısır propolislerinde de bulunmuştur (Marcucci ve ark., 1995).

#### **2.2.2.5. Uçucu bileşenler**

Propoliste düşük yoğunlukta önemli biyolojik aktiviteye sahip uçucu bileşenler bulunmuştur (Maciejewicz ve ark., 1983).

Propolisin uçucu bileşenlerinin temel olarak mono ve seskuiter penoidler olduğu tespit edilmiştir (Bankova ve ark., 1992). Tropikal bölge uçucu bileşenleri, ılıman zon örneklerinde bulunmayan bazı seskuiter penoidler içermektedir (ledol, spatulenol, germacren gibi). Brezilya'dan elde edilen propolis örneklerinde bulunan uçucularda diğer aromatik bileşiklerle birlikte prenil asetofenonlar bulunmuştur (Bankova ve ark., 1996).

#### **2.2.2.6. Şekerler**

Kanarya adalarından toplanan örneklerde (Christov ve ark., 1999) disakkaritleri de içeren önemli sayıda seker ve seker alkolleri bulunmuştur.

#### **2.2.2.7. Hidrokarbonlar**

Brezilya örneklerinden propolis balmumu analiz edilmiş ve hidrokarbonlar ile monoesterler Avrupa örneklerine benzer oranlarda bulunmuştur. Propolis balmumunun yapısının, kovan mumunun yapısına benzemesi kovan mumunun bitki orijinli olmaktan ziyade arılar tarafından salgılanan propolis mumları olduğunu göstermektedir (Bankova ve ark., 1996).

### **2.2.2.8. Mineral Elementler**

Propolis mineral elementleri üzerine yakın zamanda yapılan çalışmalar Makedonya örneklerinde; Ca, Mg, K,Na, Fe ve Zn (Kulevanova ve ark., 1995), Küba örneklerinde ise Fe, Mn, Zn, Cu (Diaz ve ark., 1997) belirlenmiştir. Her iki çalışmada atomik absorpsiyon spektrokopisi kullanılmıştır.

### **2.3. Yeni Bileşenlerin Biyolojik Aktivitesi**

Propolis yapısında bulunan yeni bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin varlığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Prenil p-kumarik asitlerin bazıları antibakteriyel (Aga ve ark., 1994) ve sitotoksik (Matsuno ve ark., 1997) aktiviteye sahiptir. Kafeoilkinic asit türevleri immunomodülatör ve hepatoprotektif aktivite göstermektedirler (Basnet ve ark., 1996). Furofuran ligninler bazı bakterilerin üremesini inhibe etmektedirler (Christov ve ark., 1999). Brezilya propolisinden izole edilen diterpenik asitler ve bunun E izomeri sitotoksik, (Matsuno ve ark., 1998) antibakteriyel (Bankova ve ark., 1996) aktivite göstermektedirler.

Bu sonuçlar propolisin standardizasyonun olabilirliğine dair önemli bir ipucudur. Bununla birlikte farklı coğrafik bölgelerde propolisin temel bitki kaynakları, biyolojik olarak aktif bileşenleri, kimyasal yapısının belirlenmesinde ihtiyaç duyulan sistematik araştırmalara devam edilmelidir. Bu bilgiler propolisin kimyasal tipinin ve biyolojik aktivitelerinin sınırlı bir kısmının formüle edilmesine yardımcı olabilmektedir.

### **2.4. Propolisin Bitki Kaynakları**

#### **2.4.1. Bitki Kaynakları Nasıl Belirlenir?**

Bal arılarınca toplanan en önemli materyaller, nektar ve polen kendi botanik isimleri ile refere edilir. Diğer yandan propolis botanik kökenli olmayan arıya yönelik bir terimdir. Arılar için kullanışlı bir materyal olan propolis bitkilerin farklı bölgelerindeki botanik proseslerin bir varyasyonu ile üretilir. Bunlar Crane'e göre bitkilerdeki yaralardan dışarı verilen maddeler ve bitkilerce aktif olarak salınan maddelerdir; yapraklar ya da yaprak tomurcukları üzerindeki lipofilik materyaller, bitkilerden sızan zamklar, reçine, lateks ve buna benzer maddelerdir. Crane tarafından dünyanın farklı bölgelerindeki, propolisin kaynağı olan bitkilerin uzun bir listesini

verilmiştir (Crane ve Beekeeping, 1988). Bu liste sadece bir hazırlayıcı ön bilgi olarak kabul edilmelidir, çünkü propolisin toplanması bal arılarının nadir bir aktivitesidir ve genelde ağaçların yüksek yerlerinde toplanır ve bu yüzden incelenmesi zordur. (Crane ve Beekeeping, 1988).

#### **2.4.2. Bitki Kaynaklarının Bilinmesinin Önemi**

Propolisin bitki kaynaklarının bilinmesi yalnızca akademik bir merak değildir. Aynı zamanda propolisin kimyasal standartizasyonu için de bir temel olarak faydalıdır. Propolis kendi bitki kaynağının kullanılmasıyla kolaylıkla karakterize edilebilir. Kimyasal yapısı TLC, HPLC ya da GC analizleriyle kolayca tayin edilebilmektedir. Bu yöntemler, bitki kaynağında bulunan bitki salgılarının kalitatif içeriğini ortaya çıkarmaktadır. Örneğin, propolis kaynağı kavak tipi ise flavonoid aglikonlar, hidroksisinnamik asitler ve esterlerinin karışımından oluştuğu ortaya çıkmaktadır (Popravko, 1978; Ghisalberti, 1979; Lavie, 1975)

Propolis bilgi kaynağı arı yetiştiricilerinin arıların uçuş alanında yoğun olarak bulunan bitkileri bilmeleri açısından önem taşımaktadır. Arılar çevreden propolis toplayamadıkları zaman çeşitli boya, asfalt ve mineral yağları içeren maddeleri propolis gibi kullanmak amacıyla toplamak zorunda kalırlar. Arıların bu toplama davranışı içersine sokulması propolisin farmakolojik kullanımını tehdit etmektedir (Popravko, 1978).

#### **2.4.3. Bölgelere Göre Propolisin Kaynağı Bitkiler**

Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Propolisin Avrupa'da ana kaynağı olarak kavak (*Populus*) türleri gösterilmektedir. Bu bölgede bal arıları *Populus* türlerinde reçineyi tercihen yaprak sürgünlerinden toplamaktadır. Avrupa için ikinci derece önemli olan propolis kaynağı bitkiler huş, meşe ağacı, kızılgağaç, söğüt ve fındık ağaçlarıdır. Propolisin yoğun olarak toplandığı kavak türleri Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika ile sınırlıdır. Afrika'da propolisin kaynağı akasya (*Acacia*)'dır. Avusturalya'da Avrupa'da olduğu gibi kavağın çok sınırlı olması nedeniyle, arıların bazı yörelerde bulunan kavakların tomurcuklarını tahrip ettikleri ve ökaliptusun (*Eucalyptus*) en önemli propolis kaynağı olduğu bildirilmektedir (Ghisalberti, 1979, Popravko, 1980) Amerika Birleşik Devletleri'nde kavak türleri; çamlar ve diğer çalılar ile birlikte propolisin ana kaynağını oluştururken, İtalya'da Kestane'nin (*Castaneae*), Rusya'nın orta kesimlerinde Huş

ağacı, Hindistan'da Kavak türleri propolis kaynağını oluşturan bitkilerdir. Tropikal Bölgelerde Kavak ve Huş ağaçlarının bulunmamasından arıları propolis için yeni kaynaklara yönlendirmiştir. Bunun yanında Tunus'da bazı *Cistus spp.* yaprak salgılarının, Brezilya'da ise *Baccharis* türlerinin propolisin asıl kaynağı olduğu belirlenmiştir (Ghisalberti, 1979).

Sıcak bölgelerde kavak türleri ve onun hibritlerinin tomurcuk salgılarının propolisin asıl kaynağı olduğu kabul edilmektedir. Avrupa, Kuzey Amerika, Asya'nın tropik olmayan bölgelerinde ve Yeni Zelanda'da kavak türleri propolis için kaynak bitki olarak gösterilmekirken, Rusya'da özellikle kuzey bölgelerde huş ağacı (*Betula verrucosa*) önemli bir propolis kaynağıdır (Ghisalberti, 1979; Lavie, 1975)

Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Palinolojik analizler sonucu belirlenen bazı önemli propolis kaynağı bitkiler; *Abies* (Kök nar), *Acer* (Akçaağaç), *Aesculus* (At kestanesi) , *Alnus* (Kızılağaç), *Betula* (Huş), *Castaneae* (Kestane), *Corylus* (Fındık), *Eucalyptus* (Ökalyptus), *Pinus* (Çam), *Populus* (Kavak), *Prunus* (Erik), *Quercus* (Meşe) , *Salix* (Söğüt) , *Tilia* (Ihlamur), *Ulmus* (Karaağaç)'tur (Lavie, 1975).

## 2.5. Geopropolis

Propolisle ilgili yapılan çalışmaların çoğu genellikle *Apis mellifera* bal arıları tarafından toplanan propolisler üzerine yoğunlaşmıştır. Güney Amerika bulunan *Meliponinae* (iğnesiz) arı türlerinin toprak, mum ve bitkilerin reçineli kısımlarından topladıkları maddeler geopropolis olarak tanımlanmıştır (Barth ve ark. 2003).

Çok sınırlı sayıda çalışma propolisin bu türü üzerinde yapılmıştır. Tomas-Barberon ve arkadaşları (Tomas-Barberan ve ark., 1993). Venezuela dan HPLC ile geopropolis ve propolisin fenolik bileşenlerini araştırmış ve tüm örneklerde prenilat benzofenonların hakim olduğunu bildirmişlerdir. Beş yerli balarısı türü ile yapılan araştırmalarda propolisin kimyasal yapıları arasında belirgin farkların olmadığı tespit edilmiştir. Yakın dönemlerdeki bir yayında Bankova ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (Bankova ve ark., 1996) üç Brezilya iğnesiz arı türünden elde edilen geopropolisin kimyasal kompozisyonu üzerine yaptıkları çalışmada propolis içeriğinin arı türü ve bölgeye göre varyasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Geopropolisin

komponentlerinin balarısı propolisine benzer biyolojik aktiviteye sahip olması araştırmalar için ilginç bir alandır (Barth ve ark. 2003).



**Şekil 2.4** : Propolis ile kaplı arı kovan girişi

## **2.6. Propolisin Kullanım Şekilleri ve Kullanım Alanları**

Modern tıpta sentetik ilaçların yaygın olarak kullanımını bilinen doğal ilaçların önemini azaltmıştır. Ancak son yirmi yıl içerisinde, sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu hastalık etmenlerinin bu ilaçlara dirençli hale gelmeleri sonucu insanları tekrar doğal ilaçların kullanımına yöneltmiştir. Doğal ilaçların başında gelen propolisin kimyasal yapısı, farmokolojik özellikleri ile etkili ve hızlı bir şekilde fayda sağlaması çeşitli şekillerde kullanımı yaygınlaştırılmış olup propolis ürünlerini kapsül, tablet, granül, pastil ve ciklet şeklinde bulmak olasıdır. (<http://www.propomed.com>(erişim tarihi:02.06.2007); <http://www.nektararicilik.com> (erişim tarihi:02.06.2007))

İşlenmemiş ham propolis doğal olarak ağızda yumuşatılarak çiğnenebilir veya doğrudan yutularak kullanılabilir. İnsanların günde 10 g kadar propolisi alabileceği belirtilmektedir. Bu şekilde alınan ham propolis, sindirim sisteminde yavaş çözülerek kana geçmekte, halsizlik durumlarında, ağız ve boğaz rahatsızlıklarında, sindirim sistemi mukozasının düzenlenmesinde ve diş ağrılarında kullanılmaktadır. Propolis

güvenli bir diyet ürünüdür. Düzenli alındığında herhangi bir yan etkisinin olmadığı, hemen her türlü hastalığa karşı olumlu bir direnç yarattığı belirtilmektedir. Ancak bazı kişilerde hafif allerjik reaksiyonlara neden olabildiği bu açıdan ilk kez kullanıldığında bir iki damla kullanılarak test edilerek alınması önerilmektedir. Tedavi amaçlı kullanımlar için günde 1-3 kez 250 mg'lık kapsül şeklinde alınması tavsiye edilmektedir. Ticari olarak hazırlanmış ve içerisinde 0.2 gr saf propolis bulunan kapsüllerden günde 2-6 adet alınması önerilmektedir (<http://www.propomed.com>(erişim tarihi:02.06.2007)).

Propolis %70'lik alkolde çözülerek, %3-30 oranında su ile seyreltilir. Bu propolis eriyiği yara, yanık ve egzamaya karşı kullanılmaktadır. Balın üzerine (bir çorba kaşığı) bu eriyikten birkaç damla damlatılarak ağızdan alınabilir. Saflaştırılmış propolis, %1-20 arasında vazelin, bal mumu gibi maddeler ile karıştırılarak krem ve merhem şeklinde cilt rahatsızlıklarında kullanılabilir. (Almas ve ark., 2001)

Anadolu'da geleneksel olarak insanların ve çiftlik hayvanlarının ayak problemlerinde kullanılmaktadır. Propolis kedi, fare ve domuzlarda 1 kg canlı ağırlık için 10-15 g/gün şeklinde kullanılmasının zararlı etkisinin olmadığı araştırmalarla kanıtlanmıştır. Arı ürünleri tıbbın alternatifi değil destekçisi olarak önem kazanmaktadır.(<http://www.propomed.com>(erişim tarihi:02.06.2007)).

Propolisin oldukça geniş biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu özellikleri arasında anti-inflamatuar etkilerine dayanarak, propolis romatolojik ve diğer inflammatuar hastalıklara karşı olası bir yardımcı ürün olarak önerilmektedir (Cicala ve ark., 2003; Hegazi ve ark., 2001) Bazı çalışmalarda anti kanserojen özelliği ve anti-bakteriyel aktivitesi bulunduğu da bildirilmektedir. Propolisin kısmi kalınlıktaki yanık yaralarını iyileştirmede etkili olduğu da bildirilmiştir (Gregory ve ark. 2002). Viral enfeksiyonlardan zoster kaynaklı kornea komplikasyonlarına karşı anti-viral (Vynograd ve ark.2000) ve anti-inflamatuar etkisinin olduğu da belirlenmiştir. Ayrıca diş ağrısını hafifletici etkisinin olduğuna dair (Almas ve ark., 2001), diş taşı ve dişeti iltihabını gidermeye yardımcı (gargara) (Almas ve ark., 2001), etkilerinin olduğu da bildirilmiştir. Bunun yanında diş plakları oluşumuna sebep olan bakterilere karşı antimikrobiyal etkili olduğu da saptanmıştır. Zührevi herpes simplex virus (HSV) enfeksiyonları (Barak ve ark., 2002). Laboratuvar



çalışmalarında propolisin, Herpes simplex virüsü 1 ve 2'ye karşı anti viral etkisinin varlığı türleri de dahil olmak üzere, anti-viral etkisi (Scifo ve ark., 2004) belirlenmiştir.

Propolisin birçok olumlu etkilerinin ortaya konulması sonucu günümüzde propolis, dünya ticaretinde düzenli alınıp satılan bir ürün durumuna gelmiştir. Çok geniş kullanım alanı olan ve her geçen gün önemi daha da artan propolisin kullanıldığı yerler şöyle özetlenebilir.

