

Pseudevernia furfuracea (L.) Zopf Likeninin Antibakteriyel Aktivitesi ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması

Assessment of Antibacterial Activity and Antioxidant Capacity in Lichen Pseudevernia furfuracea (L.) Zopf

Sinem GÜLTEKİN¹, Gülşah ÖZYİĞİTOĞLU²

¹Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kadıköy/İstanbul, TÜRKİYE.

²Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kadıköy/İstanbul, TÜRKİYE.

Öz

Bir mantar (mikobiyont) ve bir yeşil algin ve/veya siyanobakterinin (fotobiyont) bir araya gelmesiyle oluşan likenler; bu ortak yaşam sonucunda kendilerine özgü sekonder metabolitler üretirler. Yapılan araştırmalarda likenlerin bu sekonder metabolitler sayesinde çeşitli biyolojik aktivitelere ve antibakteriyel etkilere sahip oldukları bildirilmektedir. Bu çalışmada bir epifitik (ağaç üzerinde yetişen) dalsı liken *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf türüne ait örneklerden elde edilen aseton ekstrelerinin ATCC 29212 *Enterococcus faecalis*, ATCC 25923 *Staphylococcus aureus*, CECT 4122 *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 25922 *Escherichia coli* suşları üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca aynı liken ekstrelerinin antioksidan kapasiteleri Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri Gram negatif bakterilere karşı etkisiz olurken Gram pozitif bakterilerin gelişimini inhibe etmiştir. Antioksidan olarak ise $9,653 \pm 0,102 \mu\text{g TE/gr}$ değerinde hesaplanan yüksek düzeyde kapasite göstermiştir. Doğadan elde edilmiş olan *P. furfuracea* likeninin farmakoloji alanında aktif olarak kullanılabilir potansiyele sahip olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Liken, *Pseudevernia furfuracea*, antibakteriyel aktivite, antioksidan kapasite, sekonder metabolit

Abstract

Lichens are formed by the combination of a fungus (mycobiont) and a green alga and / or a cyanobacterium (photobiont), and as a result they produce unique secondary metabolites. Studies have shown that lichens have various biological and antibacterial effects due to these secondary metabolites. In this study, an antibacterial activity of acetone extracts from an epiphytic (growing on tree) fruticose lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf were investigated by disk diffusion method against ATCC 29212 *Enterococcus faecalis*, ATCC 25923 *Staphylococcus aureus*, CECT 4122 *Pseudomonas aeruginosa* and ATCC 25922 *Escherichia coli* strains. Also antioxidant capacities of the same extracts were assessed by Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) method. According to the results obtained, the antibacterial activities of *P. furfuracea* acetone extracts were ineffective against Gram negative bacteria but inhibited the development of Gram positive bacteria. In addition, a high level of antioxidant activity was calculated with a value of $9.653 \pm 0.102 \mu\text{g TE / gr}$. It is seen that *P. furfuracea* has a potential to be used as a natural resource in the field of pharmacology.

Keywords: Lichen, *Pseudevernia furfuracea*, antibacterial activity, antioxidant capacity, secondary metabolite

I. GİRİŞ

Likenler en az bir mantar türü ile bir fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterinin mutualist birliktelikleri ile oluşan ortakyaşar organizmalardır. Liken birliklerinde mantar; yaşamını sürdürmek, büyüebilmek ve üreyebilmek için gerekli olan karbon kaynağı olarak algi kullanırken alg, fotosentezde kullanacağı su ve minerali mantardan sağlamanın yanında, fiziksel

olarak olumsuz koşullara karşı da mantar tarafından korunur [1, 2]. Bu ortak yaşam sonucunda likenler, kendisini oluşturan mantar veya alg ortağına hiç benzerlik göstermeyen, yepyeni özellikler gösterirler.

