

## ***Sideritis hololeuca* Boiss. & Heldr. apud Bentham ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *violascens* (P.H.Davis) P.H.Davis Ekstrelerinin Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi\***

Ayça AYZAZ, Rüstem DUMAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 42031, Kampüs/KONYA

**Özet:** Türkiye'de endemik olarak bulunan *Sideritis hololeuca* Boiss. & Heldr. apud Bentham ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *violascens* (P.H.Davis) P.H.Davis bitki türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, aseton ve etanol ekstreleri, 8 adet Gram-pozitif (*Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* B RSHMB, *Listeria monocytogenes* tip 2 NCTC 5348, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* ATCC 29740, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 ve *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) ve 6 adet Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus mirabilis* ATCC 15146, *Proteus vulgaris* ATCC 7829, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ve *Salmonella enteritidis* RSHMB) olmak üzere toplam 14 adet standart bakteri suşuna karşı disk difüzyon metoduyla araştırıldı. Araştırma sonucunda; *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*'e karşı hiçbir ekstreinin antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığı, ancak zayıf antibakteriyel aktiviteye sahip olan ekstrelerden en az birinin diğer bakteri türlerine karşı etkili olduğu bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** *Sideritis hololeuca*, *Sideritis libanotica* subsp. *violascens*, antibakteriyel aktivite, disk difüzyon metodu

## **Determination of Antibacterial Activities of *Sideritis hololeuca* Boiss. & Heldr. apud Bentham and *Sideritis libanotica* subsp. *violascens* (P.H.Davis) P.H.Davis Extracts**

**Abstract:** The antibacterial activity of the chloroform, acetone and ethanol extracts obtained from the aerial parts of *Sideritis hololeuca* Boiss.&Heldr. apud Bentham and *Sideritis libanotica* subsp. *violascens* (P.H.Davis) P.H.Davis (endemic species) were investigated using the disc diffusion method against 14 different bacteria [8 Gram positive (*Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* B RSHMB, *Listeria monocytogenes* tip 2 NCTC 5348, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* ATCC 29740, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) and 6 Gram negative (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus mirabilis* ATCC 15146, *Proteus vulgaris* ATCC 7829, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 and *Salmonella enteritidis* RSHMB)]. By the results of the study it was determined that no extracts showed any antibacterial activities against the bacteriae *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enteritidis*, while at least one of the extracts which showed antibacterial activity weakly was found to be effective against others of the bacteriae tested.

**Key Words:** *Sideritis hololeuca*, *Sideritis libanotica* subsp. *violascens*, antibacterial activity, disc diffusion method

\* Bu makale yüksek lisans tezinin bir bölümüdür.

<sup>1</sup> E-mail: rduman@selcuk.edu.tr

## Giriş

*Labiatae* (*Lamiaceae*) familyası, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve ılıman iklim kuşağında yer alan birçok ülkede de kültürü yapılan bitkilerin oluşturduğu, 200 kadar cins ve 3 binin üzerinde türü içeren zengin bir familyadır. Bu familyaya ait bitkilerin çoğu antik çağlardan bu yana halk ilacı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmalarının yanı sıra, tıpta, gıda endüstrisinde, parfümeri ve kozmetikte yer alan bitkilerdir. Ayrıca günümüzde rasyonel Fitoterapi'de kullanılan pek çok preparatta da bu familya bitkilerinin yer aldığı görülmektedir [1].

Dünyada ve ülkemizde geniş yayılım gösteren *Labiatae* familyasının önemli bir cinsi olan *Sideritis* L., özellikle Akdeniz havzasında olmak üzere dünyada tek yıllık ve çok yıllık yaklaşık 150 tür ile [2], Türkiye'de ise özellikle Akdeniz bölgesinde olmak üzere 41'i endemik 54 tür ve tür altı seviyede takson ile temsil edilmektedir [3].