1. Propolis, bakterilerin birçoğuna karşı öldürücü ya da gelişmelerini engelleyici bileşikler içermesi nedeniyle bazı bakteriyel hastalıkların iyileştirilmesinde, vücudun genel çalışma sistemi ve iç salgı bezlerinin çalışmalarının düzenlenmesinde, bazı fungal hastalıkların tedavisinde, içerisindeki esansiyel yağ asitleri nedeniyle lokal anestezide, grip, uçuk gibi viral enfeksiyonlara karşı, antitümör etkisi nedeniyle özellikle akciğer kanserlerinde, hastalık sonrası halsizliğin ve yorgunluğun giderilmesinde, doku ve hücrelerin formasyonunu düzenlemede, antiromatik özelliği nedeniyle romatizmal hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sistemini düzenlenmesinde hastalıklara karşı vücut direncini arttırmakta kullanılır.
2. Çürümeyi ve bozulmayı engelleyici özelliği ile gıda sanayinde kullanılmaktadır.
3. Çimlenme engelleyici olması nedeniyle yumrulu bitkilerin saklanması için kullanılır.
4. Mobilya sanayinde cila işlerinde kullanılır.
5. Propolis bitki ekstraktları, arı sütü ve E vitamini ile birlikte kozmetik alanında gün geçtikçe artan oranlarda kullanılmaktadır. Cildi besleyici, temizleyici ve onarıcı ürünlerden krem, süt ve pomatların yapımında geniş ölçüde kullanım alanına sahiptir.
6. Evcil hayvanların ayak ve deri problemlerinin çözümünde, endometritisin tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir.

### 3.MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Propolis

Çalışmada Çukurova bölgesi bitki florası orijinli propolis kullanılmıştır. Propolisin gaz kromatografi ve spektrofotometrik analizi daha önce Şahinler ve arkadaşları tarafından yapılmış ve propolisin etanol ekstraksiyonunun kimyasal bileşenleri Çizelge 3.1’de verilmiştir (Şahinler ve Kaftanoğlu, 2005).

**Çizelge 3.1.** Adana bölgesinden toplanan propolisin kimyasal kompozisyonu.

| <b>Bileşenler</b>                    | <b>Oran(%)</b> | <b>Bileşenler</b>                                   | <b>Oran(%)</b> |
|--------------------------------------|----------------|---|----------------|
| <b>Terpenoidler</b>                  |                | 10-Metilnonadecan                                   | 11.49          |
| Beta-Malien                          | 5.70           | Tetratetrakontan                                    | 9.06           |
| Beta-Ödesmol                         | 5.52           | Hekzatriakontane                                    | 0.77           |
| Alfa-Ödesmol                         | 8.07           | n-Hekzatriakontan                                   | 11.56          |
| Alfa-Amorfen                         | 0.72           | <b>Yağ asitleri</b>                                 |                |
| Beta-Karyofilin                      | 7.21           | Hekzadekanoik asit                                  | 2.39           |
| Alfa-Humulen                         | 0.89           | Dokosanoik asit                                     | 1.49           |
| Alfa-Murolen                         | 1.16           | Octadekanoic asit                                   | 0.62           |
| γ-Kadinen                            | 1.82           | 9,12,15-Octadektrienoik asit                        | 0.40           |
| δ-Kadinen                            | 3.79           | Hexakosanoik asit, metil ester                      | 6.22           |
| Karyofilin oksit                     | 2.51           | 9,12-Octadekanoik asit, metil ester (linoleik asit) | 3.43           |
| Alloaromadendren                     | 0.43           | Pentanoik asit, metilester                          | 0.51           |
| γ-Kadinen                            | 1.82           | 2-Hekzadekanoik asit, metil ester                   | 0.33           |
| Sembren                              | 13.34          | Docosanoik asit                                     | 1.49           |
| Solanon                              | 1.31           | Tetrakosanoik asit, metil ester                     | 10.31          |
| Geranil aseton                       | 0.55           | Triakontanoik asit, metil ester                     | 4.13           |
| Metilen-1,3,3-trimetil idolin        | 0.46           | Oktakosanoik asit metil ester                       | 5.10           |
| Alfa-Kopaen-11-Ol                    | 1.78           | Hekzadekanoik asit metil ester                      | 1.29           |
| Naftalin1,2,3,4,4a,7-<br>heksahidro- | 0.66           | <b>Alkoller</b>                                     |                |
| 1,6-dimetil-4-(1-metiletil)          |                |   |                |
| Alfa-Kadinol                         | 4.00           | 9-Oktadesen-1-Ol                                    | 0.61           |
| Aromadendren- 2                      | 2.59           | N-Hentriakontanol-1                                 | 10.48          |
| Germakren A                          | 3.03           | Octadekan   | 1.55           |
| <b>Hidrokarbonlar</b>                |                | <b>Aldehitler</b>                                   |                |
| Dotriakontan                         | 2.82           | Desil aldehit                                       | 0.26           |

Çalışmada ticari olarak satılmakta olan standart antibiyotiklerden; Ampisilin, (AMP, Faco), standart antifungallerden Flukonazol (FLU, Pfizer) ile Glucantim (Pfizer)

kullanıldı. Bu ilaçlar üretici firmaların önerileri doğrultusunda fosfat tamponu (Ampisilin, pH: 8.0, 0.1 mol/l), ve steril bidistile su (Flukonazol, Glucantim) içerisinde çözülerek kullanılmıştır.

### 3.2. Mikroorganizmalar ve Besiyeri

Çalışmada referans bakteri ve maya suşları temin edildikten çalışıncaya kadar -70 °C'de gliserollü besiyeri içinde muhafaza edilmiştir. Çalışma yapılacağı zaman 37 °C'lik su banyosunda çözülerek maya suşları içinde %0.5 oranında kloramfenikol bulunan Saboraud Dextroz agarda 30 °C'de, bakteri suşları ise Mueller-Hinton agarda ve 37 °C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Minimal bakterisidal konsantrasyonun tayininde kanlı agar besiyeri kullanılmıştır.

*Leishmania tropica* klinik izolatları daha önce izole edilmiş ve Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) besiyerinde inkübe edilmiş, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Uygulama ve Sağlık Hastanesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) besiyerinde pasajları yapılmıştır.

Çalışmada Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü, Mersin Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve İnönü Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Kültür koleksiyonlarından temin edilen standart bakteri ve mantar suşları ile laboratuvar klinik izolatlarının yanında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Uygulama ve Sağlık Hastanesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda pasajları yapılmakta olan Şanlıurfa orijinli 5 *Leishmania tropica* izolatı kullanılmıştır.

Çalışmada aşağıda verilen mikroorganizmalar kullanılmıştır

#### Gram pozitif bakteriler

- 1 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- 2 *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- 3 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
- 4 *Enterococcus faecalis* ATTCC 29212
- 5 *Streptococcus pyogenes* (Klinik izolat)

**Gram negatif bakteriler**

- 1 *Esherichia coli* ATCC 25922
- 2 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- 3 *Enterobacter cloacae* ATCC 13047
- 4 *Proteus vulgaris* (Klinik izolat)
- 5 *Enterobacter aerogenes* (Klinik izolat)

**Mayalar**

- 1 *Candida albicans* ATCC 90028
- 2 *Candida krusei* ATCC 6258
- 3 *Candida glabrata* ATCC 32554
- 4 *Candida tropicalis* ATCC 22019
- 5 *Candida parapsilosis* (Klinik izolat)

***Leishmania tropica***

- 1 *Leishmania tropica* (Klinik izolat, 1)
- 2 *Leishmania tropica* (Klinik izolat, 2)
- 3 *Leishmania tropica* (Klinik izolat, 3)
- 4 *Leishmania tropica* (Klinik izolat, 4)
- 5 *Leishmania tropica* (Klinik izolat, 5)

**3.3. Antimikrobiyal Aktivite Deneyleri**

Propolis örneğini çözmek için dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck) kullanılmıştır. Dimetil sülfoksitin mikroorganizmalar için toksik olmayan konsantrasyonunu belirlemek amacıyla dimetil sülfoksitin farklı konsantrasyonlardaki miktarlarını içeren kültürlerle, içerisinde dimetil sülfoksit bulunmayan kültürler (kontrol grubu) birlikte kültüre edilmiştir. Çalışmada %3.125 (v/v) konsantrasyona kadar dimetil sülfoksit ihtiva eden kültürlerde mikroorganizmalar üzerinde toksik etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Çalışmada DMSO nun propolisin optimum çözüldüğü en düşük konsantrasyonu

kullanılmıştır. Bu amaçla DMSO'nun toksik olmadığı tespit edilen %3.125'lik konsantrasyonundan çok daha düşük miktarda kullanılmasına özen gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışmada propolisi çözmek için DMSO'nun %1'lik konsantrasyonu seçilmiştir.

Dimetil sülfoksitin bakteri ve mayalar üzerindeki etkilerini test etmek için düz tabanlı 12 kuyucuklu pleytlere  $1 \times 10^8$  bakteri  $1 \times 10^5$  maya olacak şekilde inoküle edilmiştir.

Sonra besiyeri içerisinde son konsantrasyon %50, %25, %12.5, %6.25, %3.125, %1.56 ve %0.78 olacak şekilde dimetil sülfoksit eklenerek inkübe edilmiştir. İnkübasyondan 48 saat sonra kontrol grubu hücreleriyle karşılaştırmalı olarak kıyaslanarak mikroorganizmalar üzerindeki etkileri kaydedilmiştir. En yüksek non-sitosidal konsantrasyon %3.125 olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle mikrobiyal aktivite çalışmalarında %3.125'nin altındaki propolisi çözebilen en düşük dimetil sülfoksit konsantrasyonu seçilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanmıştır.

Çalışmamızın ikinci bölümünü oluşturan *Leishmani tropica* suşlarına karşı aktivite deneylerinde de aynı işlemler RPMI 1640 besiyeri içinde benzer şekilde uygulanmıştır. Dimetil sülfoksitin non-sitositoksik konsantrasyonun da *Leishmania tropica* suşlarında da benzer olarak %3.125'e kadar olduğu tespit edilmiştir.

Propolisin stok solüsyonu %1'lik dimetil sülfoksit içinde çözüldükten sonra başlangıç konsantrasyonu 4.096 mg/ml olacak şekilde Mueller-Hinton (Difco, USA) sıvı besiyerinde çözülmüştür.

Propolisin ve standart ilaç örneklerinin test besiyeri içinde 4096, 2048, 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 µg/ml olacak şekildeki konsantrasyonları hazırlanmıştır. Çalışmada solvent (çözücü) olarak kullandığımız DMSO nun mikrobiyal üremeye etkisinin olmadığından emin olabilmek için aynı dilüsyonlarda DMSO bulunan besiyeri ile birlikte mikroorganizmaların inkübasyonu yapılmıştır. Deneylerde DMSO nun seçilen konsantrasyonunun mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir inhibitör etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Deneylerde standart antifungal ajan olarak Flukonazol ile standart antibakteriyel ajan olarak Ampisilin ve standart anti-protozoonal ajan olarak Glucantim kontrol grubu ilacı olarak seçilmiştir.

### 3.4. Antibakteriyel Deneyler

Bakteri suşları Mueller-Hinton sıvı besiyerine inoküle edilerek  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saatlik inkübasyondan sonra çoğaltılarak antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanıma hazır hale getirilmiştir. Deneyler pH 7.4 olan Mueller-Hinton sıvı besiyerinde iki kat seri dilüsyon yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Antibakteriyel testlerde Mueller-Hinton sıvı besiyeri içinde mikroorganizmaların final inokulum miktarı  $10^5$  cfu/ml bakteri olacak şekilde ayarlanarak  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu deney tüplerinin yanında içerisinde sadece besiyeri ve mikroorganizma bulunan kültür tüpleri de aynı koşullarda beraberce deney kontrol grubu olarak inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan 24 saat sonra üreme bulanıklığının tespit edilmediği son tüp  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK değeri) olarak tespit edilmiştir.

### 3.5. Antimikotik Deneyler

Öncelikle çalışmada seçilen maya formundaki mantarlar Sabouraud dextroz sıvı besiyerinde (Difco, USA)  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Deneylerde pH 7.4 olan Sabouraud dekstroz sıvı besiyerinde iki kat seri dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Sabouraud dekstroz sıvı besiyeri içinde mikroorganizmaların final inokulum miktarı  $10^4$  cfu/ml maya olacak şekilde ayarlanarak  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu deney tüplerinin yanında içerisinde sadece besiyeri ve mikroorganizma bulunan kültür tüpleri de aynı koşullarda beraberce deney kontrol grubu olarak inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan 48 saat sonra üreme bulanıklığının tespit edilmediği son tüp  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden MİK değeri olarak tespit edilmiştir.

### 3.6. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)'nin Belirlenmesi

Çalışmamızda propolisin ve antibiyotiklere ait MİK değerlerinin belirlenmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen makrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (NCCLS, 1997; NCCLS, 1998).

Kısaca, McFarland 1 bulanıklığına göre mikroorganizma süspansiyonları yapılmış 1:1000 oranında dilüe edilerek Mueller-Hinton besiyeri içinde iki kat

dilüsyonları yapılmıştır. Üreme bulanıklığının tespit edilmediği en son tüp dilüsyonu MİK değeri olarak tespit edilmiştir.

### 3.7. Minimal Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Dğerlerinin Belirlenmesi

Bulanıklığın görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir. MBK değerlerinin belirlenmesi amacıyla inkübasyon süresinin sonunda üreme görülmeyen tüm kuyucuklardan iki kere 10'ar µl alınarak bakteri örnekleri Mueller-Hinton ve kanlı agar plaklarına, mantar örnekleri ise Sabouraud dextroz agar plaklarına ekilerek bakteriler 37±1°C'de mantarlar ise 25±1°C'de 48 saat inkübe edilerek MBK değerleri tespit edilmiştir. İnkübasyonun sonucunda oluşan koloniler sayılmış, başlangıç inokulumunun % 99.9'unu öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonu MBK değeri olarak belirlenmiştir (NCCLS, 1999).

### 3.8. Antiprotozoonal Deneyler

Daha önce alınmış ve NNN besiyerinde 24 °C'de 20 gün inkübe edilmiş örnekler burada pasajlanarak parazitlerin yoğun olarak üretilmesi sağlanmıştır. Bu pasajlar için RPMI 1640 (Sigma) besiyeri kullanılmıştır.

Parazitlerin enfektif formları ile deneyleri uygulamayı garantilemek için parazitlerin en fazla 5 pasaja kadar alt kültürleri yapılmıştır. (Cysne-Filkelstein ve ark., 1998). Parazitler geç log fazında 4000 rpm de 10 dk santrifüj edilerek toplanmıştır. Süpernatant RPMI 1640 besiyeri içinde resüspanse edildikten sonra Thoma lamında sayılarak  $1 \times 10^5$  /ml olacak şekilde test edilecek tüplere eklenmiştir.