Ekstrem koşullarda likenin fotosentez gibi fizyolojik olaylarının yavaşlaması sonucu büyümeleri de çok yavaş olmaktadır. Likenler, çok yavaş üremelerinden kaynaklanan rekabette zayıf kalma dezavantajlarını, ürettikleri özel maddeler sayesinde telafi ederler. Metabolizmaları sonucu açığa çıkan ve antimikrobiyal etkiye sahip bu maddeler likene özgü olup izole haldeki mantar ve algde bulunmamaktadır [3, 4]. Liken sekonder metabolitlerinin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu çok sayıda araştırmayla ortaya konulmuştur. Bu çalışmalardan bir kısmı likenlerin antibakteriyel [5, 6], antioksidan [7, 8], antiviral [9], bir kısmı antitümöral [10], antiinflamatuvar [11] gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Eski ve yeni literatürde likenler, “soğuk algınlıkları, barsak kurtlarının düşürülmesi, kuduz, ateşli hastalıklar, humma nöbetleri, alerji, cilt hastalıkları, sarılık, boğmaca, solunum yolu hastalıkları, öksürük ve kemik kırıklarının” tedavisinde; balgam söktürücü olarak ve laksatif amaçlı kullanımlarının yanında, damar küçültücü olarak da kan akışı engellenmesinde kullanımları ile kayıtlıdır.

Likenler sentezledikleri sekonder metabolitleri çevresel koşullara uyum sağlama ve savunma aracı olarak kullanılırlar [12]. Bu metabolitlerin özellikle Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere oranla daha etkili olduğu ve bazı mantarlara karşı antagonist aktivite gösterdiği bildirilmiştir [13]. Gram negatif bakterilerin daha duyarsız olma sebebi amfipatik ya da hidrofobik moleküllere daha az geçirgen olan bir dış membrana sahip olması ile açıklanmıştır [14].

En dış yörüngede eşleşmemiş elektrona sahip moleküller olarak tanımlanan “serbest radikaller” vücutta normal metabolik reaksiyonlar sonucu ya da sigara ve alkol kullanımı, hava kirliliği, bazı ilaçlar ve radyasyona maruz kalma gibi nedenlerle oluşabilirler [15, 16]. Gıdalarda veya vücutta düşük derişimlerde bulunduğu bir hedef molekülün oksidatif hasarını geciktiren, engelleyen veya ortadan kaldıran maddeler antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan özellikteki maddeler serbest radikallerin lipitlere, proteinlere veya DNA ya verebileceği zarara karşı bir savunma kalkanı niteliğindedir [17]. Bu zarar veya hasarlar kalp hastalıkları, şeker hastalığı, damar sertliği gibi çeşitli ciddi hastalıklara sebep olabilmektedir [18]. Serbest radikallerin etkisiz duruma getirilmesi dokuların bu hasarlardan korunabilmesi için önemlidir. Çeşitli bitkilerden elde edilmiş karotenoidler, fenoller, askorbik asit ve azotlu bileşikler doğal

kaynaklı antioksidanlardır [5]. Bu bilgilere dayanarak son yıllarda likenlerin de antioksidan kapasitelerinin araştırıldığı çalışmalar artmaya başlamıştır [6, 8, 19].

Dalsı liken türü *Pseudevernia furfuracea*, bir koruyucu olarak (sabun, kozmetik kokuları gibi) ve besleyici olarak (ekmek yapımında) tarih boyunca işlenmiştir [20]. Bu çalışmada *P. furfuracea* liken örneklerinin antibiyotik ve antioksidan kapasite potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Liken aseton ekstralarının hazırlanması

Bursa ili Alaçam bölgesinden toplanan liken örnekleri *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf olarak tayin edilmiştir. Tanımlaması yapılan liken örnekleri yıkanıp kurumaya bırakılmış, kuruyan likenler porselen havanda parçalanarak toz haline getirilmiştir. Toz halindeki örnekler hassas terazi ile ölçüm alınarak steril falkonlara doldurularak üzerlerine 35 ml (mililitre) aseton ilave edilmiştir. Liken sekonder metabolitleri için iyi bir çözücü olarak bilinmesinden dolayı liken ekstraları aseton ile hazırlanmıştır. Hazırlanan falkon tüpler 24 saat boyunca ışık görmeyen ortamda beklemeye bırakılmıştır. Bekleme süresi bittikten sonra Whatman No.1 filtre kağıdından geçirilerek Soxhlet ekstraktörü yardımıyla asetonun büyük bir kısmı uçurulup, kalan asetonun da uçması için steril cam petrilere alınarak 24 saat çeker ocakta bekletilmiştir. Asetonun uçmasıyla cam petrilere kalan liken ekstraları kazınarak steril ependorflara konulmuş ve deneyde kullanılmak için uygun şartlarda muhafaza edilmiştir.