Ülkemizde daha çok "Ada çayı" ya da "Dağ çayı" adı ile bilinmekte olan bu cinse ait türler, halk ilacı ve bitkisel çay olarak geniş çapta kullanılmaktadır [4, 5]. Yapılan çeşitli araştırmalarda *Sideritis* L. türlerinin antimikrobiyal özelliklerinin [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12] yanı sıra, antioksidan [13], antienflamatuar [14, 15], antipiretik [16, 17], antiülser [16], antikatarakt [18], bağışıklık sistemini düzenleyici [19] ve analjezik [20, 21] özelliklere sahip oldukları da belirlenmiştir.

Doğada yetişen ve yenebilen tıbbi bitkiler ile baharat bitkileri antimikrobiyal etkiye sahip olup, yiyeceklerdeki mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajan kaynağı olarak görülmektedirler [22, 23]. Son yıllarda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin fazla olması, antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı mikroorganizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler, doğal bitkisel maddelerin ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha da artırmıştır [24]. Bu yüzden son yıllarda bitki ekstrelerinin antimikrobiyal kullanımı geliştirilmekte ve kullanımı önerilmektedir [25, 26].

Bu çalışmada, Türkiye'de endemik olarak bulunan *Sideritis* türlerinden, *Sideritis hololeuca* ve *Sideritis libanotica* subsp. *violascens*' den elde edilen ham ekstrelerin bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Kimyasal maddeler ve besiyerleri

Kloroform, aseton, etanol, mueller-hinton agar (MHA), mueller-hinton broth (MHB), baryum klorür, sülfürik asit, baryum sülfat (Merck, Darmstadt, Germany); phosphate buffered saline (PBS, Dulbecco's A) (Oxoid, England); dimetil sülfoksit (DMSO), ampisilin (Sigma, ABD).

### Bitki örnekleri

*Sideritis hololeuca* örnekleri 2007 yılının Haziran-Temmuz aylarında Ermenek-Sarıvadi 1300 m'den, *Sideritis libanotica* subsp. *violascens* örnekleri ise Bozkır (Konya) ve Geyik Dağı arasında yer alan Karancedere (1800 m)'den Temmuz 2007 yılında toplandı. Toplanan bitkilerin identifikasyonu, Dr. Hüseyin DURAL (Selçuk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya-Türkiye) tarafından yapıldı.

### Bakteri suşları

Bitki ekstrelerinin antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı standart bakteri suşları (*Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* B RSHMB, *Listeria monocytogenes* tip 2 NCTC 5348, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* ATCC 29740, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus mirabilis* ATCC 15146, *Proteus vulgaris* ATCC 7829, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ve *Salmonella enteritidis* RSHMB) ticari olarak Refik Saydam Ulusal Tip Kültür Koleksiyonu (RSKK) Laboratuvarı'ndan temin edildi.

### Çözeltilerin hazırlanması

**a) Fosfat tamponlu tuzlu su:** PBS (Dulbecco's A) tabletleri 200 ml için 1 tablet olmak üzere deiyonize suda çözüldü. Belirli hacimlerde şişelere taksim edilerek, otoklavda 121°C'de, 1 atmosfer basınç altında 15 dk tutularak steril edildikten sonra, kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında saklandı.

**b) Ampisilin stok solüsyonu:** Ekstrelerin antibakteriyel aktivitelerinin araştırıldığı deneylerde kontrol amacıyla kullanıldı. Toz halindeki ampisilin (Sigma, ABD) PBS içerisinde 100 mg/ml olacak şekilde çözüldü. Küçük hacimlerde şişelere taksim edilerek, -20°C' de saklandı.

**c) McFarland 0.5 bulanıklık standardının hazırlanması:** 99,5 ml %1 (hacim/hacim)'lik sülfürik asite ( $H_2SO_4$ ) 0,5 ml %1,175 (ağırlık/hacim) baryum klorür dihidrat ( $BaCl_2 \times 2 H_2O$ ) çözeltisi eklenerek hazırlandı. Bulanıklık standardı daha sonra bakteri süspansiyonlarını hazırlamak için kullanılanlarla aynı özellikte olan test tüplerine eşit miktarlarda dağıtıldı. Hazırlanan McFarland standart tüpleri, buharlaşmayı önlemek için parafilmle sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında (22°C-25°C) karanlık bir yerde muhafaza edildi [27].