*Leishmania tropica* suşlarının promastigot formları içerisinde %10 oranında fetal dana serumu (Gibco, USA) bulunan RPMI-1640 besiyerinde 26 C'de kültüre edilmiştir. *Leishmania tropica* promastigotları  $1 \times 10^5$  parazit/ml olacak şekilde içerisinde propolis bulunmayan ve değişen konsantrasyonlarda propolis ihtiva eden besiyerleri ile 72 saat süreyle inkübe edilmiştir. Çalışmada sekonder fazındaki *Leishmania tropica*'nin intakt ve canlı hücreleri kullanılmıştır. İnkübasyonun 24., 48., ve 72. saatlerinde kültürlerden alınan örneklerde Thoma lamında parazit sayımı yapılmıştır. Deneylerde içerisinde propolis ihtiva etmeyen (negatif kontrol) ve içerisinde 150 mg/ml oranında Glucantim bulunan pozitif kontroller de kullanılmıştır.

### **3.8.1. Giemsa Boyası**

Leishmania izolatlarının besiyerinde inkübasyonu sırasında üremenin olup olmadığını anlaşılması için besiyerlerinden alınan örnekler Giemsa ile boyanarak incelenmiştir.

#### **3.8.1.1. Boyanın Hazırlanması**

Boya 15 ml önceden hazırlanmış stok Giemsa solüsyonundan 35 ml fosfat tamponu karıştırılarak taze olarak hazırlanmıştır.

### **3.9. Değerlendirme**

İçerisinde propolis bulunmayan besiyerindeki koloni sayıları ile propolis ihtiva eden besiyerindeki koloni sayıları karşılaştırılmıştır. Propolis ihtiva eden besiyerindeki üreme propolis ihtiva etmeyen kültürlerdeki üremenin %1 ya da daha azı oranında ise denenen konsantrasyona mikroorganizma duyarlı olarak tespit edilmiştir.

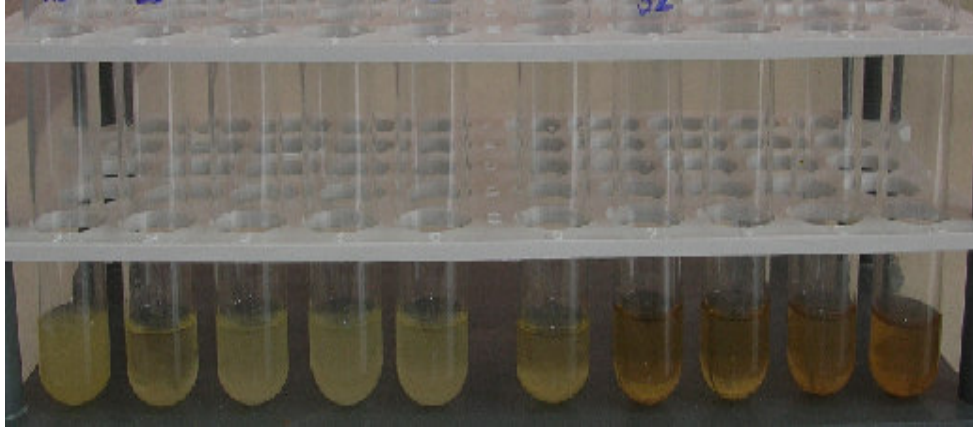
### **3.10. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler için SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programından yararlanılmıştır. Olgulardan elde edilen değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. Gruplar arası ortalamaların farklılığının incelenmesinde Kruskal Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. Gruplar arası oranların karşılaştırılmasında da Ki-Kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi için  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edilmiştir.



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

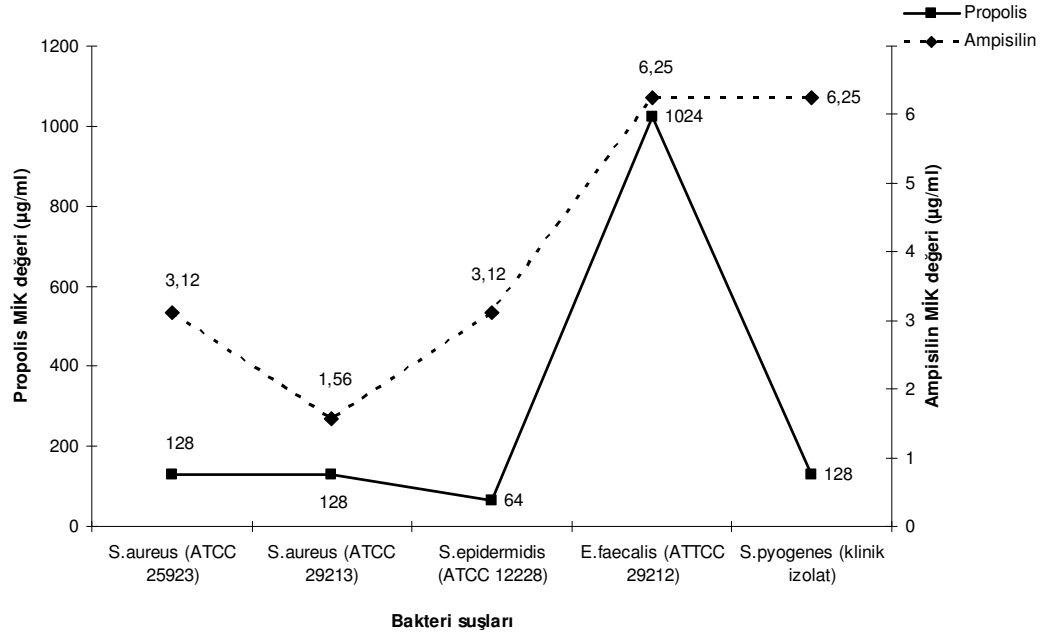
Propolisin antibakteriyel, antifungal ve *Leishmania tropica*'ya karşı anti protozoonal etkisini araştırmak amacıyla, sıvı makrodilüsyon yöntemi ve minimal inhibisyon konsantrasyon deneyleri yapılmıştır (Şekil 4.1.).



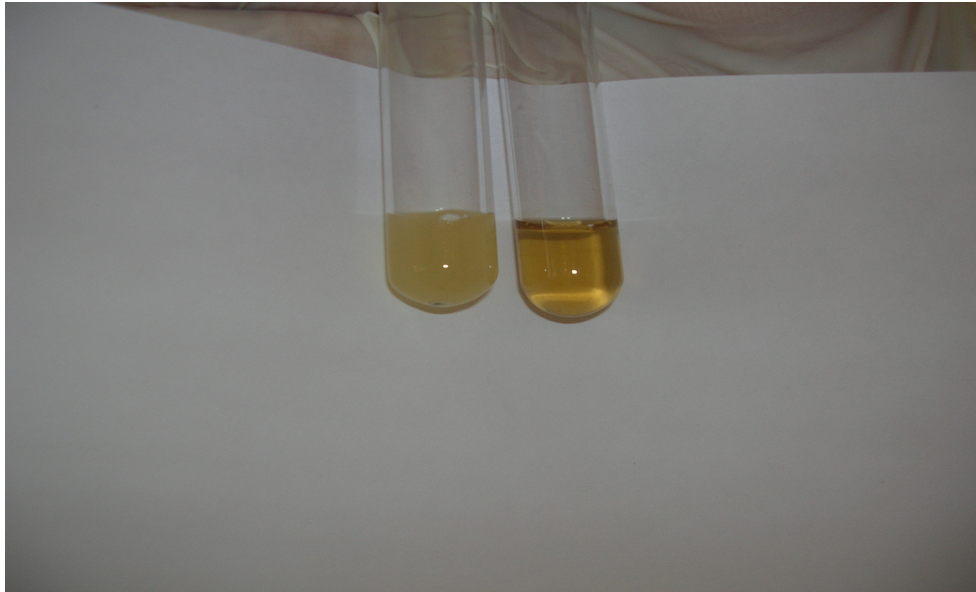
**Şekil 4.1.** Mikroorganizmalar üzerinde propolisin MİK tayininde kullanılan genel bir tüp dilüsyon yönteminin sonucu (tüpler soldan sağa: kontrol, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 µg/ml propolis ihtiva etmektedir).

Çalışmada Gram pozitif bakterilere karşı propolisin MİK değerinin 64-1024 µg/ml arasında, Gram negatif bakterilere karşı MİK değerinin 256-1024 µg/ml olarak tespit edilirken maya izolatlarına karşı ise MİK değerinin 128-1024 µg/ml olduğu saptanmıştır.

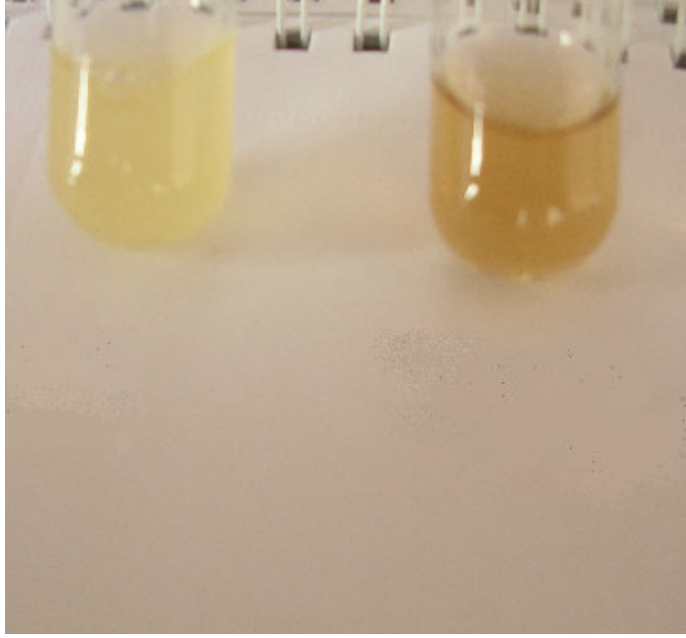
Şekil 4.2.'de de görüldüğü gibi propolisin Gram pozitif bakteriler arasında en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *Staphylococcus epidermidis*' e karşı gösterdiği tespit edilmiştir (MİK: 64 µg/ml)(Şekil 4.3.) Bunu *Streptococcus pyogenes* (klinik izolat), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923(Şekil 4.4.), ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Şekil 4.5.) suşlarının 128 µg/ml'lik MİK değerleri ile takip ettiği saptanmıştır. Deneylerde propolisin Gram pozitif bakteriler arasında en düşük antimikrobiyel aktivitesi *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'e karşı saptanmıştır.



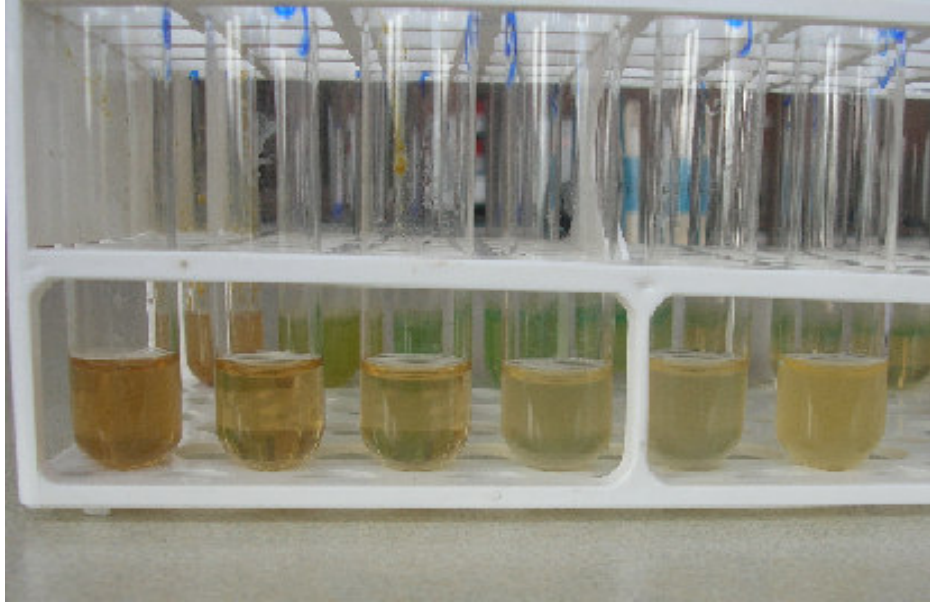
Şekil 4.2. Propolisin Gram pozitif bakterilere karşı MİK değerinin Ampisilin ile kıyaslanması



Şekil 4.3. Propolisin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228'e karşı MİK tayininde bulanıklığın görülmediği ilk tüp (64 µg/ml) ile kontrol tüpünün kıyaslanması.

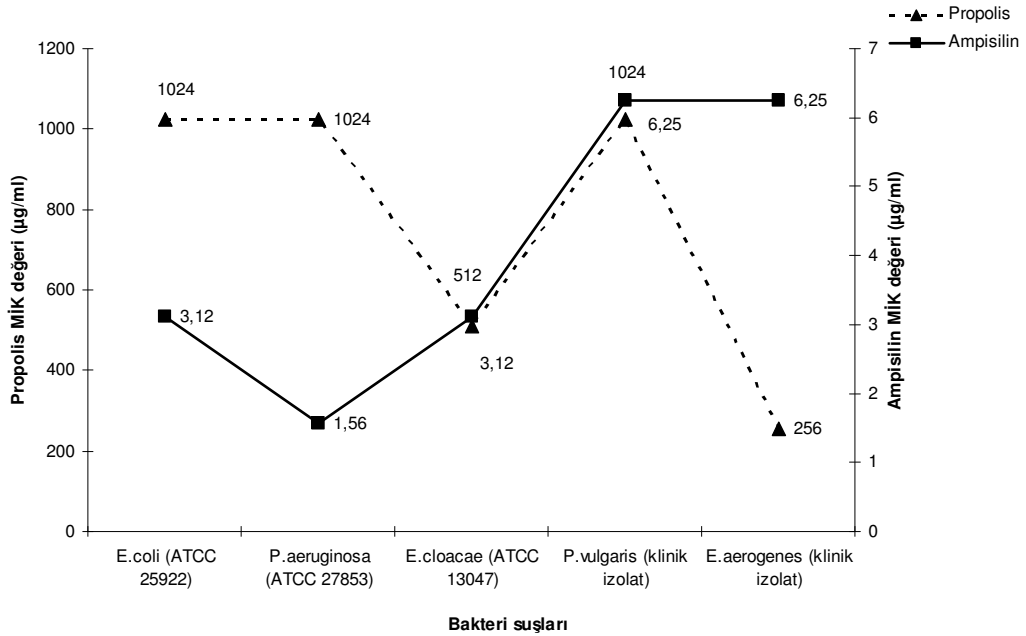


**Şekil 4.4.** Propolisin 128 µg/ml'lik konsatrasyonunun *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı etkisi.(soldaki tüp: *S.aureus* kontrol, sağdaki tüp: propolis 128µg/ml)