2.2. Test bakterilerinin hazırlanması

Test edilen bakteriler, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 4122) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922), Yeditepe Üniversitesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Luria Bertoni (LB) besiyerinde prosedürlere uygun olarak çoğaltılan bakteri suşları 1 gece boyunca 37 °C' de inkübe edilmiştir. UV-VIS Spektrofotometre ile bakteri konsantrasyonları 0,5 McFarland'a ayarlanmıştır.

2.3. Disk difüzyon testi

P. furfuracea türüne ait liken örneklerinden elde edilen ekstralardan hassas terazide 13,8 mg ölçülerek 1462,5 mikrolitre (1,4625 ml) asetonla çözündürülmüştür. 9 mg/ml konsantrasyona sahip olan ekstralar 6 mm çapındaki steril disklerle önce bir yüzeye 10 µl eklenilmiş ve asetonun uçması beklenildikten sonra steril diskin diğer yüzüne de 10

µl ekstre eklenilmiştir. İşlem 20 µl, 40 µl ve 80 µl dozlarını elde edene kadar yapılmıştır. 0,5 McFarland konsantrasyonundaki bakterilerden 35 µl alınarak steril cam baget ile LB Agar besi yerlerine yayılarak hazırlanmış petrilere hazırlanan diskler uygun mesafelerde ve üç doz olacak şekilde yerleştirilmiştir. Karşılaştırma amaçlı; *E. faecalis* ve *S. aureus* suşlarının yayıldığı besi yerlerine Sulphamethoxazole 25 µg, *P. aeruginosa* ve *E. coli* suşlarının olduğu besi yerlerine ise Ciprofloxacin 5 µg antibiyotik diski yerleştirilmiştir. Kontrol amacı ile aseton emdirilmiş diskler de hazırlanmış ve tüm petrilere 37 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilere bulunan disklerde inhibisyon zonu oluşup oluşmadığı kontrol edildikten sonra inhibisyon zonuna sahip disklerin ölçümleri cetvel ile yapılarak kaydedilmiştir. Deney üç tekrarlı olarak çalışılmış ve sonuçlar ortalama değerler hesaplanarak bulunmuştur.

2.4. Antioksidan kapasite testi

Apak ve ark. (2004) tarafından geliştirilen CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi kullanılmıştır [21].

CUPRAC yöntemi için; 1,0 x 10⁻² M CuCl₂ · 2H₂O ve 1,0 M amonyum asetat 250 ml distile su, 1,0 M neocuproin 50 ml etanol içerisinde çözündürülmüştür. Antibakteriyel aktivite deneyi ile aynı konsantrasyonda (9 mg/ml) olacak şekilde toz liken ekstresi asetonunda çözülmüştür. Hazırlanan üç solüsyondan 50 µl alınarak cam tüpe konulduktan sonra üzerine 55 µl liken ekstresi konulmuştur. Kontrol grubu olarak üç solüsyona liken ekstresi yerine 55 µl aseton konulmuştur. İyice çalkanan tüpler ağız kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. 30 dakikalık bekleme süresinin ardından örnekler UV spektrofotometrede 450 nm absorbansta ölçülmüştür. Troloks referans antioksidan olarak kullanılmış ve elde edilen verilerin standart sapmaları ve ortalamaları belirlenmiştir. Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

III. BULGULAR

3.1. Antibakteriyel aktivite

Disk difüzyon ile elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Zon ölçümleri ortalama değerlerine göre, en yüksek antibakteriyel etki *S. aureus* üzerinde, en yüksek doz olan 80 µl *P. furfuracea* aseton ekstresinin emdirildiği diskte 18 mm olarak ölçülmüştür. Disklere emdirilen ekstre miktarının azalması ile birlikte zon çaplarının da küçüldüğü görülmüştür. Gram pozitif bakterilere karşı belli oranda inhibisyon zonu oluştururken Gram

negatif bakterilerin olduğu besi yerlerinde disk etrafında herhangi bir zon oluşmadığı gözlemlenmiştir.