### Ekstrelerin hazırlanması

Bitkilerin toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra, aseptik koşullar altında ince bir toz halinde homojenize edildi ve 30 g bitki materyali 500 ml kloroform içeren erlenmayerin içerisine konularak manyetik karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında 24 saat süreyle karıştırıldı. Süre sonunda elde edilen süpernatant Whatman No 1 filtre kağıdından geçirilerek süzüldü. Kloroform filtratının eldesinden sonra erlenmayerin tabanındaki bitki tortusu alınarak oda sıcaklığında kurutuldu, daha sonra da diğer çözümlerle (aseton ve etanol) aynı işlemler uygulanarak aseton ve etanol filtratları elde edildi. Elde edilen filtratlar rotary evaporatör kullanarak 45°C' de indirgenmiş basınç altında 10 ml kalıncaya kadar evaporasyona maruz bırakıldı, ardından da cam petri kutularına alınarak etüvde (37°C' de) bekletmek suretiyle çözümlerin tamamen uzaklaştırılması sağlandı. Petri kutularının tabanındaki tortuların kazınması suretiyle elde edilen katı ve jelimsi ekstreler, tartıldıktan sonra, PBS:DMSO (1:1) içerisinde çözümlenmesini takiben 0.45 µm'lik milipor filtrelerden geçirildi ve aynı çözücü ile 100 mg/ml konsantrasyonunda stok ekstre çözeltileri hazırlandı. Ekstreler, teste tabi tutuluncaya kadar steril cam ampuller içerisinde küçük hacimler halinde -20°C' de saklandı [28].

### Antibakteriyel test

Ekstrelerin antibakteriyel aktiviteleri, Sökmen ve ark.'nın [29] bildirdiği agar kuyucuk yayılma yönteminin disk difüzyon metoduna modifiye edilmesiyle belirlendi. Bu metoda göre; ticari olarak elde edilen 6 mm çapındaki steril boş antibiyotik disklerine (Oxoid, Schleicher & Shüll No:2668, Germany), 100 mg/ml konsantrasyonundaki stok ekstre çözeltilerinden PBS:DMSO (1:1) kullanılarak 25 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanan ekstre sulandırımından 20' şer µl emdirildi. Buna ilaveten, 100 mg/ml konsantrasyonundaki stok ampisilin çözeltisinden PBS kullanılarak 500 µg/ml konsantrasyonunda hazırlanan ampisilin sulandırımı ve çözücü olarak kullanılan PBS:DMSO (1:1) karışımı steril boş antibiyotik disklerine 20' şer µl emdirilerek kontrol grubu olarak kullanıldı.

Ekstrelerin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesinde besiyeri olarak MHA, deneylerde kullanılan bakteri kültürlerini üretmek ve çoğaltmak için ise MHA ve MHB kullanıldı. Stok kültürden alınan bakteri suşlarından ayrı ayrı MHA'a tek koloni düşecek şekilde ekim yapıldıktan sonra, bakteriler atmosferik koşullarda bir gece 37°C'de inkübe edildi. Üremiş kültür plaklarından tek koloni alınarak 3 ml MHB içeren deney tüplerine aktarıldı ve sıvı kültürlerde bakterinin üremesi neticesinde oluşan bulanıklık, McFarland 0.5 bulanıklık standardının bulanıklığı ile (yaklaşık  $1,5 \times 10^8$  bakteri/ml) eşit hale gelinceye kadar 37°C'de inkübe edildi. Hazırlanan bu bakteri süspansiyonlarından 20'şer ml MHA içeren 12 cm çapındaki petri kutularına 0.2'şer ml dağıtıldı. Daha sonra 5-15 dk süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılan petri plaklarının içerisine aseptik olarak 20'şer µl ekstre sulandırımı (25 mg/ml) emdirilmiş diskler yerleştirildi. Bakterilerle aşılanan plaklar 37°C'de 18 saat süreyle edildi. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirildi. 3 kez tekrarlı

gerçekleştirilen deneyde, inhibisyon zonlarının çapları ölçülürken disklerin çapları da ölçüme dahil edildi ve her bir ekstreye ait inhibisyon zonlarının ortalaması dikkate alındı.