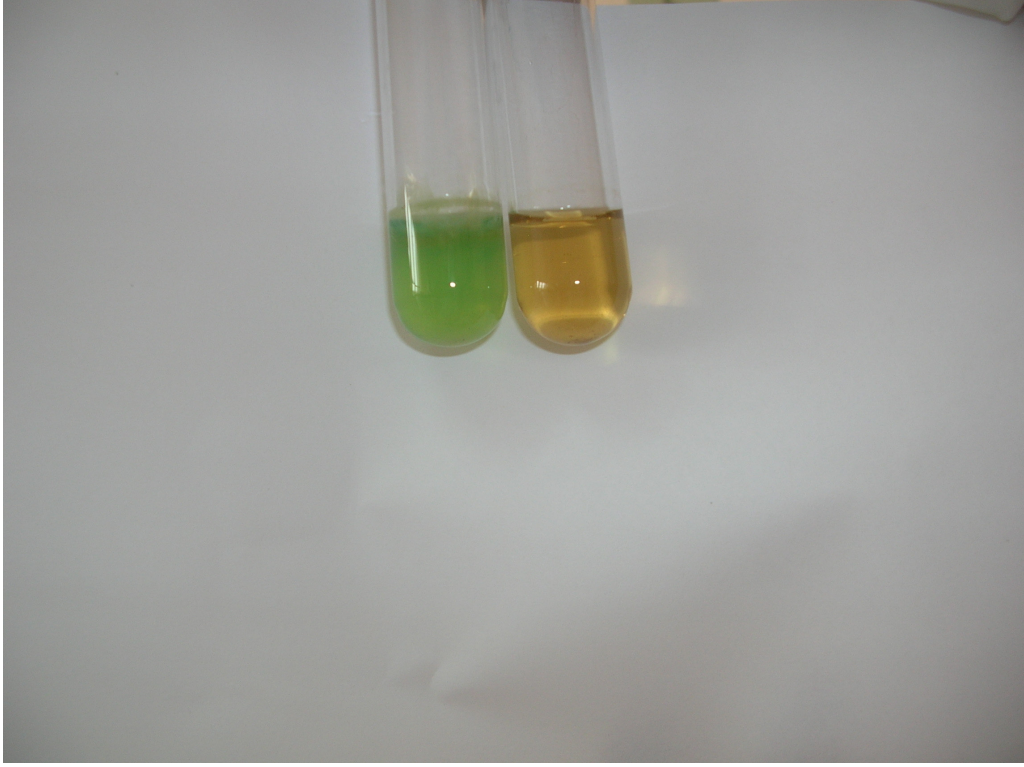


**Şekil 4.5.** Propolisin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'e karşı MİK tayini.

Şekil 4.6.'da ise propolisin bazı Gram negatif bakterilere karşı MİK değerlerinin standart ilaç olarak seçilen Ampisilin ile birlikte kıyaslı sonuçları verilmiştir. Genel olarak bakıldığında propolisin Gram negatif bakterilere karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivitesi Gram pozitif bakterilere karşı saptanan antimikrobiyal değerden daha düşük olarak bulundu. Deneylerde Gram negatif bakteriler arasında propolis en yüksek aktiviteyi (MİK: 128 µg/ml) *Enterobacter aerogenes* (klinik izolat)'e karşı gösterirken, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 izolatına karşı MİK değeri 512 µg/ml olarak tespit edildi. Çalışmada kullanılan diğer Gram negatif suşlara karşı (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Şekil 4.7.) ve *Proteus vulgaris* (klinik izolat)) ise MİK değeri 1024 µg/ml olarak bulundu. Kontrol grubunda standart ilaç olarak seçtiğimiz Ampisilin'in Gram negatif bakterilere karşı MİK değerleri ise aşağıdaki şekilde tespit edildi. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 için 1.5 µg/ml, *Escherichia coli* ATCC 25922 için 3.12 µg/ml olarak tespit edilirken, *Proteus vulgaris* (klinik izolat) ve *Enterobacter aerogenes* (klinik izolat) için 6.25 µg/ml olarak saptandı.



Şekil 4.6. Propolisin Gram negatif bakterilere karşı MİK değerinin Ampisilin ile kıyaslanması

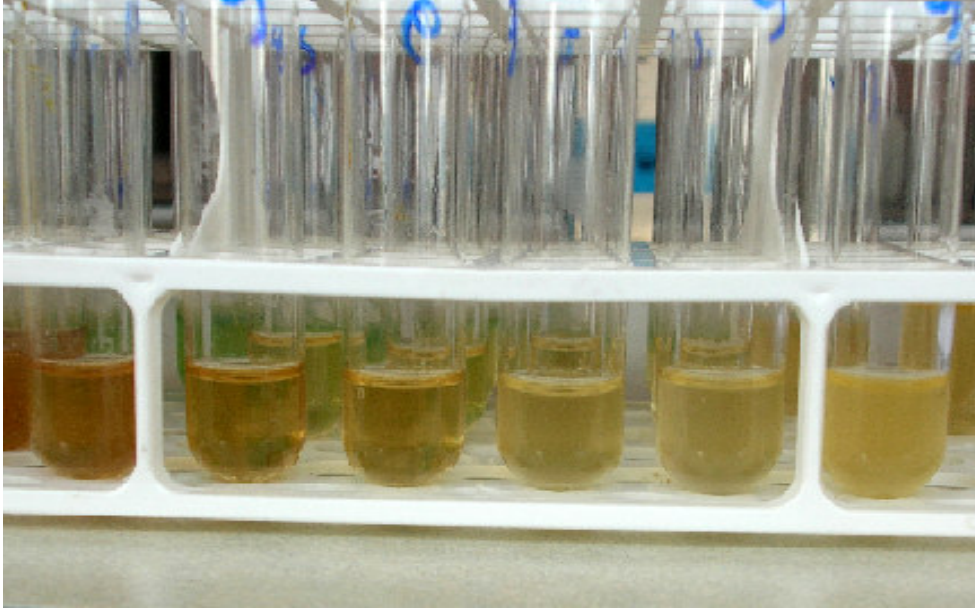


**Şekil 4.7.** Propolisin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'e karşı MİK tayininde bulanıklığın görüldüğü son tüp (1024 µg/ml) ile kontrol tüpünün kıyaslanması.

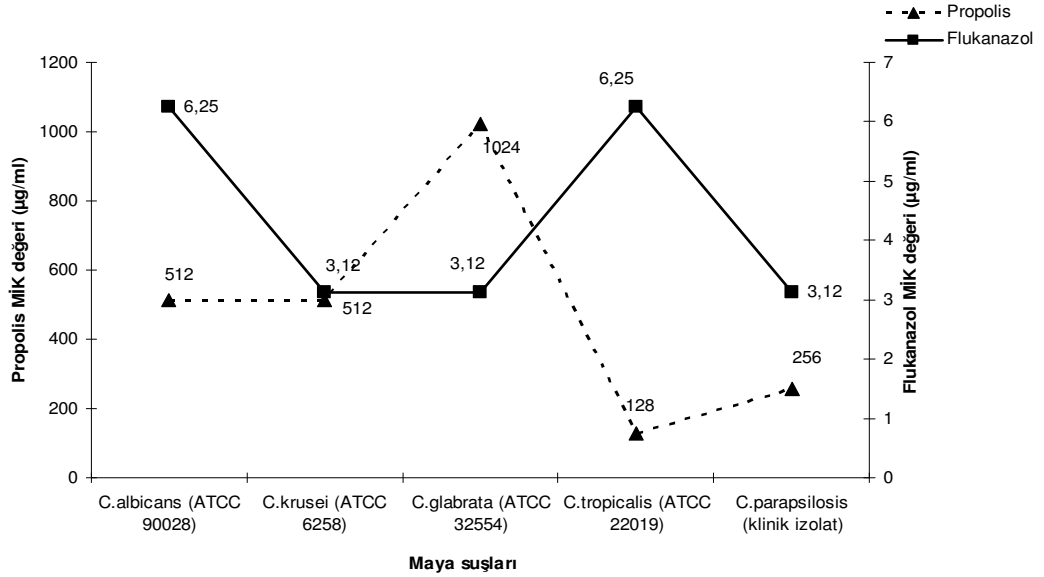
Propolisin mayalara karşı antifungal aktivitesi incelendiğinde ise Gram negatif bakterilere yakın değerlerde aktivite gösterdiği, Gram pozitif bakterilere karşı belirlenen antibakteriyel aktiviteden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Mayalara karşı propolisin MİK değerinin 128 µg/ml ile 1024 µg/ml arasında değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek antifungal aktivite 128 µg/ml'lik MİK değeri ile *Candida tropicalis* ATCC 22019'e (Şekil 4.8) karşı tespit edilirken en düşük aktivite ise *Candida glabrata* ATCC 32554 suşuna karşı (MİK değeri 1024 µg/ml) tespit edilmiştir. *Candida parapsilosis* (klinik izolat) ve *Candida albicans* ATCC 90028'a karşı MİK değeri 512 µg/ml olarak saptanmıştır.

Deneylerde standart ilaç olarak kullandığımız Flukanazolun mantar suşlarına karşı MİK değerinin; *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* ATCC 22019 için 6.25 µg/ml, *Candida parapsilosis* (klinik izolat), *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida glabrata* ATCC 32554 için 3.12 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9).





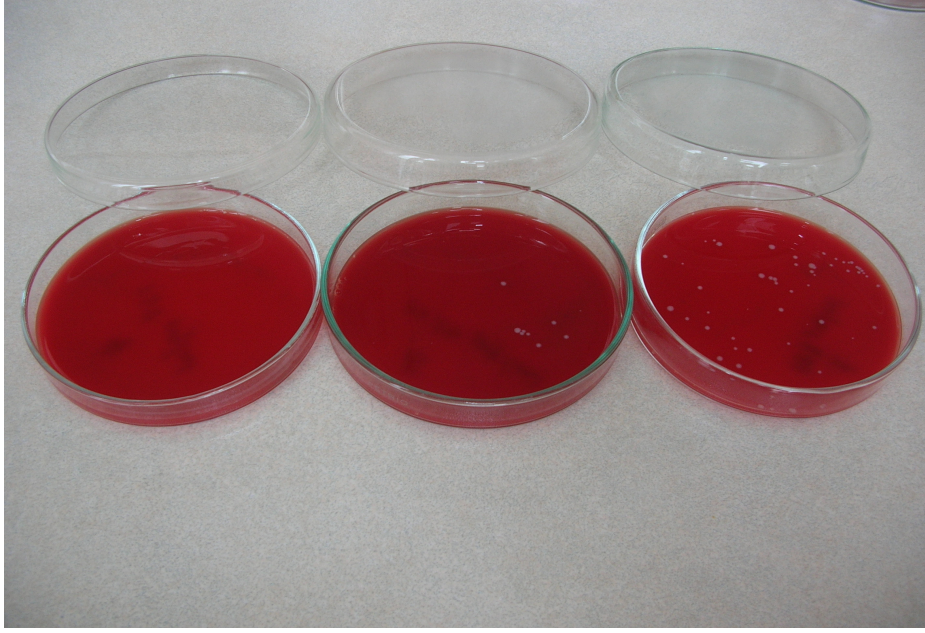
Şekil 4.8. Propolisin *Candida tropicalis* ATCC 22019 e karşı MİK tayini.



Şekil 4.9. Propolisin çeşitli maya suşlarına karşı MİK değerinin Flukanazol ile kıyaslanması

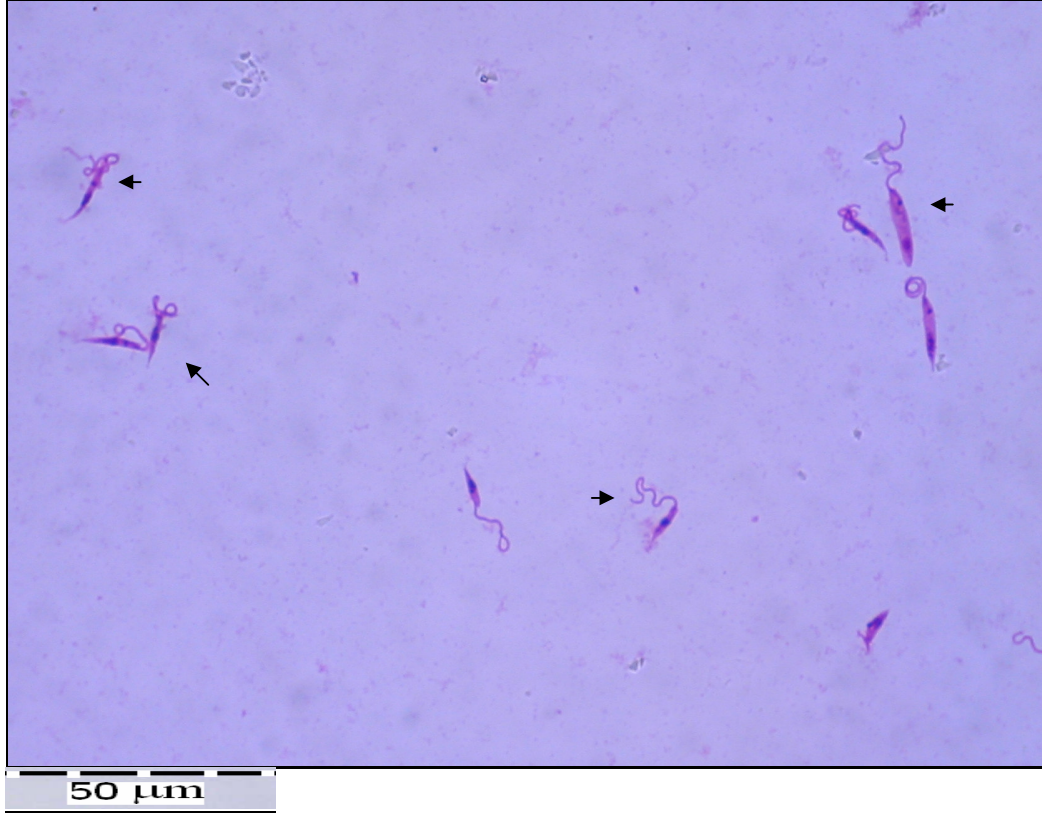
MİK değerlerinin belirlenmesinin ardından MBK değerleri belirlenmiştir. Bunun için üreme görülmeyen tüm kuyucuklardan kanlı agar plaklarına ekim yapılmıştır (Şekil

4.10). Bulunan MBK değerleri MİK değerlerini doğrular niteliktedir. Tüm MBK değerleri MİK değerleri ile örtüşmektedir.



**Şekil 4.10.** Bakterilerin minimal bakterisidal konsantrasyonunun tayininde bakteri dilüsyonlarından alınan örneklerin kanlı agar plaklarına ekimi.