Tablo 1. *Pseudevernia furfuracea* aseton ekstresinin inhibisyon zonları

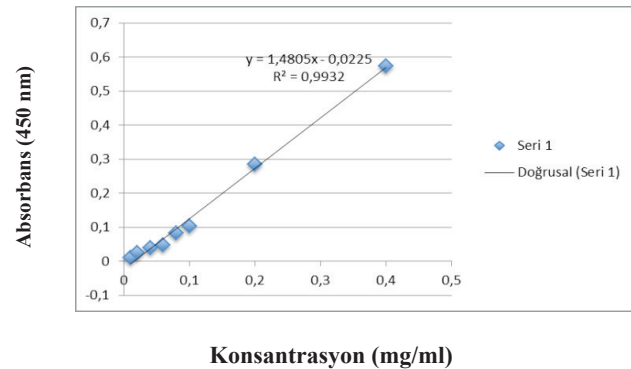
BAKTERİ SUŞU	İNİHİBİSYON ZONLARI (mm)				
	20 µl	40 µl	80 µl	CIP 5 µg	SXT 25 µg
Enterococcus faecalis (ATCC 29212)	15±1	16±1	17±0.7	D	26±0.6
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	16±0.7	17±0.7	18±0.7	D	26±1
Pseudomonas aeruginosa (CECT 4122)	-	-	-	32±0.6	D
Escherichia coli (ATCC 25922)	-	-	-	25±0.6	D

* Rakamlar mm olarak inhibisyon zonlarının çaplarını ifade etmektedir. Her disk 6 mm çapındadır.

Sonuçlar yapılan üç deneyin ortalamasını göstermektedir. (-): inhibisyon yok, (D): denenmedi

3.1. Antioksidan kapasite

P. furfuracea liken aseton ekstresinin antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemi ile test edilmiştir. Bu yöntemde antioksidan kapasite, 2,9 dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbanı veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak hesaplanmaktadır.



Şekil 1. Liken aseton ekstresinin Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi

CUPRAC karışımı *P. furfuracea* ekstresi ve kontrol grubu olarak aseton ilave edilerek ölçüm yapılmış ve *P. furfuracea*'ya ait grupta antioksidan kapasitesine bağlı olarak sarı renk oluşumu gözlemlenmiştir. Troloks çözeltisinden alınan hacime bağlı ml bazındaki absorban değerleri ölçülerek troloks kalibrasyon grafiği çıkarılmış ve grafikteki

troloks etkinliği ile *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin etkinlikleri oranlanmıştır (Şekil 1). Sonuç olarak *P. furfuracea* ekstrelerinin CUPRAC yöntemi ile ölçülen antioksidan değeri; $9,653 \pm 0,102 \mu\text{g TE/gr}$ olarak hesaplanmıştır.

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Likenlerin yaşamlarını sürdürebilmelerinde liken madelerinin rolü büyüktür. Yetiştikleri habitatlarda kendilerini mikroorganizmalara, böceklerle, radyasyona, vb. etkilere karşı koruyabilmeleri için sekonder metabolitleri ürettikleri birçok yayında belirtilmiştir [2, 4, 14, 22].

Likenlerin kendilerine özgü ürettikleri bu sekonder metabolitler sayesinde çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdikleri bilinmektedir. Bu çalışmada incelenen *Pseudevernia furfuracea* likeninden atrarık asit [8, 23], atranorin [8, 24], fisodik asit, oksifisodik asit, fisodalik asit, virensik asit [24], kloratranorin, metil hematomat, metil klorohematomat [23], absisik asit, poliaminler (putresin and spermidin) [25] ve furfurik asit [26] gibi metabolitler elde edilmiştir. *P. furfuracea* (var. *ceratea*) likeninin aseton ekstresinden izole edilen olivetorik asitin güçlü anti-anjiyogenik aktivite sergilediği ve bununla birlikte diklorometan, aseton ve metanol ekstreleri arasında en yüksek antioksidan kapasitesinin aseton ekstresinde olduğu rapor edilmiştir [27].