### İstatiksel analiz

Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile araştırıldı. Önem seviyeleri ise Tukey HSD testi ile belirlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Türkiye’de endemik olarak bulunan *Sideritis hololeuca* ve *Sideritis libanotica* subsp. *violascens* bitki türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, aseton ve etanol ekstraktlarının 8 adet Gram-pozitif (*Bacillus cereus* İngiltere, *Bacillus subtilis* B RSHMB, *Listeria monocytogenes* tip 2 NCTC 5348, *Micrococcus luteus* İngiltere, *Staphylococcus aureus* ATCC 29740, *Streptococcus mutans* NCTC 10449, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 ve *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) ve 6 adet Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus mirabilis* ATCC 15146, *Proteus vulgaris* ATCC 7829, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 ve *Salmonella enteritidis* RSHMB) olmak üzere toplam 14 adet standart bakteri suşuna karşı disk difüzyon yöntemiyle elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 1’de verilmiştir.

**Tablo 1.** *Sideritis* L. türlerinin ham ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi (mm olarak inhibisyon zonları)\*

Test Edilen Bakteriler	<i>S. hololeuca</i>			<i>S. libanotica</i> subsp. <i>violascens</i>			Mukayese Antibiyotiği (Ampisilin (10µg/disk))	Çözücü (PBS:DMSO (1:1))
	Kl	As	Et	Kl	As	Et		
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	17	-
<i>Bacillus subtilis</i> B	8	8	8	-	8	8	18	-
<i>Listeria monocytogenes</i> tip 2	7	-	7.2	-	-	7	19	-
<i>Micrococcus luteus</i>	8	8	-	-	-	-	10	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	20.7	-
<i>Streptococcus mutans</i>	7	7	7	-	-	8	17.3	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	19.2	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	7	7	7	7	7	7	19	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	11.7	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	7.2	7	7	8	8.5	16.7	-
<i>Proteus mirabilis</i>	8	7	7	-	-	7	19.7	-
<i>Proteus vulgaris</i>	7	7	7	7	-	7	18	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	7	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	10	-

( ) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup, 25 mg/ml konsantrasyonunda 20 µl ekstrakt (0.5 mg/disk) emdirilmiştir. Sonuçlar 3 deneyin ortalamasıdır.

Kl : Kloroform ekstraktı, As : Aseton ekstraktı, Et : Etanol ekstraktı, (-) : inhibisyon yok.

Disk difüzyon yöntemi ile Türkiye’de endemik olarak bulunan iki *Sideritis* L. türünün kloroform, aseton ve etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılan deney sonuçlarına göre, bazı ekstraktların muhtelif bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlendi. En yüksek antibakteriyel aktivite, *Micrococcus luteus*’a karşı mukayese antibiyotiğinin inhibisyon zonuna (10 mm) oranla 8 mm’lik inhibisyon zonlarıyla *Sideritis hololeuca*’nın kloroform ve aseton ekstraktlarında gözlemlendi. Buna karşılık hiçbir ekstraktın *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*’e karşı inhibitör etkisinin bulunmadığı

tespit edildi. Her iki *Sideritis* L. türüne ait en az bir ekstraktın ise, araştırmada kullanılan diğer bakteri suşlarına karşı mukayese antibiyotiğine göre önemsiz denilebilecek kadar zayıf (7-8 mm inhibisyon zonu) antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Tablo 1). Ekstraktları çözme işleminde kullanılan PBS:DMSO (1:1)'in ise kullanılan bakteri suşlarına karşı hiçbir inhibitör etkisinin olmadığı saptandı. Her bir deney 3 kez tekrarlanıp, bağımsız deney sonuçlarının ortalama zon çapları kaydedildi (Tablo 1).