Çalışmamızın ikinci kısmında propolisin leyişmanyasidal etkisi 5 farklı klinik izolat üzerinde incelenmiştir. Bu klinik izolatlara; *Leishmania tropica* (klinik izolat 1), *Leishmania tropica* (klinik izolat 2), *Leishmania tropica* (klinik izolat 3), *Leishmania tropica* (klinik izolat 4), *Leishmania tropica* (klinik izolat 5) dır. Kontrol grubunda *Leishmania tropica* hücrelerinin tipik morfolojik görünümde oldukları, hücrelerinin kuyruklu ve düzenli hareketli oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.11)



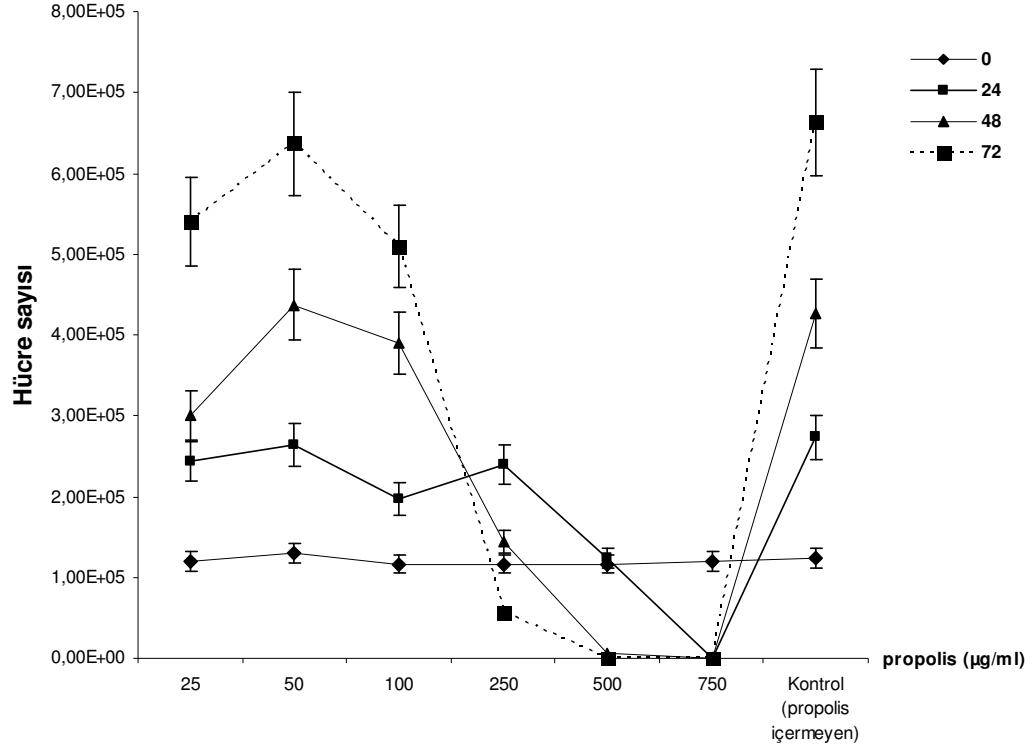
**Şekil 4.11.** Kontrol grubu *Leishmania tropica* kültürlerinde, Giemsa boyaması sonrasında hücrelerin tipik morfolojilerini gösteren mikrograf (x1000)

Şekil 4.12'de *Leishmania tropica* (klinik izolat1)'ye karşı propolisin farklı konsantrasyonlarda (25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml ve 750 µg/ml) anti-protozoonal aktivitesi sonuçları görülmektedir. İnkübasyondan 24, 48 ve 72 saat kültür örneklerinden alınan örneklerin Thoma lamıyla hücre sayısı, hücre canlılığı (hareketliliği incelenerek) ve mikroskopik olarak hücre morfolojileri değerlendirilmiştir. Başlangıçta tüm kültür kaplarına yaklaşık  $1 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde parazit inoküle edilmiştir.

*Leishmania tropica* (klinik izolat 1)'nin kültüre edildiği besiyeri içinde 25 µg/ml propolis ihtiva eden kültürlerde inkübasyondan 24 saat sonra hücre sayısı ve canlılığında herhangi bir azalma olmadığı gibi sayı olarak da başlangıçtaki inoküle edilen hücre sayısından anlamlı derecede artış olduğu tespit edilmiştir ( $p=0.005$ ). Hücre morfolojisi açısından değerlendirildiğinde ise 24. saat sonunda hücre bütünlüğünün tam, hücrelerin tipik hücre morfolojisinde ve hücrelerin kuyruklu ve hareketli oldukları tespit edilmiştir. Hücre hareketlerinin de tipik olduğu görülmüştür. İnkübasyonun 48. ve 72.



saatlerinde de kültüre edilen hücrelerden alınan örneklerde de hücre sayısının arttığı tespit edilirken 48. ve 72. saatlerde alınan örneklerde canlı hücre sayısında anlamlı bir artışın ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir.

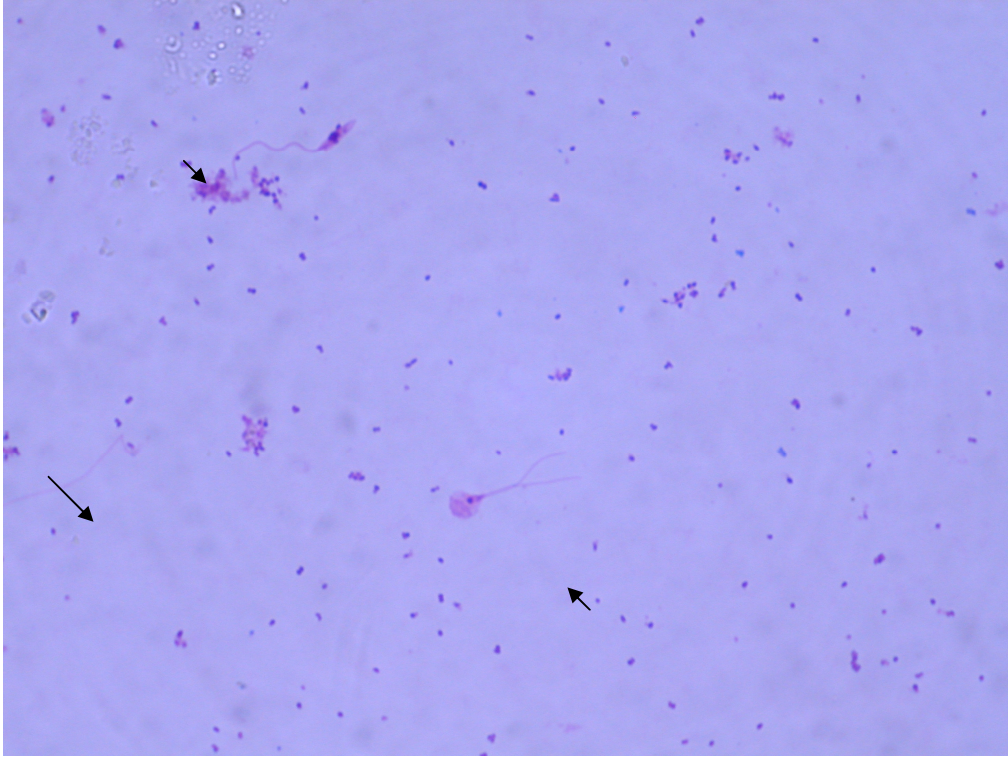


**Şekil 4.12.** Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 1)'ya karşı antiprotozoonal aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslanması

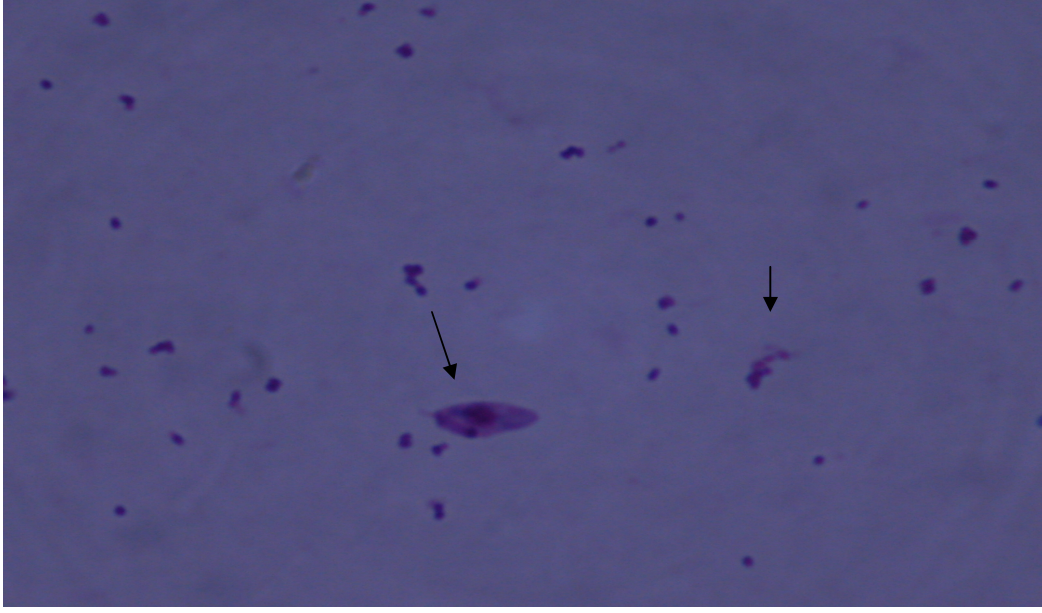
İçerisinde 50 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda propolis bulunan üretim besiyerleriyle kültüre edilen örnekler arasında da içerisinde 25 µg/ml oranında propolis bulunan besiyerleriyle inkübe edilen örneklerdekine benzer bulgular elde edilmiştir. Bu kültürlerden alınan örneklerde de benzer olarak başlangıçtaki hücre sayısı ile 24. saat sonundaki hücre sayısı arasından istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farkın ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Yine benzer şekilde 48. saatte alınan örneklerdeki canlı hücre sayısı ile 72. saatlerde alınan örneklerdeki canlı hücre sayısı bakımından da anlamlı derecede farkın olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

İçerisinde 250 µg/ml oranında propolis ihtiva eden kültür besiyerleriyle kültüre edilen parazitlerin başlangıçta inoküle edilen hücre sayısı ile 24 saat sonraki hücre

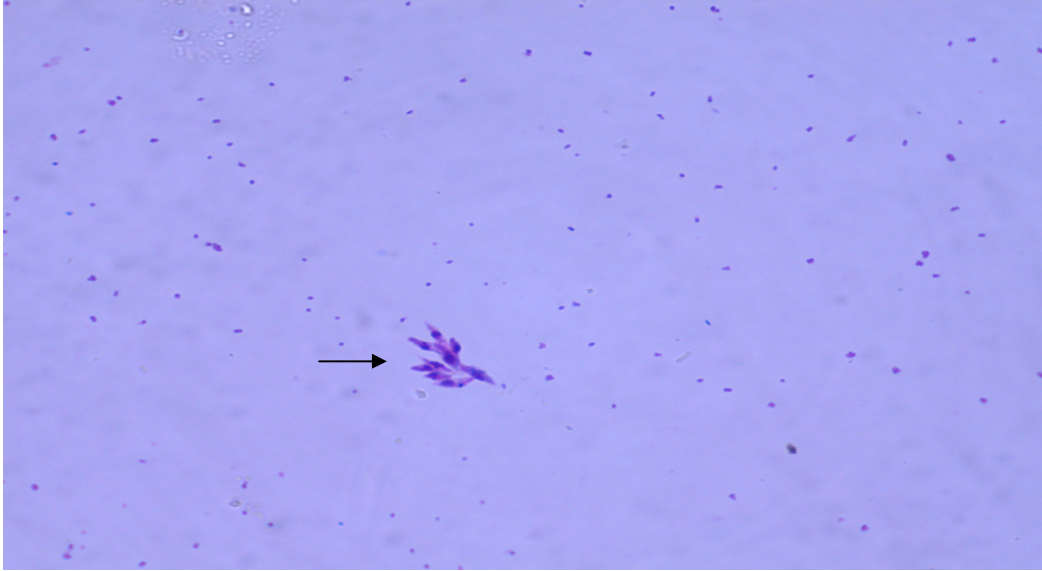
sayıları arasında daha düşük konsantrasyonlarda propolis bulunan kültürlerden farklı olarak anlamlı bir artış gözlenmemiştir ( $p=0.143$ ). Hatta inkübasyon süresi arttıkça bu konsantrasyondaki propolisin hücreler üzerinde leyişmanyasidal etkisinin de giderek arttığı gözlenmiştir. İnkübasyonun 24. saatinde (Şekil 4.13), 48. saatinde (Şekil 4.14) ve 72. saatinde (Şekil 4.15.) hücre canlılığında azalmanın yanında hücre morfolojisinde de tipik formdan farklılaşmanın görülmeye başlandığı tespit edilmiştir. Hücre yuvarlaklaşması, nükleer yapının büyümesi, stoplazmik alanın daralması, hücre hareketliliğinde azalma ve kuyruk kaybı gibi çeşitli morfolojik değişimler saptanmıştır. Yetmiş ikinci saatte alınan örneklerde ise bütün parazitlerin ölü olduğu belirlenmiştir. İçerisinde 750  $\mu\text{g/ml}$  oranında propolis bulunan kültürlerde ise 24. saatte alınan örneklerde hücrelerin tamamının öldüğü görülmüştür.



**Şekil 4.13.** İnkübasyonun 24. saatinde alınan örneklerden hazırlanan Giemsa boyamasında, propolisin *Leishmania tropica* suşları üzerinde oluşturduğu morfolojik değişimleri gösteren mikrograf (x1000).

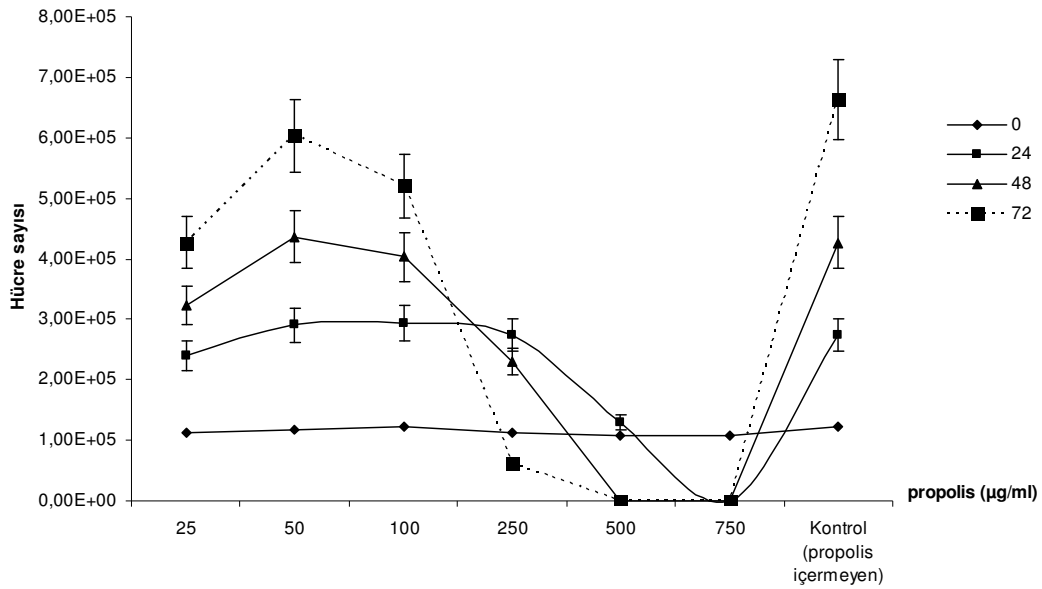


**Şekil 4.14.** İnkübasyonun 48. saatinde alınan örneklerden hazırlanan Giemsa boyamasında *Leishmania tropica* hücrelerinin tipik morfolojik görünümünden uzaklaştığını, bazı hücrelerin yuvarlaklaştığını, bazılarının kuyruklarını kaybettiklerini gösteren mikrograf (Propolis konsantrasyonu: 250 µg/ml. Büyütme: X4000).



**Şekil 4.15.** İnkübasyonun 72. saatinde alınan örneklerden hazırlanan Giemsa boyamasında *Leishmania tropica* hücrelerinin kuyruklarını kaybettiklerinin, nükleer yapının büyüdüğünün, stoplazmik alanın oldukça daraldığının ayrıca parazitlerin farklı bölgelerde bir araya gelerek agregatlar oluşturduklarının saptandığını gösteren mikrograf (Propolis konsantrasyonu: 250 µg/ml. Büyütme: X1000).