Bu çalışmada, ülkemizdeki ormanlarda geniş yayılış gösteren dalsı ağaç likeni *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin, ikisi Gram pozitif ikisi Gram negatif olan 4 bakteriye karşı disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesi ve bunun yanında CUPRAC yöntemi ile antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Çözücü olarak asetonun tercih edilmesinin nedeni asetonun liken içindeki sekonder metabolitler için iyi bir çözücü olduğunun literatürde sıklıkla kaydedilmesidir [25, 26, 27]. Bakterilere karşı inhibisyon aktiviteleriyle ilgili çalışmalarda test edilecek olan liken ekstrelerinin hazırlanmasında kullanılan farklı çözücülerin farklı metabolitleri aktif hale getirdikleri görülmüştür. Nitekim, liken sekonder metabolitleri ve likenlerin biyolojik aktiviteleriyle ilgili çok sayıda çalışmadan oluşan güncel bir derlemede; likenlerin türlerine, sekonder metabolit içeriklerine ve yetiştikleri ortama bağlı olarak değişen oranlarda antimikrobiyal etkiler gösterdikleri ve bununla birlikte kullanılan çözücü ya da yöntemsel farklılıkların da etkinlik düzeylerini etkilediği bilgisi verilmiştir [22].

Çeşitli liken türlerinin antibakteriyel etkinliklerinin test edildiği birçok yayın bulunmaktadır. Ancak likenlerin biyolojik aktivite seviyeleri türe göre değiştiğinden, burada özellikle çalışmamızdaki ile aynı liken türünü (*P. furfuracea*) içeren çalışmaların sonuçları karşılaştırılmıştır. Yine de liken türleri veya kullanılan yöntemler bakımından farklılık

göstermeleri nedeniyle bazı çalışmaların sonuçlarının karşılaştırılmaları güç olmaktadır. Bu çalışmada antibakteriyel etkileri bakımından test edilen liken aseton ekstreleri, Gram negatif bakteriler üzerinde herhangi bir inhibe edici etki göstermezken, Gram pozitif bakterilere karşı orta seviyede antibakteriyel etki göstermişlerdir. Bununla birlikte antioksidan kapasite testi sonucu oldukça yüksektir.

Osmanağaoğlu ve ark. (2000) tarafından *P. furfuracea* var. *furfuracea* ve *Evernia divaricata* likenleri ile yapılan çalışmada, aseton ve kloroform liken ekstreleri Gram pozitif çomak ve koklar, Gram negatif çomaklar ve *Candida albicans* üzerinde disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Çalışmamızla benzer olarak, sadece Gram pozitif bakterilerde inhibisyon zonları görülürken Gram negatif bakterilerde herhangi bir etki görülmemiştir. Ayrıca çalışmada çözücü olarak aseton kullanımının kloroform kullanımına göre daha büyük çaplarda inhibisyon zonu oluşumu sağladığı sonucuna varılmıştır [28].

Mitrovic ve ark. (2014) tarafından *Platismatia glauca* ve *P. furfuracea* liken türlerinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmada, altı Gram pozitif ve beş Gram negatif bakteri suşu ile çalışılmış ve farklı çözücülerde gösterdikleri etkileri karşılaştırılmıştır. Her iki liken türünün de benzer bakterilere etki gösterdiği fakat *P. furfuracea*'nın daha yüksek antimikrobiyal etkisi olduğu belirtilmiştir. *P. furfuracea*'nın metanol ekstresinin, diğer çözücülere kıyasla, *S. aureus* üzerinde daha güçlü etkili olduğunu göstermişlerdir. Buna göre *P. furfuracea* likeni için metanolün asetonundan daha iyi bir çözücü olduğu düşünülebilir. İki çalışma arasında, aynı liken türü için dahi (*P. furfuracea*), toplandığı bölgeler, antimikrobiyal aktivitede kullanılan yöntem (mikrodilüsyon) ve kullanılan çözücüler bakımından farklılıklar bulunduğu görülmektedir [8].

P. furfuracea türüne ait farklı ekstrelerin çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla Gücin ve ark. (1997) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Gram negatif bakterilere karşı hiçbir etki olmazken Gram pozitif bakterilerden *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. subtilis*e karşı tüm ekstrelerde antibakteriyel etki saptanmıştır. Elde ettikleri sonuçlar çalışmamızla paralellik göstermektedir [5].