Yapılan literatür çalışmalarında, çalışmaya dahil edilen endemik bitkilerin uçucu yağlarının belirlenmesine yönelik yapılan birkaç araştırma haricinde, kimyasal kompozisyonları ve antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Kırimer ve ark. [30] Türkiye'de yetişen *Sideritis* türlerinin uçucu yağlarının ana bileşenlerini tespit etmeye yönelik yaptığı çalışmada, *Sideritis hololeuca* ve *Sideritis libanotica* subsp. *violascens*'i seskiterpen hidrokarbonlar içeren *Sideritis* türleri içerisinde dahil etmiştir. Türkiye' de endemik olarak bulunan 5 *Sideritis* türünün uçucu yağ bileşenlerini belirlemek amacıyla yapılan diğer bir çalışmada ise, *S. hololeuca*'nın uçucu yağında ana bileşenler  $\beta$ -pinene (% 35) ve  $\alpha$ -pinene (% 16) olarak belirlenmiştir [31].

Bazı *Sideritis* L. türlerinde bulunan linearol, foliol, epicandicandiol ve siderol bileşenlerinin antibakteriyel aktiviteleri araştırılmış ve epicandicandiol'un *Escherichia coli*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [6]. Ancak araştırılan bu *Sideritis* türlerinde tespit edilen biyoaktif bileşiklerin araştırmamızın konusunu teşkil eden *Sideritis* türlerinde bulunup bulunmadığı ve şayet varsa hangi oranlarda bulunduğu bilinmemektedir. *Sideritis* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri genellikle sahip oldukları flavonoidler, diterpenoidler gibi fenolik bileşimlerine göre karakterize edilebilmektedir [32, 33]. Ayrıca, Rodriguez-Linde ve ark. [7], *Sideritis* uçucu yağlarının değişik derecelerde antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahip olduğunu bildirmiştir. Ancak uçucu yağların, aynı tür bitkilerden elde edilmiş olmasına rağmen, bitkilerin genotipik özelliklerinin, yetiştikleri coğrafi bölgelerin, bu bölgelere ait iklimsel özelliklerin ve toplanma tarihlerinin farklı olması nedeniyle farklı antimikrobiyal etki göstermesinin doğal olduğu bildirilmiştir [34]. Farklı zamanlarda aynı lokaliteden toplanan 3 örnekte *Sideritis ozturkii* uçucu yağlarının ana bileşenleri;  $\alpha$ -pinene (%31.1, %16.0 ve %6.2) ve  $\beta$ -pinene (%20.2, %14.2 ve % 7.3) olarak bulunmuştur [5]. Araştırmamızın konusunu teşkil eden *Sideritis* L. türlerinde genellikle antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinen uçucu yağlar bulunmasına rağmen önemsiz denilecek seviyede antibakteriyel aktivite (7 – 8 mm inhibisyon zonu) belirlenmesinin nedeni, Hammer ve ark.'nın [34] bildirdikleri nedenlere, kullanılan çözümlerin aktif bileşikleri çözebilme yeteneklerine ve ekstrakt konsantrasyonlarına da bağlı olabilir.