*Leishmania tropica* (klinik izolat 2) suşunun kullanıldığı deneylerde propolisin 3 farklı konsantrasyonunun ( 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml) *Leishmania* hücrelerinin üremeleri üzerinde kontrol grubu hücreleriyle (içerisinde propolis bulunmayan, sadece RPMI 1640 ve % 10 oranında fetal dana serumundan oluşan besiyeri) kıyaslandığında 24., 48. ve 72. saatlerde alınan örneklerde kontrol grubuna benzer şekilde hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkların olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ayrıca hücre canlılığı yanında hücre morfolojileri ve hareketliliğinde de kontrol grubu hücrelerinden farksız olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.16.).

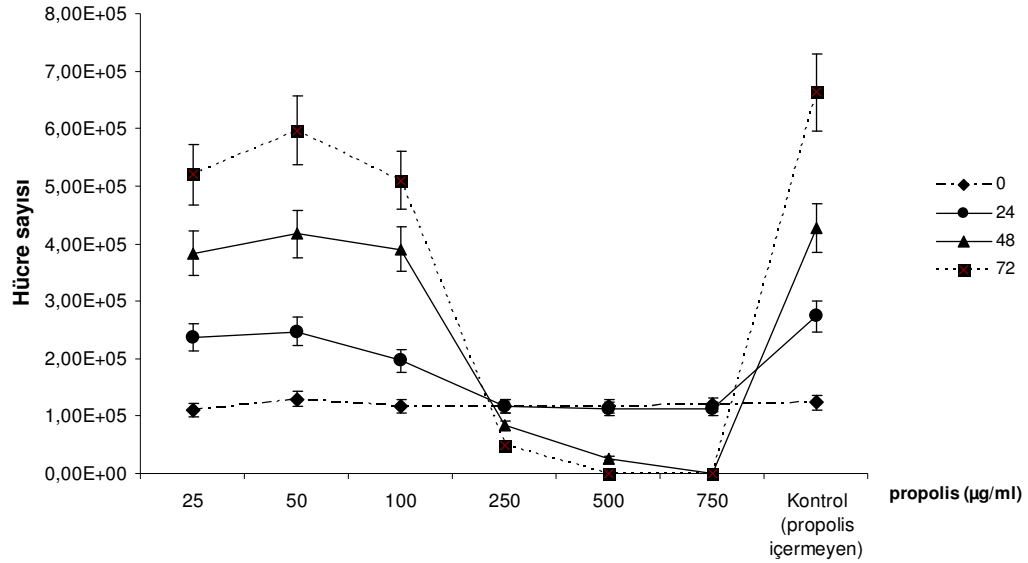


**Şekil 4.16.** Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 2)'ya karşı antiprotozoal aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslanması

Fakat propolis konsantrasyonu 500 µg/ml düzeyine çıkarıldığında inkübasyondan 24 saat sonra gerek hücre sayısında ve gerekse de hücre morfolojileri bakımından kontrol grubu hücre sayısı ve morfolojisileri ile anlamlı derecede farklılığın olduğu tespit edilmiştir. Hücre sayısı bakımından değerlendirildiğinde başlangıçta inoküle edilen hücre sayısının 24. saat sonunda anlamlı derecede artış göstermediği tespit edilirken ( $p=0.075$ ), hücre yuvarlaklaşması, hareketsizlik, kuyruk kaybı gibi morfolojik deformasyonların da görüldüğü saptanmıştır. Kırk sekizinci saatte alınan örneklerde ise canlı hücreye rastlanmamış, hücrelerin tamamının ölü olduğu saptanmıştır.

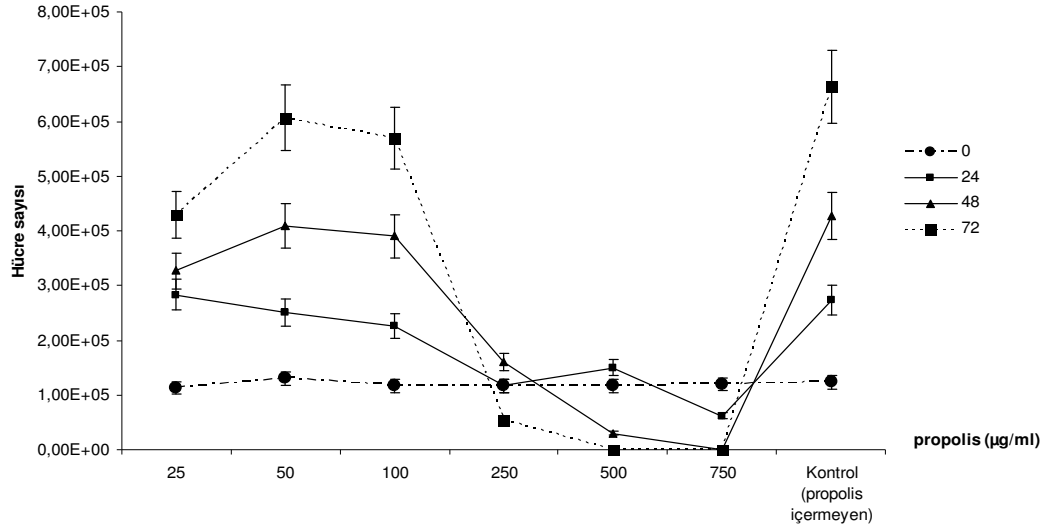
*Leishmania tropica* (klinik izolat 3) suşu ile yapılan denemelerde ise *Leishmania tropica* (klinik izolat 2) ile elde edilen bulgulara benzer sonuçlar alınmıştır. Üç farklı propolis konsantrasyonu bulunan (25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml) kültürler ile kontrol grubu hücreleri arasında herhangi bir fark tespit edilmezken, propolis konsantrasyonu 250 µg/ml düzeyine çıkarıldığında ise 24. saatte canlı hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca başlangıçta inoküle edilen hücre sayısı ile 48. ve 72. saatlerde belirlenen hücre sayıları anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (p=0.59). Bunların yanında hücre morfolojilerinin *Leishmania tropica* (klinik izolat 2)'da olduğu gibi atipik (hücre yuvarlaklaşması, kuyruk kaybı ve hareketsizlik gibi) forma dönüşerek hücrelerin morfolojik olarak değişime uğradıkları da tespit edilmiştir.

İçerisinde 750 µg/ml propolis bulunan kültür hücrelerinde ise 24. saatte hücre sayılarında önemli bir azalma tespit edilirken hücrelerin tümünün atipik formda (resim) olduğu 48. saatten itibaren de bütün hücrelerin ölü olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.17.).

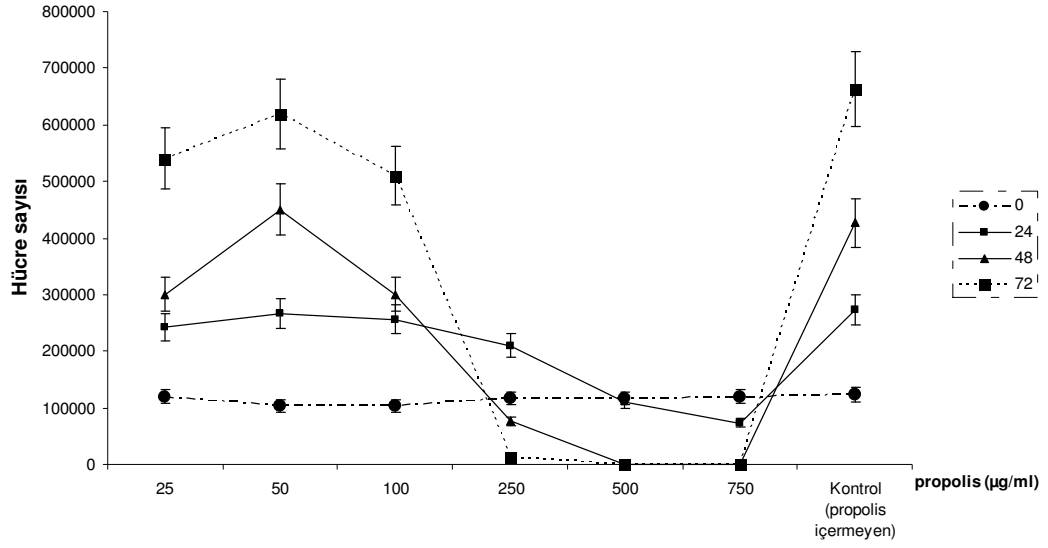


**Şekil 4. 17.** Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 3)'ya karşı antiprotozoal aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslanması

*Leishmania tropica* (klinik izolat 4) ile yapılan deneylerde elde edilen bulgular *Leishmania tropica* (klinik izolat 3)'nın bulgularıyla oldukça uyumlu olarak bulunmuştur. Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 4)'ya karşı 100 µg/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarının (100 µg/ml'de dahil) hücre üremesini inhibe etmediği, yapılan mikroskobik incelemelerde ise hücre morfolojileri üzerinde herhangi bir deformasyon meydana getirmediği tespit edilmiştir. Propolis konsantrasyonu 50 µg/ml, 500 µg/ml ve 750 µg/ml düzeyine çıkarıldığında ise leişmanyasidal etkisinin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18.). Benzer şekilde *Leishmania tropica* (klinik izolat 5) suşu ile yapılan denemelerde de benzer bulgular saptanmıştır (Şekil 4.19.).



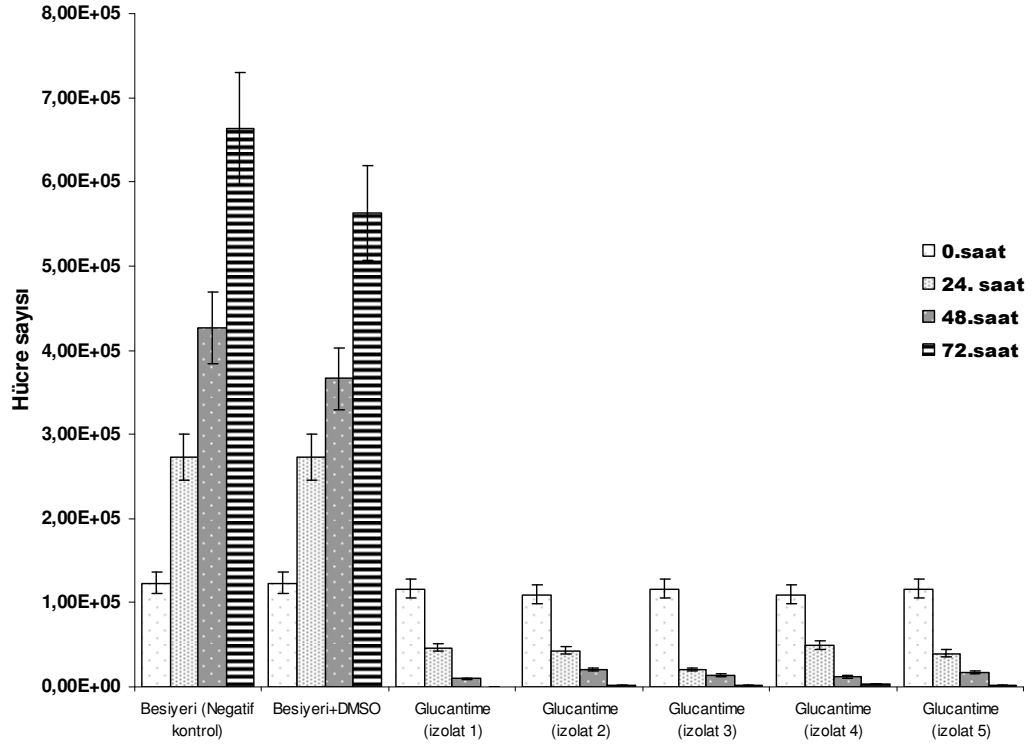
**Şekil 4. 18.** Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 4)'ya karşı antiprotozoonal aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslanması



**Şekil 4. 19.** Propolisin *Leishmania tropica* (klinik izolat 5)'ya karşı antiprotozoonal aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslanması

Deneylerde propolisin RPMI 1640 besiyeri içinde homojen olarak çözülebilmesi için kullandığımız DMSO'nun seçilen konsantrasyonunun hücrelerin üremesini inhibe etmediği ve morfolojik olarak da herhangi bir değişim meydana getirmediğini, içerisinde DMSO ihtiva etmeyen besiyerleriyle aynı anda kültüre edilen kontrol grubu hücreleriyle kıyaslı olarak değerlendirilerek tespit edilmiştir.

Ayrıca deneylerde standart ilaç olarak kullandığımız Glucantim (150 µg/ml)'in *Leishmania tropica* klinik zolatlarına karşı anti protozoonal etkisi de kontrol grubuyla kıyaslı olarak verilmiştir (Şekil 4.20). Şekil 4.20'de de görüldüğü gibi Glucantim'in 24. saatten itibaren kontrol grubu hücre sayısı ile kıyaslandığında istatistiksel bakımdan anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Hücre sayısındaki bu düşmenin kültivasyonun 48. saatinde alınan örneklerde daha da belirgin olarak azaldığı saptanırken, 72. saatte alınan örneklerde *Leishmania tropica* örneklerinin tümünün ölü olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ilaç kontrol grubunda Glucantim'in parazitlerin üremesi üzerindeki inhibitör ve baskılayıcı etkisinin kültivasyonun 24. saatinden itibaren hücrelerin morfolojilerinde meydana getirdikleri değişimlerin tespit edilmesi ile belirlenmiştir.



Şekil 4. 20. Glucantim ve DMSO'nun propolis içermeyen kontrol grubuyla kıyaslanması



## 5.TARTIŞMA

Reçine benzeri arı kovan maddesi olan propolis çok eski zamanlardan beri halk arasında birçok hastalığın tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır (Castaldo ve ark., 2002; Bankova ve ark., 2000).

Propolisin kimyasal yapısı oldukça kompleks olup toplandığı bölgenin bitkisel florasına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bankova ve ark., 2000). Bu yüzden propolisin orijinine bağlı olarak antimikrobiyal etkinliğinde de değişiklikler görülmektedir (Hegazi ve El Hady, 2001; Hegazi ve ark., 2000).

Propolisin antimikrobiyal özellikleri çeşitli çalışmalarda araştırılmış olmasına rağmen, çalışma sonuçlarının birbiriyle kıyaslanması son derece zordur. Çünkü propolisin kimyasal kompozisyonu bölgeden bölgeye farklılık göstermektedir (Drago ve ark., 2000). Hatta propolisi oluşturan bileşenlerin aynı bölgenin farklı alanlarında, çok uzak olmayan alanlarında dahi enteresan olarak değiştiği bildirilmiştir (Kılıç ve ark., 2005) Propolisi oluşturan bazı bileşenler diğer bazı bileşenler ile sinerjistik etki oluşturabildiklerinden teorik olarak propolisin mikrobiyal aktivitesi ile ilgili kesin bilgi vermek doğru olmamaktadır. Bir bölgeden toplanan propolis örneğinin gerçek antimikrobiyal aktivitesinin hakkında bilgi verebilmek için mutlaka test edilmesi gerekmektedir.