Güvenç ve ark. (2012) tarafından *P. furfuracea* üzerinde disk difüzyon ile yapılan diğer bir çalışma ise çalışmamızı destekler nitelikte sonuçlara sahiptir. Buna göre *E. coli* üzerinde etki göstermeyen ekstrelerin Gram pozitif mikroorganizmalara karşı belirgin aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak metanol, etil asetat ve diklorometan ekstrelerinin kullanılması nedeniyle çözücü bakımından çalışmamız ile farklıdır [23].

P. furfuracea likeninin antioksidan kapasitesiyle ilgili pek az çalışma bulunmaktadır. Örneğin *P. glauca* ve *P. furfuracea* türlerinin güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu kaydedilen Mitrović ve ark. (2014)'ın çalışmasında yöntem bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Çalışmada su ve metanol ekstraktları radikal süpürücü kapasite yöntemi olan (-Difenil-1-pikrihidrazil) DPPH ile değerlendirilmiştir [8]. Yine Güvenç ve ark. (2012) tarafından *P. furfuracea* üzerinde DPPH yöntemiyle fakat farklı çözücülerle yapılan antioksidan kapasite çalışmasında metanol ekstraktlarına göre daha düşük bulunmuştur [23].

Odabaşoğlu ve ark. (2005)'nin çalışmasında ise *P. furfuracea* metanol ekstresinin toplam fenolik içeriğinin yüksek olmasına rağmen antioksidan kapasitesinin düşük olduğu sonucu elde edilmiştir [29].

Sarıkürkçü ve ark. (2016) tarafından *P. furfuracea* metanol ve su ekstraktlarının in vitro antioksidan kapasiteleri ve enzim önleme faaliyetlerinin değerlendirildiği bir çalışmada yine metanol ekstraktlarının hem fenolik hem de flavonoid bileşikler bakımından zengin olduğu kaydedilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız aseton ekstraktlarından farklı olarak, bu çalışmalarda metanol ile hazırlanmış olan *P. furfuracea* ekstraktlarının belirgin olarak daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir [19].

Biyolojik aktivite üzerine yapılan çeşitli *in vitro* çalışmalar, likenlerin bazı doğal ve deneysel faktörlere bağlı olarak değişen oranlarda antibakteriyel etkileri ve antioksidan kapasiteleri olduğunu ortaya koymaktadır. Ülkemizde doğal yayılışı çok olan *P. furfuracea* likeninin antibakteriyel ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı bu çalışma ise, likenin toplandığı yer ve aseton çözücü kullanılması nedeniyle diğerlerinden farklılık göstermektedir. Aynı liken üzerine yapılan diğer çalışmaların sonuçları, uygulanan yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte bu liken türünün genel anlamda hem antibakteriyel hem antioksidan potansiyele sahip olduğunu söylemek mümkündür.