*Sideritis hololeuca*'dan elde edilen ekstraktlar içerisinde en yüksek antibakteriyel aktiviteyi *Micrococcus luteus* LA 2971'a karşı mukayese antibiyotiği ampisilinin etkinlik derecesine (10 mm inhibisyon zonu) yakın bir inhibisyon zonuyla (8 mm) kloroform ve aseton ekstraktları göstermiştir (Tablo 1). Dülger ve ark.'nın [7] Türkiye' de yetişen bazı endemik *Verbascum*, *Sideritis* ve *Stachys* türlerinin, araştırmamızda da kullanılan ancak suş numaraları farklı olan bazı bakteri suşlarına (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı antimikrobiyal özelliklerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 3 *Sideritis* türüne (*S. brevidens*, *S. cilicica* ve *S. vuralii*) ait metanol ekstraktlarının bazılarının *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus vulgaris*'e karşı antibakteriyel etkisinin bulunmadığı, *Micrococcus luteus*'a karşı ise hiçbir ekstraktın inhibitör etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bazı ekstraktların da yukarıda zikredilen bakteri suşlarına karşı 10.6 – 18.8 mm inhibisyon zonu aralıklarında antibakteriyel etkiye sahip oldukları saptanmıştır. Yapılan bu araştırmada ise, yukarıda bildirilen araştırmadan farklı olarak en yüksek antibakteriyel etki *Sideritis hololeuca*'nın kloroform ve aseton ekstraktlarıncaya *Micrococcus luteus*' a karşı tespit edilmiş; *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*'e karşı ise hiçbir ekstraktın etkili olmadığı belirlenmiştir (Tablo 1). Elde edilen bu sonuçlar arasındaki farklılıklar; farklı çözümler kullanılması nedeniyle çözümlerin biyoaktif bileşikleri çözebilme yeteneklerine, bitki türlerinin farklılığından dolayı kimyasal bileşenlerinin kompozisyonları ve miktarlarının farklı olmasına, bitki örneklerinin toplanma zamanındaki farklılıklara bağlı olabilir.

*Sideritis libanotica* subsp. *violascens*' den elde edilen ekstraktların hiçbirinin *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*'e karşı inhibitör etkilerinin olmadığı belirlendi (Tablo 1). Araştırmada kullanılan diğer bakteri suşlarına karşı ise ekstraktların en az birinin önemsiz sayılabilecek antibakteriyel aktiviteye (7 – 8 mm inhibisyon zonu) sahip olduğu tespit edildi (Tablo 1).