Koru ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada Türkiyenin farklı dört bölgesinden toplanan propolis örneklerinin flavanoid oranlarının birbirlerine yakın olduğu ancak, bazı özel bileşenlerinin oranlarının birbirlerinden farklı olduğunu bildirilmiştir. Aynı çalışmada Brezilya orijinli propolisin flavanoid yüzdelerinin ülkemizden toplanan propolis örneklerinin flavanoid oranlarından daha düşük olduğu da belirlenmiştir. (Koru ve ark.,2007). Çizelge 3.1’de de görüldüğü gibi Adana bölgesinden toplanan propolis örneğinde terpenoidlerin oranının %39.78 olduğu görülürken, bu oranın Hatay bölgesi propolis örneklerinde %44.84, Mersin bölgesi propolis örneklerinde ise %19.09 olduğu bildirilmiştir (Şahinler ve Kaftanoğlu, 2005). Benzer olarak Hatay bölgesi propolis örneklerinde benzil sinnamet (9.37%), metil sinnamet (6.23%), kafeik asit (5.98%), sinnamil sinnamet (27.99%) ve sinnamolglisin (0.83%) içerdiği bildirilirken çalışmamızda kullanılan propolis örneklerinin bu bileşenleri ihtiva etmediği görülmektedir (Şahinler ve Kaftanoğlu, 2005). Çalışmamızda

kullanılan propolis örneğinin ana bileşenlerinin terpenoidler (sembrene, *n*-hekzatriakontan 10-metilnonadecan, beta-malien, beta-ödesmol, alfa-ödesmol, karyofilin oksit), yağ asitleri (pentanoik asit, hekzadecanoik asit, tetrakosanoik), hidrokarbonlar, alkoller ve aldehitler olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1).

Bosio ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada İtalya'nın iki değişik bölgesinden toplanan propolisin *Streptococcus pyogenes*' e karşı antibakteriyal aktivitesinden başlıca Pinosembrin and Galanjın sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (Bosio ve ark., 2000). Bizim çalışmamızda da bölgemizden elde edilen propolisin yapısının önemli bir kısmını oluşturan sembrinin antibakteriyal aktivitede önemli rolü olduğunu düşünmekteyiz (Çizelge 3.1.).

Daha önceden yapılan çeşitli çalışmalarda kafeik asit esterlerinin değişik propolis örneklerinde bulunduğu ve önemli antimikrobial madde olarak bilinmesine rağmen Anadolu orijinli propolis örneklerinde kafeik asit miktarları oldukça düşük olduğu bildirilmiştir (Banskota ve ark., 2002; Miorin ve ark., 2003). Bu çalışmalarla uyumlu olarak bölgemizden toplanan propolisinde bileşenlerinin oranlarına bakıldığında kafeik asit esterlerinin oranının yüksek olmadığı görülmektedir.

Granje ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada propolisin Gram pozitif bakterilere Gram negatif bakterilerden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Granje ve ark., 1990) Günümüze kadar yapılan çeşitli çalışmalarda, çalışmamız sonucunda elde etmiş olduğumuz sonuçlara paralel şekilde propolis bileşenlerinin Gram pozitif bakterilere Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir ( $p<0.05$ ) (Duran ve ark., 2006; Oksuz ve ark., 2005; Drago ve ark., 2000; Sforcin ve ark., 2000 Marcucci, 1995; Kuru ve ark.2007).

Birçok çalışmada propolisin *Staphylococcus aureus* (Scazzocchio ve ark., 2006; Miorin, 2003; Kılıç, 2005) ve mutans streptokoklar (Duarte ve ark., 2006; Uzel ve ark., 2005.) üzerinde biofilm oluşturmada, koagülaz ve lipaz gibi önemli virulans faktörleri üzerinde inhibitör etkisinin olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda propolisin en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *Staphylococcus epidermidis*'e karşı gösterdiği bulunmuşken bunu *Streptococcus pyogenes* klinik izolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşlarının takip ettiği tespit edilmiştir. Propolisin özellikle *Staphylococcus* suşlarına karşı güçlü bir inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır.

Günümüze kadar yurdumuzun çeşitli bölgelerinden toplanan propolis örnekleri ile çok çeşitli antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır (Duran ve ark., 2006; Oksuz ve ark., 2005; Drago ve ark., 2000; Sforzin ve ark., 2000; Marcucci, 1995; Koru ve ark., 2007). Daha önce yapılan bir çalışmada Bursa bölgesinden toplanan propolis örneklerinin *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* gibi oral patojenler ile *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*'a karşı ümit verici derecede etkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada dental çürüklerin önlenmesi için propolisin yeni bir ilacın kaynağı olabileceği de belirtilmiştir (Uzel ve ark., 2005). Çalışmamızda Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilerden propolise daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Gram negatif bakterilere karşı yüksek konsantrasyonda propolis aktivite gösterirken Gram pozitif bakterilere karşı propolisin oldukça küçük konsantrasyonları aktivite göstermiştir.

Ayrıca çalışmamızda daha önce yapılan çalışmalarla (Kujumgiev ve ark., 1999; Dobrowolski ve ark., 1991; Uzel ve ark., 2005) uyumlu olarak propolisin test edilen *Candida* suşlarına karşı oldukça etkili olduğu da tespit edilmiştir. Özellikle *Candida tropicalis* ATCC 22019 suşuna karşı yüksek oranda bir aktivite saptanmıştır.

Propolisin mayalara karşı göstermiş olduğu antifungal etkiyi, bakterilere karşı göstermiş olduğu antibakteriyal etki ile kıyasladığımızda antifungal etkinin Gram negatif bakterilere karşı tespit edilen antimikrobiyal aktiviteden daha güçlü, Gram pozitif bakterilerden ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Son yıllarda yeni ilaç araştırmalarının, daha az yan etki ve non-toksik olmaları sebebiyle sentetik olmayan bitki ve doğa kaynaklı ürünler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (Rates, 2001). Doğal ürünler protozoonların sebep olduğu önemli tropikal hastalıkların tedavisinde yeni ve selektif ajanların araştırılmasında oldukça önemli yer tutmaktadır. Protozoon parazitlerinin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde halk arasında kullanılan tıbbi bitkiler modern ilaçlarının geliştirilmesine ışık tutmuştur (Rates, 2001).

Literatür araştırmaları yapıldığında propolisin *Leishmania* türleri üzerinde anti protozoonal aktivitesinin araştırıldığı çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmaktadır (Ayres ve ark., 2007; Machado ve ark., 2007). *Leishmania*'nın değişik türleri üzerinde yapılmış çalışmalara az da olsa rastlanılsa da, propolisin *Leishmania tropica*'ya karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlayamadık.

Leishmaniasisin güvenli bir insan aşısının olmaması ile birlikte, parazit vektörlerinin ve rezervuarlarının kontrolünün zorluğu, tedavinin sadece organik pentavalen antimon bileşikleri kullanılarak yapılması, bunun dışında kemoterapik tedavisinin çok sınırlı olması sebebiyle tedavisinde zorluklar yaşanmaktadır (Guerin ve ark., 2002). Bununla birlikte dirençli suşların ortaya çıkması, sık ve şiddetli yan etkileri sebebiyle etkinliği de bozulmuştur (Herwaldt, 1999).

Tedavide antimon bileşikleri yanında alternatif tedavi olarak birçok yan etkisi olmasına rağmen Amfoterisin B, paramomisin, allopurinol ve son dönemlerde miltefosine de tedavide kullanılmaktadır (Guerin ve ark., 2002; Croft ve Yardley, 2002). Tedavide kullanılan bütün bu ilaçların ciddi yan etkileri olup ilaç dirençli suşların ortaya çıkması, HIV ile infekte hastalar arasında visseral leishmaniasis sayılarındaki son zamanlardaki hızlı artış Leishmaniasisin tedavisinde yeni ajanların araştırılmasındaki hızlı artışa sebep olmuştur (Satoskar ve Russel, 1999; Croft ve Yardley, 2002; Alvar ve ark., 1997).

Kemoterapötiklerin yan etkileri ile ilgili problem hala çözülememiş olsa da, dünya çapında oldukça yaygın antileishmaniasis aktiviteye sahip yeni ilaç çalışmaları hem doğal hem de sentetik bileşenlerle devam etmektedir (Rates, 2001). Son yıllarda alternatif terapilere ve doğal ürünlerin kullanımı, özellikle bitkilerden elde edilen ürünlere artan bir ilgi vardır (Rates, 2001). Bu nedenle yeni ilaçlara acil olarak gereksinim duyulmaktadır. Yeni leişmanyasidal ajanların temel kaynaklarından birisi bitki ve bitkisel bileşenlerdir (Chen ve ark., 2001; Fournet ve Munoz, 2002; Cysne ve ark., 1998).

Ayres ve arkadaşları *Leishmania amazonensis* üzerinde yaptıkları bir çalışmada Brezilya propolisinin *Leishmania amazonensis* suşlarının makrofajlar üzerinde enfeksiyon oluşturmasını azalttığını göstermiştir (Ayres ve ark., 2007).

Benzer şekilde Machado ve arkadaşları da 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada *Leishmania* türlerinden *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania chagasi* ve *Leishmania major* suşları kullanarak yaptıkları çalışmalarında propolisin 2.8 ile 229.3 µg/ml konsantrasyonlarda parazitler üzerinde inhibitör etkilerinin olduğunu göstermişler ve propolisin kompozisyonunun ekstrete edildiği yere göre değiştiği ve parazitler üzerindeki etkisinin de propolis kompozisyonundaki farklılığa göre değiştiğini bildirmişlerdir (Machado ve ark., 2007).

Bizim çalışmamızda da bu iki çalışmayla uyumlu olarak propolisin *Leishmania* türlerinden *Leishmania tropica*'ya karşı leişmanyasidal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Beş farklı hastadan izole edilen 5 klinik izolat üzerinde yaptığımız deneylerde 250 µg/ml ile 750 µg/ml arasında propolisin leişmanyasidal etkisinin varlığı kontrol gruplarıyla kıyaslandığında parazit sayılarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma sağlayarak aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu etkinin propolisinin konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak arttığı saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; propolisin etkin bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Gram pozitif bakteriler ve *Leishmania tropica* suşları üzerindeki etkilerinin oldukça ümit verici olduğu saptanmıştır.

Literatürde çeşitli bölgelerden toplanan propolis örneklerinin kullanıldığı birçok antimikrobiyal aktivite çalışmasına rastlanılsa da, propolis bileşenlerinin coğrafik bölgelerdeki bitki örtüsüne bağlı olarak değişebilmesi nedeniyle her bölgeden toplanılan örneklerle yapılan çalışmalar ayrı bir değer olmaktadır. Adana bölgesinden toplanmış propolis örnekleri kullanılarak yapılan bu araştırma hem oldukça fazla sayıda bakteri ve maya, hem de *Leishmania tropica* suşları içermesi bakımından çok kapsamlı çalışmalardan biri olmuştur.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda Adana bölgesinden toplanan propolis örneklerinin *in vitro* koşullarda antimikrobiyel aktivitesinin varlığı oldukça geniş mikroorganizma grubuna karşı (5 Gram negatif, 5 Gram pozitif, 5 maya ve 5 *Leishmania tropica*) araştırılmıştır. Çalışma insanlarda oluşturdukları enfeksiyonlar nedeniyle insan sağlığı açısından büyük önem taşıyan bakteri, mantar ve *Leishmania* suşları kullanılarak yapılmıştır. Gerek bakteri ve maya, gerekse de bölgemizde endemiler oluşturan *Leishmania tropica* izolatlarına karşı oldukça çarpıcı sonuçlar elde edilmiştir.

Bölgemizden toplanan propolisin seçilen Gram pozitif bakteri suşlarına karşı oldukça güçlü, Gram negatif bakteri suşlarına karşı ise orta derecede antibakteriyel etkisinin varlığı tespit edilmiştir. Bunun yanında maya suşlarına karşıda oldukça da güçlü antifungal aktivitesinin olduğu saptanmıştır. Ayrıca, *Leishmania tropica* izolatlarına karşı da önemli derecede anti protozoonal aktivitesinin varlığı tespit edilmiştir.

Propolisin bazı Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler ile bazı maya suşları ve *Leishmania tropica*'ya karşı etkili bulunmasının propolisin yapısında bulunan sembrene, *n*-hekzatriakontan 10-metilnonadecan, beta-malien, beta-ödesmol, alfa-ödesmol, karyofilin oksit gibi terpenoidler, pentanoik asit, heksadecanoik asit, tetrakosanoik asit gibi yağ asitleri bileşenlerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Günümüzde antibiyotik direncinin her geçen gün daha da yayılarak artması doğal kaynaklı yeni ilaç çalışmalarına verilen önemin artmasına yol açmıştır. Bakteriyel ya da anti-leishmanyal ilaçların etkisiz kaldığı ya da antimikrobiyal direncin görüldüğü durumlarda enfeksiyonun erken safhasında antimikrobiyal ilaçla birlikte propolis uygulamasının da faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Bunun yanında propolisin eski antibiyotiklerin iyileştirilmesinde, ekonomik problemlerin azaltılması bakımından oldukça önemli olabileceği kanaatineyiz.

Propolisin mevcut kullanılmakta olan çeşitli antibiyotiklerle additif veya sinerjistik aktivite gösterebileceğini düşünmekteyiz. Daha sonraki yapılacak çalışmalarda bu özelliğin gösterilebilmesi mümkündür.

Bu çalışmanın en önemli iki sonucundan biri; Gram pozitif bakteriler ile mantarlara karşı güçlü antimikrobiyal aktivite diğeri ise *Leishmania tropica*'ya karşı anti protozoonal etkidir.

## KAYNAKLAR

- Aga H, Shibuya T, Sugimoto T, Kurimoto M, Nakajima SH.1994. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Biosci Biotechnol Biochem**, 58: 945-6.
- Akkafa F, Şimşek Z, Dilmeç F, Bulut K, Alim A, Vural H, Aygan Ç, Kahraman Ö, 2000. Şanlıurfa ilinde Kutanöz Leishmaniasis Epidemiyolojisi. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, 26(2):34-37.
- Almas K, Mahmoud A, Dahlan A. 2001.A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. **Indian J Dent. Res**, 12(1):21-27.
- Alvar, J., C. Canavate, B. Gutierrez-Solar, M. Jimenez, F. Laguna, R. Lopez-Velaz, R. Molina, and J. Moreno. 1997. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. **Clin. Microbiol. Rev.**,10:298-319.
- Amoros M, Sauvager F, Girre L, Cormier M. 1992 In vitro antiviral activity of propolis. **Apidologie**, 23:231-240.
- Ayres DC, Marcucci MC, Giorgio S. 2007 Effects of Brazilian propolis on Leishmania amazonensis. **Mem Inst Oswaldo Cruz.**,102(2):215-20.
- Bankova V, Marcucci MC, Simonova S, Nikolova N, Kujumgiev A. 1996. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis. **Z Naturforsch**, 51:277-80.
- Bankova, V.S., Popov. S.S., Marekov, N.L. 1982. High-performance liquide chromatographic analysis of flavonoids from propolis. **J. Chromatogr.**, 242:135-143.
- Bankova, V. S., S. L de Castro, M. C. Marcucci, 2000. Propolis; recent advantages in chemistry and plant origin. **Apidologie**, 31: 3-15.
- Bankova V., Dyulgerov A., Popov S., Evstatieva L., Kuleva L., Pureb O., Zamjansan Z., 1992.Propolis produced in Bulgaria and Mongolia:phenolic composition and plant origin, **Apidologie**, 23: 79-85.
- Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, Tezuka Y, Awale S, Midorikawa K, Matsushige K, Kadota S: 2002.Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. **J Ethnopharmacol.**, 80: 67-73.
- Barak V, Birkenfeld S, Halperin T, et al.2002. The effect of herbal remedies on the production of human inflammatory and anti-inflammatory cytokines. **Isr Med Assoc J.** , 4(11 Suppl):919-922.
- Barth O.M., Luz CFP,2003. Palynologica I analysis of Brazilian geopropolis samples. **Grana**, 42 ,121-127.
- Basnet P., Matsushige K., Hase K., Kadota S.,1996. Potent antihepatotoxic activity of dicaffeoyl quinic acids from propolis, **Biol. Pharm. Bull.**, 19: 1479-1484.
- Bohlmann F., Kramp W., Grenz M., Robinson H., King R., 1981. Diterpenes from Baccharis species, **Phytochem.** , 20: 1907-1913.
- Bosio, K., Avanzini, C., D'Avolio, A., Ozino, O., Savoia, D., 2000. In vitro activity of propolis against Streptococcus pyogenes. **Lett. Appl. Microbiol.**, 31: 174-177.
- Burdock G.A., 1998.Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis), **Food Chem. Toxicol.**, 36 : 347-363.
- Castaldo S, Capasso F.2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, 73:1-6.