Bu çalışma, seçilen türün geleneksel tıbbi kullanıma sahip olması ile ve aseton ekstraktlarının test edilmesi yönüyle diğer çalışmalardan ayrılmaktadır. Çalışmamızın doğal bitkisel kaynaklarımız olan likenlerden alternatif antibiyotik ve antioksidan olarak yararlanılabilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışma sürecinde laboratuvar imkanı sağlayan Doç. Dr. N. Cenk SESAL'a ve deney aşamasındaki yardımları için Ezgi UÇARKUŞ ile Barış GÖKALSIN'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Nash III, TH. (1996). Lichen Biology, Cambridge: Cambridge University Press.
- [2] Dayan, F. E., & Romagni, J. G. (2001). Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 12(6), 229-232.
- [3] Harmala, P., Hiltunen, R., Oksman-Caldentey, K. M., Laakso, T., & Kauppinen, V. (1992). Isolation and in vitro cultivation of lichen algae and their antimicrobial properties. *Fitoterapia*, 63, 217-225.
- [4] Lawrey, J. D. (1986). Biological role of lichen substances. *Bryologist*, Volume 89(2), 111-122.
- [5] Gücün, E., Dülger, B. Aslan, A. (1997). *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. Likenin Antimikrobiyal Aktivitesi, *Ekoloji-Çevre Dergisi*, 7(25), 22-24.
- [6] Öztürk, Ş., Güvenç, Ş., (1995). Farklı Bölgelerden Toplanan Liken Örneği *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. var. *furfuracea*'nın Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması. *Tr. J. of Botany*, 19, 145-148.
- [7] Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- [8] Mitrovic, T., Stamenkovic, S., Cvetkovic, V., Radulovic, N., Mladenovic, M., Stankovic, M., ... & Comic, L. (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents. *EXCLI journal*, 13, 938.
- [9] Neamati, N., Hong, H., Mazumder, A., Wang, S., Sunder, S., Nicklaus, M. C., ... & Pommier, Y. (1997). Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *Journal of medicinal chemistry*, 40(6), 942-951.
- [10] Demleitner, S., Kraus, J., & Franz, G. (1992). Synthesis and antitumor activity of derivatives of curdlan and lichenan branched at C-6. *Carbohydrate research*, 226(2), 239-246.
- [11] Süleyman, H., Yildirim, D., Aslan, A., Göçer, F., Gepdiremen, A., & Güvenalp, Z. (2002). An Investigation of the Anti-inflammatory Effects of an Extract from *Cladonia rangiformis* HOFFM. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(1), 10-13.
- [12] Huneck, S. (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86(12), 559-570.
- [13] Culberson W., L. (1970). Chemosystematics and ecology of lichens-forming fungi. *Ann Rev Ecol Sys*, 1, 153-70.
- [14] Lawrey, J. D. (1989). Lichen secondary Compounds Evidence for a Correspondence Between Antiherbivore and Antimicrobial Function. *Bryologist*, 92(3), 326-328.
- [15] Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445.
- [16] Fang, Y. Z., Sheng, Y., WU, G. (2002). *Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition*. Department of Biochemistry

- and Molecular Biology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing, China. Oct; 18, 872-879.
- [17] Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- [18] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- [19] Sarikurkcu, C., Kocak, M. S., Calapoglu, M., Ocal, C., & Tepe, B. (2016). Biological and phytochemical evaluation: *Pseudevernia furfuracea* as an alternative multifunctional agent. *Journal of Functional Foods*, 24, 11-17.
- [20] Joulain, D., & Tabacchi, R. (2009). Lichen extracts as raw materials in perfumery. Part 2: treemoss. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(3), 105-116.
- [21] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [22] Özyiğitoğlu, G. Ç., Açıkgöz, B., & Sesal, C. (2016). Lichen secondary metabolites: Synthesis pathways and biological activities. *Acta Biologica Turcica*, 29(4), 150-163.
- [23] Güvenç, A., Akkol, E. K., Süntar, İ., Keleş, H., Yıldız, S., & Çalış, İ. (2012). Biological activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf extracts and isolation of the active compounds. *Journal of ethnopharmacology*, 144(3), 726-734.
- [24] Proksa, B., Adamcova, J., Sturdikova, M., & Fуска, J. (1994). Metabolites of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and their inhibition potential of proteolytic enzymes. *Die Pharmazie*, 49(4), 282-283.
- [25] Unal, D., Senkardesler, A., & Sukatar, A. (2008). Abscisic acid and polyamine contents in the lichens *Pseudevernia furfuracea* and *Ramalina farinacea*. *Russian journal of plant physiology*, 55(1), 115-118.
- [26] Gunzinger, J., & Tabacchi, R. (1985). Isolement et identification de l'acide furfurique, nouvelle depsidone du lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Ach. *Helvetica chimica acta*, 68(7), 1936-1939.
- [27] Koparal, A. T., Ulus, G., Zeytinoğlu, M., Tay, T., & Türk, A. Ö. (2010). Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. *Phytotherapy research*, 24(5), 754-758.
- [28] Osmanağaoğlu, Ö., Yıldız, A., & Saçılık, S. (2000). Türkiye'deki farklı bölgelerden izole edilen likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 30, 17-19.
- [29] Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Bayir, Y., & Halici, M. (2005). Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76(2), 216-219.