Gergis ve ark. [8], Yunanistan'a endemik bazı *Sideritis* türlerinin (*S. siphylea*, *S. euboea*, *S. clandestina* ssp. *cyllenea* ve *S. clandestina* ssp. *clandestina*) uçucu yağlarının antimikrobiyal özelliklerini araştırdıkları çalışmada; uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını tespit ederek, uçucu yağlara karşı Gram-pozitif bakterilerin (*S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* ve *Micrococcus luteus*) Gram-negatif bakterilere (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) göre daha duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Darias ve ark. [9], Kanarya adalarına endemik bazı *Salvia* ve *Sideritis* türlerinden izole ettikleri 13 ürün [11 diterpen, 1 lignan (sesamin) ve 1 kumarin (siderin)] üzerinde kemoterapötik bir araştırma gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri veriler ışığında, bazı diterpen bileşiklerinin, özellikle 0.5 µg/ml ID<sub>50</sub> değeri ile galdosol' un dikkate değer bir sitostatik aktivite gösterdiğini ve bu bileşiklerin Gram pozitif bakterilere karşı orta derecede bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. *Sideritis siphylea*'nın uçucu yağının kimyasal kompozisyonu ve antimikrobiyal aktivitesi arasındaki ilişkilerin incelendiği bir araştırmada, bitkinin uçucu yağı İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography) ile 5 fraksiyona ayrılmış ve her bir fraksiyonun antimikrobiyal aktivitesi 6 bakteri ve *Candida albicans*'a karşı test edilmiştir. Araştırma sonucunda, bir fraksiyon dışında diğer fraksiyonların Gram pozitif bakterilere karşı Gram negatif bakterilerden daha etkili olduğu belirlenmiştir [10]. Ezer ve ark. [11], Türkiye'nin değişik bölgelerinden topladıkları *Sideritis* türlerinin (*S. congesta*, *S. perfoliata*, *S. arguta*, *S. argyrea*, *S. pisidica*, *S. libanotica* subsp. *linearis*) petrol, kloroform, etil asetat, etanol ve aseton ekstrelerini bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri türlerine (*S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* var. *oxytoca*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Streptococcus agalactiae*) karşı test ederek; petrol ve kloroform ekstrelerinin diğer ekstrelerden daha iyi antibakteriyel aktivite gösterdiğini, aseton ekstrelerinin gram-pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilerden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Hernández ve Rabanal'ın [12] farelerde *Sideritis canariensis* var. *pannosa*'nın antiinflamatuvar ve analjezik aktivitesini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada; *S. canariensis*'in ham etanol ekstresi ile kloroform ve aköz fraksiyonları 0.75, 1.25 veya 2.50 mg dozlarda, disk difüzyon metodu ile bazı mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus* CECT 240, *Staphylococcus epidermidis* CECT 231, *Micrococcus luteus* CECT 247, *Bacillus subtilis* CECT 356, *Bacillus cereus* var. *mycooides* CECT 193, *Klebsiella pneumoniae* CECT 440, *Pseudomonas aeruginosa* CECT 110, *Bordetella bronchiseptica* CECT 142, *Escherichia coli* CECT 405, *Candida albicans* CECT 1001, *Candida tropicalis* CECT 1400, *Candida guilliermondii* CECT 1019, *Saccharomyces cerevisiae* CECT 1193 ve *Cryptococcus albidus* CECT 1081 ) karşı antimikrobiyal etkileri yönünden incelenmiştir. Araştırma sonucunda; 0.250 mg/ml dozda etanol ekstresinin *Bacillus subtilis*'e karşı 12 mm' lik bir inhibisyon çapı ve 0.125 mg/ml'de kloroform ve aköz fraksiyonlarının *S. aureus*, *B. cereus* var. *mycooides* ve *B. subtilis*'e karşı 11 mm'lik inhibisyon zonları gösterdiğinin tespit edilmesine rağmen, test edilen mikroorganizmalara karşı mukayese antibiyotiğine göre önemli bir antimikrobiyal aktivite tespit edilemediği bildirilmiştir. Yapılan bu araştırmada ise, Hernández ve Rabanal'ın [12] araştırma sonuçlarına paralel olarak ekstrelerin genelde (*S. hololeuca*'nın kloroform ve aseton ekstreleri hariç) test edilen bakteriler üzerinde önemsiz antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiş olup, gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere oranla ekstrelerine karşı daha duyarlı olduğunu ortaya koyan diğer çalışmalarla [8, 9, 10, 11] bir paralellik kurulamamıştır. Ekstrelerin genelde gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı aynı düzeyde önemsiz antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar arasındaki farklılıklar; farklı çözüngenler kullanılması nedeniyle çözüngenlerin biyoaktif bileşikleri çözebilme yeteneklerine, bitki türlerinin farklılığından dolayı kimyasal bileşenlerinin kompozisyonları ve miktarlarının farklı olabilmesine, bitki örneklerinin toplanma zamanındaki farklılıklara bağlı olabilir.