- Chen, M., L. Zhai, S. B. Christensen, T. G. Theander, and A. Kharazmi. 2001. Inhibition of fumarate reductase in *Leishmania major* and *L. donovani* by chalcones. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 45:2023-2029.
- Christov R., Bankova V., Tsvetkova I., Kujumgiev A., Delgado Tejera A.,1999. Antibacterial furofuran lignans from Canary Island propolis, **Fitoterapia**, 70: 89-92.
- Cicala C, Morello S, Iorio C, et al. 2003. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. **Life Sci.**, 73(1): 73-80.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clin Microbiol Rev.**, 12: 564-82.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K.M., 1997. Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, 60, 52-60.
- Crane E., Beekeeping. 1988.Science, Practice and World Recourses, **Heinemann**, London.
- Croft SL, Yardley V 2002. Chemotherapy of leishmaniasis. **Curr Pharm Design**, 8: 319-342.
- Cysne-Filkelstein L, Temporal RM, Alves F, Leon LL 1998. *Leishmania amazonensis*: long-term cultivation of axenic amastigotes is associated to metacyclogenesis of promastigotes. **Exp Parasitol**, 89: 58-62.
- Çakır, H., Tümen, G. 1990. Balıkesir Yöresi Ballarının Antimikrobiyal ve Antifungal Etkileri. **X. Ulusal Biyoloji Kongresi** ,18-20 Temmuz, Erzurum.
- Diaz N.J., Quevedo Alvarez O., Saucedo B.L., 1997. Determination of Fe, Mn, Zn and Cu in an ethanolic extract of Cuban propolis, **Rev. Cienc. Quim.**, 28 : 93-95
- Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Nikolov N, Popov S:1992. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylatic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of water soluble derivative. **Vaccine.**, 10:817-823.
- Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SAH, Dandiya PC.1991. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **J Ethnopharmacol**, 35: 77-82.
- Drago, L., Mombelli, B., De Vecchi, E., Fassina, M. C., Tocalli, L., Gismondo, M. R. 2000. In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. **J. Chemotherapy**, 12: 390-395.
- Duarte S, Rosalen PL, Hayacibara MF, Cury JA, Bowen WH, Marquis RE, et al. 2006 The influence of a novel propolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. **Arch Oral Biol**, 51:15-22.
- Duran, N., Koc, A., Oksuz, H., Tamer, C., Akaydin, Y., Kozlu, T. and Celik, M. 2006. The protective role of topical propolis on experimental keratitis via nitric oxide levels in rabbits, **Mol Cell Biochem**, 281: 153-161.
- Fournet, A., and V. Munoz. 2002. Natural products as trypanocidal, antileishmanial, and antimalarial drugs. **Curr. Top. Med. Chem**, 2:1215-1237.
- Ghisalberti EL: 1979.Propolis: a review. **Bee World**, 60: 59-84.
- Granje, J.M.,Davey, R.W. 1990. Antibakteriyal properties of propolis (bee gleu). **J. of the Royal Society of Medicine**, 83, 159-160.
- Greenaway, W., Scaysbrook, T., Whatley, F.R. 1988. Composition of propolis in Oxfordshire, UK and its relation to poplar bud exudate. **Z. Naturforsch.**, 43, 301-305.
- Greenaway, W., Scaysbrook,T., Whatley,F.R., 1990. The Composition and Plant Origins of Propolis: A Report of Work at Oxford. **Bee World**, 71(3); 107-118.

- Greenaway W., Scaysbrook T., Whatley F.R., 1987. The analysis of bud exudate of *Populus xeuramericana*, and of propolis, by gas chromatography-mass spectrometry, **Proc. R. Soc. London B**, 232 249-272.
- Gregory SR, Piccolo N, Piccolo MT, Piccolo MS, Hegggers JP. 2002. Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. **J. Altern Complement Med.**, 8(1):77-83.
- Guerin, P. J., P. Olliaro, S. Sundar, M. Boelaert, S. L. Croft, P. Desjeux, M. K. Wasunna, and A. D. Bryceson. 2002. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **Lancet Infect. Dis.**, 2: 494-501.
- Hegazi AG, El-Hady FKA, Abd Allah FAM. 2000. Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. **Z. Naturforsch**, 55: 70-75.
- Hegazi, A. G., El Hady, F. K. 2001. Egyptian propolis: 1- antimicrobial activity and chemical composition of Upper Egypt propolis. **Z. Naturforsch.**, 56: 82-88.
- Herwaldt, B. L. 1999. Leishmaniasis. **Lancet** ,354:1191-1199.
- Kilic A, Baysallar M, Besirbellioglu B, Salih B, Sorkun K, Tanyuksel M.2005. In vitro antimicrobial activity of propolis against methicillinresistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. **Ann Microbiol**, 55:113-117.
- Krell.R. 1996. Value-Added Products From Beekeeping. FAO Agricultural ServicesBulletin No. 124 **Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome**.
- Koru O, Toksoy F, Acikel CH, Tunca YM, Baysallar M, Guclu AU, Akca E, Tuylu AO, Sorkun K, Tanyuksel M, Salih B.2007. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens *Anaerobe (basilmamış)*.
- Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S.1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **J. Ethnopharmacol**, 64: 235-240.
- Kulevanova Sv., Stafilov T., Dorevski K., 1995. Determination of some macroelements in propolis by atomic absorption spectroscopy, **Acta Pharm**, 45: 45-52.
- Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Güney C. 2002. Önemli bir arı ürünü: Propolis. **Uludağ Arıcılık Dergisi**, 10-23.
- Lavie P., The relationship between propolis, poplar buds (*Populus spp.*) and castoreum, Proc.XXV Int. Beekeeping Congr., Grenoble, 1975, Apimondia Publ. House, Bucharest, pp. 229-233.
- Machado GM, , Leon LL, De Castro SL. 2007. Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of *Leishmania*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 102(1): 73-77.
- Maciejewicz W., Scheller S., Danieviski M., 1983. gas chromatography/mass spectrometry investigation of propolis, Analysis of sesquiterpenes, **Acta Pol. Pharm.**, 40: 251-253.
- Marcucci M.C., 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity, **Apidologie**, 26 :83-99.
- Martos I., Cossentini M., Ferreres F., Tomas-Barberan F.A., 1997. Flavonoid Composition of Tunisian honey and propolis, **J. Agric. FoodChem.**, 54: 2824-2829.

- Matsuda Sh., 1994. Propolis–health care food, *Foods & Food Ingred. J. Jap.*, 160: 64-73.
- Matsuno T., Matsumoto Y., Saito M., Morikawa J., 1997. Isolation and characterization of cytotoxic diterpenoid isomers from propolis, *Z. Naturforsch.*, 52c; 702-704.
- Matsuno T., Saito M., Matsumoto, Morikawa J. 1998. . A new benzopyran derivative isolated from propolis, *Z. Naturforsch.*, 53c: 1037-1039.
- Miorin, P.L., Levy Junior, N.C., Custodio, A.R., Bretz, W.A., Marcucci, M.C., 2003. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Microbiol.*, 95, 913-920.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., Calder, P. C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol. Res.*, 152, 239-246.
- Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. 2003. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem.*, 80:29-33.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1996. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing yeast; approved standard, M27-A, 15, 10, NCCLS, VA Medical Center, Tuscon.
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat Prod*, 66: 1022-1037.
- Oksuz, H., Duran, N., Tamer, C., Cetin, M. and Silici, S, 2005. Effect of propolis in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis in rabbits, *Ophthalmic Res.*, 37, 328-334.
- Özçelik, S. 1992. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvar Kılavuzu. **Fırat Üniv. Fen-Edebiyat Fak., Yayın No.1, Elazığ**, 85s.
- Pochinkova P., 1986. Bee Products in Medicine, *Bulg. Acad. Sci. Publ. House, Sofia, [in Bulgarian]*.
- Popravko S.A., 1978. Chemical composition of propolis, its origin and standardization, in: A Remarkable Hive Product: Propolis. **Apimondia Publ. House, Bucharest**, pp. 15-18.
- Popravko S.A., Sokolov M.V., 1980. Plant sources of propolis, **Pchelovodstvo**, 2 :28-29.
- Rates, S. M. K. 2001. Plants as source of drugs. **Toxicon**, 39:603-613.
- Satoskar A.R., and D. G. Russel. 1999. Leishmania species: models of intracellular parasitism. **J. Cell Sci.**, 112:2993-3002.
- Scazzocchio F, D'Auria FD, Alessandrini D, Pantanella F. 2006. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiol Res.**, 161:327-33.
- Scifo C, Cardile V, Russo A, et al. 2004. Resveratrol and propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. **Oncol Res.**, 14(9):415-426.
- Sforcin, J. M., Fernandes, A. Jr., Lopes, C. A., Bankova, V., Funari, S. R. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **J. Ethnopharmacol**, 73, 243-249.
- Speciale, A., Costanzo, R., Puglisi, S., Musumeci, R., Catania, M.R., Caccamo, F., Iauk, L. 2006. Antibacterial activity of propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections. **J. Chemother**, 18(2), 64-71.

- Starzyk J, Scheller S, Szaflarski J, Moskwa M, Stojko A, 1977. Biological properties and clinical application of propolis. II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. **Arzneimittelforschung** , 27:1198-1199.
- Şahinler N, Kaftanoğlu O. 2005. Natural Product Propolis: Chemical Composition. **Natural Product Research, Vol. 19, No. 2**, Pp. 183-188.
- Tazawa Sh., Warashina T., Noro T., Miyase T., 1998. Studies on the constituents of Brazilian propolis, **Chem. Pharm. Bull**, (46): 1477-1479.
- Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C., Vit- Olivier P., Ferreres F., Tomas-Lorente F., 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela, **Phytochem.**, 34 ;191-196.
- Uzel A, Sorkun K, Öncü Ö, Çoğulu D, Gençay Ö, Salih B. 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, 160 189-195.
- Valcic S., Montenegro G., Timmermann B., 1998. Lignans from Chilean propolis, **J. Nat. Prod.** , 61 771-775.
- Vynograd N, Vynograd I, Sosnowski Z. 2000. A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). **Phytomedicine.**, 7(1):1-6.
- Weniger B, Robledo S, Arango GJ, Deharo E, Aragon R, Muñoz V, Callapa J, Lobstein A, Anton R 2001. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **J. Ethnopharmacol** , 78: 193-200.
- WHO 2004. Leishmaniasis [<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/>].
- Wollenweber E., Buchmann S.L., 1997. Feral honey bees in the Sonoran Desert: propolis sources other than poplar (*Populus* spp.), **Z. Naturforsch.**, 52c 530-535. [http://www.nektaraicilik.com\(erişim tarihi:02.06.2007\)](http://www.nektaraicilik.com(erişim tarihi:02.06.2007)).
- [http://www.propomed.com\(erişim tarihi:02.06.2007\)](http://www.propomed.com(erişim tarihi:02.06.2007)).

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren değerli hocalarım Sayın Yard. Doç. Dr. Birgül ÖZCAN' a ve Sayın Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ'a (Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi), MKÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı sevgili eşim Doç. Dr. Nizami DURAN'a ve MKÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Yard. Doç. Dr. Gülnaz ÇULHA'ya, laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Özkan ASLANTAŞ'a (MKÜ Veterinerlik Fakültesi) ve çalışmam sırasında manevi desteğini eksik etmeyen kıymetli arkadaşım Yeliz ÇAKIR' a da çok teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmam süresinde sıkıntılı ve yoğun anlarımda bir gülüşüyle bana tüm yorgunluğumu unutturan ve sıcaklığı ile içimi ısıtan biricik oğlum Emre Saygın'a çok teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Antakya’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Antakya’da tamamladım. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldum. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Alan Öğretmenliği (Biyoloji) Tezsiz Yüksek Lisans programından mezun oldum. 2005 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde yüksek lisans eğitimine başladım.

### A. SCI KAPSAMINDA TARANAN ULUSLARARASI DERGİLERDE YAYINLANMIŞ ARAŞTIRMA MAKALELERİ

1. Algul O, Duran N and **Duran GG**. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity of Some 1,5(6)-H/Or-Methyl-2-Subtituted-Benzimidazole Derivatives. *Asian Journal of Chemistry* 19, 3085-3092 (2007).

### B. ULUSAL DERGİLERDE YAYINLANAN ARAŞTIRMA MAKALELERİ

1. Çulha G, **Duran GG**, Duran N, Canpolat A. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinde bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **29**, 258-260 (2005).
2. Culha G, Canpolat A, **Duran GG**. Antakya’da dört farklı özel gündüz bakım evi ve kreşteki çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazit Derg.* 2005; 29(2): 120-122.

### C. ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN POSTER BİLDİRİLER

1. Duran N, Kökdil G, Mert E, **Duran GG**. İn vitro şartlarda *Flueggea anatolica* gemici bitkisinin antimikrobiyal etkisinin araştırılması. *XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, (Kongre Kitabı, s233, Poster no: P01-31), Antalya, 16-20 Kasım, 2005.

2. Duran N, Kökdil G, Mert E, **Duran, GG**. *Physalis alkekengi* L. bitkisi üzerinde antibakteriyal ve antifungal aktivite çalışmaları. *XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, (Kongre Kitabı, s258-259, Poster no: 04-10), Antalya, 16-20 Kasım, 2005.

**D. ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER**

1. Yılmaz A, Duran N, **Duran GG** and Algul O, “Synthesis and antimicrobial evaluation of some some 1,5(6)-h/or -methyl-2-subtituted benzimidazole derivatives, ”*Mediterranean Pharmacy Congress, Mediterranean Journal of Sciences& Technology, volume 2(2)*“ (Abstract book, p:116), October 13-16, Mersin, Turkey, 2006.

**PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER**

1. Hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen staphylococcus türlerinde antibiyotik dirençliliğinin fenotipik ve genotipik olarak araştırılması, Araştırma Projesi, MKÜ. BAP, Proje no: **07 T 0201**, Araştırmacı, 2007, (devam ediyor).

**KATILDIĞI BİLİMSEL KONGRELER**

1. 20. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi, Antalya, 22-26 Mayıs, 2005.