## Kaynaklar

1. Saleem, M. **Chemical and biological screening of some relatives of *Lamiaceae* (*Labiatae*) family and marine alga *Conidium iyengarii***. P.H.D. Thesis University of Karachi, Karachi, (2000).
2. Barber, J. C., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Turner, K. G., Jansen, R. K. **Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (*Lamioideae*: *Lamiaceae*) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets**. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 23, 3, 293-306, (2002).
3. Huber-Morath, H. ***Sideritis* L. In: Flora of Turkey and The East Aegean Islands**, 7, 178-179, Davis P.H., Mill R.R., Kit T(eds. ), Edinburg University Pres, Edinburg, (1982).
4. Aytac, Z., Aksoy, A. **A new *Sideritis* L. Species (*Labiatae*) from Turkey**. *Flora Meditt.*, 10, 181-184, (2000).
5. Kirimer, N., Tabanca, N., Demirci, B., Baser, K. H. C., Duman, H., & Aytac, Z. **The essential oil of a new *Sideritis* species: *Sideritis ozturkii* Aytac and Aksoy**. *Chemistry of Natural Compounds*, 37, 234-237, (2001).
6. Kılıç, T., Yıldız, Y. K., Goren, A. C., Tümen, G. and Topcu, G. **Phytochemical Analysis of Some *Sideritis* Species of Turkey**. *Chem. Nat. Compds.* 39, 453-456, (2003).
7. Dulger, B., Ugurlu, E., Aki, C., Suerdem, T. B., Camdeviren, A., Tazeler, G. **Evaluation of antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*, *Sideritis*, and *Stachys* species from Turkey**. *Pharmaceut. Biol.*, 43, 3, 270-274, (2005).
8. Gergis, V., Spiliotis, V., Argyriadou, N., Poulos, C. **Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species**. *Pharmazie*, 1, 70, (1990).
9. Darias, V., Bravo, L., Rabanal, R., Martin-Herrera, D. A. **Cytostatic and antibacterial activity of some compounds isolated from several *Lamiaceae* species from the Canary Island**. *Planta Med.*, 1, 70-72, (1990).
10. Gergis, V., Spiliotis, V., Argyriadou, N., Poulos, C. **Relation between the antimicrobial activity and the chemical composition of the essential oil of *Sideritis sipylea* Boiss. (*Labiatae*)**. *Flavour and Fragrance Journal*, 1, 93-95, (1991).
11. Ezer, N., Usluer, G., Gunes, I., Erol, K. **Antibacterial activity of some *Sideritis* species**. *Fitoterapia*, 6, 549-551, (1994).
12. Hernabdez-Perez, M., Rabanal, R. M. **Evaluation of the antiinflammatory and analgesic activity of *Sideritis canariensis* var. *pannosa* in mice**. *J. Ethnopharmacol.*, 81, 1, 43-47, (2002).
13. Triantaphyllou, K., Blekas, G. and Baskou, D. **Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species *Lamiaceae***. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 52, 4, 313-317, (2001).
14. Tomas-Barberan, F. A., Manez, S. and Villar, A. **Identification of antiinflammatory agents from *Sideritis* species growing in Spain**. *J. Nat. Prod.*, 50, 313-314, (1987).
15. Alcaraz, M. J., Jimenez, M. J., Valverde, S., Sanz, J., Rabanal, R. M., Villar, A. **Anti-inflammatory compounds from *Sideritis javalambrensis* n-hexane extract**. *J. Nat. Prod.*, 52, 1088-1091, (1989).
16. Villar, A., Gasco, M. A., Alcaraz, M. J. **Anti-inflammatory and anti-ulcer properties of hypolaetin 8-glucoside, a novel plant flavonoid**. *J. Pharm. Pharmacol.*, 36, 820-823, (1984).
17. Palomino, O. M., Gomez-Serranillos, P., Carretero, E. and Villar, A. **High performance liquid chromatography of flavanoids from *Sideritis* species**. *Journal of Chromotography A*, 731, 103-108, (1996).
18. Tomas-Barberan, F. A., Lopez-Gomex, C., Villar, A., Tomas-Lorente, F. **Inhibition of lens aldose reductase by *Labiatae* flavanoids**. *Planta Med.*, 52, 239-240, (1986).
19. Navarro, A., De las Heras, B., Villar, A. **Anti-inflammatory and immunomodulating properties of a sterol fraction from *Sideritis foetens***. *Clem. Biol. Pharm. Bull.*, 24, 5, 470-473, (2001).
20. Hernandez-Perez, M., Rabanal, R. M. **Analgesic and antiinflammatory properties of *Sideritis lotsyi* var. *Mascaensis***. *Phytother. Res.*, 16, 3, 264-266, (2002).
21. Hernandez-Perez, M., Sanchez-Mateo, C. C., Montalbetti-Moreno, Y., Rabanal, R. M. **Studies on the analgesic and anti-inflammatory effects of *Sideritis candicans* Ait. var. *eriocephala* Webb aerial part**. *J. Ethnopharmacol.*, 93, 2-3, 279-284, (2004).

